

# 鱼类配子质量研究进展与展望

## Progress and prospect of quality assessing of fish gametes

丁福红, 雷霖霖, 刘新富, 孟 振, 刘 滨

(中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: S961

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2009)12-0129-04

养殖鱼类的配子质量直接关系到胚胎发育以及仔稚鱼成活和生长, 配子质量的优劣与养殖效率紧密相关, 对反馈亲鱼培养状况、指导苗种生产等工作都具有重要意义, 得到了生产单位和科研工作者的广泛关注。目前对配子质量的评价通常是对其外观形态及生产性状的检测, 如色泽、受精率、死亡率等, 配子基础生化组成、分子标识等方面研究相对较少<sup>[1,2]</sup>。配子质量调控方面, 有关环境因素, 如亲鱼营养和培育条件等对配子质量的影响研究较多, 遗传因素对配子质量影响的报道相对较少<sup>[3~7]</sup>。近年来, 从配子内部产物合成角度对配子质量决定机制的研究逐步开展起来<sup>[8]</sup>。建立全面的质量评价体系是鱼类养殖技术发展的必需, 同时通过配子质量决定机制的研究, 从根本上查明影响配子质量的关键环节, 是最终实现鱼类配子质量有效调控的基础。

作者从鱼类配子质量评价标准以及影响配子质量因素两个方面对当前鱼类配子的相关研究进行了归纳、概述, 并对存在的问题及需要进一步重点研究的相关主题进行了探讨, 以期从提高配子质量的角度对养殖业发展有所促进。

## 1 配子质量评价标准

### 1.1 发育性状与形态结构特征

在鱼类养殖生产及科学研究中, 受精率、孵化率、成活率等生产性状是评价配子质量最直接的指标, 这些指标与养殖培育过程密切相关, 应用最为广泛。配子的形态结构特征也可以在一定程度上反映配子质量的优劣, 如卵子的透明度、表面光泽度、卵径大小、卵黄含量、油球大小及个数、表面色泽、浮沉性、胚胎发育时序变化等<sup>[1]</sup>, 精子的质量检测还包括运动速度、扩散能力、黏稠度等<sup>[2]</sup>, 这些特征检测起来操作简单、直观性强, 在生产中应用十分便利。然而以上评价标准能够反映的关于影响配子质量因素的信息十分有限, 是使人们无法深入的研究造成配子质量差异的原因所在, 进而不利于有目的地提高

配子质量。因此, 需要更完善的评价体系来反映配子的质量状况, 并在此基础上深入研究配子质量差异的根源。

### 1.2 生化组成

诸多研究表明配子中合理的生化组成对配子及仔稚鱼健康发育具有重要意义。配子的发育需要氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素、矿物质等多种成分精确组装, 任何一个成分组成不当, 都无法维持配子的正常发育, 这方面尤其以脂肪酸成分研究最多, 对配子质量影响也最显著, 如, 鱼类卵子中 n-3 系列多不饱和脂肪酸中二十二碳六烯酸与二十碳五烯酸的比例(DHA/EPA)对早期胚胎神经系统和视觉器官的发育极为重要; 卵子中花生四烯酸(AA)含量与仔稚鱼对环境压力的敏感性相关<sup>[13~15]</sup>, 必需不饱和脂肪酸的最优化水平以及恰当比例被认为是评估鱼类卵子质量的重要参数<sup>[9~12]</sup>。脂肪酸对精子质量评价也具有重要价值, 与精子能量代谢、膜流动性、柔韧性和细胞运动融合能力、低温敏感性、授精能力等多方面特性相关<sup>[16~18]</sup>。海水鱼类生长所需的必需不饱和脂肪酸种类较淡水鱼多, 配子对脂肪酸含量和组成比例的要求更高<sup>[12]</sup>。此外, 配子含有的矿物质、维生素等微量元素也对配子生理功能发挥重要作用, 与胚胎发育中骨骼结构构建、胶质系统和酸碱平衡调控、抗氧化功能发挥等密切相关, 是配子质量评价的必要内容<sup>[19~22]</sup>。如, 养殖环境与天然水域中矿物质组分存在很大差异, 养殖鱼类配子矿物质含量及功能的研究也较多<sup>[20]</sup>。此外, 如鲑鳟鱼类等卵子颜色鲜艳的种类, 配子中色素不仅具有特定的生

