

日本鳗鲡产卵后生存及其繁育

翁幼竹¹, 方琼珊², 宋海霞¹, 王涵生², 方永强¹

(1. 国家海洋局 第三海洋研究所, 福建 厦门 361005; 2. 福建省水产研究所, 福建 厦门 361012)

摘要: 为证明日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)生活史最后一步—产后鳗的命运, 本研究模拟产后的日本鳗鲡继续在海水中养殖, 观察其存活率及繁育情况。结果表明, 产后鳗在海水中停食约 18 d 后, 体能得到恢复, 部分亲鱼开始出现摄食, 1 个月左右全部恢复摄食, 经 244 d 养殖, 雌、雄鳗体质量增加, 存活率达 94.6%。随后, 给产后鳗注射外源性促性腺激素(鲤鱼脑垂体匀浆 CPE 和人绒毛膜促性腺激素 HCG)后激发其退化的性腺(卵巢和精巢)重新发育(与当年银鳗作对照)。通过性腺组织切片观察产后鳗和对照鳗性腺发育成熟的全过程及其差异, 发现产后鳗起初性腺发育比当年银鳗差, 但经多次注射激素后, 产后鳗性腺成熟与当年银鳗同步, 证明产后鳗生殖细胞对激素的敏感性高。应用 17 α , 20 β -双羟孕酮和促性腺激素释放激素类似物(GnRH-A3)使催熟的产后鳗和对照鳗均产卵和排精, 并孵化出仔鱼, 从而有力地证明, 鳗鲡产后虽体质弱, 但待体能恢复后能够继续生存和繁殖。本研究旨在探讨利用产后鳗作为今后鳗鲡人工繁殖亲鳗的可行性。[中国水产科学, 2010, 17(6): 1218-1226]

关键词: 日本鳗鲡; 产后母本; 卵子发生; 精子发生; 促性腺激素; 生活史

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)06-1218-09

日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)为降海洄游产卵鱼类。鳗鲡在大海中产卵后经历 5 个主要生活时期, 即柳叶鳗、玻璃鳗、幼鳗、黄鳗和银鳗时期^[1]。性成熟的鳗鲡降海洄游入大海中产卵, 产卵后幼鳗又回到淡水栖息地生活, 黄鳗在淡水中生活 3~4 年变为银鳗, 又开始降河下海进行生殖洄游。现已查明日本鳗鲡产卵场在太平洋西北部, 马里亚纳群岛山脉西部, 距其栖息地 2 000~3 000 km。新近黄大明等^[2]、邓岳松等^[3]、Tsukamoto 等^[4]及 Chow 等^[5]还报道在马里亚纳群岛西部和太平洋西北部的北赤道流捕获到大量小的前-柳叶鳗, 总长度 4.2~6.5 mm, 并首次发现在波涛汹涌的大海完全成熟的雄性日本鳗鲡^[2-5]。另外, Tsukamoto(1998)通过耳石中锶、钙比例分析, 发现在海区中日本鳗鲡的黄鳗和银鳗虽然邻近它们的典型淡水栖息地, 但从从不进入淡水, 整个生活

史都在大海中度过^[4]。由于日本鳗鲡是名贵的养殖对象, 现在单纯捕捞幼鳗已经无法满足养殖需求, 国内外学者都是从入海口捕获下海亲鳗带回繁殖场, 通过定期注射促性腺激素使鳗鲡性腺发育成熟, 然后人工催产而获得成功, 这在国内外已有相关报道^[6-10]。在鳗鲡生活史研究中一直受关注的一个问题是产后鳗的命运。Vincent 等^[1-3, 10]报道, 欧洲鳗鲡(*A. anguilla*)和日本鳗鲡产卵后即在大海中死亡。然而, 赵长春等^[11]从 1973 年开始最先对产卵后的日本鳗鲡亲鱼(以下称“产后鳗”)是否死亡进行研究, 发现产后鳗并不象过去学者认为必然死亡, 相反, 多数能够在淡水和海水中存活。后来, 柳凌等^[13]首先实验将产后鳗采用缓慢连续淡化的方式, 持续 1 个月, 淡化完成后再进行恢复培养, 18 d 后使产后鳗恢复摄食, 恢复培养 18 个月后, 用外源性激素促熟和二次催产获得成

收稿日期: 2009-01-06; 修订日期: 2010-04-08.

基金项目: 农业部公益性研究项目子课题 (nyhyzx07-043-16-02).

