

文章编号: 1674-5566(2010)02-0162-05

斑鳊卵巢发育与血清蛋白磷 含量变化关系的初步分析

杨武¹, 赵金良¹, 邓燕飞¹, 储军², 黄爱平²

(¹上海海洋大学农业部水产种质资源与利用重点开放实验室, 上海 201306

²泰兴市天禄珍品水产有限公司, 江苏 泰州 225434)

摘要:斑鳊 (*Siniperca scherzeri*) 是近年来新开发的名贵淡水养殖鱼类之一, 但规模化繁育技术尚未完全解决。为进一步了解斑鳊卵巢成熟发育的规律, 利用组织切片技术观察了3月中旬—5月中旬长江斑鳊卵巢的成熟发育过程, 并用生化法测定了血清蛋白磷 (SPP) 的含量, 结果表明: 这一时期, 斑鳊卵母细胞正经历由Ⅲ时相 (3月中旬—4月上旬) 向Ⅳ时相 (4月中旬—4月下旬)、Ⅴ时相 (5月中旬) 的渐近生长, 并发现卵母细胞生长不同步的现象; 与此同时, 血清蛋白磷含量由 0.12 mg/mL 逐步上升至 0.62 mg/mL。斑鳊血清蛋白磷含量的变化趋势与卵巢的成熟发育过程基本一致, 并有着密切的生理相关, 血清蛋白磷含量可以作为卵巢发育阶段和成熟程度判定的重要生化指标。

关键词:斑鳊; 卵巢发育; 血清蛋白磷含量

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

A preliminary study on the relationship between ovary development and the content changes of serum phosphoprotein of *Siniperca scherzeri*

YANG Wu¹, ZHAO Jin-liang¹, DENG Yan-fei¹, CHU Jun², HUANG Ai-ping²

(¹ Key laboratory of Aquatic Genetic Resources and Utilization Ministry of Agriculture

Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

² Tianlu Precious Aquatic Products Co. Ltd. Taizhou 225434, China)

Abstract: *Siniperca scherzeri* steindachner is one kind of freshwater species which is exploited and widely cultured recently, however propagation at large scale is still on the way. To further understand the general characteristics of ovary maturation development, ovary development stages and the content of serum phosphoprotein (SPP) of *S. scherzeri* collected from Changjiang River from mid-March to mid-May were analyzed by histological and biochemical methods respectively. During this periods, primary oocytes of *S. scherzeri* have grown from the phase III (mid-March to early April) to phase IV (mid-April to late-April) and phase V (mid-May), insynchronism of oocytes growth was also observed. Meantime, SPP content of *S. scherzeri* increased gradually from 0.12 mg/mL to 0.62 mg/mL. These showed the change trend of SPP

收稿日期: 2009-09-20

基金项目: 江苏省农业科技攻关项目 (BE2007329); 上海市教委项目 (05KZ02); 上海市重点学科项目 (Y1101)

作者简介: 杨武 (1977-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物种质资源。E-mail: sh_yangwu@163.com

通讯作者: 赵金良, jlzhaod@shou.edu.cn

content of S_{cherzeri} was consistent with ovary development progress and associated with it in physiology; thus the SPP content could be used a biochemical indicator to reflect the ovary development status and its maturation.

Key words: *Siniperca scherzeri*; ovary development; serum phosphoprotein content

斑鳊 (*Siniperca scherzeri steindachner*) 是国内新开发的名贵淡水养殖鱼类之一^[1]。近年来,斑鳊人工繁殖已初见报道^[2-4],但规模化繁育技术尚不成熟,实现规模化繁育首先要摸清斑鳊卵巢成熟发育规律。卵黄蛋白原积累是卵巢成熟发育的重要标志,卵黄蛋白原由肝细胞合成,经血液运输至卵巢,被卵母细胞吸收后转化为卵黄蛋白^[5-7]。血清中的蛋白结合磷主要来自于卵黄蛋白原,而卵黄蛋白原中的磷含量是相对稳定的,因此,可用血清中蛋白磷 (serum phosphoprotein, SPP) 的含量间接地表示卵黄蛋白原的含量^[8-9]。在开展斑鳊性腺发育周年变化的研究中,通过组织学观察集中研究了 3—5 月卵巢成熟发育的变化,并测定了 SPP 含量,探讨卵巢成熟发育与 SPP 含量变化间关系,为斑鳊繁殖生理学积累基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用野生斑鳊采自长江支流秋浦河 (安徽省池州市境内),采集时间为 2007 年 3 月中旬—5 月中旬,野外采样分为 5 次,每次间隔 10 或 20 天左右 (其中,3 月 28 日采样中雌鱼数目太少而未统计),渔获共计 78 尾,雄性 48 尾,雌性 30 尾。体长范围为 18.5~29 cm,体重范围为 153.2~239.5 g。

