

文章编号:1000-0615(2009)01-0053-07

人工诱导花鳗鲡的精巢发育成熟及其精子的生物学特性

周雯伊¹, 黄海^{1,2}, 尹绍武¹, 齐鑫¹,
张勇², 刘晓春², 陈国华¹, 林浩然^{1,2}

(1. 海南大学海洋学院暨热带生物资源教育部重点实验室, 海南海口 570228;

2. 中山大学水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东广州 510275)

摘要:用肌肉注射 HCG 的处理方式(剂量为 500 U/kg 体重,每周注射 1 次,注射时间为 6 周)诱导雄性花鳗鲡性腺发育成熟,成熟率达 80.0%。对人工催熟花鳗鲡精子的生物学特性研究表明:花鳗鲡精子头部长径为(3.81 ± 0.69) μm,短径为(1.24 ± 0.15) μm;尾部长度为(24.83 ± 3.05) μm;精液 pH 为 7.3 ~ 7.5,精子密度每毫升 1.02 × 10¹⁰尾。精子的适宜盐度为 15 ~ 20,其中盐度为 15 时,精子激活比率最高,快速运动时间以及精子的寿命最长。精子的 pH 适宜范围为 6.0 ~ 8.0,pH 值过高或过低都会影响精子的活力与寿命。另外,4 种金属离子(Mg²⁺、Ca²⁺、Na⁺和 K⁺)对花鳗鲡精子活力与寿命的影响趋势基本一致,金属离子浓度过高或过低都会抑制精子的活力、缩短快速运动时间和寿命。而 MgCl₂、CaCl₂、KCl、NaCl 溶液浓度为 0.4 ~ 0.6 g/mL 时,精子活力最好,最高激活比率为 3 级(41.0% ~ 60.0%)。

关键词:花鳗鲡;人工诱导;精巢;精子活力

中图分类号:S 917

文献标识码:A

花鳗鲡(*Anguilla marmorata*)俗名又称鲈鳗、花鳗、雪鳗、鳙王、溪鳗等,在分类学中属于硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鳗鲡目(Anguilliformes)、鳗鲡科(Anguillidae)、鳗鲡属(*Anguilla*),是鳗鲡属鱼类中分布最广的种类,分布范围东至太平洋的中部诸岛,西至印度洋的马达加斯加岛,南至澳大利亚南部,北至朝鲜、日本南部。在我国主要见于海南、广东、福建、台湾等省的河流及海域中^[1]。近年来,由于过度捕捞、环境污染、拦河建坝等人类活动加剧,花鳗鲡的自然资源明显减少,我国已将其列为二级保护动物。花鳗鲡不但肉质鲜美,营养价值高,而且有药用价值,系优质食用鱼类。目前,海南等地积极发展花鳗鲡人工养殖业,市场前景广阔,产业发展势头良好,已成为淡水养殖的名贵新品种。然而,鳗鲡属鱼类的人工繁殖技术至今仍未解决。养殖鳗苗全部依赖于捕捞野生鳗

苗,造成自然资源的急剧衰退。因此,本研究以养殖花鳗鲡为对象,借鉴日本鳗鲡等^[2-4]人工催熟方法,利用外源激素诱导雄鳗性腺发育成熟,首次成功获得有活性的精子,并对其生物学特征进行详细观察和分析,为花鳗鲡的人工繁殖研究提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 实验鱼

2007年4月23日从海南文昌金山花鳗科技有限公司购买23尾雄性花鳗鲡,体重为0.425 ~ 0.875 kg,全长为55 ~ 66 cm。每尾实验鱼在规格为100 cm × 60 cm × 50 cm的淡水水族箱中驯养2周,驯养期间投喂,鱼正常摄食。然后开始催熟实验,水温控制在22 ~ 26 °C之间,实验期间投喂,但实验组鱼不摄食。

收稿日期:2008-02-01 修回日期:2008-05-09

资助项目:国家自然科学基金面上项目(30770283);“十一五”国家科技支撑计划重点项目(2007BAD29B03);海南省教育厅高等学校科学研究项目(Hjkj2008-22);广东省科技兴海(渔)项目(B200701A06)

