

doi: 10.7541/2021.2020.151

大口黑鲈的卵巢发育周年变化及反季节繁殖研究

崔庆奎 沈志刚 田宇 齐飘飘 黄红红 刘洋 陈敏 于跃 樊启学

(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, 武汉 430070)

摘要: 文章研究了华中地区池塘养殖大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)卵巢的发育规律, 分析了水温与光照条件变化对卵巢发育的影响, 探究了大口黑鲈反季节繁殖的方法, 旨在充分利用本地区的气候条件, 化劣势为优势, 从根本上解决本地大口黑鲈产业所面临的问题。实验采用形态学、组织学等方法比较分析了大口黑鲈卵巢发育特征, 采用人工控温和人工促熟的方法探究了温度和性激素对大口黑鲈性腺启动发育的影响。研究发现, 华中地区大口黑鲈雌鱼性腺指数(*GSI*)周年变化在0.63%—7.95%, 10月中旬至12月初水温由20.6℃降至11.0℃期间, 卵巢开始发育至III期, 并以III期越冬, 至4月中旬繁殖产卵, 5月底结束, 繁殖前约80%的雌鱼绝对繁殖力在4.5万—6.5万粒, 但受水温升高的影响, 卵巢中15%成熟卵母细胞未能产出而逐步退化, 产卵结束时仍有一半以上卵未产出(*GSI*为4.6%); 雌鱼*GSI*与肠系膜脂肪系数(*MFI*)、肝体比(*HSI*)在10月份至次年4月份呈显著负相关($P < 0.05$), 表明在此期间, 机体储存的营养物质部分转移至性腺, 优先保证性腺发育。在大口黑鲈反季节繁殖实验中, 采用井水[水温(20±1)℃]降温和控温处理的方法能够促进大口黑鲈性腺的启动发育, 经过3个月处理, 控温组雌鱼卵巢发育至IV期末, *GSI*达到4.06%, 而对照组雌鱼卵巢处于III期, *GSI*为2.52%, 两组差异显著($P < 0.05$), 两组雄鱼精巢均发育至IV期末, 控温组*GSI*达0.89%, 对照组为0.73%, 这表明可以通过温度处理来调控大口黑鲈性腺的发育。最后针对反季节繁殖中亲本的培育方法和处理时间等进行了总结, 以期为进一步培育反季节大口黑鲈提供依据。

关键词: 加州鲈; 卵巢周年发育; 反季节繁育; 繁殖时长; 水温; 光照时长

中图分类号: S965.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2021)01-0076-13



大口黑鲈(*Micropterus salmoides*), 俗称加州鲈, 又称黑鲈, 隶属鲈形目(Perciformes)、鲈亚目(Percoidae)、太阳鱼科(Centrarchidae)、黑鲈属(*Micropterus*), 原产于北美洲, 是当地重要的游钓鱼类^[1-3]。自1980年引入广东后, 因其肉质鲜美, 无肌尖刺, 生长迅速, 养殖周期短等优势, 迅速成为国内重要的养殖品种^[4, 5]。近些年对大口黑鲈营养需求的研究不断深入, 一系列配合饲料应运而生, 打破了传统投喂饵料鱼的养殖模式, 养殖产量急速上升, 从2012年的 9.6×10^7 kg增长至2018年的 43.2×10^7 kg, 7年时间增长了3.5倍。有学者便推断大口黑鲈凭借其独特优势, 未来20年内, 产量有望突破 100×10^7 kg, 养殖前景十分广阔^[5]。然而华中地区大口黑鲈养殖

产业的发展并非一帆风顺, 现阶段主要存在三个问题: 一是周年价格波动较大, 2019年本地区大口黑鲈塘口价(收购价)最高出现在8月底, 高达24.0元/斤, 最低出现在1月底, 仅有10.5元/斤(图1), 此价格变化规律与此前2015—2018年价格规律非常一致^[6]; 二是地区发展极不平衡, 2018年广东省大口黑鲈产量占全国总产量的59.8%, 苏浙地区占21.0%, 而华中地区作为我国水产养殖最重要的区域, 产量仅占2.8%^[6-8](2019中国渔业统计年鉴)。三是本地区气候条件不利于正常季节大口黑鲈的养殖, 对于1龄苗种而言, 下塘后不久便经历高温期(6—9月), 停止摄食, 不利于其快速生长, 使得越冬前大部分鱼达不到上市规格, 且积温过高, 加速其性腺发育成熟^[9-11],

收稿日期: 2020-06-30; **修订日期:** 2020-11-04

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(2662017QD035); 湖北省自然科学基金(2018CFB215)资助 [Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2662017QD035); the Natural Science Foundation of Hubei Province (2018CFB215)]

作者简介: 崔庆奎(1994—), 硕士研究生; 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: 1373979060@qq.com

通信作者: 沈志刚, 副研究员; 研究方向为鱼类遗传育种与性别控制。E-mail: zgshen2017@mail.hzau.edu.cn

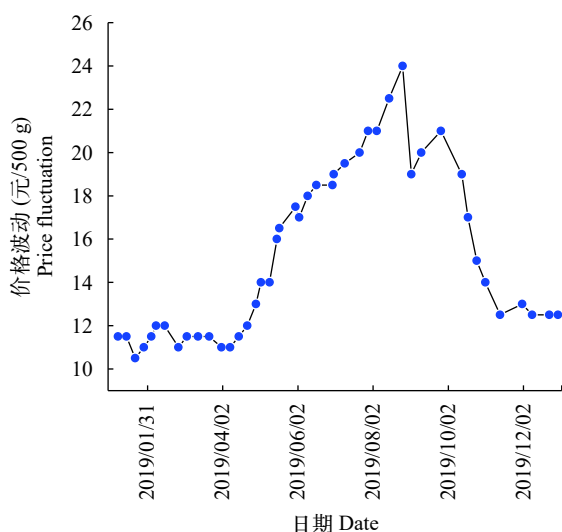


图1 华中地区大口黑鲈价格周年变化

Fig. 1 Annual price fluctuation of largemouth bass prices in central China

图中显示价格为400 g以上成鱼的塘口价, 数据来源于中国水产前沿(<http://www.fishfirst.cn/>)和水产养殖网(<http://www.shuichan.cc/>)

Price data (pond-side price or purchasing price, the price that dealer offers to fish farmer) were obtained from the China Fisheries Channel website (<http://www.fishfirst.cn/>) and China Aquaculture website (<http://www.shuichan.cc/>), with size over 400 gram (general minimum market size for largemouth bass)

而越冬水温又较低, 持续时间长, 回暖较慢, 回暖后性腺快速发育又消耗大量能量, 生长缓慢^[12]。

解决以上问题, 目前最有效的方法是培育反季节大口黑鲈苗种, 即让亲本一年繁殖两次, 除了4和5月份自然繁殖外, 通过一系列技术措施, 使其在9和10月份二次产卵, 从而培育大规模越冬苗种, 将上市时间大大提前, 填补市场上7—9月的缺鱼期, 同时, 反季节苗种也将有助于解决因苗种短缺导致的地区发展不平衡的问题, 最重要的是反季节苗种能充分利用华中地区气候条件, 出苗后便迎来第一个最适生长期(秋季), 越冬回暖后迎来第二个快速生长期(春季), 这种养殖模式能提高其生长速度和饲料利用效率^[13, 14]。

大口黑鲈的反季节繁殖, 关键在于如何让性腺退化后的亲本再次启动发育。在自然条件下, 大口黑鲈一年只有一个繁殖期^[15], 陈建酬等^[16]曾报道, 大口黑鲈产卵季节在3月中旬到4月中旬, Beamish等^[17]认为, 大口黑鲈产卵季节为7—9月, 而Gross等^[15]认为其产卵季节为1月中旬至5月底, 可见, 大口黑鲈的适应能力极强, 不同地区差异很大。我们为开展大口黑鲈反季节繁殖, 有必要研究清楚本地区其性腺发育规律和环境因子对其性腺的影响规律等,

进而确定科学、高效的技术措施。团队前期利用水库底层低温水进行了规模化大口黑鲈反季节繁殖实验, 通过程序性降温-低温维持-升温措施, 成功在9和10月繁育出大口黑鲈苗种^[6]。为了深入了解反季节繁殖过程中性腺发育规律、控制成本和寻求最优程序性温度控制等, 特开展此研究。

在本研究中, 我们就大口黑鲈性腺周年发育规律做了详尽的研究, 并结合环境因子进行分析, 初步得出温度和光照对其性腺启动发育和产卵繁殖的影响规律, 并基于这些规律, 探究了大口黑鲈反季节繁殖的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验鱼来自湖北黄优源渔业发展有限公司, 来源是2017年从广东大口黑鲈繁育基地购买的新品种“优鲈1号”, 实验期间养殖在面积4000 m²、水深2 m的池塘中, 养殖数量为3000尾左右。反季节繁殖实验开始前从池塘随机挑选体质量在400—800 g的亲鱼进行实验。

1.2 参数测量

实验鱼捕回后置于100 mg/kg的MS-222(间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐)水桶中麻醉, 每次采3尾鱼, 主要测定项目包括体长(BL)、体质量(BW)、性腺重(GW)、肝脏重(LW)和肠系膜脂肪重(MFW), 并分别以性腺重量、肝重量和肠系膜脂肪重量相对于体质量的百分数来表示性腺指数(GSI)、肝体比(HSI)和肠系膜脂肪系数(MFI)。

