

黄海鲱鱼的卵巢发育

马健^{1,2} 赵宪勇^{1*} 朱建成¹ 李显森¹ 戴芳群¹ 张立敬¹

(¹农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(²上海海洋大学海洋科学学院, 201306)

摘要 采用组织切片方法和常规目测法对黄海鲱鱼的卵巢发育特征进行了研究, 描述了卵巢各发育期的特征, 对不同发育期卵巢内卵母细胞的发育时相组成、卵径分布、卵巢两叶及其前、中、后部发育的差异情况进行了分析。结果表明, 鲱鱼卵母细胞发育不同步; II期卵巢由1~3时相卵母细胞组成, 2时相卵母细胞在数量上占优势(66.3%); III、IV和VI期卵巢均由1~4时相卵母细胞组成, 其主要区别在于4时相卵母细胞所占比例不同, 其中IV期卵巢中最高(34.8%), III期次之(28.6%), VI期最低(17.8%); V期卵巢由1~5时相卵母细胞组成, 已发育成熟的5时相细胞所占比例最高(29.8%); 卵巢由III期到V期的发育过程中, 主要是3、4时相卵母细胞向4、5时相的发育, 1、2时相细胞所占比例基本不变。卵母细胞的粒径分布呈明显的峰、谷特征, 这与以前对该问题的“浅锯齿状分布”认知有明显不同; III和VI期卵巢内的卵径(长径)呈单峰分布, 优势粒径组均为0.5~0.6 mm; IV和V期卵巢呈双峰分布, 优势粒径组分别为0.2~0.3 mm、0.7~0.8 mm和0.5~0.6 mm、1.1~1.2 mm; V期卵巢两个优势卵母细胞群在粒径分布上彼此分离, 粒径较大的群内均为水合卵母细胞, 呈现出明显的分批产卵特征。鲱鱼卵巢左叶大、右叶小, 右/左重量比值为0.71, 95%置信区间为(0.67, 0.75); 卵巢叶间和叶内部位间卵母细胞的发育状态无显著差异($P>0.05$)。

关键词 卵巢发育期 卵母细胞发育时相 卵径 组织学 鲱鱼 黄海

中图分类号 Q136; Q954.592 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)06-0007-11

Ovary development of anchovy *Engraulis japonicus* in the Yellow Sea

MA Jian^{1, 2} ZHAO Xian-yong^{1*} ZHU Jian-cheng¹

LI Xian-sen¹ DAI Fang-qun¹ ZHANG Li-jing¹

(¹Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²Ocean College, Shanghai Ocean University, 201306)

ABSTRACT Ovary histology of anchovy *Engraulis japonicus* in the Yellow Sea was studied using macroscopic and microscopic observation with olefin slices. Macroscopic characteristics of the ovary at different development-stages were described; oocyte development-phase composition, oocyte size-distribution and the developmental differences between the two lobes of the o-

国家重点基础研究规划(973计划)项目(2006CB400608)资助

* 通讯作者。E-mail: zhaoxy@ysfri.ac.cn, Tel: (0532) 85835363

收稿日期: 2009-03-12; 接受日期: 2009-04-01

作者简介: 马健(1983-), 男, 硕士研究生, 主要从事渔业资源方面的研究。E-mail: majian919@126.com

vary and that among the anterior, middle and posterior part of each lobe were statistically analyzed. The results showed that oocytes of different development phases were present simultaneously in the same ovary. Stage II ovary is comprised of phase 1~3 oocytes, with phase 2 oocytes being the dominant in number (66.3%). Stage III, stage IV and stage VI ovaries were comprised of phase 1~4 oocytes; the distinction among the ovaries at these three stages lied in the number percentage of phase 4 oocytes, which was the highest in stage IV (34.8%), second in stage III (28.6%) and the lowest in stage VI (17.8%) ovary. Stage V ovary was comprised of phase 1~5 oocytes, of which the quantity of mature phase 5 oocytes was the highest (29.8%). During the ovary development from stage III to V, it was mainly the phase 3~4 oocytes that developing towards phase 4~5, while the percentages of phase 1 and 2 oocytes remained roughly unchanged. The oocyte size-distributions were characterized by distinct crests and troughs, which was contrary to the previous "shallow-saw like distribution" understanding of the issue. The size (major axis) of the oocytes in stage III and VI ovaries was of unimodal distribution, with a mode at 0.5~0.6 mm class for both stages. The oocyte-size distribution was of bimodal for stage IV and V ovaries, with the two modes at 0.2~0.3 mm and 0.7~0.8 mm, 0.5~0.6 mm and 1.1~1.2 mm, respectively. The two dominant size groups of oocytes in the stage V ovary were well separated with a clear hiatus, and the oocytes in the larger-size group were all hydrated, which were in accordance with the characteristics of batch spawners. The two lobes of the ovary were significantly different in size, with the right one being the smaller. The mean of the right/left lobe weight-ratio was 0.71, with a 95% confidence interval of (0.67, 0.75). Statistical test showed that the development status of the oocytes was not significantly different ($P>0.05$) either within or between the two lobes.

KEY WORDS Ovary development stage Oocyte development phase Oocyte diameter
Histology Anchovy *Engraulis japonicus* Yellow Sea

繁殖是鱼类生命史的重要环节,这个环节与其他环节紧密联系,是鱼类种群延续的基础和鱼类种群变动的重要因素(Pitcher *et al.* 1982)。繁殖策略和生殖力评估是鱼类种群动力学和生物学研究的基本内容(Hunter *et al.* 1992)。鱼类繁殖策略的研究包括卵巢及卵母细胞的发育、生殖力和生殖类型等(Murua *et al.* 2003)。

根据生殖季节前的怀卵量与整个生殖季节实现的实际生殖力的关系^①,鱼类可分为生殖力确定型和生殖力不确定型(Gunderson 1993),前者指在某一生殖季节中雌体产出的卵子的数量是确定的,并且在生殖季节前即已确定;后者指鱼类在生殖季节里可不断发育、补充新的卵母细胞,可产出卵子的数量是不确定的。根据排卵节律特征,鱼类可分为同步排卵类型和非同步排卵类型(Gunderson 1993; Murua *et al.* 2003; Murua *et al.* 2003),前者指在一个生殖季节里,鱼类在一次或一较短时间段内(如7~14 d)的产卵活动中将所有卵子排出;后者指在一个生殖季节内,鱼类通过多次产卵活动分批将卵子排出,因此也称为分批产卵类型。根据卵母细胞的发育情况,大多数硬骨鱼类的卵巢发育模式可分为同步发育、分组同步发育和非同步发育3种类型(Wallace *et al.* 1981; Murua *et al.* 2003);同步发育卵巢中,卵母细胞的粒径分布只存在唯一的一个“钟型”曲线,卵母细胞的发育和排出都是同步的;分组同步发育卵巢中,至少存在两个大小不同的优势卵母细胞

