

DOI: 10.12264/JFSC2025-0003

养殖大鳍鲩雌性亲鱼卵巢发育及性类固醇激素含量的周年变化

李祖洋^{1,3}, 李双², 岳华梅¹, 叶欢¹, 陈元坤², 阮瑞¹, 谢勇^{2*}, 李创举^{1*}

1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业农村部淡水生物多样性保护重点实验室, 湖北 武汉 430223;

2. 重庆市水产科学研究所, 重庆 400020;

3. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070

摘要: 大鳍鲩(*Hemibagrus macropterus*)是我国重要的特色经济养殖鱼类, 为加强对养殖大鳍鲩亲鱼的性腺发育调控, 本研究采用形态测量法、组织学和酶联免疫吸附法, 探讨了人工养殖条件下大鳍鲩雌性亲鱼卵巢发育及性类固醇激素含量的周年变化。结果表明, 大鳍鲩雌性亲鱼性腺指数(GSI)在 5 月达到峰值(12.16 ± 0.67)%, 标志其进入繁殖期; 8 月 GSI 显著下降至(0.89 ± 0.24)%, 卵巢开始退化; 从 11 月的(0.57 ± 0.03)%至次年 2 月的(0.82 ± 0.05)%, 大鳍鲩 GSI 值无显著变化($P > 0.05$)。大鳍鲩亲鱼卵巢内卵母细胞类型根据形态学特征可分为 6 个时相, 即卵原细胞时期(I)、卵母细胞初始生长期(II)、皮层小泡期(III)、卵黄生成期(IV)、成熟期(V)、退化期(VI)。根据卵巢内各时相卵母细胞的占比可将其卵巢周年发育分为启动发育期(11 月)、繁殖前期(2 月)、繁殖期(5 月)、退化期(8 月)。性类固醇激素含量测定结果显示, 大鳍鲩雌性亲鱼血清中雌二醇(E2)含量在 5 月升至峰值(301.15 pg/mL), 随后显著下降; 血清中 11-酮基睾酮(11-KT)含量则在 8 月最高(135.00 pg/mL), 且与其他月份差异显著($P < 0.05$)。以上结果表明, 养殖雌性大鳍鲩全年 GSI 只有一个峰值, 为一次产卵类型, 5 月进入繁殖期; 血清中的性类固醇激素水平与大鳍鲩卵巢发育阶段紧密相关, 可作为评估养殖大鳍鲩卵巢发育状况的重要指标。本研究结果可为深入研究大鳍鲩亲本的繁殖调控以及提高人工繁殖效率提供参考。

关键词: 大鳍鲩; 亲鱼; 卵巢周年发育; 性腺指数; 雌二醇; 11-酮基睾酮

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)06-0797-12

大鳍鲩(*Hemibagrus macropterus*)俗称石扁头、石胡子、江鼠等, 隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鲇形目(Siluriformes)、鲿科(Bagridae)、鲿属(*Hemibagrus*)^[1-4], 其自然分布于长江和珠江各水系的干流及其支流中, 是长江特色经济鱼类之一。大鳍鲩营养价值全面, 味道鲜美, 无肌间刺, 具有较高的食用价值^[5-6]。近年来, 大鳍鲩的野生种群数量因过度捕捞、河流污染、水利设施建设等生存环境压力而急剧减少^[7-8]。随着“长江十年

禁渔计划”的实施, 市面上野生大鳍鲩已较为少见。为满足市场需求, 同时有效保护大鳍鲩生物资源, 积极推进其人工繁育驯化成为重要举措。自 20 世纪 90 年代起, 多家研究单位相继展开了大鳍鲩繁殖生物学^[9]、人工繁殖技术^[7,10]的研究, 实现了该物种的人工催产及苗种繁育。目前, 尽管大鳍鲩能够在人工养殖环境下产卵并授精, 但仍然存在养殖亲鱼数量有限、亲本性腺发育成熟度不可控、受精率低等问题, 严重制约了大鳍鲩

收稿日期: 2025-01-20; 修订日期: 2025-03-12.

基金项目: 国家重点研发计划子课题(2022YFD2400101); 重庆市财政项目(C20240103); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2023TD23).

作者简介: 李祖洋(2000–), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物养殖与育种技术. E-mail: 1157328233@qq.com; 李双, 共同第一作者.

通信作者: 李创举, 研究员, 研究方向为水产生物技术. E-mail: lcj@yfi.ac.cn; 谢勇, 副研究员, 研究方向为鱼类繁育与养殖. E-mail: 799091142@qq.com

规模化繁育的进程^[11]。因此,加强对大鳍鲩亲鱼的繁殖生物学等基础研究,进而提高人工繁殖效率显得尤为重要。

雌性亲鱼卵巢发育的周年变化规律是鱼类繁殖生物学研究的核心内容之一,其研究结果不仅能够丰富繁殖生理学的基础数据,还可为亲鱼的人工培育和繁殖管理提供重要的理论依据。已有研究表明,不同鱼类的卵巢发育模式存在显著差异,这种差异主要体现在卵母细胞的发育同步性、产卵类型以及性激素调控机制等方面。在黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)中,研究发现其卵巢发育为一次产卵类型,其卵母细胞发育具有明显的同步性,且不同日龄鱼卵巢的发育阶段可通过组织学观察明确划分^[12]。丝尾鲮(*Mystus wyckioides*)的卵巢发育则表现为卵母细胞不同步发育类型,这种非同步性可能与其繁殖策略和环境适应性密切相关^[13]。在池塘养殖条件下,乌苏里拟鲮(*Pseudobagrus ussuriensis*) 2 龄个体的卵巢在 12 月发育至第 III 期,至次年 6 月达到第 V 期,表明其卵巢发育具有明显的季节性变化^[14]。柳学周等^[15]对半滑舌鲈(*Cynoglossus semilaevis*)的研究揭示,其卵巢发育呈现非同步分批产卵的特征,这种分批产卵模式可能与其繁殖成功率和后代存活率密切相关。这些研究为理解不同鱼类卵巢发育的多样性及其调控机制提供了重要参考。

在硬骨鱼类中,性腺发育和成熟过程受到多种性类固醇激素的精密调控,包括雌激素、雄激素和孕激素等。这些激素不仅调控性腺的发育和成熟,还通过复杂的反馈机制影响鱼类的生殖行为、繁殖周期以及性别决定等生理过程。在雌鱼中,雌二醇(estradiol, E2)是最主要的雌激素,其通过调控卵黄蛋白原(vitellogenin, Vtg)在肝脏中的合成,促进卵母细胞的卵黄积累和卵巢成熟^[16]。在雄鱼中,11-酮基睾酮(11-ketotestosterone, 11-KT)是最主要的雄激素,其主要功能是调控精巢中精子的生成和排放^[17]。值得注意的是,11-KT 在雌鱼中也发挥重要作用,参与卵黄生成前期卵细胞油滴的积累,并影响卵细胞的大小和发育进程^[18]。国内外学者已在多种鱼类中开展了性类固醇激素周年变化的研究,揭示了其在鱼类繁殖周期监测

中的关键作用^[19-24]。例如, E2 和 11-KT 的浓度变化与卵巢发育阶段密切相关,可作为评估鱼类性腺发育状况的重要指标。这些研究为深入理解鱼类繁殖生理学提供了重要依据,并为人工繁殖技术的优化奠定了理论基础。