绝对繁殖力(F)是在繁殖产卵前随机选取10尾雌鱼进行测定, 每尾取0.1—0.5 g卵巢, 固定后置于解剖镜下计数, 推算出卵巢总怀卵量, 并以绝对繁殖力比上体质量和体长表示相对体重繁殖力(FW)和相对体长繁殖力(FL)。

池塘水温采用连续温度记录仪(分辨率0.1℃)记录, 探头深度为水面下60 cm, 每天记录6次, 取平均值表示当天水温。光照时长以世界时间网(<https://time.guowaitianqi.com/>)公布的武汉地区日出、日落时间为准, 计算每天光照时长。

1.3 组织学观察

在亲鱼解剖后, 将性腺样品置于Bouin's固定液中固定48h后转移至70%的乙醇中保存, 经过酒精梯度脱水后, 用二甲苯透明, 石蜡包埋, 连续切片厚度为6—8 μm, 切片采用苏木精-伊红染色(HE染色), 用Axio Imager A2显微镜拍照观察。参照Gross等^[15]对大口黑鲈卵巢发育特征的描述进行时期划分, 统计卵巢中不同时相卵母细胞数量比时, 各采样时间

随机选取10张玻片, 每张玻片随机挑选一个视野统计该视野下各时相卵母细胞数量比, 最后以平均值表示各时相卵母细胞数量比。

1.4 卵巢发育周年样品的采集

卵巢发育周年样品的采集从2019年1月23日开始到2020年1月22日结束, 根据不同时间卵巢的发育快慢, 分为繁殖前期、繁殖期、退化阶段、启动发育阶段和越冬期共五个阶段进行采样, 共计采样15次。

繁殖前期采样时, 除采集常规样品外, 还需统计亲鱼的绝对繁殖力。

繁殖期提前在池塘铺设产卵网片(网片由棕榈树皮编织而成, 大小20 cm×30 cm), 每天早晚各收集一次, 记录网片数目, 每天随机挑取3片统计产卵量, 之后转移至孵化池孵化。

1.5 大口黑鲈反季节繁殖

2019年9—11月进行反季节亲本培育实验, 实验在3个相同水泥池(面积10 m×10 m×1.2 m)中进行, 水深1 m, 池顶架设可调节的遮阳网, 分别为控温组、促熟组和对照组, 每组随机从池塘挑选80尾亲鱼进行实验。实验鱼转入水泥池后暂养1周实验, 开始实验前采样1次。实验期间每天饱食投喂, 各组间保持一致, 并加强水质管理, 定期吸污换水, 溶氧控制在(6.5±1.0) mg/L。

控温组: 该组采用地下水(常年水温19—21℃)进行控温处理。第一步是降温处理, 水温由29—30℃逐渐降至21℃, 历时30d, 期间为保证降温效果, 正午时进行部分遮荫处理, 降温结束后采样1次, 记录性腺发育状况。之后维持水温20—21℃

继续培育, 直至繁殖产卵, 期间每10天采样1次, 观察性腺发育状况。

促熟组: 该组不进行控温处理, 仅对亲本进行连续、低剂量的外源性激素注射, 探究激素处理对亲本性腺启动发育的影响。主要激素有促黄体素释放激素类似物(LHRH-A2)+马来酸地欧酮(DOM)+鱼用绒毛膜促性腺激素(HCG), 剂量为10 μg/kg的LHRH-A2、5 mg/kg的DOM、700 IU/kg的HCG, 每隔10天在胸鳍基部注射一次, 采样时间与控温组相同。

对照组: 该组不作任何处理, 使亲鱼性腺自然发育, 期间的投喂、水质管理、采样时间等均与实验组相同。

1.6 数据分析

采用SPSS(IBM SPSS Statistics, Version 24)统计软件进行实验数据的统计学分析, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行显著性检验, 然后进行用Duncan's多重比较来确定组间差异的显著性, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。采用皮尔逊相关系数(Pearson correlation coefficient)分析各组数据的相关性。采用Origin 2017绘图软件进行图表制作。

2 结果

2.1 温度与光照时长变化对大口黑鲈卵巢周年发育规律的影响

大口黑鲈雌鱼GSI与水温、光照的周年变化规律如图2所示, 可见, 华中地区周年水温在5.7—34.1℃, 高温(水温高于30℃)和低温(水温低于15℃)时间较长, 接近6个月, 而这段时间大口黑鲈

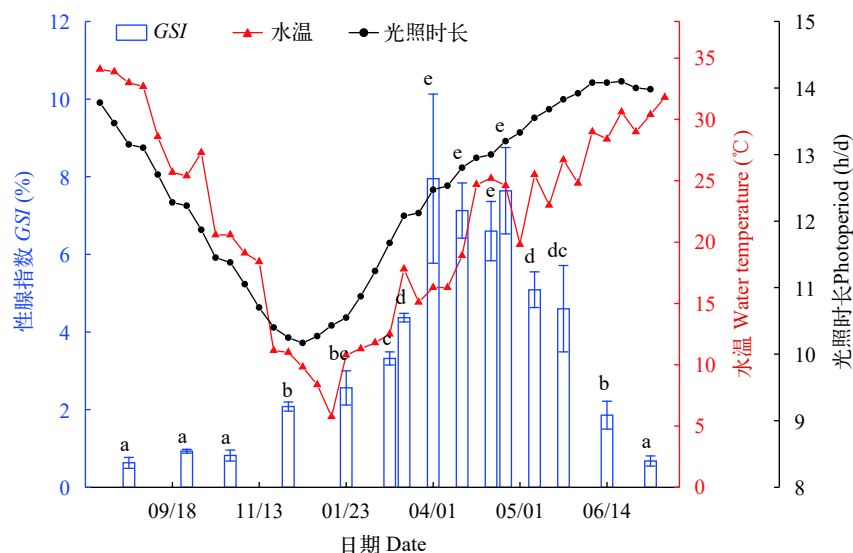


图2 大口黑鲈卵巢性腺指数(GSI)的周年变化

Fig. 2 Changes annual gonadosomatic index in largemouth bass

不同字母表示差异显著($P<0.05$)

Different letters indicate significant difference ($P<0.05$)

摄食量显著降低或停止,可见华中地区接近6个月的高温与低温期并不利于大口黑鲈的生长。周年光照时长在10.2—14.1 h/d间,雌鱼GSI周年变化在0.63%—7.95%。

繁殖前期:当水温回升至15.1℃后,卵巢进入快速发育阶段,卵母细胞大量积累卵黄,从3月19日至4月19日,GSI由4.37%增长至最大值7.95%,差异显著($P<0.05$)。此阶段以IV期卵巢为主,呈米黄色,几乎充满整个腹腔(图3B),组织学观察可见卵母细胞内充满卵黄颗粒,其间布满油滴,有的进一步融合成体积较大的油球(图4B)。IV时相卵母细胞数量比由15%增至31%,V时相卵母细胞数量比由8%增至37%(图5)。

繁殖期:实验观察到大口黑鲈繁殖期从4月19日开始,5月23日产卵活动结束,此时卵巢颜色变深,卵粒透明(图3C),卵黄颗粒水合作用显著,大部卵黄颗粒融合,油滴聚合,油球变大,组织切片观察还可看见部分空滤泡膜存在(图4C)。GSI由7.64%降至4.60%,前后差异显著($P<0.05$),值得注意的是,

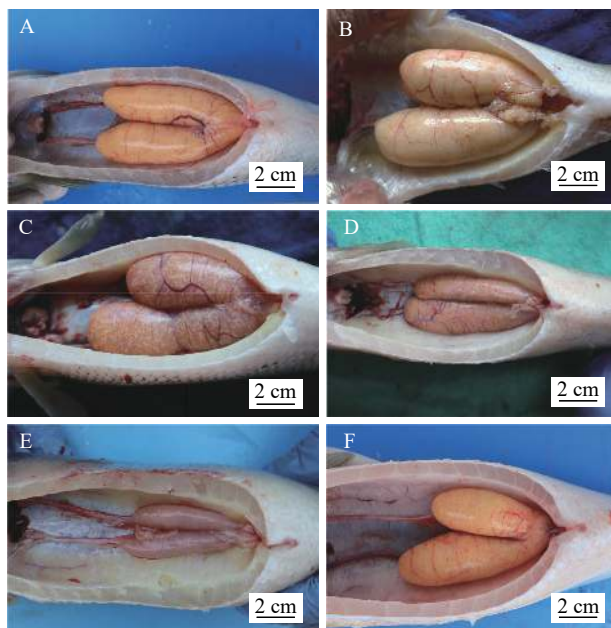


图3 大口黑鲈卵巢解剖图

Fig. 3 Ovary anatomy of largemouth bass

A. 拍于3月6日样,示III期卵巢;B. 拍于4月1日样,示IV期卵巢;C. 拍于5月10日样,示V期卵巢;D. 拍于6月13日样,示VI期卵巢;E. 拍于10月18日样,示II期卵巢;F. 拍于12月10日样,示III期卵巢

Picture A was taken on 6th March, with ovary at stage III; Picture B was taken on 1st April, with ovary at stage IV; Picture C was taken on 10th May, with ovary at stage V; Picture D was taken on 13th June, with ovary at stage VI; Picture E was taken on 18th October, with ovary at stage II; Picture F was taken on 10th December, with ovary at stage III

