

银鲳卵巢发育与磷酸酶 ACP 及 AKP 活性的关系

刘梦迪¹, 周楠楠¹, 王腾飞¹, 徐善良^{1,2}, 唐道军^{1*}

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315832; 2. 宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315832)

摘要: 为了探究人工养殖银鲳(*Pampus argenteus*)卵巢发育成熟过程中相关磷酸酶的变化规律, 采用组织切片的方法系统描述了各期卵巢的形态特征及其组织学结构变化, 并分析了其卵巢、肝脏和肌肉中酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)的活性。结果表明: (1)银鲳卵巢在II期末出现嗜碱性的卵黄核, 第3时相卵母细胞出现卵黄颗粒沉积现象; 至第4时相卵黄颗粒明显增多, 脂滴出现, 直至充满整个卵母细胞, 核开始偏位; 第5时相卵子内卵黄颗粒已融合成块状。(2)随性腺发育, 卵巢、肝脏和肌肉中 ACP 和 AKP 活性均表现出显著变化($P<0.05$); ACP 和 AKP 酶活性表现为: 卵巢>肌肉>肝脏, 在卵巢中 ACP 活性变化幅度为 18.742~73.381 U; AKP 为 41.272~63.370 U。(3)肌肉中的 ACP 和 AKP 以及肝脏中的 AKP 活性从I期至VI期均呈现下降趋势, 而卵巢中的 ACP 与 AKP 酶活性则先升后降。研究认为3种组织中 ACP 和 AKP 活性变化与银鲳卵巢发育中卵黄积累显著相关($P<0.05$)。

关键词: 银鲳; 卵巢发育; 酸性磷酸酶(ACP); 碱性磷酸酶(AKP)

中图分类号: S965.331

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2020) 06-0013-07

银鲳(*Pampus argenteus*)隶属于鲈形目(Perciformes)、鲳科(Stromateidae)、鲳属(*Pampus*), 广泛分布于印度洋至西太平洋, 南起波斯湾至印度尼西亚, 北至日本北海, 在中国以黄海南部和东海北部, 即吕泗渔场和舟山渔场^[1]分布较为集中。由于近年来的过度捕捞以及海洋环境的污染, 银鲳的野生资源受到了极大的破坏。郑元甲等^[2]、柳卫海等^[3]调查发现中国东海区银鲳的年龄、长度组成、性成熟等生物学指标均逐渐趋小, 可见银鲳资源已处于逐渐衰退过程, 人工繁育银鲳势在必行。

银鲳的繁殖生物学及育苗的研究起步较晚。自进入21世纪以来, 国内外许多学者对银鲳繁殖进行了相关研究^[4-14], 这些研究都为开展银鲳的人工育苗奠定了基础。龚启祥等^[5]、孙鹏等^[6]已分别对野生银鲳和养殖银鲳的卵巢发育进行过周年观察并将其分期, 后者还推测营养物质对银鲳卵巢的发育有较大的影响。酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷

酸酶(AKP)作为磷代谢过程中的重要酶类, 在营养物质的消化、吸收和运转过程中起重要作用, 也是动物体内重要的解毒体系^[15-16]。盛晓洒^[17]的研究认为 ACP 参与卵母细胞的退化与吸收, AKP 参与卵泡细胞中激素的吸收运转保证卵球的成熟, 研究还表明卵巢与肝脏中的磷酸酶活性变化规律基本一致。周定刚等^[18]研究表明 AKP 活性变化是与卵黄物质的代谢和卵母细胞的成熟过程相适应的。傅朝君等^[19]、贾玉东等^[20]、陈连水^[21]的研究都证实鱼类的磷酸酶分布及活性与卵巢发育密切相关。

本文将人工养殖条件下银鲳卵巢各个发育时期的组织学特征进行比较, 以及测定分析银鲳在性腺发育过程中其肌肉、肝脏与卵巢中 ACP 和 AKP 活性的变化, 探讨 ACP 和 AKP 在银鲳卵巢成熟过程中的意义, 为银鲳亲鱼培育过程中不同阶段的营养供给提供参考, 对开展银鲳大规模人工育苗及性腺发育调控的研究具有重要的指导意义。

收稿日期: 2020-04-05.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(31872586); 浙江省重大科技专项(2019C02059); 浙江省自然科学基金(LY18C190008)。

第一作者: 刘梦迪(1994-), 女, 安徽阜阳人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 鱼类健康养殖。E-mail: 1722764031@qq.com

*通信作者: 唐道军(1984-), 男, 湖南永州人, 实验师, 主要研究方向: 水产养殖。E-mail: tangdaojun@nbu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料取自浙江省象山港湾水产苗种有限公司的银鲳室内养殖池,自然水温 15.7~29.2℃、pH 8.0~8.3、盐度 16~26,从 2 月龄开始连续取样,每月定期随机取样 10~15 尾,共采集样品鱼 183 尾,鱼体重 3.13~188.78 g,体长 51~184 mm。