尽管已有研究对大鳍鲩(*Hemibagrus macropterus*)的胚胎发育^[25]、性腺发育^[9]及繁殖特性^[18]进行了初步探讨,但关于雌性亲鱼卵巢发育的周年变化规律及其性激素含量的系统研究仍较为缺乏。本研究旨在通过形态学测量、组织学观察以及酶联免疫吸附法(ELISA),系统研究养殖大鳍鲩雌性亲鱼卵巢发育的周年变化特征及其性类固醇激素(如 E2 和 11-KT)的年度变化规律,旨为大鳍鲩亲本的成熟诱导和人工繁殖条件的优化提供理论依据,并为进一步揭示大鳍鲩的繁殖生物学特性及环境适应性机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及来源

本研究所用大鳍鲩亲鱼样本养殖于重庆市水产科学研究所长寿基地,采用室外土池养殖,土池面积约 2000 m²,水深 2.00 m,池底淤泥厚度小于 20 cm,池塘养殖亲鱼数量约 1000 尾。自 2023 年 11 月至 2024 年 8 月,每间隔 3 个月采样 1 次,共采样 4 次,每次采集雌鱼 10 尾,共采集 40 尾。所采大鳍鲩亲鱼样本为同批次人工繁育所得初次性成熟的 5 龄个体,其父母本为野生捕捞驯养的亲鱼。所采大鳍鲩鱼体重 122.20~494.50 g,全长 26.20~44.0 cm。采样过程严格遵守中国水产科学研究院长江水产研究所和重庆市水产科学研究所实验动物福利和相关制度。

1.2 样品采集

实验鱼采用 MS-222 (Sigma, 美国)进行麻醉后,测量鱼体体重(BW)及全长(TL),其中体重精确到 0.01 g,全长精确到 0.01 cm。随后,采用 5 mL 无菌注射器从尾静脉取血,4 °C 下静置 4~6 h,3000 g/min 离心 10 min 后取上层血清,保存于-80 °C 冰箱中待用。采血结束后迅速将鱼放置在冰盘上进行解剖,取性腺组织,并进行称重(GW)。分别取性腺组织的前段、中段和后段,采用 Bouin's 溶

液固定 6~12 h 后, 转入 75%酒精保存。

1.3 卵巢的组织学分析

采用常规石蜡切片及 HE 染色技术对卵巢组织进行形态学特征分析。样品经过酒精梯度脱水后, 用二甲苯透明, 石蜡包埋并切片, 连续切片厚度为 6~8 μm。切片采用苏木精-伊红(HE)染色 (Biosharp, 中国), 中性树脂(Biosharp, 中国)封片, 正置显微镜(Leica, 德国)下进行切片观察并拍照。性腺发育分期参照刘筠^[26]和 Teresa^[27]的方法, 通过确定性腺分期, 以切面中平均面积比例最高的生殖细胞时相为依据, 统计卵巢中各时相卵母细胞的数量比例。每尾鱼随机选取 3 张玻片, 每张玻片随机挑选 10 个视野, 并统计每个视野下各时相卵母细胞的数量及面积比例, 最终以平均值来表示各时相卵母细胞的数量及面积比例。采用 Image J 软件(National Institutes of Health, 美国)测量卵母细胞的直径。

1.4 性类固醇激素含量测定

采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中雌二醇(E2)及睾酮(11-KT)的含量, 测定方法参照试剂盒说明书(Cayman, Michigan, 美国), 使用酶标仪(Biotek, 美国)进行分析处理。E2 的检测灵敏度为 20 pg/cm³, 11-KT 的检测灵敏度为 1.30 pg/cm³。

1.5 数据统计分析

相关计算公式如下: 性腺指数 GSI(%)=100%×卵巢重量(g)/体重(g)

采用 SPSS 23.0 软件(IBM, 美国)对数据进行统计分析, 采用单因素方差分析法(one-way ANOVA)以及 Duncan 方法进行数据显著性差异分析, $P<0.05$ 表示差异显著。数据以平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示, 并用 GraphPad prism 9.0 软件(GraphPad, 美

国)进行作图。

2 结果与分析

2.1 大鳍鲮雌性亲鱼的生长特征及性腺指数变化

大鳍鲮雌性亲鱼的全长、体重、卵巢重以及性腺指数的周年变化规律详见表 1。2023 年 11 月, 所测量亲鱼样本的平均全长(31.83±0.86) cm, 平均体重(196.25±14.68) g, 平均卵巢重(1.11±0.11) g 以及性腺指数 0.57±0.03 值均最小, 且与其他 3 组差异显著($P<0.05$)。至 2024 年 5 月, 大鳍鲮亲鱼样本的全长、体重、卵巢重均显著增加至最大值($P<0.05$), 全长达达到(39.00±0.60) cm, 体重为(340.38±12.86) g, 卵巢重为(41.13±2.26) g。除繁殖期之外, 其余 3 个月份样本的平均 GSI 变化范围在 0.57~0.89 之间, 自 2024 年 5 月繁殖期开始, GSI 显著上升至峰值(12.16), 并且与其他 3 个月份差异显著($P<0.05$)。

2.2 大鳍鲮卵母细胞的发育时相特征

根据测量的卵母细胞直径及组织学观测卵黄物质的积累情况, 可以将大鳍鲮卵母细胞划分为 6 个不同的发育阶段: 第 I 发育阶段为卵原细胞阶段, 其中 I 时相卵原细胞终生只出现 1 次, 鱼类达到性成熟以后不再出现, 因此在本研究中未能观察到。第 II 至 VI 发育阶段分别为卵母细胞初级生长期、皮层小泡期、卵黄生成期、卵母细胞成熟期、卵母细胞退化期。

2.2.1 第 II 时相卵母细胞(初级生长期) 卵母细胞一般为圆形或椭圆形, 细胞核大且轮廓明显, 居于细胞中央。细胞质具有嗜碱性特征, 因此在染色过程中呈现紫色; 相对地, 细胞核则表现出嗜酸性, 染色后呈现红色。此外, 在核膜的内侧, 可

表 1 大鳍鲮雌性亲鱼生长及性腺指数的周年变化

Tab. 1 Annual variation in growth and gonadal development of female *Hemibagrus macropterus* broodstocks

采样日期 sampling date	数量 number	全长/cm total length	体重/g body weight	卵巢重量/g gonad weight	性腺指数/% gonad-somatic index, GSI
2023-11	10	31.83±0.86 ^a	196.25±14.68 ^a	1.11±0.11 ^a	0.57±0.03 ^a
2024-02	10	35.21±0.71 ^{bcd}	255.41±16.69 ^{bcd}	2.13±0.21 ^a	0.82±0.05 ^a
2024-05	10	39.00±0.60 ^{bc}	340.38±12.86 ^{bc}	41.13±2.26 ^b	12.16±0.67 ^b
2024-08	10	34.35±1.07 ^{ad}	234.98±17.93 ^{ad}	2.23±0.71 ^a	0.89±0.24 ^a

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

以观察到多个核仁的存在(图 1a)。在这一发育阶段, 卵母细胞正处于其生长周期的早期, 细胞持续进行生长和发育过程, 其直径可达到 $(146.73\pm 1.08)\mu\text{m}$ (图 1f)。

2.2.2 第 III 时相卵母细胞(皮层小泡期) 卵母细胞通常呈圆形, 其细胞核占据了卵母细胞的大部分体积, 核周围存在明显的间隙(图 1b)。围绕卵母细胞的滤泡细胞由单层发展为双层, 并在卵细胞膜与滤泡膜的之间形成了一个薄薄的放射