1.2 方法

1.2.1 材料处理

用 2 mL 的注射器从鱼尾柄动脉取血 1~2 mL,立即放入 4℃ 冰箱中静置 2~3 h,血液完全凝聚后,3 500 r/min 离心 30 min,吸出上层血清,保存于 -40℃ 备用。实验鱼进行常规生物学测量后,解剖取出卵巢、称重,用 Bouin 氏液固定。

1.2.2 血清蛋白磷含量的生化测定

血清蛋白磷含量用钼酸铵显色法^[10]测定,结果用每毫升血清中含蛋白磷的毫克数 (mg/mL) 表示。

1.2.3 组织学观察

常规石蜡切片,切片厚度 5 μm, H. E 染色,显微拍摄。卵巢分期主要参照 Meïen 的分期标准,以超过 50% 或居最高比例的卵母细胞时相来决定卵巢时期。

2 结果

2.1 斑鳊卵巢的形态和组织学观察

3 月中旬至 4 月上旬,斑鳊卵巢淡黄色,表面血管明显,卵粒轮廓清晰,卵巢体积约占腹腔的 1/2~2/3。3 月中旬卵巢均重 (3.3±0.3) g,4 月上旬增至 (5.4±0.3) g。3 月中旬的卵巢以 III 时相卵母细胞为主,也包含有部分 II、I 时相的卵母细胞。卵母细胞多为卵圆形,直径约为 140~192 μm;核直径约为 48~70 μm,核位居细胞中央,核膜呈波纹状;卵质中沉积有卵黄颗粒,卵质的皮层中可见皮质泡,卵细胞外被一薄层的滤泡膜 (图版 -1)。4 月上旬,仍以 III 时相卵母细胞为主,卵母细胞体积增大,细胞直径 327~447 μm,核径 45~103 μm,细胞质中充满透明的卵黄泡,核仁主要分布在核内边缘,滤泡层加厚 (图版 -2)。

4 月中、下旬,卵巢表面呈橙黄色,血管粗大,卵粒易脱落,体积充满腹腔 2/3 以上。4 月中旬卵巢平均重 (18.5±1.1) g,下旬平均重 (26.4±2.3) g。这一时期以 IV 时相卵母细胞为主,也包含有部分 III、II 和 I 时相的卵母细胞。卵母细胞体积明显增大,4 月中旬的卵母细胞直径 600~745 μm,核径 78~108 μm,卵黄颗粒明显增多,但并未完全充满整个细胞质,皮质颗粒被挤到皮层质膜的内缘 (图版 -3)。4 月下旬的卵母细胞直径约为 722~930 μm,核径 80~151 μm,卵黄颗粒聚集成小块并充满整个细胞质 (图版 -4)。

5 月中旬,卵巢呈金黄色,体积几乎占据整个腹腔。卵巢柔软,轻压鱼体腹侧,可见有成熟的卵粒流出,卵巢均重 (38.1±1.3) g。卵母细胞直径约为 967~1550 μm,细胞核已移动到动物极附近,核膜消失,仅见一团核质,核仁亦不存在,卵黄颗粒聚集成块状并占据整个细胞质,卵细胞

的原生质集中散布于动物极的卵黄中,形成胚盘原基(图版-5)。此时卵巢发育达到V期。

2.2 斑鳊血清磷含量与卵巢发育的关系

3月中旬斑鳊血清蛋白磷(SPP)含量为(0.12±0.01) mg/mL,4月上旬增加至(0.16±0.01) mg/mL;4月中旬SPP含量增幅较大,达到(0.26±0.02) mg/mL,4月下旬持续升高,达到(0.38±0.02) mg/mL;5月中旬SPP的含量增幅加大,达到(0.62±0.06) mg/mL。这些表明,随着繁殖季节的临近,斑鳊SPP含量变化呈上升递增的趋势。而伴随卵巢发育,卵巢重量不断增加,SPP含量与卵巢重的比例整体表现为下降递减的趋势(表1)。

表1 血清蛋白磷的含量变化与卵巢重的关系

Tab. 1 Relationship between the SPP content and ovary weight of *S. scherzeri*

血清磷含量 (mg/mL)	卵巢重 (g)	血清磷/卵巢重	发育时期
0.12±0.01	3.3±0.3	0.036±0.01	III
0.16±0.01	5.4±0.3	0.029±0.02	III
0.26±0.02	18.5±1.1	0.014±0.05	IV
0.38±0.02	26.4±2.3	0.014±0.08	IV
0.62±0.06	38.1±1.3	0.016±0.05	V

