

日本鳗鲡排卵的人工诱导

柳 凌, 郭 峰, 张洁明, 鲁大椿

(农业部淡水鱼类种质资源与生物技术重点开放实验室, 中国水产科学研究院 长江水产研究所, 湖北 荆州 434000)

摘要:对日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)卵巢发育的时间与催产率的关系进行研究, 对卵母细胞在体内胚泡破裂(GVBD)的发生过程, 以及用 17α -OH₂P 和 $17\alpha, 20\beta$ -DHP 诱导日本鳗鲡排卵的方式、时机和催产效果进行观察, 结果表明, 卵巢发育时间越长, 催产率越低。造成催产率低的原因主要是由于日本鳗鲡在卵母细胞成熟后期, 雌鲡个体对催产药物敏感性差异较大, 催产时机难以掌握。通过采用适合日本鳗鲡卵母细胞的透明液观察 GVBD 的发生过程, 并根据每个个体 GVBD 的发生速度, 制订适宜的催产方案基本解决了上述难题。本实验采用 CP、HCG、 17α -OH₂P 或 $17\alpha, 20\beta$ -DHP 混合催产, 使其平均催产率由 35.4% 分别提高到 91.9% 和 93.0%。 17α -OH₂P 和 $17\alpha, 20\beta$ -DHP 的催产剂量为 5 mg/(500 g) 和 10 mg/(500 g)。在 $(21 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 水温条件下, 催产效应时间分别为 15~18 h 和 13~16 h。

关键词:诱导排卵技术; 胚泡破裂(GVBD); 催产率; 日本鳗鲡

中图分类号: Q959.469 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)01-0049-07

对日本鳗鲡(*Anguilla japonica* Temminck & Schlegel)进行人工诱导排卵的研究始于 20 世纪 30 年代。1934 年 Boucher^[1]报道首次用孕妇尿对欧洲鳗(*Anguilla anguilla*)的精巢催熟成功。1964 年 Fontaine^[2]报道用鲤鱼脑垂体对雌性欧洲鳗催熟成功并排卵, 但卵子未能受精。1970 年日本学者首次对 5 尾日本鳗鲡进行了催熟和催产试验, 并使 1 尾雌鳗排卵成功^[3]。我国学者王义强^[4]于 20 世纪 70 年代开始研究日本鳗鲡人工繁殖, 1974 年首次报道日本鳗鲡人工催产成功, 并获得一批仔鱼。此后, 我国的谢刚^[5]对日本鳗鲡人工催产进行了多年的研究, 取得了一定的进展。但到目前为止, 国内外对日本鳗鲡的催产率仍保持在 30%~40% 的水平^[3,6]。

1986 年开始对日本鳗鲡人工育苗技术进行了研究。研究过程中发现, 许多研究内容需要在较高催产率的前提下才能完成。而目前 30%~40% 的催产率很难满足与人工育苗有关试验的开展。因此, 本实验在前人研究的基础上, 专门针对日本鳗鲡人工催产进行了一些技术和方法的研究, 旨在提高日本鳗鲡的催产率, 从而为进一步开展人工育苗技术研究提供可靠的技术保证。

1 材料与方法

1.1 亲鳗来源

所用亲鳗均取自每年 11 月中旬珠江口的下海野生鳗, 选择体质健壮, 无病害的鳗鲡作为实验用鱼, 雌鳗体重为 550~650 g, 雄鳗为 250~400 g。所有亲鳗运回中国水产科学研究院长江水产研究所养鱼房后, 先在盐度 15~20 的海水中暂养 10 d, 然后根据试验要求分组养殖于盐度为 30 的人工海水的玻璃钢水槽中, 每水槽蓄水体积 1 m³, 每组亲鳗数为 15 尾, 其中雌鳗 6 尾, 雄鳗 9 尾。

1.2 条件设置

所有实验组在催熟、催产期间, 其水环境条件必须尽量保持一致。海水盐度为 30 ± 0.5 (日本产 Sakai-100 型盐度计测定, NaCl 调整)。海水中 Mg^{2+} 质量浓度为 1 160~1 165 mg/L; Ca^{2+} 质量浓度为 325~330 mg/L (EDTA 容量法滴定, 分别用 MgCl_2 、 CaCl_2 调整)。pH 6.8~7.0 (NaHCO_3 调整)。水温用自制控温仪控制, 催熟水温随季节变化分别为 18~21 $^\circ\text{C}$, 昼夜温差为 $\pm 0.5^\circ\text{C}$ 。催产水温为 $(21 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 。所有实验水槽均加盖, 起遮光、保温、防止水分蒸发和盐度改变的作用。海水采用循环过滤, 增氧。

