

DOI: 10.12264/JFSC2024-0389

马口鱼卵巢周年发育与规模化人工繁殖

邓翔^{1,2}, 邹聪², 沈凡², 乔浩峰¹, 陈玉佩¹, 胡晨昊¹, 别汉晴¹, 樊启学^{1,2}, 沈志刚¹

1. 华中农业大学水产学院, 农业农村部淡水生物繁育重点实验室, 教育部长江经济带大宗水生生物产业绿色发展工程研究中心, 池塘健康养殖湖北省工程实验室, 湖北 武汉 430070;
2. 湖北黄优源渔业发展有限公司, 湖北 武汉 430200

摘要: 为建立马口鱼(*Opsariichthys bidens*)规模化人工繁殖技术体系, 对马口鱼卵巢发育的周年变化进行研究观察, 对其规模化人工繁殖技术进行系统研究。结果显示, 湖北地区雌性马口鱼性腺指数(GSI)周年变化范围为 1.16%~11.65%。繁殖期为 4 月中旬至 7 月中旬, 雌鱼产卵前平均绝对繁殖力为 6165.4 粒。秋季水温逐渐降低时(9—10 月), 马口鱼卵巢 GSI 逐渐降低, 卵巢转至 III 期并以该时期延续。第二年 2 月, 马口鱼 GSI 达到极低水平(1.16%~1.65%), 卵巢中 III 期相卵母细胞数量比例在 2 月水温进一步降至 8.0 ℃ 以下后开始增加。规模化人工繁殖试验中发现, LRH-A₂ (5 μg/kg) 与 HCG (1000 IU/kg) 组合使用催产效果最佳, 催产率达 87.0%。0.3%NaCl 溶液为最佳授精介质, 人工授精最佳精卵比为 $5.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5 : 1$, 平均受精率为 66.6%, 平均孵化率为 80.1%。5 月中旬之前催产效应时间为 20.0~26.0 h, 5 月中旬后催产效应时间为 16.0~17.0 h, 积温为 400.00~430.00 ℃·h。水温 20.0~25.0 ℃ 时, 孵化用时为 69.0~90.0 h; 水温高于 26.0 ℃ 时, 孵化用时为 42.5~48.0 h, 孵化积温为 1200.00~1300.00 ℃·h。成功地进行了当年繁殖马口鱼亲本的第二次人工繁殖, 发现再次催产效果与第一次无明显差异。研究结果揭示了池塘培育条件下马口鱼卵巢发育与成熟规律, 明确其具有一年多次产卵的生物学特性, 成功开展了马口鱼大规模人工催产与孵化, 为马口鱼遗传改良、相关研究工作及产业发展奠定了重要基础。

关键词: 多不饱和脂肪酸; 卵巢发育; 人工催产; 精子浓度; 低渗溶液

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)03-0299-13

马口鱼(*Opsariichthys bidens*)又名桃花鱼, 属鲤形目鲤科鮈亚科马口鱼属, 为东亚大陆淡水水域特有鱼类。相比于鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)^[1]和鲫(*Carassius auratus*)^[2]等常见养殖品种, 马口鱼肌肉蛋白含量更高而脂肪含量更低^[3-4], 马口鱼 DHA 含量及多不饱和脂肪酸总量均高于鱊(*Hypophthalmichthys nobilis*)^[5]、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[6]和大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[7]等经济鱼类, 表明马口鱼具有良好的食用价值保健作用, 符合消费者对高品质水产品的需求。

目前有关马口鱼的研究主要集中在寄生虫^[8-9]、分布与分类^[10]、基础生物学^[11]、分子生物学^[12-13]

等方面。对于马口鱼的人工繁殖也有报道^[14-15], 虽然繁育出了马口鱼苗种, 但难以满足规模化生产的需要。当前, 尚未明确马口鱼在人工饲养下精卵巢发育进程与规律, 基于人工养殖亲本群体的大规模人工繁殖技术体系也未见研究报告。

本研究探讨了华中地区马口鱼卵巢周年发育进程和池塘养殖亲本群体的繁殖时间, 在此基础上对繁殖技术进行摸索, 分析了池塘水温波动对其卵巢发育和人工催产的影响, 并开展了大规模人工繁殖。研究结果可为其他地区马口鱼的养殖提供依据, 对马口鱼相关产业发展起到推动作用, 并为我国种质资源的开发利用提供重要

收稿日期: 2025-01-12; 修订日期: 2025-02-10.

基金项目: 湖北省支持种业高质量发展资金项目(HBZY2023B009); 湖北省技术创新计划项目(2024BBB016).

作者简介: 邓翔(1999-), 男, 硕士, 研究方向为鱼类繁育. E-mail: 1298441080@qq.com

通信作者: 沈志刚, 副教授, 研究方向为鱼类遗传育种与繁育. E-mail: zgshen2017@mail.hzau.edu.cn

参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验鱼由合作基地(湖北黄优源渔业发展有限公司, 武汉江夏)繁殖获得, 投喂马口鱼专用配合饲料, 养殖面积为 2600.0 m², 水深 2.0 m 的室外池塘中, 密度为 150.0 kg/667.0 m²。

1.2 卵巢周年发育样品采集

选定 1 口池塘进行卵巢发育规律观察, 从 2021 年 11 月 10 日起, 每 20 d 采样 1 次。该池马口鱼于 4 月 15 日及 6 月 5 日共进行了 2 次人工繁殖。在临近产卵及产卵之后每 10 d 采样 1 次, 于 2022 年 10 月 26 日结束采样。采用撒网随机捕捞的方式进行采样, 每次取 5 尾鱼。

1.3 参数测量

使用丁香油对样品鱼进行麻醉, 测量体重(body weight, BW)、体长(body length, BL)、性腺重(gonad weight, GW)。用性腺重占体重的百分比表示性腺指数(gonadosomatic index, GSI)。

性腺发育成熟后、繁殖之前在池塘中随机取 10 尾马口鱼雌鱼, 测量体重和体长。每尾取 0.1~0.3 g 卵巢组织, 对其中卵粒进行计数, 推算绝对繁殖力(F)、相对体重繁殖力(FW)和相对体长繁殖力(FL)。

使用温度记录仪(精度 0.1 ℃)每隔 4 h 在水面上下 0.7 m 处连续记录池塘水温变化, 取平均值表示当日水温。

1.4 卵巢组织学观察

每次采样时, 将卵巢组织用 Bouin's 液固定 24 h, 然后转移至 75%乙醇溶液中保存, 用于后续组织学切片制作。卵巢组织样品采用常规组织切片、染色和制片方法, 并用连接摄像头的显微镜进行照片采集和组织学分析。取每尾鱼卵巢前、中、后段切片各 1 片, 分别记录 1 个视野内各时相卵母细胞数量, 进行后续统计分析。

1.5 人工繁殖技术研究

1.5.1 精卵比例对人工授精效果的影响 精卵比例, 或称精子密度, 指授精时精子与卵子数量比值。试验设 8 个精子密度梯度: 1.0×10^3 、 5.0×10^3 、

1.0×10^4 、 2.5×10^4 、 5.0×10^4 、 1.0×10^5 、 5.0×10^5 和 1.0×10^6 , 每个梯度设定 3 次重复, 每次重复使用授精卵子 200 颗。

使用血球计数板分别测定 20 尾性成熟雄鱼精子浓度(轻压有乳白色精液流出), 测得精子平均密度为 $(1.76 \pm 0.19) \times 10^{10}$ 个/mL。挑选合格的马口鱼亲本, 按照雌鱼 LRH-A₂ (5 μg/kg)+DOM (3 mg/kg) 进行催产药的注射, 雄鱼减半。达到效应时间后, 选择 3 尾在精子激活后持续快速运动时间 > 25 s 的雄鱼, 收集其精液并混匀, 用移液枪吸取定量精液并用 Hank's 液稀释至固定浓度后备用。将各比例组精子与卵子置于烧杯中混合均匀, 再加入 10 mL 0.3% NaCl 溶液激活精子, 轻摇 2 min 使其充分受精, 之后转入直径 10 cm 的培养皿中, 置于 40 cm×30 cm×9 cm 的塑料盒中静水孵化。在原肠中期统计各组受精率, 出膜后统计各组孵化率。

