

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2018.17173

## 青岛斋堂岛附近海域薛氏海龙繁殖生物学

黄玉喜, 陈平, 张秀梅

中国海洋大学 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003

**摘要:** 根据 2015 年 3-5 月在青岛斋堂岛附近海域使用张网采集的 1250 尾薛氏海龙(*Syngnathus schlegeli*)样本, 分析了该水域薛氏海龙的性比、副性征、性腺指数、性腺成熟度与卵径、育儿袋中胚胎等繁殖生物学特征。结果表明, 青岛斋堂岛附近海域薛氏海龙春季繁殖种群雌雄比例分别为 63.28%和 36.24%, 未成年个体占 0.48%, 雌雄比为 1.75:1, 明显偏离 1:1 的性别比例; 繁殖群体中雄性个体的性腺指数始终保持在较低水平, 为 0.01%~4.85%, 雌性个体相对较高, 为 0.05%~128.99%, 二者差异极显著( $P<0.01$ ); 组织学观察发现, 性腺在 3-5 月份迅速发育成熟, 雄性排精后精巢腔中仍剩余较多精细胞, 表明雄性个体为多次排精; 雌性 III~IV 期卵巢中均分布有不同时相的卵子, 且卵径分布呈现两个峰值, 表明雌性个体为分批产卵; 根据雌性个体 V 期卵巢中成熟卵子的卵粒数与雄性个体育儿袋中的平均怀卵数基本相同, 育儿袋中胚胎的发育阶段也基本一致, 推测其交配模式可能为一雄一雌制, 抑或是雄性在同一天内与多个雌性交配的一雄多雌制。斋堂岛附近海域薛氏海龙的交配模式还有待室内行为观察并结合微卫星标记等手段进一步确认。

**关键词:** 薛氏海龙; 繁殖生物学; 组织学切片; 性腺发育

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2018)02-0384-11

薛氏海龙(*Syngnathus schlegeli*), 隶属于硬骨鱼纲(*Osteichthyes*), 海龙目(*Syngnathiformes*), 海龙科(*Syngnathidae*), 海龙属, 又名舒氏海龙, 俗称杨枝鱼、钱串子。广泛分布于韩国、日本、印度尼西亚、非洲东部和中国沿岸<sup>[1]</sup>。主要栖息于海藻繁茂的近海沿岸泥砂质水域中。由于其经济价值较低, 上岸后多作为鱼粉饲料加工的原料之一。

海龙科鱼类与海马科鱼类相似, 亦具有特殊的雄性孵育过程。因此, 围绕其独特的繁殖习性, 人们开展了诸多涉及其繁殖生物学和交配行为的研究, 如 Silva 等<sup>[2]</sup>观察描述了短吻海龙(*Syngnathus abaster*)的求偶与生殖行为; Jones 等<sup>[3]</sup>利用微卫星技术对墨西哥北部的海湾海龙(*Syngnathus scovelli*)育儿袋内的胚胎进行遗传标记, 结果显示符合一雄多雌制的遗传交配模式。日本学者介绍了大槌湾薛氏海龙的繁殖季节、性比、育儿袋的发育及

雄性体长和胚胎大小的关系<sup>[4-5]</sup>; 英国学者研究了蚓形裸胸海龙(*Nerophis lumbriciformis*)的繁殖与水温的关系<sup>[6]</sup>。Jones 等<sup>[7]</sup>对宽吻海龙(*Syngnathus typhle*)的研究发现, 同一尾雄性育儿袋内的卵子平均由 3.1 尾雌性提供。Watanabe 等<sup>[5, 8]</sup>对大槌湾薛氏海龙的体内受精模式进行了分析, 并根据雄性育儿袋的形态结构认为其交配模式可能是一雄多雌制; 但 Sogabe 等<sup>[9-10]</sup>对濑户内海薛氏海龙的卵巢结构、产卵类型及交配行为的研究表明, 其可能为一雄一雌制的交配模式。海马和海龙这种特殊的交配行为和特异的育儿方式, 使得其在进化生物学和繁殖生物学研究中备受关注, 人们从繁殖行为、性腺发育、育儿袋发育以及育儿袋基因表达特征等不同尺度对海马和海龙的繁殖策略进行了探讨<sup>[10-12]</sup>, “雄性育儿”繁殖行为的进化机制也一直是进化生物学研究领域的重要课题<sup>[13]</sup>。

收稿日期: 2017-05-05; 修订日期: 2017-06-24.

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201405010).

作者简介: 黄玉喜(1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向为资源增殖学. E-mail: huangyuxi92@163.com

通信作者: 张秀梅, 教授. E-mail: xiumei1227@163.com

然而中国近岸水域分布的薛氏海龙, 至今未见其繁殖生物学的研究报道, 对其交配模式亦无定论。

黄渤海近岸的张网和拖网渔获物中常兼捕大量薛氏海龙, 有时可占总渔获重量的 10%~25%<sup>[14-15]</sup>。本研究以青岛斋堂岛附近海域张网捕获的春季繁殖期薛氏海龙为样本, 研究其性腺发育特征和生殖系统的组织结构等, 以期填补国内对薛氏海龙繁殖生物学研究的空白, 为进一步探讨其在近岸水域生态系统中的功能与作用提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 采样地点及样品处理

2015 年逐月从青岛斋堂岛附近海域水深 21 m 处设置的张网渔获物中随机选取薛氏海龙繁殖群体样品, 并在 3—5 月的繁殖期, 以 1~7 d 的时间间隔密集取样, 每次取样 50 尾, 共取样 1250 尾, 冰鲜保存带回实验室进行基础生物学测量, 其中样本体长精确到 0.01 cm, 净重、性腺、肝等称干重(烘箱中 60℃烘 36 h)精确到 0.01 mg。体重为净干重、性腺、肝及其他内脏的总干重。另取新鲜样品采用 Bouin's 溶液保存, 以备性腺组织学切片使用。

### 1.2 实验方法

将样品逐个进行解剖和性别鉴别。性腺分期的划分参考国内外常用的目测等级法<sup>[16-17]</sup>。采用解剖镜(Nikon SMZ1000)观察 28 尾性腺发育为 III 期以上的雌性卵巢, 并统计 46 尾雄性育儿袋中胚胎数, 使用 ImageJ 软件测量 50 粒卵子的卵径和不同发育阶段受精卵的长径, 使用 NIS-Elements 软件进行统计分析。

取出在 Bouin 溶液中浸泡 24~48 h 的样品, 浸入浓度为 30% 的盐酸甲醛溶液(盐酸、甲醛、水的比例为 3 : 1 : 6)中 1~3 d 进行脱钙处理, 当针刺容易刺穿后终止脱钙, 随后流水冲洗 3~4 h 并进行体长测量和组织学切片。将性腺组织和生殖器官切块, 制作组织切片, 苏木精-伊红(HE)染色, Nikon E600 体式显微镜下观察并拍照。

