

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.00293

养殖银鲳卵巢发育的组织学观察

孙鹏, 尹飞, 施兆鸿, 彭士明, 王建钢

中国水产科学研究院 东海水产研究所, 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090

摘要: 每月定时取人工养殖子代银鲳(*Pampus argenteus*)样本, 采用常规石蜡切片技术对样本卵巢发育情况进行周年观察。期间共采集到雌性银鲳样本 92 尾, 叉长范围为 113.1~185.7 mm, 体质量 33.6~187.5 g。按照各个时相形态特征和卵巢周年变化情况, 养殖银鲳卵子发生分为 6 个时相, 卵巢发育分为 6 个时期。研究表明, 养殖条件下的银鲳群体与野生群体卵巢发育的组织学结构无明显差异, 且繁殖季节基本一致, 但养殖群体卵巢成熟系数明显低于野生群体。推测养殖过程中温度、光照和营养等因素对银鲳性腺发育和成熟具有较大的影响。本研究旨在为银鲳人工繁育研究提供基础科学支持。

关键词: 银鲳; 卵巢发育; 卵子发生; 组织学

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)02-0293-06

银鲳 (*Pampus argenteus*) 隶属于鲈形目 (Perciformes), 鲳科 (Stromateidae), 鲳属。它广泛地分布于印度-西太平洋, 从波斯湾到印尼, 北到日本北海道。银鲳在中国海域均有分布, 主要以黄海南部和东海北部分布较为集中, 即吕四渔场和舟山渔场^[1-3]。因其味道鲜美、营养价值高而深受消费者的喜爱。近年来, 中国大陆银鲳的年捕捞量虽呈上升趋势, 但由于过度的开发利用, 其资源状况却不容乐观。研究发现, 近 20 年来中国东海区银鲳的性成熟年龄等生物学指标均逐渐减小, 平均体长从 1997 年的 246.4 mm 减少至 147.8 mm^[1, 4]。因此, 保护银鲳野生资源, 开展银鲳人工增养殖有着现实意义和良好的发展前景^[5]。

20 世纪初, 中国水产科学研究院东海水产研究所已成功培育银鲳亲鱼多批, 并在自然产卵的情况下成功获得子一代苗种, 并对该物种在繁育生物学^[6-7]、营养学^[8]、生理生态学^[9]及种群遗传学^[10]等多方面积累了较多的经验和基础信息。迄今为止, 有关银鲳性腺发育的资料并不多见, 仅

龚启祥等^[11]在 1989 年对东海野生银鲳的性腺发育做过较详细的报道。由于银鲳人工养殖至今尚未形成规模, 有关养殖环境下银鲳的性腺发育将有助于其规模化生产的进展。因此, 本研究采用组织学手段, 对人工培育的养殖银鲳个体的卵巢发育情况进行观察描述, 并与野生条件下银鲳性腺发育情况进行比较, 探讨养殖条件对银鲳繁育的影响, 为银鲳的人工繁育与今后的大规模生产提供重要的数据支持。

1 材料与方法

实验所用银鲳样品均取自于人工繁殖所得到的银鲳个体, 养殖于浙江省舟山市水产研究所朱家尖实验基地。培育于 20 m³ 的水泥池中, 每日换水 2 次, 投喂配合饲料 2 次。培育温度为 16~32℃, 盐度 26~30。实验取样在 2009 年 7 月至 2010 年 6 月间进行。每月定时取样, 期间共采集到雌性银鲳样本 92 个, 其叉长范围为 113.1~185.7 mm, 体质量 33.6~187.5 g。鱼体经测量后, 分别从卵巢

收稿日期: 2012-04-09; 修订日期: 2012-07-03.

基金项目: 国家科技支撑项目(2011BAD13B01); 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(东 2009M05).