卵巢的组织学观察表明,自3月中旬至5月中旬,斑鳊卵巢正经历由III期→IV期→V期的快速发育变化过程。斑鳊血清蛋白磷含量的变化趋势与卵母细胞生长(卵巢成熟发育)过程有着一致性(图1)。

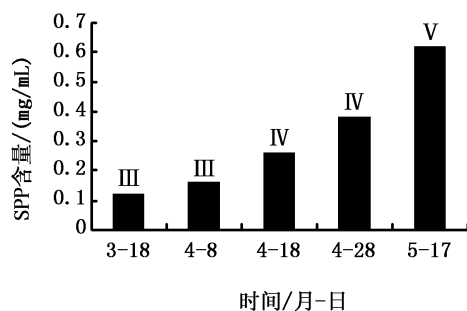


图1 3-5月斑鳊血清蛋白磷(SPP)的含量变化与卵巢成熟发育的关系

Fig. 1 Relationship between the content changes of serum phosphoprotein (SPP) and ovary maturation of *S. scherzeri* from mid-March to mid-May

3 讨论

3.1 斑鳊卵巢的分期发育特征

组织学研究表明,3-5月是斑鳊卵巢成熟发育的主要变化阶段,卵母细胞生长迅速,从III时相进入IV时相和V时相。III时相卵母细胞的胞质内已出现细小卵黄颗粒,核膜皱缩,胞外有薄层滤泡膜;IV时相卵母细胞的卵黄颗粒增大、增多,出现核偏移,滤泡膜增厚;V时相卵母细胞中卵黄颗粒融合成团块状,核移至动物极,核膜溶解,核仁消失。斑鳊卵母细胞的分期、发育特征与同属的鳊(*Siniperca chuatsi*)^[11-14]、大眼鳊(*S. kneri*)^[15]卵母细胞分期发育极为相似。

研究中还发现,在IV期卵巢中,除IV时相卵母细胞占大多数外,还存在少量III、II、I时相的卵母细胞。据曾可为等^[3]调查报道,长江斑鳊有两个繁殖盛产期,分别为5月中旬到6月上旬,以及7月下旬到8月上旬。斑鳊卵巢发育过程中存在的卵母细胞生长非同步性与鳊^[12-14]、大眼鳊^[15]相似,推测斑鳊亦属于分批产卵类型。

