

我国鲆鲽类生殖内分泌研究进展*

柳学周^{1,2①} 史宝^{1,2} 徐永江^{1,2} 王滨^{1,2} 刘新富^{1,2} 孟振^{1,2}

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室
中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;
2. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071)

摘要 鱼类的生殖和苗种繁育是鱼类养殖业持续健康发展的必要前提和关键技术基础之一,是海洋生物技术的重要研究领域。近年来,我国北方沿海鱼类繁殖生理主要围绕鲆鲽类“下丘脑-垂体-性腺轴”的组织结构特征、性腺发育规律、性类固醇激素、生殖相关功能基因内分泌调控机制等方面开展了较系统的研究。本文重点介绍主要养殖鲆鲽类“下丘脑-垂体-性腺轴”中表达的重要功能基因的研究进展,并综述了鲆鲽类生殖相关组织的结构及其内分泌系统特征、性腺发育的生理特性及其与环境因子和激素诱导的关系、性类固醇激素的表达变化规律及其与水温及光周期调控关系等。旨在为鲆鲽类生殖活动的精准调控和建立苗种繁育新技术提供参考。

关键词 鲆鲽类; 生殖内分泌; 功能基因; 性类固醇激素; 生殖调控

中图分类号 S967 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)01-0001-09

1 我国鱼类生殖生理学研究概况

我国鱼类繁殖生理研究始于 20 世纪 50 年代,在淡水鱼类“四大家鱼”人工繁育技术研究中取得进展,20 世纪 60 年代以后,相继开展了“四大家鱼”性腺发育规律、生殖系统的结构、生理机制及内分泌控制等方面的研究,取得了人工繁殖生物学原理及应用技术的突破和发展(施琼芳, 1992)。海水鱼类繁殖生理学研究起步相对较晚,20 世纪 80 年代起,海水鱼类繁殖生物学及繁育技术快速发展,20 世纪 90 年代以后,相继开展了斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)、鳗鲡(*Anguilla japonicus*)等生殖内分泌研究,克隆了一批调控繁殖相关激素及其受体的功能基因,阐明了其结构、表达特征和调控繁殖的作用等(张勇等, 2010)。对于鲆鲽类生殖内分泌研究主要集中在近 10 年,针对半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)等鲆鲽类,围绕“下丘脑-垂体-性腺轴”(Hypothalamus-pituitary-

gonad axis, HPG 轴)展开了较系统的研究,包括性腺发育规律、生殖内分泌系统结构、功能基因及其作用机制和调控原理等,相关研究取得一些进展(柳学周等, 2014a, b, 2015; 史宝等, 2013; Shi *et al*, 2016)。本文侧重对鲆鲽类生殖内分泌学研究热点现有资料进行总结分析,为进一步深入开展鲆鲽类生殖内分泌调控机制研究、完善生殖精准调控技术提供基础信息。

2 鲆鲽类生殖相关功能基因及其研究进展

鱼类的生殖活动主要受“脑/下丘脑-脑垂体-性腺”HPG 轴调控,脑/下丘脑分泌产生促性腺激素释放激素(Gonadotropin releasing hormone, GnRH)刺激脑垂体促性腺激素(Gonadotropin, GtH)的合成与释放,促性腺激素作用于性腺,刺激性腺类固醇激素的生成与分泌,促进性腺发育成熟、配子生成排放。脑

*国家自然科学基金项目(31201982、31502145、3160213)、国家鲆鲽类产业技术体系(CARS-50)和山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(BS2013SW042)共同资助 [This work was supported by National Natural Science Foundation of China (31201982, 31502145 and 3160213), China Agriculture Research System (CARS-50), and Shandong Youth Scientist Awards Foundation (BS2013SW042)]

① 通讯作者: 柳学周, 研究员, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2015-12-14, 收修改稿日期: 2016-03-25

下丘脑分泌产生许多神经内分泌因子可以直接或间接参与生殖轴的调控,例如刺激性因子神经肽 Y(Neuropeptide Y, NPY),抑制性因子多巴胺(Dopamine, DA)等调控 GnRH 和 GtH 的合成与分泌(林浩然, 2011)。目前,国内学者对多种鲆鲽类生殖相关功能基因进行了克隆表达和功能研究,主要研究了下丘脑的 *GnRH* 基因、垂体的 *GtH* 基因、性腺的芳香化酶基因(Aromatase, *CYP19/CYP17*)、雌激素受体基因(Estrogen

receptor, *ER*)、雄激素受体基因(Androgen receptor, *AR*)、促滤泡激素受体基因(Follicle-stimulating hormone receptor, *FSHR*)、促黄体激素受体基因(Luteinizing hormone receptor, *LHR*)、膜孕激素受体基因(Membrane progesterin receptor, *mPR*)、新型膜孕激素受体基因(Membrane progesterin receptor-like, *mPRL*)、类胰岛素生长因子(Insulin-like growth factor, *IGF*)等重要功能基因(表 1)。

表 1 鲆鲽类 HPG 轴相关功能基因
Tab.1 The functional genes in HPG axis of flatfish

基因名称 Gene	实验鱼 Fish species	基因序列号 GenBank No.	文献 References
<i>GnRH</i> (<i>cGnRH-II</i> , <i>sGnRH</i> , <i>sbGnRH</i>)	牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	<i>cGnRH-II</i> : DO008580 <i>sbGnRH</i> : DO074693	房保海等(2006);
	半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i>	<i>cGnRH-II</i> : KX090947 <i>sGnRH</i> : JQ028869	赵明(2011); Zhou 等(2012)
	圆斑星鲽 <i>Verasper variegatus</i>	<i>cGnRH-II</i> : HM131601 <i>sGnRH</i> : HM131602 <i>sbGnRH</i> : HM131603	柳学周等(2013)
<i>GtH</i> (<i>FSH</i> , <i>LH</i> , <i>CGα</i>)	半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i>	<i>FSHβ</i> : JQ277933 <i>LHβ</i> : JQ277934 <i>CGα</i> : JQ364953	李晓晓等(2013); 王珊珊等(2013); 柳学周等(2014a);
	漠斑牙鲆 <i>Paralichthys lethostigma</i>	<i>LHβ</i> : JX002656	柳学周等(2014b);
	<i>mPRs</i> (<i>mPRα</i> / <i>mPRL</i>)	半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	<i>mPRα</i> : ACW83621 <i>mPRL</i> : KF277065 <i>mPRα</i> : JX050155 <i>mPRL</i> : KM507040
<i>ER/AR</i>	牙鲆 <i>P. olivaceus</i> 半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i>	<i>ERβ</i> : AB070630 <i>ARα</i> : --	Shi 等(2009); 温海深等(2009)
<i>FSHR/LHR</i>	半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i> 大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i>	<i>FSHR</i> : Eu661784 <i>LHR</i> : KJ561230	陈晓燕等(2010); 贾玉东等(2014);
<i>CYP19/CYP17</i>	半滑舌鲷 <i>C. semilaevis</i>	<i>P450c17-I</i> : GU338001 <i>P450c17-II</i> : EU732518	Chen 等(2010);
	牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	<i>P450c17-I</i> : FJ815204 <i>P450c17-II</i> : FJ613529	Chen 等(2013);
	条斑星鲽 <i>Verasper moseri</i>	<i>CYP19a</i> : FJ169904	金国雄等(2010)
<i>IGF-I/IGF-II</i>	星突江鲽 <i>Platichthys stellatus</i>	<i>IGF-I</i> : KC709503 <i>IGF-II</i> : KM821276	臧坤(2014) ¹⁾