1.5.2 催产药物对催产效果的影响 以 300 尾成熟待产的雌性马口鱼为实验对象, 将其随机分为 5 组(表 1), 每组设 3 个平行, 每个平行 20 尾雌鱼, 将 LRH-A₂、DOM 和 HCG 以不同组合对实验鱼进行处理, 对照组注射 0.6% NaCl 溶液。根据 1.5.1 得出的最适精卵比进行授精, 统计各组催产率、产卵率、受精率与孵化率, 并计算马口鱼雌性亲本死亡率(授精 48 h 后)。

$$\text{催产率} = \text{产卵亲本重量} / \text{催产亲鱼总重量} \times 100\%;$$

$$\text{产卵率} = \text{产出总卵重} / \text{催产亲鱼总重量} \times 100\%;$$

$$\text{死亡率} = \text{死亡亲本尾数} / \text{亲本总尾数} \times 100\%.$$

表 1 马口鱼人工繁殖催产药物与配伍

Tab. 1 Different agents and matching for artificial reproduction in hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

催产药物及剂量 spawning agent and dosage	组别 group				
	GP1	GP2	GP3	GP4	GP5
NaCl (0.6%)	√	√	√	√	√
LRH-A ₂ (5 μg/kg)		√	√	√	√
DOM (3 mg/kg)			√		√
HCG (1000 IU/kg)				√	√

1.5.3 低渗溶液对人工授精效果的影响 本实验设置浓度为 0.1%~0.7% (梯度 0.1%) 的 NaCl 溶液共 7 个处理组, 及 1 个对照组, 每组设 3 个平行,

每个平行 200 粒卵子。获得精子和卵子后, 以适宜的精卵比例进行授精。授精时先将稀释后的精子加入卵子中混合均匀, 然后倒入 10 mL 各组对应的低渗溶液, 轻摇 2 min 使其充分受精。统计各组的受精率, 并在鱼苗出膜后统计孵化率。

1.6 规模化人工繁殖研究

1.6.1 亲鱼挑选 在长方形水泥池(9.0 m×3.0 m×0.6 m)中架设尼龙网箱, 网箱长 9.0 m、宽 1.0 m, 水深 0.4 m。将亲本转入网箱后进行挑选, 选择外观健康、腹部柔软膨大的雌鱼和轻压腹部有乳白色精液流出的雄鱼作为繁殖亲本, 并将挑选出的雌雄亲本分开暂养, 防止自然产卵。

1.6.2 催产 根据 1.5 的试验结果选择最适催产方案, 按每尾注射 0.3 mL 配置催产药, 采用胸鳍基部一次注射。然后将亲本暂养于 24 h 微流水的水泥池中, 并每隔 1 h 记录水温。

1.6.3 人工授精 当 70% 的雌鱼轻压腹部可见卵粒排出, 视为达到效应时间, 此时将待产雌鱼打捞至铺有干燥毛巾的容器中, 再进行挤卵, 收集卵粒的容器应保持干燥且洁净。根据 1.5 的试验结果按照最适精卵比例, 使用合适浓度的低渗溶液进行半干法人工授精。

1.6.4 孵化 使用有效容积为 0.8 m³ 的孵化桶流水孵化, 每桶放入 80~100 万粒卵, 每小时记录 1 次水温, 水体交换速率≥3.0 m³/h。记录受精率、孵化率和孵化时长(受精完成时开始至 50% 受精卵脱膜所用时长)。

1.7 数据分析

运用 SPSS (Version 27) 软件进行数据统计分析, 利用单因素方差分析(one-way ANOVA)完成各组显著性检验, 之后用 Duncan's 分析明确组间差异, $P<0.05$ 时认为差异有显著性。文中数据均以平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示。方差分析前确定数据的正态性与方差齐性。利用皮尔逊相关系数(Pearson correlation coefficient)进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 雌雄差异

在养殖过程中, 对某一池塘雄性马口鱼和雌性马口鱼的生长指标分别进行测量, 结果如表 2

所示, 数据显示, 在相同养殖条件下, 马口鱼的体重和体长均表现出显著的性别差异, 同日龄雄鱼各指标显著高于雌鱼($P<0.05$), 190 日龄雄鱼平均体重已达到雌鱼的 167%。

在湖北地区, 4月马口鱼雄鱼第二性征逐渐明显, 珠星出现, 表现在上下颌、鳃盖及臀鳍鳍条部位; 色彩鲜艳, 体侧浮现出蓝绿色纵向条纹, 下颌、鳃盖、背鳍、胸鳍、腹鳍与臀鳍呈橘色(图 1), 秋季降温后, 第二性征逐渐消失, 但体侧隐约可见条状斑块。

表 2 马口鱼不同阶段雌雄生长差异

Tab. 2 Sexual growth dimorphism in hooksnout carp (*Opsariichthys bidens*) at different stages

$n=100$; $\bar{x} \pm SE$

性别 sex	160 日龄 160-day-old		190 日龄 190-day-old	
	体长/cm total length	体重/g body weight	体长/cm total length	体重/g body weight
雌性 female	10.0±0.1	15.2±0.6	10.6±0.2	17.8±1.2
雄性 male	11.5±0.2*	23.7±1.0*	12.5±0.2*	29.7±1.6*

注: *代表雌雄间显著性差异($P<0.05$)。

Note: * indicates significant difference between female and male ($P<0.05$).

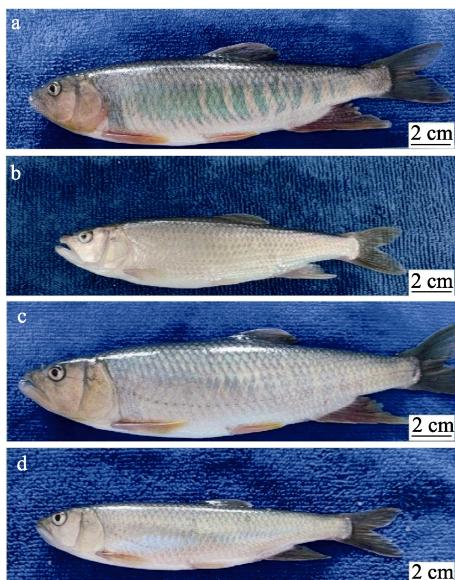


图 1 繁殖季节与非繁殖季节马口鱼雌雄二态性

a. 繁殖季节雄鱼; b. 繁殖季节雌鱼;

c. 非繁殖季节雄鱼; d. 非繁殖季节雌鱼。

Fig. 1 Morphological difference of male and female hooksnout carp (*Opsariichthys bidens*) in reproductive and non-reproductive periods

a. Male in spawning season; b. Female in spawning season; c. Male in non-spawning season;
d. Female in non-spawning season.

2.2 卵巢周年发育与水温的相关关系

如图 2 所示, 湖北地区全年最低水温 6.4 °C, 最高水温 34.8 °C, 马口鱼雌鱼 GSI 的周年变化范围为 1.16%~11.65%, 且有 3 处波峰, 分别出现在 4 月中旬、5 月下旬和 8 月中旬, 表明马口鱼在排卵后卵巢可以再次发育成熟, 为分批产卵类型。

3 月 10 日水温升高至 15.5 °C, 卵巢体积增大, 20 d 后 GSI 由 2.41% 增长至 6.73%, 变化显著($P<0.05$), 4 月 13 日 GSI 达到最大值 11.65%。4 月 15 日笔者成功对这批马口鱼进行了人工繁殖, 产卵后第 10 天, 马口鱼 GSI 显著降低, 仅为 6.29% ($P<0.05$)。随后卵巢继续发育, GSI 快速增长, 于 5 月 27 日第 2 次达到波峰(10.49%), 与第 1 次波峰 GSI 无显著差异($P<0.05$)。笔者在 6 月 5 日对这批马口鱼进行了第二次人工繁殖并取得成功。6 月 12 日, 二次产卵后的马口鱼 GSI 降至 5.66%, 而后在 8 月 15 日第 3 次出现峰值(9.23%)。9 月 5 日, 马口鱼的 GSI 显著降低至 4.48% ($P<0.05$), 是进入繁殖期以来出现的最低值。10 月初, 水温骤降, 马口鱼卵巢进一步缩小, GSI 仅为 1.65%。从 10 月至次年 2 月, 马口鱼 GSI 变化范围为 1.16%~1.65%, 最低值出现在 11 月中旬, 该时期水温逐渐降低, 卵巢发育基本停滞, 直到 3 月 10 日 GSI 才出现小幅增长。