繁殖结束时GSI仍然较大,卵巢中仍有大量成熟卵子未能产出,V时相卵母细胞数量比占15%,IV时相卵母细胞数量比占13%(图5)。繁殖期水温在19.8—26.7℃波动。

退化阶段:当水温高于26.7℃后,产卵活动结束,卵泡闭锁,大约历时50d左右卵巢退化回II期(图3E),GSI由4.60%降至0.68%,差异显著($P<0.05$),此阶段卵巢中以II时相、VI时相卵母细胞为主,其中VI时相卵母细胞无规则形状,为退化崩解的V时相、IV时相卵母细胞(图4D),卵巢外观松软,呈肉红色(图3D)。此后直至10月中旬,卵巢一直处于II期(图3E、图4E),且GSI差异不显著($P>0.05$)。

启动发育阶段:华中地区卵巢启动发育的时间是在10月中旬至12月初,GSI由0.82%增长到2.08%,开始出现显著差异($P<0.05$)。卵巢由II期发育至III期(图3F和图4F),开始沉积卵黄,出现放射带,滤泡膜细胞逐渐变为两层,卵巢中III时相卵母细胞数量比升至34%。此间水温逐渐降低,由20.6℃降至11.0℃,光照时长由11.5 h/d降至10.3 h/d,接近一年最低值(图2)。

越冬期:大口黑鲈以III期卵巢越冬,越冬阶段卵巢发育缓慢,在12月10日时GSI为2.08%,3月6日时仅为3.32%,前后存在显著差异($P<0.05$),但历时较长,相对发育较慢(图3F和图4A)。此期间III时相卵母细胞在29%—34%。越冬期温度在5.76—13.5℃之间波动。

2.2 大口黑鲈MFI、HSI变化规律

池塘养殖大口黑鲈雌鱼HSI的周年变化范围为1.47%—3.05%,12月份达到最大,HSI全年最低值出现在4月中旬。HSI与GSI相关性分析发现,两者在10月至次年4月产卵前关系紧密,呈显著负相关($P<0.05$, $r=-0.531$),在5—9月,两者不存在显著相关性($P>0.05$,图6A)。

池塘养殖大口黑鲈雌鱼的MFI周年变化范围在0.64%—2.09%,MFI最大值出现在10月份,表明此时肠系膜脂肪积累量达到最大,这为越冬储存了足够能量,而5月底MFI为一年最低值,也正是繁殖活动结束的时间。将MFI与GSI进行相关性分析发现,在10月至次年4月份两者显著相关($P<0.05$),呈负相关关系($r=-0.681$);在5—9月,MFI和GSI也同样存在显著性($P<0.05$)负相关($r=-0.683$,图6B)。

2.3 自然繁殖季节大口黑鲈繁殖力的统计

由表1可知,2龄大口黑鲈性腺发育到V期时,绝对繁殖力为44637—69853粒,平均值为54127.80粒;相对体重繁殖力在54.35—66.25粒/g,平均值为59.12粒/g;相对体长繁殖力变化幅度较大,在

137.20—192.00粒/mm, 平均值为160.68粒/mm。绝对繁殖力在45000—65000粒的个体占80%(图7C)。经相关性分析发现, 大口黑鲈绝对繁殖力与体质量($r=0.879$)、性腺重($r=0.819$)、体长($r=0.704$)显著($P<0.05$)正相关, 而与GSI相关性不显著($P>0.05$)。其中, 绝对繁殖力与体质量的线性回归方程为 $Y=62.12X-2532.15(R^2=0.71)$, 绝对繁殖力与体长的线性回归方程为 $Y=238.39X-25801.62(R^2=0.45)$, 图7B)。

在整个繁殖季节共两个产卵期, 中间间隔7天, 第一次共连续收集产卵网片356片, 第二次182片, 随着水温升高, 产卵网片数逐渐减少, 当水温高于

26.7℃后, 产卵停止(图7D)。

2.4 大口黑鲈反季节繁殖

实验开始前大口黑鲈卵巢GSI为0.53%(图8A), 处于II期(图9E和图10E), 精巢GSI为0.21%(图8B), 同样处于II期(图9A), 精巢切片可以发现仅有少量小叶腔内可见少量精子(图10A)。

在降温处理结束后(9月29日), 控温组雌鱼GSI增至0.83%, 对照组增至0.79%, 促熟组增至0.67%, 三组间差异不显著($P>0.05$, 图8A)。雄鱼GSI三组间差异也不显著($P>0.05$, 图8B)。

与雌鱼相比, 雄鱼精巢发育较早, 成熟也较快(图8C和图8D), 在10月8日便发现, 控温组通过挤

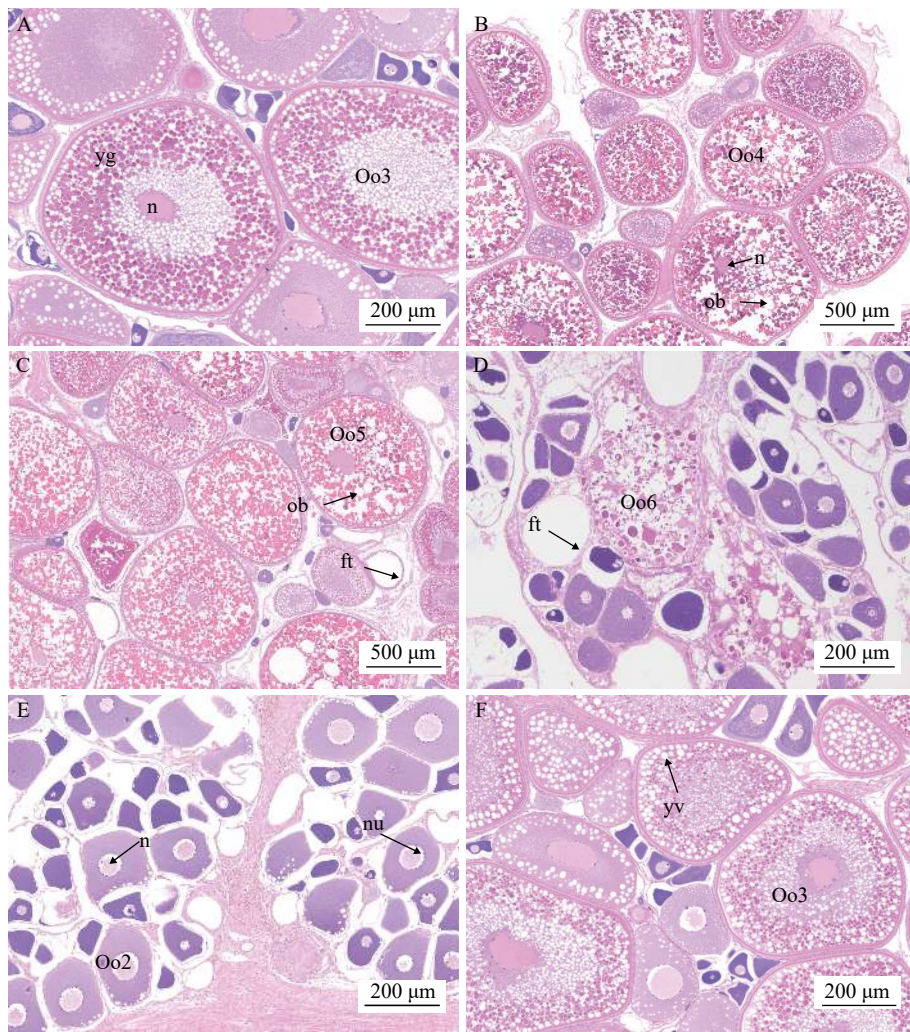


图4 大口黑鲈卵巢各发育时期的组织学观察

Fig. 4 Histological observation of ovarian development in largemouth bass

A. 3月6日III期后期卵巢; B. 4月1日V期卵巢; C. 5月10日V期卵巢; D. 6月13日VI期卵巢; E. 10月18日II期卵巢; F. 12月10日III期前期卵巢; Oo2. II时相卵母细胞; Oo3. III时相卵母细胞; Oo4. IV时相卵母细胞; Oo5. V时相卵母细胞; Oo6. VI时相卵母细胞; n. 细胞核; nu. 核仁; yv. 卵黄泡; yg. 卵黄颗粒; ft. 滤泡膜; ob. 油球

A shows the late stage III ovaries on 6th March; B shows the stage V ovaries on 1st April; C shows the stage V ovaries on 10th May; D shows the stage VI ovaries on 13th June; E shows the stage II ovaries on 18th October; F shows the early stage ovaries on 10th December. Oo2. phase II oocytes; Oo3. phase III oocytes; Oo4. phase IV oocytes; Oo5. phase V oocytes; Oo6. phase VI oocytes cells; n. nucleus; nu. nucleolus; yv. yolk vesicles; yg. yolk granules; ft. follicle theca; ob. oil balls