作者简介: 孙鹏(1980-), 男, 助理研究员, 主要从事海洋鱼类繁殖与遗传学研究. E-mail: sunpeng1128@163.com

通信作者: 施兆鸿, 研究员. E-mail: shizhh@hotmail.com

前、中、后部分各取部分性腺组织固定于 Bouin's 液中, 固定 24 h 后再转入 70% 乙醇中保存。固定的样品经脱水、透明、石蜡包埋、连续切片, 切片厚度为 5~6 μm , HE 染色后, 用 Nikon 显微镜观察并拍照。

卵母细胞的时相划分参照楼允东^[12]的方法, 卵巢发育分期参照前苏联学者的鱼类性腺发育的分期方法^[13], 并根据卵巢切面上(6~9 个视野)最多卵母细胞的时相或超过 50% 的卵母细胞的时相来确定发育期数。所得数据使用 Image-Pro express 5.1 软件采集分析, 数据以平均值 $\pm$ 标准差表示。性腺成熟系数由以下公式求的: 性腺成熟系数=(性腺重/鱼体质量) $\times$ 100%。

2 结果与分析

2.1 卵巢的形态特征

银鲳的卵巢两叶对称, 外面有被膜。卵巢的形状与其他多种海水鱼类不同, 呈反转的“L”形, 泄殖孔在下面一侧的中间位置。I 期呈透明细线状, 肉眼难以分辨性别, II 期性腺呈浅灰色或淡黄色, 通过肉眼可以分辨雌雄。之后, 性腺逐渐增大, 在 III 期银鲳卵巢呈浅黄色, 其卵巢壁由结缔组织、平滑肌和微血管等构成。至性腺发育到 IV、V 期时, 卵巢组织变为橙黄色, 微血管和被膜结缔组织明显增多, 卵巢内部可见多个板状结构的产卵板, 其内有原始生殖细胞分化而成的卵原细胞和不同时相的卵母细胞。血管深入卵巢内部, 分布于产卵板和卵母细胞周围。

2.2 各时相卵细胞特征

2.2.1 第 1 时相 由卵原细胞向初级卵母细胞过度的细胞构成。位于银鲳卵巢内生殖上皮附近, 形态不规则, 多呈梨形或椭圆形, 卵径 12.1~35.7 μm 。细胞质颗粒均匀分布, 强嗜碱性(图 1A), 细胞核呈圆球形, 染色质呈丝网状。

2.2.2 第 2 时相 由卵原细胞发育而成并进入小生长期的早期初级卵母细胞。在第 2 时相早期, 卵细胞形态仍然不规则, 卵径 38.2~75.4 μm 。细胞质呈均匀分布, 嗜碱性较强, 被染成紫色(图 1B)。核内具有 8~14 个核仁, 沿着核膜内缘分布, 仅有

一层滤泡膜。随着卵巢组织的进一步的发育, 卵母细胞逐渐变成圆球形, 卵径增大, 至第 2 时相后期卵径可达 90.1~184.2 μm (图 1C)。

2.2.3 第 3 时相 是处于大生长期早期的初级卵母细胞, 细胞接近球形, 卵母细胞明显地增大, 卵径 136.7~270.1 μm (图 1D, E)。核膜变成波纹状, 核仁增至 20~30 个, 沿核膜分布。第 3 时相后期, 细胞质中的液泡明显增多, 并开始出现卵黄颗粒。

2.2.4 第 4 时相 为处于大生长期晚期的初级卵母细胞。随着营养物质的不断合成与积累, 卵母细胞迅速增大, 卵径 342.1~466.7 μm (图 1F, G)。期间, 卵黄颗粒逐渐增大, 并与油滴相混合。在其后期, 卵母细胞为圆球形, 卵径 380.9~642.5 μm 。细胞质中的油滴渐渐融合, 卵黄颗粒亦聚集在一起, 细胞核向着动物极移动。

2.2.5 第 5 时相 该时相卵母细胞大部分游离于卵巢腔中, 卵核移到动物极, 完成卵母细胞极化。核膜溶解, 核仁消失。卵黄颗粒融合成板块状, 油球融合成较大的油球(图 1H)。