### 1.3 数据分析处理

计算薛氏海龙繁殖生物学指标:

$$\text{性腺指数} = \frac{\text{性腺重(g)}}{\text{净重(g)}} \times 100\%$$

$$\text{肝脏指数} = \frac{\text{肝脏重(g)}}{\text{净重(g)}} \times 100\%$$

$$\text{个体肥满度} = \frac{\text{体重(g)}}{\text{体长(cm)}^3} \times 10^5$$

各处理数据以平均值±标准误( $\bar{x} \pm \text{SE}$ )表示, 使用卡方检验分析性比,  $T$  检验分析性腺指数、肝脏指数、个体肥满度月变化。数据处理运用 Excel 2013 和 SPSS 22.0 软件, 使用 Illustrator CS6 绘制薛氏海龙生殖系统示意图。

## 2 结果与分析

### 2.1 体长与体重的分布情况

春季繁殖期薛氏海龙雄性和雌性的体长呈正态分布趋势, 其中体长 14.00 cm 雄性和雌性个体分布频率最高。雌性薛氏海龙的体长范围为 10.80~19.80 cm, 平均体长为(15.00±1.20) cm, 优势体长为 13.00~16.90 cm, 占总样本数的 89.88%; 雄性薛氏海龙的体长范围为 11.00~21.00 cm, 平均体长为(14.90±1.20) cm, 优势体长与雌性相同为 13.00~16.90 cm, 占总样本数的 91.35%(图 1A)。

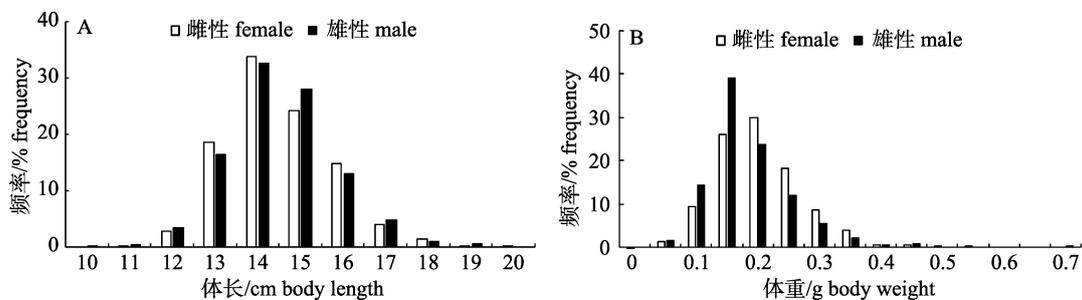


图 1 春季繁殖期薛氏海龙体长(A)与体重(B)的频率分布

Fig. 1 The frequency distribution of body length (A) and body weight (B) of *Syngnathus schlegeli* in spring reproduction season

春季繁殖期薛氏海龙样本的体重位于 0.08~0.72 g, 其中雌性的体重范围为 0.04~0.59 g, 平均体重为(0.19±0.06) g, 优势体重为 0.15~0.30 g, 占总样本数的 83.82%, 分布率最高的体重为 0.20 g; 雄性的体重范围为 0.06~0.72 g, 平均体重为(0.20±0.07) g, 优势体重为 0.10~0.35 g, 占总样本数的 88.96%, 分布率最高体重为 0.15 g(图 1B)。

将采集样本中薛氏海龙雌雄个体的体长( $L$ )和体重( $W$ )数据进行多种函数的回归分析和曲线拟合, 再结合判定指数( $R^2$ ), 现雌性和雄性体长、体重呈幂函数关系(图 2), 关系式如下:

$$\text{雌性: } W = 3 \times 10^{-5} L^{3.2103}; R^2 = 0.6854$$

$$\text{雄性: } W = 3 \times 10^{-5} L^{3.2785}; R^2 = 0.7266$$

其中雌性和雄性的  $b$  值分别为 3.2103、3.2785, 均大于 3, 说明薛氏海龙个体均为异速生长。

## 2.2 性比

采集的 1250 尾薛氏海龙样本中雌性样本 791 尾, 占 63.28%; 雄性样本 453 尾, 占 36.24%; 未成年个体 6 尾, 占 0.48%。春季繁殖期雌性样本数量明显高于雄性, 其中 3 月 24 日采集的样本全为雌性、5 月 14 日仅捕获 1 尾雄性样本(图 3)。总体雌雄比约为 1.75 : 1, 性比明显偏离 1 : 1( $P < 0.01$ )。

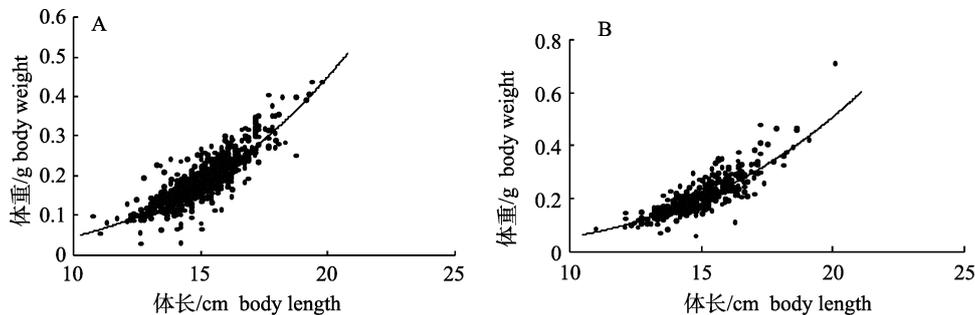


图 2 春季繁殖期雌(A)、雄(B)薛氏海龙的体长-体重关系  
Fig. 2 Relationship between standard length and body weight of female (A) and male (B) *Syngnathus schlegeli* in spring reproduction season

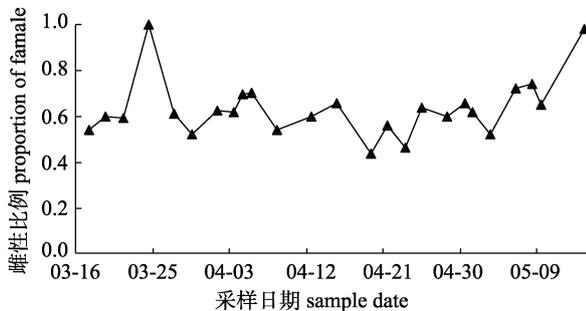


图 3 春季繁殖期薛氏海龙的雌性比例  
Fig. 3 The proportion of female *Syngnathus schlegeli* in spring reproduction season

## 2.3 副性征

性成熟个体在繁殖季节具有显著的第二性征。繁殖初期雄性薛氏海龙尾部腹侧的皮肤褶皱形成左右两半犹如两扇门的皮褶, 两皮褶边缘在腹侧中央交汇到一起, 形成了一个柔软的囊袋状的结构—育儿袋(图 4)。当育儿袋中的胚胎发育成熟以后, 封闭的育儿袋逐渐打开, 释放出幼体<sup>[5]</sup>。此后育儿袋两侧的皮褶逐渐变硬萎缩, 直至消失。