作者简介: 翁幼竹(1968-), 女, 博士, 研究员. 主要从事鱼类繁殖生物学研究. E-mail: wengyz0592@yahoo.com.cn

通讯作者: 方永强, 研究员. Tel: 0592-2195277; E-mail: fant98@public.xm.fj.cn

功。由此证明了产后鳗能够继续生存和再繁殖,这是模拟产后鳗从海洋重新返回淡水的模式。本研究模拟另一种可能性,即让产后鳗继续在海水中生存,待恢复体能后注射外源促激素,观察它们是否能在海水中再次性腺发育和成熟及繁衍后代,这是很有意义的设想,但尚未得到证实。为了提供实验证据,作者采用生殖生理学方法,利用2008年5月初成功催产后的日本鳗鲡亲鱼,继续在人工养殖的海水中培养,以恢复摄食的鳗鲡数量和体质量增加作为生存指标,以外源促激素二次催熟的性腺(卵巢和精巢)发育成熟过程以及催产后发生卵排精的雌雄亲鳗数量作为繁殖指标,并用当年购买的银鳗的性腺发育和催产作为对照,以此证明产后鳗继续在海水中生存和繁育的可能性。这对了解日本鳗鲡的生活史和产后亲鳗的再利用具有重要的科学意义和应用前景。

1 材料与方 法

1.1 产后鳗的来源

2007年12月28日从广东省番禺水域购买入海亲鳗,从中选取体质良好、个体适中的雌鳗(体长52.0~64.5 cm,体质量217~439 g)和雄鳗(体长45.0~54.3 cm,体质量150~266 g),放在福建省诏安县大华水产有限公司鳗鲡养殖场的养殖池中饲养,水温逐渐升至23℃左右,盐度为32~35。适应环境后,开始注射外源促激素促使亲鳗性腺发育成熟,并在2008年5月4日催产,5日亲鳗产卵和排精,催产结束后这些产后鳗作为本次实验的材料,被移往室外盖有棚架的大水泥池中继续海水养殖,养殖池规格为85 m²×1.4 m(有效水体60 m³),池中放有长1~1.5 m、直径11 cm的塑料管,作为产后鳗的栖息掩蔽物(窝)。雌、雄产后鳗共130尾,其中雌性45尾,平均体质量298.0 g;雄性85尾,平均体质量120.3 g。

1.2 产后鳗恢复摄食和投喂饵料试验

每日定时观察产后鳗在大水泥池中的活动,并用肉眼及手电筒照明观察产后鳗的摄食行为,记录开始摄食的时间,观察是否部分或者全部鳗鲡开始恢复摄食。每日定时(傍晚6时)和定量(体

质量的2%~3%)投喂饵料,试验初期投喂2~5 cm南美白对虾,6月中旬开始驯化投喂拌有鲜小杂鱼肉的鳗粉料(统一牌号:成鳗粉),7月初开始完全投喂配合饲料(鳗粉加入小杂鱼制成的软颗粒饲料)。产后鳗在大池中共养殖244 d。

1.3 二次催熟和催产试验

2009年1月9日从大池中随机取63尾体质好的亲鱼,其中雌性21尾,体长50.5~68.2 cm,体质量315~431 g,平均约373.2 g;雄性43尾,体长48.2~52.7 cm,体质量105~206 g,平均约155.2 g,移入室内实验小池(10 m²×1.2 m)进行催熟试验。同时,用购自广东省番禺水域的当年银鳗作为对照,雌鳗体长52.0~64.5 cm,体质量217~490 g;雄鳗体长49.8~53.2 cm,体质量170~225 g。产后鳗和对照鳗都是在1月31日第一次注射外源性促性腺激素,两组使用剂量相同,每尾雌鳗注射0.4 mg鲤鱼脑垂体匀浆(CPE)和50 I.U人绒毛膜促性腺激素(HCG,宁波激素厂生产),每隔1周注射一次,雄鳗剂量减半,每隔2周注射一次,雌鳗共注射激素7次,雄鳗5次。每次注射后随机取数尾雌、雄鳗解剖,取性腺进行组织学分析。同时取注射激素前的产后鳗作为对照。

催熟后的产后鳗和当年银鳗两组用于催产试验的雌鳗,体征都是泄殖孔微红和微突,腹部松软膨大;成熟的雄鳗,体征是腹部较膨大,轻压鱼腹可见精液流出。4月5日下午5点半两组各取4尾催熟的雌鳗和6尾催熟的雄鳗进行催产实验,雌、雄比为1:1.5。雌、雄鳗均注射17 α ,20 β -双羟孕酮,剂量为每尾2.5 mg,同时配合GnRH类似物(GnRH-A3)进行注射,剂量为雌鳗100 μ g/尾,雄鳗50 μ g/尾。

