

## 花鮰卵母细胞发育的组织学和超微结构观察

王静, 刘慧芬, 刘梦园, 程凯歌, 马晓, 于森, 赵艳静, 聂国兴, 李学军

河南师范大学水产学院, 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南 新乡 453007

**摘要:** 2015年7月至2017年10月在河南省驻马店宿鸭湖水库采集花鮰(*Hemibarbus maculatus* Bleeker)雌鱼样本190尾, 体长7.12~32.21 cm, 体重10.55~330.22 g, 采用组织学和扫描电子显微镜技术观察了花鮰卵母细胞发育各时期的特征。结果表明, 花鮰卵母细胞发育可分为5个时相, 第I时相卵母细胞处于卵原细胞增殖阶段; 第II时相卵母细胞处于初级生长阶段, 出现滤泡膜; 第III时相卵母细胞出现皮质液泡, 细胞质膜之间形成放射带; 第IV时相卵母细胞处于大生长后期, 卵黄颗粒增多。电镜下观察发现放射带表面形成微孔状结构, 核仁外排, 可能与卵母细胞内营养物质积累有关; 第V时相卵母细胞中细胞核消失, 卵母细胞发育为成熟卵子, 与卵膜脱离, 准备排卵。繁殖季节, 花鮰卵巢成熟系数达到13.78%~17.04%。研究结果可为花鮰人工繁殖和育种工作提供参考。

**关键词:** 花鮰; 卵母细胞; 组织学; 扫描电镜

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)02-0158-08

卵巢是决定雌性动物繁殖性能的重要器官, 它直接关系到卵子的排出和雌激素的分泌<sup>[1]</sup>。因而, 在硬骨鱼类人工繁殖过程中, 卵巢发育与卵母细胞成熟受到越来越多的关注。卵母细胞发育过程由大量结构和功能的转变来完成, 受多方面因素影响。一般认为鱼类卵母细胞发育包括卵原细胞增殖期、初级卵母细胞生长期、卵黄生成期和卵母细胞成熟期<sup>[2]</sup>。根据卵母细胞的发育情况, 硬骨鱼类的卵巢分为完全同步、部分同步和不同步发育3种类型<sup>[2]</sup>。

花鮰(*Hemibarbus maculatus* Bleeker)隶属于鲤形目(Cypriniformes), 鲤科(Cyprinidae), 鮰亚科(Gobioninae), 鮰属, 是中国名特土著淡水鱼类, 具有分布广, 肉质细嫩, 出肉率高, 蛋白质和多不饱和脂肪酸(PUFA)含量丰富等特点。近年来, 中国不同地区先后开展了花鮰人工繁殖, 但关于花鮰卵母细胞发育的研究较少<sup>[3-7]</sup>。为此, 课题组于2015年7月至2017年10月期间采集花鮰样本,

研究了花鮰卵母细胞发育, 以期为花鮰的人工繁殖和育种工作提供科学依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

2015年7月至2017年10月在河南省驻马店宿鸭湖水库(35.140272°N, 113.520226°E)采集了花鮰雌鱼样本190尾, 体长在7.12~32.21 cm, 体重在10.55~330.22 g, 饲养于河南师范大学水产养殖基地。

#### 1.2 实验方法

**1.2.1 组织学观察** 测量花鮰样本体长和体重, 然后解剖将卵巢称重。并将卵巢切成小块, 置于Bouin氏固定液中固定18 h, 后用酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 进行石蜡包埋, 将包埋好的组织于Lecia石蜡切片机上切片, 厚度为6 μm, 切片用二甲苯脱蜡, 梯度酒精复水, HE染色后, 用Zeiss(Axio Scope A1)显微镜观察、拍照记录结果。

收稿日期: 2019-05-06; 修订日期: 2019-06-09.

基金项目: 河南省科技攻关重点项目(182102110383, 182102110327, 192102110083); 河南师范大学青年科学基金项目(2017QK28).

作者简介: 王静(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类繁殖生理学. E-mail: Wangjing940818@126.com

通信作者: 李学军, 博士生导师, 教授. E-mail: xjli@htu.edu.cn

**1.2.2 扫描电镜观察** 为了观察卵母细胞的超微结构,参考Kaviani等<sup>[8]</sup>的方法,卵巢取材后切成1 cm<sup>3</sup>的小块,用Bouin氏固定液固定20 h。样品经脱水、透明处理后,石蜡包埋切片,切片贴于1.5 cm×1.5 cm的盖玻片上,经二甲苯脱蜡,无水乙醇脱水后,喷金镀膜,用JEOL JSM-7800F场发射扫描电镜观察拍照。

### 1.3 数据统计

卵母细胞发育分期参考刘筠<sup>[9]</sup>、张贤芳<sup>[10]</sup>、Ravaglia等<sup>[11]</sup>和Yoneda等<sup>[12]</sup>关于鱼类卵母细胞发育分期的标准,卵巢发育分期以切片中相应时相卵母细胞所占比例超过60%为划分标准。用Image Pro5.0软件测量卵母细胞直径,SPSS 22.0软件处理花鮰卵巢、体长以及体重等数据,并计算成熟系数GSI(%)=卵巢重量/体重×100。