收稿日期: 2004-02-11; 修订日期: 2004-07-05。

基金项目: 中国水产科学研究院基金项目资助(2001-1-4)。

作者简介: 柳 凌(1959-), 男, 副研究员, 主要从事鱼类生殖生理研究。E-mail: liul@yfi.ac.cn

1.3 外源激素诱导卵巢发育

实验亲鳊在盐度 30 的海水中暂养 10 d 后,开始用外源激素诱导卵巢发育。外源激素采用定期肌肉注射。之前的研究已经证明,诱导日本鳊卵巢发育成熟所需外源激素的总量是定值。通过对每针注射剂量的调整,环境条件不变时,在一定时间范围内,日本鳊卵巢发育时间是可以控制的^[6]。实验

中采用的外源激素剂量为:每 500 g 雌鳊注射 4.5 mg 鲤鱼垂体(carp pituitary, CP)与 450 IU 人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)混合液;雄鳊剂量减半,且比同组雌鳊晚 2 针开始注射。根据实验预期卵巢成熟所需时间,设计卵巢催熟方案(表 1)进行外源激素诱导卵巢发育。

表 1 日本鳊卵巢催熟方案

Tab.1 Project of inducing ovarian maturation in Japanese eel

卵巢成熟所需时间/d Time of ovarian maturation	每针注射剂量* Dosages of each injection	注射针距/d Interval between two injections	注射总次数 Total times of injections
80 ± 5	(0.5 mg CP + 50 IU HCG)/(500 g)	10	9
95 ± 5	(0.5 mg CP + 50 IU HCG)/(500 g)	12	9
110 ± 5	(0.45 mg CP + 45 IU HCG)/(500 g)	12	10
>125	(0.35 mg CP + 35 IU HCG)/(500 g)	12	>11

* CP—Carp pituitary. HCG—Human chorionic gonadotropin.

1.4 胚泡破裂(GVBD)发生过程观察

当亲鳊卵巢发育到预期时间后,观察亲鳊副性征变化情况。选择体长胸围比达到(60~70):(14~16)、除胸鳍基部还留有一点白色外,其余全部变黑、生殖孔开始扩张的亲鳊,用自制挖卵器挖卵。将挖出的卵置于适合观察鳊 GVBD 发生过程的透明液中,放置 30 s 后,在放大倍数为 10⁴ 的 Nikon 倒置显微镜下观察卵的透明程度及 GVBD 的发生情况。记录被检卵数和发育程度不同的卵数并进行相差显微照相,同时用测微尺测量卵径。同一条鱼在催产期间,早期间隔 12 h 挖卵检查 1 次,后期 6 h 检查 1 次。注射催产针 6 h 后,每 2 小时挖卵检查 1 次。

1.5 催产方式

将用挖卵器挖出的卵置于透明液中观察,当 70% 以上的卵边缘 1/3 处开始透明,胚泡在卵母细胞中央隐约可见时(图版 I-2),即可开始催产前第 1 次注射。注射剂量为该组的催熟剂量。根据胚泡在卵母细胞中的移动速度,有时需进行第 2 次催熟注射。当胚泡偏移到卵的边缘时(图版 I-4),即可开始催产注射。催产基本药物和剂量分别为(2 mg CP + 500 IU HCG)/(500 g)、(5 mg CP + 500 IU HCG)/(500 g)、(10 mg CP + 1 000 IU HCG)/(500 g)。对每次催产的结果进行记录,然后对各实验组的催产结果进行统计,计算出各自的平均催产率,从中筛选出最佳对照组。根据实验要求在选出的对照组剂

量中分别添加 17 α -羟基孕酮(17 α -OHP) 2 mg、5 mg 和 10 mg,或 17 α ,20 β -二羟孕酮(17 α ,20 β -DHP) 2 mg、5 mg 和 10 mg。实验结果同样进行平均催产率统计。17 α -OHP 和 17 α ,20 β -DHP 均为 SIGMA 公司生产。