1.4 样品制备和组织切片

随机取数尾注射激素前的产后鳗、注射激素的产后鳗和对照的当年银鳗,用丁香酚麻醉,测量体长和称体重后,仔细解剖分离出卵巢和精巢,截取数小块卵巢和精巢组织,立即分开放入Bouin-Hollande氏液中固定12~16 h,系列酒精脱水,塑料石蜡包埋。卵巢组织学切片厚5~6 μ m,精巢2 μ m,苏木精-伊红染色,观察对比各组鳗鲡

性腺发育成熟的变化过程。

2 结果与分析

2.1 产后鳗恢复摄食时间、摄食行为和存活率

移入大池养殖的 130 尾产后鳗白天一般躲藏在塑料管内, 19:00 - 20:00 时用手电筒照明观察可见这些鳗游出管外, 但未见有摄食行为, 持续大约 18 d。20 d 后在 18:00 时左右, 见到少数产后鳗游出, 捕食活的南美白对虾, 一口吞下后又游回窝内。随后, 主动摄食的产后鳗数量逐渐增多, 最后 1 个月左右全部恢复摄食。改投配合饲料, 18:00 时左右起投喂, 就可见产后鳗从管中游出摄食, 到 20:00 时左右用手电筒照明检查, 发现饲料已经全部被吃完。养殖到 244 d 时, 产后鳗的存活率为 94.6%, 雌性 41 尾, 雄性 82 尾。

2.2 产后雌鳗的卵巢发育及激素对其发育和成熟的影响

2.2.1 未注射激素的产后雌鳗卵巢发育的特点 产后雌鳗解剖观察可见叶片状卵巢严重退化, 位于腹腔背面, 肾脏两侧, 表面无结缔组织被膜包裹, 无卵巢腔, 属裸状卵巢。整个卵巢难于分离和称重, 叶片很薄, 扇形叶高 0.6 cm。卵巢组织切片观察结果显示, 卵母细胞为椭圆形或不规则形, 核大居中, 卵核内有 1~3 个核仁, 多者高达 8 个, 被伊红染为红色, 显嗜酸性, 靠近核内膜分布, 核质不着色。在卵核一侧上方出现半圆形核仁样体(Nucleolus-like bodies)或称卵黄核(Yolk nucleus), 被染为深蓝色。胞质被苏木精染为浅蓝色, 显嗜碱性。胞质中有数量不一的脂肪泡, 位于核的周围, 在靠近胞质边缘可见嗜碱性网状带变粗。胞径(112.8 ± 0.57) μm , 核径(46.6 ± 0.38) μm 。此时的卵母细胞为卵巢 II 期(小生长期)的早期脂肪泡时相。另外, 在滤泡细胞与卵母细胞的卵黄膜之间为卵被膜或称卵膜(Egg envelope or egg membrane), 卵被膜由二层膜组成, 此时二层膜之间仍较紧密(图版 I-1)。而当年雌性银鳗卵巢发育处在卵黄发生(大生长期)早期, 其特点是胞质中有大量脂肪泡, 少数卵母细胞的卵被膜下方可见小的卵黄颗粒。