① 此处不考虑因卵母细胞的退化引起的怀卵量与实际生殖力之间的差异

群,即一个发育至较高阶段的卵母细胞群和许多大小不同的、发育程度较低的小粒径卵母细胞群;而非同步发育卵巢中,不同发育程度(时相)的卵母细胞同时存在,且各时相卵母细胞的数量分布相近,卵巢看起来是处于各不同发育时相的卵母细胞的随机混合,只有当发生水合作用时,才会在卵径的大小上出现明显的分化。以上概念或特征是互为补充、相互联系的。同步排卵类型多为卵母细胞发育同步、生殖力确定型鱼类,分批排卵类型则主要是卵母细胞发育不同步、生殖力不确定型鱼类;但生殖力确定型也可能是卵母细胞发育不同步的分批排卵类型。对所述繁殖特征的深入研究是了解鱼类补充特征及其变动机制的前提。

在鱼类性腺发育的研究中,传统的目测(裸眼或借助简单工具观测)方法相对简单实用,在性腺发育的外部形态特征以及性成熟度快速判别中得到广泛应用(夏世福等 1981;陈大刚 1997),并且借助解剖镜进行卵径分布分析常常是判断鱼类卵巢发育模式、生殖力特征及繁殖类型的有效方法(李富国 1987;West 1990;Ganias *et al.* 2004)。但该方法难以对卵母细胞的发育过程进行直接观测,在性腺组织发育、尤其是非同步发育类型的研究中存在明显的局限性。目前,利用组织切片进行精细显微观察已成为研究鱼类性腺发育的一个重要方法。

鲉鱼 *Engraulis japonicus* 广泛分布于黄、渤海及东海,是我国近海资源量最大的一种小型中上层鱼类(朱德山等 1990)。鲉鱼以浮游生物为食,同时又是蓝点马鲛等 30 余种高营养层次鱼类的饵料(韦 晟等 1992;张 波等 2005),是黄、东海生态系统的资源关键种,在海洋生态系统中起着承上启下的重要作用(唐启升等 2000)。20 世纪 90 年代以来,随着我国鲉鱼渔业的大规模发展,黄海鲉鱼资源急剧衰退,资源量从 20 世纪 80 年代的 300×10^4 t 减少到 2002 年的 18.7×10^4 t,几近衰竭的边缘(Zhao *et al.* 2003)。黄海鲉鱼资源的衰退不仅会对鲉鱼渔业产生巨大的负面影响,还可能在生态系统的各营养层面引起扰动(Zhao *et al.* 2003)。因此,研究鲉鱼的补充机制,阐明鲉鱼的种群动力学特征,对鲉鱼的资源评估与管理等具有重要的现实意义。

有关黄、东海鲉鱼繁殖生物学的研究已有多方面的报道。如陈介康等(1978)、李富国(1987)分别报道了黄海北部和黄海西南部鲉鱼的生殖习性,李显森等(2006)研究了鲉鱼生殖群体结构及其年际变化,曾 玲等(2005)对鲉鱼生殖力及其年际变化进行了研究等。在有关黄海鲉鱼生殖习性研究的经典之作中,李富国(1987)以传统方法研究表明,黄海鲉鱼属多批次产卵类型^①;一年只有一个生殖季,生殖季长,生殖期为 5~10 月,生殖盛期为 5 月中旬至 6 月下旬。这一研究奠定了对黄海鲉鱼繁殖生物学的认识基础。在同一报道中,李富国(1987)还根据性成熟度为Ⅳ期和Ⅴ期的卵巢中长径大于 0.55 mm 的卵粒的数量对鲉鱼的生殖力进行了评估。由于鲉鱼属分批产卵类型,卵径小于 0.55 mm 的卵母细胞尚有可能进一步发育成熟,从而在后续排卵活动中产出,因此李富国(1987)以及曾 玲等(2005)所评估的鲉鱼生殖力是“批生殖力”还是“总生殖力”尚难断定。因此本研究拟通过传统目测和组织切片显微观测两种方法对鲉鱼的卵巢发育进行系统研究,在组织发育层面上认知卵母细胞的发育过程以及卵巢的整体发育特征,以期对鲉鱼生殖力的进一步评估研究奠定基础。此外,鲉鱼卵巢左右两叶的发育是不对称的,一般左叶明显大于右叶(李富国 1987),但左右两叶卵母细胞的发育有否差异至今未见报道,在此一并对其进行研究。

1 材料和方法

1.1 样品采集与处理

鲉鱼样品采集于 2008 年 4、5、6 和 10 月;采集海域如图 1 所示,包括青岛附近海域(站位 B)、黄海北部蓬莱附近海域(站位 A、G)、青岛市斋堂岛附近海域(站位 C、D)和黄海西南部海域(站位 E、F)。黄海西南部海域样品通过黄海水产研究所“北斗”号渔业资源调查船获得,其他批次样品通过渔船获得。共获取鲉鱼样品 683 尾,其中雌性个体 360 尾。各批次(站位)鲉鱼样品的具体采集日期见表 1。

^① 李富国. 1987. 称之为“多峰连续排卵型”,并将连续产卵定义为“随成熟随产卵,不排除有间歇性,但不存在明显的恢复期。”根据 Gundersen(1993)报道,此种类型即为“分批产卵类型”(Batch spawner 或 multiple spawner, serial spawner)

站点 A、F 的样品现场进行生物学测定并留取卵巢,其他批次样品加冰保存带回实验室进行生物学测定。生物学测定指标包括鳀鱼的全长、叉长、体重、纯重和性腺发育期等。样品长度测定精确到 1 mm;除特别说明外,所有重量测定精确到 0.01 g。性腺成熟度采用 6 期划分标准(夏世福等 1981),质量较好的、完整的卵巢选取保留。鳀鱼卵巢采用 Davidesons AFA 固定液固定;24 h 后换浓度为 70%乙醇保存。各批次样品雌性个体的数量、性成熟度(发育期)组成见表 1。