2 结果与分析

2.1 卵巢成熟时间与催产率的关系

采用不同的催熟方式可获得经历不同时间成熟的卵巢^[4]。实验中,根据表 1 所列的方法催熟获得的雌鳊卵巢成熟时间分别为(80 ± 5) d、(95 ± 5) d、(110 ± 5) d 和 125 d 以上。

图 1 为 1988~2001 年,采用不同 CP 与 HCG 混合物剂量对上述不同发育时间卵巢的雌鳊催产后,所得平均催产率的比较结果。从图 1 可看出,随着卵巢成熟时间的延长,催产率逐渐降低。以效果最好的(5 mg CP + 500 IU HCG)/(500 g)为例,卵巢成熟时间在 80 d 左右时,催产率为 54.6%;95 d 时,催产率为 47.8%;110 d 时,催产率降为 30.4%;而 125 d 时的催产率只有 8.7%。

2.2 GVBD 发生过程观察

图版 I 显示了日本鳊卵子 GVBD 发生的全过程。图版 I-1 为尚未成熟的卵子,在透明液中卵完全不透明,卵径约 500 μ m;图版 I-2 为卵子完成生长期,进入最后成熟期,在透明液中,卵子外缘

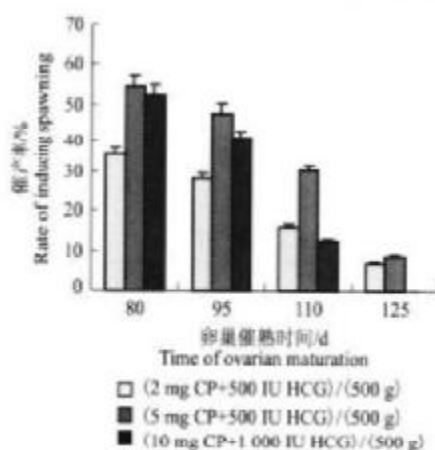


图1 卵巢成熟时间与催产率的关系

Fig.1 Relationship between the time of ovarian maturation and the rate of inducing spawning

约1/3透明,胚泡位于卵子的中央,周围由不透明的卵黄物质和分散的油球包围,卵径600 μm ;图版I-3为胚泡开始向卵子边缘移动,胚泡位于卵子半径的1/2处,卵径600~700 μm ;图版I-4为胚泡

到达卵子的边缘,油球开始集中,但不可数,卵径600~700 μm ;图版I-5,胚泡开始破裂,第2极体排出,卵子完成第2次成熟分裂,卵径700~800 μm ;图版I-6显示了日本鳗鲡卵子最后成熟阶段的一种特殊情况。卵子开始呈现出退化特征,即集中的油球开始扩散、卵径进一步扩大,800 μm 以上,卵崩塌、无弹性。但与其他鱼类的退化卵不同,卵母细胞的胚泡未破裂。

表2列出了GVBD发生过程中各阶段所需的时间。以胚泡位于卵子中央的时间为0 h开始计算,胚泡从卵子中央移动到卵子1/2处的间隔时间为24~36 h,由1/2处移动到卵子边缘的间隔时间为12~24 h。胚泡到达卵子边缘后并不是立即破裂,而是有一个等待时间,6~10 h,然后胚泡才开始破裂。从胚泡破裂到动物极下包至整个卵的1/3所需时间为4~8 h。为了表达方便,作者将胚泡到达卵子边缘时就认为GVBD开始发生。因此,表2中完成GVBD的间隔时间为10~18 h。

表2 胚泡破裂(GVBD)发生过程所需的时间
Tab.2 Time used for GVBD occurring process

卵子胚泡破裂过程各阶段 Stage of GVBD*	胚泡位于卵子中央 GV located at the center of oocyte	胚泡位于卵子1/2处 GV located at the 1/2 of oocyte	胚泡达到卵子边缘 GV located at the edge of oocyte	完成GVBD GVBD finishing
完成此发育阶段所需时间 Time for development in each stage	0	24~36	12~24	10~18

* GVBD—Germinal vesicle breakdown.