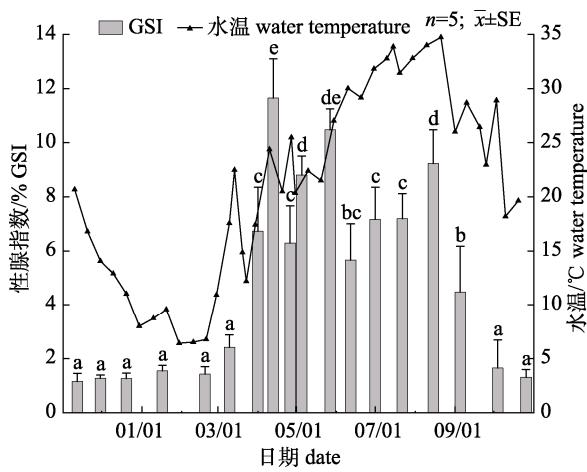


图 2 马口鱼卵巢指数变化与周年水温变化关系
GSI: 性腺指数。不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Fig. 2 Annual changes of female gonadosomatic index (GSI) in hooksnout carp *Opsariichthys bidens*
GSI: gonadosomatic index. Different letters show significant difference of GSI in different sampling periods ($P<0.05$).

马口鱼以 III 期卵巢越冬。11 月 30 日马口鱼卵巢内卵母细胞均处于 II 时相或 III 时相, III 时相卵母细胞数量比为 26%, 卵巢呈黄色, 肉眼可见细小卵粒(图 3, 图 4), 越冬后, 3 月 10 日卵巢内仍只存在第 II 时相和第 III 时相的卵母细胞, 但 III 时相卵母细胞数量比增加至 47%, 卵巢体积略有增大, 位于卵巢中线的血管清晰可见(图 3~5)。

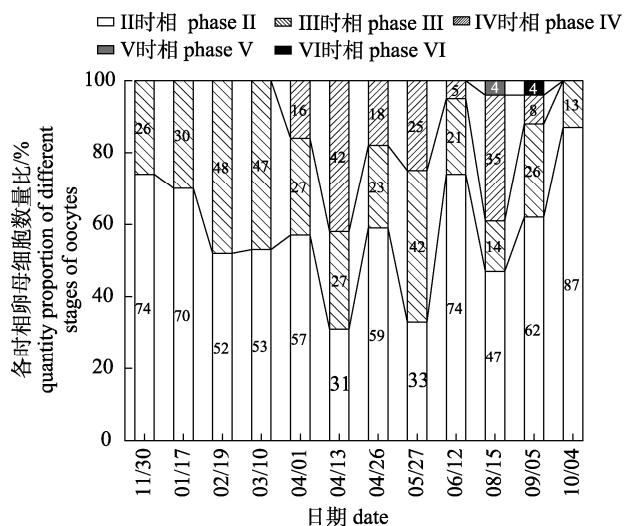


图 3 马口鱼卵巢不同季节各时相卵母细胞数量比例变化
Fig. 3 Changes of the number percentage of oocytes with different phases in hooksnout carp (*Opsariichthys bidens*) in different seasons

3 月底, 马口鱼卵巢发育至 IV 期, 卵巢内可观察到 IV 时相卵母细胞, 数量占比为 16%, 随着水温升高卵巢进一步积累卵黄。4 月 13 日卵巢已充满整个腹腔(图 4c), 卵黄颗粒充满整个卵母细胞, 并有部分卵母细胞细胞核开始向动物极偏移(图 5b), 此时 IV 时相卵母细胞数量比达到 42%, II 时相卵母细胞数量比从 57% 降至 31%, 可以进行人工催产。产卵后第 10 天, 卵巢内仍存在 18% 第 IV 时相卵母细胞, 且 II 时相卵母细胞占比大幅增加至 59% (图 3)。5 月 27 日马口鱼 GSI 达到第 2 次波峰时, 卵巢形态饱满而有光泽, 呈深黄色(图 4d), II 时相卵母细胞数量比 33%, 与 4 月 13 日基本一致, 但 IV 时相卵母细胞占比不高, 为 25% (图 5c, 图 3)。6 月 12 日, 第 2 次产卵后的马口鱼卵巢颜色暗淡, 紧贴于腹部两侧(图 4e), 卵巢内以 II 时相卵母细胞为主, 数量比高达 74% (图 3)。8 月 15 日卵巢再次充满腹腔, 血管清晰(图 4f),

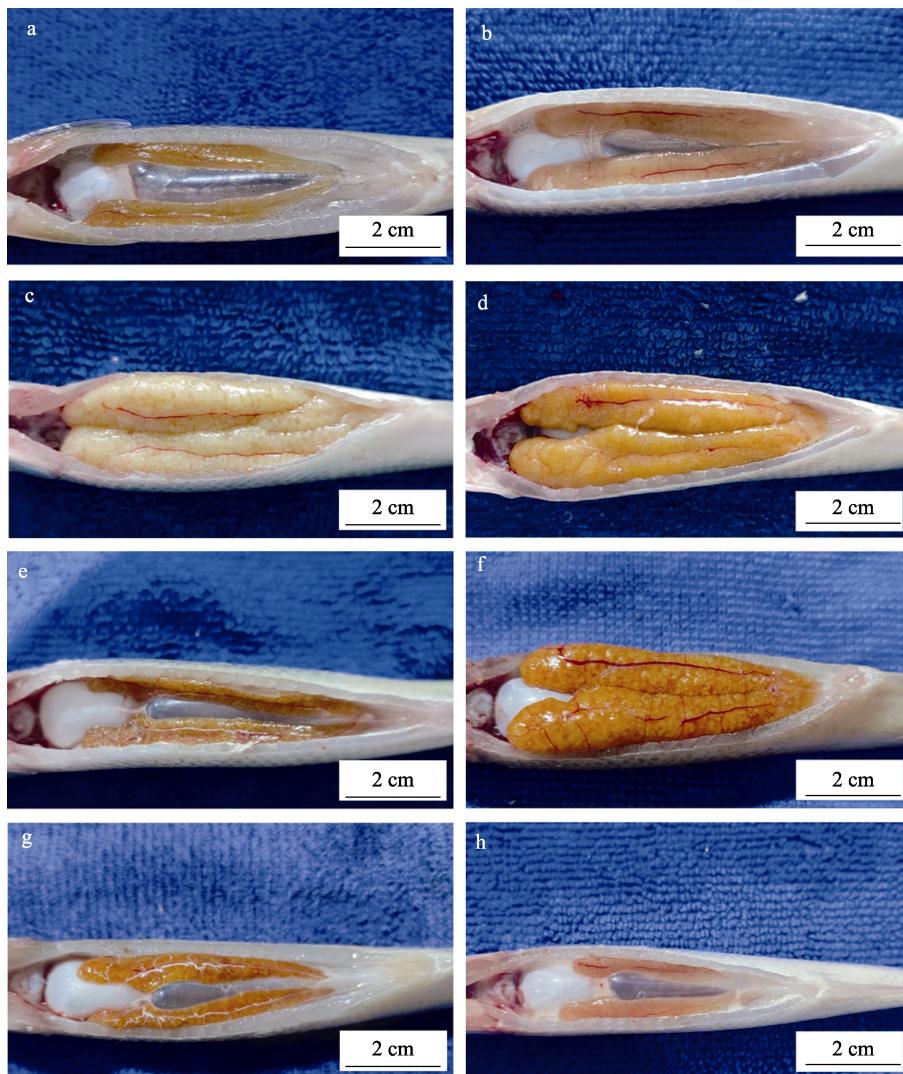


图 4 马口鱼卵巢解剖图

a. III 期卵巢, 11月 30 日; b. III 期卵巢, 3月 10 日; c. IV 期卵巢, 4月 13 日; d. IV 期卵巢, 5月 27 日;
e. VI 期卵巢, 6月 12 日; f. V 期卵巢, 8月 15 日; g. VI 期卵巢, 9月 5 日; h. III 期卵巢, 10月 4 日.

Fig. 4 Ovary morphology of hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

a. Stage III ovary on November 30th; b. Stage III ovary on March 10th; c. Stage IV ovary on April 13th; d. Stage IV ovary on May 27th; e. Stage VI ovary on June 12th; f. Stage V ovary on August 15th; g. Stage VI ovary on September 5th; h. Stage III ovary on October 4th.