表 1 鳀鱼样品采集与性腺发育组成(取样站位参考图 1,2008 年)

Table 1 Anchovy sampling and ovary development stages of the specimen (refer to Fig. 1 for sampling stations, 2008)

取样日期 Sampling date(月-日)	取样站位 Sampling station	卵巢发育期组成 Composition of ovary development stages					合计
		II 期	III 期	IV 期	V 期	VI 期	
04-28~29	B	—	13	30	—	—	43
04-28~30	C	—	6	7	—	—	13
04-06~08	A	—	—	97	9	—	106
04-03~08	C	—	—	17	—	—	1710
05-15~16	E	—	—	11	—	7	18
05-12~13	C	—	12	41	—	—	53
05-25~26	G	—	6	7	5	2	20
06-03,06-10	D	—	6	45	—	5	56
10-29~30	F	34	—	—	—	—	34
合计 Total		34	43	255	14	14	360

1.2 卵巢发育特征的常规目测

鳀鱼卵巢发育的外观形态特征以夏世福等(1981)的 6 期划分标准为依据,根据鳀鱼的具体特点,在综合多年观测结果的基础上进行描述。

1.3 卵巢组织切片的制作

对 70%乙醇保存的鳀鱼卵巢采用程控自动脱水机(LEICA TP1020)脱水、石蜡包埋机(LEICA EG 1160)包埋和半自动切片机(LEICA RM2145)切片,切片厚度为 5~7 μm ,每份样品非连续切片两张。利用程控自动染色机(SHANDON Varistain 24-4)染色、中性树脂封片。染色剂采用苏木精-伊红(H. E),操作步骤为二甲苯脱蜡、梯度酒精复水、苏木精染色和自来水冲洗,然后以 0.5%或 1%的伊红染色、梯度酒精脱水入二甲苯。所作切片样品的发育期、取样站位、数量及生物学测定情况见表 2。性成熟系数(GSI)的计算公式为 $GSI = G/W \times 1000$,其中,G 和 W 分别为性腺重量和鱼体纯重。

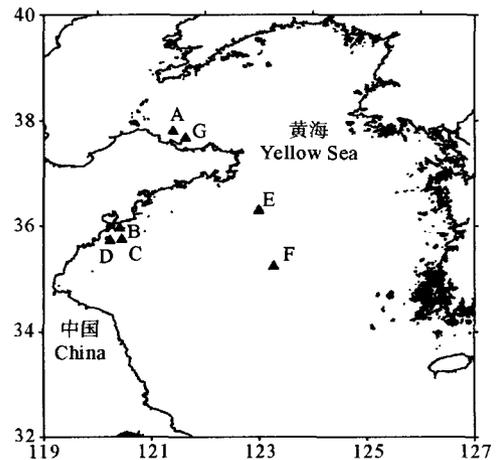


图 1 鳀鱼取样站位(▲)

Fig. 1 Illustration of the anchovy sampling stations(▲)

表 2 鲱鱼卵巢组织切片样品的取样站位、数量及生物学信息(取样站位参考图 1)
Table 2 Sampling station, number of specimen and biological data of the anchovy used
for ovary histology studies (refer to Fig. 1 for sampling stations)

发育期 Development stage	取样站位 Sampling station	n	全 长(mm) Total body length		纯 重(g) Net body weight		GSI(M±SD) (%)
			范围 Range	M±SE	范围 Range	M±SE	
II	F	20	92~116	103.7±1.2	3.94~7.50	5.69±0.20	6.0±3.6
III	B,E	10	106~146	125.2±4.2	6.79~19.26	11.81±1.26	93.1±18.4
IV	A,C	20	112~170	141.1±4.0	8.00~31.00	16.99±1.53	150.2±63.6
V	A,G	14	126~161	146.2±2.8	12.22~26.61	19.83±1.16	108.2±36.3
VI	D,G	6	126~151	137.8±3.5	13.40~20.46	16.21±1.19	83.0±27.5

1.4 卵巢发育的显微观测与时相组成分析

利用 Olympus(DP71)显微镜与配套的图像处理软件 DP Manager 对切片进行观察与拍照,观察各期卵巢内卵母细胞的发育特征并进行时相组成分析。

卵母细胞的发育分析采用楼允东(1996)所述 5 时相划分标准,同时参考苏锦祥(1993)、Murua 等(2003)以及 Ganas 等(2004)关于各时相卵母细胞特征的描述。

为了解不同时相卵母细胞的尺寸构成,利用显微镜(10×10 倍)目微尺对切片上出现细胞核的卵母细胞进行测量,确定各时相卵母细胞的大致卵径范围。经台微尺校正,目微尺最小单元格的实际长度为 1 μm。

卵母细胞时相组成的观测分析对象为 II~VI 期卵巢。在显微镜下(10×10 倍)对组织切片进行观测统计,每张切片观察 5~8 个视野(约含 100 个卵母细胞)。利用最小显著差数法(LSD)检验分析同一发育期、不同时相卵母细胞间所占比例的差异性以及不同发育期、相同时相卵母细胞间所占比例的差异性。所用统计分析软件为 SPSS®(V 15.0)。

1.5 卵径组成分析

鲱鱼卵径组成分析对象为 III~VI 期卵巢。取保存完好的卵巢左右两叶的前、中和后共 6 部分,在 70%酒精中用针将卵粒分离并将各部分充分混合,取 10~30 mg(100~150 粒),在解剖镜(Olympus SZ61)下用目微尺进行卵母细胞卵径(长径)的测量,测量单位为目微尺的单元格。测量时解剖镜所用放大倍数为 4,经台微尺校正,目微尺每一单元格的实际长度为 0.025 mm。卵径组成分析所用分组间距为 0.1 mm;各粒径组数量统计包括卵径恰为分组下限的卵母细胞,但不包括卵径达到分组上限的卵母细胞。