2.1 下丘脑组织功能基因

2.1.1 促性腺激素释放激素(GnRH)

GnRH 是 HPG 轴的关键内分泌调控激素,在鱼类性腺发育成熟中具有重要的调控作用, GnRH 由下丘脑分泌产生,作用于垂体,刺激促性腺激素的产生释放,从而调控鱼类卵巢发育成熟。GnRH 有 4 种存在方式,包括

mGnRH (Mammalian GnRH)、*sbGnRH* (Seabream GnRH)、*cGnRH II* (Chicken GnRH-II)、*sGnRH* (Salmon GnRH)。其中, *mGnRH* 和 *sbGnRH* 具有物种特异性, *sbGnRH* 分布于中脑,在长期进化中非常保守, *sGnRH* 是鱼类特有的,主要存在于端神经节(Kavanaugh *et al*, 2008)。

目前,在鲆鲽类中最多克隆获得 3 种 *GnRH* 亚型

1) Zang K. Study on physiological function and *in vitro* recombinant expression of growth hormone and insulin-like growth factors from *Platichthys stellatus*. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2014 [臧坤. 星突江鲽生长激素和胰岛素样生长因子的生理功能及体外重组研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2014]

基因。在圆斑星鲽(*Verasper variegatus*)中发现了 *cGnRH-II*、*sGnRH* 和 *sbGnRH* 3 个亚型基因, *cGnRH-II* 仅在脑中表达, *sbGnRH* 在各个组织都有表达, *sGnRH* 在脑、垂体和性腺中表达。脑中 *sbGnRH* 基因的表达水平随卵巢成熟过程逐渐升高, 产卵前达到峰值, 而其他 2 种 *GnRH* 基因在繁殖周期表达水平变化不显著, 表明 *sbGnRH* 基因在调控圆斑星鲽性腺发育过程中起主要作用(柳学周等, 2013)。在半滑舌鲷中目前发现 2 种 *GnRH* 亚型, *cGnRH-II* 主要在脑中表达, 雌性中的表达高于雄性, 而 *sGnRH* 只在脑和性腺中表达, 并发现在卵母细胞中存在, 受精后表达逐渐升高, 分析其具有母体遗传特性(赵明, 2011¹); Zhou *et al*, 2012)。牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)的 *cGnRH-II* 和 *sbGnRH* 基因在脑、垂体、卵巢、鳃、头肾和脾脏中有较丰富的表达, 而在精巢中表达微量(房宝海等, 2006)。

2.1.2 亲吻素及其受体(Kisspeptin/GPR54)和促性腺激素抑制激素及受体(GnIH/GnIH-R) *Kisspeptin/GPR54* 和 *GnIH/GnIH-R* 均是 *GnRH* 的上游调控基因, 由下丘脑分泌; *Kisspeptin/GPR54* 调控 *GnRH* 启动表达, 调节青春期启动、参与 *GtH* 分泌释放(Ogawa *et al*, 2012), 在鱼类中 *Kisspeptin/GPR54* 基因包括 2 种亚型(*Kiss-1*、*Kiss-2*)和 2 种受体基因(*KissR1* 和 *KissR2*) (Felip *et al*, 2009)。*GnIH/GnIH-R* 基因在鹌鹑(*Coturnix coturnix*)中的作用与 *Kisspeptin* 对生殖轴的调控起着相反的作用, 可抑制 *GnRH* 和 *GtH* 的合成与释放(Ogawa *et al*, 2014)。目前, 仅在金鱼(*Carassius auratus*)等几种鱼类中克隆得到 *GnIH* 的同源基因, 但是对其确切的生理功能尚不清楚(王滨等, 2016)。这两类基因在鲆鲽类的生理功能的研究正在进行中。

2.2 垂体组织功能基因

促性腺激素(*GtHs*)由垂体分泌, 包含卵泡刺激素(*FSH*)和促黄体素(*LH*)。它们由相同的 α 亚基和不同的 β 亚基以非共价键相连组成异源二聚体, 单独的每个亚基只能保留 *GtH* 激素生物活性很小一部分, α 亚基含抗原决定因素, β 亚基具有特异的生物学作用; 2 个亚基结合在一起, 行使生理功能。*GtH* 与促性腺激素受体结合, 诱导雌激素和孕激素合成, 调控配子发生, 其中, *FSH* 基因在鱼类卵巢发育早期起主导作用, *LH*

基因在调控卵巢成熟过程起主导作用(林浩然, 2011)。

在半滑舌鲷 *GtHs* 的研究中, 已克隆获得 *FSH β* 、*LH β* 、*CG α* 3 种基因, *GtHs* 在垂体中大量表达, 脑和性腺中表达也相对较高, 表明其生理功能主要作用于垂体、脑和性腺。从其繁殖周期的表达分析来看, *FSH β* 、*LH β* 和 *CG α* 基因在垂体中的表达随性腺发育持续升高, *FSH β* 基因在性腺发育至 IV 期时的垂体中表达量最高, 而 *LH β* 和 *CG α* 基因至 V 期时的垂体中表达量最高; 表明 *FSH* 调控卵巢早期发育; *LH* 的生理功能主要对卵母细胞最终成熟及卵子排出起作用(李晓晓等, 2013; 王珊珊等, 2013; 柳学周等, 2014a)。对漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*) *LH β* 基因表达特性分析表明, 卵巢中 *LH β* 基因表达水平也是在 V 期达到峰值, 证实 *LH β* 基因在调控卵巢成熟过程中起主导作用(柳学周等, 2014b)。