2.3 不同催产药物和剂量对催产率的影响

在进行对照组筛选试验中发现,采用(2 mg CP + 500 IU HCG)/(500 g)催产时,其平均催产率最低,为21.7%。且催产效应时间普遍延长。而且有少数个体出现雌鳗不发情,但有排卵的现象。实验中用这些排出的卵进行人工受精,均未获得受精卵。这些卵放在透明液中观察,胚泡已破裂,卵呈现胚泡完全破裂、卵无弹性、卵径扩大、油球扩散等一般卵的退化症状。采用高剂量的(10 mg CP + 1 000 IU HCG)/(500 g)催产时,其平均催产率为26.4%。且大多数亲鳗出现与低剂量催产完全相反的症状。雌鳗可观察到发情现象,即雌雄亲鳗在效应时间内游向水面,相互追逐,雄鱼排精,但雌鱼不排卵。挖卵检查,在透明液中,卵呈现一般卵的退化症状,但不同的是胚泡不破裂,如图版I-6所示。作者曾采

用连续催产的方法,即对这种不排卵的雌鳗每11小时注射1次催产针,连续5针后,雌鳗仍未排卵,胚泡也未破裂。采用(5 mg CP + 500 IU HCG)/(500 g)催产后的效果最好,其平均催产率为35.4%,达到了目前国内外的平均水平。因此,将其确定为对照组。

表3为采用不同剂量的17 α -OHP和17 α ,20 β -DHP对成熟雌鳗催产后与对照组的效果比较。从表3可看出,采用17 α -OHP或17 α ,20 β -DHP催产,二者的催产率无明显差异。其中2 mg/(500 g)剂量偏低,而5 mg和10 mg均能达到较高的催产率。二者与对照组比较,平均总催产率由35.4%分别提高到91.9%和93.0%。特别是对卵巢发育时间长的雌鳗,效果更佳,卵巢发育125 d以上的平均催产率由8.7%提高到92.6%。

2.4 催产时机及催产效果

催产期间,日本鳗鲡对外源激素的敏感性个体差异很大。如果统一采用第1针催熟后24 h开始催产,或第1针催熟后24 h再打第2针催熟,12 h

后催产,催产率均很低。必须根据每个个体在打完第1针催熟后,胚泡移动的速度决定是否打第2针催熟和确定直接催产的时机。

表3 17α -OHP 和 $17\alpha,20\beta$ -DHP 催产效果

Tab.3 Effects of inducing spawning with 17α -OHP and $17\alpha,20\beta$ -DHP

注射激素 Hormone	注射剂量/ [mg·(500 g) ⁻¹] Dosage	80 d		95 d		110 d		125 d		总平均催产率/% Total average rate of inducing spawning
		n	R _s	n	R _s	n	R _s	n	R _s	
17α -OHP	2	24	62.8	21	55.0	25	34.9	20	10.0	40.7
	5	26	93.7	26	91.8	26	92.6	25	89.4	91.9
	10	26	91.1	23	89.9	25	90.0	26	90.7	90.4
$17\alpha,20\beta$ -DHP	2	22	65.5	20	57.4	24	36.5	26	19.4	44.7
	5	28	91.8	25	90.9	26	91.8	23	92.6	91.8
	10	25	95.6	26	93.7	26	92.1	25	90.5	93.0
对照组 Control		27	54.6	26	47.8	30	30.4	28	8.7	35.4

注:n 为样本数量;R_s 为催产率, %。

Note: n—Sample numbers. R_s—Induced spawning rate, %.

当胚泡位于卵母细胞中央时(图版 I-2),即可开始催产前第1次催熟注射。24 h后,如果胚泡已移动到卵母细胞边缘(图版 I-4),该个体就可进行催产。如果24 h后,该个体胚泡只移动到卵母细胞的1/2处(图版 I-3),则需进行第2次催熟。12 h后,胚泡就会达到卵母细胞边缘(图版 I-4),然后可进行催产。

注射催产针后,对雌鳗进行连续挖卵观察,在(21±0.5)℃的水温中,两种激素分别诱导卵子GVBD发生的时间如图2所示。

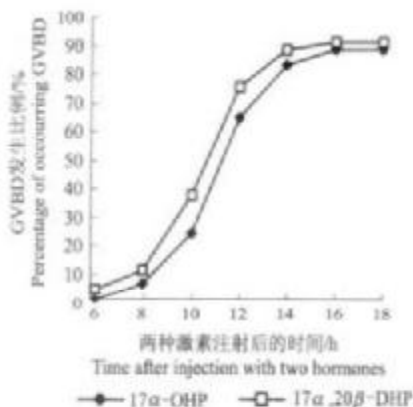


图2 GVBD发生比例与两种激素作用时间的关系

Fig.2 Relationship between percentage of occurring GVBD and treated time of the two hormones