卵巢内 IV 时相卵母细胞数量比已达到 35%，同时
还存在少量 V 时相卵母细胞，V 时相卵母细胞内
卵黄颗粒排列松散，细胞膜与滤泡膜已分离(图
5d)，但由于此时湖北地区水温过高，并未进行第
3 次人工繁殖试验。

9月初，卵巢体积显著缩小，卵巢表面血管萎
缩(图 4g)，此时湖北地区水温降至 30.0 °C 以下，
马口鱼卵巢进入退化阶段，卵巢内 IV 时相卵母细
胞仅剩 8%，并存在 4% VI 时相卵母细胞，VI 时相
卵母细胞的特点是形状不规则，细胞核完全解体
消散，滤泡细胞肥大(图 3, 图 5e)。10月初马口鱼

卵巢进一步缩小，呈肉红色，卵巢内只存在 II 时
相和 III 时相卵母细胞(图 4h, 图 5f)，III 时相卵母
细胞数量比为 13%，到 11 月 30 日卵巢体积无显
著变化，但 III 时相卵母细胞数量比增长至 26%
(图 3)。

2.3 繁殖力统计

如表 3 所示，1 冬龄雌性马口鱼性成熟时，绝
对繁殖力为 4658.0~8098.0 粒，平均值为 6165.4
粒。相对体重繁殖力为 155.5~215.9 粒/g，平均值为
187.7 粒/g。相对体长繁殖力为 387.6~613.5 粒/cm，
平均值为 479.8 粒/cm。绝对繁殖力与体重(X)显

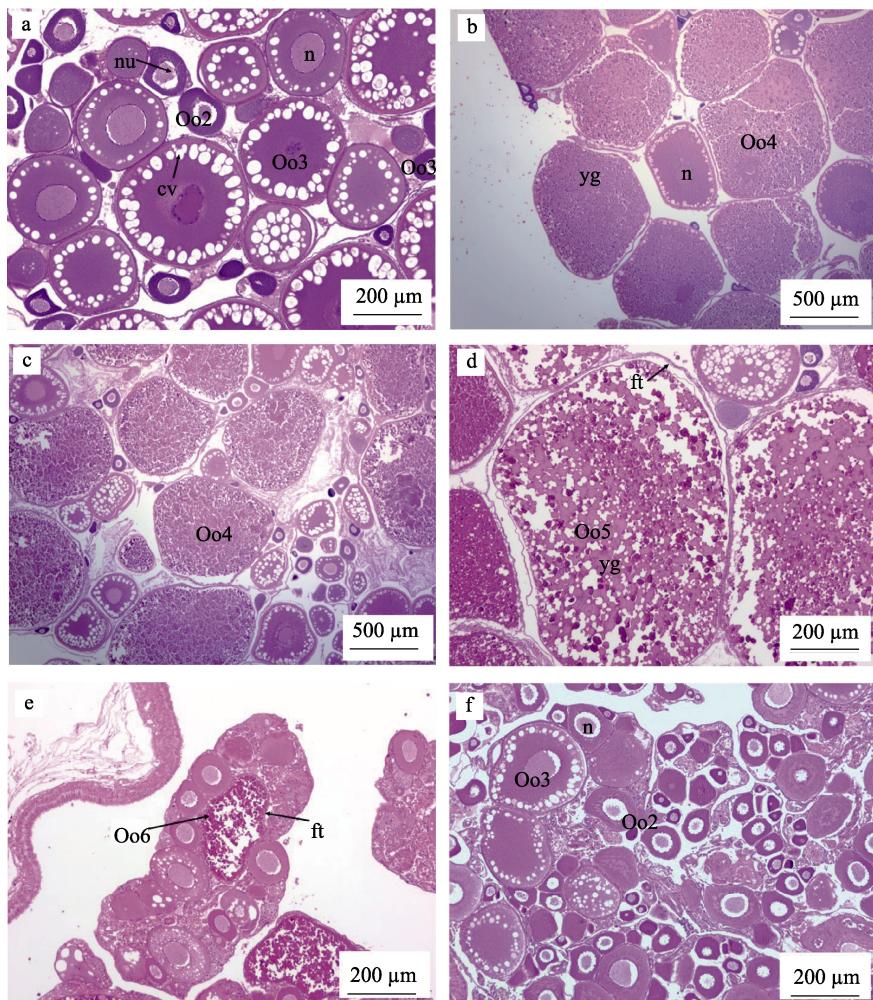


图5 马口鱼卵巢各发育时期组织学观察

a. 3月10日III期卵巢; b. 4月13日IV期卵巢; c. 5月27日IV期卵巢; d. 8月15日V期卵巢; e. 9月5日VI期卵巢;
f. 10月4日III期卵巢。Oo2, Oo3, Oo4, Oo5, Oo6 分别为 II 时相、III 时相、IV 时相、V 时相、VI 时相卵母细胞。

n: 细胞核; nu: 核仁; yg: 卵黄颗粒; ft: 滤泡膜; cv: 皮质液泡。

Fig. 5 Ovarian histology of hooksnout carp (*Opsariichthys bidens*) in different stages

a. Stage III ovaries on March 10th; b. Stage IV ovaries on April 13th; c. Stage IV ovaries on May 27th; d. Stage V ovaries on August 15th; e. Stage VI ovaries on September 5th; f. Stage III ovaries on October 4th. Oo2: phase II oocytes; Oo3: phase III oocytes; Oo4: phase IV oocytes; Oo5: phase V oocytes; Oo6: phase VI Stageoocytes; n: nucleus; nu: nucleolus; yg: yolk granules; ft: follicle theca; cv: cortical vacuole.

表3 马口鱼雌鱼繁殖力

Tab. 3 Fecundity of hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

n=10

编号 no.	体长/cm total length	体重/g body weight	卵巢重/g ovary weight	性腺指数/% GSI	绝对繁殖力/粒 absolute fecundity	相对繁殖力 relative fecundity		
						相对体重繁殖力/(粒/g) FW	相对体长繁殖力/(粒/cm) FL	
1	13.0	32.4	3.2	10.0	5039.0	155.5	387.6	
2	12.4	29.4	4.3	14.5	5751.0	195.5	463.8	
3	11.6	25.8	3.7	14.3	5324.0	206.2	459.0	
4	12.8	33.3	5.9	17.7	7174.0	215.6	560.5	
5	13.0	34.6	4.2	12.2	6417.0	185.2	493.6	
6	13.3	38.1	6.4	16.7	6558.0	172.3	493.1	
7	13.2	37.5	5.5	14.6	8098.0	215.9	613.5	
8	13.5	33.0	4.1	12.5	5432.0	164.8	402.4	
9	13.5	39.7	4.4	11.0	7203.0	181.7	533.6	
10	11.9	25.3	2.8	10.9	4658.0	183.9	391.4	

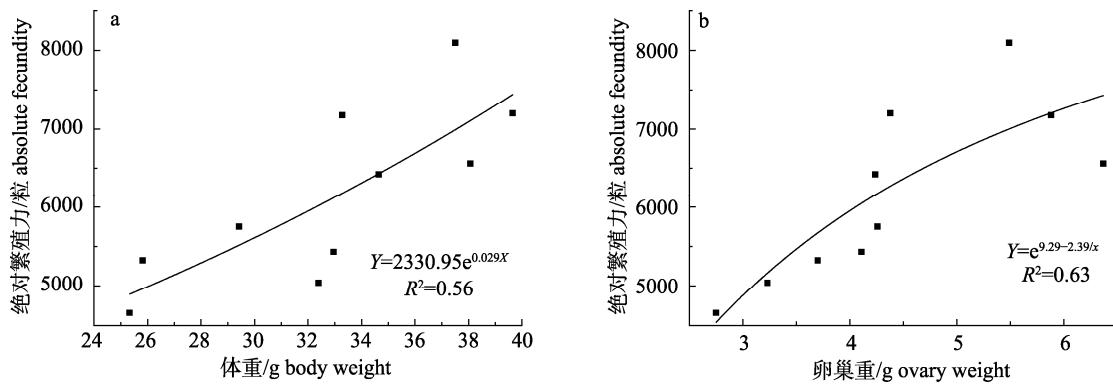


图 6 马口鱼相对繁殖力与体重和卵巢重回归

a. 绝对繁殖力与体重的相关性分析; b. 绝对繁殖力与卵巢重的相关性分析.

