

# 圆斑星鲈卵巢发育的组织学和数量形态特征研究

徐永江<sup>1</sup> 柳学周<sup>1\*</sup> 刘君刚<sup>2</sup> 赵明<sup>1</sup> 王妍妍<sup>1</sup> 曲建忠<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室

中国水产科学研究院黄海水产研究所, 266071)

(<sup>2</sup> 青岛市渔业技术推广站, 266071)

(<sup>3</sup> 青岛忠海水产有限公司, 266414)

**摘 要** 研究了圆斑星鲈卵巢年周期发育的组织学规律及其数量形态特征变化。结果表明, 圆斑星鲈产卵属 1 年 1 次成熟分批产卵类型, 卵巢发育属非同步分批成熟类型。性成熟亲鱼在年周期发育中经历 5 个发育时期, 同时可见 5 个发育时相的卵母细胞, 不同发育时期的卵巢中卵母细胞类型和组成比例不同。性腺指数(GSI)、肝脏指数(HSI)和肥满度(CF)在亲鱼的年周期发育中呈现规律性的变化, 与卵巢发育呈现密切的关联。亲鱼卵巢发育的有效积温为 1 050 日度。

**关键词** 圆斑星鲈 卵巢发育 组织学特征 数量形态特征

**中图分类号** S962 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)03-0007-09

## Histological and morphometric studies on the annual gonadal maturation cycle of spotted halibut *Verasper variegatus*

XU Yong-jiang<sup>1</sup> LIU Xue-zhou<sup>1\*</sup> LIU Jun-gang<sup>2</sup> ZHAO Ming<sup>1</sup>  
WANG Yan-yan<sup>1</sup> QU Jian-zhong<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, 266071)

(<sup>2</sup> Qingdao Centre of Popularization of Fisheries Technology, 266071)

(<sup>3</sup> Qingdao Zhonghai Fishery Co. Ltd., 266414)

**ABSTRACT** The annual ovarian maturation cycle of spotted halibut *Verasper variegatus* was studied by employing light microscopy and morphometric methods. The spotted halibut features asynchronous oocyte development and batch spawnings. In sexually matured female, the oocyte growth consisted five phases, and the ovary maturation cycle consisted five stages accordingly. Gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) and condition factor (CF) were all found to increase prior to, or during the peak phase of vitellogenic growth corresponding to the gonad development. The effective accumulated temperature for spotted halibut female brood-

国家鲆鲽类产业技术体系建设项目(nycytx-50)、国家“863”计划项目(2006AA10A414, 2010AA10A402)、公益性农业行业专项项目(nyhyzx07-046)和青岛市成果转化项目(09-2-3-15-chg)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85830506

收稿日期: 2010-07-23; 接受日期: 2010-10-03

作者简介: 徐永江(1981-), 男, 助理研究员, 主要从事鱼类繁殖生理和内分泌研究。E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85830506

stock is 1 050 d · °C. The results would highlight the reproductive cycle of captive female broodstocks of spotted halibut, and also serve as useful tools for broodstock breeding and determination of timing for hormone induced spawning.

**KEY WORDS** *Verasper variegatus* Ovary development Histological characters

圆斑星鲽 *Verasper variegates* T. & S. 属鲽形目 Pleuronectiformes, 鲽科 Pleuronectidae, 星鲽属 *Verasper*, 主要分布于我国黄海、渤海、东海以及日本、朝鲜等海域, 目前自然资源极其稀少, 已形不成渔获。圆斑星鲽肉质鲜嫩, 营养价值和商业价值高, 是一种极具人工养殖和资源增殖开发利用前景的优良鱼种。自 20 世纪 90 年代以来, 研究者们一直在试图通过控制其繁殖周期来实现该鱼种的人工繁殖, 并在资源调查 (Wada *et al.* 2006; Dou 1995)、亲鱼培育、激素诱导产卵 (Baek *et al.* 2000)、苗种培育技术 (堀田又治等 2001) 方面进行了积极尝试和研究, 取得了较多有关繁殖生物学的基础资料。但是, 直至目前, 在人工温光调控下, 圆斑星鲽性腺虽然可以发育, 但很多情况下卵母细胞常常不能达到最终成熟并排卵, 大批量受精卵的获取尚依赖于大量的亲鱼, 造成这种现象的根本原因在于未能认识人工养殖条件下圆斑星鲽性腺发育的规律。因此, 为了充分认识人工养殖条件下圆斑星鲽亲鱼的繁殖特性, 本研究利用组织学手段和数量性状测量方法, 首次系统研究了亲鱼卵巢的年周期发育规律及其数量变化特征 [性腺指数 (GSI)、肥满度 (CF) 和肝脏指数 (HSI)], 以为圆斑星鲽人工亲鱼生殖调控产卵技术提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验鱼培育

实验于 2008 年 5 月~2009 年 4 月在山东青岛忠海水产有限公司进行。实验鱼为人工培育的达到性成熟的圆斑星鲽雌性亲鱼, 全长 39~62 cm, 体重 1 200~2 800 g。亲鱼周年培育水温 11~22 °C, 盐度 29~32, pH 7.8~8.2, 溶解氧 6 mg/L 以上, 日换水率 300%~500%。亲鱼饵料为活沙蚕、贝肉。日投喂两次, 投喂量为鱼体重的 2%~3%。自 2008 年 11 月开始对亲鱼进行温度和光照调控。培育池以黑色不透光幕布围遮, 水温由自然海水和地下井水混合调控。水温逐渐由 17.5 °C 下降至 8~9 °C 后再回升至 11~12 °C, 并保持至产卵期结束。