从图2可看出, 17α -OHP 诱导卵母细胞GVBD发生的高峰期主要集中在注射后的15~17 h。观察273粒卵后,计算发生比例为88.9%。而 $17\alpha,20\beta$ -DHP 诱导卵母细胞GVBD发生的高峰期主要集中在注射后的13~15 h。观察296粒卵后,计算发生比例为85.9%。由此可见, 17α -OHP在体内诱导日本鳗鲡卵母细胞GVBD发生所需时间比 $17\alpha,20\beta$ -DHP 约长2 h。实际记录 17α -OHP 诱导排卵的效应时间为15~18 h, $17\alpha,20\beta$ -DHP 诱导排卵的效应时间为13~16 h。

实验还发现,由于卵母细胞处在图版 I-4 的状态时间6~10 h,因此选择适当的催产时机非常关键。如果注射过早,滤泡细胞未破,但GVBD已经发生,其结果产出的是过熟卵。如果注射过晚,滤泡细胞已破,但GVBD仍未发生,产出的卵仍不能受精。但两种激素间有区别,用 $17\alpha,20\beta$ -DHP 催产,如果过晚,可将卵在腹腔内放置一段时间(0.5~2 h),仍可受精;而对于 17α -OHP,无论如何都不可能受精。

3 讨论

3.1 卵巢发育时间对催产率的影响

与其他鱼类不同,在人工条件下,日本鳗鲡必须在外源激素诱导下才能完成性腺发育的全过程。外源激素的长期作用下可能对日本鳗鲡自身内分泌系

统性腺发育的调控产生了一定的影响^[3]。这种影响在本实验中表现为:用同样的条件,同样的催产方式,不同性腺发育时间的雌鳗,其催产率差异很大。性腺发育在80 d左右的催产率可以达到54.6%,而性腺发育在125 d以上的雌鳗,催产率只有8.7%。但外源激素是通过何种方式、何种内分泌调控途径、影响性腺发育的程度、以及是否可以降低或消除这些影响尚需进行大量的研究工作。除此之外还发现,日本鳗鲡在卵巢发育后期以及卵母细胞最后成熟期,个体间对外源激素的敏感性差异很大,这也是导致目前催产率低的一个主要原因。而在卵巢发育早期是否存在这种差异,尚无确凿的证据。如果只存在较小的差异,是否能证明这种差异也是由于外源激素长期作用所导致的同样结果有待进一步的研究。

3.2 催产时机对催产率的影响

对日本鳗鲡催产时机的把握是提高催产率的一个关键因素。本研究发现,日本鳗鲡在催产后,雌鳗发情、卵母细胞游离、以及GVBD发生三者往往不同步。其原因可能是雌鳗个体对催产药物敏感性存在个体差异所致。对催产时机的把握,王义强^[4]是根据雌鳗外部形态特征与解剖后雌鳗的成熟系数进行比较,然后对繁殖群体是否能进行催产作出判断。多部田修^[3]报道日本学者除了采用了王义强的方法外,还对一些繁殖个体进行了挖卵切片观察GVBD的发生情况。但由于进行组织切片所需的时间关系,仍未能对每个繁殖个体催产时机作出判断。作者通过几年的研究,筛选出了适合观察日本鳗鲡卵母细胞GVBD发生过程的透明液。依靠透明液,可在1 min内对繁殖的每个个体卵母细胞发育情况作出准确的判断,从而对繁殖的每条雌鳗制订出适合的催产方案。这为提高催产率提供了可靠的保证。

3.3 催产药物对催产率的影响

我国采用的日本鳗鲡催产药物主要为鲤鱼脑垂体(CP)与人绒毛膜促性腺激素(HCG)混合制剂。最近又有使用促黄体释放激素类似物(LHRH-A)与地欧酮(DOM)混合制剂诱导排卵成功的报道^[8]。日本采用的是CP、HCG、 $17\alpha, 20\beta$ -DHP混合制剂,而认为CP、HCG、 17α -OHP混合制剂的催产效