## 2 结果与分析

### 2.1 卵母细胞发育特征分析

根据测量的卵母细胞大小和核仁数目,结合组织学中卵黄物质的积累和电镜下卵膜的形成等将其分为5个时相:第I时相卵原细胞未成熟阶段,第II时相卵母细胞初级生长期,第III时相皮质液泡阶段,第IV时相卵黄蛋白原合成期,第V时相卵母细胞成熟期。

**2.1.1 第I时相卵母细胞(卵原细胞增殖阶段)** 卵母细胞形态不规则,位于生殖上皮附近,细胞直径40~60 μm,核径12~20 μm。细胞体积小,核质均匀,细胞质嗜碱性强,HE染色为深蓝色,细胞核大,核仁着色较深(图1a)。扫描电镜结果显示卵原细胞内结构致密(图1b)。

**2.1.2 第II时相卵母细胞(初级生长期)** 卵母细胞近圆形或椭圆形,细胞核大而明显,位于卵母细胞的中心。此阶段处于卵母细胞的小生长期,细胞不断生长发育,卵母细胞直径可达160 μm,细胞核径达80 μm(图1c)。核仁数不断增多,扫描电镜下可观察到5~20个核仁沿着核膜内缘分布,体积增大,细胞质内充满致密物质(图1d)。

**2.1.3 第III时相卵母细胞(皮质液泡阶段)** 卵母细胞呈圆形,细胞核占据卵母细胞的大部分,核

周围间隙明显。该阶段处于卵母细胞的大生长期早期,卵母细胞快速生长,细胞直径可达450 μm,细胞核直径可达150 μm,核仁数量增多。卵母细胞中出现皮质液泡,数量急剧增加,逐渐充满核膜外周,嗜碱性强,HE染色为蓝色(图1e)。电镜观察发现滤泡膜单层,并且与细胞质膜之间形成放射带(图1f),光镜下可被伊红染成红色。

### 2.1.4 第IV时相卵母细胞(卵黄蛋白原合成期)

该阶段卵母细胞处于大生长期后期,卵母细胞继续发育,体积不断增大,细胞直径达到1200 μm。组织学观察发现,细胞核体积减小,核膜界限不明显,核仁数减少,大核仁基本消失。在靠近细胞质边缘的皮质液泡之间出现卵黄颗粒(图1g)。此时,电镜下观察卵母细胞膜,发现滤泡膜双层,放射带增厚(图1h)。

**2.1.5 第V时相卵母细胞(卵母细胞成熟期)** 此时期卵母细胞发育为成熟卵子,细胞核消失,卵母细胞的直径可达1400 μm。卵黄颗粒体积增大,充满整个卵母细胞。HE染色发现卵黄颗粒可分为两类,一类染成蓝紫色,分布在卵膜周围,呈环状结构;另一类卵黄颗粒染成粉红色,集中在胞质中部(图1i)。扫描电镜结果显示卵母细胞内充满卵黄颗粒,放射带变薄(图1j)。

### 2.2 卵母细胞发育核仁外排

卵母细胞由小生长期过渡到大生长期时,细胞核内物质发生着明显的变化,而核仁外排是典型的特征之一。在初级生长期时,细胞核位于中央,核仁着色较深(图2a),数量为5~20个,依次排列在核膜内侧(图2b);进入大生长期早期时,细胞核体积增大(图2c),核仁数量减少,开始外排(图2d);第四时相开始积累卵黄物质,卵黄蛋白原合成期时,细胞核体积达最大,核仁消失(图2e)。扫描电镜发现,消失的核仁零星散落在细胞质内(图2f);卵母细胞成熟时,卵黄颗粒充满整个细胞(图2g),核仁外排结束(图2h)。