### 1.2 取样方法及样品处理

在年周期内, 每月取样 1 次, 每次取样 2~3 尾。实验鱼使用 MS222 (300 mg/L) 麻醉致死 after 解剖, 小心取出性腺, 分别取性腺的前、中、后部, 样品在 Davis 固定液中固定 24 h 后转入 70% 酒精保存。

### 1.3 组织切片和性腺分期

性腺样品经酒精梯度 (70%~100%) 脱水, 石蜡包埋, 切成 7~9 μm 厚的切片, 苏木精伊红染色后, 中性树脂封片, 在显微镜下观察 (NIKON)、拍照。性腺发育期的划分按照刘 筠 (1993) 的标准, 依卵巢切面中所占面积超过 50% 或居最高比例的卵母细胞时相对应, 用平均百分数表示, 统计视野为 20 个。

根据有效积温法则 (尚玉昌 1993), 计算圆斑星鲽亲鱼性腺发育的有效积温为:

$$K (\text{日} \cdot \text{度}) = N \times (T - C)$$

式中,  $N$  为完成某阶段发育所需时间 (d),  $T$  为发育期间平均水温 (°C),  $C$  为该生物的发育阈温度 (°C),  $K$  为生物完成某阶段发育所需的有效积温 (时度)。  $V$  为发育速率,  $V = \frac{1}{N}$ 。

$$C = \frac{\sum V^2 \times \sum T \times \sum V \times \sum VT}{n \times \sum V^2 - (\sum V)^2}; K = \frac{n \times \sum VT - \sum V \times \sum T}{n \times \sum V^2 - (\sum V)^2}$$

## 1.4 数量特征测量和数据统计分析

对实验鱼进行生物学测量[体重( $BW$ )、体长( $BL$ )、内脏重( $VW$ )、性腺重( $GW$ )、肝脏重( $LW$ )]。

性腺指数  $GSI=[GW/(BW-VW)]\times 100$ ;

肝脏指数  $HSI=[LW/(BW-VW)]\times 100$ ;

饱满度  $CF=[BW/(BL)^3]\times 100$ 。对  $GSI$  值、 $HSI$  值、 $CF$  值进行单因素方差(ANOVA)分析(SPSS 软件, V16.0),检测各月份间变化差异的显著性,利用偏相关分析法分析各性状值之间的相关性。取差异显著性( $P$ )为 0.05,  $P\leq 0.05$  视为差异显著,反之不显著。

## 2 结果

### 2.1 卵母细胞发育特征和卵巢分期

参照 Мейен(1939)的分类标准,将性成熟圆斑星鲷卵母细胞发育过程分为 5 个时相(2、3、4、5、6 时相)。

#### 2.1.1 第 2 时相卵母细胞

卵母细胞处于小生长期,胞质生长较快,核中可见灯刷状染色体。细胞核大且圆,细胞质出现 1~3 个卵黄核,细胞膜外包围 1 层滤泡膜。卵母细胞直径 46.2~92.5  $\mu\text{m}$ ,核仁数量 1~12 个,核质比 43%~57%。本时相可划分为两个时期。

##### 2.1.1.1 早期

卵母细胞直径 25.2~68.1  $\mu\text{m}$ ,核仁数量 1~2 个,体积较大,位于核中央,胞质内可见染色质呈网状结构,细胞外有单层滤泡膜包被(图 1-A)。

##### 2.1.1.2 晚期

卵母细胞直径 51.7~92.5  $\mu\text{m}$ ,核仁 3~12 个,体积减小,主要分布在核仁膜周围,也称核仁周期,卵黄核可见 1 个以上(图 1-B)。

#### 2.1.2 第 3 时相卵母细胞

卵母细胞进入大生长期——双层滤泡膜期,其形态基本呈圆球形,细胞体积明显增大。较为明显的特征是皮质液泡的出现、增加、移位。液泡首先出现在细胞质外缘,逐渐向内缘移位。卵黄颗粒开始出现,核仁体积变小,数目相对增加。卵母细胞直径 99.8~245  $\mu\text{m}$ ,差异较大,核径 34.5~97  $\mu\text{m}$ ,核仁数量 10~19 个,核质比 39.7%~48%。放射膜开始形成。本时相卵母细胞可分为早、晚两个时期。

##### 2.1.2.1 早期

卵母细胞直径 99.8~165  $\mu\text{m}$ ,核径 34.5~82.6  $\mu\text{m}$ ,核仁数量 10~19 个,液泡首先在胞质边缘出现,数量较少,形成环形带状(图 1-C)。

##### 2.1.2.2 晚期

卵母细胞直径 129.1~245  $\mu\text{m}$ ,核径 31.7~97.0  $\mu\text{m}$ ,核仁数量 10~14 个,液泡增多,几乎充满整个胞质,卵黄颗粒开始生成(图 1-D)。