1.6 卵巢两叶及不同部位间卵母细胞发育情况比较

采用卵巢重量、卵母细胞发育时相组成以及卵径分布等三方面的度量特征对卵巢的两叶及其不同部位间卵母细胞的发育情况进行分析比较。

在 II~V 期卵巢样品中选取保存完好的卵巢取左右两叶称重,并计算左右叶的重量比值。其中 II 期卵巢的重量读取精度为 0.001 g, III~V 期卵巢的重量读取精度为 0.01 g。各期卵巢左右叶重量比值间的差异以 LSD 进行多重两两比较分析和方差分析(ANOVA)。

卵巢两叶及同叶内前、中和后部各时相卵母细胞间所占比例的差异性分析,分别选取保存完好的 III~VI 期卵巢,在显微镜下(10×10 倍)观察切片并统计各时相卵母细胞的数量;每张切片观察 5~8 个视野(约含 100 个卵母细胞)。

卵径分布的差异性分析分别选取保存完好卵巢的两叶前、中和后共 6 部分,在 70%酒精中用针将卵粒分离,取 10~30 mg(100~150 粒),在解剖镜下用目微尺测量卵母细胞的卵径,目微尺单元格的实际长度为 0.025 mm。

卵巢两叶及同叶内前、中和后部卵母细胞时相组成和粒径分布差异分析以相同方法进行。首先采用多配对样本的 Friedman 检验对同叶内前、中和后部位间差异进行显著性检验,然后利用两配对样本的 Wilcoxon 检验对叶间差异进行检验。所用统计分析软件为 SPSS®(V 15.0)。

2 结果与分析

2.1 鳃鱼卵巢的目测形态与组织发育特征

2.1.1 鳃鱼卵巢的目测形态特征

各发育期鳃鱼卵巢的目测形态特征如下:

I 期性腺尚未发育,肉眼难辨雌雄;细线状,半透明,紧附于体腔背侧。

II 期卵巢开始发育,增粗为细柱状,左叶明显长于右叶;卵巢膜上血管不明显,呈浅肉红色,略透明;无肉眼可见卵粒。

III 期卵巢正在成熟,橘黄色;体积增大,占整个腹腔的 1/2 左右;卵巢前端较小,中部膨大,后端逐渐变细并与输卵管相连;卵巢膜上有血管分布,颜色微红;肉眼可见不透明卵粒;卵粒相互粘连,不易分离。生殖季节中部分曾产过卵的卵巢符合 III 期特征者,也可记为 VI-III 期,以区别于该生殖季节初次发育至 III 期的卵巢。一般而言,VI-III 期卵巢颜色较初次达到 III 期者深,多呈橘红色,卵巢较松弛;部分 VI-III 期卵巢后端有较为明显的特征,多呈暗红色。

IV 期卵巢即将成熟,橘红色;体积继续增大,占腹腔的 2/3 左右;卵巢膜有弹性,血管明显;卵粒大,可以分离。生殖季节中部分曾产过卵的卵巢符合 IV 期特征者,也可记为 VI-IV 期,以区别于该生殖季节初次发育至 IV 期的卵巢。一般而言,VI-IV 期卵巢颜色较初次达到 IV 期者深,多呈深红色,卵巢较松弛。

V 期卵巢已经成熟,肉红色;柔软膨大,充满腹腔;血管发达;卵粒清晰易辨,可见部分大而透明的、已发生水合作用的卵粒,彼此分离,对卵巢稍加压力,卵粒即能流出体外。

VI 期卵巢为产后不久的卵巢,暗红色;体积缩小,软而松弛,一般仍存留部分未成熟卵粒;输卵管处常见黑红色淤血。

2.1.2 卵母细胞的形态与发育特征

共对 II~VI 期合计 70 尾(表 2)鳃鱼卵巢的切片进行了卵母细胞发育观测。各时相卵母细胞的形态特征如下:

第 1 时相细胞(图版 B-a)为卵原细胞或由卵原细胞向初级卵母细胞过渡的细胞。细胞尚未发育,细胞核大,位于细胞中央;细胞质很少,具有强嗜碱性,H. E 染呈蓝色;细胞呈三角、多角和椭圆等形状,含细胞核的细胞截面长径(以下简称“细胞长径”)范围约为 20~40 μm 。

第 2 时相的卵母细胞(图版 B-b)处于初级卵母细胞的小生长期。细胞长径 80~110 μm ;细胞质增多,嗜碱性较强,H. E. 染呈蓝紫色;切片上可以观察到卵母细胞截面较 1 时相面积增大,并且在卵膜外出现一层滤泡膜。

第 3 时相卵母细胞(图版 B-c)为进入大生长期的初级卵母细胞。细胞截面继续增大,细胞长径 160~330 μm ;卵黄开始沉积,出现染呈淡蓝色的卵黄颗粒;卵膜开始变厚,染呈淡蓝色;滤泡膜的上皮细胞分裂为两层。

第 4 时相卵母细胞(图版 B-d)为处于发育晚期的初级卵母细胞。细胞截面多呈椭圆形,细胞长径 300~650 μm ;卵黄颗粒增多、变大,几乎充满整个卵母细胞,深染呈红色;细胞核向动物极移动;卵膜增厚,淡红色,放射纹明显;滤泡膜仍为双层结构。

第 5 时相卵母细胞(图版 D-e)为已经过第 1 次成熟分裂并发生水合作用(Hydration)的次级卵母细胞。半透明;细胞显著增大,长径 550~900 μm ;核膜消解,核质与动物极处的细胞质交融在一起;卵黄粒彼此融合成粗大卵黄块。部分卵母细胞已从滤泡排出进入卵巢腔(即已排卵,Ovulated),进入第 2 次成熟分裂,成为即将产出体外、尚未受精的卵子。

2.1.3 各期卵巢卵母细胞的时相组成

共对 II~VI 期合计 70 尾鲢鱼(表 2)卵巢的卵母细胞时相组成进行了组织切片观测, 各期卵巢的时相组成如表 3。

II 期卵巢(图版 A)由 1~3 时相卵母细胞组成, 2 时相卵母细胞在数量上占绝对优势, 为 66.3%; 1 和 3 时相分别占 17.7% 和 16.0%。

III 期卵巢(图版 B)由 1~4 时相卵母细胞组成, 各时相卵母细胞所占比例依次递增, 除 1、2 时相外, 其余各时相间卵母细胞所占比例均存在显著差异; 4 时相卵母细胞在 III 期卵巢中属首次出现, 且所占比例最高, 为 28.6%。与 II 期卵巢相比, 2 时相卵母细胞所占比例由 66.3% 下降至 23.2%, 差异极显著 ($P < 0.01$)。