### 2.3 卵母细胞发育卵膜变化过程

花鮰卵原细胞发育到早期初级卵母细胞阶段,出现了单层滤泡细胞(图3a),卵母细胞的质膜与滤泡细胞的质膜连接十分紧密(图3b),随后在单

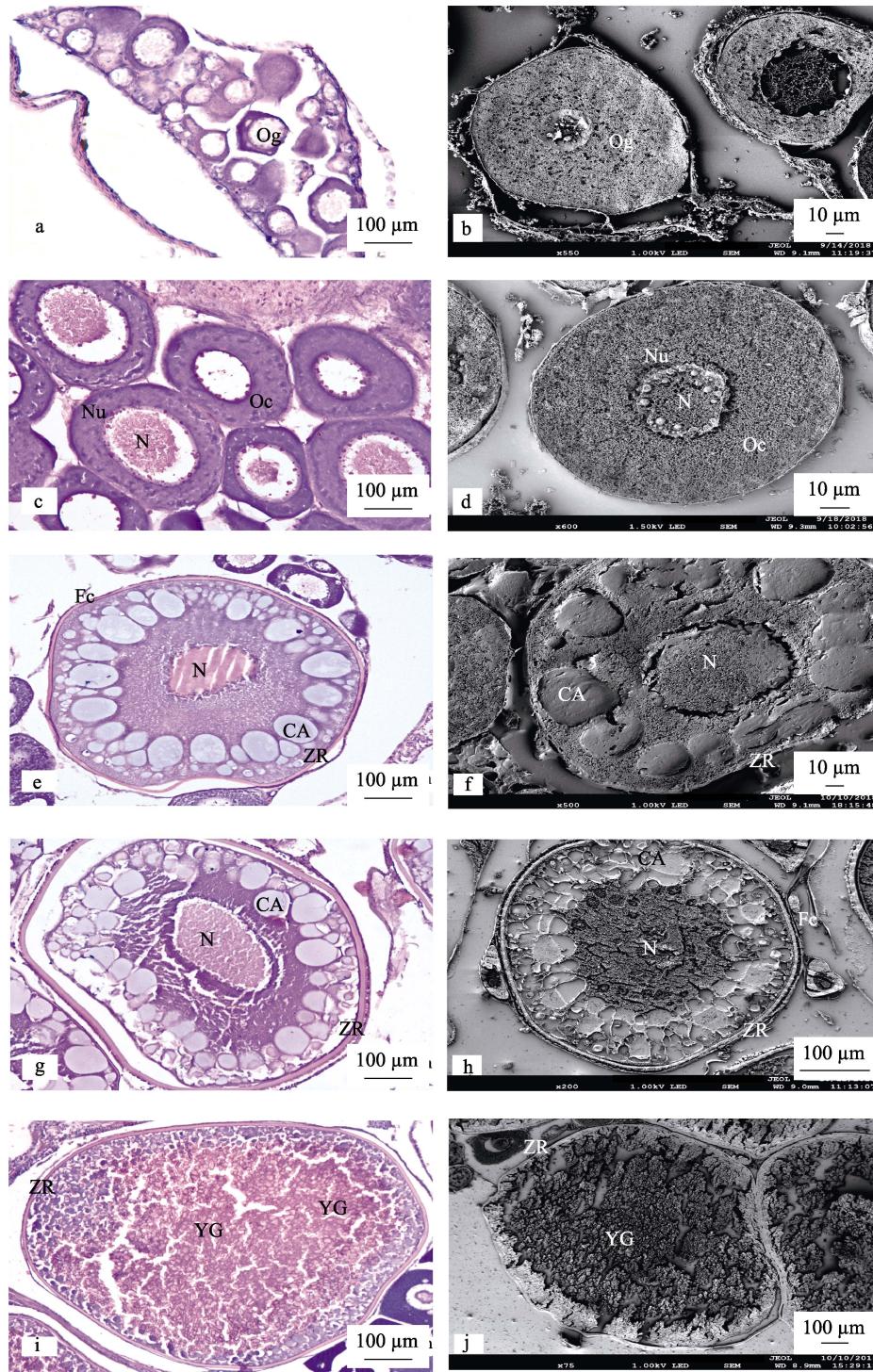


图 1 花鮰不同时相卵细胞组织学与超微结构观察

图 a、c、e、g 与 i 为不同时相卵母细胞光学显微镜图片; 图 b、d、f、h 与 j 为卵母细胞发育不同时相扫描电镜图片。a-b: 示第 I 时相卵母细胞; c-d: 示第 II 时相卵母细胞; e-f: 示第 III 时相卵母细胞; g-h: 示第 IV 时相卵母细胞; i-j: 示第 V 时相卵母细胞。CA: 皮质液泡; Fc: 滤泡细胞; N: 细胞核; Nu: 核仁; Oc: 卵母细胞; Og: 卵原细胞; YG: 卵黄颗粒; ZR: 放射带。

Fig. 1 Histological and ultrastructural observation of oocyte developmental stages in *Hemibarbus maculatus*  
a, c, e, g and i show histological micrograph of *H. maculatus* oocytes during various developmental stages. b, d, f, h and j show ultrastructural micrograph of oocytes during various developmental stages. a-b: oocytes in stage I; c-d: oocytes in stage II; e-f: oocytes in stage III; g-h: oocytes in stage IV; i-j: oocytes in stage V. CA: cortical vacuoles; Fc: follicular cells; N: nucleus; Nu: nucleolus; Oc: oocyte; Og: oogonia; YG: yolk granules; ZR: zone radiate.