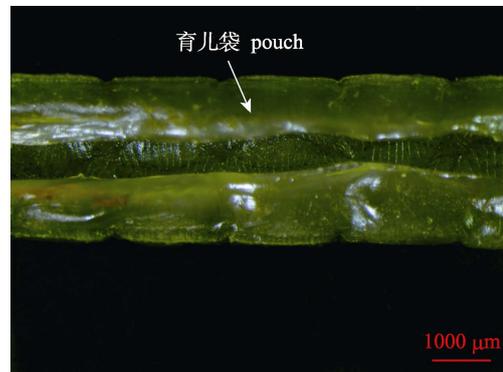


图 4 薛氏海龙未发育完全的育儿袋  
Fig. 4 The undeveloped pouch of *Syngnathus schlegeli*

## 2.4 性腺指数、肝脏指数、个体肥满度指数

2015 年春季繁殖期, 雌性个体的性腺指数随时间推移先升高后逐渐降低, 变化范围为 0.05%~28.99%, 其中 3 月中旬最低, 为 4.24%。4 月中下旬最高, 为 27.30%。雄性个体的性腺指数始终保持在较低水平, 变化范围为 0.01%~4.85%。 $T$  检验显示雌雄性腺指数差异极显著( $P < 0.01$ , 图 5A)。

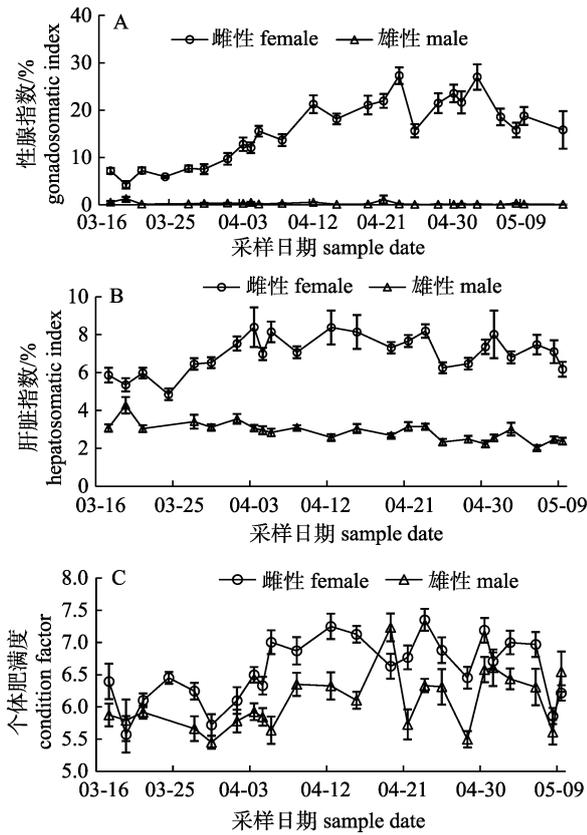


图 5 春季繁殖期薛氏海龙性腺指数、肝指数、个体肥满度的变化

Fig. 5 Diurnal variations of gonadosomatic index, hepatosomatic index and condition factor of *Syngnathus schlegeli* in spring reproduction season

雌性个体的肝脏指数的变化范围为 4.84%~8.39%, 亦随时间推移呈现先升高后降低的趋势, 雄性个体的肝脏指数 2.03%~4.28%范围内略微浮动。T 检验显示雌雄个体间的肝指数存在极显著性差异( $P<0.01$ )(图 5B)。

雄性个体肥满度指数的变化范围为 5.45~7.23, 雌性为 5.57~7.35。雌雄的个体肥满度指数自 3 月中旬开始略微升高后, 4 月保持相对稳定, 5 月起略微下降, 其中雄性的个体肥满度在 4 月底、5 月初波动幅度较大(图 5C)。T 检验表明, 雌雄的个体肥满度之间存在显著性差异( $P<0.05$ )。

### 2.5 性腺成熟度与卵径

根据鱼类性腺发育分期目测等级法可将薛氏海龙卵巢划分为 I~VI 期<sup>[16-17]</sup>, 3 月以 II、III 期为主, 月末开始出现 IV 期(占 7.43%); 4 月末以 III~V 期为主, 其中 V 期卵巢比例达到最高(占 55.22%), 并有 VI 期卵巢出现; 5 月初 VI 期卵巢比例达到最

高(占 12.94%), 月末随着繁殖期的结束卵巢重新回到 II、III 期(图 6A)。精巢也可划分为 II~IV 期, 3 月 II、III 期比例最高, V 期比例最少(占 4.24%); 4 月中旬开始出现 IV 期精巢(占 15.26%), 且随时间推移所占比例显著升高; 5 月初开始 V 期和 IV 期精巢所占比例逐渐减少, 并重新出现 II 期精巢(图 6B)。

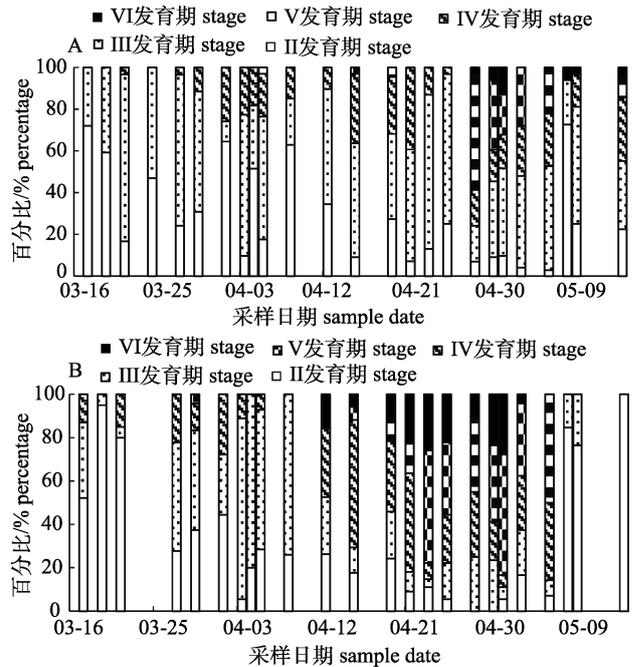


图 6 春季繁殖期薛氏海龙卵巢(A)和精巢(B)成熟度组成  
Fig. 6 Ovary (A) and testis (B) maturity composition of *Syngnathus schlegeli* in spring reproduction season

卵子直径随卵巢发育逐渐增大, 卵巢发育至 V 期后平均卵径开始变小, 卵径变化范围为 206.97~1111.07  $\mu\text{m}$ , 其中 III 期卵巢的平均卵径为(707.99±188.16)  $\mu\text{m}$ , IV 期为(873.36±134.61)  $\mu\text{m}$ , V 期为(960.74±99.07)  $\mu\text{m}$ , VI 期为(884.43±149.38)  $\mu\text{m}$ 。

不同发育分期卵巢中的卵径整体呈正态分布, 主要集中在 600~1000  $\mu\text{m}$ , 其中 III、IV 和 VI 期卵巢中直径 800  $\mu\text{m}$  的卵子占比最高, V 期卵巢中直径 900  $\mu\text{m}$  的卵子比例最高。III 期卵巢处于发育过程中的卵子较小, V 期性成熟期的卵子最大直径为 1200  $\mu\text{m}$ , 卵粒数平均约 312 粒, 其中成熟卵粒(卵径大于 900  $\mu\text{m}$ )数平均约 225 粒, 占卵巢总卵粒数的 72%。V、VI 期卵巢中的卵径分布呈现两个峰值, 由此判断薛氏海龙产卵方式为分批产卵(图 7)。