带。此外, 卵细胞膜内缘出现了大量皮质颗粒(图 1b'), 数量迅速上升, 逐渐覆盖了核膜的外围, 这些颗粒具有较强的嗜碱性, 在 HE 染色后呈现蓝色。这一阶段标志着卵母细胞大生长期的早期, 此时卵母细 11-酮基睾酮胞迅速增长, 其直径可达到 $(442.71\pm 3.09)\mu\text{m}$ (图 1f), 核仁数量亦有所增加。

2.2.3 第 IV 时相卵母细胞(卵黄生成期) 卵母细胞已进入生长后期, 形态呈现为椭圆形或圆形。随着卵母细胞的持续发育, 细胞体积持续增大, 细

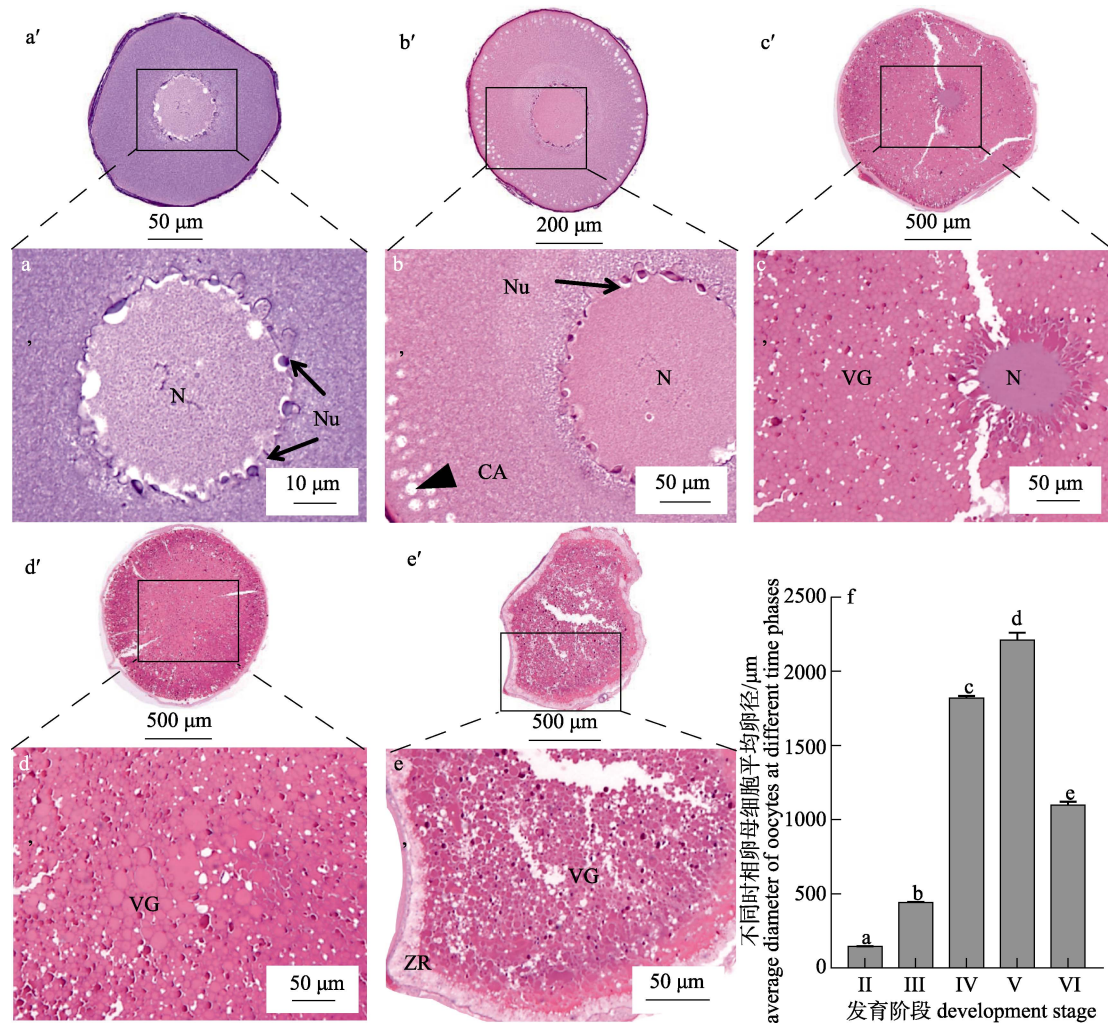


图 1 雌性大鳍鲩亲本不同时相卵母细胞的组织学特征及平均卵径
a, a'. 第 II 时相卵母细胞; b, b'. 第 III 时相卵母细胞; c, c'. 第 IV 时相卵母细胞; d, d'. 第 V 时相卵母细胞; e, e'. 第 VI 时相卵母细胞; f. 不同时相平均卵径柱形图。N: 细胞核; Nu: 核仁; CA: 皮质小泡; VG: 卵黄蛋白; ZR: 放射膜。
柱上方字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

Fig. 1 Histological characteristic and average diameter of oocytes at different developmental stages in the ovaries of female *Hemibagrus macropterus*
a, a'. Oocytes in stage II; b, b'. Oocytes in stage III; c, c'. Oocytes in stage IV; d, d'. Oocytes in stage V; e, e'. Oocytes in stage VI; f. Average diameter of oocytes. N: nucleus. Nu: nucleolus; CA: cortical alveoli; VG: vitellogenin; ZR: zone radiate.
Different letters on the column indicate significant difference ($P<0.05$).

胞平均直径为 $(1826.23 \pm 15.33) \mu\text{m}$ (图 1f)。石蜡切片 HE 染色观察可见细胞核的体积有所减小, 滤泡膜和放射膜的轮廓变得更加清晰。细胞质中充满了卵黄颗粒(图 1c), 而细胞核(图 1c')在早期位于细胞的中央位置。当卵母细胞完全成熟时, 核膜会发生裂解, 细胞核则会移向动物极的一侧(图 1c)。

2.2.4 第 V 时相卵母细胞(成熟期) 卵母细胞逐渐成熟, 最终转化为卵子, 其细胞核随之溶解并最终消失。通过组织学观察, 可以发现滤泡膜呈现游离状态, 而卵黄颗粒的体积则显著增大, 充满整个卵母细胞(图 1d')。使用 HE 染色技术, 卵黄颗粒会被染成粉红色, 并且它们集中分布于整个细胞之中(图 1d)。此时, 卵母细胞的直径可达到 $(2218.18 \pm 50.08) \mu\text{m}$ (图 1f)。

2.2.5 第 VI 时相卵母细胞(退化期) 卵母细胞的形态变得不规则, 其放射膜显著增厚, 卵黄颗粒数量减少, 甚至被吞噬(图 1e 和 1e')。细胞质和卵黄开始胶质化, 并形成了众多空泡。细胞核发生破裂, 通过吸水作用达到透明化状态(图 1e)。此时, 卵母细胞的直径约为 $(1102.92 \pm 22.09) \mu\text{m}$ (图 1f)。