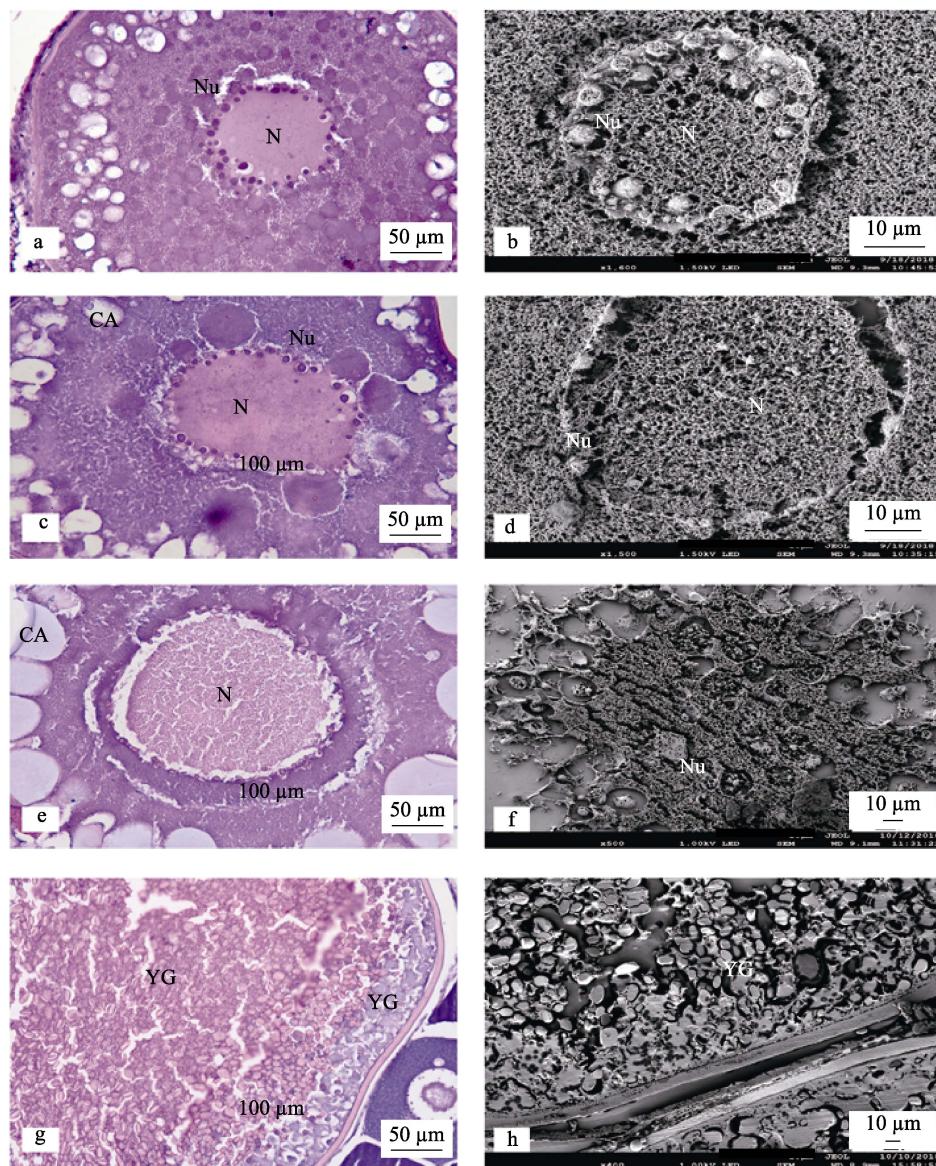


图2 花鮰卵母细胞发育过程中核仁外排现象

图a、c、e和g为光学显微镜图片;图b、d、f和h为扫描电镜图片.

CA:皮质液泡;N:细胞核;Nu:核仁;YG:卵黄颗粒.

Fig. 2 Nucleoli outside phenomenon in the development of oocytes in *Hemibarbus maculatus*

a, c, e and g show histological micrograph of *H. maculatus* oocytes during various developmental stages; b, d, f and h show ultrastructural micrograph of oocytes during various developmental stages. CA: cortical vacuoles; N: nucleus; Nu: nucleolus; YG: yolk granules.

层滤泡膜与质膜间形成嗜酸性的放射带, 显微镜下观察呈浅红色(图3c)。在卵黄原蛋白合成时期, 滤泡膜由单层变为双层(图3e), 放射带增厚, 在放射带的横切面上出现孔状结构和放射管道, 卵母细胞伸出突起到孔状结构和放射管道中(图3f)。卵母细胞成熟时, 卵黄颗粒充满整个细胞, 放射带变薄, 卵母细胞发育成成熟卵子, 与卵膜分离(图3g, 图3h)。

## 2.4 卵巢发育与体长、体重的关系

190尾花鮰样本中I期卵巢体长分布范围在7.12~12.22 cm, 体重范围在10.55~30.64 g, I期卵巢由于性腺太小难以分离, 未计算成熟系数; II期花鮰体长为13.32~17.43 cm, 体重为50.32~100.32 g, 卵巢呈Y字形, 包膜具黑色斑点, 组织切片显示卵母细胞数量增多; III期花鮰体长为18.22~23.10 cm, 体重为110.23~150.34 g, 解剖可见卵