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集

每次取样时将银鲳置于冰盘上进行解剖,首先观察性腺的形态并拍照,解剖后分别取雌鱼卵巢、肝脏及肌肉组织,每个时期取 5 尾以上。卵巢组织切片样品在 Bouin's 液中固定,酶活测定样品经生理盐水冲洗后用滤纸吸干,称重后-80℃保存。各组织用预冷的生理盐水制备成 1:9 的匀浆液,匀浆过程在冰浴中进行。

1.2.2 卵巢切片样品的制作

取 Bouin's 液中固定的卵巢组织,固定后切取小块卵巢,采用梯度酒精脱水,二甲苯透明(V期卵巢叔丁醇透明),石蜡包埋, H-E 染色,中性树胶封片, OLYMPUS-BX60 显微镜观察。参照刘筠^[22]和楼允东^[23]的分期方法对银鲳卵巢发育进行分期。

1.2.3 酶活测定

样品蛋白定量:取 0.05 mL 10%组织匀浆后的上清液,采用考马斯亮兰蛋白试剂盒测定。AKP 与 ACP 酶活测定:采用磷酸苯二钠法,定义每克组织蛋白在 37℃与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个 ACP 的活力单位(U)与 1 个 AKP 的活力单位(U)。测定所使用试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供,按照说明书上的要求和步骤进行实验。每个样品分 3 个平行样。

1.3 数据处理

所测数据采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA);统计间若有显著差异,应用 Duncan 法进行组间差异显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著。试验数据均以平均值±标准差来表示。

2 结果与分析

2.1 卵巢发育形态学及组织学

银鲳的卵巢分布在肾脏和消化道之间。成熟

的卵巢为一对左右对称呈倒“L”型的囊状结构,上叶尖小,下叶膨大。根据卵巢发育的形态、颜色以及卵细胞的变化,可将其分为 6 个时期。

I期卵巢:黑色丝线状,被一层结缔组织包被。切片观察发现,卵巢中以第 1 时相卵母细胞为主,但也有较多椭圆或梨形的卵原细胞,细胞直径为 13.2~49.1 μm。卵母细胞的细胞质被染成紫色,显嗜碱性,核内嗜酸性的染色质染色呈红色(图 1(a))。

II期卵巢:浅灰色棒状。切片中主要为第 2 时相卵母细胞,还存在少量的卵原细胞。此时卵母处于小生长期,呈圆形或椭圆形,核内存在 5~17 个大小不一的核仁,染色质呈细线状,细胞外周仅有单层滤泡膜(图 1(b))。该时期卵母细胞一直增大,核仁沿核膜分布,细胞直径达 90.54~131.61 μm,细胞质的嗜碱性随之减弱,在末期出现了嗜碱性的卵黄核(图 1(c))。

III期卵巢:卵巢体积明显增大,呈指状,卵巢膜外血管变得明显,肉眼可看到清晰的卵粒,此时的卵母细胞由小生长期进入大生长期。切片显示,卵巢主要由第 3 时相卵母细胞和少量第 2 时相卵母细胞组成,在同一个视野下,有 9~29 个核仁沿核膜分布(图 1(d))。该时期卵母细胞近球形,直径为 202.32~364.56 μm,卵母细胞外周的滤泡膜由一层变为两层,并出现了嗜酸性的放射带;细胞质中含有大小不一的液泡,以及在卵膜边缘出现沉积卵黄颗粒的现象(图 1(e))。

IV期卵巢:橙黄色囊状,呈倒“L”形,体积显著增大。肉眼可见半透明的卵粒,卵巢膜外血管变粗。视野内主要为第 4 时相卵母细胞,存在第 2、3 时相卵母细胞,核仁数量明显减少甚至消失。在整个 IV 期,卵母细胞体积持续增大,细胞直径可达 441.15~651.39 μm(图 1(f))。根据卵黄物质的积累和分布,可分为早、中、晚 3 期。早期:卵黄颗粒明显增多,分布在细胞膜的边缘,脂滴分布在细胞核周围,卵黄颗粒层和脂滴层有明显的界线。中期:卵黄颗粒继续增加,与脂滴相间分布并向细胞核聚集。晚期:卵黄颗粒大量积累直至充满整个卵母细胞,脂滴逐渐融合成较大的油球(图 1(g))。

V期卵巢:呈浅黄色,松软有弹性。卵粒饱满透明以游离状充满卵巢,卵巢中以 5 时相卵母细胞为主,但仍有一定量第 2~4 时相卵母细胞,切片显

示 5 时相卵母细胞中的卵黄颗粒已互相融合成块状, 胞质中出现大油球, 此时细胞直径为 627.17~911.51 μm , 油球直径达 228.63~344.24 μm (图 1(h)).

VI期卵巢: 卵巢松弛, 体积明显缩小, 卵巢表面有充血症状. 切片显示卵巢中有一定数量的第 2、3、4 时相卵母细胞, 其中第 2 时相卵母细胞中尚未出现卵黄物质, 第 3 时相卵母细胞开始出现卵黄物质的沉积, 第 4 时相卵母细胞中有较多的卵黄颗粒 (图 1(i)).

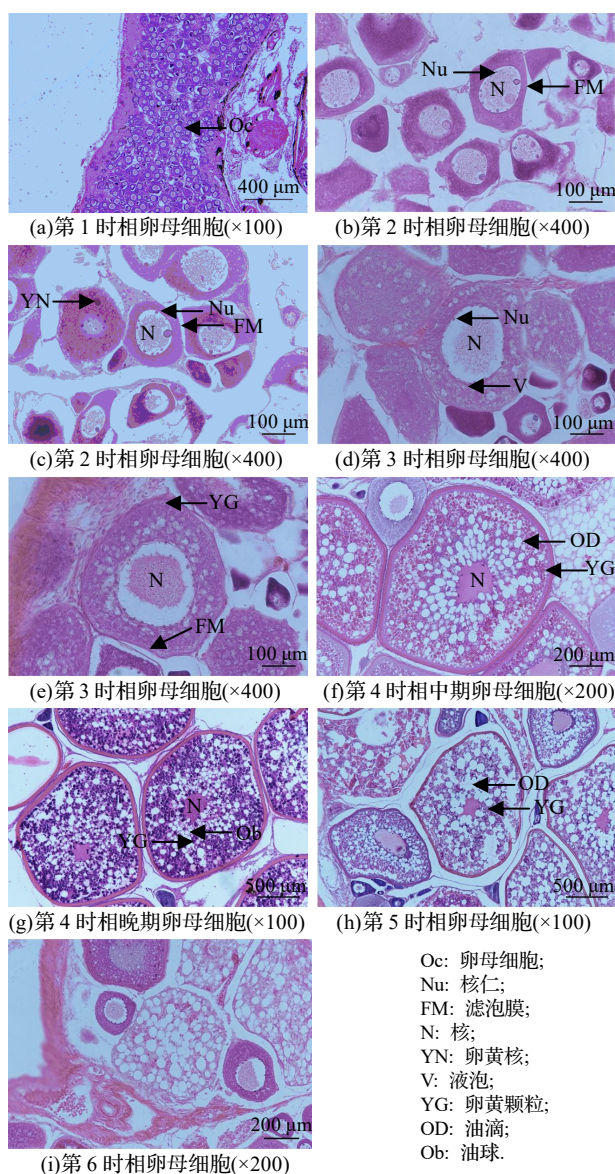


图 1 养殖银鲳不同发育时期卵巢组织学观察

2.2 银鲳 3 种组织中 ACP 活性的变化

在银鲳卵巢发育 6 个时期 3 种组织中 ACP 活力变化如图 2 所示. 由图 2 可见, 随着银鲳卵巢的

发育, 肌肉中 ACP 活性呈显著性持续下降 ($P < 0.05$), VI期时最低, 为 7.52 U, 仅为I期时的 18%; 肝脏中的 ACP 活性呈先上升再显著下降的单峰型, I期、II期 ACP 活性无显著变化 ($P > 0.05$), III期时 ACP 活性达到最高, 为 78.09 U, 此后迅速显著下跌 ($P < 0.05$), IV至VI期几乎无变化, 维持在 5.85~7.69 U, 不到峰值的 1/7; 卵巢中的 ACP 活性表现与肌肉、肝脏中的均不同, I期时 ACP 活性最低, II期时迅速升高, III期的 ACP 活性与II期持平, 峰值出现在IV期, 为 73.38 U, 是I期低谷值的 3.91 倍.

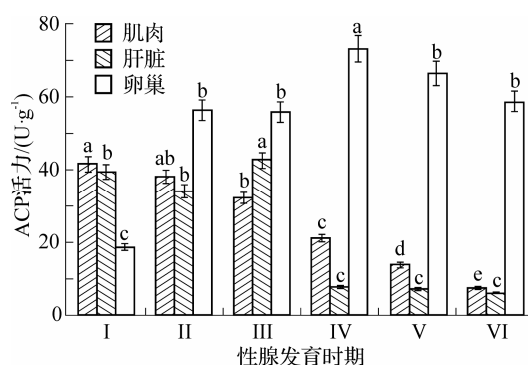


图 2 性腺发育 6 个时期肌肉、肝脏、卵巢中的 ACP 活性

3 种组织的 ACP 酶活依次为: 卵巢>肌肉>肝脏, 平均值分别为 54.96、25.69、22.81 U. 且 3 种组织中 ACP 活性的变化与性腺发育显著相关 ($P < 0.05$), 其中卵巢和肝脏中 ACP 活性与发育时期呈一元二次相关, 回归方程分别为: $Y = -4.4986x^2 + 38.587x - 11.887$ ($R^2 = 0.9087$) 和 $Y = -0.2946x^2 - 6.0341x + 48.404$ ($R^2 = 0.7393$), 肌肉中 ACP 活性呈直线回归, 回归方程为: $Y = -7.2616x + 51.105$ ($R^2 = 0.9812$). 由此可见, 3 种组织中 ACP 活性的变化与性腺发育均呈显著相关 ($P < 0.05$).

2.3 银鲳 3 种组织中 AKP 活性的变化

图 3 是银鲳卵巢发育不同时期 3 种组织中 AKP 活力变化情况. 随着银鲳卵巢的发育, 肌肉中 AKP 活性缓慢下降, 变化幅度为 20.41 U, III期时显著低于I期和II期, VI时 AKP 活性又显著低于III期 ($P < 0.05$); 肝脏中 AKP 活性则呈现较急剧的下降变化 ($P < 0.05$), 从I期时的 39.66 U 下降到VI期时的 3.35 U, 仅为I期时的 8.44%; 卵巢中的 AKP 活性表现为先降后升再降的双峰型趋势, 第 1 个低谷也是最低值出现在III期卵巢时, 为 41.27 U, 最高峰则出现在V期, 为 63.37 U, 是低谷值的 1.53 倍, VI期

时再次有所降低,与I期、II期和IV期 AKP 活性无显著差异($P>0.05$).

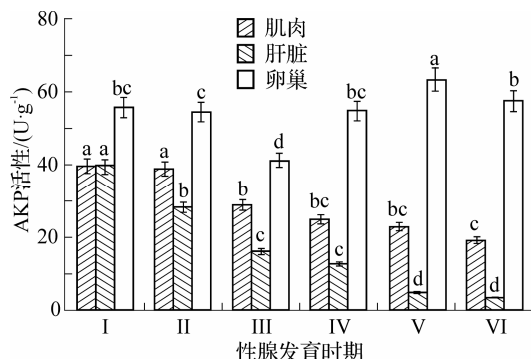


图3 性腺发育6个时期肌肉、肝脏、卵巢中的AKP活性

银鲳肌肉、肝脏、卵巢3种组织中AKP活性与卵巢发育显著相关($P<0.05$),其AKP活性与卵巢发育期的回归方程分别为: $Y = -4.3981x + 44.47$ ($R^2 = 0.9404$), $Y = -7.3015x + 43.076$ ($R^2 = 0.9388$) 和 $Y = 1.1599x^2 - 6.7111x + 60.465$ ($R^2 = 0.3202$).

3 讨论

3.1 银鲳卵巢发育卵黄颗粒的积累

银鲳卵巢发育的时期和大多数硬骨鱼类相似,可划分为6个时期.在银鲳早期卵母细胞中出现了可被碱性染料染色的卵黄核. Hubbard^[24]在1984年首次对该结构进行描述并称之为卵黄核.银鲳卵巢中的卵黄核在卵巢发育的II期出现,在III期开始分解破碎成卵黄颗粒并沉积在卵膜边缘,在IV期卵黄颗粒迅速增多,V期卵黄颗粒相互融合.银鲳卵母细胞中卵黄核的这种结构变化与曲焕涛等^[25]对长鳍吻鲈、代丽^[26]对稀有鲃、朱亮华等^[27]对黑鲢的研究结果基本一致.与卵黄核同时期出现的脂滴变化与卵黄颗粒的变化基本相同,这表明卵黄核与卵黄脂肪(脂滴)的出现密切相关,这也与林鼎等^[28]、宋海霞等^[29]对鳗鲡的研究结果基本相符.核仁是细胞核的主要成分,在卵母细胞发育过程中出现大小、数量的变化.龚启祥等^[30]对香鱼的研究表明外源性卵黄的形成与积累和卵母细胞核仁排出物密切相关,据此推测银鲳卵母细胞核仁的这种变化也与卵黄颗粒的沉积有关.

3.2 银鲳卵巢发育与ACP变化的关系

ACP是溶酶体的标志酶,主要定位于溶酶体和内膜系统^[31],在生物生长发育过程中扮演着极

其重要的角色.ACP的作用是在酸性环境中对外源异物的磷酸酯外表面进行水解,并且参与细胞中生物大分子的消化,同时在免疫方面扮演着重要的角色,维持细胞的正常代谢活动^[32].研究显示凡是在物质交换与营养物质吸收运转旺盛的器官中,ACP都表现出了极高的活性.ACP不仅参与了蛋白质的合成和分泌,还与生物钙质的吸收、甲壳素的分泌和胚胎的发育相关^[33].

卵巢中的ACP主要位于滤泡细胞中,随着卵球的发育成熟,直到临产前,其活性不断增强^[19,21],本研究的结果与之相一致.银鲳卵巢中ACP在性腺发育的I~IV期,其活性持续增强,而卵子产出后ACP活性则显著($P<0.05$)下降.盛晓洒^[17]研究也发现,在嘉陵江瓦氏黄颡鱼性腺发育成熟过程中,其成熟与排卵期卵巢中的ACP活性高于其他时期.而在性腺发育的II~IV期,卵母细胞中的卵黄颗粒不断沉积聚集,这说明ACP与卵巢发育过程中卵黄的生成与积累有关.由于雌鱼性腺发育过程中卵巢高效的物质交换和吸收运转需要大量的ACP,使得卵巢中ACP活性不断增强.尽管肝脏中ACP活性与卵巢中ACP活性一样在卵巢的发育过程中逐渐增加,但高峰比卵巢中更早到来,性腺发育到第III期时肝脏中ACP活性已达到最大值(42.65 U),随即肝脏中ACP活性陡降,但卵巢中ACP活性第IV期时才达到峰值(73.38 U),这是因为肝脏为性腺发育提供必要的卵黄营养,ACP则在肝脏储备的营养物质的动员以及合成转运过程起重要作用^[15-16].而肌肉是构成鱼体的主要结构蛋白,在卵巢发育的早期,表现为卵巢发育I期~II期时肌肉中ACP活性尚较高,而随着卵巢所需营养持续增加,肌肉仅维持正常代谢所需的营养物质,因此肌肉中ACP活性一直呈显著下降趋势($P<0.05$).周定刚等^[18]研究发现,黄鳝在性腺发育过程中,排卵期ACP活性要高于排卵后,银鲳卵巢中的ACP活性在第V期后显著下降,但仍极显著高于肝脏和肌肉组织,推测是由于卵巢中ACP参与了未产出的第IV、V卵母细胞的退化与吸收过程.同时,IV期到VI期的3种组织中ACP活力表现为:卵巢>肌肉>肝脏,这是因为此阶段卵巢中还进行磷和钙的代谢转化,肌肉在运动过程中也有大量的钙、磷等物质需要代谢,肝脏中钙、磷等物质的代谢反应则相对较少.

3.3 银鲳卵巢发育与 AKP 变化的关系

AKP 是非特异性磷酸单酯酶, 同时包含了镁离子和锌离子, 主要作用于细胞跨膜运输过程, 既是体内重要的解毒体系, 也与骨骼的钙化^[34-35]以及磷酸物质的转移、消化、吸收等有关. AKP 的定位和活性强弱可作为细胞或组织整体代谢活性值的指标. 研究表明, 卵巢的滤泡细胞中存在大量 AKP, 其活性与卵球成熟程度呈正相关, 从而维持卵球成熟过程中旺盛的代谢、激素合成、运转等生化反应^[36-37]. 姜永华等^[38]在研究南美白对虾时发现, 在卵子不同发育时期 AKP 和 ACP 在卵细胞中的分布和含量不同. AKP 能在碱性条件下水解单磷酸酯、磷酸核苷与 6-磷酸糖等化合物, 且能够生成无机磷酸与相应的醇、酚以及糖等物质^[39].

有研究表明, 草鱼卵巢中 AKP 活性随着卵母细胞的成熟而增强, 直至临产前突降^[19]. 本研究中, 卵巢中 AKP 活性自Ⅲ期显著上升, 这与Ⅲ期卵巢中第 3 时相卵母细胞外周的滤泡膜变为两层相吻合, 但Ⅵ期时其活性又出现了显著的下降($P<0.05$). 贾玉东等^[20]在研究大菱鲆时也证实, 在大菱鲆性腺发育过程中, 卵巢中的 AKP 活性在排卵期间会显著高于其他时间. 结果中可以看到卵巢中 AKP 活性在产卵前较低, 而肝脏与肌肉中的 AKP 活性则是在产卵后降到最低. 随着卵巢发育进入Ⅲ期, 其能量代谢、激素合成与物质的跨膜运输等活动均比较旺盛^[17], 至产卵期卵巢中 AKP 活性达到最高, 在此过程中卵细胞中的卵黄开始逐渐积累. 周定刚等^[18]发现黄鳝在临产前, 其 AKP 活性是产卵后的 6 倍左右, 产卵后降低则说明滤泡细胞已经完成了所担负的代谢、激素分泌和转运等功能, 卵巢退化进入恢复期, 卵巢中的代谢活动相对减弱, 所以 AKP 活性没有继续上升. 这说明蛋白质(主要是卵黄蛋白)的积累对银鲳卵巢发育成熟起到至关重要的作用. 肝脏则是合成产生卵黄原蛋白的场所, Quackenbush^[40]也认为肝胰腺参与卵黄的形成, 卵黄蛋白主要在卵巢发育的Ⅰ~Ⅱ期合成, 并不断增加, Ⅲ期是卵黄积累的关键时期, 肝脏源源不断地向卵巢输送卵黄原蛋白, 至Ⅳ期时卵母细胞中卵黄物质已经充满, 所以, 至Ⅴ期产卵后快速下降. 由此可推测, 银鲳在卵巢发育过程中, 随着卵巢成熟, 肝脏的主要功能性供能在下降, 营养物质及 AKP

向性腺转移, 包括物质代谢与激素代谢的功能均受到影响. 肌肉中 AKP 活性的下降趋势与肝脏相同, 但各时期均高于肝脏中 AKP 活性, 由于在性腺发育过程中银鲳的体型也在生长, 相对于成鱼阶段, 幼年期的代谢更加旺盛, 故肌肉组织中 AKP 含量逐渐降低.

3.4 银鲳性腺发育后期磷酸酶活性变化的协同性

卵巢中的 AKP 和 ACP 均主要位于滤泡细胞内, 随着卵球的成熟, 直到临产前, 其活性持续增强. 银鲳卵巢在产卵及恢复期(Ⅴ、Ⅵ期), 卵巢、肝脏、肌肉中的 AKP 和 ACP 变化出现协同性, 表现为产卵后活性均一致下降. 盛晓洒^[17]发现随着卵巢的发育成熟, 在 1~3 月, 瓦氏黄颡鱼卵巢中 AKP 和 ACP 的活性变化也出现协同性, 表现为一致上升. 这说明在银鲳卵巢处于Ⅴ、Ⅵ期, 需要 AKP 和 ACP 共同作用以完成银鲳的排卵和退化吸收过程, 这与黄鳝、大菱鲆、哲罗鲑在排卵期, AKP 和 ACP 变化表现出的协同性^[18,20,42]相一致. 也有多项研究发现, 兴国红鲤(*Cyprinus carpio* var. *singunensis*)、泰山螭霖鱼(*Varicorhinus macrolepis*)、兔(*Leporidae*) 在排卵期, AKP 和 ACP 在卵细胞中的分布和含量各不相同^[21,43-44]. 卵巢中的 AKP 大部分分布在滤泡细胞中, 卵母细胞成熟, 其活性增强, 以保持卵母细胞发育过程中旺盛的代谢、激素合成、运转等生化反应. 而 ACP 随卵球的成熟, 直到临产前, 其活性持续增强, 从而导致滤泡细胞解体, 滤泡膜破裂排卵. 所以, 为查明 ACP 和 AKP 活性在性腺发育过程中的变化模式, 有必要采用荧光原位杂交和实时定量 PCR 的方法对性腺发育过程中这两种磷酸酶活性调控的分子机制作进一步探讨.

研究认为多种因素与鱼类性腺发育相关, 性腺繁育也是影响个体生长的重要因素^[45]. 在相应的环境条件下, 鱼体可以调节自身的能量消耗, 用以生长、繁育或者抵抗外界压力^[15]. 而当较多的能量用于性腺发育时, 生长则必然受到影响^[46-47]. 由于银鲳是一年性成熟的鱼类, 其性腺发育极为迅速, 所以银鲳早期生长的速度受到性腺发育较快这一重要因素影响.

综上, 养殖银鲳肝脏、卵巢和肌肉组织中 ACP 和 AKP 活性的变化及差异间接反映了养殖银鲳在卵巢发育过程中的营养积累和物质转移及体内非

特异性免疫等生理特点, 关注并深入探讨银鲳体内各种酶活对其生长发育、免疫及生殖调控的相关作用, 对完善银鲳全人工繁育具有积极意义。

参考文献:

- [1] 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海市水产研究所. 上海鱼类志[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.
- [2] 郑元甲, 李建生, 张其永, 等. 中国重要海洋中上层经济鱼类生物学研究进展[J]. 水产学报, 2014, 38(1):149-160.
- [3] 柳卫海, 詹秉义. 东海区鲳鱼资源利用现状分析[J]. 湛江海洋大学学报, 1999, 19(1):30-34.
- [4] Zhao F, Dong Y, Zhuang P, et al. Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) in the Southern Yellow and East China Seas[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2011, 39(2):145-150.
- [5] 胡佳宝, 乐琪君, 杜丽红, 等. 银鲳的人工繁育研究进展[J]. 生物学杂志, 2016, 33(4):87-91; 117.
- [6] 孙鹏, 尹飞, 施兆鸿, 等. 养殖银鲳卵巢发育的组织学观察[J]. 中国水产科学, 2013, 20(2):293-298.
- [7] 施兆鸿, 高露姣, 谢营梁, 等. 舟山渔场银鲳和灰鲳繁殖特性的比较[J]. 水产学报, 2006, 30(5):647-653.
- [8] 施兆鸿, 彭士明, 王建钢, 等. 人工养殖银鲳子代胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2):267-274.
- [9] 李云航, 孙鹏, 施兆鸿, 等. 养殖与野生银鲳精巢发育形态学和组织学的初步比较[J]. 海洋渔业, 2012, 34(3):256-262.
- [10] Dadzie S, Abou-Seedo F, Al-Shallal T. The onset of spawning in the silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen), in Kuwait waters and its implications for management[J]. Fisheries Management and Ecology, 1998, 5(6):501-510.
- [11] Dadzie S, Abou-Seedo F, Al-Shallal T. Reproductive biology of the silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen), in Kuwait waters[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2000, 16(6):247-253.
- [12] Al-Abdul-Elah K M, Almatar S, Abu-Rezq T, et al. Development of hatchery technology for the silver pomfret (*Pampus argenteus*) (Euphrasen): Effect of microalgal species on larval survival[J]. Aquaculture Research, 2001, 32(10):849-860.
- [13] Al-Ablan S, Khalid P, Sulaiman A, et al. Ontogeny of sex differentiation in silver pomfret (*Pampus argenteus*) under culture conditions[J]. Fish Physiology & Aquaculture, 2001(9):1030-1230.
- [14] Almatar S M, Lone K P, Abu-Rezq T S, et al. Spawning frequency, fecundity, egg weight and spawning type of silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen) (Stromateidae), in Kuwait waters[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2004, 20(3):176-188.
- [15] 田海军, 陈建国, 龙勇, 等. 复方中草药对鲤肝脏转氨酶的影响[J]. 水产科学, 2007, 26(11):625-627.
- [16] 张辉, 张海莲. 碱性磷酸酶在水产动物中的作用[J]. 河北渔业, 2003(5):12-13; 32.
- [17] 盛晓洒. 嘉陵江瓦氏黄颡鱼雌性性腺发育周年变化的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
- [18] 周定刚, 郑维明, 钟妮娜. 催产时鳊卵磷酸酶活性的变化及其与排卵的关系[J]. 水生生物学报, 1993(2):145-149; 201.
- [19] 傅朝君, 鲁大椿, 刘宪亭, 等. 草鱼卵球成熟、排放与碱性磷酸酶、酸性磷酸酶关系的研究[J]. 淡水渔业, 1983, 13(1):24-26; 36.
- [20] 贾玉东, 孟振, 刘新富, 等. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)繁殖期卵子和卵巢液中磷酸酶活性变化及其与受精率相关性[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(6):1530-1535.
- [21] 陈连水. 碱性磷酸酶在兴国红鲤卵巢中的分布[J]. 抚州师专学报, 1987, 6(1):46-48.
- [22] 刘筠. 中国养殖鱼类繁育生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1993:29-41.
- [23] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999:126-137.
- [24] Browder L W. Development Biology[M]. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1980:194-197.
- [25] 曲焕韬, 刘勇, 杨元金, 等. 长鳍吻鲈卵巢发育组织学及周年变化的初步研究[J]. 水产科学, 2015, 34(1):32-37.
- [26] 代丽. 稀有鮡鲫原始生殖细胞的起源、迁移和分化及卵巢发育和卵子发生研究[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [27] 朱亮华, 孙敏, 张鼎元, 等. 黑鲷卵巢发育的组织学研究[J]. 应用海洋学学报, 2018, 37(2):255-262.
- [28] 林鼎, 林浩然. 鳗鲡繁殖生物学研究III. 鳗鲡性腺发育组织学和细胞学研究[J]. 水生生物学集刊, 1984, 8(2):157-170.
- [29] 宋海霞, 方琼珊, 翁幼竹, 等. 外源性促性腺激素诱导日本鳗鲡卵子发生和卵巢发育成熟的机制[J]. 水产学报, 2010, 34(7):999-1010.
- [30] 龚启祥, 曹克驹, 曾嵘. 香鱼卵巢发育的组织学研究[J]. 水产学报, 1982, 6(3):221-234.
- [31] Pipe R K. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel *Mytilus edulis* [J]. The Histochemical Journal, 1990, 22(11):595-603.
- [32] 刘志鸿, 牟海津, 王清印. 软体动物免疫相关酶研究进

- 展[J]. 海洋水产研究, 2003, 24(3):86-90.
- [33] Bernstine E G, Hooper M L, Grandchamp S, et al. Alkaline phosphatase activity in mouse teratoma[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1973, 70(12):3899-3903.
- [34] 王石莹, 闫素梅. 碱性磷酸酶在动物骨骼代谢中的研究进展[J]. 饲料博览, 2009(4):14-17.
- [35] 韩天雨, 卜淑敏. 去卵巢大鼠血清和骨髓细胞碱性磷酸酶水平变化的动态观察[J]. 中国实验动物学报, 2014(4):37-40.
- [36] 杜启艳, 王萍, 王友利, 等. 长期饥饿和再投喂对泥鳅不同组织糖原、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的影响[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2008, 32(4):488-493.
- [37] 王秋颖. 碱性磷酸酶特性及其应用的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(1):159-163.
- [38] 姜永华, 颜素芬. 南美白对虾卵子发生的细胞化学研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2004, 9(2):116-121.
- [39] McComb R B, Bowers Jr. G N, Posen S. Alkaline Phosphatase[M]. Boston: Springer, 1979.
- [40] Quackenbush L S. Yolk protein production in the marine shrimp *Penaeus vannamei*[J]. Journal of Crustacean Biology, 1989, 9(4):509-516.
- [41] 李媛媛, 蔡生力, 刘红. 实时荧光定量 PCR 检测凡纳滨对虾和罗氏沼虾卵黄蛋白原 mRNA 在卵巢和肝胰腺中的表达[J]. 水产学报, 2012, 36(11):1667-1674.
- [42] 李雪. 雌性哲罗鲑繁殖性能的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.
- [43] 董玉兰, 王树迎. 泰山螭霖鱼(*Varicorhinus macrolepis*) 在年周期中卵巢发育的组织学研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2005, 36(3):334-340.
- [44] 张贵学, 秦鹏春. 兔排卵前后可见卵泡酸性磷酸酶的研究[J]. 黑龙江动物繁殖, 1994, 2(2):21-23.
- [45] 温海深, 林浩然. 环境因子对硬骨鱼类性腺发育成熟及其排卵和产卵的调控[J]. 应用生态学报, 2001, 12(1):151-155.
- [46] 高举, 赵欣平, 詹付凤, 等. 鲫鱼酸性磷酸酶酶学特性及不同效应物对酶活力的影响[J]. 水生生物学报, 2010, 34(2):394-401.
- [47] 王腾飞, 张鼎元, 郭春阳, 等. 养殖银鲳性腺发育规律和性类固醇激素变化[J]. 水产学报, 2017, 41(2):198-211.

Relationship between ovarian development and activity of ACP and AKP in *Pampus argenteus*

LIU Mengdi¹, ZHOU Nannan¹, WANG Tengfei¹, XU Shanliang^{1,2}, TANG Daojun^{1*}

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315832, China;

2. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315832, China)

Abstract: The present study was to explore the changes of the related phosphatase in ovarian development and maturation of the farmed *Pampus argenteus*. The morphological characteristics and the organizational structure of its ovary during the various development periods were studied systematically with the technique of tissue slicing. The activity of acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (AKP) in the ovary, liver and muscle were also analyzed. Results are as follows: (1) The basophilic yolk nucleus appeared in the end of stage II of *P. argenteus* ovaries. The yolk particles began to deposit at phase 3 oocyte. Furthermore, the yolk particles increased significantly and the lipid droplets appeared until it filled the whole oocyte. The nucleus began to deflect by phase 4 and the yolk particles in the egg have fused into blocks at phase 5. (2) With the development of gonad, the activities of ACP and AKP in the ovary, liver and muscle presented significant changes ($P < 0.05$). The activity of ACP and AKP were expressed as being the highest in ovary, followed by muscle and liver. The activity of ACP in ovary varied from 18.742 to 73.381 U. The enzyme activity of AKP in ovary changed from 41.272 to 63.370 U. (3) The activity of ACP and AKP in muscle and liver showed downward decline from stage I to VI. In contrast, the activities of ACP and AKP in ovary initially increased and subsequently decreased. The results suggest that the changes of ACP and AKP activity in the 3 tissues were significantly correlated with the accumulation of yolk in the development of the ovary ($P < 0.05$).

Key words: *Pampus argenteus*; ovarian development; acid phosphatase (ACP); alkaline phosphatase (AKP)

(责任编辑 韩超)