2.2.2 外源性激素诱导卵巢发育成熟 产后雌鳗

第一次混合注射 HCG 和 CPE 后, 卵巢开始发育, 卵母细胞进入小生长期的中期脂肪泡时相, 其特点是生发泡(卵核)内核仁数量增多达 10 个以上, 并贴近核内膜, 个别将溢出; 脂肪泡数量显著增加, 有些胞质中充满脂肪泡; 核周围仍可见分散的卵黄核, 但胞质中嗜碱性网状带消失; 胞径(220 ± 0.37) μm , 核径(66.3 ± 0.31) μm , 细胞体积增加; 可见滤泡细胞紧贴卵被膜(图版 I-2)。第 2 次注射后卵巢虽继续发育, 但卵母细胞的胞径和核径与上次类似, 分别为(230 ± 0.65) μm 和(76.6 ± 0.39) μm , 卵巢成熟系数为 2.07%。第 3 次和第 4 次注射后, 产后鳗卵巢进一步发育, 体腹部略为膨大, 卵巢成熟系数分别为 4.63% 和 8.68%, 卵巢为粉红色, 叶片数量明显增加, 卵巢发育至 II 期(大生长期), 卵母细胞为大生长期卵黄发生早期时相, 主要特点是靠近卵被膜下方的胞质中可见细小的卵黄粒, 被伊红染为红色, 胞质中充满脂肪泡, 表明卵母细胞发育进入新的发育时期, 胞径(251 ± 0.36) μm , 核径(75 ± 0.45) μm (图版 I-3)。当年雌性银鳗的卵母细胞发育已进入卵黄发生中期, 胞质中有许多卵黄颗粒。第 5 次注射后产后雌鳗的腹部形态仍没有显著变化, 但卵黄颗粒显著增加, 分布在胞质中部, 属卵黄发生中期。只在第 6 次注射后, 即初次注射激素后第 44 天, 可见产后雌鳗腹部明显膨大, 解剖观察卵巢为乳白色, 叶片清晰可见, 卵巢成熟系数为 18.14%, 卵母细胞发育特点是不仅卵黄颗粒分布在整个胞质, 而且在胞质中出现油球, 属卵黄发生中后期, 卵母细胞的胞径和核径分别为(383 ± 0.98) μm 和(105 ± 0.54) μm (图版 I-4, 5)。当年雌性银鳗的卵母细胞发育处在卵黄发生中后期。第 7 次注射后, 产后雌鳗腹部柔软膨胀, 解剖观察可见卵巢发育成熟为乳白色, 肉眼可见卵巢中游离的卵细胞, 卵巢成熟系数为 31.9%。成熟卵细胞的生物学特点是, 胞质中充满卵黄颗粒, 生发泡从中央移向动物极, 胞径和核径分别为(479 ± 2.54) μm 和(126 ± 0.54) μm (图版 I-6)。这些结果表明, 产后鳗像当年银鳗一样, 通过注射外源性激素可以重新诱导进入繁育

活动。

2.3 产后雄鳗的精巢发育及注射激素对其发育和成熟的影响

2.3.1 未注射激素的产后雄鳗精巢发育特点 解剖观察发现, 产后雄鳗扇形精巢严重退化为线状, 每个叶片很薄且很小, 为暗灰色, 叶片与叶片之间被细的结缔组织联系, 所以取材时必须特别仔细, 否则, 精小叶就容易丢失, 难以对退化精巢进行称重。精巢组织切片观察结果显示, 精巢中各个小叶之间的界限不清, 各级生精细胞均已退化, 仅见生殖上皮、原始的精原细胞和 Sertoli 细胞散在于退化精巢中。精原细胞为椭圆形, 核居中, 被苏木精染为深蓝色, 胞质不着色。在其一侧可见 Sertoli 氏细胞, 核着色深。精巢中还分散着许多着色深的细小碎片, 其性质难于确定(图版 II-1)。而当年对照银鳗的精巢处于精原细胞增殖期, 精原细胞排列有序, 与 Sertoli 氏细胞相间排列。

2.3.2 外源性促激素诱导精巢发育成熟 第 1 次注射 CPE 和 HCG 后, 解剖观察可见注射激素之后的产后鳗精巢与未注射激素的产后鳗精巢显著不同在于前者精小叶为暗红色, 叶片薄且小, 但比未激素处理的产后鳗精巢厚。精巢组织切片显示特点是: (1)精小叶已经形成, 各小叶之间被结缔组织分隔开, 界限清楚。在小叶中可见不同发育水平的生精细胞; (2)这些生精细胞的细胞学特点是, 部分原始的精原细胞靠近生殖上皮分布, 细胞为椭圆形, 核大, 被染为深棕色, 胞质不着色, 此细胞可能是 A 型精原细胞。另一些精原细胞为圆形, 核被染为致密团块, 胞质不着色, 可能是 B 型精原细胞, 其旁可见 Sertoli 细胞, 核为梭形; (3)有的精小叶中可见精原细胞有丝分裂, 核拉长但尚未分开。此外, 还可见初级精母细胞, 为卵圆形, 核染色深, 胞质不着色(图版 II-2)。根据上述细胞学特征表明, 第 1 次注射激素后, 产后雄鳗的精巢发育处于 I-II 期之间, 属于精巢发育的启动期, 而未激素处理的产后鳗精巢仍没有变化, 当年对照银鳗在第 1 次注射激素后除了出现精原细胞有丝分裂外, 精小叶中初级精母细胞