通讯作者:林浩然,E-mail:lsslhr@mail.sysu.edu.cn

1.2 实验设计

实验鱼随机分为对照组(8尾)和实验组(15尾),对照组注射生理盐水,实验组每周肌肉注射HCG,剂量为500 U/kg体重,处理时间为6周。实验结束后称体重、性腺重、肝脏重和消化道重,然后计算性腺系数、肝体系数、消化道系数,计算方法:性腺系数=(生殖腺重/体重)×100%;肝体系数=(肝脏重/体重)×100%;消化道系数=(消化道重/体重)×100%。取部分性腺用Bouin氏液固定后经脱水,石蜡包埋,切片厚5~7 μm, H. E染色进行组织学观察。

1.3 精子采集与精子形态观察

用干净纱布抹干鱼体生殖孔周围的水分,然后轻压腹部,挤出精液,用干净消毒的注射器吸取刚挤出的新鲜精液,置于冰浴的1.5 mL离心管中(采精过程中要防止水溅入精液,避免粪、尿污染)。精子涂片:精液用甲醛固定,姬姆萨-瑞氏法染色,干燥后置于显微镜下观察。精子扫描电镜:用pH 7.4磷酸缓冲液冲洗精液样品2次,再加适量的4%戊二醛固定12 h;丙酮梯度脱水后,用100%醋酸异戊酯置换30 min;取少许处理后的精液均匀地涂在锡箔纸上自然干燥,再用E-1010离子溅射镀膜仪喷金,S-3 000N型扫描电镜观察。

1.4 精液 pH、精子密度测定

用精密pH试纸测定精液pH值。精子密度的测定用精液稀释剂(NaCl 13.50 g/L, KCl 0.60 g/L, CaCl₂ 0.25 g/L, MgCl₂ 0.35 g/L, NaHCO₃ 0.20 g/L)将精液稀释1 000倍,用血球计数板在显微镜下计数。

1.5 精子活力与寿命测定

实验液配置 用自然海水、去离子水、NaCl溶液配制成盐度范围为0~40的溶液,共设8个梯度;以去离子水滴加0.2 mol/L HCl和0.2 mol/L NaOH溶液调配pH范围为4.0~11.0的酸碱度溶液,共设8个梯度;另配置浓度范围从0.2%~1.0%的NaCl、KCl、CaCl₂和MgCl₂溶液,共设8个梯度。所有实验水温范围在23~25℃之间。

测定方法 用小吸管吸一滴实验溶液于载玻片上,解剖针挑取少许新鲜精液置入载玻片的液滴中,立即在显微镜下观察精子被激活后的各

种运动状况,并统计所经历的时间,每尾鱼重复试验4次,取其平均值。参照邓岳松等^[5]方法,将精子激活比例(精子活力)分为6个等级:0级,活动精子比例<1.0%;1级,活动精子比例为1.0%~20.0%;2级,活动精子比例为21.0%~40.0%;3级,活动精子比例为41.0%~60.0%;4级,活动精子比例为61.0%~80.0%;5级,活动精子比例为81.0%~100.0%。精子快速活动时间是指精子自激活开始至90%的精子原地颤动为止的时间。精子的寿命是指精子自激活开始至停止运动所经历的时间。

2 结果

2.1 人工催熟效果

8尾注射生理盐水的实验对照组雄鳊经6周后观察无1尾精巢发育成熟,组织学切片结果表明精巢发育处于I和II期。精巢I期即精原细胞增殖前期,精巢中的生精囊中有多个聚集成群的精原细胞,精原细胞形大,圆形或椭圆形,核膜染色较深,核内有一个被苏木精染成深紫色的大核仁(图版-1)。精原细胞继续进行有丝分裂,进入精巢II期即精原细胞增殖后期,此时精巢小叶中壶腹形成腺泡状,壶腹中有多层精原细胞层,壶腹腔明显,这时期的精原细胞仍呈圆形或椭圆形,但因经过分裂,细胞直径略小(图版-2)。15尾注射HCG的试验组雄鳊中,12尾性腺完全成熟并排精,精巢发育处于V期,即精子完全成熟期,此时精巢中除可见精子细胞外,壶腹腔中充满了变态成熟的精子(图版-3);另3尾性腺发育达到IV期,精巢壶腹腔中几乎充满了圆形的精子细胞和成熟的精子,亦接近成熟(图版-4),成熟率为80.0%。对照组8尾鱼的平均性腺系数为 0.17 ± 0.06 ,平均肝体系数为 0.87 ± 0.19 ,平均消化道系数为 1.28 ± 0.23 ,而实验组15尾的平均性腺系数为 9.57 ± 2.1 ,平均肝体系数为 1.46 ± 0.82 ,平均消化道系数为 0.88 ± 0.31 (表1)。结果表明,实验组平均性腺系数极显著高于对照组,平均肝体系数显著高于对照组,平均消化道系数显著低于对照组。同时,对照组鱼的平均体重在试验前后无明显变化,而实验组鱼的平均体重由0.685 kg下降到0.630 kg。

表 1 人工诱导雄性花鳗鲡性腺发育成熟的结果

Tab. 1 The results of artificial induction sexual maturation in male marble eels

花鳗鲡 <i>A. marmorata</i>	尾数(<i>n</i>) mantissa	性腺发育状况 status of gonadal development	性腺系数(%) gonadosomatic index	肝体系数(%) liver coefficient	消化道系数(%) tract coefficient	成熟率(%) maturation rate
对照组 control group	8	处于 I ~ II 期	0.17 ± 0.06	0.87 ± 0.19	1.28 ± 0.23	0.0
实验组 experimental group	15	12 尾完全成熟, 3 尾发育到 IV 期	9.57 ± 2.1	1.46 ± 0.82	0.88 ± 0.31	80.0

2.2 精子形态特征以及精液 pH、精子密度

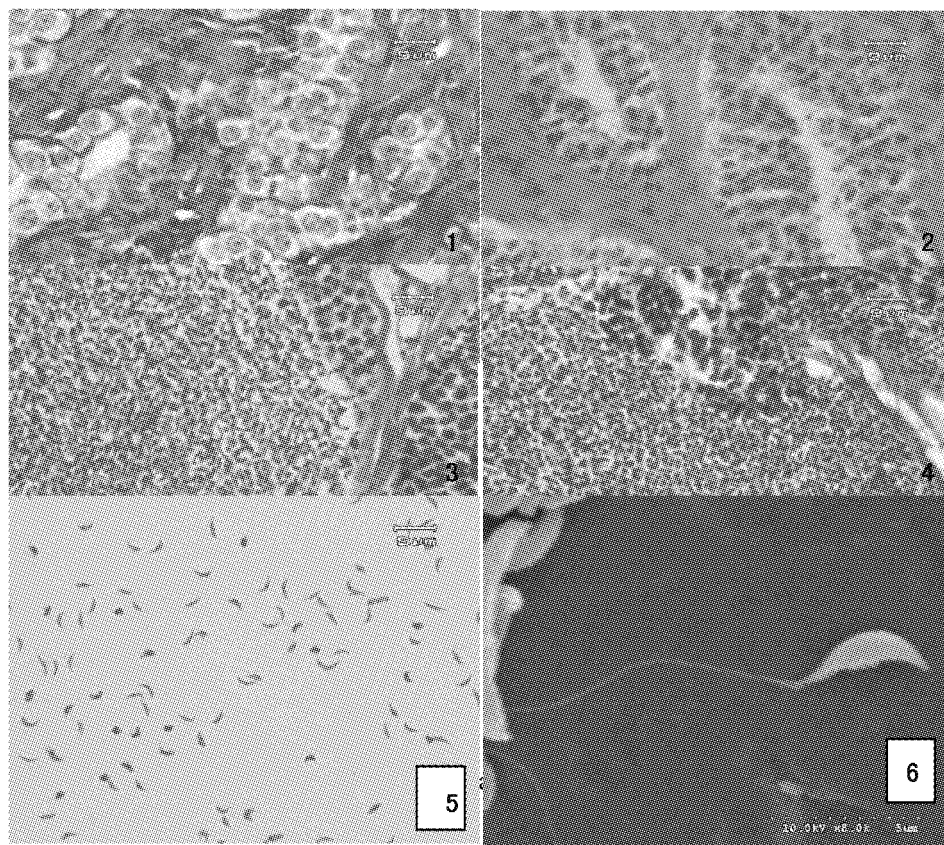
花鳗鲡精子分为头部与尾部(鞭毛)两部分,头部呈“眉形”或“新月形”,尾部鞭毛状,细而长。精子头部长径为(3.81 ± 0.69) μm,短径为(1.24 ± 0.15) μm;尾部长度为(24.83 ± 3.05) μm(图版-5,6)。花鳗鲡精液 pH 为 7.3 ~ 7.5,精子密度约每毫升 1.02 × 10¹⁰。

2.3 精子活力和寿命

不同盐度对花鳗鲡精子活力的影响 花鳗鲡精子的适宜盐度范围为 15 ~ 20,其中盐度 15 时,精子的激活比率最高,快速运动时间以及精子寿命最长(表 2)。随着盐度降低或升高,精子活力下降,精子的快速运动时间和寿命缩短。当盐

度为 0 和 40 时,精子不能被激活。而放在自然海水中,虽然有部分精子被激活,但活力很差,被激活的精子不能快速运动,而且寿命很短,仅为 29.83 s。

不同 pH 对花鳗鲡精子活力的影响 从表 3 中可见,当 pH 值为 7.0 时,精子激活比例最高,达到 3 级;而当 pH 值为 8.0 时,精子的快速运动时间(96.15 s)和寿命(149.61 s)最长。pH 值过高或过低都会影响精子的活力与寿命。当 pH 为 4.0 和 11.0 时,精子激活比例极低,被激活的精子不能快速运动,仅在原地颤动,精子几乎没有活力。说明花鳗鲡精子的 pH 适宜范围应为 6.0 ~ 8.0。



图版 Plate

表2 不同盐度对花鳗鲡精子活力的影响

Tab.2 Effects of different salinity on the sperm motility of marble eels

	盐度 salinity							
	0	10	15	20	25	30	33(海水)	40
激活率等级(活力) activation rate	0	1	2	2	1	1	1	0
平均快速运动时间(s) fast movement time	0	76.16	141.49	89.45	50.14	9.20	0	0
平均寿命(s) life span	0	163.93	219.39	154.72	103.99	51.84	29.83	0

表3 不同pH对花鳗鲡精子活力的影响

Tab.3 Effects of different pH on the sperm motility of marble eels

	pH值 pH value							
	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	11.0
激活率等级(活力) activation rate	0	0	2	3	2	1	0	0
平均快速运动时间(s) fast movement time	0	4.43	44.62	79.48	96.15	48.12	13.72	0
平均寿命(s) life span	7.09	14.59	104.18	148.11	149.61	83.52	30.09	7.92

不同金属离子(Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 和 K^+)对花鳗鲡精子活力的影响。4种离子(Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 和 K^+)对花鳗鲡精子活力与寿命的影响趋势基本一致(表4~表7)。离子浓度高或低都会抑制精子的活力、缩短快速运动时间与寿命。

$MgCl_2$ 、 $CaCl_2$ 、 KCl 、 $NaCl$ 溶液浓度为0.4~0.6 g/mL时,精子活力较好。但花鳗鲡精子在浓度0.8 g/mL的 $MgCl_2$ 溶液中仍有较高的激活比率和较长的寿命,说明花鳗鲡对 Mg^{2+} 的适应能力较 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 的要强。

表4 不同 Mg^{2+} 浓度对花鳗鲡精子活力的影响Tab.4 Effects of different concentrations of Mg^{2+} on the sperm motility of marble eels

	Mg^{2+} 浓度(g/mL) concentration				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
激活率等级(活力) activation rate	1	2	3	2	0
平均快速运动时间(s) fast movement time	7.76	95.21	84.14	54.05	0
平均寿命(s) life span	16.37	143.98	163.45	82.06	6.86

表5 不同 Ca^{2+} 浓度对花鳗鲡精子活力的影响Tab.5 Effects of different concentrations of Ca^{2+} on the sperm motility of marble eels

	Ca^{2+} 浓度(g/mL) concentration				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
激活率等级(活力) activation rate	1	2	2	1	0
平均快速运动时间(s) fast movement time	5.40	79.45	73.02	51.19	0
平均寿命(s) life span	22.33	146.41	115.75	83.10	13.25

表6 不同 K^+ 浓度对花鳗鲡精子活力的影响Tab.6 Effects of different concentrations of K^+ on the sperm motility of marble eels

	K^+ 浓度(g/mL) concentration				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
激活率等级(活力) activation rate	1	2	2	1	0
平均快速运动时间(s) fast movement time	7.19	83.69	85.05	58.63	0
平均寿命(s) life span	24.83	148.44	144.37	81.23	7.97

表7 不同 Na^+ 浓度对花鳗鲡精子活力的影响Tab.7 Effects of different concentrations of Na^+ on the sperm motility of marble eels

	Na^+ 浓度(g/mL) concentration				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
激活率等级(活力) activation rate	1	2	2	1	0
平均快速运动时间(s) fast movement time	5.35	86.37	75.26	62.79	0
平均寿命(s) life span	14.41	148.66	142.31	102.90	7.13

3 讨论

3.1 雄性鳗鲡催熟技术

雄性鳗鲡的催熟方法主要有肌肉注射 HCG、肌肉注射或腹腔埋植雄烯二酮(ADSD)、肌肉注射鲤鱼脑垂体 CPE 或鲑鱼脑垂体 SPE、腹腔埋植甲基睾酮(MT)等^[5-10]。从催熟效果、操作难易程度来看,肌肉注射 HCG 是一种较为成熟的、理想的催熟方法,该方法已在日本鳗鲡、欧洲鳗鲡、澳洲鳗鲡、美洲鳗鲡、新西兰长鳍鳗等种类上取得成功^[10-14]。本研究采用了肌肉注射 HCG 的方法第一次成功地诱导雄性花鳗鲡性腺发育成熟并排精,成熟率高达 80.0%,未成熟的 3 尾性腺也发育明显达到 IV 期(图版-4),催熟效果较为理想。但从精子活力来看,花鳗鲡精子活力尚略低于日本鳗鲡等其他鱼类^[15-16],其原因还有待进一步研究。

3.2 关于鳗鲡精子的形态学

研究发现日本鳗鲡精子由头部与尾部两部分组成,头部呈“眉形”或“新月形”^[17-18]。而章龙珍等^[19]认为日本鳗鲡精子有两种形态。一种个体较小,头部呈圆形或近似圆形的是正常形态的精子;另一种头部呈“眉形”或“新月形”的是非正常形态的精子。我们的研究表明,花鳗鲡只有一种形态的精子,其精子呈“眉形”或“新月形”。由此看来,鳗鲡属鱼类是否存在两种形态的精子还值得商酌。花鳗鲡精子的头部大小与尾部长度的明显小于日本鳗鲡^[16,19]。另外,我们在透射电镜下观察到花鳗鲡精子头部上端弯曲处有球状物的存在,这与日本鳗鲡、欧洲鳗鲡的精子相似^[20]。

3.3 盐度、pH 和金属离子对花鳗鲡精子活力的影响

盐度是影响鱼类精子活力的主要因子之一。一般来讲,鱼类精子在不同盐度中的活力与其栖息繁衍环境是一致的。我们的实验结果表明,盐度对花鳗鲡精子的激活比例(活力)、快速运动时间和寿命都有明显影响。花鳗鲡在盐度为 15~20 时精子激活比率较高、快速运动时间和寿命较长,盐度过高或者过低都会抑制精子的活力甚至使其丧失活力。由此看来,花鳗鲡精子的适应盐度应在 15~20 之间,该盐度范围与河口海水的盐度接近,这是否意味着花鳗鲡的产卵、受精过程是在河口附近进行的。但 Miller 等^[1]研究认为

北太平洋花鳗鲡群体的产卵场在马来西亚群岛以东海域。谢刚等^[16]对日本鳗鲡研究表明日本鳗鲡精子的适宜盐度为 20~35,精子寿命与海水鱼类相似,反映了日本鳗鲡在海洋中繁殖的特征。而花鳗鲡精子的适宜盐度为 15~20,精子寿命介于淡水鱼与海水鱼之间。两者间的明显差异是否真正反映了它们的种间差异,或是由于其他原因还有待进一步探讨。

