

人工养殖施氏鲟性腺发育观察

章龙珍^{1,2}, 庄平^{1,2}, 张涛¹, 张征¹, 李大鹏⁴, 蓝泽桥³, 王正凯³, 答和庆³

(1. 中国水产科学研究院 长江水产研究所, 湖北 荆州 434000;

2. 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090;

3. 天峡特种渔业有限责任公司, 湖北 宜昌 443000; 4. 华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430072)

摘要:供实验用施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)为野生亲本人工繁殖的第1代人工养殖群体。对0~4龄鲟性腺发育定期活体取样监测观察,发现雌鲟在3龄,肉眼可以观察到卵巢中直径为0.2~0.3 mm的白色卵粒,处于卵巢发育的第Ⅱ期。4龄雌鲟卵径达0.5~0.8 mm,卵黄生长期开始,卵核位于卵母细胞的中央。推测养殖雌性施氏鲟在5~6龄可以达到性成熟产卵。3龄雄性养殖施氏鲟精巢宽0.9~1.5 cm,重9.1~15.6 g,呈粉白色。4龄雄鲟已完全达到性成熟,精巢宽度达3.5~5.7 cm,重260~504 g,通过注射激素催情,可获得大量优质精液。养殖雄性施氏鲟的性成熟年龄比野生的提早3~4年。

关键词:施氏鲟;人工培育;性成熟年龄;性腺发育调控

中图分类号:Q959.463

文献标识码:A

文章编号:1005-8737(2002)04-0323-05

鲟类的生殖生物学研究在制定鲟鱼自然资源的恢复和保护策略以及发展人工养殖业上意义重大,长期以来倍受关注^[1-4]。已有研究显示,鲟类的性腺发育和繁殖周期独特,有别于许多其他硬骨鱼类;养殖鲟类的性腺发育特征又明显不同于野生鲟类^[3,5-6]。在自然栖息地,鲟类大多在生长发育过程中有不同的洄游生活史,性腺发育缓慢,性成熟年龄高;在人工条件下,由于缺乏某些生活史阶段所需的环境条件,性腺发育通常难以成熟^[3]。目前对于养殖条件下鲟性腺发育有较为系统的研究工作仅见于俄罗斯的西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)、小体鲟(*A. ruthenus*)与欧洲鳇(*Huso huso*)的杂交种和美国的高首鲟(*A. transmontanus*)等有限报道^[2,4,6]。国内,尚未见养殖条件下鲟类性腺发育的系统研究报告,只是对野生生殖群体的性腺观察和繁殖生态有一些调查研究^[7-12]。作者从1996年起开展了施

氏鲟(*A. schrenckii*)南移驯养及繁育的研究,并于2001年8月全人工养殖的雄性施氏鲟催情排精获得成功^[13],这标志着养殖的雄性施氏鲟达到了性成熟。在采取一些生理、生态措施促进性腺发育的同时,对于不同年龄段的雌、雄性实验鱼的性腺发育进行了定期活体取样监测,取得了较为丰富的性腺发育观测资料。

1 材料和方法

1.1 试验材料及来源

供性腺发育观察的施氏鲟是野生亲本人工繁殖的第1代全人工养殖群体。从1997年6月开始,每年的施氏鲟自然繁殖季节,在黑龙江抚远等江段捕获野生亲本,经人工催产繁殖,将受精卵或脱膜仔鱼空运至湖北省荆州市中国水产科学研究院长江水产研究所^[14],大多实验研究均在该所进行,部分实验鱼养殖于湖北宜昌等地的不同环境条件水体。截至2001年6月,试验基地储备有0~4龄的各年龄段养殖群体,每龄100~200尾,供观察性腺发育。

1.2 定期活体性腺取样监测

每年4次定期活体取样和观察实验鱼性腺发育状况,方法参照Doroshov等^[2]和Kynard等^[15],在

收稿日期:2001-12-07.