的数量明显多于激素处理的产后鳗精巢。第 2 次注射激素后, 解剖观察显示产后鳗精巢为粉红色, 叶片开始增厚和扩大, 叶片宽 0.6~0.7 cm, 精巢成熟系数 0.87%。根据精巢切片组织学观察结果显示, 与第 1 次注射激素相比较, 此时精巢的生物学特点是精巢发育进入各级生精细胞的增殖期, 表现在各精小叶中不同发育水平的生精细胞数量显著增加, 如靠近生殖上皮的精原细胞有多层排列, 有的精小叶中都是发育的初级精母细胞、有的是次级精母细胞或精子细胞(图版 II-3)。第 3 次注射激素后, 精巢为灰白色, 叶片宽 0.8~1 cm, 精巢成熟系数 2.45%。根据精巢的发育和切片观察表明, 此时精巢进入精子发生期, 表现在各精小叶中都有精子在其管腔中, 这是此发育时期的一个特点。另一个特点是每个精小叶都可见初级精母细胞和次级精母细胞有多层排列, 精原细胞紧贴生殖上皮, 这种分布排列方式提示产后雄鳗精巢发育仍处在旺盛生精活动时期(图版 II-4)。对比当年银鳗, 其精巢发育优于产后鳗表现在精小叶中精子细胞和精子的数量更多。第 4 次注射激素后, 从多尾产后雄鳗中随机取 1 尾腹部略有膨大样本, 麻醉后轻压腹部可见乳白色精液流出。解剖观察精巢为乳白色, 叶片清晰, 叶片宽 1.2~1.7 cm, 平均 1.45 cm, 精巢成熟系数 10.9%。切片观察可见精小叶的管腔中有大量精子, 靠近生殖上皮的生精细胞多数为次级精母细胞和精子细胞(图版 I-5)。第 5 次注射(也是最后一次)激素后, 可见产后雄鳗腹部明显膨大, 麻醉后提起雄鳗就有精液流出, 解剖观察叶片高度发育和成熟, 叶片宽 1.55~1.90 cm, 精巢成熟系数 12.8%。切片观察可见精巢中各精小叶的管腔互相融合形成大腔, 腔中充满精子, 靠近生殖上皮仅见少数分散的精原细胞和一些正在发育的次级精母细胞和精子细胞(图版 I-6)。当年银鳗经第 4 次注射激素后精巢切片观察显示, 精巢发育水平与产后鳗没有明显差异。

2.4 产后鳗的催产

2009 年 4 月 5 日对催熟的产后鳗和当年银

鳗进行催产实验, 两组注射催产剂后均在第 2 天上午观察到各有 2 尾雌鳗产卵, 另 2 尾未产, 两组分别产出 8.3 万和 9.1 万粒卵, 受精率为 30%~35%, 其中上浮卵分别为 2.5 万粒和 2.6 万粒, 7 日孵化出仔鱼 1.1 万尾和 1.2 万尾。统计学处理结果两组没有显著差异。

3 讨论

关于产后鳗鲡的命运, 根据赵长春等^[11]的实验观察发现, 产后鳗并不象早期学者认为的必然死亡, 而是多数能够在淡水和海水中存活。因此, 作者分析在大海中产后鳗可能有两种命运: 一是产后鳗待体能恢复后重新从大海洄游到河口, 进入原来栖息地生活; 二是不返回到淡水栖息地, 而是继续在大海中生活, 像 Tsukamoto 等^[12]报道那样。柳凌等^[13]首先实验证明了产后鳗能够通过缓慢驯化方式, 在淡水中生存和再繁殖。本研究观察到产后鳗继续在海水中养殖, 逐步开始摄食, 体能得以恢复的全过程, 存活率高达 94.6%, 雌雄体质量分别增加 75.2 g 和 34.9 g, 说明提供给产后鳗的饵料和养殖环境是适宜的, 保证了高的存活率, 并进一步证实鳗鲡在大海中产卵后可能不会死亡。通过对比产后鳗和当年银鳗注射外源性激素诱导性腺发育的催熟过程, 性腺组织切片证明了产后鳗像当年银鳗一样, 卵巢和精巢的生殖细胞保持对外源促激素的敏感性。另外, 产后鳗和当年银鳗催产实验中各有 2 尾雌鳗产卵, 并孵化出仔鱼, 提示产后鳗可作为亲鳗, 在人工海水养殖条件下, 用于二次催产和繁育, 本实验提供了的新资料和新证据。本研究证明了产后鳗有可能不返回淡水栖息地生活, 而是继续留住海水中, 像 Arai 等^[1]发现日本鳗鲡终生在大海中度过那样。当然, 本研究未能模拟产后鳗在波涛汹涌的大海中生存的情景, 只能将其继续在海水中养殖来替代。