#### 2.1.3 第 4 时相卵母细胞

卵黄颗粒体积不断增大,数量不断增加。核为不规则形状并开始偏位,核膜崩解。放射膜形成并增厚,放射膜厚度 4.5~10.6  $\mu\text{m}$ 。卵母细胞直径 422.4~652.8  $\mu\text{m}$ ,核径 87.3~112  $\mu\text{m}$ ,核仁数量 12~37 个,核质比 15%~37%。本时相卵母细胞依据形态学特征划分为早、中、晚期 3 个时期。

##### 2.1.3.1 早期

卵母细胞直径 422.4~534.9  $\mu\text{m}$ ,核径 87.3~107  $\mu\text{m}$ 。卵黄颗粒开始增多并逐渐充满整个胞质,放射带结构明显,厚度 4.5~7.4  $\mu\text{m}$ (图 1-E、图 1-F)。

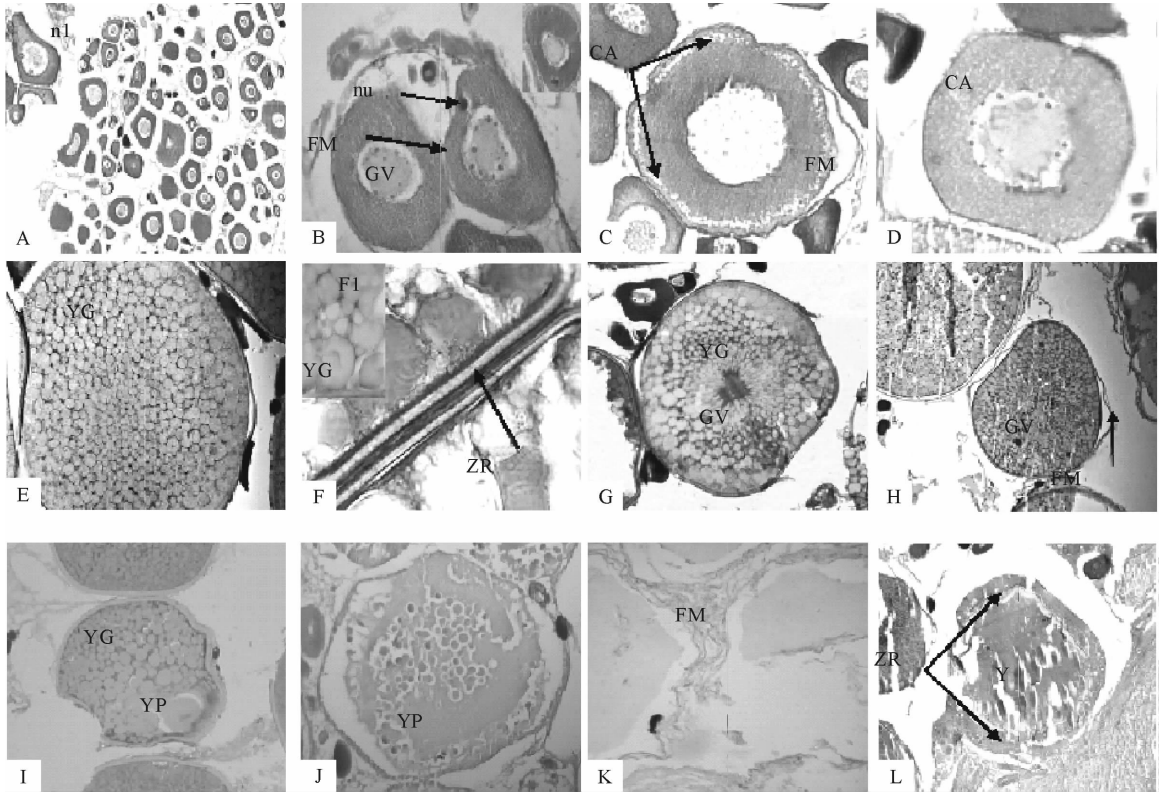
##### 2.1.3.2 中期

卵母细胞直径 435.7~591.3  $\mu\text{m}$ ,核径 89.9~106.9  $\mu\text{m}$ 。卵黄颗粒体积逐渐增大,核位于卵母细胞中央,

核膜开始崩解。放射膜厚度  $5.9\sim 9.7\ \mu\text{m}$ (图 1-G)。

### 2.1.3.3 晚期

卵母细胞直径  $482.4\sim 652.8\ \mu\text{m}$ ,核径  $87.6\sim 112\ \mu\text{m}$ 。卵母细胞核偏位,移向卵母细胞一端,核膜崩解,偶尔可见切面有核仁,数量不等。放射膜厚度  $7.7\sim 10.6\ \mu\text{m}$ (图 1-H)。