基金项目:国家“十五”重点科技攻关计划专题(2001BA505B0511);

中国水产科学研究院基金(96-01-04).

作者简介:章龙珍(1954-),女,副研究员,从事水生动物生殖生理学研究. E-mail: pzhuang@online.sh.cn

鱼体腹部切长5~8 cm的刀口,通过肉眼检查性腺发育状况,然后取样1 cm³左右的性腺组织供显微镜压片观察。观察和取样以后,将受检鱼腹部开口缝合,继续培育。取样检查量为各龄养殖群体的10%左右。性腺发育分期根据Conte等^[5]对高首鲟性腺发育分期的标准。

1.3 雄性催情试验及精液激活和活力检查

2001年8月20日和10月14日成功对2尾养殖的雄性实验鱼进行催情试验,催情诱导以2针法注射LHRH-A₂激素,催情期间水温为18℃和22~23℃。获得精液后,取样涂片,置于倒视显微镜

下,并滴水激活精子,镜检精子的运动状况和活力,对全部活动过程进行连续观察。同时将精液置于0~4℃下保存,每天取样4次镜检。精子的活动划分为激烈运动、直线运动、慢速运动、摇摆运动等时期。

2 结果

2.1 人工养殖施氏鲟的生长和性成熟年龄

表1为养殖与野生施氏鲟的生长和最小性成熟年龄对比。养殖4龄的雄性达到性成熟,而野生最小性成熟年龄为7龄。

表1 人工养殖与野生施氏鲟的生长和最小性成熟年龄

Table 1 Growth and minimum mature age of wild and cultured Amur sturgeon

来源 Source	项目 Item	年龄 Age of year										
		0 ¹	1 ¹	2 ⁺	3 ⁺	4 ⁺	5 ⁺	6 ¹	7 ¹	8 ⁺	9 ⁺	10 ⁺
野生鱼 ^[6] Wild fish	平均体长/cm Mean body length	15.8	27.3	38.7	54.0	67.9	79.1	87.0	91.5	99.8	108.5	116.5
	平均体重/g Mean body weight	14	63.5	177	511.7	1020	1698	2388	3428	3911	5672	7157
	最小性成熟年龄 Minimum mature age								♂		♀	
人工 养殖鱼 (N: 20) Cultured fish	平均体长/cm Mean body length	44.4	77.6	93.1	119.8	128.3						
	平均体重/g Mean body weight	337	870	3150	6945	10050						
	最小性成熟年龄 Minimum mature age					♂						

注 Note: ♂—雄性最小性成熟年龄 Minimum mature age of male; ♀—雌性最小性成熟年龄 Minimum mature age of female.

表2 人工培养的不同年龄施氏鲟性腺发育(N=8)

Table 2 Gonadal development of different ages of cultured Amur sturgeon

年龄/a Age	形态描述 Morphological description	雌性性腺 Female's gonad						雄性性腺 Male's gonad						
		平均长/cm Mean length		平均宽/cm Mean width		平均重/g Mean weight		平均长/cm Mean length		平均宽/cm Mean width		平均重/g Mean weight		
		左 Left	右 Right	左 Left	右 Right	左 Left	右 Right	左 Left	右 Right	左 Left	右 Right	左 Left	右 Right	
1	无 None							无 None						
2	卵巢分层 Ovarian layers appear	21.5	16.2	0.89	0.9	3.2	2.3	半透明 Translucency	31.5	26.0	0.4	0.3	1.6	1.4
3	白色卵粒 White oocytes appear	30.0	26.3	2.3	1.9	13.1	10.4	粉白色 Light-pink	34.3	29.2	1.4	1.2	6.0	5.6
4	卵径 Diameter of oocyte, 0.5~0.8mm	34.3	30.6	2.4	2.0	32.7	29.3	乳白色 Milk-white	44.9	42.3	4.5	4.3	203	179