2.3 性腺组织功能基因

2.3.1 芳香化酶(Aromatase)基因 芳香化酶是类固醇激素代谢中的重要酶类, 是鱼体性腺和脑中雌激素合成的关键酶, 参与繁殖周期调控。已有研究表明, *Aromatase* 调节神经内分泌和繁殖功能, 并参与鱼类早期性别分化(Uno *et al*, 2012; Xiong *et al*, 2015)。它的基因包括 *CYP19/CYP17* 二类基因, 各包含 2 种亚型, *CYP19a/CYP19b* 和 *P450c17- I/P450c17- II*。

对条斑星鲽 *CYP19a* 基因的研究发现, 其主要在脑、卵巢和精巢中表达, 表明其参与繁殖调控; *CYP19a* 基因在 II 期、III 期精巢中表达较高, 在 V 期精巢中表达最低, 是因为精巢发育早期的鱼正处在性腺发育期, 此时, 需要 *CYP19a* 基因刺激雌二醇大量生成, 从而促进精巢中精子发生和发育(金国雄等, 2010)。对牙鲆的研究中发现, *P450c17- I* mRNA 在心脏、精巢和卵巢表达丰富, *P450c17- II* mRNA 在脑、头肾、肾、精巢和卵巢表达丰富, 表明其在繁殖相关组织中参与性类固醇激素生物合成; 在精巢不同发育阶段均检测到 *P450c17- I* 和 *P450c17- II* mRNA 表达, 并且这 2 种基因的表达水平变化与血浆中 T 水平和性腺指数变化相关, 认为这 2 种基因通过参与调控性类固醇激素生成, 进而参与调节精子发生和成熟(史宝, 2010)²); 雌性牙鲆 *CYP19a* 基因调控区甲基化, 可能导致芳香化酶的表达量降低, 从而影响牙鲆繁殖内分

1) Zhao M. Studies on reproductive physiological characteristics and molecular cloning of *cGnRH-II* in tongue sole, *Gynoglossus semilaevis* Günther. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2001 [赵明. 半滑舌鲷生殖生理特性及 *GnRH* 克隆初步研究. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2011]

2) Shi B. Study on the molecular mechanisms of reproductive endocrinology in *Paralichthys olivaceus* and *Paralichthys lethostigma*. Doctoral Dissertation of Ocean University of China. 2010, 1-181 [史宝. 牙鲆繁殖内分泌分子机理研究. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2010, 1-181]

泌过程(何峰等, 2011)。在半滑舌鲷研究中发现, *P450c17-I* 主要在性腺内表达, *P450c17-II* 主要在性腺、头肾、脑中表达; 而在半滑舌鲷卵巢不同发育阶段, 卵巢及脑中 *P450c17-I* 和 *P450c17-II* 基因表达变化趋势与卵巢发育正相关(Chen *et al*, 2009、2013)。

2.3.2 雌激素受体(ER)和雄激素受体(AR) 各包含 2 种亚型基因。雌激素受体包括 *ER α* 和 *ER β* 2 种亚型(Coumaillieu *et al*, 2015), 雄激素受体有 *AR α* 和 *AR β* 2 种存在亚型(Schulz *et al*, 2010)。雌、雄激素受体必须结合雌、雄激素, 从而实现对 HPG 轴的调控和反馈调节功能(Melo *et al*, 2015)。

在牙鲆雌激素受体 β 基因(*ER β*)中发现 2 个单核苷酸多态性位点(SNP), 研究表明, SNP1 与雌性牙鲆性腺指数相关, SNP2 与雌性牙鲆的雌二醇水平和性腺指数相关。在 SNP2 位点, *AB* 基因型个体比 *AA* 基因型个体具有较高的雌激素水平和性腺指数(Shi *et al*, 2009a)。*FOXL2* 基因具有参与卵巢发育、滤泡细胞分化和维持卵巢生理功能的作用。对牙鲆 *FOXL2* 基因突变位点 SNP1 对牙鲆性腺指数效应均达到显著水平(Shi *et al*, 2009b)。牙鲆卵巢和精巢转录组数据注释结果表明, 雌激素通过雌激素受体 *ER* 基因信号通路参与牙鲆性别决定和性腺发育(Fan *et al*, 2014)。半滑舌鲷雄激素受体 *AR* 基因组织表达分析表明, *AR* 基因在半滑舌鲷的性腺、肝和脑等 11 种组织中均有表达, 表明其广泛参与调控雄激素生理功能(温海深等, 2009)。

2.3.3 促滤泡激素受体(FSHR)和促黄体激素受体(LHR) *FSHR* 和 *LHR* 介导相应促滤泡激素和促黄体激素, 通过激活 cAMP 等信号通路, 参与生殖调控。*FSHR* 主要在卵巢的颗粒细胞层和精巢的谢尔托里氏细胞中表达, 参与配子发育(Themmen *et al*, 2000; Cahoreau *et al*, 2015)。*LHR* 主要定位在成熟的卵母细胞中的滤泡细胞和颗粒细胞内, 调控孕激素介导的生殖细胞成熟(Andersson *et al*, 2013)。

半滑舌鲷促滤泡激素受体 *FSHR* 基因组织表达广泛, 并在卵巢和精巢中大量表达; 从繁殖周期来看, 卵巢各发育期中 *FSHR* mRNA 逐渐升高, 在产卵成熟期时表达最高, 表明其与卵母细胞的成熟能力和排卵

有关(陈晓燕等, 2010)。大菱鲆促黄体激素受体 *LHR* 基因组织表达也较广泛, 以卵巢中的表达最高, 表明 *LHR* 基因促进了大菱鲆卵巢的发育和排卵行为(贾玉东等, 2014)。