2.2.6 第 6 时相 排卵后的卵母细胞, 呈圆球形或破损, 卵径 720~985.8 μm (图 1I)。此时的卵母细胞已经脱离滤泡膜进入卵巢腔。

2.3 卵巢的周年变化

养殖银鲳的卵巢发育成熟度系数在 0.6%~10.9% (图 2)。I 期卵巢在银鲳性腺发育过程中仅出现一次, 主要由第 1 时相卵细胞构成(图 1A); 之后, 银鲳的卵巢每年随着季节变化从 II 期到 IV 期发生周期性变化。养殖银鲳的繁育期在 4~6 月, 此时的卵巢发育基本都在 IV 期和 V 期。其中, IV 期卵巢(图 1F, G)呈橙黄色, 肉眼可见部分成熟透明卵粒游离在卵巢中。随着卵巢发育的进行, 这部分卵细胞会发育成熟, 形成透明的、游离状的 V 期卵细胞并排卵。繁殖期过后, 7~8 月卵巢逐渐恢复, VI 期卵巢与 IV 期卵巢较为相似, 其中包含大量的第 1~4 时相卵细胞, 并可见空滤泡。从 9 月开始, 卵巢重新进入 II (图 1B)期, 并在该发育阶段越冬。直到翌年 3 月, 卵巢组织开始发育进入 III 期(图 1D, E)。4 月开始, 大多数银鲳成鱼的卵巢已经发育至 IV 期阶段。随后, 卵巢发育成熟至 V

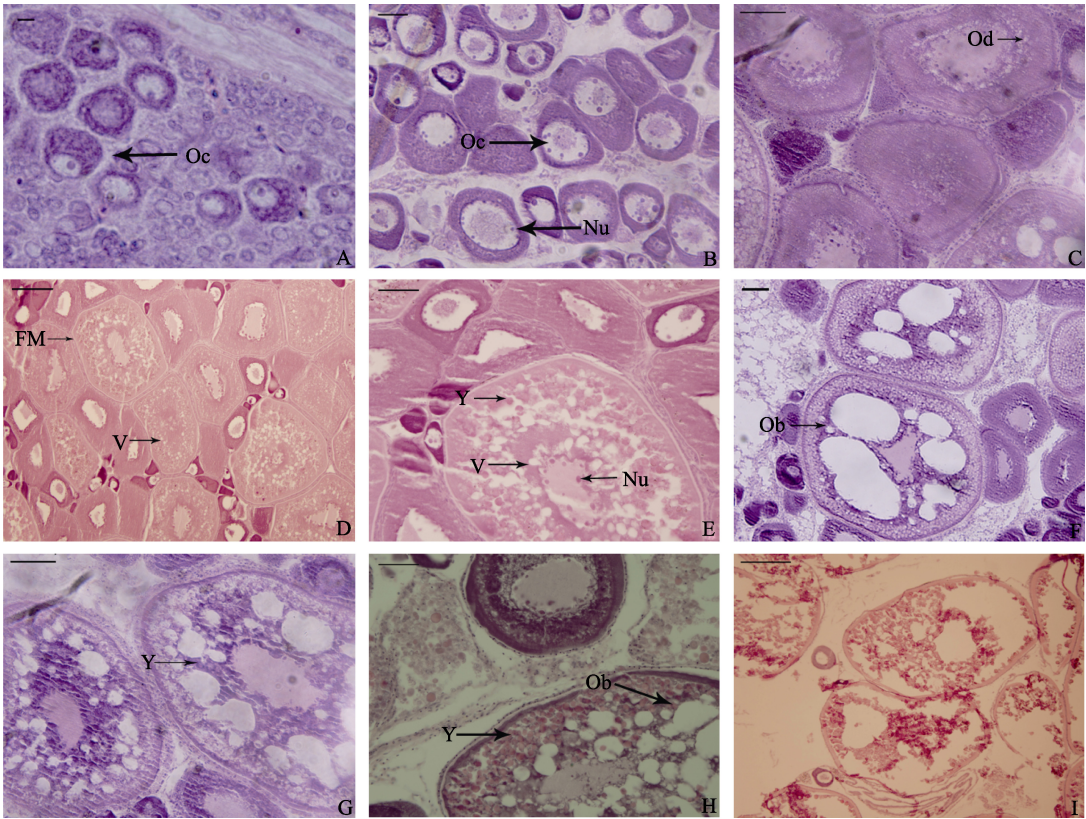


图 1 养殖银鲈卵巢发育组织学观察

A. 第 1 时相卵细胞; B. 第 2 时相早期卵细胞; C. 第 2 时相后期卵细胞; D. 第 3 时相卵细胞; E. 第 3 时相卵细胞; F. 第 4 时相卵细胞; G. 第 4 时相卵细胞; H. 第 5 时相卵细胞; I. 第 6 时相卵细胞. 标尺=50 μm .

FM: 滤泡膜; Ob: 油球; Oc: 卵母细胞; Od: 油滴; Nu: 核仁; V: 液泡; Y: 卵黄.