鱼类精子对 pH 的适应范围较广,一般是精子在中性和偏碱的溶液中活力较强,在酸性溶液中活力较差。尽管如此,不同鱼类对 pH 的适应能力还是存在一定的差异。如日本鳗鲡精子的耐受范围为 5.4~11.0,适宜范围为 7.0~9.0^[15];大口鲈精子的耐受范围为 3.0~9.0,适宜范围为 6.0~8.0^[21];大黄鱼精子的耐受范围为 4.1~10.02,适宜范围为 6.6~8.5^[22]。本实验研究表明,花鳗鲡精子在 pH 为 5.0~10.0 范围内都具有一定活力,其中 pH 为 7.0~8.0 时,精子活力最强。可知花鳗鲡精子的 pH 耐受范围为 5.0~10.0, pH 适宜范围为 7.0~8.0。由于海水与河口水通常呈碱性, pH 一般在 7.5~8.2,淡水水域 pH 一般在 6.5~8.5。因此,由此推测 pH 可能不是影响鱼类繁殖的主要因素。

Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 与 K^{+} 是鱼类精浆的重要组成部分,也是形成精浆渗透压的主要离子。不同离子对鱼类精子的影响不同,同种离子对精子活动的影响也因鱼的种类不同而有所差异。我们的实验结果表明, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} 四种金属离子对花鳗鲡精子的影响相似。4 种离子浓度在 0.4~0.6 g/mL 之间,精子的运动时间与寿命最长,活力最好。精子在含 Mg^{2+} 的溶液中快速运动时间与寿命比在其他 3 种离子中的要长一些。但花鳗鲡精子激活比例很低,最高的仅达 3 级,而日本鳗鲡精子最高可达 5 级;花鳗鲡精子快速运动时间与寿命也明显低于日本鳗鲡^[15],这可能是花鳗鲡资源匮乏的原因之一。

参考文献:

- [1] Miller M J, Mochioka N, Otake T, et al. Evidence of a spawning area of *Anguilla marmorata* in the western North Pacific [J]. *Marine Biology*, 2002, 140:809-814.
- [2] 王义强,赵长春,施正峰,等.河鳗人工繁殖的初步研究[J]. *水产学报*, 1980, 4(2):147-156.