2.3.4 膜孕激素受体家族(mPRs)基因 *mPRs* 主要作用是介导孕激素在繁殖周期中调控配子发育, 膜孕激素受体结合孕激素进而激活成熟促进因子(MPF)促使卵母细胞成熟。膜孕激素受体在脑中还可介导 GnRH 生殖信号的产生, 参与生殖轴的调控。另外, 可诱导精子顶体反应, 促进精子活力(Nagahama *et al*, 2008)。近年来研究发现, 膜孕激素受体存在 *mPR α* 、*mPR β* 、*mPR γ* 3 种亚型, 在已研究的近 10 种鱼类中, *mPR α* 基因在多种鱼类中获得, 而获得 *mPR β* 、*mPR γ* 基因的鱼种较少(Kazeto *et al*, 2005; Uno *et al*, 2012; 柳学周等, 2015; 史宝, 2010¹⁾)。

对鲆鲽类膜孕激素受体研究中, 获得了牙鲆和半滑舌鲷 *mPR α* 基因, 未发现 *mPR β* 、*mPR γ* 基因。牙鲆和半滑舌鲷 *mPR α* 基因在脑和卵巢中大量表达, 垂体组织表达也较高; 表明其通过中枢神经作用于性腺, 促进卵巢发育。在不同性腺发育期, *mPR α* 基因在脑、性腺、垂体组织中的表达随着性腺发育而增高, 在成熟期的 V 期时达到高值, 证实其通过 HPG 轴的协同作用介导孕激素推动卵巢发育进程(史宝等, 2013; 李晓晓, 2013²⁾)。

最近, 在牙鲆和半滑舌鲷中发现了一种新型膜孕激素受体基因(*mPRL*), 该基因结构与 *mPR α* 、*mPR β* 、*mPR γ* 3 种亚型不同, 跨膜区域和蛋白结合位点均有差异, 与其他膜孕激素受体家族基因相似度也存在较大区别, 并且不在一个进化分支。研究发现, *mPRL* 基因与 *mPR α* 基因不同, 其在卵巢的表达远远高于在脑、垂体、肝脏等组织中的表达, 预示其主要围绕性腺发挥其生理功能。在不同发育阶段的卵母细胞中, *mPRL* 基因表达水平从 II 时相卵母细胞到 V 时相卵母细胞逐渐升高; 在繁殖周期的卵巢组织中, *mPRL* 基因的表达水平从性腺发育 II 期到 V 期也是逐渐升高, 与不同发育阶段血清中孕激素和促黄体激素变化趋势相吻合, 由此可见, *mPRL* 基因在半滑舌鲷卵母细胞成熟过程中具有重要的生理功能, 与 *LH β* 基因协同作

1) Shi B. Study on the molecular mechanisms of reproductive endocrinology in *Paralichthys olivaceus* and *Paralichthys lethostigma*. Doctoral Dissertation of Ocean University of China. 2010, 1-181 [史宝. 牙鲆繁殖内分泌分子机理研究. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2010, 1-181]

2) Li XX. Study on the physiological function of membrane progestin receptor in the reproductive cycle of flatfish. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2013 [李晓晓. 膜孕激素受体在鲆鲽类繁殖周期中的生理功能研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2013]

用促进卵母细胞成熟(柳学周等, 2015; Shi *et al.*, 2016)。

2.3.5 类胰岛素生长因子(IGFs) IGFs 是鱼类生长发育的重要功能基因, 最近, 已有研究证实了 IGFs 在鱼类生殖调控中也发挥重要作用。IGFs mRNA 和蛋白在硬骨鱼类的精原细胞、精母细胞、支持细胞及间质细胞中均有发现, 表明 IGFs 参与了性腺的发育调节(Carusio *et al.*, 2011)。

在星突江鲟(*Platichthys stellatus*)克隆了生长相关的 IGF-I 和 IGF-II 基因, 发现这 2 个基因在不同发育期的卵巢中表达水平随卵巢发育过程而逐渐升高, 在 V 期和 VI 期时显著表达, 与血浆中睾酮(T)、雌二醇(E₂)水平随卵巢发育逐渐升高的现象相一致, 认为 IGF-I 和 IGF-II 可能通过自分泌和旁分泌等途径参与到卵巢发育调控过程(臧坤, 2014)¹⁾。

3 鲟鳇类生殖生理学研究进展

采用 HE、Jafri、HA、Mallory 和 PAS 染色法, 结合免疫组织化学方法研究了石鲟(*Platichthys bicoloratus*)和条斑星鲟(*Verasper moseri*)垂体组织结构, 其脑垂体由神经垂体和腺垂体两部分组成, 鉴别和定位神经垂体为一束神经纤维, 中间夹杂 1 种垂体细胞和 1 种胶质; 前腺垂体内含有催乳激素分泌细胞、促肾上腺皮质激素分泌细胞和促甲状腺激素分泌细胞; 中腺垂体存有生长激素分泌细胞、促甲状腺激素分泌细胞和促性腺激素分泌细胞; 后腺垂体内含有 1 种促黑色素激素分泌细胞(温海深等, 2007; 倪娜等, 2012)。

半滑舌鲟和圆斑星鲟性腺发育规律和特征研究表明, 卵巢发育经历 6 个时期, 相应的卵母细胞也分为 6 个时相; III 期、IV 期为性腺快速发育期, V 期为产卵期, 产卵后进入 VI 期并恢复到 II 期; 性腺指数(GSI)、肝脏指数(HSI)和肥满度(CF)在亲鱼的年周期发育中呈现规律性的变化, 与卵巢发育密切关联; 在 V 期时, GSI 达到最高峰, 产卵后, GSI 显著下降, 此时, HSI 显著升高至峰值, 为下次性腺发育储备能量(柳学周等, 2009; 陈彩芳等, 2010)。

半滑舌鲟、圆斑星鲟、条斑星鲟和石鲟精巢属于小叶型, 生殖细胞经历了精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子 5 个发育阶段。其中, 半滑舌鲟精巢前端有贮精囊; 半滑舌鲟、条斑星鲟、星突江鲟精子主要包括头部、中段和尾部 3 部分, 属

于简单的原始类型, 其中, 半滑舌鲟精子头部为杯状, U 型细胞核, 条斑星鲟、星突江鲟精子头部为圆形(吴莹莹等, 2007; 温海深等, 2010; 徐永江等, 2010、2012; 李春广等, 2012)。