2.2 人工养殖施氏鲟的性腺发育观察

1龄鱼肉眼观察不到性腺,只有少量的脂肪积

累。2龄鱼性腺已经发育,肉眼能区分雌雄,雌性卵巢分层,压片可见卵原细胞。3龄雄性精巢呈粉白色,中部宽度已达0.9~1.5 cm,重9.1~15.6 g;3龄雌性卵巢含有大量的白色小卵粒,卵径为0.2~0.3 mm,卵巢发育到Ⅱ期(见图1)。4龄的雄性精巢宽达3.5~5.7 cm,重260~504 g(见图2),精巢中有大量的乳白色精液,此时人工培养的雄性亲鱼

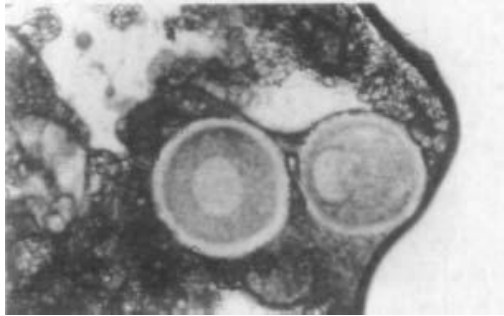


图1 3龄人工养殖施氏鲟雌性的Ⅱ期卵巢压片

Fig.1 Micrograph of ovary(stage II) of 3-year-old cultured female Amur sturgeon



图3 4龄人工养殖施氏鲟雄性的成熟精子

Fig.3 Micrograph of mature sperm of 4-year-old cultured male Amur sturgeon

2.3 人工养殖施氏鲟精子检测

对2尾人工养殖的4龄雄性亲本成功地催情排精,采集精液分别为110 mL和510 mL。第2批精子在0~4℃下保存至第11天,每日取样检查保存精子的有关指标见表3。

从表3中可以看出,人工培养施氏鲟的精子在低温下保存可存活9 d,第11天时全部死亡。保存5 d以后,精子已无激烈运动,直线运动时间随着保存时间的延长而缩短。

3 讨论

3.1 人控措施可加速鲟类性腺发育和提早性成熟

已经完全达到性成熟,经催产可顺利排精,获得高质量精液(见图3);4龄雌性卵巢的卵径为0.5~0.8 mm,卵黄开始积累,卵核处于卵母细胞的中央,卵巢发育进入Ⅲ期(见图4)。我们观察到施氏鲟左右性腺的发育有不对称现象,一般左边比右边长,宽度和重量也稍有不同。人工养殖施氏鲟性腺发育的进程及形态描述归纳于表2。

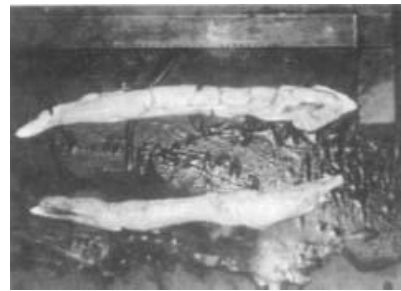


图2 4龄人工养殖施氏鲟雄性精巢外观

Fig.2 Spermary of 4-year-old cultured male Amur sturgeon

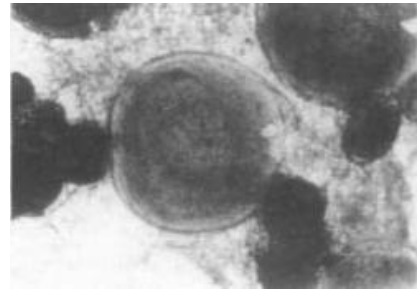


图4 4龄人工养殖施氏鲟雌性的Ⅲ期卵巢压片

Fig.4 Micrograph of ovary (stage III) of 4-year-old cultured female Amur sturgeon