2.3 大鳍鲩卵母细胞发育的周年变化规律

2.3.1 启动发育期 2023 年 11 月后, 大鳍鲩亲鱼卵巢开始进入启动发育阶段(图 2a), 该阶段卵巢内仅存在第 II、III 时相卵母细胞。第 II 时相代表卵母细胞的初级生长阶段, 其数量及面积占比分别为 70.79%及 30.69%; 第 III 时相卵母细胞, 为皮层小泡发育期, 其数量占比为 29.21%, 面积占比为 69.31%(图 2e~2f)。

2.3.2 繁殖前期 繁殖前期主要出现在 2024 年 2 月(图 2b), 和启动发育阶段一样, 该期卵巢内仅存在第 II、III 时相卵母细胞。第 II 时相卵母细胞数量占比为 69.93%, 但面积占比仅 19.37%; 随着卵巢的逐步发育, 第 III 时相卵母细胞逐渐增多, 数量及面积占比约为 30.07%及 80.63%(图 2e)。

2.3.3 繁殖期 从 2024 年 5 月开始大鳍鲩进入繁殖期, 通过组织学观察发现在繁殖期卵巢内同时存在第 II、III、IV、V、VI 时相的卵母细胞(图 2c)。早期卵巢内仍以第 IV 时相的卵母细胞为主, 随着卵巢的发育成熟, 第 V 时相的卵母细胞逐渐增大, 面积占比为 87.30%; 第 II、III、IV 时相的卵母细胞

面积占比约 6.91%, 同时还存在少量第 VI 时相卵母细胞, 面积占比为 5.79%(图 2f)。按数量占比统计, 繁殖期第 II 时相卵母细胞数量最多(54.63%), 其次为第 V 时相卵母细胞(31.13%)(图 2e)。

2.3.4 退化期 退化阶段出现在人工繁殖之后, 若发育成熟的卵母细胞未能在有效时间内进行催产, 卵巢也会自然退化为 VI 期(2024 年 8 月)(图 2d)。卵巢内可见第 II、III、VI 时相卵母细胞, 其中第 II 时相卵母细胞数量占比最高, 为 76.86%, 其次为第 III 时相的卵母细胞, 数量占比约 22.61%, 第 VI 时相卵母细胞数量较少(0.53%)(图 2e)。按卵母细胞所占面积进行统计, 退化期卵巢内第 III 时相卵母细胞面积占比最高, 为 54.47%, 其次为第 II 时相卵母细胞(34.35%), 第 VI 时相卵母细胞数量占比最少, 为 11.18%(图 2f)。

2.4 大鳍鲩性类固醇激素含量的周年变化

大鳍鲩卵母细胞周年发育过程中, 雌鱼血清中 E2 周年表达水平范围为 $67.36 \sim 301.15 \text{ pg/mL}$ (图 3a)。11 月卵巢启动发育阶段血清中 E2 含量最低(67.36 pg/mL), 繁殖前期(2024 年 2 月)上升至 104.53 pg/mL , 但与启动发育阶段差异不显著($P > 0.05$)。随着卵巢发育, 繁殖时期(2024 年 5 月) E2 表达水平显著升高, 达到全年最大值 301.15 pg/mL , 与启动发育阶段最低值相比上升了 4.47 倍。2024 年 8 月进入退化期后, 血清 E2 含量显著下降至 152.65 pg/mL ($P < 0.05$)。

雌鱼血清中 11-KT 周年表达水平范围为 $7.39 \sim 135.00 \text{ pg/mL}$ (图 3b)。从启动发育阶段(2023 年 11 月)开始 11-KT 含量呈升高趋势, 2023 年 11 月至 2024 年 5 月维持在 $7.39 \sim 22.25 \text{ pg/mL}$ 的水平, 但 3 个时期差异不显著; 在退化期(2024 年 8 月), 11-KT 含量骤然升高至最高值 135.00 pg/mL , 并且与其他 3 个月差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 大鳍鲩的卵母细胞发育特征

王德寿等^[9]的研究结果表明, 大鳍鲩卵巢发育可分为 6 个时期(I 到 VI), 产卵期为 5—7 月, 并以 III 期越冬。徐吉山^[28]将野生大鳍鲩的卵子发生过程划分为 7 个阶段, 包括原始生殖细胞期(仅

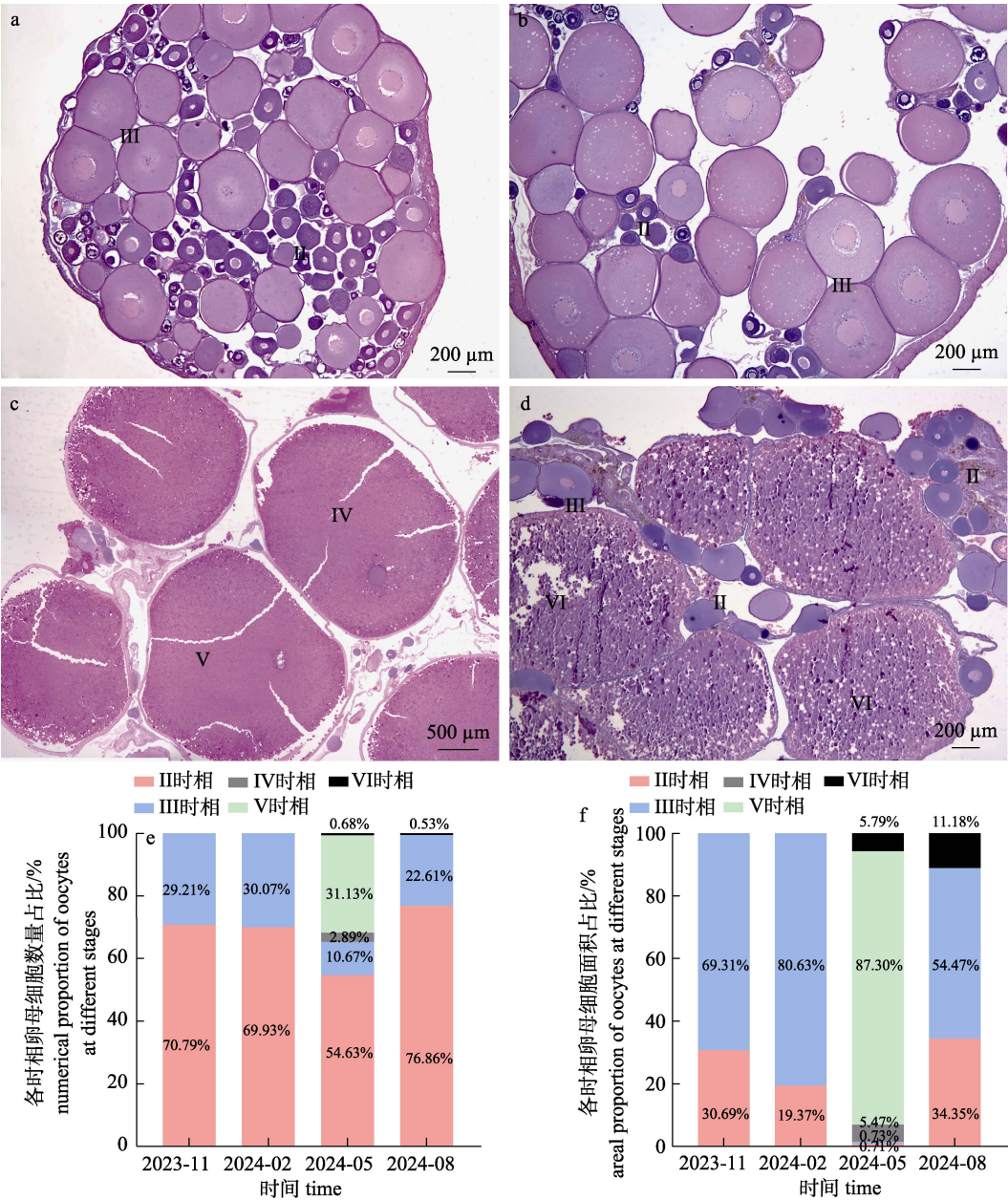


图 2 大鳍鲩雌性亲本卵巢各发育时期的组织学特征及不同时相卵母细胞的数量和面积占比
a. 11 月 III 期卵巢; b. 2 月 III 期卵巢; c. 5 月 V 期卵巢; d. 8 月 VI 期占卵巢; e. 不同时相卵母细胞的数量占比;
f. 不同时相卵母细胞的面积占比。