- A. 2时相早期:卵母细胞形状不规则,核仁大(A1)。100×  
 B. 2时相晚期(核仁周期):胞质中卵黄核,示生殖泡,单层滤泡膜。200×  
 C. 3时相早期:皮质液泡生成,滤泡膜变为双层。200×  
 D. 3时相晚期:液泡增多,放射膜形成。200×  
 E. 4时相早期:卵黄颗粒充满胞质,示滤泡膜。100×  
 F. 放射膜:示放射膜和卵黄球。1 000×  
 G. 4时相中期:卵黄颗粒。200×  
 H. 4时相晚期:核偏位,移向胞质的边缘,核膜崩解。100×  
 I. 5时相早期:卵黄颗粒开始融合为卵黄板。100×  
 J. 5时相晚期:卵黄板体积增大。100×  
 K. 排空后的滤泡细胞:卵母细胞排空后的滤泡膜。100×  
 L. 发生闭锁的卵母细胞,示增生的放射膜。100×
- A. Oocyte at early phase II, showing varied shape of oocyte and big nucleolus (n)  
 B. Oocyte at late phase II (perinucleolus stage), showing yolk nucleus (nu) and geminal vesicle (GV)  
 C. Oocyte at early phase III, show cortical alveoli (CA) and double layered follicle membrane (FM)  
 D. Oocyte at late phase III, cortical alveoli (CA) increased in number and zona radiate formed  
 E. Oocyte at early phase IV, show yolk globules (YG), follicle membrane (FM)  
 F. Zona radiate (ZR)  
 G. Oocyte at mid phase IV, yolk globules (YG) increased  
 H. Oocyte at late phase IV, position of the nucleus started to migrate towards the animal pole, nucleus membrane collapsed  
 I. Oocyte at early phase V, incipient coalescence of yolk globules started  
 J. Oocyte at late phase V, yolks plate volume enlarged  
 K. Rudimental follicle membrane (FM) after spawning  
 L. Oocyte with atresia
- nu: 卵黄核;GV: 胚泡;CA: 皮质液泡;ZR: 放射膜;YG: 卵黄球;YP: 卵黄板;FM: 滤泡膜

图1 不同时相卵母细胞形态特征

Fig. 1 The morphological characteristics of oocytes at different developmental phases

### 2.1.4 第5时相卵母细胞

细胞核膜和核仁崩解,切面不可见。核仁数量大为减少或者消失,卵黄颗粒直径逐渐增大,发生水合作用。未观察到发生完全水合的卵母细胞。卵母细胞直径  $672\sim 937.7\ \mu\text{m}$ ,卵膜厚度约  $12.4\sim 19.2\ \mu\text{m}$ 。滤泡膜易脱离卵母细胞,为准备排卵的信号。本时相卵母细胞可划分为早、晚两个时期。

#### 2.1.4.1 早期

卵母细胞直径  $672\sim 847.7\ \mu\text{m}$ ,卵膜厚度约  $14.4\sim 17.2\ \mu\text{m}$ 。核和核仁大部分消失,部分卵母细胞中仍可见。卵黄颗粒充分发育,开始发生融合(图 1-I)。

#### 2.1.4.2 晚期

卵母细胞直径  $731.4\sim 937.7\ \mu\text{m}$ ,卵膜厚度约  $14.4\sim 17.2\ \mu\text{m}$ 。卵母细胞中卵黄颗粒开始融合,形成较大的卵黄板块(图 1-J)。

### 2.1.5 第6时相卵母细胞

卵母细胞排出后剩余的滤泡膜和正在吸收的卵黄物质为主要特征(图 1-K)。

## 2.2 卵母细胞闭锁

本研究发现,人工养殖条件下的圆斑星鲈亲鱼性腺发育过程中存在卵母细胞闭锁现象(图 1-L)。闭锁现象多发生在处于成熟期的卵母细胞(4时相后),应与不成熟的卵母细胞区分开。人工养殖条件下,由于卵母细胞不能达到最终的成熟阶段,因此闭锁现象发生比率较高,约  $33.6\%$ ,且都发生在成熟期的4时相后卵母细胞,闭锁卵母细胞与其他成熟的卵母细胞互相包围、镶嵌。3时相前的卵母细胞中未见发现。

## 2.3 卵巢发育年周期变化规律及有效积温

根据卵母细胞不同的发育时相,并以各期切片视野中数量或者面积占优势的卵母细胞类型作为卵巢划分依据,将性腺发育划分为5期。

### 2.3.1 II期卵巢

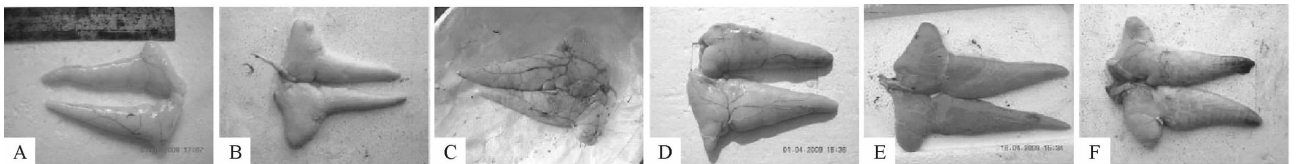
呈相对透明的亮白色,呈前部钝圆逐渐往后细长延伸的圆锥形,表面可见微细的血管(图 2-A),肉眼可初步辨别雌雄。卵巢中主要是2时相卵母细胞。

### 2.3.2 III期卵巢

呈乳白色,表面血管丰富。卵巢体积明显增大,总体仍为扁平状,前部膨胀延长,呈三角形(图 2-B)。卵母细胞类型及组成比例为:2时相:3时相:4时相= $35\%:55\%:10\%$ 。

### 2.3.3 IV期卵巢

卵巢表面血管发达,前部变为丰盈的三角形,在卵巢腔内向后延伸明显,体表可见明显隆起。卵巢内部卵细胞颗粒明显,可见少量透明卵粒(图 2-C)。卵巢内卵母细胞组成及比例为:2时相:3时相:4时相:5时相= $27.0\%:8\%:42.0\%:23.0\%$ ,4时相卵母细胞占优势地位。如亲鱼在成熟过程中受到环境胁迫,则可能表现为性腺充血等症状(图 2-F)。