果很差。多部田修^[3]曾对卵巢发育时间在110 d以上的产卵前雌鳗血液中的 17α -OHP进行了测定,结果发现产卵前的雌鳗 17α -OHP含量几乎为零。而Nagahama^[9]和Scott^[10]分别在研究了鱼类卵母细胞成熟机理后认为,当鱼类卵母细胞处在最后成熟阶段时, 17α -OHP在 20β -类固醇脱氢酶(20β -HSDase)的作用下,生成 $17\alpha, 20\beta$ -DHP,然后诱导卵母细胞GVBD的发生。由此可见, 17α -OHP和 $17\alpha, 20\beta$ -DHP是诱导日本鳗鲡卵母细胞最后成熟的2种有效的性类固醇激素。但作者分析认为,由于日本学者在把握催产时机上与本研究存在差异,因此, 17α -OHP的催产效果较差。本研究依靠适合观察日本鳗鲡卵母细胞的透明液,对每个个体卵母细胞的发育情况进行了及时的观察和分析,使 17α -OHP和 $17\alpha, 20\beta$ -DHP获得了同样的催产效果,且大幅度地提高了催产率。

参考文献:

- [1] Boucher S, Boucher M, Fontaine M. Sur la maturation provoquée des organes génitaux de l'anguille [J]. C. R. Soc. Biol. Paris, 1934, 116: 1284-1286.
- [2] Fontaine M, Bertrand E, Lopez E, et al. Sur la maturation des organes génitaux de l'anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l'émission spontanée des œufs en aquarium [J]. C. R. Acad. Sci. Paris, 1964, 259: 2907-2910.
- [3] 多部田修. ウナギの初期生活史と種苗生産の展望 [A]. 鰻の成熟促進技術 [M]. 東京: 恒星社厚生閣, 1996. 95-107.
- [4] 王义强, 赵长春, 施正峰, 等. 河鳗人工繁殖的初步研究 [J]. 水产学报, 1980, 4(2): 147-158.
- [5] 谢刚. 鳗鲡苗种人工繁育的研究概况及其展望 [J]. 大连水产学院学报, 2001, 16(1): 42-48.
- [6] 黄大明, 陈世群. 鳗鲡的生活史和人工育苗技术探讨 [J]. 生物工程进展, 1997, 17(2): 3-12.
- [7] 柳凌, 郭峰, 张洁明, 等. 外源激素及环境因子对日本鳗鲡卵巢发育的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(1): 6-11.
- [8] Lin H R, Xie G, Zhang L H, et al. Artificial induction of gradual maturation and ovulation in the Japanese eel [J]. Bull. Fr. Pêche Piscic., 1998, 349: 163-176.
- [9] Nagahama Y. $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation inducing steroid in teleost [J]. Develop. Growth and Differ., 1987, 29(1): 1-12.
- [10] Scott A P, Sheldrick E L, Flint A P F. Measurement of $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in plasma of trout (*Salmo gairdneri* Richardson): Seasonal changes and response to salmon pituitary extract [J]. J. Comp. Endocrinol., 1982, 46: 444-451.

Artificial induction of ovulation in Japanese eel *Anguilla japonica*

LIU Ling, GUO Feng, ZHANG Jie-ming, LU Da-chun

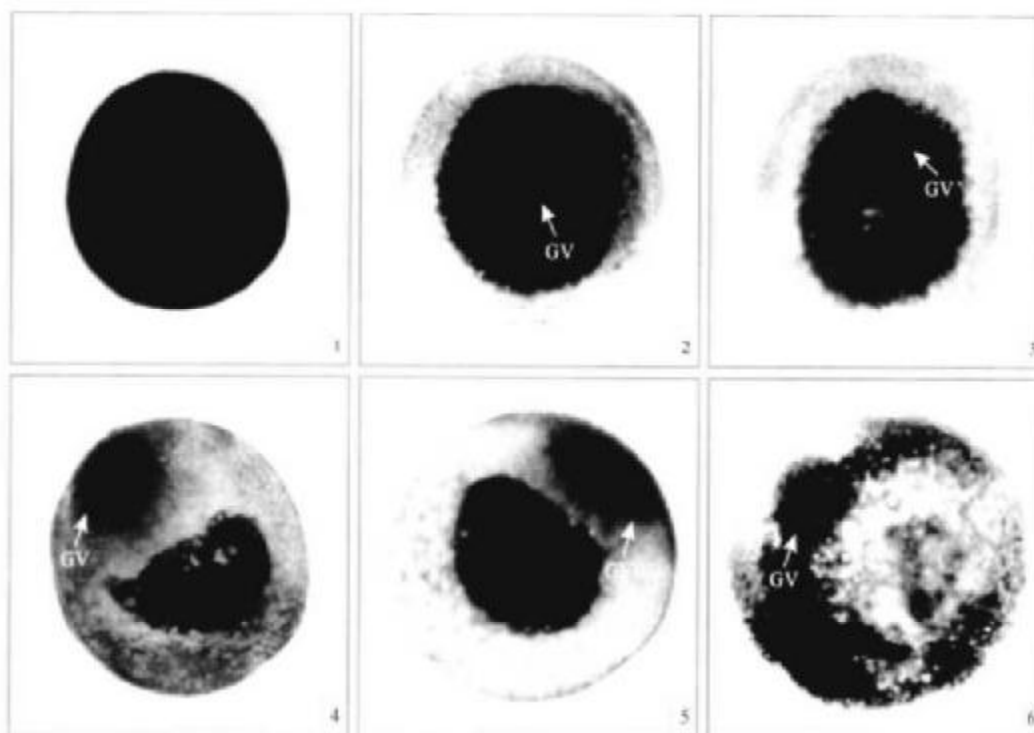
(Key Laboratory of Freshwater Fish Germplasm Resources and Biotechnology, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jinzhou 434000 China)