分析对比产后鳗注射外源性激素前后精巢和卵巢逐渐发育和成熟的变化过程, 笔者发现虽然产后鳗性腺严重退化, 但经促性腺激素刺激之后,

性腺能够短时间内被诱导发育, 见证于雄鳗精原细胞的有丝分裂和雌鳗初级卵母细胞数量增加及卵巢发育进入卵黄发生时期, 这些结果有力地证明产后鳗性腺发育的潜能是高的。此外, 对比分析产后鳗和当年银鳗同时注射外源性激素后的性腺发育, 虽然产后鳗与当年银鳗的性腺发育起点有所差异, 但后来发现它们之间对激素的应答能力没有差异, 表现在诱导性腺成熟的进程类似, 这些结果可为今后激素诱导产后鳗精巢和卵巢发育成熟提供科学依据。另外, 作者认为, 激素诱导产后鳗性腺发育成熟的作用机制也可能是通过其相应的激素受体介导^[14-15]。

作者对比柳凌等^[13]报道在淡水和本研究在海水中恢复产后鳗摄食和应用外源性促性腺激素重新诱发各自性腺发育成熟过程, 存在一些异同: (1) 关于产后鳗恢复摄食的时间, 有趣的是无论是在淡水, 还是在海水, 产后鳗开始恢复摄食的时间均在 18 d 左右, 1 个月全部恢复摄食活动。(2) 海水养殖产后鳗的性腺切片观察分析显示, 卵巢发育在 II 期初, 精巢严重退化, 不如在淡水培养 18 个月的产后鳗; 卵巢发育在 II 期末, 精巢为精原细胞增殖期。造成这种差别的原因可能与产后鳗在海水中培养的时间仅 8 个月, 时间较短, 性腺尚未完全恢复有关。(3) 注射促性腺激素诱导产后鳗性腺发育的组织切片观察结果还显示, HCG 和 CPE 使产后鳗性腺催熟的生理效应与当年银鳗类似, 证据是在相同剂量和相同注射次数以及在同一时间开始注射, 诱发产后鳗与当年银鳗性腺成熟及催产的效果没有差异, 不同在于二者的性腺成熟系数有差别, 前者成熟卵巢的成熟系数为 31.9%, 卵母细胞胞径为 $(479 \pm 2.54) \mu\text{m}$, 而后者分别为 34% 和 $(570 \pm 1.39) \mu\text{m}$, 产后鳗精巢的成熟系数为 12.8%, 当年银鳗为 16.4%^[5]。这些结果说明产后鳗性腺恢复和再发育成熟与当年野生鳗有差异, 究其原因可能与产后鳗性腺严重退化有关, 是否还受其他因素影响仍有待研究。但本实验没有观察到像柳凌等^[13]报道“约有 50% 的产后亲鳗性腺发育异常的现象”, “如有的一侧性腺发育正常, 另

一侧不发育或发育缓慢;有的是同一侧性腺一段发育,一段不发育或发育缓慢;有的性腺出现断裂”。分析造成性腺异常的原因可能与养殖环境水质(淡水和海水)不同有关、或使用激素剂量不同有关,尚有待深入探讨。此外,如果能进一步证实产后鳗性腺对促激素的敏感性高于当年银鳗,则可利用产后鳗作为今后鳗鲡人工繁殖的亲鳗,将有很大应用前景。

参考文献:

- [1] Arai T, Kotake A, Ohji M, et al. Occurrence of sea eels of *Anguilla japonica* along the Sanriku Coast of Japan[J]. Ichthyol Res, 2003, 50: 78–81.
- [2] 黄大明, 陈世群. 鳗鲡的生活史和人工育苗技术探讨[J]. 动物学杂志, 1997, 32: 38–48.
- [3] 邓岳松, 林浩然. 鳗鲡繁殖生物学和人工育苗研究概况[J]. 湛江海洋大学学报, 2001, 21: 77–82.
- [4] Tsukamoto K, Otakeb T, Mochioka N, et al. Seamounts, new moon and eel spawning: The search for the spawning site of the Japanese eel[J]. Environm Biol Fish, 2003, 66: 221–229.
- [5] Chow S, Kurogi H, Mochioka N, et al. Discovery of mature freshwater eels in the open ocean[J]. Fish Sci, 2009, 75: 257–259.
- [6] 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: 147–156.
- [7] 谢骏, 余德光, 王广军, 等. 人工诱导池塘养殖鳗鲡成熟产卵以及胚胎和仔鱼发育[J]. 水产学报, 2005, 29: 688–694.
- [8] Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, et al. Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17,20-dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. Aquaculture, 1996, 139: 291–301.
- [9] Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, et al. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. Fish Physiol Biochem, 1997, 17: 163–169.
- [10] Ginneken, V J T, Maes, G E. The European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus), its lifecycle, evolution and reproduction: a literature review[J]. Rev Fish Biol Fisheries, 2005, 15: 367–398.
- [11] 赵长春, 谭玉钧, 施玉峰, 等. 产后雌鳗再生殖可能性[J]. 海洋与湖沼, 1980, 11: 241–246.
- [12] Tsukamoto K, Arai T. Facultative catadromy of the eel, *Anguilla japonica*, between freshwater and seawater habitats[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2001, 220: 265–276.
- [13] 柳凌, 张洁明, 郭峰, 等. 日本鳗鲡人工催产后亲鱼恢复培养与再催产效果[J]. 中国水产科学, 2004, 11: 54–58.
- [14] 方琼珊, 翁幼竹, 刘志刚, 等. 外源性促性腺激素诱导日本鳗鲡精子发生和成熟的作用机制[J]. 水产学报, 2009, 33: 572–580.
- [15] 宋海霞, 方琼珊, 翁幼竹, 等. 外源性促性腺激素诱导日本鳗鲡卵子发生和卵巢发育成熟的机制[J]. 水产学报, 2010, 34: 999–1010.
- [16] Dufour S, Montero M, Le Belle N. et al. Differential distribution and response to experimental sexual maturation of two forms of brain gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the European eel, *Anguilla anguilla*[J]. Fish Physiol Biochem, 1993, 11: 99–106.
- [17] Roberts B L, Meredith G E, Maslam S. Immunocytochemical analysis of the dopamine system in the brain and spinal cord of the European eel, *Anguilla anguilla*[J]. Anat Embr, 1989, 180: 401–412.
- [18] Sébert M E, Weltzien F A, Moisan C, et al. Dopaminergic systems in the European eel: characterization, brain distribution and potential role in migration and reproduction[J]. Hydrobiologia, 2008, 602: 27–46.

Survival and reproduction in post-spawning Japanese eel, *Anguilla japonica*

WENG Youzhu¹, FANG Qionshan², SONG Haixia¹, WANG Hansheng², FANG Yongqiang¹

(1. Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen 361005, China; 2. Fisheries Institute of Fujian Province, Xiamen 361012, China)

Abstract: To testify the fate of post-spawning Japanese eel *Anguilla japonica* at the last stage of its life history, the post-spawning Japanese eels were simulated to be cultivated in sea water, and the survival rate and reproduction of these eels were observed. The results showed that some post-spawning eels resumed their body energy and started to eat after halt-eating for about 18 days in sea water. All eel resumed eating after about one month. The body weight of male and female eel increased and the survival rate was 94.6% after cultivation for 244 days. Then, the gonads (ovary and testis) of these post-spawning Japanese eel developed and ripened by treatment of exogenous gonadotropin (carp pituitary extract and human chorionic gonadotrophin, CPE and HCG) injection, with silver eel of the year as control. The sections of gonads provided the difference in the process of gonad development and maturation between post-spawning eel and control eel, and revealed that although at first the gonad development of post-spawning was not as good as that of silver eel of the year, after several times injection of hormone, the post-spawning matured with silver eel synchronism which suggested a high sensitivity of germ cells to hormone in post-spawning eel. The oviposition and spermiation in these hormone-ripened post-spawning eel could be induced by 17, 20 β -dihydroxy-4-pregene-3-one and gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRH-A), and larvae could be hatched. The above results effectively proved conclusive evidence that although post-spawning eels were weak they could continue to live and propagate after resumed their body energy. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(6): 1218–1226]

Key words: *Anguilla japonica*; post-spawning fish; oogenesis; spermatogenesis; gonadotropin; life history

Corresponding author: FANG Yongqiang. E-mail: fant98@public.xm.fj.cn

翁幼竹等：日本鳗鲡产卵后生存及其繁育

WENG Youzhu et al: Survival and reproduction in post-spawning Japanese eel, *Anguilla japonica*