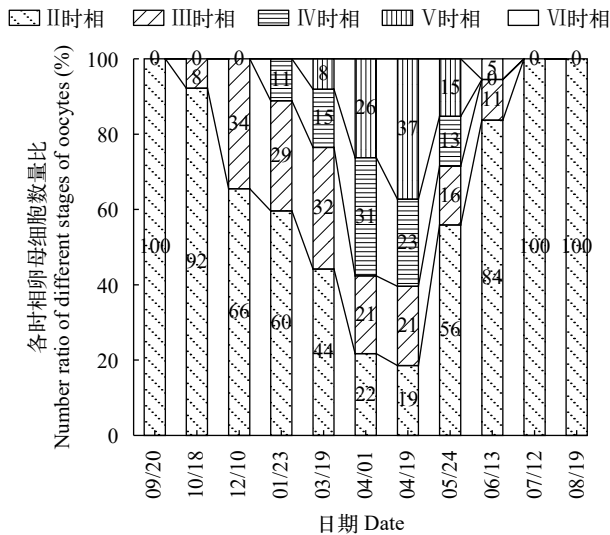


图5 不同采样时间点大口黑鲈卵巢各时相卵母细胞的数量比
Fig. 5 The number ratio of oocytes in the ovary of largemouth bass at different sampling time points

压雄鱼腹部可见乳白色精液从生殖孔流出, 将精液在显微镜下用淡水激活, 精子运动剧烈。此时雄鱼 GSI 为 0.58%, 对照组 GSI 为 0.36%, 促熟组 GSI 为 0.34%, 控温组和对照组存在显著差异 ($P < 0.05$, 图 8B), 而促熟组和对照组差异不显著 ($P > 0.05$, 图 8B)。

在 10 月 29 日时, 此时控温组和对照组雌鱼 GSI 开始存在显著差异 ($P < 0.05$, 图 8A), 控温组 GSI 增至 1.97%, 对照组 GSI 为 1.36%, 而促熟组和对照组差异仍不显著 ($P > 0.05$, 图 8A)。

在 11 月 26 日结束时, 控温组和对照组雌鱼 GSI 存在显著差异 ($P < 0.05$, 图 8A), 促熟组和对照组差异不显著 ($P > 0.05$, 图 8A), 此时控温组卵巢发育至 IV 期后期 (图 9F 和图 10F), 对照组卵巢发育至 III 期 (图 9G 和图 10G), 促熟组卵巢发育至 III 期后期 (图 9H 和图 10H)。控温组和对照组雄鱼 GSI 存在显著差异 ($P < 0.05$, 图 8B), 但两组精巢均发育至 IV 期末, 小叶腔内充满大量成熟精子 (图 9B、图 9C、图 10B 和图 10C), 促熟组和对照组在 11 月 15 日时差异不显著 ($P > 0.05$), 但通过组织切片观察促熟组精巢才发育至 III 期, 以初级精母细胞为主 (图 10D)。

遗憾的是此后气温和水温骤降, 地下水难以维持适宜大口黑鲈性腺发育产卵的水温, 实验被迫结束, 但以上结果仍表明本实验方法有效促进了大口黑鲈性腺启动发育。

3 讨论

3.1 大口黑鲈卵巢随水温、光照时长变化的周年发育规律

鱼类的性腺发育主要是指精卵的增殖、生长

和成熟的过程, 而温度是调控这一过程的关键, 通常认为, 温度是通过启动下丘脑-垂体-性腺轴的生理功能来发挥作用^[18, 19]。有学者报道, 在自然水域中, 受热源污染地区的大口黑鲈幼鱼性腺发育成熟要早于非热源污染区^[20], 同样在文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*)^[10]、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)^[9] 中, 也表明升温能够促进性腺发育成熟。当然, 也可通过控制低温, 推迟性腺发育, 在对繁殖前期大口黑鲈进行低温处理, 水温平均 16℃, 能使亲鱼产卵时间推迟到 6—9 月份, 而对照组 (平均水温 23℃) 自然情况下 5 月初便开始产卵^[21]。因此, 研究温度和性腺发育的关系将有助于我们实现人工调控性腺发育周期的目的, 这也是我们通过控温手段

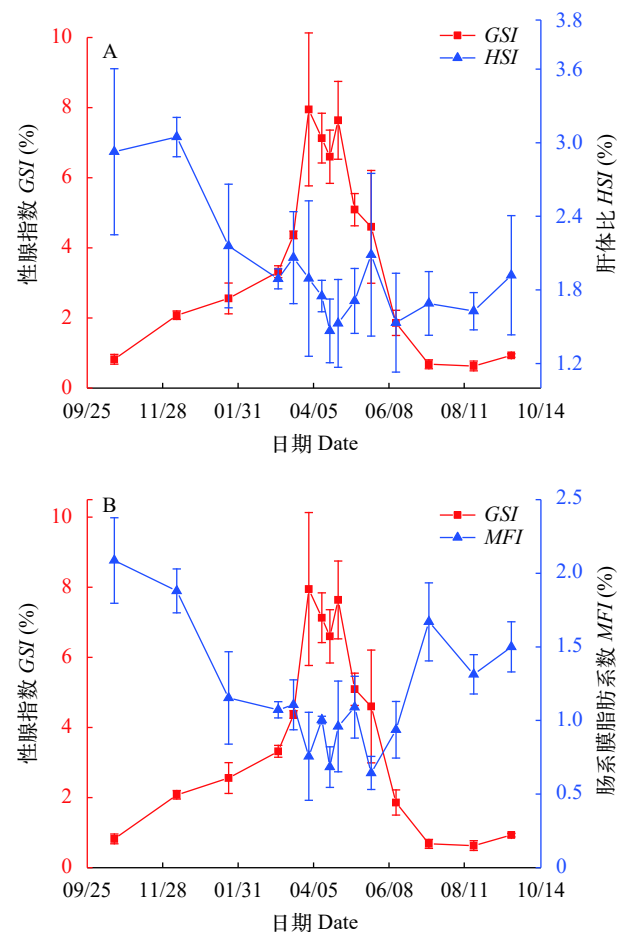


图6 大口黑鲈 HSI 、 MFI 和 GSI 间的关系

Fig. 6 Relationship between HSI , MFI and GSI in largemouth bass

A. 大口黑 GSI 与 HSI 的周年变化; B. 大口黑鲈 GSI 与 MFI 的周年变化; GSI . 性腺指数 Gonadosomatic index; HSI . 肝体比 Hepatosomatic index; MFI . 肠系膜脂肪系数 Mesenteric fat index

A shows the annual changes of GSI and HSI of largemouth bass; B shows the annual changes of GSI and MFI of largemouth bass. GSI . Gonadosomatic index; HSI . Hepatosomatic index; MFI . Mesenteric fat index

来实现大口黑鲈反季节繁殖的基础。

温度影响性腺的发育成熟。Martyniuk等^[23]对德克萨斯州野生大口黑鲈性腺发育研究中指出, 卵

子的增殖过程和小生长期是在6—9月, 这期间主要进行卵母细胞数量的增加和滤泡膜的初步形成, 但GSI并无显著差异, 在10—12月, 初级卵母细胞进入

表 1 池塘养殖大口黑鲈雌鱼的繁殖力
Tab. 1 Fecundity of pond-raised largemouth bass (n=10)

编号Serial number	体长Total length (cm)	体重Body weight (g)	卵巢重Ovary weight (g)	成熟系数GSI (%)	绝对繁殖力Absolute fecundity(粒)	相对繁殖力Relative fecundity	
						FW(粒/g)	FL(粒/mm)
1	33.32	828.10	51.71	6.24	47435.00	57.28	142.36
2	31.66	775.22	57.89	7.47	48087.00	62.03	151.91
3	32.53	819.69	49.80	6.08	44637.00	54.46	137.20
4	36.39	1023.62	63.00	6.15	55629.00	54.35	152.88
5	34.27	917.68	74.10	8.07	50826.00	55.39	148.31
6	31.53	954.13	60.68	6.36	52832.00	55.37	167.55
7	33.74	977.83	81.38	8.32	64778.00	66.25	192.00
8	30.54	766.15	63.13	8.24	48400.00	63.17	158.46
9	37.61	1125.58	79.68	7.08	69853.00	62.06	185.72
10	31.68	887.10	68.67	7.74	53998.00	60.87	170.46