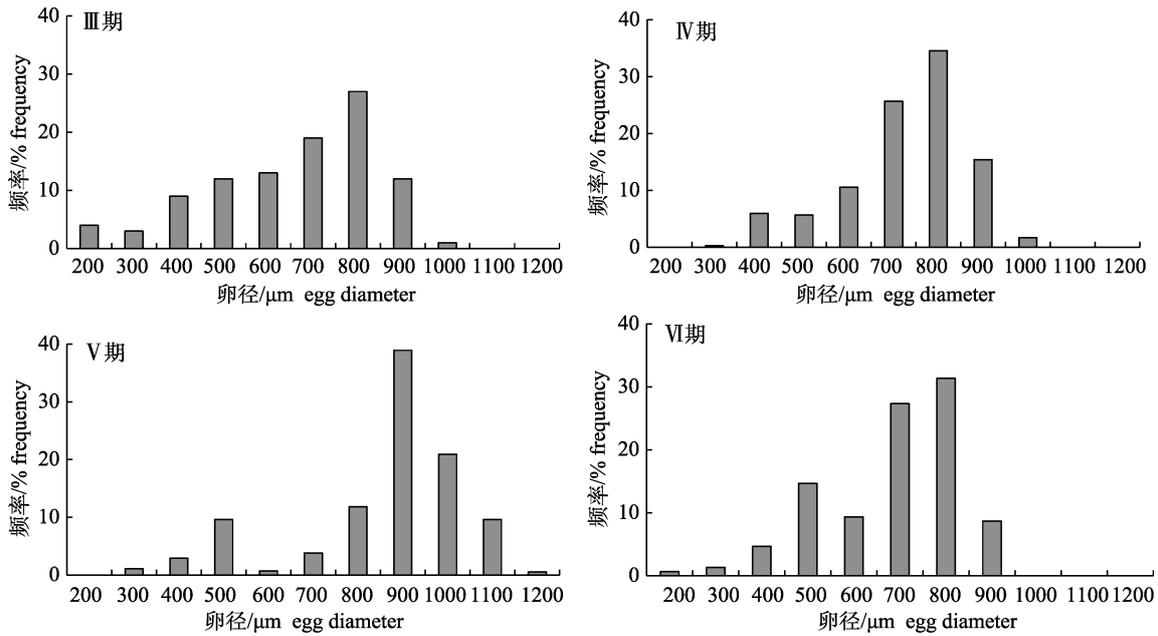


图 7 薛氏海龙 III~VI 期卵巢中卵径的频率分布

Fig. 7 The egg diameter distributions in ovaries of *Syngnathus schlegeli* in phase III-VI

## 2.6 育儿袋中胚胎

检测 453 尾雄性薛氏海龙样品, 育儿袋中怀有胚胎的雄性共 46 尾。4、5 月怀卵的雄性个体数最多, 3 月相对较少。不同采样期雄性育儿袋内平均受精卵的数量为 149.25 粒, 5 月份最高为 272 粒, 此时怀卵个体的比例也显著高于其他月份, 占采样总数的 57%。3 月份雄性平均怀卵数量最低为 82 粒。解剖镜下观察发现, 每尾雄性育儿袋中胚胎的发育进程基本相同。

## 2.7 性腺组织学观察

利用全年逐月采集的薛氏海龙样品, 将卵巢发育分为 I~VI 期<sup>[16-17]</sup>的样本分别制作组织学切片, 具体特征如下(图 8):

I 期: 卵巢呈线形, 紧贴体腔壁, 肉眼不能分别雌雄, 卵原细胞由卵巢中央产生, 体腔左侧为逆时针排列, 右侧为顺时针排列, 初级卵母细胞开始出现, 呈椭球形, 细胞体积较小, 直径 16.54~75.21 μm, 细胞质少且均匀, HE 染色呈深蓝色, 显强嗜碱性。核内染色质网状, HE 染色呈红色, 显嗜酸性。核仁扁长, 核径 12.10~30.42 μm。卵巢壁厚 3.76~5.32 μm, 初级卵母细胞胞壁厚 3.02~4.85 μm。

II 期: 卵巢乳白色, 呈带状, 卵巢壁厚, 淡黄

色。卵母细胞数量明显增多, 初级卵母细胞处于小生长期, 同时出现第 I、II、III 时相卵母细胞, 第 II 时相的卵母细胞占卵巢体积最大, 长径 172.04~256.07 μm, 短径 99.87~154.97 μm, 核径 23.77~26.42 μm, 卵膜壁厚 4.06~4.78 μm, 卵膜加厚, 开始出现放射纹, 第 II 时相以上卵母细胞的核仁较透明, 细胞伸长, 外部有滤泡膜包被。卵巢膜厚 10.64~41.86 μm。

III 期: 卵巢体积显著增大, 呈管状, 淡橘黄色, 可见卵巢膜上的血管, 肉眼能看清卵粒, 但无法分离, 卵巢膜厚度为 11.98~34.65 μm。初级卵母细胞开始进入大生长期, 切片可见平滑肌和肌间血管, 可见第 I~III 时相卵母细胞, 第 III 时相卵母细胞占卵巢体积的一半以上, 一般为三角形或梯形, 长径 300.24~319.76 μm, 短径 125.01~241.46 μm, 细胞内滤泡开始聚集, 卵黄颗粒开始在卵膜边缘出现并向细胞中央聚集、沉淀。核径 45.14~69.90 μm, 膜厚 5.23~7.21 μm。卵母细胞被两层滤泡膜包被。

IV 期: 卵巢体积进一步增大, 橘红色, 卵粒饱满、明显, 可从卵巢上分离。卵母细胞数量较 III 期时显著增多, 卵母细胞基本处于第 I~III 时相, 开始出现第 IV 时相卵母细胞, 卵径 316.09~

367.35  $\mu\text{m}$ , 核径 52.76~59.82  $\mu\text{m}$ , 细胞质中卵黄颗粒体积不断增大, 逐渐聚集成整块, 充满整个细胞, 其间夹杂着较多油球。细胞核逐渐偏离细胞中央, 逐渐朝动物极方向移动, 卵膜逐渐加厚 10.67~12.09  $\mu\text{m}$ , 出现明显的放射膜, 卵巢膜厚 22.47~34.74  $\mu\text{m}$ 。

V 期: 卵巢体积最大, 呈桶状, 深橘红色, 卵母细胞颗粒饱满, 橘红色, 肉眼可见, 易从卵巢上分离。成熟的卵母细胞积攒到一定数量后从滤泡中释放出来, 准备排卵, 此时如轻轻挤压腹部, 卵子涌出。卵巢由第 I、II、III、IV、V 时相卵母

细胞组成, 其中第 V 时相卵母细胞相互紧挨, 占大部分卵巢体积, 卵径 453.68~491.05  $\mu\text{m}$ 。卵黄聚集成一整块, 聚集在卵母细胞中央。卵巢膜厚 11.99~13.15  $\mu\text{m}$ 。

VI 期: 卵巢扁瘪松弛, 呈倒三角形, 略呈橘红色, 体积明显变小, 可见橘红色卵粒, 但不是很明显, 卵粒不易从卵巢上分离。卵巢中出现大量皱缩的空囊泡, 卵母细胞数量显著减少。卵母细胞以第 I、II、III 时相为主, 月牙形或近似梯形, 大量粗大的血管和结缔组织密布中。卵巢膜厚度显著增加 34.78~39.45  $\mu\text{m}$ 。