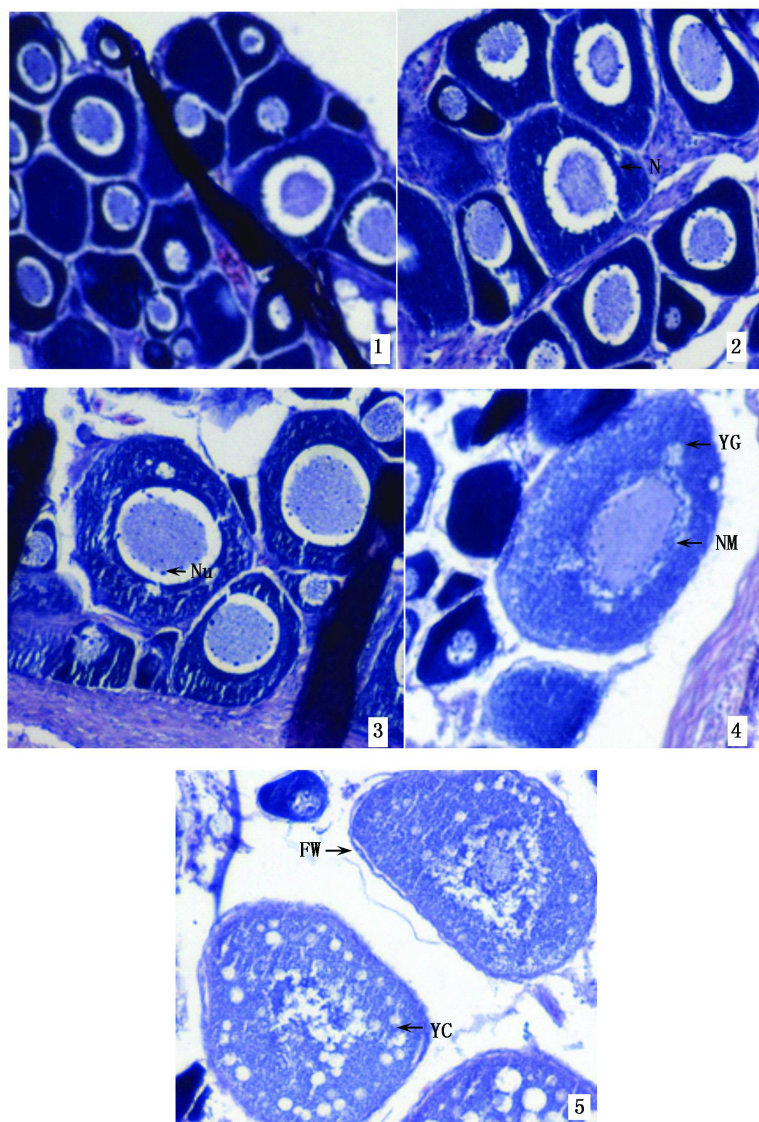
3.2 斑鳊卵巢发育与血清蛋白磷SPP含量变化的关系

本研究表明,斑鳊卵巢的成熟发育过程与SPP含量变化存在一致性。形态学观察和组织学结果表明,3-5月期间,卵巢正经历由III期→IV期→V期的成熟发育过程。与此同时,对同批样本的SPP含量测定表明,SPP含量从0.12 mg/mL(3月中旬)逐步上升到0.62 mg/mL(5月中旬),呈现递增趋势。而随着斑鳊卵巢的成熟发育,卵巢重量不断增加,SPP含量与卵巢重的比例则表现为整体下降趋势。SPP含量升高的主要原因是伴随繁殖季节的临近,在外界环境因子(光照、水温、营养等)变化的刺激下,引发卵巢分泌雌二醇促进肝细胞不断合成卵黄蛋白原,分泌进入血液中。SPP含量的持续升高间接地反映了卵母细胞大量积累卵黄的生长过程,即卵巢不断发育成熟的生理过程,两者之间有着内在的生理相关性,本研究结果与瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)产卵前SPP含量的变化趋势^[9]相一致。鉴于血清蛋白磷SPP含量的变化与卵巢的发育成熟程度密切相关,SPP含量可以作为卵巢发育阶段和成熟程度判定的重要生化指标,为生产上

斑鳊的亲鱼培育与人工繁殖提供参考。

参考文献:

- [1] 张华东,张珂.高档经济鱼类——斑鳊人工养殖技术[J].江西饲料,2004,(2):41-41.
- [2] 凌继忠.斑鳊人工繁育技术[J].渔业致富指南,2004,(16):33-34.
- [3] 曾可为,王青云,高银爱,等.斑鳊的生物学和繁殖生物学的研究[J].内陆水产,2005,(2):39-41.
- [4] 姜景田,吕伟志,许方学.鸭绿江斑鳊人工繁育实验[J].北京水产,2005,(6):37-39.
- [5] Norberg B. Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) vitellogenin. Induction, isolation and partial characterization[J]. Fish Physiol Biochem, 1995, 14: 1-13.
- [6] 李红岩,孙旭彤,张士瑾.卵黄蛋白研究及其进展[J].海洋科学,2002,(7):32-35.
- [7] Roubal W T, Lamax D P, Willis M L, et al. Purification and partial characterization of English sole (*Pleuronectes vetulus*) vitellogenin[J]. Comp Biochem Physiol 1997, 118B: 613-622.
- [8] Whitehead C, Brimage N R, Forster J R M. Seasonal changes in reproductive function of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Fish Biol 1978, 12: 601-608.
- [9] 王友慧,李云.瓦氏黄颡鱼血清卵黄蛋白原与性腺发育关系的研究[J].饲料世界,2003,(5):47-49.
- [10] 毕富勇.生物化学及分子生物学实验教程[M].合肥:安徽科学技术出版社,2003:93-94.
- [11] 蒋一珪.梁子湖鳊鱼的生物学[J].水生生物学集刊,1959,(3):375-385.
- [12] 汪小东,严安生,黄峰.保安湖鳊鱼卵巢的周年变化[J].湖泊科学,1997,9(4):343-350.
- [13] 陈红菊,岳永生.保安湖鳊鱼 (*Siniperca chuatsi*) 卵巢发育的组织学观察[J].山东农业大学学报,2002,33(3):290-296.
- [14] 林国辉,方展强.鳊鱼卵母细胞发育的组织学和超微结构观察[J].华南师范大学学报:自然科学版,2007,(1):98-103.
- [15] 石大康.大眼鳊鱼卵巢发育的组织学研究[J].广西水产科技,1991,(4):1-5.



图版 Plate

1. III期卵巢, ×10倍; 2. III期卵巢, ×10倍; 3. IV期卵巢, ×10倍; 4. IV期卵巢, ×10倍; 5. V期卵巢, ×10倍; Nu. 核仁;
YG. 卵黄颗粒; FW. 滤泡膜; YC. 卵黄块; N. 细胞核; NM. 核膜。