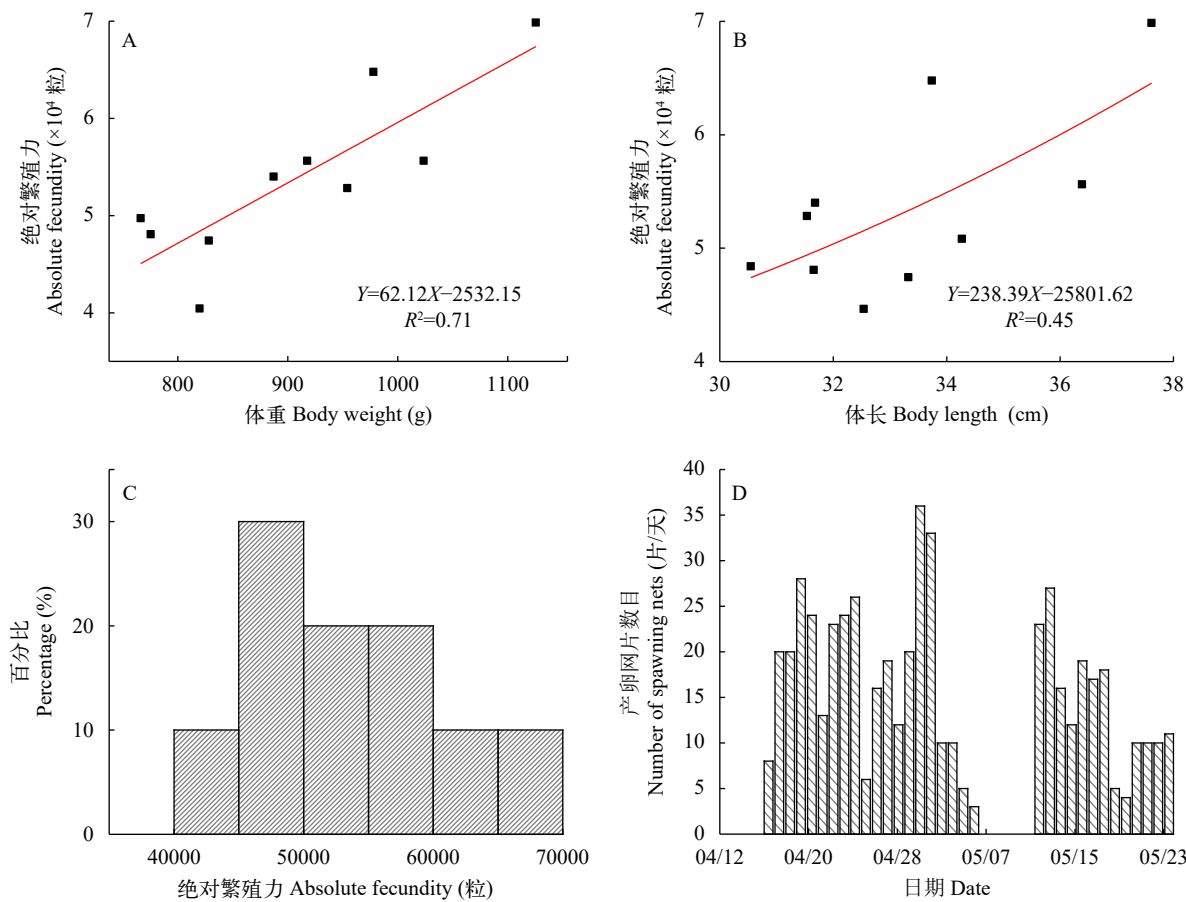


图 7 池塘养殖大口黑鲈相对繁殖力的统计

Fig. 7 Relative fecundity statistics of pond-raised largemouth bass

A. 大口黑鲈相对体重繁殖力的拟合曲线; B. 大口黑鲈相对体长繁殖力的拟合曲线; C. 大口黑鲈绝对繁殖力分布; D. 池塘养殖大口黑鲈的产卵情况

A shows the fitting curve of the relative weight fecundity of largemouth bass; B shows the fitting curve of the relative body length fecundity of largemouth bass; C shows the absolute fecundity distribution of largemouth bass; D shows the number of spawning nets for largemouth bass in ponds

大生长期, 积累卵黄, 体积增大, *GSI*与前几个月表现出显著差异($P<0.05$), 这与我们研究的池塘大口黑鲈卵子增殖及生长的时间大致相似, 在7—10月, II时相卵母细胞为主, 滤泡膜逐渐形成, 到12月时卵母细胞已进入III时相, 出现两层滤泡膜、出现放射膜, 细胞质中开始沉积卵黄。

对比两地水温可以发现, 均是在降温的过程中性腺开始启动发育, 在Martyniuk等^[23]研究的野生大口黑鲈中, 水温从24.4℃降至16.1℃时, 性腺启动发育, *GSI*前后出现显著差异; 我们研究的池塘养殖大口黑鲈的水温由34.1℃降至20.6℃时, 卵巢中仍以第I、II时相卵母细胞为主, 但水温由20.6℃降至11.0℃时, 卵巢中逐渐以III时相卵子为主, 开始积累卵黄, 同时*GSI*发生显著变化; 而在Brown等^[24]的研究中同样发现, 在美国中西部地区, 当水温由19.4℃降至13.9℃时, 大口黑鲈卵巢中开始出现III时相卵子, 表明性腺开始发育, 可见在不同环境条件下, 大口黑鲈性腺开始发育的水温不尽相同, 但均需要经

历降温刺激的过程。

温度同样影响鱼类的产卵退化。当温度高于或低于繁殖水温时, 鱼类性腺便开始退化, 如在成熟的雌性鲟鱼养殖中, 水温高于15℃时, 引起了卵巢卵泡闭锁、胚泡迁移和排卵受阻等现象^[22]。Gross等^[15]曾报道过佛罗里达州池塘养殖大口黑鲈的繁殖期是在1月中旬至6月中旬, 长达5个月的繁殖期, 而在本研究中, 华中地区大口黑鲈的繁殖期是4月中旬至5月底, 仅仅1个多月。两地区大口黑鲈的繁殖水温相似, 佛罗里达州繁殖期水温在18.3—28.3℃, 华中地区繁殖期水温在19.2—26.7℃, 但佛罗里达州的气候条件使得池塘水温相对稳定, 保证了长时间适宜的繁殖水温, 而华中地区气温变化较大, 冬季气温低, 夏季气温高, 这使得适宜繁殖的时间较短。我国南北气候差异较大, 华南地区冬无严寒, 夏无酷暑, 全年平均气温25℃左右, 使得自然环境下大口黑鲈2月便进入繁殖期, 5月初结束产卵活动, 同样与华中地区存在很大差异^[4]。Brown等^[24]也曾

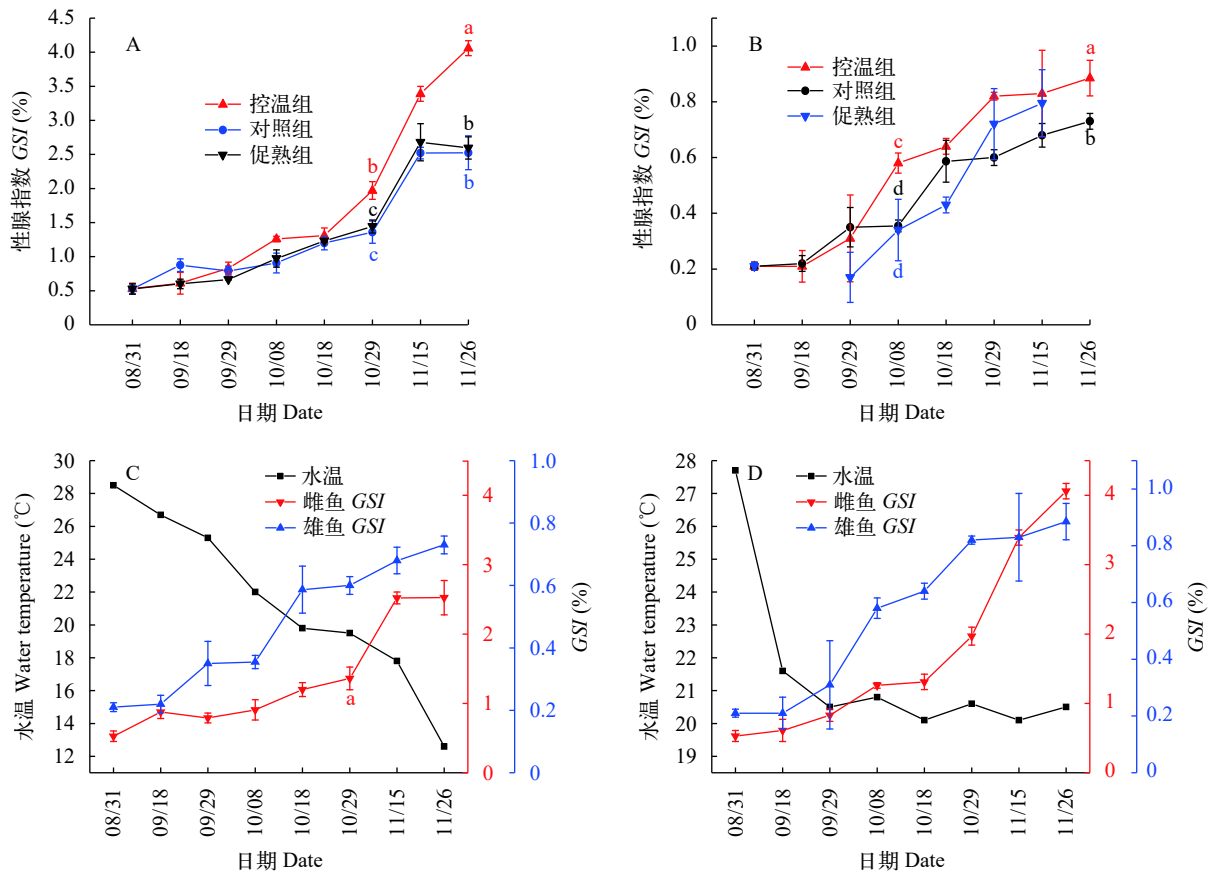


图8 反季节大口黑鲈培育中性腺指数(*GSI*)变化规律

Fig. 8 Gonadosomatic index (*GSI*) changes of largemouth bass in off-season spawning