Fig. 6 Relative fecundity of hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

a. Relationship between fecundity and body weight; b. Relationship between fecundity and ovary weight.

著正相关($r=0.780$, $P<0.05$), 拟合方程为 $Y=2330.95e^{0.029X}$ ($R^2=0.56$); 与卵巢重量(x)呈显著正相关($r=0.783$, $P<0.05$), 拟合方程为 $Y=e^{9.29-2.39/x}$ ($R^2=0.63$, 图 6)。绝对繁殖力与体长和 GSI 相关性不显著($P>0.05$)。

2.4 马口鱼人工繁殖技术研究

2.4.1 精卵比例对受精率和孵化率的影响 如图 7 所示, 马口鱼受精率随精卵比增加显著提高($P<0.05$), 当精卵比达 5.0×10^4 及以上后, 受精率趋于稳定, 当精卵比为 1.0×10^5 时受精率达到最高值 77.09%。马口鱼孵化率较为稳定, 精子密度对其未产生显著影响。由此判断, 马口鱼规模化人工繁殖时, 最佳精子与卵子数量比应为 $5.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^5 : 1$ 。

2.4.2 不同催产药物对繁殖效果的影响 不同催产方案催产效果如表 4 所示。各组马口鱼产后死亡率均较低, 无显著性差异, 除对照组(GP1)和 LRH-A₂ 处理组(GP2)催产失败, 其余 3 组均成功产卵。但同时使用 LRH-A₂ 和 DOM (GP3)时, 催产率、

产卵率、受精率和孵化率均显著低于 GP4 和 GP5 ($P<0.05$)。而将 HCG 取代 DOM 与 LRH-A₂ 配合使用时(GP4), 不仅催产率和产卵率有显著提高, 受精率和孵化率也显著增长, 且将效应时间缩短了 3 h, 但在此基础上加入 DOM (GP5), 催产效果无明显变化, 说明 GP4 已达到理想的催产效果。

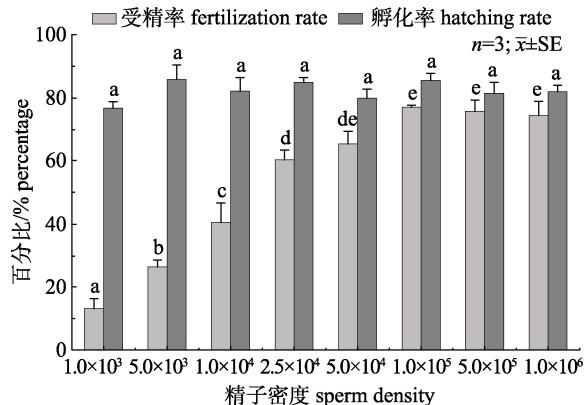


图 7 精卵数量比对马口鱼受精率与孵化率的影响

不同字母表示差异显著($P<0.05$).Fig. 7 The effects of sperm/egg ratio on fertilization rate and hatching rate of hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*
Different letters indicate significant difference ($P<0.05$).

表 4 催产激素配伍对马口鱼繁殖效果的影响

Tab. 4 The effects of spawning agent matching on spawning results in hooksnout carp *Opsariichthys bidens* $n=3$; $\bar{x} \pm SE$

组别 group	效应时间/h effect time	催产率/% induced spawning rate	产卵率/% oviposition rate	受精率/% fertilization rate	孵化率/% hatching rate	死亡率/% mortality rate
GP1	N.A.	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	1.7±1.7 ^a
GP2	N.A.	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	1.7±1.7 ^a
GP3	20.0~21.0	43.5±3.2 ^b	2.7±0.3 ^b	51.4±1.5 ^b	47.2±3.2 ^b	5.0±2.9 ^a
GP4	17.0~18.0	87.0±4.5 ^c	4.6±0.3 ^c	58.2±0.6 ^c	72.4±1.5 ^c	5.0±0.0 ^a
GP5	16.0~17.0	82.9±3.0 ^c	5.1±0.4 ^c	56.4±0.5 ^c	67.1±0.2 ^c	5.0±2.9 ^a

注: 同列不同字母代表组间显著性差异($P<0.05$)。N.A. 表示不适用。Note: Different superscript letters in the same column indicate significant difference among groups ($P<0.05$). N.A. indicates not applicable.

2.4.3 低渗授精介质对受精的影响 由图8可知, NaCl浓度较低时, 随着浓度升高, 马口鱼受精率呈上升趋势, 并在浓度升高为0.3%时出现显著性差异($P<0.05$)。而当NaCl浓度提高至0.5%时, 相比于在0.3%浓度条件下, 受精率显著降低($P<0.05$), 此后继续提高浓度, 则导致受精率进一步降低。孵化率在NaCl溶液浓度不超过0.5%时未出现显著差异, 继续升高NaCl溶液浓度, 则会使孵化率显著降低($P<0.05$)。建议使用0.3%~0.4% NaCl溶液作为马口鱼人工繁殖的授精介质。

2.5 马口鱼规模化人工繁殖

2.5.1 规模化人工繁殖结果 如表5所示, 2022年共进行9次马口鱼规模化人工繁殖试验, 均取得成功。所用亲本为1冬龄初次达到性成熟的马口鱼, 其中前6次所用亲本均为首次催产亲本, 将这些亲本在池塘继续培育, 并分3次完成了第二次人工繁殖试验。试验累计催产雌性马口鱼

675.0 kg, 产出1150万尾水花, 平均受精率66.63%, 平均孵化率80.12%。马口鱼受精卵平均规格为650粒/g, 卵径为1.03~1.22 mm, 平均值1.12 mm。

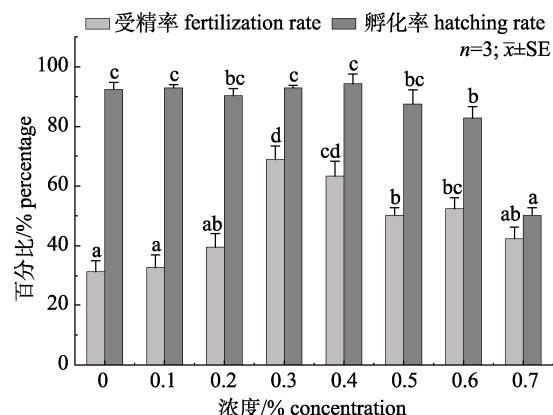


图8 低渗溶液浓度对马口鱼受精率和孵化率的影响

不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Fig. 8 Effects of hypotonic solution on fertilization rate and hatching rate in hooksnout carp *Opsariichthys bidens*. Different letters indicate significant difference ($P<0.05$).

表5 马口鱼规模化人工繁殖结果

Tab. 5 Large-scale artificial reproduction in hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

繁殖日期 date	雌鱼总重量/kg total female weight	平均体重/g average weight	产卵率/% oviposition rate	受精率/% fertilization rate	孵化率/% hatching rate	备注 postscript
4.21	34.0	20.0	4.7	72.9	82.0	首次催产 first induction
4.28	140.0	22.7	5.1	64.3	77.6	首次催产 first induction
5.19	85.0	38.8	5.9	63.3	80.7	首次催产 first induction
5.24	110.0	38.2	4.9	62.4	81.5	首次催产 first induction
5.30	41.0	27.8	3.8	79.1	79.7	首次催产 first induction
6.13	60.0	26.3	3.8	64.5	86.5	首次催产 first induction
6.23	80.0	38.5	5.8	61.0	76.9	二次催产 second induction
7.7	80.0	38.5	5.7	65.9	79.9	二次催产 second induction
7.15	45.0	38.5	4.5	66.2	75.5	二次催产 second induction

2.5.2 效应时间与孵化时长 马口鱼的效应时间随时间推移逐渐缩短并趋于稳定, 5月中旬及以前, 马口鱼的效应时间在20.0 h以上, 此后缩短至16.0~17.0 h(表6)。在4月28日和5月24日, 水温条件相近, 但效应时间差距明显, 说明水温并不是导致效应时间产生差异的关键因素。而效应积温则呈现出与效应时间一致的变化规律, 直至5月下旬, 效应积温均处于下降趋势, 此后稳定在410.0~430.0 °C·h, 说明效应积温应是判断效应时间的重要依据。早期效应积温不稳定, 可能是