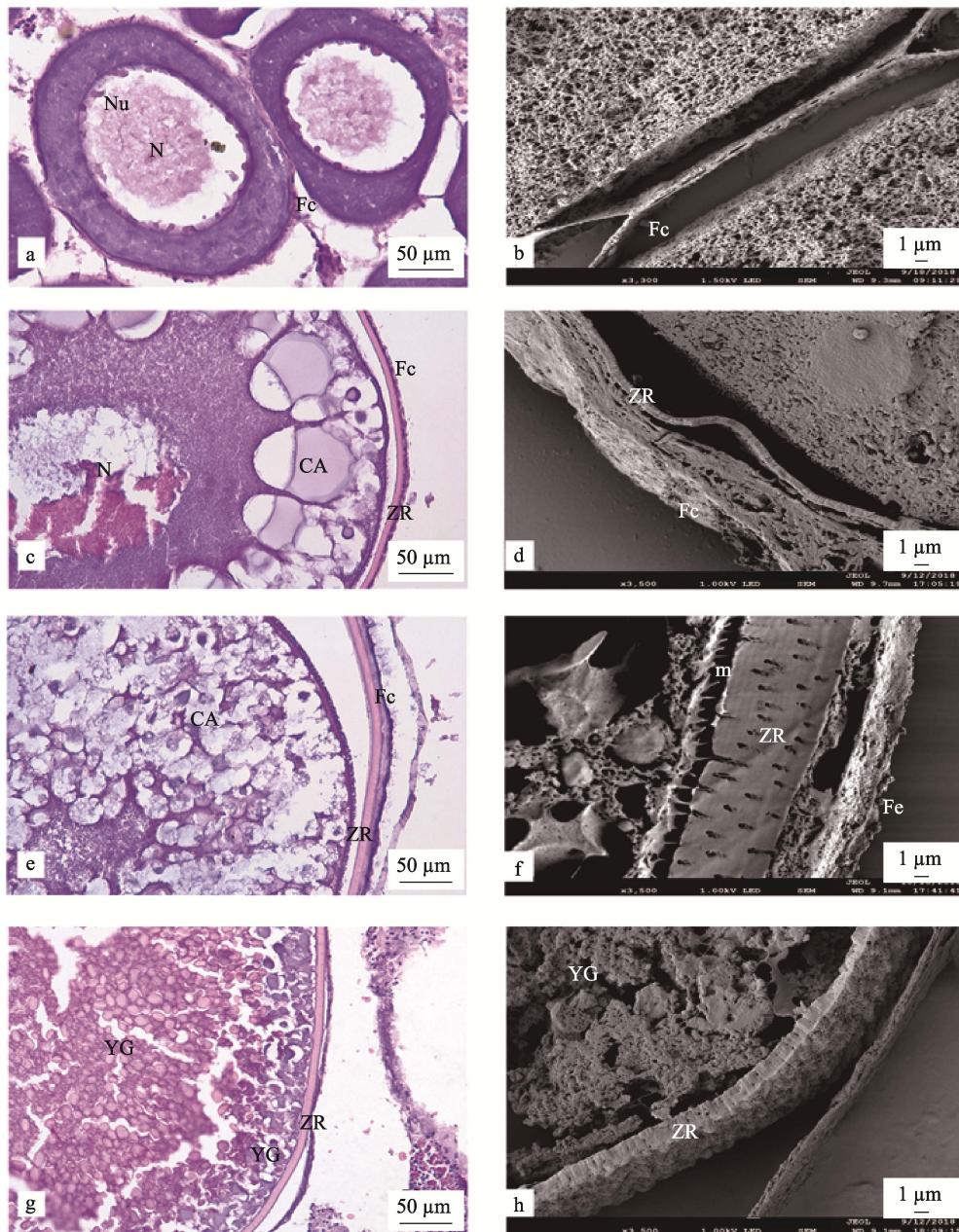


图 3 花鮰卵母细胞发育中核膜的变化过程

图 a、c、e 和 g 为光学显微镜图片; 图 b、d、f 和 h 为扫描电镜图片. CA: 皮质液泡; Fc: 滤泡细胞; m: 微绒毛; N: 细胞核; Nu: 核仁; YG: 卵黄颗粒; ZR: 放射带.

Fig. 3 The process of nuclear membrane change during oocyte developments in *Hemibarbus maculatus*  
a, c, e and g show histological micrograph of *H. maculatus* oocytes during various developmental stages; b, d, f and h show  
ultrastructural micrograph of oocytes during various developmental stages. CA: cortical vacuoles; Fc: follicular cells;  
m: microvillus; N: nucleus; Nu: nucleolus; YG: yolk granules; ZR: zone radiate.

母细胞呈明显的颗粒状; 卵巢发育到第 IV 期时, 花鮰体长 24.16~28.65 cm, 体重 140.19~250.41 g; V 期时, 花鮰体长 29.11~32.21 cm, 体重达 260.13~330.22 g。该阶段卵巢占鱼体腔的 1/2 左右, 卵粒紧密排列, 成熟系数达最大值(表 1)。

### 3 讨论

#### 3.1 花鮰卵巢发育分期

花鮰卵母细胞发育的形态学和组织学变化规律与大多数鲤科鱼类中观察的结果相似<sup>[2]</sup>。目前,

**表1 卵巢不同发育时期与体长、体重的关系**  
**Tab. 1 The relationship between different development stages of ovary and body length and body weight**

卵巢分期 ovarian stage	体长/cm body length	体重/g body weight	成熟系数/% gonadosomatic index
I	7.12~12.22	10.55~30.64	-
II	13.32~17.43	50.32~100.32	2.33~4.56
III	18.22~23.10	110.23~150.34	5.44~7.57
IV	24.16~28.65	140.19~250.41	8.37~11.22
V	29.11~32.21	260.13~330.22	13.78~17.04

注: “-”表示因卵巢难以分离, 没有统计数据。

Note: “-” denotes no information due to difficulty in ovary separation.