IV 期卵巢(图版 C)也由 1~4 时相卵母细胞组成, 其中 4 时相卵母细胞所占比例进一步增加, 达 34.8%, 优势显著。与 III 期卵巢相比, 4 时相细胞所占比例显著上升 ($P < 0.01$), 2 时相和 3 时相所占比例显著下降 ($P < 0.05$), 1 时相所占比例无显著变化 ($P = 0.36$)。

V 期卵巢(图版 D)由 1~5 时相卵母细胞组成, 其中 5 时相卵母细胞首次出现, 且所占比例最高。与 IV 期卵巢相比, 1、2 时相所占比例变化不显著 ($P > 0.05$), 而 3、4 时相卵母细胞所占比例则显著下降 ($P < 0.05$)。

VI 期卵巢(图版 E)由 1~4 时相卵母细胞组成; 其中 1~3 时相卵母细胞所占比例相近; 4 时相卵母细胞所占比例最低, 与 1~3 时相所占比例差异极显著 ($P < 0.01$), 同时也显著低于 III 期和 IV 期卵巢中 4 时相卵母细胞的比例 ($P < 0.05$)。

表 3 II~VI 期卵巢各时相卵母细胞组成百分比 (M±SE)

Table 3 Percentage (M±SE) of the oocytes in different development phases for stage II~VI ovaries

发育期 Development stage	1 时相 Phase 1	2 时相 Phase 2	3 时相 Phase 3	4 时相 Phase 4	5 时相 Phase 5
II	17.7±0.5 ^{c/B}	66.3±0.5 ^{a/A}	16.0±0.6 ^{c/B}	—	—
III	21.6±0.8 ^{b/C}	23.2±0.6 ^{c/C}	26.5±0.6 ^{a/B}	28.6±0.7 ^{b/A}	—
IV	23.7±0.5 ^{b/B}	20.4±0.3 ^{d/C}	21.1±0.3 ^{b/C}	34.8±0.4 ^{a/A}	—
V	21.6±0.5 ^{b/B}	19.5±0.4 ^{d/B}	16.2±0.3 ^{c/BC}	13.0±0.4 ^{d/C}	29.8±0.7 ^A
VI	27.3±0.4 ^{a/A}	27.6±0.4 ^{b/A}	27.4±0.4 ^{a/A}	17.8±0.4 ^{c/B}	—

注: 表中各百分比数值的上标系最小显著差数法(LSD)检验结果。其中, 小写字母为不同发育期间同一时相(列)卵母细胞所占百分比的比较检验结果, 大写字母为同一发育期不同时间(行)的检验结果。同行(列)各数据间上标中具有相同字母则表示差异不显著 ($P > 0.05$), 无相同字母则表示差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 鲢鱼卵巢的卵径分布特征

共对 10 个 III 期、10 个 IV 期、14 个 V 期和 6 个 VI 期卵巢进行了卵径测定。各期卵巢的卵径分布如图 2。

III 期卵巢中卵径 < 0.2 mm 的卵母细胞所占比例为 $14.4 \pm 0.7\%$ (M±SE); 卵径 ≥ 0.2 mm 卵母细胞的卵径呈单峰分布, 峰值卵径组为 0.5~0.6 mm, 相应卵母细胞所占比例为 $20.6 \pm 1.2\%$; 10 个卵巢样品中观测到的最大卵径为 0.825 mm。

IV 期卵巢中卵径 < 0.2 mm 的卵母细胞所占比例为 $6.6 \pm 1.6\%$; 卵径 ≥ 0.2 mm 卵母细胞的卵径呈连续的双峰分布, 峰值卵径组分别为 0.2~0.3 mm 和 0.7~0.8 mm; 其中后者对应的卵母细胞数量优势明显, 所占比例为 $22.4 \pm 2.1\%$; 10 个卵巢样

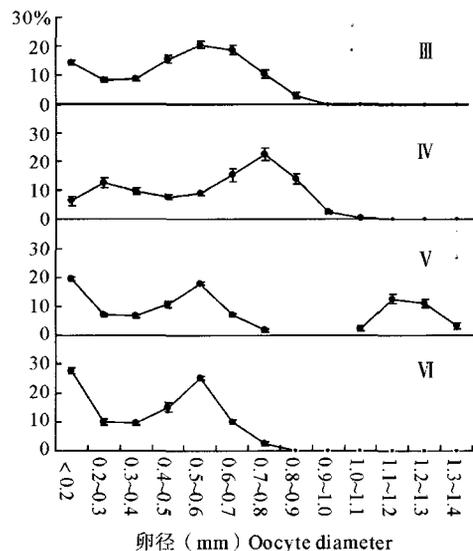


图 2 III~VI 期卵巢卵径 (M±SE) 分布

Fig. 2 Oocyte size-distribution in stage III~VI ovaries (M±SE)

品中观测到的最大卵径为 1.000 mm。

V 期卵巢中卵径 < 0.2 mm 的卵母细胞所占比例增大,为 $19.6 \pm 0.6\%$;卵径 ≥ 0.2 mm 卵母细胞的卵径呈不连续的双峰分布,峰值卵径组分别为 0.5~0.6 mm 和 1.1~1.2 mm;0.8~1.0 mm 范围内无卵粒分布;1.0~1.4 mm 卵径范围内的卵粒均发生水合作用;14 个卵巢样品中观测到的最大卵径为 1.375 mm。

VI 期卵巢中卵径 < 0.2 mm 的卵母细胞所占比例进一步增加,为 $27.7 \pm 1.0\%$;卵径 ≥ 0.2 mm 卵母细胞的卵径又呈单峰分布,峰值卵径组与 III 期卵巢的峰值卵径以及 V 期卵巢的第一个峰值卵径相同,为 0.5~0.6 mm,相应卵母细胞所占比例则为 $25.3\% \pm 0.7\%$;6 个卵巢样品中观测到的最大卵径为 0.750 mm,没有发现 ≥ 0.800 mm 的卵粒。