在人工养殖条件下, 半滑舌鲟和圆斑星鲟雌性亲鱼血浆性类固醇激素年周期变化及其与卵巢发育成熟及温光调控的关系表明, 亲鱼血浆中 E₂ 在产卵期达峰值; 排卵结束后, E₂ 表达水平降低。血浆中 T 含量在产卵期间保持高表达水平。血浆 E₂ 水平与 GSI 和 HSI 值的变化都呈现显著的正相关关系。水温 and 光周期对卵巢发育具有明显的影响, 并显著影响 E₂ 的表达, GSI 与水温存在显著的负相关关系, HSI 与水温呈显著负相关, 而 CF 与光周期呈现显著的负相关(徐永江等, 2011a、b)。而在人工养殖条件下, 条斑星鲟雄性亲鱼血浆中 T 水平在繁殖季节达到峰值, 其后显著下降并在其后的月份保持较低水平(李春广等, 2012)。

注射外源激素鲑鱼(*Oncorhynchus* sp.)促性腺激素释放激素类似物和人绒毛膜促性腺激素, 可有效提高条斑星鲟雄鱼精子质量(Melo *et al.*, 2015)。外源激素诱导后, 条斑星鲟精子质量明显提升, 精液黏稠度大为降低, 精液流动性和液化能力增强, 精子激活率和快速激活率显著提高, 快速活动时间和精子寿命延长。同时, 血浆中 T 和 E₂ 表达水平明显升高, 在 96 h 时达到峰值。注射外源激素鲑鱼促性腺激素释放激素(GnRH)对 2 龄圆斑星鲟雌鱼卵巢发育具有一定的诱导效果。注射 GnRH 后, 有约 30% 实验鱼的卵巢部位可见相对明显的隆起, 其卵母细胞可达到 V 时相早期, 表明 GnRH 诱导了卵母细胞发育成熟过程(徐永江等, 2012、2013)。

野生褐牙鲟(*Paralichthys olivaceus*)亲鱼在性腺发育不同阶段卵巢的脂肪和脂肪酸组成的分析结果表明, 多不饱和脂肪酸 PUFA 与牙鲟亲鱼的性腺发育关系较为密切, 多不饱和脂肪酸为牙鲟亲鱼正常的繁殖所必需, 在亲鱼培育过程中, 需要补充含有适量高不饱和脂肪酸(王际英等, 2011)。

4 讨论与展望

4.1 新型生殖功能基因挖掘

鱼类生殖是多个基因综合调控的过程, 目前, 已

1) Zang K. Study on physiological function and *in vitro* recombinant expression of growth hormone and insulin-like growth factors from *Platichthys stellatus*. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2014 [臧坤. 星突江鲟生长激素和胰岛素样生长因子的生理功能及体外重组研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2014]

研究有限的生殖相关功能基因尚不能全面、精准地揭示生殖过程的调控机制。因此,新的生殖功能基因的发掘逐步受到关注。在高等脊椎动物中,报道的大量生殖调控基因,有许多仍没有在鱼类中鉴别到。近年来,半滑舌鳎、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)等全基因组相继公布,为功能基因的挖掘提供了便利条件。伴随着研究手段和方法的更新,为筛选新的鱼类生殖过程关键作用基因、解析其调控通路带来了新的突破口。

4.2 生殖功能基因与环境的互作关系

鱼类生殖是由外界温光等环境因子和内源因子共同调控下完成的。目前,对于鲆鲽类生殖内分泌研究已获得了一批相关功能基因,了解了其作用机制,但是这些功能基因与光照、水温、营养等环境之间是何种相互作用关系尚不明了。因此,探明各生殖相关功能基因在不同环境条件下的作用原理,阐明环境因子对功能基因的调控途径,摸清环境调控生殖过程中各种繁殖基因的表达变化,构建不同环境条件调控功能基因表达和性腺发育互作关系,是今后建立生殖精准调控技术的重要研究内容。

4.3 基因调控网络

国际上,基于生物信息学、高通量测序技术、功能基因组学、蛋白质组学等现代生物技术的生物性状的基因网络调控或组学调控机制研究成为当前的研究热点,并不断改变着人们对鱼类 HPG 轴的认识。已有研究证明,鱼类生殖过程受到众多基因的作用(Ma *et al.*, 2015),同时,某些基因对多个不同性状都具有调控作用,说明鱼类的生殖涉及到多基因、多通路的分子功能网络的相互作用,如生长、体色关键基因 *GH*、*IGFs*、*POMC* 等都参与了鱼类生殖细胞发育和成熟的调控过程,并通过自分泌或旁分泌等多层次通路起作用,想通过单一基因的研究而形成对生殖过程全局调控机制的认识是非常困难的(Xu *et al.*, 2016; 刘芝亮, 2013¹⁾; 顾源, 2011²⁾)。因此,针对多基因生殖性状相关的“分子群”探索生殖过程的组合式网络调控通路,通过生物信息学和大数据分析,进一步揭示众多功能基因在生殖调控中的互作机制以及基因间的互作网

络关系或网络系统应成为今后重要研究方向。

4.4 功能基因产品的开发

目前,有关鱼类功能基因作用机制和调控技术研究不断深入,对于生殖相关重要功能基因进行体外重组技术研究已逐渐开展,采用原核、真核表达系统获得基因重组蛋白产物,通过规模化发酵技术,进行重组蛋白产物的大规模制备,并采用在体和离体实验进行功能基因产品的生物学活性分析及功能验证;同时,分析不同基因产物组合配伍效果及其在 HPG 轴不同层次上的促熟催产效果,从而探索出高效鱼类催产剂的制备方法,并加以推广应用,保障鱼类的健康繁殖,建立精准的繁育体系,这也是下一步研究的重要课题。

参 考 文 献

- Andersson E, Schulz RW, Male R, *et al.* Pituitary gonadotropin and ovarian gonadotropin receptor transcript levels: Seasonal and photoperiod-induced changes in the reproductive physiology of female Atlantic salmon (*Salmo salar*). *General and Comparative Endocrinology*, 2013, 191(9): 247–258
- Cahoreau C, Klett D, Combarnous Y, *et al.* Structure–function relationships of glycoprotein hormones and their subunits' ancestors. *Frontiers Endocrinology* 2015, 6: 26
- Caruso MA, Sheridan MA. New insights into the signaling system and function of insulin in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 2011, 173(2): 227–247
- Chen CF, Wen HS, Chen XY, *et al.* Studies on ovarian development and spawn type of cultured half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*. *Marine Sciences*, 2010, 34(8): 29–34 [陈彩芳, 温海深, 陈晓燕, 等. 人工养殖半滑舌鳎卵巢发育及其产卵类型研究. *海洋科学*, 2010, 34(8): 29–34]
- Chen CF, Wen HS, He F, *et al.* Molecular mechanism of P450c17-II (17, 20-lyase) regulating gonad development in female *Cynoglossus semilaevis*. *Aquaculture Research*, 2013, 44(9): 1459–1469
- Chen CF, Wen HS, Wang ZP, *et al.* Cloning and expression of P450c17-I (17 α -hydroxylase/17, 20-lyase) in brain and ovary during gonad development in *Cynoglossus semilaevis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2010, 36(4): 1001–1012
- Chen XY, Wen HS, He F, *et al.* Cloning of FSHR and expression