Abstract: The experiment focuses on improving the techniques and methods of inducing spawning in Japanese eel (*Anguilla japonica*). Its purpose was effectively enhancing the rate of inducing spawning in order to take ulterior studies on artificial breeding technology and relative parallel tests for Japanese eel. The experiment included the research on relationship between time of ovarian development and inducing rate of spawning, observation on developing process of oocyte at germinal vesicle breakdown (GVBD) stage in vivo, as well as the methods, opportunities and effects of inducing ovulation using 17α -OHP and $17\alpha, 20\beta$ -DHP in Japanese eel. The results indicated that the longer the time was needed by ovarian development, the lower the inducing rate of spawning. The major reason for low spawning rate in Japanese eel was caused by different responsibility of hormone among individual females in late stage of oocyte development, so it was difficult to hold the opportunities of inducing ovulation. Depending on the observation of oocyte at GVBD stage in vivo in transparent liquid suitable for Japanese eel, and according to the moving velocity of individual germinal vesicle in oocyte, above mentioned difficult problems were effectively resolved after the project was made for individual females. The average rate of inducing spawning was raised from 35.4% to 91.9% and 93.0%, respectively, after the mixture of CP, HCG, 17α -OHP or $17\alpha, 20\beta$ -DHP was used. The suitable dosage for injection was (5 mg CP + 500IU HCG + 5mg 17α -OHP or 10 mg $17\alpha, 20\beta$ -DHP)/(500 g). The reactive time of 17α -OHP and $17\alpha, 20\beta$ -DHP was 15–18 h and 13–16 h, respectively, at water temperature (21 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$.

Key words: technique of inducing ovulation; germinal vesicle breakdown (GVBD); rate of inducing spawning; *Anguilla japonica*

柳 凌等:日本鳗鲡排卵的人工诱导

LIU Ling et al: Artificial induction of ovulation in Japanese eel *Anguilla japonica*



图版 I

1: 卵母细胞尚未成熟, 卵径约 500 μm ; 2: 卵母细胞开始成熟, 胚泡位于卵母细胞中央, 卵径约 600 μm ; 3: 胚泡开始向卵母细胞边缘偏移, 卵径 600~700 μm ; 4: 胚泡达到卵母细胞边缘, 卵径 700~800 μm ; 5: 卵母细胞胚泡破裂, 卵径 700~800 μm ; 6: 卵子退化, 但卵母细胞胚泡未破裂, 卵径 800 μm 以上;
GV—卵母细胞胚泡; GVBD—卵母细胞胚泡破裂。

Plate I

1: Immature oocyte, with about 500 μm of ovum diameter. 2: The oocyte beginning to mature, the germinal vesicle located in the center of the oocyte, with about 600 μm of ovum diameter. 3: The germinal vesicle beginning to move from the center to the edge of the oocyte, with 600~700 μm of ovum diameter. 4: The germinal vesicle reached the edge of the oocyte, with 700~800 μm of ovum diameter. 5: The germinal vesicle breakdown, with 700~800 μm of ovum diameter. 6: The oocyte beginning to degenerate, but the germinal vesicle can not breakdown, with above 800 μm of ovum diameter.

GV—germinal vesicle; GVBD—germinal vesicle breakdown.