关于硬骨鱼类卵母细胞发育分期还没有统一的划分标准。刘筠<sup>[9]</sup>对鲤(*Cyprinus carpio*)、鲫(*Carassius auratus*)等鱼类卵母细胞发育研究中, 根据卵母细胞的大小、体积、卵黄和滤泡发育等特征, 将卵母细胞发育过程分为6个时相。王晶等<sup>[13]</sup>根据卵母细胞发育的形态学变化, 将斑马鱼(*Danio rerio*)卵母细胞发育划分为初级生长期、皮质泡时期、卵黄增生期、卵母细胞成熟期和成熟卵期等5个时期。本研究根据花鮰卵母细胞的组织学和超微结构观察, 以及各时相卵母细胞所占比例, 将花鮰的卵巢分为5个时相。花鮰第I时相和第II时相的卵母细胞与其他硬骨鱼类卵母细胞没有区别, 第II时相的卵母细胞周围出现一层滤泡膜, 但是没有观察到放射带。第III时相时卵母细胞最显著的特点是开始出现皮质液泡。皮质液泡最先出现在质膜的边缘, 随着卵母细胞的发育逐渐向细胞核扩展。这一研究结果与圆口铜鱼(*Coeriusgui chenoit*)<sup>[10]</sup>、花斑副沙鳅(*Parabotia fasciata*)<sup>[14]</sup>、犬首鮈(*Gobio cynocephalus*)<sup>[15]</sup>等鲤形目鱼类一致。第IV时相, 卵黄颗粒逐渐增多, 放射带也不断增厚, 放射带表面上形成微孔状结构, 这可能与卵母细胞内的营养物质积累有关。到了第V时相, 卵母细胞发育为成熟卵子, 可以观察到卵子与卵膜脱离, 准备排卵(图3h)。

### 3.2 花鮰卵子发生过程中放射膜结构变化

花鮰在第III时相的卵母细胞出现放射带, 第IV时相的卵母细胞放射带逐渐增厚, 表面出现许多孔状结构和放射管道, 该时相卵母细胞开始积

累大量卵黄物质。到了第V时相卵母细胞内充满卵黄颗粒, 放射带变薄, 细胞突从放射带孔道中撤出, 放射带的这一结构变化与鲤<sup>[16]</sup>、鱥(*Siniperca chuatsi*)<sup>[17]</sup>、斑马鱼<sup>[18]</sup>相似。Kaviani等<sup>[8]</sup>认为斑马鱼放射膜上的孔状和管道状结构可能与卵母细胞吸收营养物质以及卵黄蛋白原合成有关。

### 3.3 花鮰卵黄物质积累

卵黄物质是卵母细胞在生发发育过程中积累而成的各种营养成分, 是受精卵早期发育主要的能量来源。张贤芳<sup>[10]</sup>认为鱼类的卵黄物质可以分为卵黄泡、卵黄颗粒和脂滴3种。卵黄泡也叫皮质液泡, HE染色为空泡状, 其内积累的卵黄物质染色呈蓝灰色球状。在花鮰卵母细胞发育过程中, 皮质液泡最早出现于第II时相的卵母细胞。伴随着卵母细胞发育, 皮质液泡数目逐渐增多, 并逐渐充满细胞质, 这与大多数鱼类皮质液泡类似。

卵黄颗粒的出现一般晚于皮质液泡。鱼类成熟卵母细胞内的卵黄颗粒以卵黄小板形式存在, 如斑马鱼<sup>[18]</sup>、南方鮰(*Silurus meridionalis*)<sup>[19]</sup>、金枪鱼(*Thunnus alalunga*)<sup>[20]</sup>等。根据卵黄颗粒染色反应的不同, 花鮰卵母细胞内的卵黄颗粒可分为两种, 一类染成蓝紫色, 颗粒较小, 分布于卵膜周围; 另一类染成粉红色, 主要集中在卵的中部, 呈小板状, 这与鲂(*Megalobrama terminalis*)<sup>[21]</sup>、大泷六线鱼(*Hexagrammos otakii*)<sup>[22]</sup>等的卵黄颗粒类似。