Fig. 2 Histological observations on the ovaries of female *Hemibagrus macropterus* in different developmental stages and the number ratio and area ratio of oocytes in different phases

a. Stage III ovaries on November; b. Stage III ovaries on February; c. Stage V ovaries on May; d. Stage VI ovaries on August; e. The number ratio of oocytes in the ovary; f. The area ratio of oocytes in the ovary.

出现在 2 月龄幼鱼)、卵原细胞期、卵母细胞单层滤泡期、卵黄泡出现期、卵黄充满期、卵母细胞成熟期和卵母细胞退化期。在本研究中,笔者根据组织学观察将养殖大鳍鲩卵巢内卵母细胞类型分为 6 个时相,与上述研究结果较为一致。大鳍鲩的卵母细胞发育过程历经卵黄颗粒形成至积累

增多、细胞核偏移及核膜逐渐溶解至消失、滤泡膜增厚等过程,其卵母细胞的总体发育特征与同属的斑鲩(*Siniperca scherzeri*)^[29]、同科的黄颡鱼^[12]亦极为相似。在大鳍鲩第 III 时相卵母细胞中,内、外两层滤泡膜中间有放射带结构(图 1b),这与鲇(*Silurus asotus*)^[30]的成熟卵母细胞的卵膜发育过

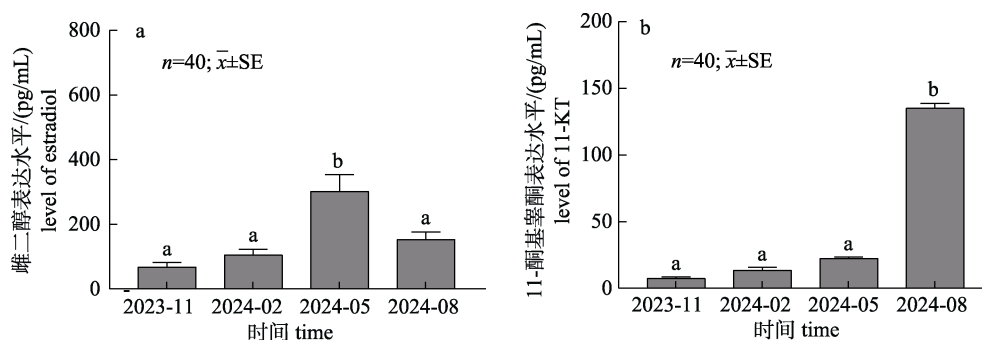


图 3 大鳍鲩血清中性类固醇激素含量周年变化特征

a. 雌二醇; b. 11-酮基睾酮. 柱形图上方字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 3 Annual changes of serum sex steroids levels in *Hemibarbus macropterus*

a. Estradiol; b. 11-KT. Different letters on the column indicate significant difference ($P < 0.05$).

程较为相似。另外, 在不同月份大鳍鲩卵巢组织切片中, 均可发现较高比例的第 II 时相卵母细胞 (图 2), 这些 II 时相卵母细胞可能在下一个生殖周期中重新进入卵子生长阶段直至成熟排放, 该现象在其他硬骨鱼类如比目鱼 (*Pleuronectes flesus*)^[31]、半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis* Günther)^[15] 中也有报道。

鱼类初级卵母细胞生长发育必需经历卵黄的生成和积累。在鱼类配子发育过程中, 卵黄可提供必需的营养和能量。鱼类卵黄生成机制可归结为两大类来源: 内源性及外源性^[27]。在本研究中, 在大鳍鲩发育成熟阶段的卵巢中可观察到两种不同大小的卵黄颗粒, 并且卵黄颗粒开始在卵母细胞的细胞膜边缘出现, 随后逐渐向细胞核区域迁移, 直至完全充满整个细胞质 (图 2c)。该卵黄形成过程在白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)^[32-33] 和半滑舌鲷^[34] 内也有发现。因此推断, 大鳍鲩的卵黄发生机制是外源性卵黄发生机制。

3.2 大鳍鲩的产卵类型以及产卵次数分析

鱼类繁殖具有周期性, 根据产卵习性可划分为周年一次性产卵型和多次产卵型两种类型。此外, 依据组织学发育特征, 鱼类卵巢可分为完全同步型、分批同步型和分批非同步型 3 种发育类型^[35]。完全同步型的鱼类, 如大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*)^[36], 卵巢中的卵母细胞发育同步, 且一生中仅排卵一次, 产后卵巢中不含有 III、IV 时相的卵母细胞。大鳞鲃 (*Luciobarbus capito*)^[37]、翎电鳗 (*Aptereronotus albifrons*)^[38] 等属于分批同步型, 卵

巢中存在两种或多种不同类型的卵母细胞, 通常每年排卵 1 次。稀有鮡鲫 (*Gobiocypris rarus*)^[39] 等分批非同步型的鱼类在一个生殖周期中会出现 2 个以上的 GSI 高峰, 且卵巢周年发育过程中 III 期卵母细胞持续存在。在本研究中, 大鳍鲩雌性亲鱼的性腺 GSI 只有 1 个峰值, 繁殖期 (5 月) 卵巢中可同时观察到 II、III、IV、V 时相卵母细胞 (图 2c)。以上结果表明, 大鳍鲩属于卵母细胞发育不同步、分批产卵类型 (分批同步型), 该产卵类型与同属的丝尾鲮 (*Dentex tumifrons*)^[40] 等鱼类的产卵类型相似, 这也与朱成科等^[41] 的观点一致。

3.3 大鳍鲩性腺指数与卵巢发育的关系

性腺指数 (GSI) 是衡量性腺成熟度的关键指标。借助监测 GSI 的变动情况, 可直接呈现亲鱼在产卵调控过程中的性腺发育与生长状况^[42]。本研究结果显示, 人工养殖大鳍鲩的繁殖产卵期开始于 5 月, 该产卵时间与涪江中下游和渠江下游流域^[2] 野生大鳍鲩的产卵期相似。在本研究中, 繁殖期大鳍鲩卵巢发育已达到 IV 期或 V 期, 性腺指数 (GSI) 达年度峰值, 此外全长和体重也显著升高至全年最大值; 进入 11 月, 卵巢进入休眠期, 此时 GSI 明显降低, 同时全长和体重也显著减少 (表 1)。这些结果表明大鳍鲩卵巢发育、性腺成熟系数与全长体重指数之间有着显著的相关性, 且呈现出明显的季节性变化规律。这与曲焕韬等^[43] 的观点相一致, 即性腺指数的增加与全长、体重指数的增大呈正相关, 反之亦然。在繁殖季节, 通过监测 GSI 的变化, 可以及时调整养殖环境和管理