由于亲本尚未达到最佳成熟状态, 因此所需积温较高, 而随着时间推移, 水温升高, 马口鱼卵巢均能达到理想成熟状态, 所以效应积温达到稳定状态。

马口鱼受精卵为沉性卵, 刚孵出仔鱼全长(6.0±0.2) mm。孵化水温显著影响孵化时长, 孵化水温在26.0~29.0 °C时, 42.5~48.0 h便可完成孵化, 所需积温为1200.0~1300.0 °C·h; 当水温降低至22.0~25.5 °C时, 孵化过程需要约70.0 h才完成, 且积温超过1600.0 °C·h; 水温降低至21.0 °C

表 6 马口鱼不同季节人工催产效应时间与孵化时长

Tab. 6 Cumulative temperature of induced spawning and incubation in hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

产卵日期 date	催产 induced spawning			孵化 incubation		
	水温/℃ water temperature	效应时间/h effect time	效应积温/℃·h cumulative temperature	水温/℃ water temperature	时长/h duration	孵化积温/℃·h cumulative temperature
4.21	20.5±1.0	26	533.5	23.4±1.0	69	1616.0
4.28	25.3±0.5	20	506.0	21.0±1.2	90	1891.7
5.19	22.6±0.2	21	473.6	22.8±0.5	74	1673.9
5.24	24.9±0.1	17	422.6	27.0±0.5	48	1295.4
5.30	26.6±0.3	16	425.8	28.0±0.4	44	1231.0
6.2	25.7±0.7	16	411.8	27.3±0.6	44	1203.1
6.13	26.2±0.3	16	418.8	27.8±0.6	44	1221.3
6.23	26.3±0.8	16	420.3	28.2±0.3	43	1197.3

左右时, 历经 90 h 才完成孵化, 孵化积温高达 1891.7 °C·h。虽然不同水温下孵化历时存在较大差异, 但均能成功孵出马口鱼仔鱼, 孵化率也未见显著差异, 可见马口鱼受精卵孵化适温范围广, 而为提高孵化效率, 降低孵化风险, 宜在水温 25.0~29.0 °C 条件下进行孵化。

3 讨论

3.1 马口鱼卵巢周年变化规律

性腺发育和成熟是鱼类繁殖的前提和基础, 其受下丘脑-垂体-性腺轴(HPG 轴)和环境因素的共同调控, 其中季节性温度变化及温度阈值对其影响最为显著, 也受到最多关注。本研究发现, 在冬季水温下降过程中, 马口鱼卵巢 GSI 及各相卵母细胞数量未出现明显变化, 而在 2 月水温降至 8.0 °C 以下时, 卵巢 GSI 无显著增长, 但卵巢内 III 时相卵母细胞数量却显著增加, 说明此时马口鱼卵巢开始发育。这一现象在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)中也有发现, 美国中西部地区的大口黑鲈卵巢中 III 时相卵母细胞在水温降至 13.9 °C 时才开始出现^[16]; 水温降至 11.0 °C 时, 池塘养殖的大口黑鲈卵巢中 III 时相卵母细胞数量比逐渐超越其他时相的卵母细胞所占比例^[17]。表明马口鱼和大口黑鲈的性腺需要水温下降至某一阈值才会启动发育, 而此过程的机制有待进一步研究。

本研究中, 马口鱼卵巢 GSI 在 3、4 月显著增加, 并且 4 月 GSI 增长速度更快, 推测是由于 3 月水温不稳定, 升温后又经历了大幅度降温, 减

缓了卵巢发育速度。在一些研究得到了与此相似的结论, 如升温可以显著提高文昌鱼(*Branchiostoma belcheri*)的性腺发育速度^[18], 繁殖前期进行低温处理则可以使大口黑鲈卵巢成熟时间推迟^[19]。同一时间, 安徽青弋江里的雌性马口鱼 GSI 发生大幅度增长^[20], 不同的是, 青弋江马口鱼 GSI 在 8 月便出现明显下降, 本研究中其 GSI 在 8 月仍较高并有繁殖的可能。推测该差异的产生与池塘和江河环境的温度水平和温度波动关系密切。

马口鱼的第 3 次 GSI 峰值低于第 1、2 次峰值, 且达到第 3 次波峰所需时间比达到第 2 次波峰多 20 d, 可见其卵巢在 7、8 月发育十分缓慢, 此时正处于华中地区夏季高温期, 水温长期位于 30.0 °C 以上, 表明过高的水温对马口鱼卵巢发育与成熟有明显抑制作用。

3.2 马口鱼繁殖力变化规律

繁殖是鱼类生活史中的重要环节, 是自然条件下唯一的补充种群数量的方式^[21]。繁殖力是物种生殖潜力的量化, 由遗传物质和环境因素共同决定, 表现了鱼类对环境变动的适应性, 是种群生存能力和繁殖策略的体现^[22-23]。

在不同地区, 马口鱼繁殖力有明显差异^[24-26](表 7), 并呈现一定规律。辽宁省马口鱼繁殖群体个体最大, 绝对繁殖力最高; 湖北地区次之; 广东的繁殖群体个体最小, 绝对繁殖力最低。相对体重繁殖力正与此相反。由此推测该差异与纬度关系密切, 鱼类性成熟需要达到一定的积温, 低纬度地区水温较高, 马口鱼能更快性成熟, 同时

导致性成熟个体规格较小, 反之高纬度地区性成熟个体规格大, 该现象与四大家鱼研究中的结论相似^[27]。但性成熟时间早常伴随寿命偏短^[28], 因此低纬度地区的马口鱼为维持种群延续, 便表现出更高的相对体重繁殖力, 高纬度地区相对体重繁殖力则偏低。同在湖北地区, 本研究所统计马

口鱼绝对繁殖力和相对繁殖力均高于三道河水库马口鱼的繁殖力, 极有可能是受到两地不同的生活环境影响, 相比于水库, 本研究中的马口鱼为池塘人工养殖, 饵料更充分且营养更全面。而食物供应是否充分对鱼类的性腺发育程度和繁殖力有重要影响^[29]。

表 7 不同地域来源马口鱼繁殖力比较

Tab. 7 Comparison on fecundity of hooksnout carp (*Opsariichthys bidens*) from different sources

来源 source	体长/cm total length	体重/g body weight	绝对繁殖力/粒 absolute fecundity		相对繁殖力 relative fecundity	
			范围 range	平均 average	FW/(粒/g) FL/(粒/cm)	FL/(粒/cm)
辽宁省铁甲水库 ^[24] Tiejia reservoir in Liaoning province	18.5~23.5	136.0~298.0	2282.0~14022.0	8207.0	44.0	
湖北三道河水库 ^[25] Sandaohe reservoir in Hubei province	9.7~19.2	12.5~95.8	1870.0~20434.0	5608.0	129.0	401.0
湖北省武汉市 Wuhan, Hubei province	11.6~13.5	25.8~39.6	4658.0~8098.0	6165.0	187.7	479.8
广东省北江 ^[26] Beijiang in Guangdong province	8.0~14.9	12.0~72.5	1486.0~12026.0	4842.0	207.3	437.3

3.3 马口鱼人工繁殖关键参数

合适的催产方案是繁殖成功的前提, 也是充分发挥鱼类繁殖潜力的重要措施, 是诸多科研工作开展的基础。此前的报道所用催产方案各不相同^[15,30], 何种方案更适于马口鱼尚不明确。本研究对比的几种催产方案中, 最适催产方案与李倩等^[15]所用方案一致, 催产率可达 86.96%, 但本研究中马口鱼效应时间更短, 可能与亲本发育有关。本研究并未比较垂体对马口鱼的催产效果, 主要原因在于垂体成本较高, 且使用较为不便, 易造成注射器堵塞。

现有关于马口鱼人工繁殖的报道中, 在涉及雌雄亲鱼配比时, 均以数量比进行匹配, 生产效率低, 且易造成精子浪费。更合理的方式是按照适宜精卵比例进行授精, 避免优质精子浪费的同时提高繁殖效率。马口鱼授精时最佳精子密度略高于黄颡鱼(*Tachysurus fulvidraco*)^[31], 低于欧洲鳗(*Anguilla japonica*)^[32]。精子密度偏高或偏低都会使杂交黄颡鱼的孵化率下降^[33], 但马口鱼的孵化率并未受到精子密度影响。由于马口鱼单个个体精液量较少, 规模化生产时雄鱼用量较多, 降低马口鱼授精时精子密度需求的方式, 以及长时间保存并维持马口鱼精子活力的措施都对马口鱼繁殖具有重要意义, 值得进一步研究。