A. II期卵巢, B. III期卵巢, C. IV期卵巢, D. V期卵巢, E. VI期卵巢, F. 发育异常的4期末卵巢

A. Ovary at stage II, B. Ovary at stage III, C. Ovary at stage IV, D. Ovary at stage V,

E. Ovary at stage VI after spawning, F. Abnormally developed ovary at stage IV

图2 圆斑星鲈不同发育阶段卵巢的外观

Fig. 2 The exterior shape of ovary at different developmental stages of spotted halibut *V. variegatus*

### 2.3.4 V期卵巢

卵巢极度发育,体表可见圆柱形隆起。卵巢内部透明卵粒较多(图 2-D),主要集中在卵巢前中部,卵巢端部较少。卵巢内卵粒呈游离状,卵巢的中间部形成一个通道(内腔),成熟的卵母细胞与其他批次的卵母细胞脱离进入卵巢内腔,通过流体力学作用排放到卵巢前部的卵巢腔,用手适度挤压雌鱼的腹部有卵流出,遇水后迅速膨胀而呈圆形。卵巢内卵母细胞组成及比例为:2时相:3时相:4时相:5时相=22%:2%:23%:53.0%。

### 2.3.5 VI期卵巢

卵巢退化,体积和重量大为减小,卵巢腔萎缩,卵巢后部空虚,暗红色,卵巢膜松弛变厚(图 2-E),前、中部尚有未成熟卵母细胞和少量未排出的成熟卵母细胞。卵巢中可见大量卵母细胞排空后的滤泡膜(6时相),卵母细胞组成及比例为:2时相:3时相:4时相:5时相:6时相=25%:7%:11%:21%:36%。

人工温光调控下,圆斑星鲈亲鱼性腺在11月即可发育至IV期,随温度和光周期的调控,卵巢发育进入成熟时期,1月下旬后进入繁殖期,卵巢发育达到V期。但本研究未观察到卵母细胞完全水合的现象,埋植缓释激素后,卵母细胞发育可发生水合作用最终成熟排卵,但未发现自然产卵。5月,繁殖期结束后性腺退化至II期并维持至8月,9月重新进入下一个生殖周期。研究表明,圆斑星鲈卵巢发育的周年变化过程中,各月份卵巢中不同时相的卵母细胞所占的比例不同,表明圆斑星鲈1年仅成熟1次,可分批产卵,卵巢发育模式为非同步分批模式。年周期发育过程中各月份和各发育期卵巢中卵母细胞组成见图3、图4。

根据人工养殖条件下圆斑星鲈性腺发育规律及其与周年温度和光周期调控的关系,计算得出卵巢发育的有效积温为1050日度,人为调控过程中温度调控应以此为依据进行调节,以保证亲鱼性腺的有效发育成熟。

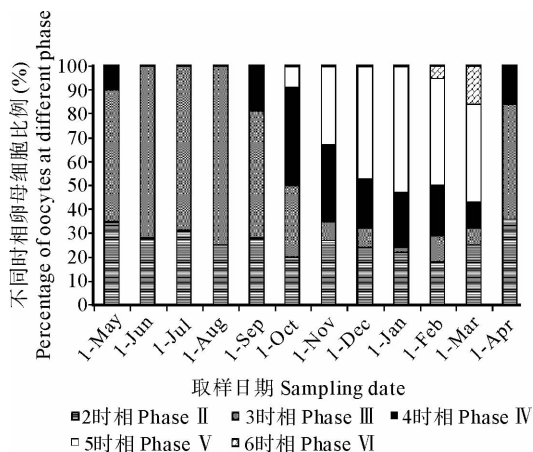


图3 卵巢周年发育过程不同时相卵母细胞组成

Fig. 3 Year round composition of oocytes at different phases

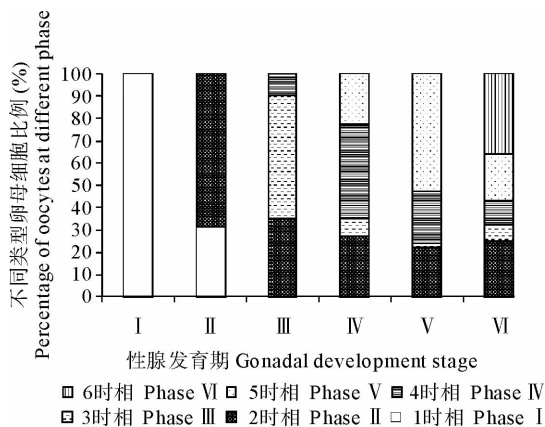


图4 不同发育时期卵巢中卵母细胞类型组成

Fig. 4 Composition of oocytes at different phases at different developmental stages

## 2.4 性腺发育相关的数量形态特征变化

本研究发现,在产卵结束后的5月,亲鱼GSI值达到最低,11月后,卵巢发育启动,GSI开始升高;12月后,光周期调控开始,卵巢发育加速,GSI在产卵期(1月,V期)时达到峰值,并在2~3月份保持较高水平。在产卵末期(4月,VI期),GSI迅速下降,并保持较低水平至下次性腺发育开始前,12月~翌年2月的GSI值与其他月份差异明显( $P < 0.05$ )(图5)。