措施,以促进亲鱼的性腺发育和产卵。同时,研究还发现,大鳍鲩的卵巢发育周期性变化与环境因素如水温、光照周期等密切相关^[41],这些因素可能通过影响性类固醇激素的分泌进而调控卵巢的发育。因此,未来的研究可以进一步探讨环境因素对大鳍鲩卵巢发育的具体影响机制,以及如何通过环境调控来优化人工繁殖策略。

3.4 大鳍鲩性类固醇激素含量的周年变化

E2 和 11-KT 是两种重要的性类固醇激素,其中 E2 是硬骨鱼类的主要雌激素,可以刺激卵巢发育以及肝脏产生卵黄前体蛋白^[44]; 11-KT 参与调节生殖系统的多种功能,包括促进卵泡发育、维持卵巢稳态以及影响生殖细胞的成熟过程。E2 和 11-KT 精确的调控机制对于确保雌性生殖健康及繁衍后代具有重要意义^[45],两者含量与性腺发育关系密切并呈季节性变化^[46-47]。本研究结果表明,大鳍鲩雌性亲鱼的性类固醇激素水平在不同月份和发育阶段间存在显著差异,在繁殖季 E2 表达水平达到峰值,卵巢退化开始后 E2 含量显著下降并维持低水平(图 3),该结果与虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[48]亲鱼中的激素变化趋势一致。在鱼类卵巢发育中卵黄蛋白合成启动前,E2 可与脑垂体分泌的促性腺激素相互配合,协同促进卵母细胞的增殖^[49],此结论与本研究结果一致,即 E2 可参与促进大鳍鲩亲本卵巢的发育成熟。另外,本研究还发现大鳍鲩雌性亲鱼性腺周年发育过程中 E2 表达水平在繁殖期(5 月)出现峰值,而 11-KT 的表达则在退化期(8 月)出现峰值(图 3)。在同为鲇形目的线尾半鲿(*Hemibagrus nemurus*)^[50]和西伯利亚鲟(*Acipenser baeri*)^[51]中,也呈现出类似的性类固醇激素变化规律,推测其原因可能是 11-KT 在雌鱼体内是 E2 的前体物质,可经芳香化酶作用转化为 E2,繁殖期结束后芳香化酶活性降低,导致 11-KT 含量上升^[52]。为完全理解这些激素表达模式背后的生物学意义,还需要进一步的深入研究,包括对其他性类固醇激素表达水平的测定以及环境因素对性类固醇激素表达的影响分析等。

4 结论

本研究通过形态学、组织学及性类固醇激素测定,系统分析了人工养殖大鳍鲩(*Hemibagrus macropterus*)雌性亲鱼卵巢发育特征及性类固醇激素的周年变化。结果表明,大鳍鲩卵巢发育具有明显的季节性,性腺指数(GSI)在繁殖期(5 月)达到峰值,为一次产卵类型。大鳍鲩卵巢内卵母细胞发育可分为 6 个发育时相(I~VI),其卵巢周年发育可分为启动发育期(11 月)、繁殖前期(2 月)、繁殖期(5 月)和退化期(8 月)。雌性大鳍鲩血清中的性类固醇激素水平与其卵巢发育紧密相关,其中血清中雌二醇(E2)表达水平在繁殖期(5 月)最高,睾酮(11-KT)含量在 8 月最高,可作为评估养殖大鳍鲩卵巢发育状况的重要指标。

参考文献:

- [1] Wu X W. Fauna economica sinica: freshwater fishes[M]. Beijing: Science Press, 1963: 132-133. [伍献文. 中国经济动物志—淡水鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 1963: 132-133.]
- [2] Zhou Y J. Biological data on *Mystus macropterus*[J]. Chinese Journal of Zoology, 1983, 18(2): 39-42. [周仰璟. 大鳍鲩的生物学资料[J]. 动物学杂志, 1983, 18(2): 39-42.]
- [3] Shi B N. Fishery resources and regional planning of rivers in Sichuan[M]. Chongqing: Southwest Normal University Press, 1990: 116-117. [施白南. 四川江河渔业资源和区划[M]. 重庆: 西南师范大学出版社, 1990: 116-117.]
- [4] Ding R H. Fishes of Sichuan[M]. Chengdu: Chengdu University of Technology Press, 1999: 468-470. [丁瑞华. 四川鱼类志[M]. 成都: 成都科技出版社, 1999: 468-470.]
- [5] Xiang X, Ye Y T, Zhou X H, et al. Digestive ability and nutritive value of *Mystus macropterus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(4): 371-376. [向泉, 叶元土, 周兴华, 等. 大鳍鲩的消化能力和营养价值[J]. 水产学报, 2003, 27(4): 371-376.]
- [6] Zhang M, Liu W, Li G. Isolation and characterisation of collagens from the skin of largefin longbarbel catfish (*Mystus macropterus*)[J]. Food Chemistry, 2009, 115(3): 826-831.
- [7] Yang D G, Wu G X, Zhou J G, et al. Training and culturing techniques of parent fish of the bagridae catfish *Mystus macropterus* in pond[J]. Freshwater Fisheries, 1996, 26(2): 3-6. [杨德国, 吴国犀, 周剑光, 等. 大鳍鲩亲鱼池塘驯养和培育技术[J]. 淡水渔业, 1996, 26(2): 3-6.]