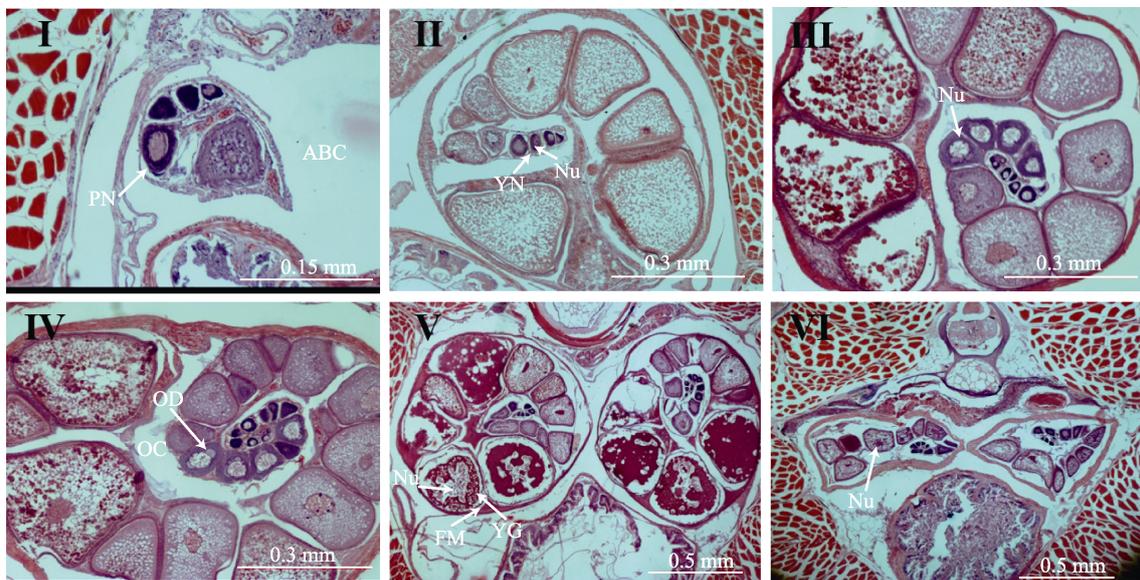


图 8 雌性薛氏海龙卵巢 I~VI 期的组织学切片

ABC: 腹腔; FM: 滤泡膜; OC: 卵巢腔; OD: 油球; Nu: 核仁; PN: 初级卵母细胞; YG: 卵黄颗粒; YN: 卵黄核。

Fig. 8 Histological sections of phase I~VI for ovaries of *Syngnathus schlegelii*

ABC: abdominal cavity; FM: follicle membrane; OC: ovarian cavity; OD: oil droplet; Nu: nucleolus;

PN: early perinucleolus stage oocytes; YG: yolk granules; YN: yolk nucleus.

同样, 精巢也按照 6 个发育分期进行了组织学观察(图 9):

I 期: 精巢呈线性, 透明状, 紧贴体腔壁, 肉眼不能分辨雌雄。切片可见精巢横切面为三角形, 精原细胞数量较少、相对集中, 堆积在一起, 无法分清细胞间边界, 细胞圆形或椭圆形, 核大, 位于中央, 染色较深, 核质分布均匀。精原细胞直径 4.65~6.03  $\mu\text{m}$ , 核径 1.69~2.54  $\mu\text{m}$ 。

II 期: 精巢体积增大, 长度增加, 呈带状, 泛白色。结缔组织增多, 出现初级精母细胞且数量

增多, 但体积较精原细胞小, 呈圆形, 均匀散布在精巢腔内, 核膜清晰可见, 核质被染成深蓝色。初级精母细胞直径 4.35~5.04  $\mu\text{m}$ , 核径 1.88~2.01  $\mu\text{m}$ 。

III 期: 精巢体积增大, 白色, 肉眼模糊可见血管, 肉眼可辨雌雄。切片可见精巢截面呈椭圆形, 油滴状次级精母细胞和初级精母细胞逐渐由精巢中央向精巢壁方向移动, 并在精巢壁附近聚集在一起, 精母细胞的细胞核清晰可见, 细胞直径 4.32~4.49  $\mu\text{m}$ , 细胞核直径 2.03~2.76  $\mu\text{m}$ 。

IV 期: 精巢体积较 III 期略微增大, 肉眼可见

清晰血管。切片可见精巢截面呈圆形,部分精母细胞依然聚集在精巢壁附近,精巢腔中央可见少量精母细胞,精小叶腔内开始出现成熟的精细胞,精细胞直径  $2.69\sim 3.84\ \mu\text{m}$ 。

V 期: 精巢外观膨胀,呈桶状,乳白色,此时如轻轻挤压雄性薛氏海龙腹部,可见乳白色精子溢出,肉眼可辨雌雄。精母细胞发育成成熟精子,

成熟精子个体较精母细胞大,细胞质增多,隐约可见鞭毛等细胞器。成熟精子逐渐由精巢壁向精巢腔中央聚集,准备排出。精子头部长度  $1.07\sim 1.21\ \mu\text{m}$ 。

VI 期: 精巢干瘪褶皱,充血明显,呈暗红色。精巢中的精子已基本排空,残留少量精母细胞和精子位于精巢壁附近,剩余少量衰老的精子或未排除的精子位于精巢腔中。

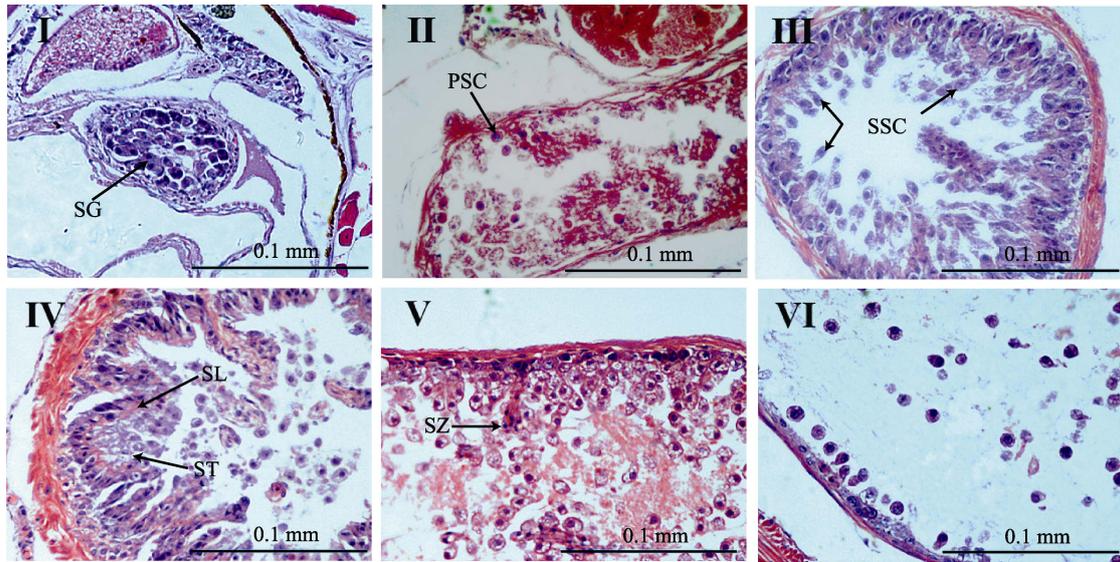


图 9 雄性薛氏海龙精巢 I~VI 期的组织学划分

PSC: 初级精母细胞; SG: 精原细胞; SL: 精小叶; SSC: 次级精母细胞; ST: 精子细胞; SZ: 精子。

Fig. 9 Histological sections of phase I~VI for testes of *Syngnathus schlegelii*

PSC: primary spermatocytes; SG: spermatogonium; SL: seminal lobule; SSC: secondary spermatocytes; ST: spermatid; SZ: spermatozoa.