授精介质可以影响精子活力进而影响受精

率^[34]。低渗溶液浓度在 0.0%~0.3% 浓度范围内时, 马口鱼和黄颡鱼^[35]的受精率均随浓度升高而增加, 低渗溶液对授精的积极作用或许也适用于其他鱼类。而 NaCl 浓度超过 0.3% 后, 马口鱼受精率逐渐降低, 与在松浦镜鲤(*Cyprinus carpio*)、方正银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、大鳞鲃(*Barbus capito*)^[36]和黄颡鱼^[35]的研究中得到的结论一致。高浓度的盐溶液使受精率下降, 很可能是因为高盐度会导致精子中的 ATP 酶活性被抑制, 从而使精子活力降低^[37]。并且在本研究中观察到高浓度的 NaCl 溶液可以造成孵化率降低, 推测是高浓度的 NaCl 溶液造成卵子损伤所致。

3.4 池塘培育马口鱼卵巢再次成熟特征

本研究通过实验明确了湖北地区池塘养殖马口鱼的繁殖时间在 4—7 月, 受到湖北地区夏季极端气候影响, 每年 7、8 月池塘水温超高, 致使人工繁殖工作停滞, 若能将养殖水温控制在 30 ℃ 以下, 马口鱼的繁殖期或能持续至 8 月甚至 9 月, 过去的研究也支持此结论^[14,20], 其他地区的马口鱼繁殖时间可以此为参考。通常马口鱼 1 冬龄达到性成熟, 但在研究过程中发现, 4 月所得马口鱼水花过 90 d 的池塘培育, 有极少数雄鱼已经达到性成熟, 出现明显的第二性征, 并能挤出乳白色精液。

马口鱼为分批产卵鱼类, 单次繁殖量低, 产

卵率平均仅为4.83%，只有进行1年多次人工繁殖才能充分利用马口鱼的生殖潜力。黄颡鱼的1年2次人工繁殖早已实现^[38]，翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)的1年3次人工繁殖也有报道^[39]，可见对分批产卵鱼类进行一年多次人工繁殖是可行的。本研究在对性腺发育与成熟规律探索的基础上，首次报道了马口鱼亲本繁殖后再次催产的效果，成功实现同批亲本一年两次繁殖。尤为重要的是，两次催产在受精率与孵化率结果方面无显著差异，有效提高了亲本利用效率。若能减小夏季高温的影响，马口鱼或能实现一年3~4次人工繁殖，这对加快遗传改良和相关科研进程将起到重要推动作用。

参考文献:

- [1] Qin N, Zhang Y M, Luo Y K. Comparison and analysis of major nutritional components in different body parts of Changfeng silver carp[J]. Journal of China Agricultural University, 2015, 20(1): 129-134. [秦娜, 张月美, 罗永康. 长丰鲢各部位主要营养成分分析及比较[J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(1): 129-134.]
- [2] Li Z, Liang H W, Wang Z W, et al. Comparative analysis on the flesh quality and nutrient component of tetraploid tilapia “Changfeng” variety[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 853-858. [李忠, 梁宏伟, 王忠卫, 等. 四倍体异育银鲫新品种“长丰鲫”肌肉品质和营养成分分析[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 853-858.]
- [3] Kong L F, Mo F L, Wei L J, et al. Nutritional composition analysis of wild *Opsariichthys bidens*[J]. Journal of Aquaculture, 2024, 45(2): 17-22. [孔丽芳, 莫飞龙, 韦玲静, 等. 野生马口鱼基本营养成分分析[J]. 水产养殖, 2024, 45(2): 17-22.]
- [4] Sun X Y, Gao G T, Duan A L, et al. Research progress in polyunsaturated fatty acids[J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(7): 418-423. [孙翔宇, 高贵田, 段爱莉, 等. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 418-423.]
- [5] Innis S M. The role of dietary n-6 and n-3 fatty acids in the developing brain[J]. Developmental Neuroscience, 2000, 22(5-6): 474-480.
- [6] Lin L M, Wang Q R, Wang Z Y, et al. Comparison of biochemical compositions of muscle among three stocks and wild-caught large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(2): 286-291. [林利民, 王秋荣, 王志勇, 等. 不同家系大黄鱼肌肉营养成分的比较[J]. 中国水产科学, 2006, 13(2): 286-291.]
- [7] Li S G, Liu G Z, Dong Y C, et al. Analysis and evaluation of nutritive composition in muscles of *Opsariichthys bidens*[J]. Acta Nutimenta Sinica, 2017, 39(2): 206-208. [李树国, 刘国忠, 董玉春, 等. 察尔森水库马口鱼营养成分分析及营养评价[J]. 营养学报, 2017, 39(2): 206-208.]
- [8] Xi B W, Wang G T, Wu S G, et al. Community structure of the intestinal helminths of the Chinese hooksnout carp, *Opsariichthys bidens* (günther), from the Danjiangkou Reservoir[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(2): 177-182. [习丙文, 王桂堂, 吴山功, 等. 丹江口水库马口鱼肠道寄生蠕虫群落结构[J]. 水生生物学报, 2009, 33(2): 177-182.]
- [9] Song Y, Yao W J, Nie P. A new parasitic copepod, *Ergasilus danjiangensis* sp. nov. (poecilostomatida, ergasilidae) on gills of two cyprinid fish *Opsariichthys bidens* and *Zacco platypus*[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2008, 33(2): 236-240.
- [10] Rowe-Rowe D T, Everett P S, Perrin M R. Group sizes of oribis in different habitats[J]. South African Journal of Zoology, 1992, 27(3): 140-143.
- [11] Johansson F, Rådman P, Andersson J. The relationship between ontogeny, morphology, and diet in the Chinese hook snout carp (*Opsariichthys bidens*)[J]. Ichthyological Research, 2006, 53(1): 63-69.
- [12] Wang X Z, Wang J, He S P, et al. The complete mitochondrial genome of the Chinese hook snout carp *Opsariichthys bidens* (Actinopterygii: Cypriniformes) and an alternative pattern of mitogenomic evolution in vertebrate[J]. Gene, 2007, 399(1): 11-19.
- [13] Chen W T, Schmidt B V, He S P. The potential colonization histories of *Opsariichthys bidens* (Cyprinidae) in China using Bayesian binary MCMC analysis[J]. Gene, 2018, 676: 1-8.
- [14] Jiang J T. Experiment on artificial propagation and culture of *Opsariichthys bidens* in Yalu river[J]. China Fisheries, 2009(6): 32-34. [姜景田. 鸭绿江马口鱼人工繁殖及养殖试验[J]. 中国水产, 2009(6): 32-34.]
- [15] Li Q, Sun L H, Jiang J H, et al. Experiment on artificial propagation and cage breeding of *Opsariichthys bidens* in recirculating aquaculture system[J]. Journal of Aquaculture, 2021, 42(11): 5-7. [李倩, 孙丽慧, 姜建湖, 等. 循环水养殖马口鱼的人工繁殖及苗种网箱培育试验[J]. 水产养殖, 2021, 42(11): 5-7.]
- [16] Brown M L, Kasiga T, Spengler D E, et al. Reproductive cycle of northern largemouth bass *Micropterus salmoides salmoides*[J]. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology, 2019, 331(10): 540-