收稿日期: 2008-12-12; 修回日期: 2009-04-12

基金项目: 农业部公益性行业科研重大专项(nyhyzx07-046); 中国水产科学研究院黄海水产研究所青年探索项目

作者简介: 丁福红(1978-), 女, 满族, 博士, 主要从事海水养殖研究, E-mail: dingfuhong@hotmail.com

理功能,而且对卵子的商业品质具有决定意义,其重要性更为突出<sup>[19]</sup>。

### 1.3 分子标识

随着分子生物学技术的不断提高,从分子水平对配子质量进行检测的工作也逐步开展起来<sup>[23]</sup>。研究表明鱼类卵黄蛋白含量与配子质量密切相关,蛋白酶 D 是卵黄蛋白合成的关键酶,对蛋白酶 D 的 cDNA 序列分离、合成的研究正在多种鱼类中开展,以期发现与配子质量相关的基因标志<sup>[24,25]</sup>。另外,生长因子在哺乳动物中被证明是细胞分裂、分化、胚胎发育和生长调控的重要调节因子,近年采用生长因子作为评价哺乳类胚胎质量的生物学标志物的研究已经有所报道<sup>[26]</sup>,但其在鱼类胚胎质量评价方面研究还未见报道,生长因子很可能成为鱼类配子质量检测的指标之一<sup>[27~29]</sup>。

## 2 配子质量的影响因素

### 2.1 环境因素

无论在野生环境中还是在养殖环境中,鱼类配子的质量都存在巨大差异<sup>[30]</sup>。亲鱼营养状况是影响配子质量的主要因素之一,尤其是亲鱼的脂类营养,直接影响胚胎和仔稚鱼发育<sup>[3~7]</sup>。如,对点斑蓝子鱼(*Siganus guttatus*)的研究表明,亲鱼饲料中的脂类从 12% 增加到 18% 时,受精卵的孵化率明显提高,仔鱼耐饥饿时间延长<sup>[4]</sup>;对牙鲆(*Parolichthys olivaceus*)、花尾胡椒鲷(*Plectorhynchus cinctus*)的研究也得到类似结论<sup>[3,5,6]</sup>;亲鱼饲料中脂肪酸组成及含量还可影响精子运动性、受精率<sup>[18,31,32]</sup>。其次,亲鱼培育条件,尤其是光照和水温也对配子质量具有显著影响<sup>[33]</sup>。如,Gillet 等<sup>[34]</sup>对鲑鱼(*Salvelinus alpinus* L.)研究发现,通过光照调节和降温控制可以延迟排卵,并显著提高卵子质量;大西洋庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)亲鱼在恒温 6℃ 下培养,产出的卵子形态及发育情况显著优于处在波动温度的环境中的卵子质量<sup>[35]</sup>。

此外,养殖生产中一些技术操作环节也对配子质量具有影响<sup>[36~38]</sup>。胚胎自身腺体发育之前主要依靠母体转运来的荷尔蒙调节生长发育、渗透压、应激反应等生理过程<sup>[37]</sup>,因此人工催产中催产剂的使用将对配子质量产生影响。不同的养殖模式也会对配子质量产生影响。叶鹏等<sup>[38]</sup>对点带石斑鱼研究表明,深水网箱、室内水泥池和传统小网箱 3 种不同培育模式对亲鱼成熟度、受精卵质量具有显著影响。在人工授精的养殖种类中,配子成熟度的判断、采集方法、授精操作等方面都对配子的质量有显著影响,

然而目前这些方面存在的经验性操作较多,科学的总结和提升还需要大量工作。

### 2.2 遗传因素

遗传因素对鱼类配子质量影响的研究相对较少<sup>[24,39~41]</sup>。在已有的研究报道中,Brauhn 等<sup>[39]</sup>研究发现虹鳟某特定群体能够连续多批产生优于其他实验组亲鱼的卵子,一定程度上反映了遗传对鱼类配子质量的影响;鲑鱼(*Salmo salar*)相关研究表明不同亲本产生的子代显示出了不同的卵黄脂蛋白形成途径,并且这种差异与后代存活率密切相关<sup>[41]</sup>;这些研究结果都促使人们进一步加强对遗传因素导致的配子质量差异的关注。研究发现与遗传育种工作结合,是提高配子质量的一条有效途径。

### 2.3 配子质量影响机制

从分子水平探索环境因素和遗传因素对配子质量的影响已经逐步开展起来。在受精卵及胚胎早期发育过程中,主要由配子中的 RNA 指导着受精卵早期蛋白合成及胚胎早期发育,此期间大量基因被激活<sup>[8]</sup>,对许多动物的相关研究表明,受精卵中 mRNA 翻译表达的变化是造成发育差异的原因所在<sup>[42]</sup>,因此对配子中 mRNA 转录过程的深入研究是全面把握影响配子质量因素的关键。鱼类卵子的基因表达的研究始于对促生长素因子(MPF)的研究<sup>[23,43]</sup>,目前研究集中于卵子和胚胎的 mRNA 的编码蛋白的调控机制、发育中 RNA 的功能及表达等方面,在揭示生殖调控手段对卵子质量影响机制方面的研究也开展起来。如,Bonnet 等<sup>[44]</sup>采用基因芯片和 PCR 技术对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)卵子进行研究,结果表明经过催产激素或光照调控对卵子转录过程产生显著影响,卵子中 17 个特定基因的表达发生了改变;研究还表明 Prohibitin II 基因 mRNA 的丰度与卵子质量呈负相关;Rennes 等<sup>[45]</sup>对虹鳟卵子的发育能力与未受精卵及母体中 mRNA 之间的关系进行了分析,认为卵子中的 mRNA 来自于母体,是在卵子形成过程中富集的,因此外界因素很可能通过影响卵子 mRNA 的富集来影响卵子的质量,特定基因的表达会被亲鱼的培育条件影响,导致胚胎发育损伤,如时序性死亡,不同的畸形特征等。可见,卵子的质量与 mRNA 特定的转录水平密切相关,开展 mRNA 转录方面研究不仅有利于研究遗传因素对卵子质量的影响,而且为深入探索环境因素对配子质量影响机理提供了良好途径。

## 3 配子质量研究展望

基于目前鱼类配子质量研究的现状,今后的研

究方向将主要集中在两个方面。首先是全面的配子质量评价体系的建立;另一个着重点是对配子质量决定机制进行深入研究。

将配子生化组成、分子标识与发育性状、形态结构特征等方面的因素相结合,建立全面的质量评价体系将是今后工作的重要内容。通过对优良发育性状的配子形态结构特征、生化组分、特定标识分子等进行分析,确立优质配子质量标准,可使得配子质量评价更加明确具体,并与影响配子质量的源头建立联系,为有的放矢地提高配子质量提供有效参考依据。在鱼类配子质量检测体系建设,尤其要加强配子重要生化组分生理功能的研究以及标识分子的开发,只有对配子中各成分功能有了更深刻的认识,才能从配子成分分析结果中挖掘出更多有价值的信息。此外,配子中的各成分变化的、动态的。不同种类、不同发育阶段以及不同产卵批次的配子中,成分组成都不尽相同,而且受到培养环境等多因素的影响<sup>[36~38]</sup>,因此建立标准化评价体系将是长期大量工作的积累。

配子质量决定机制的研究是配子质量调控得以实现的前提。由于配子质量受到遗传和环境两方面因素影响,而配子中产物合成及控制表达机制是两者共同的作用过程<sup>[8,42]</sup>,因此,从配子发育生理过程入手,对环境因素和遗传因素对配子内产物合成和表达的影响开展研究需得到更多的关注,这将为深刻揭示影响配子质量决定机制奠定基础。在此基础上,可将配子质量调控与遗传育种工作结合,把优质配子作为优良性状进行选育,可以从根本上提高配子质量。

参考文献:

[1] Bromage N R, Bruce M, Basavaraja N, *et al.* Egg quality determinants in finfish; the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* [J]. **Journal of the World Aquaculture Society**, 1994, 25: 13-21.

[2] 季相山, 陈松林, 赵燕, 等. 鱼类精子质量评价研究进展 [J]. **中国水产科学**, 2007, 14(6): 1 048-1 054.

[3] Li Y Y, Chen W Z, Sun Z W, *et al.* Effects of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in *Plectorhynchus cinctus* [J]. **Aquaculture**, 2005, 245: 263-270.

[4] Duray M, Kohno H, Pascual F. The effect of lipid enriched broodstock diets on spawning and on egg and larval quality of hatchery-bred rabbitfish *Siganus guttatus* [J]. **Philipp Sci**, 1994, 31: 42-57.

[5] Furuita H, Tanaka H, Yamamoto T, *et al.* Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Parolichthys olivaceus* [J]. **Aquaculture**, 2000, 187: 387-398.

[6] 李远友, 陈伟洲, 孙泽伟, 等. 饲料中 n-3 HUFA 含量对花尾胡椒鲷亲鱼的生殖性能及血浆性类固醇激素水平季节变化的影响 [J]. **动物学研究**, 2004, 25(3): 249-255.

[7] 李远友, 禹龙香. 亲鱼脂类营养对鱼类生殖性能的影响 [J]. **水产养殖**, 2006, 27(1): 1-5.

[8] Olin T, Westman A, Decken A. Time- and temperature-dependant appearance of vitellogenin in golgi vesicles and serum after estrogen treatment of salmon (*Salmo salar*) [J]. **J Exp Zool**, 1989, 249: 213-220.

[9] Sargent J R, Sargent L A, McEvoy A, *et al.* Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions [J]. **Aquaculture**, 1999, 179: 217-229.

[10] Sargent. The lipids [A]. Halver J E, Hardy R W. **Fish Nutrition** (3rd ed.) [C]. San Diego: Academic Press, 2002. 181-257.

[11] Salze G, Tocher D R, Roy W J, *et al.* Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock [J]. **Aquaculture Research**, 2005, 36: 1 488-1 499.

[12] 高淳仁, 雷霖霖. 海水鱼类高度不饱和脂肪酸营养研究概况 [J]. **海洋水产研究**, 2000, 21(3): 72-76.

[13] Harel M, Tandler A, Kissil G W, *et al.* The kinetics of nutrient incorporation into body tissues of gilthead seabream (*Sparus aurata*) females and the subsequent effects on egg composition and egg quality [J]. **British Journal of Nutrition**, 1994, 72: 45-58.

[14] Bruce M F, Oyen G, Bell J F, *et al.* Development of broodstock diets for the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance [J]. **Aquaculture**, 1999, 177(1-4): 85-97.

[15] Sargent J R. Origins and functions of egg lipids: nutritional implication [A]. Bromage N R. **Broodstock management and egg and larval quality** [C]. United Kingdom: Blackwell Oxford, 1995. 353-372.

[16] Harmin S A, Crim L W. Influence of gonadotropic hormone-releasing hormone analog (GnRH-A) on plasma sex steroid profiles and milt production in male winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum) [J]. **Fish Physiol Biochem**, 1993, 10: 399-407.

[17] Asturiano J F, Sorbera L A, Carrillo M, *et al.* Reproductive performance in male European sea bass

- (*Dicentrarchus labrax* L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet [J]. **Aquaculture**, 2001, 194: 173-190.
- [18] Bell M V, Dick J R, Thrush M, *et al.* Decreased 20:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared to wild fish [J]. **Aquaculture**, 1996, 44: 189-199.
- [19] Craik J C A. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes [J]. **Aquaculture**, 1985, 47: 61-68.
- [20] Lall S P. The minerals [A]. Halver J E. Fish Nutrition (Third edition) [C]. San Diego: Academic Press, 2002. 259-308.
- [21] 许群, 王安利. 脂类和维生素对鱼类生殖的影响 [J]. 水利渔业, 2004, 24(4): 68-70.
- [22] Dabrowski K, Blom J H. Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos [J]. **Comparative Biochemistry and Physiology**, 1994, 108A: 129-135.
- [23] 林浩然, 李文螯, 陈丹. 海洋鱼类分子生物学的研究进展和发展前景 [J]. 院士报告, 2005, 4: 14.
- [24] 文建军, 谢京, 刘世贵, 等. 一个含 WD 结构域蛋白的基因在鱼类卵子发生过程中的差异表达及其特征分析 [J]. 中国科学, 2001, 31(4): 343-352.
- [25] Brooks S, Tyler C R, Sumpter J P. Egg quality in fish: what makes a good egg? [J]. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 1997, 7(4): 387-416.
- [26] 李真, 顾美礼, 王智彪, 等. 生长因子作为评价胚胎质量的生物学标记物的研究 [J]. 中国优生和遗传杂志, 2002, 10(5): 4-5.
- [27] 张殿昌. 鱼类胰岛素样生长因子研究进展 [J]. 上海大学水产学报, 2005, 14(10): 66-71.
- [28] Ayaso E, Nolan C M, Bymes L. Zebrafish insulin-like growth factor I: Molecular cloning and developmental expression [J]. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 2002, 191: 137-148.
- [29] Yamashita M, Fukada S, Yoshikuni M, *et al.* Purification and characterization of maturation-promoting factor in fish [J]. **Developmental Biology**, 1992, 149: 8-15.
- [30] Silversand C, Norberg B, Haux C. Fatty acid composition of ovulated eggs from wild and cultured turbot (*Sciphthalmus maximus*) in relation to yolk and oil globule lipids [J]. **Marine Biology**, 1996, 125(2): 269-278.
- [31] Labbe C, Maise G, Muller K, *et al.* Thermal acclimation and dietary lipids alter the composition, but not fluidity, of trout sperm plasma membranes [J]. **Lipids**, 1995, 30: 23-32.
- [32] Vassallo A R, Watanabe T, Yoshizaki G, *et al.* Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid-deficient diet and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers [J]. **Fish Sci**, 2001, 67: 818-827.
- [33] Kinne O, Kinne E M. Rates of development in embryos of a cyprinodont fish exposed to different temperature-salinity-oxygen combinations [J]. **Can J Zool**, 1961, 40, 231-253.
- [34] Gillet C. Egg-production in arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) broodstock-effects of photoperiod on the timing of ovulation and egg quality [J]. **Canadian Journal of Zoology**, 1994, 72: 334-338.
- [35] Brown N P, Bromage N R, Shields R J. The effect of spawning temperature on egg viability in the Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) [A]. Goetz F W, Thomas P. Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish [C]. Austin: Texas Press, 1995. 181.
- [36] 马爱军, 雷霖霖, 陈四清, 等. 大菱鲆产卵季节对卵子的生物学及生化特征的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(1): 75-82.
- [37] Lam T J. Hormones and egg-larval quality in fish [J]. **Journal of the World Aquaculture Society**, 1994, 25: 2-12.
- [38] 叶鹏, 蔡厚才, 许明海, 等. 不同培育方式对赤点石斑鱼成熟、产卵和孵化的影响 [J]. 海洋渔业, 2006, 28(3), 201-205.
- [39] Brauhn J, Kincaid H. Survival of growth and catchability of rainbow trout of four strains [J]. **N Am J Fish Manage**, 1982, 2: 1-10.
- [40] Withler R E. Genetic variation in survival of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) alevins exposed to an unidentified agent of mortality [J]. **Genome**, 1987, 29: 839-845.
- [41] Kimmel C B. Genetics and early development of zebrafish [J]. **Trends in Genetics**, 1989, 5, 283-288.
- [42] Sheets M D, Fox C A, Hunt T, *et al.* The 39-untranslated regions of c-mos and cyclin messenger-RNAs stimulate translation by regulating cytoplasmic polyadenylation [J]. **Genes and Development**, 1994, 8, 926-938.
- [43] Nagahama N. Molecular biology of oocyte maturation in fish [A]. Davey K G, Peter R E, Tobe S S. Perspectives in Comparative Endocrinology [C]. Ottawa: National Research Council of Canada, 1994. 193-198.
- [44] Bonnet E, Fostier A, Bobe J. Microarray-based analysis of fish egg quality after natural or controlled ovulation [J]. **BMC Genomics**, 2007, 8(55): 17.
- [45] Universite Rennes (France). Analysis of egg quality defects in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relationship with maternal mRNAs in the secondary oocyte: a microarray study [R]. Rennes: Rennes Press, 2006. 165.