2.3 鳀鱼卵巢左右叶及部位间发育的比较

2.3.1 卵巢左右叶重量比较

表 4 展示了 II~V 期卵巢的称重比较结果。从左右两叶的比值可以看出,鳀鱼卵巢从 II 期开始左叶即明显均大于右叶;各期卵巢左右两叶重量比值的均值略有不同,经 LSD 检验,II 期的比值与 V 期的比值差异显著 ($P < 0.05$),但 II~IV 各期间以及 III~V 各期间的差异均不显著;ANOVA 检验表明 II~V 期四比值的差异并不显著 ($P = 0.18$)。II~V 期卵巢合并计算右/左比值为 0.71 ± 0.02 ($M \pm SE$)。

表 4 鳀鱼卵巢左右叶重量比较
Table 4 Weight comparison between the left and the right lobes of the anchovy ovary

发育期 Development stage	站位 Sampling station	<i>n</i>	左叶重 ($M \pm SD$, g) Left-lobe weight	右叶重 ($M \pm SD$, g) Right-lobe weight	右/左 ($M \pm SE$) Right/left ratio
II	F	10	0.037 ± 0.023	0.025 ± 0.016	0.63 ± 0.06^b
III	B,C	10	0.90 ± 0.25	0.67 ± 0.27	0.73 ± 0.05^{ab}
IV	A,B	10	1.14 ± 0.42	0.78 ± 0.25	0.70 ± 0.04^{ab}
V	A	10	1.17 ± 0.38	0.88 ± 0.27	0.77 ± 0.03^a

注:表中右/左数值的上标系最小显著差数法(LSD)检验结果,同列各数据间上标中具有相同字母表示重量比差异不显著 ($P > 0.05$),无相同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

2.3.2 卵母细胞发育时相比较

共对 10 个 III 期、20 个 IV 期、14 个 V 期和 6 个 VI 期卵巢进行了左、右叶前、中和后 3 个部位间卵母细胞发育时相的比较分析,结果如图 3 所示。

从图 3 可以看出,各期卵巢叶间以及叶内各部位间各时相卵母细胞的组成比例和分布态势均非常相似。经 Friedman 检验,各期卵巢叶内前、中和后 3 个部位间卵母细胞时相组成均无显著差异 ($P > 0.05$);对叶内 3 个部位相同时相细胞所占比例的观测值合并处理后经 Wilcoxon 检验,各期两叶间的差异也均不显著 ($P > 0.05$)。

2.3.3 卵径分布比较

共对 10 个 III 期、10 个 IV 期、14 个 V 期和 6 个 VI 期卵巢进行了两叶前、中和后部的卵径测定,卵径分布如图 4 所示。除 IV 期卵巢 0.7~0.8 mm 单个粒径组存在部位间差异外(LSD 检验, $P < 0.05$),叶内和叶间卵径分布的总体态势均非常相似。经 Friedman 和 Wilcoxon 检验,同期卵巢叶内、叶间卵径的总体分布均无显著差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 鳀鱼卵巢的组织发育与分期特征

鱼类性腺发育的分期标准一般均是针对所有鱼类或绝大多数鱼类的(夏世福等 1981;陈大刚 1997);由

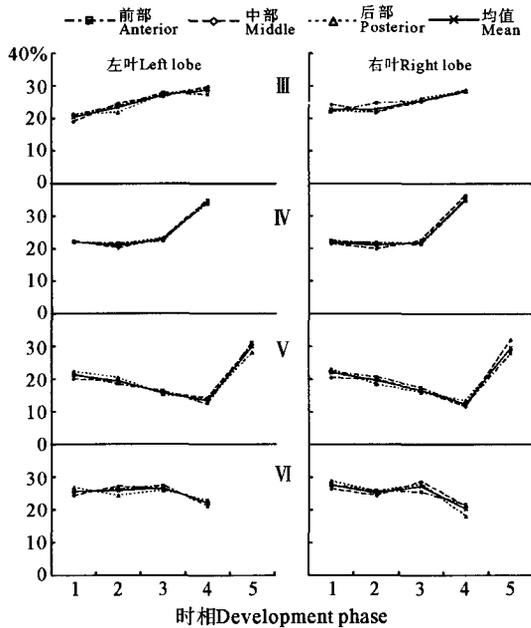


图 3 Ⅲ~Ⅵ期卵巢两叶前、中和后部
各时相卵母细胞组成百分比

Fig. 3 Number percentage of the oocytes in different development phases at anterior, middle and posterior part of each of the two lobes of the ovaries in stage Ⅲ~Ⅵ

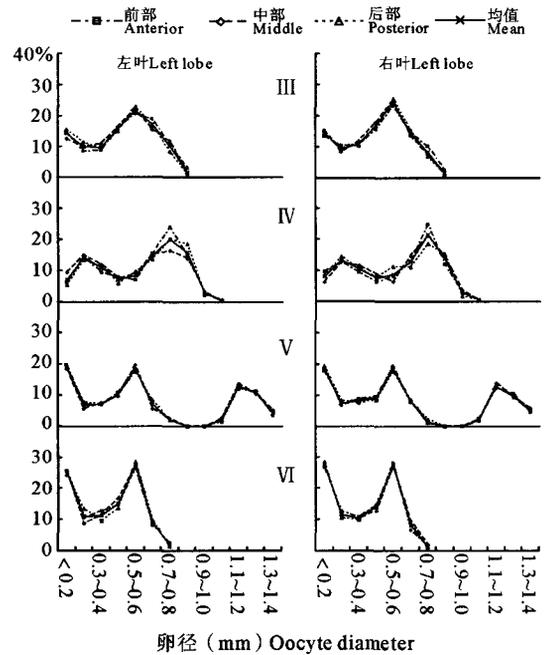


图 4 Ⅲ~Ⅵ期卵巢两叶前、中和后部卵径分布

Fig. 4 Distribution of oocyte-size at anterior, middle and posterior part of each of the two lobes of the ovaries in stage Ⅲ~Ⅵ

于鱼类之间的差异,加之各发育期划分标准的界限并不严格,以及对标准的理解不同(唐启升 1991)等原因,不同研究者对性腺发育期的划分结果也可能不尽相同。为尽量维持鲈鱼性腺发育鉴定结果的一致性,本文根据夏世福等(1981)的 6 期划分标准,对鲈鱼卵巢各发育期的目测形态进行了细致观察与描述(2.1.1),并在卵母细胞发育时相组织切片观测的基础上(2.1.2),对各期卵巢卵母细胞的时相组成进行了观测分析。