Fig. 1 Histology of ovary in cultured *Pampus argenteus*

A. Oocyte of the phase 1; B. Oocyte of the early phase 2; C. Oocyte of the later phase 2; D. Oocyte of the early phase 3; E. Oocyte of the later phase 3; F. Oocyte of the early phase 4; G. Oocyte of the later phase 4; H. Oocyte of the phase 5; I. Oocyte of the phase 6. Bar=50 μm .

FM: follicle membrane; Ob: oil globule; Oc: oocytes; Od: oil drop; Nu: nucleolus; V: vesicles; Y: yolk.

期(图 1H), 养殖银鲈进入繁殖期。

组织学观察可见, 繁殖期间卵巢中除了 4、5 时相卵细胞外, 还兼有 1、2 和 3 时相卵细胞的存在。在 IV 期卵巢组织切片的切面中, 第 4 时相卵母细胞占总卵细胞数量的 44.6%, 面积比例占总切面面积的 91.2%; 第 3 时相卵母细胞占卵细胞总数的 9.2%, 面积比例占总切面面积的 4.3%; 第 1、2 时相卵母细胞数量和面积分别占 46.2% 和 4.5%。在 V 期卵巢组织中, 同时可以观察到 5 个时相的卵母细胞类型。其中的第 5 时相卵母细胞占卵细胞总量的 20.1%, 细胞面积占总切面的 74.1%; 第 4 时相卵母细胞占总卵母细胞数量的 9.3%, 细胞面积占 17.2%; 第 3 时相卵母细胞占总卵母细胞数量的 10.7%, 细胞面积占 4.1%; 第 1、

2 时相卵母细胞占卵细胞总数的 59.9%, 而细胞面积仅占 4.6%。可见, 银鲈属于分批产卵类型的鱼类。

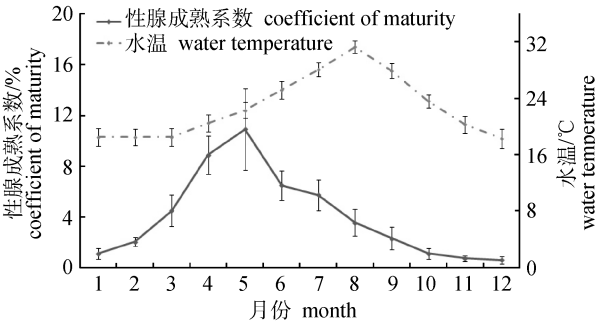


图 2 养殖银鲈卵巢发育的年周期变化

Fig. 2 Annual cycle change of ovarian development in cultured *Pampus argenteus*

3 讨论

3.1 养殖银鲳的卵巢发育特性

养殖银鲳卵巢的形状与其他多种海水鱼类不同,呈反转的“L”形,而这与鲳属鱼类中其他种类的卵巢形状较为相似^[14]。养殖银鲳群体卵巢发育可以分为 6 个阶段,即卵巢发育 I~VI 期,各个时期的组织学与细胞学特征与野生群体的基本相似^[11]。切片观察发现,繁殖季节在银鲳 IV 期和 V 期卵巢中均存在一定比例的第 1、2、3 时相卵母细胞,其中的 3 时相卵母细胞在合适的条件下能够迅速积累卵黄等营养物质并发育成为成熟的卵细胞。Almatar 等^[15]报道在科威特水域的银鲳也分多次产卵,但其繁殖季节较长,为 5 月至 10 月,在繁殖季节雌性个体要分 6 次产卵,而且产卵量随季节的变换并不大。可见,银鲳卵母细胞发育并非同步完成,银鲳属于短期分批产卵型鱼类,这与灰鲳(*Pampus cinereus*)、蓝太阳鱼(*Lepomis cyanellus*)等多种鱼类相似^[14, 16]。