- [3] Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, *et al.* Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica* [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1997, 17:163-169.
- [4] 谢 骏, 余德光, 王广军, 等. 人工诱导池塘养殖鳗鲡成熟产卵以及胚胎和仔鱼发育[J]. *水产学报*, 2005, 29(5):687-694.
- [5] 邓岳松, 林浩然. 埋植雄烯二酮一次诱导雄性日本鳗鲡性腺发育成熟的研究[J]. *海洋科学*, 2000, 24(4):34-37.
- [6] 邓岳松, 林浩然, 许梓荣. 注射含雄烯二酮的微囊诱导日本鳗鲡性腺发育成熟的研究[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2002, 28(1):59-63.
- [7] 邓岳松, 林浩然, 谢 骏, 等. 注射含 HCG 和 CPE 的 W/O/W 复乳诱导日本鳗鲡性腺发育成熟的研究[J]. *中国水产科学*, 2001, 8(2):44-47.
- [8] Sato N, Kawazoe I, Suzuki, *et al.* Development of an emulsion prepared with lipophilized gelatin and its application for hormone administration on the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1997, 17:171-178.
- [9] 张利红, 张为民, 林浩然. 雄烯二酮和甲基睾酮诱导雄性日本鳗鲡性腺发育的作用[J]. *动物学研究*, 2001, 22(2):89-9.
- [10] Kagawa H, Tanaka H, Ohta H, *et al.* The first success of glass eel production in the world: basic biology on fish reproduction advances new applied technology in aquaculture [J]. *Fish Physiol Biochem*, 2005, 31:193-199.
- [11] Lokman P M, Young G. Induced spawning and early ontogeny of New Zealand freshwater eels (*Anguilla dieffenbachii* and *A. australis*) [J]. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 2000, 34:135-145.
- [12] Pérez L, Aturiano J F, Tomás A, *et al.* Induction of maturation and spermiation in the male European eel: assessment of sperm quality throughout treatment [J]. *Journal of Fish Biology*, 2000, 57: 1488-1504.
- [13] Pedersen B H. Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilisation of the eggs [J]. *Aquaculture*, 2003, 224:323-338.
- [14] Sorensen P W, Pankhurst N W. Histological changes in the gonad, skin, intestine and olfactory epithelium of artificially-matured male American eels, *Anguilla rostrata* [J]. *Journal of Fish Biology*, 1988, 32(2):297-307.
- [15] 邓岳松, 林浩然. 渗透压和 pH 对日本鳗鲡精子活力的影响[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2000, 39(4):85-89.
- [16] 谢 骏, 王广军, 潘德博, 等. 离子浓度和一氧化氮供体对池塘养殖鳗鲡精子活力的影响[J]. *水产学报*, 2003, 27(4):386-390.
- [17] 谢 刚, 叶 星, 苏植蓬, 等. 鳗鲡精子的主要生物学特性[J]. *上海水产大学学报*, 1999, 8(1):81-84.
- [18] Takeshi M, Nobutaka A, Chiemi M, *et al.* Comparative studies between in vivo and in vitro spermatogenesis of Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Zoological Science*, 2002, 19:321-329.
- [19] 章龙珍, 乔振国, 庄 平, 等. 人工催熟日本鳗鲡精子的显微和超微结构[J]. *水产学报*, 2006, 30(5):611-617.
- [20] Okamura A, Zhang H, Yamand Y, *et al.* Re-examination of spermatzoal ultrastructure of eels: observations of the external morphology of spermatozoa in three species [J]. *Journal of Fish Biology*, 2000, 57:161-169.
- [21] 罗相忠, 邹桂伟, 潘光碧. 大口鲶精子生理特性的研究[J]. *淡水渔业*, 2002, 32(2):50-53.
- [22] 林丹军, 尤永隆. 大黄鱼精子生理特性及其冷冻保存[J]. *热带海洋学报*, 2002, 21(4):69-75.

Artificial induction of testicular maturation and biological character of spermatozoa in marble eels (*Anguilla marmorata*)

ZHOU Wen-yi¹, HUANG Hai^{1,2}, YIN Shao-wu¹, QI Xin¹,
ZHANG Yong², LIU Xiao-chun², CHEN Guo-hua¹, LIN Hao-ran^{1,2}

(1. College of Ocean, Hainan University, Key Laboratory of Tropical Biology
Resources, Ministry of Education, Haikou 570228, China;

2. Guangdong Provincial Key Laboratory for Aquatic Economic Animals,
Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: In this study, artificial induction of testicular development and maturation in male marble eels was carried out by muscular injection of HCG (6 weekly injection of HCG at a dose of 500 U/kg per body weight) and the rate of sexual maturation reached 80.0%. The long diameter and the short diameter of the spermic head was $(3.81 \pm 0.69) \mu\text{m}$, and $(1.24 \pm 0.15) \mu\text{m}$, respectively. The length of the spermic tail was $(24.83 \pm 3.05) \mu\text{m}$. The pH value of sperm was 7.3–7.5. The density of spermatozoa from marble eels was 1.02×10^{10} ind/mL. The range of suitable salinity was 15–20, when the salinity of water was 15, the spermatozoa had the best motility, and the spermatozoa had the longest life. The suitable pH of spermatozoa was 6.0–8.0, high or low pH value could restrain the mobility and shortened the longevity. The trends that affected the spermatozoa mobility and life span were almost consistent by four kinds of metallic ions (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , and K^+). When the concentration of solution was too low or too high, the spermatozoa mobility was restrained, and the spermatozoa quick movement time and life span were shortened. When the concentration of MgCl_2 , CaCl_2 , KCl , and NaCl solutions were 0.4–0.6 g/mL, the spermatozoa mobility was the best, and the highest initiated rate of the spermatozoa reached 41.0%–60.0%.

Key words: *Anguilla marmorata*; artificial induction; testis; spermatozoa mobility