从表 3 可以看出,鲈鱼的卵母细胞发育是不同步的,不同发育时相的卵母细胞同时出现在同一卵巢中。其中Ⅱ期卵巢由 3 个时相的卵母细胞组成,Ⅲ期和Ⅳ期卵巢由 4 个时相组成,而Ⅴ期卵巢的标志则是出现因发生水合呈半透明状的、成熟的 5 时相细胞;5 时相细胞产出后,Ⅵ期卵巢则回归 4 个时相的组成状态。

从各时相卵母细胞组成百分比来看,Ⅱ期卵巢中 2 时相所占比例有明显优势(66.3%);Ⅲ期卵巢中各时相相差不大,4 时相的比例略高(28.6%);随着卵巢的发育,Ⅳ期卵巢中 4 时相的比例进一步提高(34.8%),2、3 时相的比例则相应下降;Ⅴ期卵巢中 5 时相成熟卵粒的比例占较大优势(29.8%),3、4 时相下降明显,1、2 时相则无显著变化,说明从Ⅳ期到Ⅴ期仅 3、4 时相参与了发育,1、2 时相的发育基本停滞。同样,Ⅲ~Ⅴ期卵巢中 1 时相所占比例也无显著差异,说明在由Ⅲ期到Ⅴ期的发育过程中,1 时相的卵母细胞也基本未参与发育。因此鲈鱼卵巢的发育应属不同步发育模式(参前言第 2 段)。

需要指出的是,本文Ⅱ期卵巢样品采集于其他各期样品之后(表 1),个体也相对较小(表 2),这在一定程度上影响了Ⅱ期卵巢与其他各期卵巢的比较。另外,Ⅲ~Ⅵ期样品仅采集于生殖季节的前期(4~6 月),因此描述的主要为生殖季节内首批产卵及其之前的卵巢发育过程。更加系统(包括产卵一批次以上)的样品采集将有助于进一步揭示鲈鱼卵巢在整个生殖季节的发育特征。

3.2 鲈鱼卵巢的卵径分布与生殖特征

卵母细胞的粒径分布是鱼类繁殖特征的一个重要标志(Gunderson 1993)。从图 2 可以看出,鲈鱼卵母细胞的粒径分布具有明显的峰、谷特征。Ⅲ期卵巢的卵径呈单峰分布,Ⅳ期则呈现出双峰分布的特征;Ⅴ期双

峰特征非常明显,峰值卵径也明显增大;V期卵巢中较大卵径的水合卵粒产出后,VI期卵巢又回归到单峰分布。这与 Gunderson(1993)给出的粒径分布概念图基本一致,但与李富国(1987)关于同一鳊鱼群体的研究结果则存在明显差异。

图2展示的粒径分布显示,鳊鱼卵巢内最多同时存在两个优势粒径卵母细胞群,一个对应发育中的卵母细胞群,一个对应即将成熟或已成熟水合的卵母细胞群;根据对各时相卵母细胞粒径的粗略观测(2.1.2),这些优势群应由3时相及更高时相的卵母细胞构成,卵径 $<0.2\text{ mm}$ 者基本应为1时相的卵原细胞和2时相卵母细胞。根据 Gunderson(1993)的描述,这似乎应属生殖力确定型的分布模式。然而鳊属鱼类一般被认为是生殖力不确定性鱼类(Hunter *et al.* 1981;Murua *et al.* 2003;Ganias *et al.* 2004)。因此关于黄海鳊鱼生殖力的确定与否尚需进行更为细致的研究。

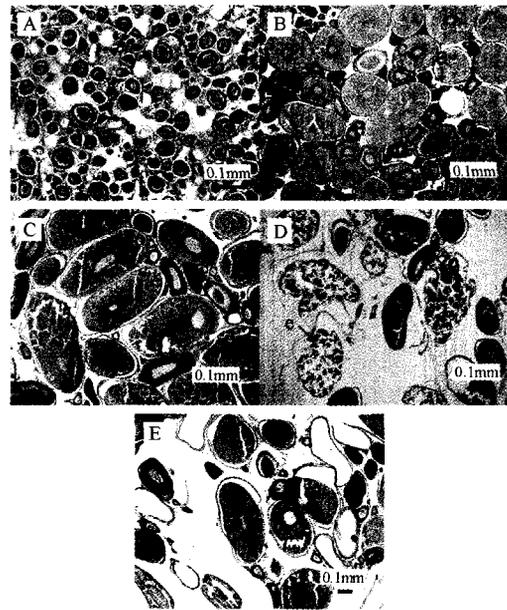
李富国(1987)所研究的IV和V样品中,发育中的卵母细胞的卵径($>0.3\text{ mm}$)主要呈“浅锯齿状分布”,任何一峰均无数量上的明显优势。而本研究IV、V期样品则分别具有两个明显的粒径优势群,且在峰值粒径组的尺寸上具有其发育上的合理性,分别由IV期的 $0.2\sim 0.3\text{ mm}$ 和 $0.7\sim 0.8\text{ mm}$ 发育为V期的 $0.5\sim 0.6\text{ mm}$ 和 $1.1\sim 1.2\text{ mm}$ (图2)。从图2还可看出,V期卵巢中两个优势粒径卵母细胞群在粒径分布上是不连续的,说明成熟卵细胞水合后明显增大(Gunderson 1993),在卵径分布上脱离4时相卵母细胞形成一独立分布;该群水合卵母细胞的粒径范围为 $1.000\sim 1.375\text{ mm}$,与产卵场鱼卵仔鱼调查所采集卵子的粒径范围基本一致(黄海水产研究所万瑞景,个人通信)。VI期卵巢中仅有 $0.5\sim 0.6\text{ mm}$ 1个粒径优势卵母细胞群,说明 $\geq 1.0\text{ mm}$ 的卵粒均已产出;存留的卵母细胞除所占比例普遍升高外(卵母细胞总数减少的必然结果),其粒径分布与V期相同粒径组的分布格局几乎完全一致。由此可见鳊鱼的产卵生殖具有明显的分批特征。