肝脏指数(HSI)变化:5~10月,HSI保持相对较低水平;11月,随着温度的调节,HSI值逐渐升高并于12月达到峰值(IV期卵巢),此后在产卵期(2~3月)保持相对较高水平;在产卵末期(4月),HSI水平下降并保持至下次繁殖季节开始前。统计分析表明,12~翌年3月的HSI值与其他月份HSI值差异显著( $P < 0.05$ )(图6)。

肥满度(CF)在11月达到最大值(IV期卵巢),并保持较高表达水平至翌年1月,2月后有所下降并在产卵

结束后达到低值保持至下次繁殖季节开始前。统计分析表明,11~翌年1月CF值与其他月份差异显著( $P < 0.05$ )(图7)。这些形态测量的结果与组织学观察结果相一致。统计分析显示,GSI值与HSI值存在显著正相关关系( $r=0.871, P < 0.05$ ),与CF值存在弱的正相关关系( $r=0.296, P > 0.05$ )。HSI值与CF值呈现弱的正相关关系( $r=0.326, P > 0.05$ )。

### 3 讨论

本文在国内外首次详尽报道了重要经济海水鱼类圆斑星鲷在人工养殖条件下卵巢的年周期发育的组织学和数量形态特征,为其亲鱼的人工培育促熟和调控产卵技术提供了重要的参考资料。

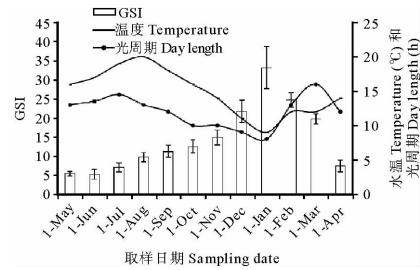


图5 亲鱼性腺指数的周年变化

Fig. 5 Year round gonadosomatic index variation in broodstock

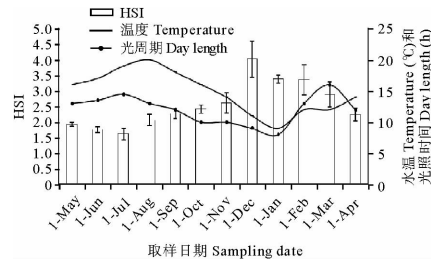


图6 亲鱼肝脏指数的周年变化

Fig. 6 Year round hepatosomatic index variation in broodstock

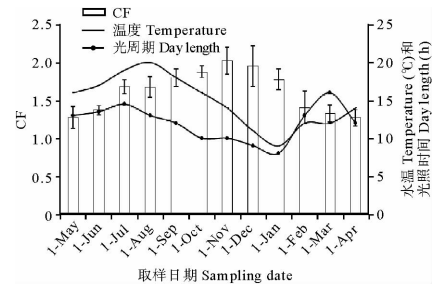


图7 亲鱼肥满度的周年变化

Fig. 7 Year round condition factor variation in broodstock

#### 3.1 圆斑星鲷产卵类型及卵母细胞发育成熟模式

鱼类的繁殖活动具有周期性,硬骨鱼类的产卵类型可划分为一次性产卵和多次性产卵;卵巢发育可分为完全同步型、分批同步型和分批非同步型(施腺芳 1991)。本研究表明,不同月份和不同发育期的圆斑星鲷卵巢内均存在不同时相的卵母细胞,而且同一期卵巢内卵母细胞发育的非同步性很明显,如IV期卵巢中,除IV时相卵母细胞(42%)外,同时还存在大量II时相(27%)、III时相(8%)和V时相(23.0%)的卵母细胞,据此推断圆斑星鲷卵巢发育属非同步分批发育类型,因IV和V时相卵母细胞占优势比例的情况年周期发育中仅出现1次,因此圆斑星鲷产卵类型属1年1次产卵类型。这与其他已报道的海水硬骨鱼类相似(Rickey 1995),但这种卵母细胞成熟和发育模式不同于冬鲷 *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum),其具有在各个发育期相对整齐发育特征(Burton *et al.* 1984)。

卵黄发生是卵子发育过程中极为重要的代谢活动,是卵母细胞能否发育成熟的关键所在。卵母细胞发育过程中,卵黄和液泡的发生顺序在不同鱼种中也不尽相同。本研究表明,圆斑星鲷卵母细胞的液泡首先在质膜边缘出现,随后数量逐渐增多,进入大生长期后卵黄颗粒出现,液泡逐渐被挤到核膜附近并消失,卵黄颗粒广泛分布在细胞质中,该种液泡和卵黄发生发育的模式同半滑舌鲷(柳学周等 2009)和其同属鱼种条斑星鲷(倪娜等 2011)卵母细胞发育模式一致,但与其他比目鱼类如大西洋牙鲆 *Paralichthys dentatus* (Merson *et al.* 2000)、大比目鱼 *Limanda limanda* L. (Htun-Han 1978)不同,这些鱼类卵母细胞发育过程中液泡、油滴和卵黄颗粒同时出现,这种差异出现的原因可能和系统发生差异、鱼类生态类群不同有关,其对生殖的生理学意义还有待于今后深入研究。