## 2.8 生殖系统

雌性薛氏海龙生殖系统由卵巢、输卵管、生殖孔 3 部分组成,生殖孔位于臀鳍后端(图 10A)。雄性薛氏海龙的生殖系统由精巢、储精囊、输精管、生殖孔 4 部分组成,成熟精子自精巢产生后,通过前输精管,在储精囊中聚集,待雌性将卵子排入育儿袋后,精子从位于肛门后端的生殖孔排出,与育儿袋中的卵子受精(图 10B)。图 10C、图 10D、图 10E、图 10F 为组织切片和显微镜下观察到的雄性、雌性个体生殖系统形态与组织结构。

## 3 讨论

### 3.1 薛氏海龙的性腺发育特征

本研究发现薛氏海龙的性腺在 3—5 月可以迅速发育成熟。雌性薛氏海龙卵巢的结构较为独特,

与卵子无规律地聚集在卵巢内的竹筴鱼(*Trachurus murphyi*)<sup>[18]</sup>、日本鳀(*Engraulis japonicus*)<sup>[19]</sup>、裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)等鱼类不同<sup>[20]</sup>,其卵巢内的卵子按不同发育时期及个体大小呈螺旋状排列,左右对称,左侧卵子逆时针排列,右侧卵子顺时针排列,这与日本海马(*Hippocampus japonicus*)的卵巢结构类似<sup>[21]</sup>。

卵黄是鱼类卵母细胞的主要成分,也是胚胎发育和胚后发育的能量来源,不同鱼类卵黄发生的位置也不同,多数鱼类的卵黄发生在靠近核周围的细胞质,然后向卵膜边缘生长;少数鱼类的卵黄发生在质膜边缘细胞质,然后再移向卵中心<sup>[22]</sup>。研究发现薛氏海龙卵黄颗粒的发生属于第二种类型即先在质膜边缘细胞质中出现,然后再移向卵中心。

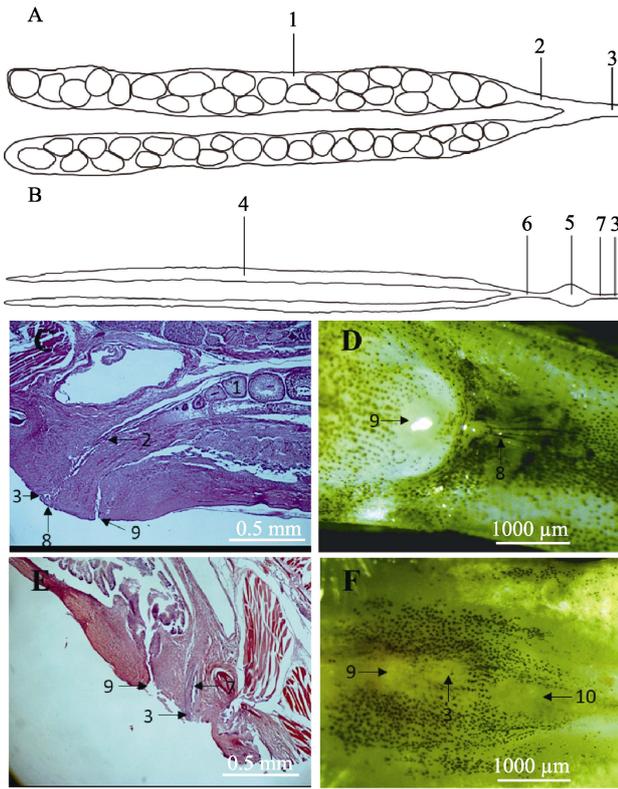


图 10 薛氏海龙的生殖系统形态与组织结构

A: 卵巢示意图; B: 精巢示意图; C: 雌性生殖系统横切面; D: 雌性生殖孔; E: 雄性生殖系统横切面; F: 雄性生殖孔。  
1: 卵巢; 2: 输卵管; 3: 生殖孔; 4: 精巢; 5: 储精囊; 6: 前输精管; 7: 后输精管; 8: 臀鳍; 9: 肛门; 10: 育儿袋前口。

Fig. 10 The reproductive system and organizational structure of *Syngnathus schlegeli*

A: structure diagram of ovaries; B: structure diagram of spermary; C: cross section of female reproductive system; D: female's genital pore; E: cross section of male reproductive system; F: male's genital pore.  
1: ovary; 2: oviduct; 3: genital pore; 4: testis; 5: seminal vesicle; 6: front vas deferens; 7: after vas deferens; 8: anal fin; 9: anus; 10: front opening of pouch.

组织学观察发现, 薛氏海龙精巢中的精母细胞在精巢壁附近生成、发育, 待发育为成熟的精子后不断地向精巢中间聚集。在已有育儿袋的薛氏海龙精巢切片中发现, 精巢腔中仍剩余较多的精细胞, 表明薛氏海龙为多次排精。

### 3.2 薛氏海龙的产卵类型

卵巢内卵子的发育和性腺指数的变化可以反映鱼类的产卵类型<sup>[18, 23-24]</sup>。根据卵巢中卵母细胞的发育状况, 卵巢发育可分为完全同步型(卵母细胞同步发育, 一次产出)、部分同步型(卵母细胞分批成熟, 一次产出)、不同步型(卵母细胞分批成熟,

分批产出), 产卵类型可分为一次产卵型和多次产卵型。

组织学切片发现, 薛氏海龙 III~VI 期卵巢中均分布有不同发育时相的卵子, 即使在排卵后的 VI 期卵巢中也同时出现了第 I、II、III 时相的卵母细胞, 伴随着空滤泡的吸收, 未成熟的卵子继续发育成熟, 卵子发育的不同步间接说明薛氏海龙为分批产卵, 该繁殖方式在日本海马的研究中也被证实<sup>[21]</sup>。分批产卵的黄鳝(*Monopterus albus*)卵巢中卵子卵径分为 3 个不同的卵径群, 分批产卵的黄姑鱼(*Nibea albiflora*)具两个明显的峰值<sup>[25-26]</sup>。本研究薛氏海龙卵巢中卵径同样出现两个明显的峰值(200  $\mu\text{m}$  和 1000  $\mu\text{m}$  处), 由此也证实薛氏海龙的产卵类型为分批产卵。Sogabe 等<sup>[9]</sup>对薛氏海龙卵巢中卵子的观察发现, 产过卵的卵巢在 1 d 内就可以出现新成熟的卵子, 之后几天成熟卵子的数量不断增加, 在 6 d 之内就可以产出 500 粒成熟的卵子。本研究发现雌性薛氏海龙的性腺指数在 4 月底、5 月初一直维持在高位, 持续时间较长, 分析认为可能与卵子的不断成熟有关, 也可能是不同产卵群体的繁殖期存在一定差异所致。

### 3.3 雄性薛氏海龙繁殖行为特征

斋堂岛附近海域薛氏海龙雄性育儿袋中怀有胚胎的个体数占总采样个体数的比例较小, 5 月份最高比例仅为 57%, 远低于濑户内海雄性薛氏海龙的平均怀卵率 77.4%<sup>[9]</sup>和 80.5%<sup>[10]</sup>。Watanabe 等<sup>[8]</sup>通过室内观察发现, 在薛氏海龙交配的最后阶段, 雄性抖动身体将受精卵由育儿袋的前端挤压到后端, 交配后的雄性向深处游动, 具明显的隐蔽行为。本研究发现春季繁殖期雌性薛氏海龙数量明显多于雄性, 在 7 月和 10 月初相同海域取样也未采集到雄性样本, 推测本研究取样水域限定在近岸水深 21 m 的浅水区, 而雄性交配后向深水区的迁移和躲避, 可能会导致雄性样本数量偏低。

### 3.4 薛氏海龙的能量代谢

鱼类肝脏是营养物质储存、吸收和运输的场所, 它能够合成卵黄蛋白原, 且在类固醇激素的作用下为卵母细胞的发育提供物质基础和能量来源<sup>[27]</sup>。本研究发现, 雌性薛氏海龙的肝指数与性

腺发育关系密切。雌性的肝指数在其进入繁殖高峰期以前达到峰值,其后随着产卵繁殖而缓慢降低。而雄性个体的肝指数在较低水平维持相对稳定。这可能是由于薛氏海龙在进入繁殖期间摄食减少,肝脏为卵巢发育提供了主要的能量物质,而雄性个体则不存在卵黄蛋白的合成问题,肝脏指数亦未出现明显变化。该现象也在黄魮鰈<sup>[28]</sup>(*Lophius litulon*)、斑头鱼<sup>[29]</sup>(*Hexagrammos agrammus*)、野生鲇<sup>[30]</sup>(*Silurus asotus*)等研究中均有报道。

### 3.5 薛氏海龙的交配模式

海龙科鱼类的交配模式一直备受关注。Jones 等<sup>[7]</sup>利用微卫星技术对 30 尾雄性宽吻海龙育儿袋中的胚胎进行基因鉴定,结果发现,每尾雄性个体育儿袋中的胚胎平均来自 3.1 尾雌性个体;Watanabe 等<sup>[31]</sup>通过室内录像观察小头多环海龙(*Hippichthys penicillus*)的交配行为,结果显示,雌雄个体交配完成后雄性个体的育儿袋未能全部充满时,该雄性会继续和其他雌性个体继续进行交配,直到育儿袋完全充满。依据对雄性薛氏海龙育儿袋内胚胎发育时相的研究,Watanabe 等<sup>[5]</sup>认为大槌湾薛氏海龙的交配模式可能为一雄多雌,并通过繁殖行为观察发现,交配时雄性薛氏海龙抖动尾部,将育儿袋前端的受精卵挤压到后端,如果受精卵未填满育儿袋,雄性个体会择机与其他雌性继续交配。而 Sogabe 等<sup>[9]</sup>认为濑户内海薛氏海龙的交配模式为一雄一雌,并推测可能由于环境等因素的差异形成了交配模式的地理变异。

本研究发现,斋堂岛近海薛氏海龙成熟的卵子呈黄或橘黄色,半透明,卵径一般为 0.6~0.9 mm。V 期卵巢中成熟卵子的卵粒数与雄性育儿袋中的平均怀卵数基本一致,且雄性育儿袋中胚胎的发育阶段又基本一致,分析认为,其交配模式可能为一雄一雌制,亦或是雄性在同一天内与多个雌性交配的一雄多雌制。组织学观察发现,薛氏海龙雌性为分批产卵,雄性亦为分批排精,暗示其交配模式可能存在一雄多雌制。因此,斋堂岛附近海域薛氏海龙的交配模式还有待室内行为观察并结合微卫星标记等手段进一步确认。

### 参考文献:

- [1] Zhu Y D, Zhang C L, Cheng Q T. The fishes of East China Sea[M]. Beijing: Science Press, 1963: 178-181. [朱元鼎, 张春霖, 成庆泰. 东海鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1963: 178-181.]
- [2] Silva K, Monteiro N M, Vieira M N, et al. Reproductive behaviour of the black-striped pipefish *Syngnathus abaster* (Pisces; Syngnathidae)[J]. Journal of Fish Biology, 2006, 69 (6): 1860-1869.
- [3] Jones A G, Avise J C. Microsatellite analysis of maternity and the mating system in the Gulf pipefish *Syngnathus scovelli*, a species with male pregnancy and sex-role reversal[J]. Molecular Ecology, 1997, 6(3): 203-213.
- [4] Watanabe S, Watanabe Y. Relationship between male size and newborn size in the seaweed pipefish, *Syngnathus schlegeli*[J]. Environmental Biology of Fishes, 2002, 65(3): 319-325.
- [5] Watanabe S, Watanabe Y. Brooding season, sex ratio, and brood pouch development in the seaweed pipefish, *Syngnathus schlegeli*, in Otsuchi Bay, Japan[J]. Ichthyological Research, 2001, 48(2): 155-160.
- [6] Monteiro N, Almada V C, Santos A M, et al. The breeding ecology of the pipefish *Nerophis lumbriciformis* and its relation to latitude and water temperature[J]. Journal of the Marine Biological Association of the UK, 2001, 81(6): 1031-1033.
- [7] Jones A G, Rosenqvist G, Berglund A, et al. The genetic mating system of a sex-role-reversed pipefish (*Syngnathus typhle*): a molecular inquiry[J]. Behavioral Ecology and Sociobiology, 1999, 46(5): 357-365.
- [8] Watanabe S, Hara M, Watanabe Y. Male internal fertilization and introsperm-like sperm of the seaweed pipefish (*Syngnathus schlegeli*)[J]. Zoological Science, 2000, 17(6): 759-767.
- [9] Sogabe A, Mohri K, Shoji J. Reproductive seasonality of the seaweed pipefish *Syngnathus schlegeli* (Syngnathidae) in the Seto Inland Sea, Japan[J]. Ichthyological Research, 2012, 59(3): 223-229.
- [10] Sogabe A, Takata H, Kobayashi Y. Ovarian structure and mode of egg production in the seaweed pipefish *Syngnathus schlegeli* (Syngnathidae)[J]. Ichthyological Research, 2013, 60(1): 85-88.
- [11] Masonjones H D, Lewis S M. Courtship behavior in the dwarf seahorse, *Hippocampus zosterae*[J]. Copeia, 1996, 1996(3): 634-640.
- [12] Qin G. Reproductive behavior and function of male pregnancy related genes of seahorses[D]. Beijing: University