在黄海鳊鱼的生殖力研究中,李富国(1987)和曾玲等(2005)将卵径 0.55 mm 以上的卵粒作为生殖力的计算标准。从图2中V、VI两期卵巢的卵径比较可以看出,V期卵巢中卵径 $\geq 1.0\text{ mm}$ 的、已发生水合的卵粒至VI期时均已产出,即成熟的卵粒全部产出,而其余未成熟的卵母细胞(卵径 $<0.8\text{ mm}$)的粒径分布与III期具有相似的格局,其中以 $0.5\sim 0.6\text{ mm}$ 为峰值卵径的优势卵母细胞群仍有进一步发育、产出的可能。因此李富国(1987)和曾玲等(2005)的评估结果很可能远远低估了鳊鱼在整个生殖季节的总生殖力。

综上所述,鳊鱼具有明显的分批产卵特点;至于鳊鱼属生殖力确定型还是不确定型鱼类以及鳊鱼的生殖力问题尚有待进行更为深入的研究。

3.3 鳊鱼卵巢的左右叶及部位间发育比较

鳊鱼卵巢左右两叶大小不同是鳊鱼的一个重要特征(李富国 1987);相应地,鳊鱼卵巢左右两叶的发育是否同步则成为人们关心的问题。本研究显示,II~V期间卵巢右/左叶重量比值无显著差异,合并均值为 0.71 ,标准误差为 0.02 ,均值95%置信区间为 $(0.67, 0.75)$,与李富国(1987) 0.68 的结果一致(无显著差异)。其中II期卵巢与V期卵巢间在统计分析上存在的差异可能与II期样品个体偏小(表2)、采集水域略有不同(图1)有关。



版图说明

Explanation of Plate

- 图A: II期卵巢切片 Plate A: Section of stage II ovary
 图B: III期卵巢切片 Plate B: Section of stage III ovary
 图C: IV期卵巢切片 Plate C: Section of stage IV ovary
 图D: V期卵巢切片 Plate D: Section of stage V ovary
 图E: VI期卵巢切片 Plate E: Section of stage VI ovary
 图版的小写字母系卵母发育时相标注。a:1时相;b:2时相;c:3时相;d:4时相;e:5时相

The lowercase letters in the plates indicates the development phase of the oocytes; a: Phase 1; b: Phase 2; c: Phase 3; d: Phase 4; e: Phase 5

从卵母细胞时相组成分析(图3)和卵径分布(图4)来看,卵巢同叶前、中、后各部位间以及两叶间,总体而言均不存在显著差异,与Imai等(1994)通过卵径分析认为鳀鱼卵巢各部位间发育情况无显著差异的结果一致。

因此,虽然鳀鱼卵巢两叶在大小上差异显著,但两叶内卵母细胞的发育是基本同步的。这为今后鳀鱼的卵巢发育和生殖力研究提供了方便。

参 考 文 献

- 韦 晟,姜卫民. 1992. 黄海鱼类食物网的研究. 海洋与湖沼,23(2):182~192
- 朱德山,Iversen A. (主编). 1990. 黄、东海鳀鱼及其他经济鱼类资源声学评估的调查研究. 海洋水产研究,11: 1~141
- 李显森,赵宪勇,李 凡,李富国,戴芳群,朱建成. 2006. 山东半岛南部产卵场鳀鱼生殖群体结构及其变化. 海洋水产研究,27(1):46~53
- 李富国. 1987. 黄海中南部鳀鱼生殖习性的研究. 海洋水产研究,8: 41~50
- 张 波,唐启升,金显仕,薛 莹. 2005. 东海和黄海主要鱼类的食物竞争. 动物学报,51(4):616~623
- 苏锦祥(主编). 1993. 鱼类学与海水鱼类养殖. 第二版. 北京:中国农业出版社,309~311
- 陈大刚(主编). 1997. 渔业资源生物学. 北京:中国农业出版社,58~64
- 陈介康,秦玉江,李培军. 1978. 黄海北部日本鳀生殖习性的研究. 辽宁省海洋水产研究所调查研究报告,44,1~7
- 唐启升. 1991. 渔业生物学研究方法概述. 见:邓景耀,赵传姻(主编). 海洋渔业生物学. 北京:农业出版社,33~110
- 唐启升,苏纪兰. 2000. 中国海洋生态系统动力学研究 I. 北京:科学出版社,1~141
- 夏世福,刘效舜(主编). 1981. 海洋水产资源调查手册. 第二版. 上海:上海科学出版社,38~57
- 曾 玲,李显森,赵宪勇,李富国,金显仕. 2005. 黄海鳀鱼(*Engraulis japonicus*)生殖力及其年际变化. 中国水产科学,12(5):569~574
- 楼允东. 1996. 组织胚胎学. 第二版. 北京:中国农业出版社,131~137
- Ganias, K., Somarakis, S., Machias, A., and Theodorou, A. 2004. Pattern of oocyte development and batch fecundity in the Mediterranean sardine. Fish. Res. 67: 13~23
- Gunderson, D. R. 1993. Surveys of fisheries resources. New York, John Wiley & Sons. 248
- Hunter, J. R., and Leong, R. 1981. The spawning energetics of female northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull. 79: 215~230
- Hunter, J. R., Maciewicz, B. J., LO, N. C. H., and Kimbrell, C. A. 1992. Fecundity, spawning, and maturity of female Dover Sole, *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. Fish. Bull. 90: 101~128
- Imai, C., and Tanaka, S. 1994. Analysis of ovarian egg size frequency distribution of Japanese anchovy using computer graphics. Fish. Sci. 60 (6): 695~701
- Murua, H., and Saborido-Rey, F. 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. J. Northw. Atl. Fish. Sci. 33: 23~31
- Murua, H., Kraus, G., Saborido-Ray, F., Witthames, P. R., Thorsen, A., and Junquera, S. 2003. Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. J. Northw. Atl. Fish. Sci. 33: 33~54
- Pitcher, T. J., and Hart, P. J. B. 1982. Fisheries Ecology. London, Chapman & Hall, 172~218
- Wallace, A. R., and Selman, K. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am. Zool. 21: 325~343
- West, G. 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: A review. Aust. J. Mar. Freshwater Res. 41: 199~222
- Zhao, X., Hamre, J., Li, F., and Tang, Q. 2003. Recruitment, sustainable yield and possible ecological consequences of the sharp decline of the anchovy(*Engraulis japonicus*) stock in the Yellow Sea in the 1990s. Fish Oceanogr. 12 (4): 495~501