人工养殖条件下,鱼类常常出现卵母细胞闭锁的现象,这种现象可以在亲鱼性腺发育的任何一个阶段出现,影响着可达到最终发育成熟细胞的数量(Ryan 1981)。关于闭锁发生的原因,与上个产卵季节未能排出也未能吸收的卵母细胞是一种情况(Wallace *et al.* 1979)。另外,在非最佳养殖条件下,饵料投喂不足可引起亲鱼不能完全吸收产卵结束后未排出的成熟卵母细胞而出现闭锁现象(Bromage *et al.* 1988)。目前,多数研究者认为其发生的主要原因是环境胁迫,如环境胁迫或者人为操作不当引起的繁殖季节血浆睾酮(T)含量低,

亲鱼血浆  $E_2/T$  比值的升高可能导致高比例闭锁现象的发生(Webb *et al.* 2001;Clark *et al.* 2005)。另外, 卵巢闭锁现象在初次产卵鱼类中极为少见,但是在该亲鱼群体第2次产卵过程中发生的机率可能就会增加到50%(Tyler *et al.* 1994)。本研究使用的亲鱼虽为人工亲鱼,但多已经经历1~2次产卵期,本研究结果提示,今后亲鱼培育过程中,应优化亲鱼培育的环境因子调控措施,尽量减少环境胁迫,促进亲鱼成熟率和产卵效率。

本研究观察到,在圆斑星鲽V期卵巢中有较多比例(约20%)的处于水合期的卵母细胞,即卵母细胞卵黄球的融合水化,此时的卵母细胞直径接近于成熟卵子。发生水合作用是卵母细胞完全成熟即将排出的标志,这在大西洋牙鲆(Merson *et al.* 2000)、美洲拟庸鲽 *Hippoglossoides platessoides* (Fabricius)(Maddock *et al.* 1999)、半滑舌鳎(柳学周等 2009)等鱼种中均有报道。Kjesbu等(1989)认为,发生水合作用的卵母细胞排出后,在卵巢腔内还将停留很短的一段时间才产出体外,这可能是吸水膨胀的过程。卵巢内剩余批次的卵母细胞还将经过一段时间才能进入水合作用阶段。但是,在本研究中观察到的水合期卵母细胞尚未达到完全水合的状态,可能是未经最终成熟。在实际生产中,圆斑星鲽亲鱼尚不能自然产卵且人工采集卵子同样存在困难,表明卵母细胞可能无法经历最终成熟的阶段而自然排放到卵巢腔内。在外源激素诱导的情况下,人工采集卵子相对容易,可能是外源激素诱导内分泌系统完成生理功能,卵母细胞的最终成熟达到排卵。今后,开展卵母细胞成熟和排放的内分泌机制研究,突破圆斑星鲽自然产卵技术是值得深入研究的领域。

### 3.2 性腺指数、肝脏指数和肥满度的变化与卵巢发育的关系

GSI值的变化可直接反映出亲鱼性腺的发育、生长和成熟规律。本研究发现,圆斑星鲽GSI值在V期卵巢时达峰值,在产卵结束后的VI期迅速下降,这种变化趋势与其同属鱼类条斑星鲽(倪娜等 2011)模式一致。统计分析表明,GSI值与HSI值存在显著的正相关关系( $r=0.871, P<0.05$ ),提示卵巢中卵母细胞的生长发育与肝脏能量供应间存在极为紧密的应答和传递关系。HSI值是反映亲鱼的摄食情况和肝脏卵黄蛋白原合成的动态变化的重要指标。本研究发现,圆斑星鲽的HSI值在卵巢发育至IV期达到峰值,并在V期卵巢保持较高水平,产卵末期开始下降。亲鱼在产卵期前摄食水平较高而积极能量积累储备,在卵黄发生期,肝脏的卵黄蛋白原合成和分泌旺盛,鱼体储能的一大部分被肝脏用于蛋白质的合成和运输(Johnson *et al.* 1991),因此HSI值在卵巢发育成熟期保持较高的水平对于卵母细胞的分批发育成熟所需的能量持续供应具有重要的生理学意义。产卵结束后,卵母细胞卵黄积累作用停止,肝脏代谢活动降低,HSI值随之降低,这在其他比目鱼中如副眉鲽 *Parophrys vetulus* Girard(Sol *et al.* 1998)、美洲拟庸鲽(Maddock *et al.* 1999)中有相同的变化趋势。统计分析显示,HSI值与GSI呈现显著的正相关关系( $r=-0.783, P<0.05$ ),而CF值呈现弱的正相关关系( $r=0.326, P>0.05$ ),提示肝脏在卵巢发育过程中起着重要的生理功能。圆斑星鲽CF在卵巢发育至IV期时达到峰值,在产卵结束后的VI期,CF降低,这与大西洋庸鲽(Zomarro 1992)在繁殖期的肥满度变化趋势相同,而在美洲拟庸鲽(Maddock *et al.* 1999)、欧洲黄盖鲽 *Pleuronectes limanda* L.(Htun-Han 1978),亲鱼繁殖期肥满度最低,这可能是由于鱼种在长期系统演化过程中对环境适应的生殖策略差异所致。虽然,GSI、HSI与CF都呈现弱的相关关系,但亲鱼性腺启动发育开始前和发育过程中储备的能量可能通过其他的途径促进性腺持续发育成熟。