3.2 养殖与野生群体繁殖季节的差异

银鲳广泛地分布于印度-西太平洋海区,其在我国的各个海区均有分布。研究表明,不同海区银鲳群体的产卵与繁殖时期存在差异,群体随盐度降低和温度升高由南向北、由东向西逐渐推移。对于各地渔场,产卵期从南向北依次推迟^[1, 17]。例如,渤海区银鲳群体的繁殖期出现在每年的 5~7 月;黄海区的吕四渔场银鲳产卵期为 4 月下旬至 6 月下旬;在东海区的浙江北部银鲳的产卵期为 5~7 月,盛期为 5~6 月;而在福建闽东渔场的银鲳群体的产卵期在 3~7 月,盛期出现在 4 月初至 5 月底。科威特学者发现,波斯湾附近海区的银鲳群体产卵期为 5 月中旬到 10 月初^[15]。近年来,部分海区的产卵期发生了改变,如浙江北部舟山渔场的银鲳群体的产卵盛期在 4 月中旬至 5 月中旬,推测这与该水域的环境条件和气候变化等因素的影响有关^[2]。本研究发现,养殖银鲳群体的繁殖期在 4~6 月,盛期出现于 4 月中旬至 5 月中旬,这与舟山渔场野生银鲳群体的繁殖情况相似,而与其他海区的繁殖季节稍有差别。考虑到养殖基地位

于浙江省舟山市,属于东海区的范围,养殖所用海水的温度与该海区海水自然温度较接近。因而,推测相似的环境温度导致养殖银鲳群体与附近海区野生群体的产卵与繁殖期接近。而这也进一步表明培育温度对银鲳性腺发育与繁殖具有重要的影响。

3.3 养殖与野生银鲳群体性腺成熟程度的差异

与野生银鲳群体的性腺发育情况的进一步比较发现,养殖群体与野生群体的性腺成熟程度存在差异。每年 10 月以后,在野生群体中性腺成熟系数降低至 0.6% 左右;直至第 2 年 3 月,性腺成熟系数开始增高^[11]。在舟山海区,3 月下旬至 4 月上旬,银鲳性腺成熟系数从 4% 增至 15%,4 月中旬至 5 月中旬达到 20%,最高可达 25%^[18]。而养殖群体在每年 11 月的时候,性腺成熟系数降至最低状态(0.72%);之后,在 12 月和翌年 1 月一直保持在 1.0% 左右;至 2 月中期开始增长,在 4 月增至 7.8%,在 5 月达到最高值(10.9%)。可见,繁殖季节养殖银鲳性腺发育程度较自然海区的低,且两者差异较大。这种差异可能与不同的生活环境条件有关。

研究发现,光照、温度和营养等对海水鱼类的卵巢发育均具有明显的影响^[19]。光照时间的长短与鱼类的性腺发育和成熟直接相关,光照是鱼类生殖周期的启动和产卵开始最显著的环境提示。银鲳养殖环境下的光照强度与野生条件下具较大的差别。温度对鱼类性腺的发育和成熟也具有显著的影响。在香鱼(*Plecoglossus altivelis*)等鱼类中,适度增加光照和提高温度可以改变其性腺发育的程度^[20]。鱼类的生长、性腺发育和成熟往往需要一定的积温,而同种鱼达到性腺成熟的积温基本上是一致的^[21]。尽管银鲳养殖采用海水,其温度却与野生银鲳所处环境中的具有一定的差异。并且,每年 10 月之后,随着气温的降低,养殖所用海水的温度逐渐降低,至 12 月时,养殖用水温降至 13.3℃ 左右。为了实现养殖银鲳群体的安全过冬,自 12 月开始,所用的海水开始经加温处理,其温度一直保持在 17.5~18.5℃,这样的温

度一直持续到翌年3月。在4月, 气温逐渐升高, 水温增至20℃以上, 加温过程停止。加温处理导致养殖群体在越冬时期的培育温度高于自然海区的野生群体。可以推测, 在不同的积温影响下银鲳的性腺发育程度必定有所差异。

营养素对鱼类的性腺发育和成熟也至关重要。营养是性腺发育不可缺少的物质基础。对于野生鱼类而言, 水中饵料生物的生物量具有季节性变动, 这可能与鱼类生殖周期性有一定的联系^[19]。与自然海区的食物种类不同, 养殖银鲳所采用的是配合饲料, 饵料营养成分的差异也可能影响银鲳的生长发育, 进而影响其性腺发育和成熟情况。此外, 生活环境中的其他因子如水流、环境胁迫等也可能造成养殖群体与野生群体的生长发育差异^[19]。

银鲳属于中国近年来开发的海水鱼类品种之一, 尽管其苗种培育已经获得较大的进展, 然而其繁育相关研究仍然较少。今后, 有必要进一步加强外界因子(温度、光照和营养等)对银鲳生长及性腺发育成熟影响相关方面的研究, 寻找适宜银鲳生长和繁育的条件, 通过改善养殖群体的生长发育情况, 提高产卵与孵化效率, 为将来银鲳的人工繁育与大规模生产打下基础。

参考文献:

- [1] 郑元甲, 陈雪忠, 程家骅, 等. 东海大陆架生物资源与环境[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 385-387.
- [2] 伍汉霖. 福建鱼类志[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1985: 430-436.
- [3] 倪勇, 张列士. 上海鱼类志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 336-337.
- [4] 柳卫海, 詹秉义. 东海区鲳鱼资源利用现状分析[J]. 湛江海洋大学学报, 1999, 19(1): 30-34.
- [5] 施兆鸿, 谢营梁, 夏连军. 上海海水鱼类人工育苗和养殖的现状与开发前景[J]. 现代渔业信息, 2004, 10(9): 24-28.
- [6] 施兆鸿, 赵峰, 王建钢, 等. 舟山渔场银鲳人工授精及孵化[J]. 渔业现代化, 2009, 36(1): 18-21.
- [7] 施兆鸿, 彭士明, 王建钢, 等. 人工养殖银鲳子代胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 267-274.
- [8] 彭士明, 尹飞, 孙鹏, 等. 不同饲料对银鲳幼鱼增重率、肝脏脂酶及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 949-954.
- [9] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059-1066.
- [10] Peng S M, Shi Z H, Hou J L, et al. Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) populations from the China Sea based on mitochondrial DNA control region sequences[J]. Biochem Syst Ecol, 2009, 37: 626-632.
- [11] 龚启祥, 倪海儿, 李伦平, 等. 东海银鲳卵巢周年变化的组织学观察[J]. 水产学报, 1989, 13(4): 316-325.
- [12] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 131-136.
- [13] Деглаф Т А И, Гинзбург А С. 鲟鱼类的胚胎发育与养殖问题[M]. 张贵寅, 赵尔宓译. 北京: 科学出版社, 1958: 26-46.
- [14] 施兆鸿, 罗海忠, 高露娇, 等. 灰鲳卵巢发育的组织学研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(4): 1-5.
- [15] Almatar S M. Spawning frequency, fecundity, egg weight and spawning type of silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen) (Stromateidae), in Kuwait waters[J]. J Appl Ichthyol, 2004, 20 (3): 176-188.
- [16] 曹运长, 李文笙, 叶卫, 等. 蓝太阳鱼第一次性周期性腺发育的组织学[J]. 动物学杂志, 2008, 43(1): 88-95.
- [17] 赵传缙. 中国海洋渔业资源[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1990: 111-115.
- [18] 施兆鸿, 高露娇, 谢营梁, 等. 舟山渔场银鲳和灰鲳繁殖特性的比较[J]. 水产学报, 2006, 30(5): 647-653.
- [19] 温海深, 林浩然. 环境因子对硬骨鱼类性腺发育成熟及排卵和产卵的调控[J]. 应用生态学报, 2001, 12(1): 151-155.
- [20] 关忠志, 刘吉明, 李东占. 光照和水温对香鱼性腺发育的影响[J]. 水产学杂志, 2009, 22(4): 27-30.
- [21] 雷霖霖. 海水鱼类养殖理论与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 63-65.

Histological analysis of ovary development in the cultured silver pomfret, *Pampus argenteus*

SUN Peng, YIN Fei, SHI Zhaohong, PENG Shiming, WANG Jiangang

Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China

Abstract: The present study describes the morphology, histology and annual cyclical changes in the ovaries of the cultured silver pomfret, *Pampus argenteus*. The ovary development was divided into six stages, as were the changes in the oocytes of the female. Cultured *Pampus argenteus* populations have a similar ovarian structure, development process and breeding season to wild populations. However, the gonadosomatic index in cultured populations are obviously higher than that of wild populations, which infers that factors such as temperature, photoperiod and nutrition in cultured environments have a great effect on the development and maturation of the gonad in *P. argenteus*. The present study provides basic information for the artificial breeding of this species.

Key words: *Pampus argenteus*; ovary development; oocyte; histology

Corresponding author: SHI Zhaohong. E-mail: shizhh@hotmail.com