年龄

大多数野生鲟性成熟在10~20龄,但在人控条件下辅以相关促性腺发育措施,性成熟可以提前到3~10龄^[2-6,17-18]。本研究也证实人控措施可以加速鲟的性腺发育进程^[13],本实验已获得养殖4龄性成熟施氏鲟雄性样本,而野生雄性最小成熟年龄为7~8龄^[16]。对养殖的施氏鲟雌性性腺取样观察到,4龄鲟体重达9~12 kg,卵黄生成期开始,卵径达0.5~0.8 mm,卵核处于卵母细胞的中央,按Conte等^[5]对高首鲟性腺发育分期的标准,此时卵巢发育至Ⅲ期。Doroshov等^[2]对养殖的高首鲟雌性性腺发育观察发现,其卵黄生成期始于4~8龄,

这一过程继续 16~18 个月,卵径由 0.6 mm 增加至 3.5 mm,卵子颜色由浅黄转为灰色,最后成为黑色,达到成熟产卵,即卵巢由第Ⅲ期发育至第Ⅳ期需要

16~18 个月的时间。根据这一观测结果推测,养殖施氏鲟雌性有望在 5~6 龄达到性成熟产卵。野生施氏鲟雌性最小性成熟年龄为 9 龄^[16]。

表 3 人工培养施氏鲟雌性亲鱼催情排精的精子存活率及寿命($N=4$; 均值±标准差)

Table 3 Survival rate and motile duration of sperms from hormone-injected male of cultured Amur sturgeon ($N=4$; Mean±SD)

保存时间/d Preservation time	存活率/% Survival rate	激烈运动时间/s Strong movement	直线运动时间/s Linear movement	慢速运动时间/s Slow movement	摇摆运动时间/s Shaky movement	寿命/s Motile duration
1	97	25.7±3.2	58.3±4.5	93.3±8.1	139.7±15.6	371.3±45.5
3	85	8.3±1.5	54.7±3.1	80.7±4.2	131.0±19.0	306.7±48.3
5	70	0	52.5±12.1	69.5±10.5	123.3±36.1	245.3±45.8
7	60	0	28.3±1.5	57.3±7.5	112.7±16.2	198.3±10.4
9	55	0	25.7±1.2	39.3±3.2	61.7±1.5	126.7±2.9
11	0	0	0	0	0	0

3.2 多重因素影响鲟类的性腺发育

鱼类性腺发育受到内外源多重因素的影响,温度、光照、营养、外源激素等诸多因子对鲟类的性腺发育起着重要的作用^[17,19]。本实验在加速施氏鲟性腺发育的研究中,采取了水温、水流、营养、外源激素等条件的相互调整和控制措施,获得了提早性成熟的雄性样本,证实了施氏鲟性腺发育与多重环境因子相关性。Doroshov 等^[3]认为由于内源的(遗传的)和外源的(环境的)因子对高首鲟卵巢成熟的交互影响,导致雌性发情期高度不同步,他们还发现在高首鲟的性腺发育过程中,环境温度起着十分重要的作用,雌性卵母细胞的卵黄生成期在 18~22℃ 的水温条件下加速,然而,在性腺发育的后期,若提高温度则相反阻滞发育。外源激素对高首鲟性腺发育的诱导和调控也有明显的效果^[20]。另有研究证实,调整饲料的营养和养殖水温可明显加速养殖的高首鲟、西伯利亚鲟、和杂交鲟(欧洲鲟×小体鲟)性腺发育^[2,6]。