- of Chinese Academy of Sciences, 2016. [秦耿. 海马繁殖行为及其雄性育儿关键候选基因功能研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.]
- [13] Stölting K N, Wilson A B. Male pregnancy in seahorses and pipefish: beyond the mammalian model[J]. *BioEssays*, 2007, 29(9): 884-896.
- [14] Li C, Zhang X M, Chen P, et al. Selectivity of codend mesh sizes in stow nets during spring on the coast of Zhaitang Island, Qingdao[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, 22(4): 799-811. [李超, 张秀梅, 陈平, 等. 青岛斋堂岛海域春季双桩竖杆张网网囊网目的选择性[J]. *中国水产科学*, 2015, 22(4): 799-811.]
- [15] Tang Y L, Qi G R, Wang X, et al. Catch composition of the set-net along the coastal water and resource utilization analysis of Haizhou Bay[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2014, 44(7): 29-38. [唐衍力, 齐广瑞, 王欣, 等. 海州湾近岸张网渔获物种类组成和资源利用现状分析[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2014, 44(7): 29-38.]
- [16] Chen D G. *Fishery Resources Biology*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997, 3-100. [陈大刚. *渔业资源生物学*[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 3-100.]
- [17] Harvey J. Analysis and interpretation of freshwater fisheries data[J]. *Freshwater Biology*, 2008, 53(10): 2130-2131.
- [18] Zhou B, Zhang M, Zou X R, et al. Histological observation on the ovary development of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*) in the southeast Pacific Ocean[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2012, 21(5): 892-898. [周斌, 张敏, 邹晓荣, 等. 东南太平洋智利竹筴鱼卵巢发育的组织学观察[J]. *上海海洋大学学报*, 2012, 21(5): 892-898.]
- [19] Ma J, Zhao X Y, Zhu J C, et al. Ovary development of anchovy *Engraulis japonicus* in the Yellow Sea[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(6): 7-17. [马健, 赵宪勇, 朱建成, 等. 黄海鳀鱼的卵巢发育[J]. *渔业科学进展*, 2009, 30(6): 7-17.]
- [20] Tang H Y, Chen D Q, Shi J Q, et al. A histological study of the gonad development of *gymnocypris przewalskii*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(2): 166-172. [唐洪玉, 陈大庆, 史建全, 等. 青海湖裸鲤性腺发育的组织学研究[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(2): 166-172.]
- [21] Zuo Z S, Si Z Q, Lu X H, et al. Study on the ovary development of *Hippocampus japonicus*[J]. *Fisheries Science*, 1985, 4(3): 18-21. [左镇生, 司兆青, 鲁秀红, 等. 日本海马卵巢发育规律的初步研究[J]. *水产科学*, 1985, 4(3): 18-21.]
- [22] Qu W L, Pan W Z. Histological studies on ovaries of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) in different spawning times in north China[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1993, 17(1): 68-72. [曲维良, 潘伟志. 北方地区草鱼不同产期卵巢组织学研究[J]. *水产学报*, 1993, 17(1): 68-72.]
- [23] Sun G Y. On the maturity of the female gonads and the type of spawning of the icefish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1985, 9(4): 363-368. [孙帼英. 大银鱼卵巢的成熟期和产卵类型[J]. *水产学报*, 1985, 9(4): 363-368.]
- [24] Macer C T. The reproductive biology of the horse mackerel *Trachurus trachurus* (L.) in the North Sea and English Channel[J]. *Journal of Fish Biology*, 1974, 6(4): 415-438.
- [25] Yang D Q, Chen F, Liu B T, et al. On the type of spawning and fecundity of the eel (*Monopterus albus*)[J]. *Journal of Hubei Agricultural College*, 1994, 14(3): 40-44. [杨代勤, 陈芳, 刘百韬, 等. 黄鳝产卵类型及繁殖力的研究[J]. *湖北农学院学报*, 1994, 14(3): 40-44.]
- [26] Lin N, Jiang Y Z, Yuan X W, et al. Reproductive biology of *Nibea albiflora* in Xiangshan Bay[J]. *Marine Fisheries*, 2013, 35(4): 389-395. [林楠, 姜亚洲, 袁兴伟, 等. 象山港黄姑鱼的繁殖生物学[J]. *海洋渔业*, 2013, 35(4): 389-395.]
- [27] Zhang S C, Sun X T, Li H Y. Review on vitellogenin[J]. *Marine Sciences*, 2002, 26(7): 32-35. [张士瑾, 孙旭彤, 李红岩. 卵黄蛋白原研究及其进展[J]. *海洋科学*, 2002, 26(7): 32-35.]
- [28] Zhang X J, Cheng J H, Shen W, et al. Reproductive biology of yellow goosfish *Lophius litulon*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(2): 290-298. [张学健, 程家骅, 沈伟, 等. 黄鮟鱇繁殖生物学研究[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(2): 290-298.]
- [29] Ji D P, Lin L S, Gao T X. Comparative study on biological characteristics of *Hexagrammos agrammus* around Lidao Rongcheng and Zhaitangdao Jiaonan[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2012, 42(6): 65-71. [纪东平, 林龙山, 高天翔. 荣成俚岛和胶南斋堂岛斑头鱼渔业生物学特征的比较研究[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2012, 42(6): 65-71.]
- [30] Zhu L, Wen H S, Mao Y Z. Development of the sexual glands in the wild catfish *silurus asotus* in relation to the liver weight index[J]. *Journal of Hydroecology*, 2002, 22(5): 26-27. [朱玲, 温海深, 毛玉泽. 野生鲃性腺发育及其与肝重指数关系的研究[J]. *水利渔业*, 2002, 22(5): 26-27.]
- [31] Watanabe S, Watanabe Y, Okiyama M. Monogamous mating and conventional sex roles in *Hippichthys penicillus* (Synnathidae) under laboratory conditions[J]. *Ichthyological Research*, 1997, 44(2): 306-310.

## Reproductive biology of *Syngnathus schlegeli* on the coast of Zhaitang Island

HUANG Yuxi, CHEN Ping, ZHANG Xiumei

Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266003, China

**Abstract:** Twelve hundred and fifty individuals of *Syngnathus schlegeli* were sampled from the coast of Zhaitang Island, Qingdao (using stow nets, in 2015), and their sex ratio, secondary sexual characteristics, gonadosomatic index (GSI), gonad maturity levels, egg diameter, and number of embryos in the pouch were examined. The results showed that the abundance of females was higher than that of males in the area, with a total sex ratio of 1.75 : 1, deviating significantly from a 1 : 1 sex ratio, and the sample comprised 63.28% females, 36.24% males, and 0.48% underage individuals. The gonadosomatic index (GSI) range in males in the breeding population was maintained at a relatively low level of 0.01% to 4.85%, and the GSI in females ranged from 0.05% to 128.99%, and was significantly different from that of the males ( $P < 0.01$ ). Histological sections showed that the gonads of *S. schlegeli* quickly matured from March to May. After spermiation, some sperm cells remained in the testis of male *S. schlegeli*, showing that multiple spermiation events may occur. In the female breeding groups, different phases of eggs appeared in the stage III-VI ovary, and the egg-diameter distribution had two peaks, indicating a multiple-batch spawning pattern. The number of mature eggs in the stage V ovary was in accordance with the number of eggs in the paternal brood bags, and the embryos in the paternal brood bags were at the same stage, suggesting monogamous mating, or polygamy whereby males mated with multiple females on the same day. Evidence for the mating patterns of *S. schlegeli* on the coast of Zhaitang Island needs to be shown by behavioral observation and microsatellite analysis.

**Key words:** *Syngnathus schlegeli*; reproductive biology; histological sections; gonadogenesis

**Corresponding author:** ZHANG Xiumei. E-mail: xiumei1227@163.com