1) Liu ZL. Studies on key genes along grow axis from *Cynoglossus semilaevis* Günther: *in vitro* recombinant expression and role in growth and reproduction regulation. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2013 [刘芝亮. 半滑舌鳎生长轴关键基因的重组表达及对生长与生殖的调控机制研究. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2013]

2) Gu Y. Expression, antibody production of IGF-3 and its possible receptor characterization in Nile tilapia. Master's Thesis of Southwest University, 2011 [顾源. 尼罗罗非鱼 IGF-3 蛋白表达、抗体制备及其可能受体的初步研究. 西南大学硕士研究生学位论文, 2011]

- analysis during the reproductive cycle in female *Cynoglossus semilaevis* Günther. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(9): 1309–1318 [陈晓燕, 温海深, 何峰, 等. 半滑舌鳎促滤泡激素受体基因克隆及其在雌鱼生殖周期中的表达. 水产学报, 2010, 34(9): 1309–1318]
- Coumilleau P, Pellegrini E, Adrio F, *et al.* Aromatase, estrogen receptors and brain development in fish and amphibians. Biochimica et Biophysica Acta, 2015, 1849(2): 152–162
- Fan Z, You F, Wang L, *et al.* Gonadal transcriptome analysis of male and female olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Biomed Research International, 2014, (2): 1153–1166
- Fang BH, Sun XQ, Qu LY, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of two types of GnRH gene in Japanese flounder(*Paralichthys olivaceus*). Chinese High Technology Letters, 2006, 16(5): 529–533 [房保海, 孙修勤, 曲凌云, 等. 牙鲆促性腺激素释放激素基因 cGnRH-II 和 sbGnRH 的克隆与表达特征分析. 高技术通讯, 2006, 16(5): 529–533]
- Felip A, Zanuy S, Pineda R, *et al.* Evidence for two distinct Kiss genes in non-placental vertebrates that encode kisspeptins with different gonadotropin-releasing activities in fish and mammals. Molecular Cellular Endocrinology, 2009, 312(1–2): 61–71
- He F, Ma RQ, Zhao X, *et al.* Polymorphisms in “CpG” island region of *CYP19A* gene promoter associated with reproductive performance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Periodical of Ocean University of China, 2011, 41(9): 19–24 [何峰, 马瑞芹, 赵旭, 等. 雌牙鲆 *CYP19A* 基因启动子“CpG”岛区的单核苷酸多态性及与繁殖性能的关联分析. 中国海洋大学学报, 2011, 41(9): 19–24]
- Jia YD, Meng Z, Niu HX, *et al.* Cloning and bioinformatics analysis of *LHR* gene in *Scophthalmus maximus*. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(3): 305–315 [贾玉东, 孟振, 牛化欣, 等. 大菱鲆促黄体激素受体基因的克隆及其生物信息学分析. 水产学报, 2014, 38(3): 305–315]
- Jin GX, Wen HS, Liu XZ, *et al.* Cloning of *CYP19a* gene and expression analysis during the reproductive cycle in males of *Verasper moser*. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(2): 194–203 [金国雄, 温海深, 柳学周, 等. 条斑星鲽 *CYP19a* 基因克隆及其在雄鱼生殖周期中的表达. 水产学报, 2010, 34(2): 194–203]
- Kavanaugh SI, Nozaki M, Sower SA. Origins of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in vertebrates: Identification of a novel GnRH in a basal vertebrate, the sea lamprey. Endocrinology, 2008, 149(8): 3860–3869
- Kazeto Y, Goto-Kazeto R, Trant JM. Membrane-bound progesterin receptors in channel catfish and zebrafish ovary: Changes in gene expression associated with the reproductive cycles and hormonal reagents. General and Comparative Endocrinology, 2005, 142(1–2): 204–211
- Li CG, Liu XZ, Xu Y, *et al.* Annual maturation of testis correlated with sex steroids level in male barfin flounder broodstocks. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33(3): 35–41 [李春广, 柳学周, 徐永江, 等. 条斑星鲽精巢年周期发育规律和血液性类固醇激素含量变化. 渔业科学进展, 2012, 33(3): 35–41]
- Li XX, Liu XZ, Shi B, *et al.* Cloning and mRNA expression pattern of common glycoprotein α subunit of GTH in tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(5): 23–30 [李晓晓, 柳学周, 史宝, 等. 半滑舌鳎促性腺激素 α 亚基 cDNA 的克隆及组织表达特征. 渔业科学进展, 2013, 34(5): 23–30]
- Lin HR. Fish Physiology. Guangzhou: Sun Yat-Sen University Press, 2011. [林浩然. 鱼类生理学. 广州: 中山大学出版社, 2011]
- Liu XZ, Shi B, Li XX, *et al.* Molecular characterization of the novel membrane progesterin receptor gene and its role during ovarian development in the half smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* Günther. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(4): 608–619 [柳学周, 史宝, 李晓晓, 等. 半滑舌鳎新型膜孕激素受体基因分子特征及其在卵巢发育过程的作用. 中国水产科学, 2015, 22(4): 608–619]
- Liu XZ, Shi B, Wang SS, *et al.* Full length cDNA cloning and expression of luteinizing hormone (LH) and which serum concentration was measured in half smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis* Günther. Engineering Sciences, 2014a, 16(9): 50–60 [柳学周, 史宝, 王珊珊, 等. 半滑舌鳎促黄体激素基因克隆和表达分析及其血清浓度测定. 中国工程科学, 2014a, 16(9): 50–60]
- Liu XZ, Xu YJ, Liao MJ, *et al.* Cloning and expression characteristics of gonadotropin releasing hormone genes in spotted halibut *Verasper variegatus*. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(1): 12–24 [柳学周, 徐永江, 廖梅杰, 等. 圆斑星鲽促性腺激素释放激素基因克隆及表达特性. 中国水产科学, 2013, 20(1): 12–24]
- Liu XZ, XU YJ, Liu NZ, *et al.* Study on histological and morphometric characters of gonad development of *Cynoglossus semilaevis* Günther. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(6): 25–35 [柳学周, 徐永江, 刘乃真, 等. 半滑舌鳎卵巢发育的组织学和形态数量特征研究. 渔业科学进展, 2009, 30(6): 25–35]
- Liu XZ, Zang K, Xu YJ, *et al.* Molecular cloning and differential expression of LH β subunit during the ovarian maturation cycle of *Paralichthys lethostigma*. Progress in Fishery Sciences, 2014b, 35(4): 22–31 [柳学周, 臧坤, 徐永江, 等. 漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*) LH β 基因克隆及其在卵巢不同发育期的表达特征. 渔业科学进展, 2014b, 35(4): 22–31]
- Liu XZ, Zhuang ZM. Reproductive biology and culture technology of tongue sole. Beijing: China Agricultural Press, 2014 [柳学周, 庄志猛. 半滑舌鳎繁育理论与养殖技术. 北京: 中国农业出版社, 2014]
- Ma Y, Juntti SA, Hu CK, *et al.* Electrical synapses connect a network of gonadotropin releasing hormone neurons in a cichlid fish. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(12): 3805–3810
- Melo MC, Dijk P, Andersson E, *et al.* Androgens directly stimulate spermatogonial differentiation in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). General and Comparative Endocrinology, 2015, 211: 52–61
- Nagahama Y, Yamashita M. Regulation of oocyte maturation in fish. Development, Growth and Differentiation, 2008, 50:

- 195–219
- Ni N, Liu XZ, Xu YJ, *et al.* Histological studies on the pituitary gland of female barfin flounder *Verasper moseri*. *Journal of Tropical Oceanography*, 2012, 31(6): 97–102 [倪娜, 柳学周, 徐永江, 等. 雌性条斑星鲈脑垂体组织学观察. *热带海洋学报*, 2012, 31(6): 97–102]
- Ni N, Liu XZ, Xu YJ, *et al.* The study of gonadal development and steroid hormone annual change in barfin flounder *Verasper moseri*. *Progress in Fishery Sciences*, 2011, 32(3): 16–25 [倪娜, 柳学周, 徐永江, 等. 条斑星鲈卵巢发育规律和性类固醇激素周年变化研究. *渔业科学进展*, 2011, 32(3): 16–25]
- Ogawa S, Ng KW, Ramadasan PN, *et al.* Habenular Kiss1 neurons modulate the serotonergic system in the brain of zebrafish. *Endocrinology*, 2012, 153(5): 2398–2407
- Ogawa S, Parhar IS. 2014. Structural and functional divergence of gonadotropin-inhibitory hormone from jawless fish to mammals. *Frontiers Endocrinology*, 2014, 5(5): 177
- Schulz RW, de França LR, Lareyre J, *et al.* Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 165: 390–411
- Shi B, Li XX, Liu XZ, *et al.* Molecular cloning and tissue expression analysis of membrane progesterin receptor alpha gene (mPR α) from half smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(3): 61–67 [史宝, 李晓晓, 柳学周, 等. 半滑舌鲷膜孕激素受体基因克隆与组织表达分析. *渔业科学进展*, 2013, 34(3): 61–67]
- Shi B, Liu XZ, Thomas P, *et al.* Identification and characterization of a progesterin and adipoQ receptor (PAQR) structurally related to Paqr7 in the ovary of *Cynoglossus semilaevis* and its potential role in regulating oocyte maturation. *General and Comparative Endocrinology*, 2016, 237: 109–120
- Shi B, Wen HS, He F, *et al.* Single nucleotide polymorphisms within the estrogen receptor beta gene are linked with reproductive indices in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009a, 154(1): 62–67
- Shi B, Wen HS, He F, *et al.* Association of reproductive performance with SNPs of *FOXL2* gene by SSCP in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2009b, 153(1): 1–7
- Shi QF. An outline of advances on reproductive physiology of fish in china. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 1992, 23(3): 325–333 [施琰芳. 我国鱼类生殖生理学研究概况. *海洋与湖沼*, 1992, 23(3): 325–333]
- Themmen APN, Huhtaniemi IT. Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: Elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function. *Endocrine Reviews*, 2000, 21(5): 551–583
- Tokumoto T, Tokumoto M, Oshima T, *et al.* Characterization of multiple membrane progesterin receptor (mPR) subtypes from the goldfish ovary and their roles in the induction of oocyte maturation. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, 177(1): 168–176
- Uno T, Ishizuka M, Itakura T. Cytochrome P450 (*CYP*) in fish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2012, 34(1): 1–13
- Wang B, Liu XZ, Xu YJ, *et al.* Progress of research on gonadotropin-inhibitory hormone and its receptors in fish. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(2): 278–287 [王滨, 柳学周, 徐永江, 等. 鱼类促性腺激素抑制激素及其受体的研究进展. *水产学报*, 2016, 40(2): 278–287]
- Wang JY, Miao SY, Li BS, *et al.* A comparative study on lipid and fatty acid compositions of wild *Paralichthys olivaceus* broodstocks during different ovary development stages. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(2): 238–243 [王际英, 苗淑彦, 李宝山, 等. 野生褐牙鲆亲鱼不同卵巢发育期脂肪和脂肪酸组成的分析与比较. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(2): 238–243]
- Wang SS, Liu XZ, Shi B, *et al.* Full length cDNA cloning and tissue expression analysis of follicle-stimulating hormone (FSH) from half smooth tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(6): 15–23 [王珊珊, 柳学周, 史宝, 等. 半滑舌鲷促滤泡激素基因全长 cDNA 的克隆与组织表达分析. *渔业科学进展*, 2013, 34(6): 15–23]
- Wen HS, Gao L. Studies on histological physiology of the pituitary in stone flounder (*Kareius bicoloratus*). *Marine Fisheries Research*, 2007, 28(5): 1–6 [温海深, 高玲. 石鲈脑垂体组织生理学研究. *海洋水产研究*, 2007, 28(5): 1–6]
- Wen HS, Mu XJ, Zhang JR, *et al.* Studies on morphology and structure as well as endocrine function of seminal vesicle in the farmed male *Cynoglossus semilaevis*. *Periodical of Ocean University of China*, 2010, 40(9): 33–38 [温海深, 牟幸江, 张葭人, 等. 雄性半滑舌鲷贮精囊形态结构与内分泌功能初步研究. *中国海洋大学学报*, 2010, 40(9): 33–38]
- Wen HS, Zhang JR, Chen CF, *et al.* Cloning and expression analysis of male half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) androgen receptor gene. *Periodical of Ocean University of China*, 2009, 39(3): 387–391 [温海深, 张葭人, 陈彩芳, 等. 雄性半滑舌鲷雄激素受体基因的克隆与表达分析. *中国海洋大学学报*, 2009, 39(3): 387–391]
- Wu YY, Liu XZ, Wang QY, *et al.* Ultrastructure of the spermatozoon of the teleost, *Cynoglossus semilaevis*. *Acta Oceanologica Sinica*, 2007, 29(6): 167–171 [吴莹莹, 柳学周, 王清印, 等. 半滑舌鲷精子的超微结构. *海洋学报*, 2007, 29(6): 167–171]
- Xiong ST, Jing J, Wu J, *et al.* Characterization and sexual dimorphic expression of Cytochrome P450 genes in the hypothalamic-pituitary-gonad axis of yellow catfish. *General and Comparative Endocrinology*, 2015, 216: 90–97
- Xu YJ, Liu XZ, Liu XU, *et al.* Study on spermatozoon ultrastructure of barfin flounder *Verasper moseri*. *Progress in Fishery Sciences*, 2012, 31(5): 8–14 [徐永江, 柳学周, 刘新富, 等. 条斑星鲈精子超微结构研究. *渔业科学进展*, 2010, 31(5): 8–14]
- Xu YJ, Liu XZ, Liu ZG, *et al.* Histological and morphometric studies on the annual gonadal maturation cycle of spotted halibut *Verasper variegatus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2011a, 32(3): 7–15 [徐永江, 柳学周, 刘君刚, 等. 圆斑星鲈卵巢发育的组织学和数量形态特征研究. *渔业科学进展*, 2011a, 32(3): 7–15]
- Xu YJ, Liu XZ, Wang QY, *et al.* Annual gonadal maturation cycle of captive spotted halibut, *Verasper variegatus*:

- correlation with serum sex steroids and photothermal regulation. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011b, 18(4): 836–846 [徐永江, 柳学周, 王清印, 等. 养殖圆斑星鲽血浆性类固醇激素表达与卵巢发育及温光调控的关系. *中国水产科学*, 2011b, 18(4): 836–846]
- Xu YJ, Liu XZ, Wang QY, *et al.* Relationships between serum sex steroids levels and gonadal development and photothermal regulation during the annual maturation of captive *Cynoglossus semilaevis* Günther. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2011c, 42(1): 67–74 [徐永江, 柳学周, 王清印, 等. 半滑舌鲽(*Cynoglossus semilaevis*)血浆性类固醇激素表达与卵巢发育及温光调控的关系研究. *海洋与湖沼*, 2011c, 42(1): 67–74]
- Xu YJ, Liu XZ, Wang YY, *et al.* Effects of exogenous hormones induction on the sperm quality of barfin flounder *Verasper moseri*. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2012, 43(6): 1170–1176 [徐永江, 柳学周, 王妍妍, 等. 外源激素诱导对条斑星鲽(*Verasper moseri*)精子质量的影响. *海洋与湖沼*, 2012, 43(6): 1170–1176]
- Xu YJ, Liu XZ, Wang YY, *et al.* Effects of exogenous hormones on the ovarian development of sexually immature spotted halibut *Verasper variegatus*. *Advances in Marine Science*, 2013, 31(2): 247–255 [徐永江, 柳学周, 王妍妍, 等. 外源激素对二龄圆斑星鲽卵巢发育诱导效果的初步研究. *海洋科学进展*, 2013, 31(2): 247–255]
- Xu YJ, Wang B, Liu XZ, *et al.* Evidences for involvement of growth hormone and insulin-like growth factor in ovarian development of starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 2016, DOI: 10.1007/s10695-016-0307-2
- Yang H, Chen H, Zhao H, *et al.* Molecular cloning of the insulin-like growth factor 3 and difference in the expression of IGF genes in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 186: 68–75
- Zhang Y, Li SS, Liu Y, *et al.* Current research and future direction of reproductive related gene in fish farming. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 17(2): 363–368 [张勇, 李水生, 刘云, 等. 养殖鱼类生殖内分泌调控相关功能基因的研究和应用. *中国水产科学*, 2010, 17(2): 363–368]
- Zhou XS, Yi QL, Zhong QW, *et al.* Molecular cloning, tissue distribution, and ontogeny of gonadotropin-releasing hormone III gene (GnRH-III) in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, 163(1): 59–64
- Zhu Y, Rice CD, Pang F, *et al.* Cloning, expression, and characterization of a membrane progesterin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 2003, 100(5): 2231–2236

(编辑 陈严)

Research Progress of Reproductive Physiology of Flatfish in China

LIU Xuezhou^{1,2①}, SHI Bao^{1,2}, XU Yongjiang^{1,2}, WANG Bin^{1,2}, LIU Xinfu^{1,2}, MENG Zhen^{1,2}

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071)

Abstract The key to sustain the development of marine finfish aquaculture is to improve the understanding of reproductive physiology, which will pave the way for the successful breeding programs and larviculture. Recently, in China, northern coastal research institutes have made significant advances in the field of reproductive physiology in flatfish with focus on the hypothalamus-pituitary-gonadal axis (HPG axis), including histological characteristics, gonadal development, plasma sex steroids, and reproductive endocrine and regulatory mechanisms. This paper summarized the mechanisms of important functional genes in the HPG axis using *Cynoglossus semilaevis* and *Paralichthys olivaceus* as examples. Furthermore, we provided here a synoptic contents of some of these important advances related to the HPG axis, including the histology and endocrinology of secretory tissue cells, physiological characters of gonads, environmental factors, hormone-induced spawning, temperature, photoperiod and sex steroid levels, with emphasis on *C. semilaevis*, *Verasper moseri* and *Kareius bicoloratus*. This paper aims to provide the guidance for new breeding programs and larviculture in flatfish.

Key words Flatfish; Reproductive endocrinology; Function gene; Sex steroids; Reproductive regulation

① Corresponding author: LIU Xuezhou, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn