利用超声波技术鉴定幼龄鲟鱼的性别

王斌 于冬梅 师 伟 夏永涛 张大海 辛成明 孟祥龙 陈金平 *

(中国水产科学研究院 北京 100039; 杭州千岛湖鲟龙科技开发有限公司 杭州 311700; 华南濒危动物研究所 广州 510260)

摘要: 2006 年 2 月至 2008 年 3 月,利用超声波鉴定技术对 20 553 尾 2 龄或 3 龄鲟鱼的性别及成熟度进行了检测,同时对检测并确定性别的鲟鱼随机取样解剖,验证超声波检测结果的准确率,同时追踪检测西伯利亚鲟(Acipenser baerii) 的性腺发育过程,获得不同发育时期性腺的超声波图像。超声波性别鉴定技术的准确率与养殖鲟鱼的种类、性腺发育阶段密切相关,本研究结果显示,2 龄或 3 龄西伯利亚鲟的检测准确率为 92.0% 100% 2 龄俄罗斯鲟(100% 100%

关键词: 超声波鉴定技术: 鲟鱼: 性别鉴定

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2009)02-57-07

Determination of Sex and Maturity by Using Utrasonography in Large-scale Cultivation of Young Sturgeon

WANG Bin YU Dong-Mei SHI Wei XIA Yong Tao ZHANG Da-Hai XIN Cheng-Ming MENG Xiang-Long CHEN Jin-Ping *

Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100039;

 ${\it Hangzhou\ Qiandao\ Lake\ Xunlong\ Sci^-tech\ Development\ Co.\ Lth.\ ,\ Hangzhou\ \ 311700\ ;}$

South China Institute of Endangered Animals, Guangzhou 510260, Chian)

Abstract: Ultrasonography was performed to determinate the sex and maturity of sturgeons. Sex differences were shown by the echogenicity and the morphology of ovaries and testes. Ultrasonic images of *Acipenser baer* at different developmental stages were also collected. A total of 20 553 sturgeon individuals which were 2 or 3 years old were examined using ultrasound scanning from February, 2006 to March, 2008. Results of ultrasonography were further confirmed by necropsy with random sampling. Ultrasonographic method was proved to have 92.00% - 100.00% accuracy rate in sex determination of 2 or 3 years old *A. baeri*, and 83.00% accuracy of 2 years old *A. gueldenstaedtii*, but only 58.00% accuracy of 3 years old *A. schrenkii*. Conads of 2 or 3 years old *A. baeri* were found at - stages based on the ultrasonic images. Therefore, ultrasonography is a non-invasive method which is worth to apply in sex determination of young sturgeon.

基金项目 中国水产科学研究院院部专项基金项目(2008C010),广东省科学院人才基金项目(粤科优[2008]02);

第一作者介绍 王斌,男,副研究员;研究方向:鲟鱼类繁育与养殖生物学;Email:caviar@vip.sina.com。

收稿日期:2008-09-05,修回日期:2008-12-22

^{*} 通讯作者, E-mail:chenjp@gdei.gd.cn;

Key words: Ultrasonography; Sturgeon; Sex determination

鲟鱼作为现存鱼类中最原始的一目,其野生资源在世界范围内迅速减少,但养殖数量逐年增多[1~3],现已发展成重要的养殖经济鱼类。鲟鱼产品中价值最高的是被称为"黑色黄金'的鱼子酱,因而雌性鲟鱼具有更大的商业价值。但由于鲟鱼的第二性征不明显[4],性别鉴定及性腺发育时期鉴别困难,造成了养殖过多雄性鲟鱼的资源浪费,因此国内外早已开展了鲟鱼性别鉴定方面的研究。传统的鲟鱼雌雄鉴别技术包括腹腔外科手术法[5]、放射免疫测定法、血浆卵黄蛋白浓缩法、泌尿生殖导管插入检测法等[6],这些方法虽能获得较高的鉴定准确率,却耗时耗力,且要侵入鲟鱼体内,容易造成细菌、病毒感染,引发较高的死亡率。

超声波扫描技术被广泛应用于医学领 域[7~9],是一项非常成熟的无损伤检测技术,常 用于疾病的检测及日常保健检查。国外将超声 波技术引用至水产养殖领域,主要用于无损伤 性别鉴定,且已在条纹鲈(Morone saxatilis)、欧 洲大比目鱼(Hippoglossus hippoglossus)、鳕鱼 (Cadus morhua) 等鱼类中得到了有效应 用[10~12]。其在鲟鱼中的应用,已报道的有:铲 鲟(Scaphirhynchus platorynchus)^[13]及里海星状鲟 (Acipenser stellatus) [6] 的性别鉴定,中华鲟(A. sinensis)产卵地的勘测[14]。利用超声波技术进 行欧洲大比目鱼的雌雄鉴别精确率达到 100 %[15];鉴定体长大于 95 cm 的里海星状鲟的 性别精确率为 97.2%,每尾鱼的鉴定时间约在 30 s 左右[6],可见,此方法是一项有效进行鱼类 性别鉴定的技术,省时省力、无损伤,有利于提 高成活率。但利用超声波技术对鱼类进行早期 的性别鉴定时,常不能提供足够的有效信 息[15],这将影响早期性别鉴定的准确率。超声 波技术在水产领域应用于鱼类性别早期鉴别, 国内尚未见相关报道。

鲟鱼超声波鉴别技术由俄罗斯鲟鱼专家 Mikhail S. Chebanov 于 2006 年 2 月引进到杭州 千岛湖鲟龙科技开发有限公司,本文首次将超 声波鉴定技术应用到鲟鱼的规模化生产中,利用超声波技术分别对3龄及2龄西伯利亚鲟(A. baerii)、3龄史氏鲟(A. schrenkii)和2龄俄罗斯鲟(A. gueldenstaedtii)的性别及性腺发育时期进行检测,获得了较好的结果。实践证明,超声波鉴别技术在鲟鱼早期性别鉴定中的应用是值得推广的。

1 材料与方法

利用超声波技术检测鱼类的性别,主要是根据超声波图像的亮度及所呈现的性腺形态进行鉴定。本研究采用超声波鉴定技术对体重1.5~2.0 kg 的鲟鱼,包括 2 龄或 3 龄西伯利亚鲟、史氏鲟和俄罗斯鲟的性别及成熟度进行鉴定,同时,排除无法确定性别的个体后,对可确定性别的被检测鲟鱼随机抽样,采用解剖法验证超声波性别鉴定的准确率。在进行早期性别鉴定的同时,跟踪检测西伯利亚鲟性腺发育过程,获得性腺不同发育时期的超声波图像。

超声波鉴定选用 Medison 公司的便携式数字超声波扫描仪 MY SONO- $201^{[16]}$,配备 $5\sim9$ MHz 的多频率线性传感器(40 mm)。工作电压 220 V,频率 50 Hz,输出功率为 $5\sim9 \text{ mW/cm}^2$ 。

本次性别鉴定实验,共检测鲟鱼 20 553 尾,其中 2006 年 2 月检测 3 龄西伯利亚鲟 688 尾,抽取 150 尾解剖;2007 年 5 月检测 2 龄西伯利亚鲟 2 629 尾,抽取 200 尾解剖;2007 年 5 月检测 3 龄史氏鲟 3 289 尾,抽取 200 尾解剖;2008 年 3 月检测 2 龄西伯利亚鲟 13 892 尾,抽取 100 尾解剖;2008 年 3 月检测 2 龄俄罗斯鲟 55 尾,抽取 50 尾解剖。所有检测样品需 2 龄以上,体重不低于 1.5 kg,所有被测鱼低温期空腹 2 个月以上,检测时水温应不高于 13 。进行超声波检测之前,待检鲟鱼需用丁香油麻醉。检测时,被检测鱼侧放于带凹槽的木桌上,鱼头向左,鱼腹或鱼背朝向操作者,超声波检查在正面进行。操作者用右手持传感器压在鱼体从腹鳍开始数的第三到第四骨板位置,使传感器的



图 1 手持传感器的姿势

Fig. 1 The position of a holding transducer

一边位于骨板的正上方,可向左或向右弯曲传感器以找到最佳位置(图1)。如需要,传感器

可在选好的平面上向头部方向移动,直到身体中部,在屏幕上实时观察动态的画面,以获取更多的信息。

检测过程中亮度、扫描深度等参数根据室外光线强弱、鱼体大小等因素设定,以获得最佳的扫描图像。检测结束后将有代表性的图像保存、分析。

2 结 果

解剖可见,发育早期,精巢位于性腺的中部(靠近结肠),结构同质且致密,精巢的生殖细胞组织特征明显且脂肪组织分离,鲟鱼的精巢有膜覆盖,区别于雌鱼的卵巢。卵巢无膜,结构看起来像油脂,位于侧部,发育较精巢快。在超声波正面切图中,可发现皮肤、肌肉、腹腔浆膜和性腺4种组织,其中腹腔浆膜呈现为一条光滑清晰的边界线(图2)。

根据性腺发育的分期标准^[17],以出现组织 学上的两性分化为进入 期的标志,然后根据

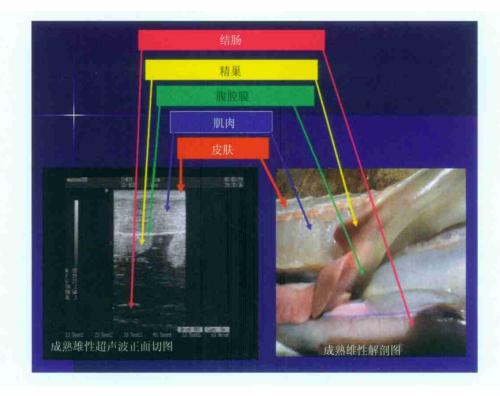


图 2 成熟雄性西伯利亚鲟的超声波正面切图与解剖图对照

Fig. 2 The comparison between ultrasonic and anatomic images of mature male Acipenser baerii

精子、卵细胞的发育情况及性腺的形态等特征,将精巢、卵巢的发育分别依次划分为 ~ 期。 所检测的2龄及3龄鲟鱼,性腺成熟度一般处于 ~ 期之间。

跟踪检测西伯利亚鲟性腺发育过程,获得性腺不同发育时期的超声波图像。雄鱼 期的超声波图像,性腺灰阶明亮,外侧有明显的腹膜包裹,形状清晰,精巢较小(图版:A);雄鱼发育至 期,性腺明显增大,与肌肉相比灰阶较明亮,腹膜明显,精巢间脂肪层较厚(图版:B);雄鱼发育至 期,性腺大,两精巢间的脂肪层变薄(图版:C);雄鱼第 期精巢呈现均质化,与肌肉相比灰阶降低(图版:D)。

雌鱼 期图像显示性腺灰阶与肌肉相当,卵巢呈雾状,有明显的叶状褶皱(图版:E);雌鱼性腺 期后,灰阶降低变暗,卵巢形状不清晰,期卵巢内可见很细小的卵粒(图版:F);

期像显示卵的颗粒比 期大,利用超声波测量功能可知,此时卵粒直径在2~3 mm之间(图版:G); 期卵巢卵粒明显,呈点状凸点(图版:H)。

在被检测的 20 553 尾 2 龄或 3 龄鲟鱼中, 2006 年 2 月检测的 688 尾 3 龄西伯利亚鲟,排除 33.5%无法确定性别的个体后,随机抽取 150 尾解剖,可判断雌雄的鉴别准确率为 98%; 2007 年 5 月检测的 2 629 尾 2 龄西伯利亚鲟、3 289尾 3 龄史氏鲟,分别排除无法确定性别的 31%及 30%的个体后,各抽取 200 尾解剖,可判断雌雄的鉴别准确率分别为 92.5%和 58%; 2008 年 3 月检测的 13 892 尾 2 龄西伯利亚鲟、55 尾 2 龄俄罗斯鲟,排除无法确定性别的 30%及 49%的个体后,分别抽取 100尾、50尾解剖,可判断雌雄的鉴别准确率为 100%和 83%(表 1)。

表 1 2006年2月至2008年3月的超声波检测结果

Table 1	The results of	ultrasonography	from February,	, 2006 to March,	2008
---------	----------------	-----------------	----------------	------------------	------

物种 Species	日期(年-月) Date (Year-Month)	年龄 Age	数量(尾) Amount (ind.)	雌性率 Female rate (%)	雄性率 Male rate (%)	不确定率 Uncertain rate (%)	解剖数(尾) Necropsy (ind.)	准确率 Accuracy (%)
西伯利亚鲟 Acipenser baer	2006-02	3	688	34. 50	32. 00	33. 50	150	98.00
西伯利亚鲟 A. baer	2007-05	2	2 629	39.00	30.00	31.00	200	92. 50
史氏鲟 A. schrenkii	2007-05	3	3 289	41.00	29.00	30.00	200	58. 00
西伯利亚鲟 A. baer	2008-03	2	13 892	41.00	29.00	30.00	100	100.00
俄罗斯鲟 _A. gueldenstaedtii	2008-03	2	55	20.00	31.00	49. 00	50	83. 00

3 讨论

近年来,我国鲟鱼养殖产业发展异常迅速,养殖规模不断扩大,已遍及20多个省、市和地区,苗种生产量每年约2000万尾,年生产商品鱼超过2000 t^[18]。养殖过程中,雌性个体有利于鲟鱼苗和鲟鱼子的供应,创造更多的利润,因此养殖鲟鱼的性别直接影响到经济效益。鲟鱼第二性征不明显,目前主要依靠性腺差异分辨雌雄,通常鲟鱼的性腺发育被划分为6期^[17]。

两性性腺发育的初始阶段即 期,精原或卵原细胞开始分裂,性腺与脂肪组织接近,肉眼不能区分精巢和卵巢。精巢中精原细胞成为初级精母细胞,是精巢进入 期的标志,此时精巢呈白色半透明的明细带状;初级卵母细胞的出现是卵巢进入 期的标志, 期卵巢乳白色中略见淡淡黄色,呈分叶状,肉眼可见半透明状针眼大的卵粒。性腺发育至 期后,精巢与卵巢区别明显。 期精巢呈腺体状,粉红色; 期精巢发达,呈乳白色; 期呈膨大的软体状,乳白色,挤

压有精液流出; 期精巢显著缩小、枯萎。 期卵巢,呈浅灰色或深褐色,表面分布着浅灰色或深褐色卵粒; 期卵巢灰黑色,体积很大; 期卵巢松软,成熟卵细胞从滤泡膜内释放,直接落入腹腔; 期卵巢松弛,呈红色或紫红色,卵巢内主要为初级卵母细胞、大量的空滤泡和发达的结缔组织。国内鲟鱼性别鉴定主要采用挖取精卵细胞或活体解剖的方法,此类方法需等到鲟鱼类性腺至少分化至 期,造成了养殖过多雄性个体的浪费。本实验主要依据 期卵巢超声波图像呈雾状、有褶皱(期卵巢呈分叶状),

期精巢超声波图像形状清晰、明亮的特点,将鲟鱼雌雄鉴定提前至性腺 期。鲟鱼的早期性别鉴定降低了生产全雌鱼的成本,有利于达到生产鱼子酱的目的,提高了鲟鱼养殖的经济效益。

对于性腺发育良好或性成熟的鲟鱼而言, 超声波图像性腺状态明显,鉴定快速、准确:而 早期鲟鱼性腺发育不明显,加大了鉴定的困难。 Martin Robichaud 等[15] 认为超声波技术在鱼类 早期的检测中不能提供足够的有效信息,无法 于性别鉴定; Moghim 等[6]主要检测到发育至 期之间的性腺状态。本次研究,被检测的 鲟鱼性腺发育多处于 ~ 期。在利用超声波 对西伯利亚鲟进行检测的过程中,2006年2月 检测3龄西伯利亚鲟,排除33.5%无法确定性 别的个体后,可确定性别的个体的检测准确率 为 98 % :2007 年 5 月对 2 龄西伯利亚鲟检测, 排除 31 %无法确定性别的个体后,其准确率为 92.5%;2008年3月对2龄西伯利亚鲟检测,排 除 30 %无法确定性别的个体后,可确定性别的 个体的检测准确率为 100 %。不确定比例的降 低、被检测鲟鱼年龄的降低及准确率的升高,说 明操作者的熟练程度对超声波技术检测的准确 率也会产生一定的影响。

由于不同鲟鱼的性成熟时间、性腺发育周期存在差异,超声鉴定的准确率与鲟鱼品种、鉴别年龄也有很大的关系。西伯利亚鲟自然条件下雄鱼性成熟需 10~12 年,雌鱼需 17~18 年,而人工养殖条件下只需要 6~7 年[19]。张照斌

等^[20]对室内饲养的 4 龄西伯利亚鲟研究发现,雄性个体的精巢已发育到 或 期,精巢中有少量成熟精子出现;雌性个体的卵巢发育处于

- ~ 期。本次实验利用超声波扫描技术检测 2~3龄的西伯利亚鲟,发现其性腺发育处于
- 期,性别鉴定取得了良好的效果。俄罗斯 鲟在自然条件下性成熟,雄鱼需11~13年,雌 性 12~16年[21] .在养殖条件下俄罗斯鲟性腺发 育不规律,这可能是本次超声波检测准确率偏 低的原因。胡红霞等[22]在对人工养殖的7龄 俄罗斯鲟雌鱼的性腺发育进行研究时发现,其 性腺发育状况差异很大,仅9%雌鱼性腺发育 接近成熟,部分卵细胞开始色素沉积,进入 期,但绝大部分卵细胞停留在期,在卵巢切片 中甚至还有卵原细胞的存在。史氏鲟在自然条 件下性成熟,雄性需7~9年,雌性成熟需9~13 年[18] 人工养殖的史氏鲟雌性成熟年龄为8 龄。对人工养殖史氏鲟卵巢进行组织学观察发 现[23],2~3龄史氏鲟卵巢呈白色半透明窄带 状,与脂肪组织相近,肉眼不能分辨精巢或卵 巢.仍为 期卵巢.4~5年才发育至 期卵巢。 本次检测的史氏鲟均为3龄,其性腺发育仍处 于 期,是超声波雌雄鉴定技术在史氏鲟中应 用失败的关键原因。

超声波鉴定技术在低龄西伯利亚鲟规模化 养殖的雌雄鉴别中,获得了较高的确定率,降低 了养殖成本。

参 考 文 献

- [1] Omoto N, Maebayashi M, Hara A, et al. Gonadal maturity in wild sturgeons, Huso dauricus, Acipenser mikadoi and A. schrenckii caught near Hokkaido. Environmental Biology of Fishes, 2004, 70: 381 ~ 391.
- [2] 胡红霞,贝锦新,刘晓春等.史氏鲟(Acipenser schrenckii) 两种促性腺激素 亚基的原核表达.中山大学学报(自 然科学版),2008,47(2):89~92.
- [3] Bukovskaya1 O, Lambert J G D, Kime D E. In vitro steroidogenesis by gonads of the Russian sturgeon, Acipenser gueldenstaedti Brandt. Fish Physiology and Biochemistry, 1997.16: 345 ~ 353.
- [4] Doroshov S I, Clark W H, Lutes P B, et al. Artificial propagation of the white sturgeon, Acipenser transmontanus

- Richardson. Aquaculture, 1983, 32: 93 ~ 104.
- [5] 陈细华,危起伟,朱永久等. 低龄中华鲟外科手术性别 鉴定技术. 中国水产科学, 2004, 11(4):371~374.
- [6] Moghim M, Vajhi A R, Veshkini A, et al. Determination of sex and maturity in Acipenser stellatus by using ultrasonography. J Appl Ichthyol, 2002, 18, 325 ~ 328.
- [7] Dimitrow P P, Krzanowski M, Undas A. Reduced coronary flow reserve in Anderson-Fabry disease measured by transthoracic Doppler echocardiography. *Cardiovascular Ultrasound*, 2005, 3:11.
- [8] Greaves K, Dixon S R, Fejka M, et al. Myocardial contrast echocardiography is superior to other known modalities for assessing myocardial perfusion after acute myocardial infarction. Heart., 2003.89:139~144.
- [9] Senior R. Role of myocardial contrast echocardiography in the clinical evaluation of acute myocardial infarction. *Heart*, 2003.89:1398~1400.
- [10] Blythe B, Helfrich L A, Beal W E, et al. Determination of sex and maturational status of striped bass (Morone saxatilis) using ultrasonic imaging. Aquaculture, 1994, 125:175 ~ 184.
- [11] Shields R J, Davenport J, Young C, et al. Oocyte maturation and ovulation in the Atlantic halibut, Hippoglossus hippoglossus (L.), examined using ultrasonography. Aquacult Fish Manage, 1993, 24: 181 ~ 186.
- [12] Karlsen O, Holm J C. Ultrasonography, a non-invasive method for sex determination in cod (Cadus morhua). J Fish Biol., 1994.44:965 ~ 971.
- [13] Wildhaber ML, Papoulias DM, DeLonay AJ, et al. Gender identification of shovelnose sturgeon using ultrasonic and endoscopic imagery and the application of the method to the pallid sturgeon. Journal of Fish Biology, 2005, 67:114 ~

132.

- [14] Kynard B , Wei Q W , Ke F E. Use of ultrasonic telemetry to locate the spawning area of Chinese sturgeons. *Chinese Science Bulletin* , 1994 , $40:669 \sim 671$.
- [15] Martin-Robichaud D J , Rommens M. Assessment of sex and evaluation of ovarian maturation of fish using ultrasonography. Aquaculture Research , 2001 , 32: 113 ~ 120.
- [16] Kratzer W, Haenle M M, Voegtle A, et al. Ultrasonographically detected gallbladder polyps: A reason for concern? A sever-year follow-up study. BMC Gastroenterology, 2008, 8: 41.
- [17] Hochleithner M, Gessner J. The Sturgeon and Paddlefishes of the World: Biology and Aquaculture. Australia: Aqua Tech Publications, 1999.81 ~ 82.
- [18] 孙大江,曲秋芝,马国军等. 中国鲟鱼养殖概况. 大连水产学院学报, 2003, **18**(3): 216~221.
- [19] 张涛,章龙珍,赵峰等.西伯利亚鲟不同性别与卵巢发育时期血液性类固醇激素的差异与判别分析.海洋渔业,2008,**30**(1):19~25.
- [20] 张照斌,牛翠娟,朱华等.室内饲育西伯利亚鲟的血清性类固醇激素的周年变化.北京师范大学学报(自然科学版),2003,**39**(4):519~524.
- [21] Billard R, Lecointre G. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2001, 10: 355 ~ 392.
- [22] 胡红霞,刘晓春,朱华等. 养殖俄罗斯鲟性腺发育及人工繁殖. 中山大学学报(自然科学版), 2007,46(1):81~85.
- [23] 曲秋芝,孙大江,王丙乾等. 施氏鲟卵巢发育的组织学观察. 水产学报,2004,28(5):487~492.

图 版 说 明

A. 雄鱼 期的超声波图像;B. 雄鱼 期的超声波图像;C. 雄鱼 期的超声波图像;D. 雄鱼 期的超声波图像;E. 雌鱼 期的超声波图像;E. 雌鱼 期的超声波图像;E. 雌鱼 期的超声波图像;B. 雌鱼 期的超声波图像;B. 雌鱼 期的超声波图像;B. 雌鱼 期的超声波图像;B. 雌鱼 期的超声波图像;

Explanation of Plate

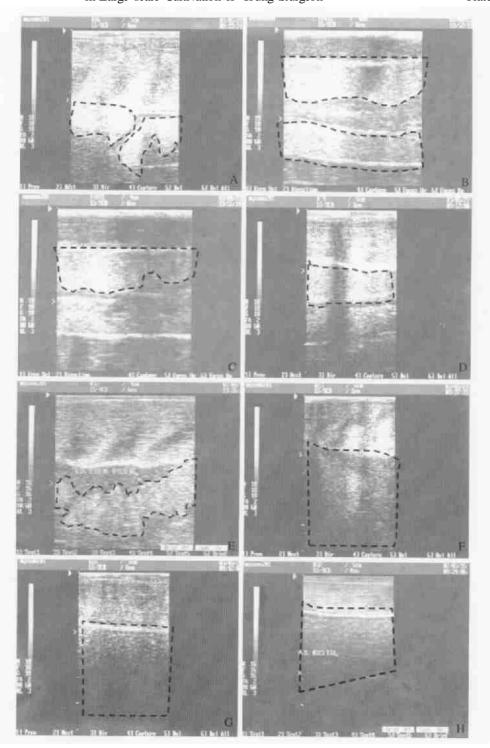
A. Ultrasonic image of male at stage ; B. Ultrasonic image of male at stage ; C. Ultrasonic image of male at stage ; D. Ultrasonic image of male at stage ; B. Ultrasonic image of female at stage ; G. Ultrasonic image of female at stage ; H. Ultrasonic image of female at stage .

王 斌等:利用超声波技术鉴定幼龄鲟鱼的性别

图版

WANGBin *et al.*: Determination of Sex and Maturity by Using Ultrasonography in Large-scale Cultivation of Young Sturgeon

Plate



图版说明见文后