A. 三组卵巢*GSI*变化规律; B. 三组精巢*GSI*变化规律; C. 对照组水温与*GSI*变化规律; D. 控温组水温与*GSI*变化规律; 9月18日和11月26日促熟组未采集到雄鱼

A shows gonadosomatic index (*GSI*) changes of ovaries in three groups; B shows *GSI* changes of testes in three groups; C shows changes in water temperature and *GSI* in the control group; D shows changes in water temperature and *GSI* in the control group. No male samples were collected from the maturation-promoting group on 18th September and 26th November

报道, 美国中西部地区大口黑鲈的繁殖期在6月中旬至7月底, 繁殖水温在 $16.6\text{--}18.5^{\circ}\text{C}$, 这与华中地区、华南地区及佛罗里达州地区均存在差异, 这一

切表明大口黑鲈适应能力极强, 在不同环境下已经演变出了适应当地环境的性腺发育规律与繁殖规律, 因此开展相关研究, 应基于本地区气候条件进行。

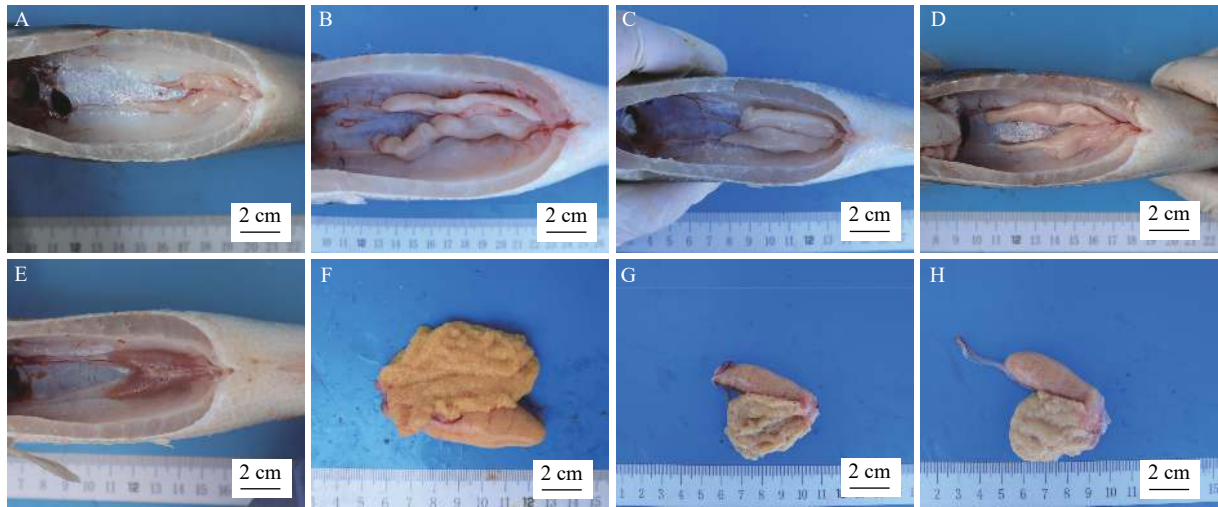


图9 大口黑鲈反季节繁殖中各组性腺解剖图的比较

Fig. 9 Comparison of gonad development in different groups during the off-season spawning in largemouth bass

A. 8月31日实验开始时 II 期精巢; B. 11月26日时控温组 IV 期精巢; C. 11月26日对照组 IV 期精巢; D. 11月15日促熟组 III 期精巢; E. 8月31日实验开始时 II 期卵巢; F. 11月26日控温组 IV 期卵巢; G. 11月26日对照组 III 期卵巢; H. 11月26日促熟组 III 期卵巢

A shows the stage II testis at the beginning of the experiment on 31st August; B shows the stage IV testis in the temperature-manipulation group on 26th November; C shows the control group stage III testis on 26th November; D shows the stage III testis of the maturation-promoting group on 15th November; E shows stage II ovaries at the beginning of the experiment on 31st August; F shows stage IV ovaries in the temperature-manipulation group on 26th November; G shows stage III ovaries in the control group on 26th November; H shows the stage III ovary in the maturation-promoting group on 26th November

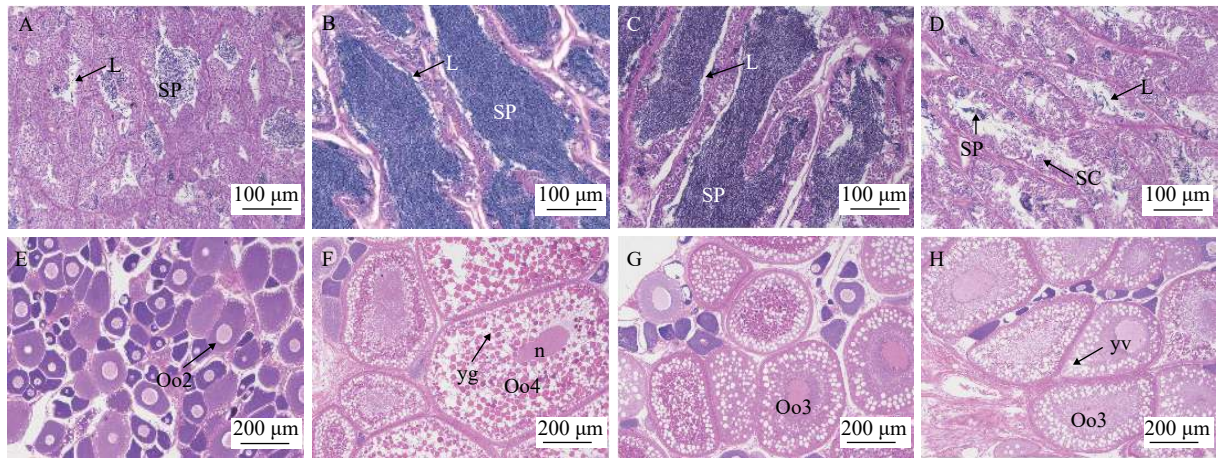


图10 大口黑鲈反季节繁殖中性腺组织切片观察

Fig. 10 Gonadal histological observation of largemouth bass in off-season spawning

A. 实验开始时 II 期精巢; B. 11月26日控温组 IV 期末精巢; C. 11月26日对照组 IV 期末精巢; D. 11月15日促熟组 III 期精巢; E. 实验开始时 II 期卵巢; F. 11月26日控温组 IV 期末卵巢; G. 11月26日对照组 III 期卵巢; H. 11月26日控温组 III 期卵巢; Oo2. II 时相卵母细胞; Oo3. III 时相卵母细胞; Oo4. IV 时相卵母细胞; n. 细胞核; yv. 卵黄泡; yg. 卵黄颗粒; SP. 精子; L. 小叶腔; SC. 精母细胞

A shows the testis at stage II at the beginning of the experiment; B shows the testis at the end of stage IV on the temperature-manipulation group on 26th November; C shows the testes at the end of stage IV on 26th November in the control group; D shows the stage III testis of the maturation-promoting group on 15th November; E shows the stage II ovary at the beginning of the experiment; F shows the end of stage IV ovary in the temperature-manipulation group on 26th November; G shows the stage III ovary in the control group on 26th November; H shows the stage III ovary in the temperature-manipulation group on 26th November. Oo2. phase II oocytes; Oo3. phase III oocytes; Oo4. phase IV oocytes; n. nucleus; yv. yolk vesicles; yg. yolk granules; SP. sperm; L. Lboulé lumne; SC. spermatocyte

华中地区高温较早来临使大口黑鲈的繁殖效率极低,在繁殖期结束时,雌鱼 GSI 仍有4.6%,而佛罗里达州地区产卵结束时雌鱼 GSI 仅有2.3%^[15]。华中地区在5月24日繁殖结束后雌鱼卵巢中仍有大量成熟待产的卵(13%的IV时相卵母细胞、15%的V时相卵母细胞),但水温过高,卵泡闭锁,性腺开始退化,我们推测这是造成华中地区苗种生产不足问题的一个重要原因。因此,如果有条件保持适宜的繁殖水温,我们相信对于分批产卵的大口黑鲈而言,在本地区同样可以延长繁殖期。

光照时长同样影响着鱼类性腺发育, Jourdran等^[25]研究指出,光照时长增加(12、18和24h/d)显著抑制了河鲈(*Perca fluviatilis*)幼鱼的性腺发育,尤其是对雄性抑制效果更佳。光周期也会影响着鱼类性腺启动发育,在Migaud等^[26]研究中发现,连续的光照(24h/d)会抑制河鲈性腺启动发育,卵巢启动发育的占比低于2%,精巢启动的占比低于1%,而恒定的光周期(16h/d)条件下河鲈性腺会启动发育,但发育不同步,而对照组(自然光照时长)20%的雌性,40%的雄性性腺均启动发育。同样,我们研究发现,大口黑鲈卵巢启动发育时光照时长从11.4 h/d降至10.3 h/d(图2),属于一年中的短光照时长,这在一定程度上表明,大口黑鲈性腺启动发育同样需要短光照时长的刺激。先前团队在大口黑鲈规模化反季节繁育中就推测,光照可能对于卵子的早期发育更重要,而温度对于卵黄生成和最终成熟更加重要^[6]。在今后大口黑鲈繁育的科研与生产实践中,为了提升繁育效果,也应当考虑光照时长的控制。