图版 I 激素激发产后雌鳗卵子发生

1. 未处理的产后雌鳗卵巢发育处于小生长期初期，卵母细胞胞质中存在脂肪泡(细箭头)和嗜碱性网状带(粗箭头)，N: 核，Nu: 核仁，YN: 卵黄核。2. 第 1 次注射激素后，卵巢小生长期中期脂肪泡时相卵母细胞，可见核仁数量增加和核仁外溢(细箭头)，胞质中充满脂肪泡(粗箭头)，滤泡细胞(空心箭头)紧贴着卵被膜。3. 第 3 次注射激素后，卵巢进入大生长期初期，靠近卵被膜下方的胞质可见细小卵黄颗粒(箭头)。4. 第 5 次注射激素后，卵母细胞的特点是卵黄颗粒分布在胞质中部(箭头)。5. 第 6 次注射激素后，卵母细胞开始发育成熟，卵黄颗粒分布在胞质，且出现油球(箭头)。6. 第 7 次注射激素后，卵母细胞成熟，生发泡移向动物极。

Plate Oogenesis in post-spawning female *Anguilla japonica* induced by hormones

1. The ovary of untreated post-spawning female *Anguilla japonica* was at the early period of small growth stage with adipose vesicles (thin arrow) and basophilic zona reticula (thick arrow) in the cytoplasm of oocyte, N: nucleus, Nu: nucleolus, YH: yolk nucleus; 2. After the first hormone injection, ovary was at the middle period of small growth stage and the oocyte entered adipose vesicle phase showing nucleolus number increasing, nucleolus squeezing from nucleus (thin arrow), cytoplasm filling with adipose vesicles (thick arrow) and egg membrane cling to the granulosa cell (hollow arrow); 3. After the third hormone injection, ovary entered into the early period of large growth stage showing fine yolk granule (arrow) in the cytoplasm near the egg membrane; 4. After the fifth hormone injection, oocyte was characterized by yolk granule (arrow) locating in the middle region of cytoplasm; 5. After the sixth hormone injection, oocyte started to develop, yolk granule was located in the cytoplasm, and oil globule (arrow) appeared; 6. After the seventh hormone injection, oocyte matured and germinal vesicle moved to animal pole.

翁幼竹等：日本鳗鲡产卵后生存及其繁育

WENG Youzhu et al: Survival and reproduction in post-spawning Japanese eel, *Anguilla japonica*

图版 II 激素激发产后雄鳗精子发生

1. 产后雄鳗，精巢严重退化，仅见原始的精原细胞(细箭头)和 Sertoli 细胞(空心箭头)，SE: 精巢被膜。
2. 第 1 次注射激素后，精巢中可见精小叶重新形成和精原细胞有丝分裂(细箭头)，ASg: A 型精原细胞，BSg: B 型精原细胞，PS: 初级精母细胞，Sc: Sertoli 细胞。
3. 第 2 次注射激素后，生精细胞增殖期，精巢中可见不同发育水平的精小叶，SS: 次级精母细胞，St: 精子细胞。
4. 第 3 次注射激素后，精子发生期，在精小叶的管腔中出现精子(S)。
5. 第 4 次注射后，可见精巢的各精小叶管腔中存在大量精子；
6. 第 5 次注射后，产后鳗精巢发育成熟，管腔中充满成熟精子。

Plate Spermatogonia in post-spawning male *Anguilla japonica* induced by hormones

1. The testis of post-spawning male *Anguilla japonica* was seriously degraded, and only primordial spermatogonia (thin arrow) and Sertolic cell (hollow arrow) could be seen, SE: spermatogenic epithelium; 2. The reformation of seminiferous lobule and the mitosis (thin arrow) of spermatogonia could be seen in the testis after the first hormone injection, ASg: A-typed spermatogonia, BSg: B-typed spermatogonia, PS: primary spermatogonia, Sc: Sertoli cell; 3. The mitosis of spermatogenic cells appeared after the second hormone injection, and seminiferous lobules of different developmental level could be found in testis, SS: secondary spermatogonia, St: spermatid; 4. Testis developed into spermatogonia stage, and sperms (S) appeared in lobular lumen after the third hormone injection; 5. Many sperms were distributed in every lobular lumen of testis after the fourth hormone injection; 6. The testis matured and filled with mature sperms in lobular lumen after the fifth hormone injection.