- 551.
- [17] Cui Q K, Shen Z G, Tian Y, et al. Study on the annual development of ovary and out-of-season spawning in largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, 45(1): 76-88. [崔庆奎, 沈志刚, 田宇, 等. 大口黑鲈的卵巢发育周年变化及反季节繁殖研究[J]. 水生生物学报, 2021, 45(1): 76-88.]
- [18] Liu Z G. The study of the influence and mechanism of sea water temperature on gonadal development and reproductive activity of amphioxus[D]. Xiamen: Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, 2008: 1-67. [刘志刚. 温度对文昌鱼性腺发育和生殖活动的影响及其机制的研究[D]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2008: 1-67.]
- [19] Bennett D H, Gibbons J W. Reproductive cycles of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in a cooling reservoir[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1975, 104(1): 77-82.
- [20] Zhan Y J. Life history of two species of *Danioninae* in the Qingyi Stream[D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2011. [占姚军. 青弋江两种口亚科鱼类的生活史研究[D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2011.]
- [21] Melo R M C, Ferreira C M, Luz R K, et al. Comparative oocyte morphology and fecundity of five characid species from São Francisco River basin, Brazil[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2011, 27(6): 1332-1336.
- [22] Murua H, Saborido-Rey F. Female reproductive strategies of marine fish species of the north Atlantic[J]. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 2003, 33: 23-31.
- [23] Kurita Y, Meier S, Kjesbu O S. Oocyte growth and fecundity regulation by atresia of Atlantic herring (*Clupea harengus*) in relation to body condition throughout the maturation cycle[J]. *Journal of Sea Research*, 2003, 49(3): 203-219.
- [24] Jin B, Jin K W. A preliminary study of the biology of the *Opsariichthys bidens* in the Tiejia reservoir[J]. *Fisheries Science*, 1985, 4(4): 8-12. [金柏, 金克伟. 铁甲水库马口鱼生物学的初步研究[J]. 水产科学, 1985, 4(4): 8-12.]
- [25] Su J X, Qiu F X, Zhou W X, et al. Age and growth, reproduction and feeding of *Opsariichthys bidens* in the Sandaohe reservoir[J]. *Reservoir Fisheries*, 1993(1): 15-18. [苏家勋, 邱发绪, 周维祥, 等. 三道河水库马口鱼的年龄与生长、繁殖和食性[J]. 水利渔业, 1993(1): 15-18.]
- [26] Li Q, Lan Z J, Zhao J, et al. Study on individual fecundity of *Opsariichthys bidens* of the Beijiang River in Guangdong Province[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2010, 29(3): 440-445. [李强, 蓝昭军, 赵俊, 等. 广东北江马口鱼个体生殖力研究[J]. 四川动物, 2010, 29(3): 440-445.]
- [27] Li S F, Wu L Z, Wang Q, et al. Study on Germplasm Resources of Silver Carp, Bighead Carp and Grass Carp in Yangtze River, Pearl River and Heilongjiang[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1990. [李思发, 吴力钊, 王强, 等. 长江、珠江、黑龙江鲢、鳙、草鱼种质资源研究[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.]
- [28] Roff D A. The Evolution of Life Histories: Theory and analysis[M]. New York: Chapman and Hall, 1992.
- [29] Hester F J. Effects of food supply on fecundity in the female guppy, *Lebistes reticulatus* (Peters)[J]. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1964, 21(4): 757-764.
- [30] Zhang J. A summary of the experiment on artificial propagation techniques of *Opsariichthys bidens*[J]. *Henan Fisheries*, 2015(4): 15, 19. [张君. 马口鱼的人工繁育技术试验总结[J]. 河南水产, 2015(4): 15, 19.]
- [31] Zhang J, Ma W G, Xie B Y, et al. Beneficial effect and potential molecular mechanism of chloroquine on sperm motility and fertilizing ability in yellow catfish[J]. *Aquaculture*, 2017, 468: 307-313.
- [32] Butts I A E, Sørensen S R, Politis S N, et al. Standardization of fertilization protocols for the European eel, *Anguilla anguilla*[J]. *Aquaculture*, 2014, 426-427: 9-13.
- [33] Cheng J H, Li J, Fu D Y, et al. Impact of sperm density on fertilization, hatching and emergence rate of hybrid yellow catfish "Huangyou-1" (*Pseudobagrus vachellii*♂ × *Pelteobagrus fulvidraco*♀)[J]. *Marine Fisheries*, 2021, 43(3): 288-297. [程景颢, 李杰, 付东勇, 等. 精子密度对杂交黄颡鱼“黄优1号”受精率、孵化率及出苗率的影响[J]. 海洋渔业, 2021, 43(3): 288-297.]
- [34] Rurangwa E, Kime D E, Ollevier F, et al. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish[J]. *Aquaculture*, 2004, 234(1-4): 1-28.
- [35] Wang D Z, Wu Y C, Xu H L, et al. Effects of hypotonic solution on the sperm motility and fertilization rate in Yellow catfish[J]. *Freshwater Fisheries*, 2013, 43(1): 85-88. [王德忠, 吴一春, 徐汉连, 等. 低渗溶液浓度对黄颡鱼精子活力和受精率的影响[J]. 淡水渔业, 2013, 43(1): 85-88.]
- [36] Xu M, Yang J, Jiang H F, et al. Effects of NaCl salinity and NaHCO₃ alkalinity on the sperm motility and fertilization rate of *Cynipus carpio*, *Carassius auratus gibelio* and *Barbus capito*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(4): 720-728. [徐敏, 杨建, 姜海峰, 等. NaCl 盐度和 NaHCO₃ 碱度对鲤、鲫和大鳞鲃的精子活力及其受精率的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(4): 720-728.]
- [37] Perche G, Jeulin C, Cosson J, et al. Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa[J]. *Journal of Cell Science*, 1995, 108(Pt 2): 747-753.

- [38] Ye J M, Wu K, Cong N, et al. Comparison of artificial reproduction performance of *Pelteobagrus fulvidraco* twice a year[J]. Journal of Aquaculture, 2016, 37(8): 4-6. [叶金明, 吴康, 丛宁, 等. 黄颡鱼一年二次人工繁殖性能的比较[J]. 水产养殖, 2016, 37(8): 4-6.]
- [39] Ye J M, Wu J K, Cong N, et al. Experiment on artificial propagation and seedling cultivation of *Siniperca chuatsi* three times a year[J]. Journal of Aquaculture, 2015, 36(3): 5-9. [叶金明, 吴建开, 丛宁, 等. 翘嘴鮊一年三次人工繁殖及苗种培育试验[J]. 水产养殖, 2015, 36(3): 5-9.]

Annual ovary development and large-scale artificial reproduction of hooksnout carp, *Opsariichthys bidens*

DENG Xiang^{1,2}, ZOU Cong², SHEN Fan², QIAO Haofeng¹, CHEN Yupei¹, HU Chenhao¹, BIE Hanqing¹, FAN Qixue^{1,2}, SHEN Zhigang¹

1. Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education; Hubei Provincial Engineering Laboratory for Pond Aquaculture; College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Hubei Huang YouYuan Fishery Development Limited Company, Wuhan 430200, China

Abstract: This study investigated the annual changes in ovary development in hooksnout carp and methods to improve artificial breeding and promote its rapid commercialization. The annual range in the gonadosomatic index (GSI) in female hooksnout carp in Hubei Province was 1.16%–11.65%. The spawning period was from mid-April to mid-July, and the average absolute fecundity of the female before spawning was 6165.4 eggs. In autumn, when the water temperature gradually decreased (September to October), the GSI of the ovaries gradually decreased, and the ovaries degenerated to phase III and entered hibernation. In February of the following year, GSI of the carp was relatively low (1.16%–1.65%), and the proportion of phase III oocytes in the ovary increased after a further decrease in water temperature to <8.0 °C in February. In the scaled-up artificial breeding experiment, the combination of luteinizing releasing hormone (LRH-A2; 5 µg/kg) and human chorionic gonadotropin hCG (1000 IU/kg) had the best induction effect of 87.0%. A 0.3% NaCl solution was the best fertilization medium, with an optimal sperm-to-egg ratio of 5.0×10^4 – 1.0×10^5 : 1, which produced average fertilization and hatching rates of 66.6% and 80.1%, respectively. The induction time was 20.0–26.0 h before May 15, 16.0–17.0 h after May 15, with accumulated temperature of 400.00–430.00 °C·h. The hatching time was 69.0–90.0 h in water of 20.0–25.0 °C, and 42.5–48.0 h in water >26.0 °C, with a hatching accumulated temperature of 1200.00–1300.00 °C·h. This study also successfully conducted second-induced spawning of hooksnout carp broodstock in the same year and found that the spawning effect of the second breeding was not substantially different from that of the first. This study achieved scaled-up artificial breeding of hooksnout carp, laying an important foundation for the genetic improvement and commercialization of hooksnout carp.

Key words: polyunsaturated fatty acids; ovarian development; large-scale induced spawning; sperm density; hypotonic solution

Corresponding author: SHEN Zhigang. E-mail: zgshen2017@mail.hzau.edu.cn