## 参 考 文 献

- 刘 筠. 1993. 中国养殖鱼类繁殖生理学. 北京: 农业出版社, 29~55
- 柳学周, 徐永江, 刘乃真, 曲建忠, 倪 娜, 赵 明. 2009. 半滑舌鳎卵巢发育的组织学和形态数量特征研究. 渔业科学进展, 30(6): 25~35
- 尚玉昌. 1993. 普通生态学. 北京: 高等教育出版社, 36~37
- 施腺芳. 1991. 鱼类生理学. 北京: 农业出版社, 300~319
- 倪 娜, 柳学周, 赵 明, 王妍妍, 曲建忠. 2011. 条斑星鲽卵巢发育规律和性类固醇激素周年变化研究. 渔业科学进展, 32(3): 16~25
- 堀田又治, 有瀧真人, 太田健吾, 田川正朋, 田中 克. 2001. ホシガレイの仔稚魚期における消化系の発達と変態関連ホルモンの動態. 日本誌, 67(1): 40~48
- Baek, H. J., Kim, Y., An, C. M., Cho, K. C., Myeong, J. I., and Lee, N. J. 2000. Effects of hormonal treatment on induced maturation and ovulation in



- the spotted halibut, *Verasper variegatus*. Journal of Aquaculture, 13(1): 47~53
- Bromage, N. R., and Cumarantunga, R. R. T. 1988. Egg production in rainbow trout. In Muir, J. E. and Roberts, R. J., eds. Recent advances in aquaculture. London and Sydney: Croom Helm. 65~138
- Burton, M. P., and Idler, D. R. 1984. The reproductive cycle in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). Canadian Journal of Zoology, 62:2563~2567
- Clark, R. W., Henderson-Arzapalo, A., and Sullivan, C. V. 2005. Disparate effects of constant and annually-cycling daylength and water temperature on reproductive maturation of striped bass (*Morone saxatilis*). Aquaculture, 249:497~513
- Dou, S. Z. 1995. Food utilization of adult flatfishes co-occurring in the Bohai sea of China. Netherlands Journal of Sea Research, 34 (1-3): 183~193
- Htun-Han, M. 1978. The reproductive biology of the dab *Limanda limanda* (L.) in the North Sea; seasonal changes in the ovary. Journal of Fish Biology, 13: 351~359
- Johnson, L. L., Casillas, E., Myers, M. S., Rhodes, L. D., and Olson, O. P. 1991. Patterns of oocyte development and related changes in plasma  $17\beta$ -estradiol, Vitellogenin, and plasma chemistry in English sole *Parophrys vetulus* Girard. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 152:161~185
- Kjesbu, O. S., Klungsoyr, J., Kryvi, H., Witthames, P. R., and Walker M. G. 1991. Fecundity, atresia, and egg size of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to proximate body composition. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 48: 2 333~2 343
- Maddock, D. M., and Burton, P. M. 1999. Gross and histological observations of ovarian development and related condition changes in American plaice. Journal of Fish Biology, 53:928~944
- Merson, R. R., Casey, C. S., Martinez, C., Soffientino, B., Chandlee, M., and Specker, J. L. 2000. Oocyte development in summer flounder; seasonal changes and steroid correlates. Journal of Fish Biology, 57: 182~196
- Мейен, В. А. К. 1939. вопросу годового цикла костистых рыб. цэв. АН СССР. Бюлл., 3:389~420
- Rickey, M. H. 1995. Maturity, spawning and seasonal movement of arrowtooth flounder, *Atheresthes stomias*, off Washington. Fish. Bull. 93: 127~138
- Ryan, R. J. 1981. Some speculations of biochemical marks and mechanisms. In Schwartz, N. B. and Hunziker-Dunn, M., eds. Dynamics of Ovarian Function. New York: Plenum Press, 1~12
- Sol, S. Y., Olson, O. P., Lomax, D. P. et al. 1998. Gonadal development and associated changes in plasma reproductive steroids in English sole, *Pleuronectes vetulus*, from Puget Sound, Washington. Fish. Bull. 96:859~870
- Tyler, C. R., Nagler, J. J., Pottinger, T. G., and Turner, M. A. 1994. Effects of unilateral ovariectomy on recruitment and growth of follicles in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Fish Physiol. Biochem. 13:309~316
- Wada, T., Aritaki, M., and Tanaka, M. 2004. Effects of low-salinity on the growth and development of spotted halibut *Verasper variegatus* in the larva-juvenile transformation period with reference to pituitary prolactin and gill chloride cells responses. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 308(1): 113~126
- Wallace, R. A., and Selman, K. 1979. Physiological aspects of oogenesis in two species of sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* (L.) and *Apeltes quadracus* (Mitchill). Journal of Fish Biology, 14:551~564
- Webb, M. A. H., Van Eenennaam, J. P., Feist, G. W., Linares-Casenavea, J., Fitzpatrickb, M. S., Schreckc, C. B., and Doroshova, S. I. 2001. Effects of thermal regime on ovarian maturation and plasma sex steroids in farmed white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. Aquaculture, 201:137~151
- Zamarro, J. 1992. Feeding behavior of the American plaice (*Hippoglossoides platessoides*) on the southern Grand Banks of Newfoundland. Netherlands Journal of Sea Research, 29:229~238