3.3 鲟生长速率与性成熟的关系

鲟的生长速率与性成熟年龄密切相关,这一点在对人工养殖的高首鲟和西伯利亚鲟的观察上有相同的结论^[6,18]。高首鲟的养殖雌性亲本首次性成熟年龄为 4 龄,体重 10~15 kg^[2],野生高首鲟雌性首次性成熟年龄为 10~12 龄,平均体重 12 kg,野生和养殖的雌性高首鲟达到初次性成熟的年龄不同,但体重相近。达氏鲟也有相同的情况,野生达氏鲟雌性成熟年龄在 4~7 龄,体重 4.5~12.5 kg,养殖的达氏鲟雌性成熟年龄为 3.5 龄,体重 5~9 kg(性成熟年龄不同,体重相近)^[9]。然而,目前对施氏鲟的研究结果却有所不同,我们获得的 2 尾养殖的性成熟雌性施氏鲟为 4 龄,体重分别为 6.7 kg 和 9.8

kg。资料记载,野生雄性施氏鲟最小性成熟年龄为 7~8 年,最小个体体重 2.8 kg^[8,12,16]。养殖的雄性施氏鲟比野生提前 3~4 年性成熟,而最小的养殖雄性施氏鲟性成熟的体重是野生的 2.4~3.5 倍(性成熟年龄不同,体重也不同)。如果人工养殖施氏鲟的性腺发育与高首鲟和达氏鲟相似,雄性性腺成熟的年龄还有提早的潜力,可望 3 龄左右达性腺发育成熟,有待于进一步的研究。

3.4 关于人工培育施氏鲟雌性亲本的精子质量

人工养殖鱼类的精、卵发育质量是目前鱼类繁殖生物学研究和应用领域的重点问题。养殖施氏鲟的精子质量如何,是实现施氏鲟全人工繁殖的关键因子之一。从排精量来看,2 尾养殖施氏鲟雄性初次催情分别获得了 110 mL 和 510 mL 精液,养殖的高首鲟雄性亲本经催情,每次每尾平均排精量为 200 mL^[2]。从精子的活力和寿命来看,养殖的施氏鲟雄性精子的平均活力为 97.1% (幅度 95%~98%),平均活力持续时间约 6 min (371.3 s)。野生匙吻鲟精子活力为 90%~100%,活力持续时间 4~6 min;野生密西西比鲟精子活力 80%~95%,活力持续时间 2~3 min^[21]。Van Eenennaam 等^[4]的研究发现当养殖的高首鲟雄性精子的成活率高于 80%,活动持续时间 2~3 min 时,能够获得满意的受精效果,成活率小于 30% 时,受精效果较差。在 0~4℃ 下保存 3 d 的施氏鲟精子,活力达 85%,且可产生激烈运动,说明仍有较强的受精能力。

参考文献:

- [1] Doroshov S I, Lutes P B. Preliminary data on the induction of ovulation in white sturgeon (*Acipenser transmontanus* Richardson) [J]. *Aquaculture*, 1984, 38: 221-227.