3.2 HSI和MFI随性腺发育的变化规律

鱼类的性腺发育过程十分复杂,目前并未清楚地阐明性腺发育和个体能量转换间的关系,鱼类的能量主要以中性脂肪的形式储存于肝脏、肠系膜和肌肉中^[27, 28],为了满足性腺发育需要,脂肪中的能量物质需要不断转向性腺,尤其在卵黄积累阶段,肝细胞更是直接合成卵黄蛋白原供给性腺发育^[29]。有研究表明,大口黑鲈肌肉中总脂肪含量的季节变化范围很小,仅为湿重的0.7%—0.9%,表明在性腺发育过程中,肌肉中脂肪供能相对较少,主要以肝脏和肠系膜脂肪供能为主^[30]。

在我们研究中,自卵巢启动发育至繁殖产卵前, GSI 分别与 HSI 、 MFI 呈显著($P<0.05$)负相关,其中越冬期 HSI 、 MFI 下降较快,除了维持正常生理活动消耗外,主要是转移至卵子内积累卵黄颗粒和油滴,组织切片可以发现越冬前多数卵母细胞内并未沉积卵黄颗粒,越冬后大量卵黄颗粒由卵膜侧向核膜侧沉积(图4F和图4A),后续发育主要是卵子积

累营养物质的过程,将消耗大量营养物质,作为分批产卵的鱼类, HSI 和 MFI 和外界营养供给将直接影响着性腺的发育质量,在自然水域环境下,由于食物相对匮乏,大口黑鲈 GSI 一般小于4%^[23],而在人工养殖条件下 GSI 最大可达14%^[15];同样在Brown等^[31]研究结果中也表明, MFI 在繁殖前降到最低值。因此我们认为,随着性腺发育,肝脏和肠系膜脂肪中的储存能量处于不断消耗的状态,且主要流向性腺。在性腺退化后,直至性腺启动发育前, HSI 和 MFI 均不断增加,这段时间主要是肝脏、肠系膜脂肪重新积累能量的过程,这种高效的能量分配策略保障了性腺的充分发育。因此,性腺发育启动之前,肝脏和内脏中能量的积累,对于后期繁育效果至关重要。同时,肝脏和内脏中的能量,何时、如何转移至性腺中,不论对于正常季节还是反季节繁育都非常关键。

对比反季节亲本与正常季节亲本的 GSI 后发现,在性腺同样发育至IV末时,反季节亲本成熟系数仅有4.06%,而正常季节已达到7.13%,团队在大口黑鲈反季节亲本培育实验中,产卵前1个月时 GSI 仅为2.50%^[6],可见性腺接近成熟时三者 GSI 差别较大。对比性腺启动发育时三者脂肪沉积情况发现,正常季节亲鱼的 MFI 为2.09%,达到了一年中的最大值,在本研究中反季节亲本 MFI 仅有1.34%,团队先前研究的亲本 MFI 仅1.1%^[6],三组 MFI 存在差异主要是受摄食情况影响,华中地区正常季节10—12月间水温在20℃左右,非常适宜大口黑鲈摄食生长,脂肪积累量达到一年最大值,而反季节培育前本地区属于高温(>30℃)期,大口黑鲈几乎处于停止摄食的状态,缺少了营养强化的过程,不利于脂肪沉积。因此我们推断导致繁殖前大口黑鲈卵巢 GSI 差异较大可能与亲鱼摄食情况、脂肪积累量有关,同时比较反季节实验中控温组 and 对照组摄食情况可以发现,对照组共投喂15.5 kg配合饲料,控温组由于水温适宜,共投喂25.3 kg配合饲料,控温组平均每尾鱼的饲料消耗量大于对照组,但试验结束时对照组 MFI 为2.12%,控温组雌鱼 MFI 仅为1.53%,控温组 MFI 却显著低于对照组,再次表明性腺发育消耗了大量的肠系膜脂肪。由于大口黑鲈卵巢属于不同步发育类型,充足的能量供给将能够保证更多的卵子得到发育,从而保证了后期性腺的发育质量,不过这仍需后续实验验证。但我们必须注意到脂肪积累对性腺发育质量的重要性,尤其是在反季节亲本培育中,为保证性腺的发育质量,前期必须进行营养强化,在一定脂肪积累量的基础上再进行培育。

3.3 大口黑鲈的反季节繁殖

目前,华中地区大口黑鲈所面临的问题已经严重限制了该产业的发展,解决这些问题的有效方法之一便是培育反季节苗种,但目前并没有比较高效的亲本培育方法。团队之前利用水库深层水进行控温处理,模拟正常繁殖季节环境的变化规律(秋季的降温过程、越冬时的低温阶段及春季的升温过程),并按照一定比例缩减在140d内完成,最终在9月和10月成功获得苗种^[6],该模式对基础设施要求较高,需要在夏季高温时仍有充足的低温水(10℃左右)供应,同时还要有充足的高温水用于后续升温培育,为了进一步控制成本,提高效率,程序性温度控制至关重要,需要进一步摸索低温限度、低温时长等关键因素。Matthews等^[32]采用的是大型加热-制冷机组控温,模拟自然环境下光照、温度变化规律,依次先降温,再维持低温(10℃左右),最后升温至产卵水温,并在此过程中调控光照时长,由10 h/d降至8 h/d,后升至14 h/d,最终历时130d成功孵化出苗种,但是该方法成本投入太高,且规模较小,不适合生产应用。可以发现,这两种方法有一个共同的限制因素,即均需要在夏秋高温季节时对亲本进行低温刺激(10℃左右),以达到性腺启动发育的目的,因此,我们考虑能否充分利用华中地区的地下水资源,采用更高的水温来刺激亲本,以实现亲本性腺启动发育。基于我们已有的井水资源,探究了(20±1)℃的水温刺激亲本,结果同样达到性腺启动发育的目的。

Spengler等^[33]也表示持续低温(≤12℃)刺激是反季节大口黑鲈性腺启动发育的关键,但在我们实验中发现,短暂降温后持续采用(20±1)℃水温刺激,同样实现了性腺启动发育。还有一点值得注意,在团队前期研究中,大口黑鲈卵巢由Ⅱ期增至Ⅲ期是在水温回升至20℃之后,表明在前期的降温、维持低温及升温至20℃前,卵巢始终处于Ⅱ期,并没有发生显著性差异($P>0.05$)^[6]。因此,可以初步推断,大口黑鲈性腺启动发育并不一定需要模拟越冬环境或低于某个温度阈值的水温刺激,在经过某个温度差的降温[本实验由(29±1)℃降至(20±1)℃]后,保证降温之后有适宜性腺生长发育的水温[本实验(20±1)℃]同样能达到性腺启动发育的目的,不过其他的降温差及降温后培育水温能否启动性腺发育仍需要后续实验来验证。

华中地区大口黑鲈反季节繁殖的最佳时间段是在9—10月份,一是孵化后池塘水温仍然适合苗种生长,能保证以大规模苗种越冬;二是此时池塘中仍然可以培育出丰富的浮游生物供仔鱼早期生

长^[6];三是此阶段培育出来的苗种,在来年繁育季节并未达到性成熟,可以极大减少因性成熟所带来的能量消耗(掉膘)和一定比例的死亡。比较团队先前研究^[6]和Matthews等^[32]的实验可以发现,整个反季节培育时长在4—5个月,而正常季节大口黑鲈性腺退化回Ⅱ期是在6—7月,因此,反季节大口黑鲈培育的最佳起始时间是在7月初。由于我们培育实验是在8月31日开始,后期气温骤降,导致最终未能顺利完成产卵。在我们实验中,在省去低温(10℃左右)刺激后有效缩短培育周期,仅通过3个月处理,卵巢即发育至Ⅳ期末,出现核偏移现象,达到了生理成熟,表明该方法能适当缩短培育时间,提高效率。

本实验通过对华中地区大口黑鲈卵巢随水温和光照时长变化的周年发育规律进行研究,并探索华中地区反季节繁殖的方法,我们发现水温升高对于大口黑鲈卵黄沉积和卵子最终成熟非常重要,适宜繁殖水温的维持对于延长华中地区产卵时间至关重要;对于反季节繁殖来说,温度的降低或升高(温度变化),而不是低温的维持,可能更加重要。本研究对后续研究大口黑鲈在全世界范围内迅速适应当地气候环境、反季节繁育和种群控制等方面有指导意义。

参考文献:

- [1] Shen Z G, Wang H P. Hybridization and Its Application in Centrarchids [M]//Wang H P, Piferrer F, Chen S L, et al (Eds.), Piketon: John Wiley & Sons Ltd, 2019: 405-427.
- [2] Morris J, Clayton R. Centrarchid Aquaculture [M]. Centrarchid Fishes: Diversity, Biology, and Conservation. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2009: 293-311.
- [3] Brown T, Runciman B, Pollard S, et al. Biological synopsis of largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Lake*, 2009, 31(11): 1763-1769.
- [4] Bai J J, Li S J. Development of Largemouth Bass *Micropterus salmoides* Culture [M]. Aquaculture in China. New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd, 2018: 421-429.
- [5] Bai J J, Li S J. Genetic Breeding and Molecular Marker-assisted Selective Breeding of Largemouth Bass [M]. New York: Academic Press, 2019: 1-2.
- [6] Hussein G H G, Chen M, Qi P P, et al. Aquaculture industry development, annual price analysis and out-of-season spawning in largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Aquaculture*, 2020(519): 734901.
- [7] Wang L J, Cheng S K, Zhang Y J, et al. Effect of water temperature on keep-alive transportation for black bass *Micropterus salmoides* [J]. *Fishery Modernization*, 2014, 41(2): 23-27, 37. [王利娟, 程守坤, 张饮江, 等. 水温对加州鲈鱼保活运输的影响 [J]. *渔业现代化*, 2014, 41(2):

- 23-27, 37.]
- [8] Zhu Z M, Zhu W M, Lan H B, *et al.* The biological characteristics and nutritional requirement of largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Feed Industry*, 2014, **35**(16): 31-36. [朱志明, 朱旺明, 蓝汉冰, 等. 加州鲈(*Micropterus salmoides*)生物学特性和营养需求研究进展[J]. 饲料工业, 2014, **35**(16): 31-36.]
- [9] Jia C C, Zhou X B, Sun D Z, *et al.* Preliminary study on artificial culture technology of largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of Aquaculture*, 1993(2): 15-20. [贾长春, 周兴保, 孙大中, 等. 加州鲈人工养殖技术的初步研究[J]. 水产养殖, 1993(2): 15-20.]
- [10] Tang X Y, Jiang H B, Liu H J, *et al.* Effects of rearing temperature on sex differentiation, sex ratio, and growth in heterozygous of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* clones [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2015, **22**(1): 164-168. [唐晓阳, 姜宏波, 刘海金, 等. 温度对杂合克隆牙鲆性别分化、性比和生长的影响[J]. 中国水产科学, 2015, **22**(1): 164-168.]
- [11] 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.]
- [12] Strawn K. Growth of largemouth bass fry at various temperatures [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1961, **90**(3): 334-335.
- [13] Love J W. Habitat suitability index for largemouth bass in Tidal Rivers of the Chesapeake Bay Watershed [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2011, **140**(4): 1049-1059.
- [14] Venables B J, Fitzpatrick L C, Pearson W D. Laboratory measurement of preferred body temperature of adult largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Hydrobiologia*, 1978, **58**(1): 33-36.
- [15] Gross T S, Wieser C M, Sepulveda M S, *et al.* Characterization of Annual Reproductive Cycles for Pond-reared Florida Largemouth Bass *Micropterus Salmoides* Floridanus [M]//Philipp D P, Ridgway M S, Gross T S (Eds.), *Black Bass: Ecology, Conservation, and Management*. Florida: American Fisheries Society Press, 2002: 205-212.
- [16] Chen J C, Su R R, Lu Y M. Artificial propagation technique of *Micropterus salmoide* [J]. *Fisheries Science*, 2001(4): 21-23. [陈建酬, 苏润荣, 吕貽民. 加州鲈人工繁殖技术[J]. 水产科学, 2001(4): 21-23.]
- [17] Beamish C A, Booth A J, Deacon N. Age, growth and reproduction of largemouth bass *Micropterus salmoides* in Lake Manyame, Zimbabwe [J]. *African Zoology*, 2005, **40**(1): 63-69.
- [18] Spanò L, Tyler C R, Aerle R, *et al.* Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish *Carassius auratus* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2004, **66**(4): 369-379.
- [19] Poortenaar C W, Hooker S H, Sharp N. Assessment of yellowtail kingfish *Seriola lalandi lalandi* reproductive physiology, as a basis for aquaculture development [J]. *Aquaculture*, 2001, **201**(3-4): 271-286.
- [20] Jackson U T. Controlled spawning of largemouth bass [J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1979, **41**(2): 90-95.
- [21] 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.
- [22] Webb M A H, Eenennaam J P V, Doroshov S I, *et al.* Preliminary observations on the effects of holding temperature on reproductive performance of female white sturgeon *Acipenser transmontanus* (Richardson) [J]. *Aquaculture*, 1999, **176**(3-4): 315-329.
- [23] Martyniuk C J, Kroll K J, Porak W F, *et al.* Seasonal relationship between gonadotropin, growth hormone, and estrogen receptor mRNA expression in the pituitary gland of largemouth bass [J]. *General & Comparative Endocrinology*, 2009, **163**(3): 306-317.
- [24] Brown M L, Kasiga T, Spengler D E, *et al.* Reproductive cycle of northern largemouth bass *Micropterus Salmoides* [J]. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 2019, **331**(10): 540-551.
- [25] Jourdan S, Fontaine P, Boujard T, *et al.* Influence of daylength on growth, heterogeneity, gonad development, sexual steroid and thyroid levels, and N and P budgets in *Perca fluviatilis* [J]. *Aquaculture*, 2000, **241**(1): 561-574.
- [26] Migaud H, Fontain P, Kestemont P, *et al.* Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis* [J]. *Aquaculture*, 2004, **241**(1): 561-574.
- [27] Johnson G. The biology of fish growth [J]. *The Canadian Veterinary Journal*, 1989, **30**(1): 82-83.
- [28] Love R M, Caspers H. The chemical biology of fishes. With a key to the chemical literature [J]. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 1970, **5**(56): 823-823.
- [29] Zhang S C, Sun X T, Li H Y, *et al.* Research and progress of vitellogenin [J]. *Marine Sciences*, 2002, **26**(7): 32-35. [张士瑾, 孙旭彤, 李红岩, 等. 卵黄蛋白原研究及其进展[J]. 海洋科学, 2002, **26**(7): 32-35.]
- [30] Brown M L, Murphy B R. Effects of season, maturity, and sex on lipid class dynamics in largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede) [J]. *Ecology of Freshwater Fish*, 1995, **4**(3): 124-130.
- [31] Brown M L, Murphy B R. Seasonal dynamics of direct and indirect condition indices in relation to energy alloca-

- tion in largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede) [J]. *Ecology of Freshwater Fish*, 2004, **13**(1): 23-36.
- [32] Matthews M D, Stout R B. Out-of-season spawning method for florida largemouth bass to produce advanced-sized fingerlings by early spring [J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2013, **75**(4): 524-531.
- [33] Spengler D E, Brown M L. Off-season spawning behaviors in northern largemouth bass [J]. *Proceedings of the South Dakota Academy of Science*, 2010(89): 193-206.

STUDY ON THE ANNUAL DEVELOPMENT OF OVARY AND OUT-OF-SEASON SPAWNING IN LARGEMOUTH BASS *MICROPTERUS SALMOIDES*

CUI Qing-Kui, SHEN Zhi-Gang, TIAN Yu, QI Piao-Piao, HUANG Hong-Hong, LIU Yang,
CHEN Ming, YU Yue and FAN Qi-Xue

(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)

Abstract: In recent years, largemouth bass (*Micropterus salmoides*) aquaculture industry has developed rapidly and it has become an important aquaculture species in China. Due to the influence of climatic conditions and other factors, aquaculture development of the largemouth bass in central China is not as fast as other areas, accompanied by large price fluctuation, shortage of seedling and early sexual maturity, etc. These problems have seriously hindered the development of the largemouth bass industry in the central China region. To solve these problems to some extent, we studied annual changes in the ovarian development of largemouth bass. We analyzed the effects of water temperature and photoperiod change to ovarian development and explored the method of out-of-season spawning of largemouth bass. In the experiment, we used morphology and histology to compare the ovarian development characteristics of largemouth bass. We explored the effects of temperature and sex hormones on the development of gonads in largemouth bass through temperature-manipulation and maturation-promoting.

In the present work, we found that the annual change of female *GSI* in the central China region was between 0.63% and 7.95%. During the period from mid-October to early December, when the water temperature dropped from 20.6°C to 11.0°C, the ovaries began to develop to the stage III and overwintered with stage III. Largemouth bass initiated spawning in the middle of April and ended at the end of May. The absolute fecundity of about 80% of the female fish before spawning was between 45,000 and 65,000 eggs, but it was significantly affected by the increase of water temperature. About 15% of the mature eggs in the ovaries fail to spawn and degenerate and more than half eggs were not spawned with 4.6% *GSI* after the end of spawning. There was a significant negative correlation between *GSI* and *MFI* or *HSI* in the female largemouth bass from October to April of the following year, indicating that during this period, the energy stored by the body was transferred to the gonads. In the out-of-season spawning experiment of largemouth bass, we used well water to adjust the water temperature to promote the initiation and development of the gonads of largemouth bass. After 3 months of treatment, the ovaries of the temperature-manipulation group developed to the end of stage IV, with *GSI* of 4.06% for females and 0.89% for males, while the ovaries of the control group were in stage III, with *GSI* of 2.52% for females 0.73% for males. Results showed that the gonadal development of largemouth bass can be regulated by temperature manipulation. Finally, we summarized the culture methods and treatment details in out-of-season spawning, to guide large-scale out-of-season spawning of largemouth bass.

Key words: Largemouth bass; Annual ovarian development; Out-of-season spawning; Spawning duration; Water temperature; Photoperiod