### 3.4 花鮰个体大小与卵巢发育的关系

花鮰为中国土著经济型鱼类, 分布范围广。龚世园等<sup>[23]</sup>研究发现南湖花鮰1冬龄达到性成熟, 此时花鮰体长在16.0~18.6 cm, 体重在60~120 g; 而缪学祖等<sup>[6]</sup>研究发现, 体长在13.9 cm以上的2冬龄太湖花鮰雌鱼才能达到性成熟; 汪若彭<sup>[24]</sup>调查发现, 丰溪河花鮰雌性性成熟最小个体体长仅10.8 cm, 体重27.6 g。本研究花鮰取自河南省驻马店宿鸭湖水库, 发现体长在29.11~32.21 cm, 体重在260.13~330.22 g时, 花鮰成熟系数达最大值, 卵母细胞成熟, 这与缪学祖等<sup>[6]</sup>研究结果相似, 由此认为花鮰的绝对生殖力和体长呈正比。

## 4 结论

光镜和扫描电镜观察表明, 花鮰卵细胞发生可分为卵原细胞增殖期、初级卵母细胞生长期、皮质液泡期、卵黄蛋白原合成期以及卵母细胞成熟期。根据组织切片中卵母细胞类型、成熟系数的变化, 可以判断花鮰卵巢是不同步发育类型。了解花鮰卵巢发育特点和规律, 可为人工繁殖和育种提供参考。

### 参考文献:

- [1] Aegerter S, Jalabert B. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2004, 231(1-4): 59-71.
- [2] Shi Q F. Recent advances in the studies on gonad development in fishes[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1988, 12(3): 248-258. [施璇芳. 鱼类性腺发育研究新进展[J]. 水生生物学报, 1988, 12(3): 248-258.]
- [3] Gu R B, Wen H B, Xu G C. Evaluation of nutritive quality and nutritional components in *Hemibarbus maculatus* Bleeker muscle[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2006, 21(4): 378-382. [顾若波, 闻海波, 徐钢春. 花鮰的肌肉营养成分与品质评价[J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(4): 378-382.]
- [4] Pan L X, Guo S R, Li Z Q. The artificial propagation of *Hemibarbus maculatus* from artificial propagated population[J]. Fisheries Science, 2006, 25(11): 549-551. [潘立新, 郭水荣, 李智强. 花鮰人工繁育试验[J]. 水产科学, 2006, 25(11): 549-551.]
- [5] Wang Z L, Chen Z P, Chen C, et al. Experiment on artificial propagation and seedling breeding of *Hemibarbus maculatus* Bleeker[J]. Freshwater Fisheries, 2003, 33(1): 39-41. [王志林, 陈祖培, 陈超, 等. 花鮰人工繁殖与苗种培育试验[J]. 淡水渔业, 2003, 33(1): 39-41.]
- [6] Miao X Z, Yin M C. A study on the biology of spotted carp (*Hemibarbus maculatus* Bleeker) in Tai Hu[J]. Journal of Fisheries of China, 1983, 7(1): 31-44. [缪学祖, 殷名称. 太湖花鮰生物学研究[J]. 水产学报, 1983, 7(1): 31-44.]
- [7] Tuo Y, Liu X G, Guo D S, et al. Study on domestication and artificial propagation of *Hemibarbus maculatus* Bleeker in Yuanhe River[J]. Journal of Yichun College, 2013, 35(3): 111-113. [庹云, 刘小高, 郭冬生, 等. 袁河花鮰驯化及人工繁殖试验[J]. 宜春学院学报, 2013, 35(3): 111-113.]
- [8] Kaviani E F, Shabanipour N, Mirnategh S B. Light and electron microscope structural study of the zona radiata in the oocyte of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Microscopy, 2013, 62(3): 377-382.
- [9] Liu Y. Propagation Physiology of Main Cultivated Fish in China[M]. Beijing: Agriculture Press, 1993. [刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生理学[M]. 北京: 农业出版社, 1993.]
- [10] Zhang X F. Primary studies on the ovary development and oogenesis of *Coreius guichenoti*[D]. Chongqing: Southwest China Normal University, 2003: 22-24. [张贤芳. 圆口铜鱼卵巢发育及卵子发生的初步研究[D]. 重庆: 西南师范大学, 2003: 22-24.]
- [11] Ravaglia M A, Maggese M C. Oogenesis in the swamp eel *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795) (Teleostei; Synbranchidae) Ovarian anatomy stages of oocyte development and micropyle structure[J]. Biocell, 2002, 26(3): 325-337.
- [12] Yoneda M, Tokimura M, Fujita H, et al. Ovarian structure and batch fecundity in *Lophiomus setigerus*[J]. Journal of Fish Biology, 1998, 52(1): 94-106.
- [13] Wang J, Wang B, Li J T, et al. Histological observation of zebrafish gonad development[J]. Genomics and Applied Biology, 2011, 30(2): 168-174. [王晶, 王冰, 李纪同, 等. 斑马鱼性腺发育的组织学观察[J]. 基因组学与应用生物学, 2011, 30(2): 168-174.]
- [14] Li P L, Liu W, Wang J L. Histological observation of gonadal development of barred loach *Parabotia fasciata* in Tangwang River during breeding season[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2016, 29(3): 39-43. [李培伦, 刘伟, 王继隆. 汤旺河花斑副沙鳅繁殖季节性腺发育组织学观察[J]. 水产学杂志, 2016, 29(3): 39-43.]
- [15] Li P L, Liu W, Wang J L. The histological studies on the oogenesis and the morphological structure of the mature egg envelope in Siberian gudgeon *Gobio cenocephalus*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2014, 49(5): 707-715. [李培伦, 刘伟, 王继隆. 犬首鮈卵子发生过程及成熟卵膜形态结构观察[J]. 动物学杂志, 2014, 49(5): 707-715.]
- [16] Shabanipour N, Hossayni S N. Histological and ultrastructural study of zona radiata in oocyte of common carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758)[J]. Micron, 2010, 41(7): 877-881.
- [17] Jiang Y Q, Zhang T T, Yang W X. Formation of zona radiata and ultrastructural analysis of egg envelope during oogenesis of Chinese perch *Siniperca chuatsi*[J]. Micron, 2010, 41(1): 7-14.
- [18] Guo E M. Histological study on ovarian development in zebrafish (*Brachydanio rerio*)[J]. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science), 2009, 26(3): 229-232. [郭恩棉. 斑马鱼卵巢发育的组织学研究[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2009, 26(3): 229-232.]