- [8] Yao J J, An M, Jiang H B, et al. Amino acid and fatty acid composition in *Mystus macropterus* during reproducing stage[J]. Journal of Tongren University, 2009, 11(2): 79-83. [姚俊杰, 安苗, 姜海波, 等. 大鳍鲩繁殖期主要组织器官的氨基酸和脂肪酸组成[J]. 铜仁学院学报, 2009, 11(2): 79-83.]
- [9] Wang D S, Luo Q S. Aspects the reproductive biology of the bagridae catfish *Mystus macropterus* in the Jia Ling River[J]. Journal of Fisheries of China, 1992, 16(1): 50-59. [王德寿, 罗泉笙. 大鳍鲩的繁殖生物学研究[J]. 水产学报, 1992, 16(1): 50-59.]
- [10] Yang D G, Zhou J G, Wu G X, et al. Artificial propagation of *Mystus macropterus* in the Yangtze River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1998, 5(2): 26-30. [杨德国, 周剑光, 吴国犀, 等. 长江大鳍鲩的人工繁殖[J]. 中国水产科学, 1998, 5(2): 26-30.]
- [11] Li X L, Zhu Y J, Yang D G, et al. Research progress and prospect of artificial propagation of *Mystus macropterus*[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2023, 50(2): 128-132. [李晓莉, 朱永久, 杨德国, 等. 大鳍鲩人工繁殖研究进展及前景展望[J]. 水产科技情报, 2023, 50(2): 128-132.]
- [12] Liu W B, Zhang X J. Study on the development and annual change in the ovary of *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2003, 26(2): 73-78. [刘文彬, 张轩杰. 黄颡鱼的卵巢发育和周年变化[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2003, 26(2): 73-78.]
- [13] Adenike F A, Shapor S S, Azni S H, et al. Plasma sex steroid hormonal profile and gonad histology during the annual reproductive cycle of river catfish *Hemibagrus nemurus* (Valenciennes, 1840) in captivity[J]. Fish physiology and biochemistry, 2013, 39(3): 547-557.
- [14] Jia Y H, Huang H Z, Li Q Q, et al. Growth and seasonal changes of sex steroids level and gonad development in female and male *Pseudobagrus ussuriensis*[J]. Marine Sciences, 2012, 36(3): 61-66. [贾一何, 黄鹤忠, 李倩倩, 等. 池养乌苏里拟鲿雌雄鱼生长及周年性激素与性腺发育研究[J]. 海洋科学, 2012, 36(3): 61-66.]
- [15] Liu X Z, Xu Y J, Liu N Z, et al. Study on histological and morphometric characters of gonad development of *Cynoglossus semilaevis Günther*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(6): 25-35. [柳学周, 徐永江, 刘乃真, 等. 半滑舌鲷卵巢发育的组织学和形态数量特征研究. 渔业科学进展, 2009, 30(6): 25-35.]
- [16] Kishida M, Anderson T R, Specker J L. Induction by 17 β -estradiol of vitellogenin in striped bass (*Morone saxatilis*): characterization and quantification in plasma and mucus[J]. General and Comparative Endocrinology, 1992, 88(1): 29-39.
- [17] Cochran R C. In vivo and in vitro evidence for the role of hormones in fish spermatogenesis[J]. Journal of Experimental Zoology, 2005, 261(2): 143-150.
- [18] Geraudie P, Gerbrun M, Minier C. Seasonal variations and alterations of sex steroid levels during the reproductive cycle of male roach (*Rutilus rutilus*)[J]. Marine Environmental Research, 2009, 69 (Suppl.1): S53-S55.
- [19] Wang T F, Zhang D Y, Guo C Y, et al. The gonadal development and changes of serum steroid levels of cultured *Pampus argenteus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(2): 198-211. [王腾飞, 张鼎元, 郭春阳, 等. 养殖银鲴性腺发育规律和性类固醇激素变化[J]. 水产学报, 2017, 41(2): 198-211.]
- [20] Gu W, Xu G F, Hu G, et al. Seasonal changes of serum steroid levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) of the selection population[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(3): 697-701. [谷伟, 徐革锋, 户国, 等. 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)选育群体的血清类固醇激素周年变化[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 697-701.]
- [21] Sun P, Wu Z H, You F, et al. Annual cycle change of sex steroid hormones in cultured *Paralichthys olivaceus*[J]. Marine Fisheries, 2013, 35(4): 453-459. [孙鹏, 吴志昊, 尤锋, 等. 养殖牙鲆性类固醇激素的周年变化[J]. 海洋渔业, 2013, 35(4): 453-459.]
- [22] Mazón J M, Molés G, Rocha A, et al. Gonadotropins in European sea bass: Endocrine roles and biotechnological applications[J]. General and Comparative Endocrinology, 2015: 221: 31-41.
- [23] Polat, H. Ozturk C R, Terzi Y, et al. Effect of photoperiod manipulation on spawning time and performance of turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Aquaculture Studies, 2021, 21(3): 109-115.
- [24] Reetuparna B, Alivia R, Umesh R. Seasonality of reproduction in male spotted murrell *Channa punctatus*: correlation of environmental variables and plasma sex steroids with histological changes in testis[J]. Fish physiology and biochemistry, 2016, 42(5): 1249-1258.
- [25] Chen S Q, Zhu Y J, Wu X B, et al. Morphological development of embryos and larvae of *Mystus macropterus*[J]. South China Fisheries Science, 2023, 19(6): 60-70. [陈思奇, 朱永久, 吴兴兵, 等. 大鳍鲩胚胎及仔稚鱼发育观察[J]. 南方水产科学, 2023, 19(6): 60-70.]
- [26] Liu Y. Reproductive physiology of cultured fishes in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1993: 29-42, 42-46, 53-55. [刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生理学[M]. 北京:

- 农业出版社, 1993: 29-42, 42-46, 53-55.]
- [27] Teresa F, Nathan W, Bradley P H, et al. A comprehensive description of oocyte developmental stages in Pacific halibut, *Hippoglossus stenolepis*[J]. Journal of fish biology, 2020, 97(6): 1880-1885.
- [28] Xu J S. Studies on oogenesis in *Mystus macropterus*[D]. Chongqing: Southwest China Normal University, 2002: 14. [徐吉山. 大鳍鲩卵子发生的研究[D]. 重庆: 西南师范大学, 2002: 14.]
- [29] Xie S L, Fang W P, Chen J T, et al. Histological observation of gonadal development in cultured *Mystus guttatus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2014, 29(2): 147-150. [谢少林, 房伟平, 陈金涛, 等. 养殖斑鲩的性腺发育及其组织学观察[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(2): 147-150.]
- [30] Fang Z Q, Zheng W B, Ma G Z, et al. Ultrastuctural observations on the chorion formation and yolk generation of *silurus asotus*[J]. Journal of South China Normal University, 2002, 34(2): 25-31. [方展强, 郑文彪, 马广智, 等. 鲇卵膜形成和卵黄发生的超微结构观察[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2002, 34(2): 25-31.]
- [31] Janssen P A H, Lambert J G D, Goos H J T. The annual ovarian cycle and the influence of pollution on vitellogenesis in the flounder *Pleuronectes flesus*[J]. Journal of Fish Biology, 1995, 47(3): 509-523.
- [32] Tucker K E, Zurliene E M, Suski D C, et al. Gonad development and reproductive hormones of invasive silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) in the Illinois River[J]. Biology of Reproduction, 2019, 102(3): 647-659.
- [33] Lou Y D. Histology and embryology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999: 126-136. [楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 126-136.]
- [34] Chen C F, Wen H S, Chen X Y, et al. Studies on ovarian development and spawn type of cultured half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*[J]. Marine Sciences, 2010, 34(8): 29-34. [陈彩芳, 温海深, 陈晓燕, 等. 人工养殖半滑舌鲷卵巢发育及其产卵类型研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(8): 29-34.]
- [35] Shi F. Fish physiology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1991: 300-319. [施琅芳. 鱼类生理学[M]. 北京: 农业出版社, 1991: 300-319.]
- [36] Wang J L, Tang F J, Zhu Z, et al. Characteristics and analysis of colony structure of breeding *migratory salmon* in Autumn Wusuli river[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2011, 37(21): 120-123. [王继隆, 唐富江, 朱翥, 等. 乌苏里江秋大麻哈鱼生殖洄游群体结构特征与分析[J]. 湖南农业科学, 2011, 37(21): 120-123.]
- [37] Wang S Z, Zhang Y, Geng L W, et al. Growth, sexual hormone levels in serum and gonadal development in barbell *Luciobarbus capito*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2016, 31(4): 351-356. [王四泽, 张颖, 耿龙武, 等. 大鳞鲂生长、血清性激素水平和性腺发育的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2016, 31(4): 351-356.]
- [38] Ha C X, Yang C H, Wang W, et al. Histological observation of ovarian development of apteronotid eel *Apteronotus albifrons*[J]. Fisheries Science, 2021, 40(3): 403-408. [哈承旭, 杨翠华, 王玮, 等. 翎电鳗卵巢发育组织学研究[J]. 水产科学, 2021, 40(3): 403-408.]
- [39] Li X, Ye H, He Y F, et al. Sperm cryopreservation of *Gobiocypris rarus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2024, 48(10): 1745-1757. [李鑫, 叶欢, 何勇凤, 等. 稀有鮡鲫精子超低温冷冻保存[J]. 水生生物学报, 2024, 48(10): 1745-1757.]
- [40] Zhang X Z, Zhang Z X, Xue C J, et al. Biological characteristics and artificial breeding technology of *Mystus wyckioides* Chaux et Fang[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2014, 21: 274-276. [张正兴, 张正雄, 薛晨江, 等. 丝尾鲮生物学特性及人工养殖技术[J]. 现代农业科技, 2014, 21(21): 274-276.]
- [41] Zhu C K, Zheng Y H, Gao Y Y, et al. Studies on biological characteristics and prospects of artificial breeding and cultivation of *Mystus macropterus*[J]. Reservoir Fisheries, 2007, 27(5): 86-89. [朱成科, 郑永华, 高元彧, 等. 大鳍鲮的生物学特性和人工繁殖前景研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(5): 86-89.]
- [42] Dai Q, Dai J H, Li C, et al. Discussion relative fatness[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2006, 12(5): 715-718. [戴强, 戴建洪, 李成, 等. 关于肥满度指数的讨论[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(5): 715-718.]
- [43] Qu H T, Liu Y, Yang Y J, et al. Histological change in annual development of ovary in gudgeon *Rhinogobio ventralis*[J]. Fisheries Science, 2015, 34(1): 32-37. [曲焕韬, 刘勇, 杨元金, 等. 长鳍吻鮡卵巢发育组织学及周年变化的初步研究[J]. 水产科学, 2015, 34(1): 32-37.]
- [44] Anita H P, Dale B H. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones[J]. Endocrine reviews, 2004, 25(6): 947-70.
- [45] Hu H X, Chang B B, Wang W, et al. Function and research progress of 11-ketotestosterone in gonadal development of sturgeon[J]. China Fisheries, 2020, 5: 96-98. [胡红霞, 常贝贝, 王巍, 等. 11-酮基睾酮在鲟鱼性腺发育中的功能及研究进展[J]. 中国水产, 2020, 27(5): 96-98.]
- [46] Modesto T, Canário V A. Morphometric changes and sex steroid levels during the annual reproductive cycle of the

- Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*[J]. General and Comparative Endocrinology, 2003, 131(3): 220-231.
- [47] Onuma T, Higashi Y, Ando H, et al. Year-to-year differences in plasma levels of steroid hormones in pre-spawning chum salmon[J]. General and Comparative Endocrinology, 2003, 133(2): 199-215.
- [48] Bhat A R, Kumar J, Fazio F, et al. Cyclic Variations of ovarian development, hormones and sex related genes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during different growth stages[J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2024, 24(7): TRJFAS25504.
- [49] Carvalho D A V C, Passini G, Costa M D W, et al. Effect of estradiol-17 β on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*)[J]. Acta Scientiarum: Animal Sciences, 2014, 36(3): 239-245.
- [50] Adenike F A, Shapor S S, Azni S H, et al. Plasma sex steroid hormonal profile and gonad histology during the annual reproductive cycle of river catfish *Hemibagrus nemurus* (Valenciennes, 1840) in captivity[J]. Fish physiology and biochemistry, 2013, 39(3): 547-557.
- [51] Hamlin, J. H, Milnes, et al. Gonadal stage and sex steroid correlations in siberian sturgeon, *Acipenser baeri*, habituated to a semitropical environment[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2011, 42(3): 313-320.
- [52] Chang C F, Hung C Y, Chiang M C, et al. The concentrations of plasma sex steroids and gonadal aromatase during controlled sex differentiation in grey mullet, *Mugil cephalus*[J]. Aquaculture, 1999, 177(1-4): 37-45.

Annual changes in ovarian development and sex steroid levels in female cultured large fin long barbel catfish (*Hemibagrus macropterus*) broodstocks

LI Zuyang^{1,3}, LI Shuang², YUE Huamei¹, YE Huan¹, CHEN Yuankun², RUAN Rui¹, XIE Yong^{2*}, LI Chuangju^{1*}

1. Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of China; Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;
2. Chongqing Fishery Sciences Research Institute, Chongqing 400020, China;
3. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: The largefin long barbel catfish (*Hemibagrus macropterus*) is an economically important fish species in China. Although breakthroughs have been made in the artificial breeding technology of *H. macropterus*, obstacles such as imperfect broodstock cultivation and low fertilization rates remain. Therefore, it is essential to strengthen research on the reproductive biology of broodstocks of this species. In this study, morphological measurements, histological analysis of ovarian tissues, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of serum were performed to investigate the annual changes in ovarian development and sex steroid hormone levels in female large fin long barbel catfish broodstocks under artificial breeding conditions. The fish used in this study were cultured at the Changshou Experimental Farm of the Chongqing Fishery Sciences Research Institute. From October 2023 to August 2024, 40 female *H. macropterus* broodstock were sampled every three months with 10 fish sampled in each sampling month. The body weight and total length of *H. macropterus* used in the experiment were 122.20 to 494.50 g and 26.20 to 44.0 cm, respectively. Individually sampled fish were anesthetized using 100 mg/L MS-222, and their body weight and total length were measured. Blood samples were collected from each fish via caudal venipuncture and allowed to coagulate at 4 °C for 12 h. Serum was obtained by centrifugation at 3000 g for 10 min. The ovary samples were dissected and weighed, and the anterior, middle, and posterior parts were immersed in Bouin's solution for histological analyses. Commercial ELISA kits were used to measure estradiol (E2) and testosterone (11-KT) levels in serum. The results showed that the gonadosomatic index (GSI) of female *H. macropterus* broodstocks varied between 0.57 and 12.16 throughout the year, reaching its peak (12.16 ± 0.67) in May when they entered the breeding season. In August, the GSI value decreased, and the ovaries

began to degenerate. From November to February of the following year, the GSI were not significantly changed compared with that of August, and kept at a low level ranging from 0.57 to 0.82. Based on their morphological characteristics, oocytes in the ovaries of the sampled fish were divided into six stages (I~VI): immature oogonia (I), primary growth (II), cortical-alveolar (III), vitellogenic (IV), mature (V), and degeneration (VI). By comparing the proportion of oocytes in each sampling month, ovarian development was classified into four stages: the initial development stage (November; dominated by stage II and III oocytes), pre-breeding stage (February; with the highest area ratio of stage III oocytes), breeding stage (May; oocytes from stages II to VI occurred simultaneously with stage V oocytes occupying the highest area proportion), and degeneration stage (August; mostly stage II and III oocytes). In the May spawning season, the expression level of E2 in the serum of *H. macropterus* broodstocks peak at 301.15 pg/mL and then decreased significantly in the subsequent degeneration stage in August. Conversely, the 11-KT content was the highest in August (135.00 pg/mL), which was significantly different from that in the other three sampling months ($P<0.05$). These results indicate that the female large fin long barbel catfish belong to the single spawning type, with only one peak in the annual GSI, and the breeding season begins in May. The levels of hematological sex steroid hormones are closely related to the stages of ovarian development and can be used as important indicators to assess the ovarian developmental status of cultured *H. macropterus*. The results of this study provide a reference for further research on the reproductive regulation of large fin long barbel catfish broodstock and for improving the efficiency of artificial breeding of this species.

Key words: *Hemibagrus macropterus*; cultured broodstock; annual ovary development; GSI; estradiol; testosterone; sex steroids

Corresponding author: LI Chuangju, E-mail: lcj@yfi.ac.cn; XIE Yong, E-mail: 799091142@qq.com