- [2] Doroshov S I, Moberg G P, Van Eenennaam J P. Observation on the reproductive cycle of cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus* [J]. *Envir Biol Fish*, 1997, 48: 265-278.
- [3] Doroshov S I, Van Eenennaam J P, Moberg G P. Reproductive management of cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) [A]. *High Performance Fish, Proceedings of an International Fish Physiology Symposium*[C]. Vancouver: Fish Physiology Association, 1994. 156-161.
- [4] Van Eenennaam J P, Bruch R, Kroll K. Sturgeon sexing, staging maturity and spawning induction [A]. *Proceedings of the 4th International Symposium on Sturgeon*[C]. Oshkosh, Wisconsin, 2001. 2-44.
- [5] Conte F S, Doroshov S I, Lutes P B, et al. Hatchery manual for the white sturgeon [M]. Oakland: Publication # 3322, University of California Press, 1988. 104.
- [6] Williot P, Brun R, Rouault T, et al. Management of female spawners of the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*: first results [A]. *Acipenser*[C]. Bordeaux: CEMAGREF Publ, 1991. 365-380.
- [7] 周春生, 许 蕴, 邓 中, 等. 长江葛洲坝水利枢纽坝下江段中华鲟成鱼性腺的观察[J]. *水生生物学报*, 1985, 9(2): 165-169.
- [8] 张觉民. 黑龙江水系渔业资源[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1986. 205.
- [9] 四川省长江水产资源调查组. 长江鲟鱼类生物学及人工繁殖的研究[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1988. 284.
- [10] 余志堂, 许 蕴, 邓 中, 等. 葛洲坝水利工程下游中华鲟繁殖生态的研究[A]. *鱼类学论文集(第五集)*[C]. 北京: 科学出版社, 1986. 1-14.
- [11] 胡德高, 柯福恩, 张国良, 等. 葛洲坝下中华鲟产卵场的调查研究[J]. *淡水渔业*, 1992(5): 6-10.
- [12] 孙大江, 曲秋芝, 吴文化, 等. 施氏鲟的人工繁殖和养殖技术[M]. 北京: 海洋出版社, 2000. 96.
- [13] 庄 平, 章龙珍, 张 涛, 等. 施氏鲟南移驯养及生物学的研究Ⅱ. 人工养殖雄性亲本成功催情试验[J]. *淡水渔业*, 2001(6): 8-10.
- [14] 庄 平, 章龙珍, 张 涛, 等. 施氏鲟南移驯养及生物学的研究 I. 1 龄鱼的生长特性[J]. *淡水渔业*, 1998(4): 6-9.
- [15] Kynard B, Kieffer M. Use of a bioscope to determine the sex of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, during life-history telemetry studies [A]. *Proceedings of the 4th International Symposium on Sturgeon*[C]. Oshkosh, Wisconsin, 2001.
- [16] 尼科尔斯基. 黑龙江流域鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 1960. 472.
- [17] De Vlaming V L. Environmental control of teleost reproductive cycle: a brief review[J]. *J Fish Biol*, 1972, 4: 131-140.
- [18] Moberg G P, Doroshov S I. Reproduction in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus* [A]. *NOAA Technical Report* [R], NMFS, 1992, 106: 99-104.
- [19] Sundararaj B, Vasal S. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish[J]. *Fish Res Board Can*, 1976, 33: 959-973.
- [20] Moberg G P, Watson J G, Doroshov S, et al. Physiological evidence for two sturgeon gonadotropins in *Acipenser transmontanus*[J]. *Aquaculture*, 1995, 135: 27-39.
- [21] Cosson J, Linhart O, Mins S D, et al. Analysis of motility parameters from paddlefish and shovenoose sturgeon spermatozoa [J]. *J Fish Biol*, 2000, 56: 1348-1367.

Gonadal development of cultured Amur sturgeon *Acipenser schrenckii*

ZHANG Long-zhen^{1,2}, ZHUANG Ping^{1,2}, ZHANG Tao¹, ZHANG Zheng¹,
LI Da-peng⁴, LAN Ze-qiao³, WANG Zheng-kai³, DA He-qing³

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000, China;

2. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

3. Tianxia Special Fishery Ltd., Yichang 443000, China;

4. College of Fisheries, Central China Agricultural University, Wuhan, 430072, China)

Abstract: The samples sturgeon *Acipenser schrenckii* were the first generation artificially reproduced from the wild population. From the ages of 0 to 4 years, the sturgeon were observed regularly in tissue biopsy. At age of 3 years, the females' ovaries developed to stage II when white oocytes with diameter at 0.2-0.3 mm appeared obviously by nude eyes. For the 4-year-old female sturgeon, the oocytes were 0.5-0.8 mm in diameter with ovolaryon in the center. It is deduced that the cultured females may spawn first at ages of 5 to 6 years. For the male sturgeon, the spermary is 1.5 cm in width when the body weight at 15.6 g and the spermary colored white at the age of 3 years, but for the 4-year-old males, they get to complete maturation in sex and the spermary reaches 5.7 cm in width and 504 g in weight. By injection of hormone, plenty of milt could be obtained. Cultured males may reach sexual maturity 3-4 years earlier than the wild ones.

Key words: *Acipenser schrenckii*; artificial culture; sexual maturation age; gonadal development acceleration