- [19] Zhang Y G, Xie X J. Histological study on follicular cells and oocyte envelope formation of *Silurus meridionalis*[J]. *Zoological Research*, 1995, 16(2): 166-172. [张耀光, 谢小军. 南方鮰卵巢滤泡细胞和卵膜生成的组织学研究[J]. 动物学研究, 1995, 16(2): 166-172.]
- [20] Zhu W J, Xu L X, Jiang J J, et al. Ovarian development characteristics of North Pacific albacore tuna (*Thunnus alalunga*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(3): 345-355. [朱伟俊, 许柳雄, 江建军, 等. 北太平洋长鳍金枪鱼卵巢的发育特征[J]. 水产学报, 2018, 42(3): 345-355.]
- [21] Liu Y Q, Li X H, Li Y F, et al. A histological study on gonadal development of black amur bream (*Megalobrama terminalis*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2019, 15(1): 113-118. [刘亚秋, 李新辉, 李跃飞, 等. 广东鲂性腺发育组织学研究[J]. 南方水产科学, 2019, 15(1): 113-118.]
- [22] Zheng J S, Wang M L, Shi X C, et al. Study on the annual changes of sex gonad development of *Hexagrammos otakii* Jordan & Starks[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1997, 27(4): 63-69. [郑家声, 王梅林, 史晓川, 等. 大泷六线鱼 *Hexagrammos otakii* Jordan & Starks 性腺发育的周年变化研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(4): 63-69.]
- [23] Gong S Y, Ku Y M, Liang K X. A Study of individual fecundity of the *Hemibarbus Maculatus* Bleeker in South Lake Wuchang[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 1990, 9(2): 204-208. [龚世园, 库夭梅, 梁开学. 武昌南湖花鮰个体生殖力的研究[J]. 华中农业大学学报, 1990, 9(2): 204-208.]
- [24] Wang R P. Study on reproductive biology of *Hemibarbus Maculatus* Bleeker in the Fengxi River[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008: 14-18. [汪若彭. 丰溪河花鮰繁殖生物学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008: 14-18.]

## Histological and ultrastructural study of oocyte development in the spotted steed, *Hemibarbus maculatus*

WANG Jing, LIU Huifen, LIU Mengyuan, CHENG Kaige, MA Xiao, YU Miao, ZHAO Yanjing, NIE Guoxing, LI Xuejun

College of Fisheries, Henan Normal University; Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Xinxiang 453007, China

**Abstract:** In this study, oocyte characteristics were observed during ovarian development of the spotted steed (*Hemibarbus maculatus*), sampled from 2015 to 2017, under light and scanning electron microscopy. A total of 190 fish were sampled, with body length between 7.12 cm and 32.21 cm and body weight between 10.55 g and 330.22 g. Our results showed that oocyte development can be divided into five distinct stages. Oocytes in phase I are considered to be in an oogonial proliferation stage. The second phase of oocyte development for the spotted steed is equivalent to the primary growth stage, and this oocyte development stage is characterized by the presence of a follicular layer. Stage III is marked by the appearance of cortical vacuoles, and the zona radiata (ZR) can be differentiated from the follicular layer. Stage IV oocytes enter the late growth stage, and the yolk granules increase. In electron micrographs, the pore-like structures of the ZR were clearly observed, which are believed to be related to nutrient accumulation. Stage V oocytes are characterized by mature oocytes and a completely degenerated nuclear membrane. Following ovulation, the space between the oocyte and ovary membrane is evident. During the reproductive season, the gonadosomatic index (GSI) ranged from 13.78% to 17.04%. The obtained data will consequently facilitate the artificial propagation and breeding of this commercially important species.

**Key words:** *Hemibarbus maculatus*; oocyte; histology; scanning electron microscopy

**Corresponding author:** LI Xuejun. E-mail: xjli@htu.edu.cn