

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00545

硬骨鱼类卵子质量研究进展

贾玉东^{1,2}, 雷霖霖^{1,2}

1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
2. 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071

摘要: 鱼类卵子质量被定义为卵子受精和随之发育成正常胚胎的能力, 其质量的优劣是影响鱼类人工繁育成败的关键因素, 对养殖产业高效、可持续发展具有重要意义。本文就硬骨鱼类卵子质量的研究现状进行了概括及评析, 从硬骨鱼类卵子的发生发育规律、卵子质量评价标准、影响卵子质量的内外因素及相关调控机理等方面进行了综合评述, 并对今后硬骨鱼类卵子质量研究发展趋势进行了展望, 旨在为硬骨鱼类卵子质量标准评价体系的建立提供科学依据, 同时为海水养殖鱼类种苗生产提供可控性强的工艺流程。

关键词: 卵子; 硬骨鱼; 水产养殖; 卵子发生发育; 质量评价

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)03-0545-11

卵子的质量是影响鱼类繁殖性能的一个关键因素, 它直接关系到胚胎的发育以及仔、稚、幼鱼的成活和生长, 与养殖效率密切相关。因而, 在硬骨鱼类的人工繁养殖过程中, 卵子质量受到越来越多的关注, 许多研究初步证实了一些内外源性因子会影响卵子的质量, 但其调控卵子质量的分子和细胞机制仍不清楚, 同时对卵子质量的评价标准尚未统一。为此, 本文从硬骨鱼类卵子的发生发育、质量评价标准、质量影响因素及其相关调控机制等方面对当前硬骨鱼类卵子的相关研究进行了归纳、概括, 并对存在的问题和需要进一步重点研究的相关主题进行了探讨, 以期从提高卵子质量的角度, 进一步优化亲鱼的繁育, 进而促进硬骨鱼类人工养殖健康、可持续发展。

1 硬骨鱼类卵子的发生和发育

在胚胎发育的早期, 少数细胞形成配子的前体, 称为原始生殖细胞(primordial germ cells,

PGCs)。其后 PGC 迁移到早期性腺-生殖嵴, 并进行有丝分裂繁殖, 然后部分细胞进入减数分裂, 进一步分化为成熟的配子(gamete), 即精子(spermatozoa)和卵子(ovum)。卵子的发生(oogenesis)是指雌性配子的形成、发育和成熟, 包括卵原细胞的增殖、卵母细胞的生长发育和成熟。卵巢是决定雌性动物繁殖性能的最重要器官, 它具有排出卵子的功能和产生激素及细胞因子的内分泌功能, 这种分泌功能随着动物种类的不同存在着很大的差异。鱼类物种的多样性决定其生殖策略的多样性, 根据卵母细胞的发育情况, 可把鱼类的卵巢分为完全同步型、部分同步型和不同步型 3 种类型, 因此在不同类型的卵巢中, 其卵子的发生、发育及其相关调控机制会有所差异。对大多数硬骨鱼类而言, 卵子发生首先是原始生殖细胞分化形成卵原细胞, 随后卵原细胞经过增殖、分化, 发育成卵母细胞和滤泡细胞(颗粒细胞和膜细胞), 虽然这两种类型的细胞同源, 但是它们的形态结构

收稿日期: 2011-10-21; 修订日期: 2011-12-12.

基金项目: 国家鲆鲽类产业技术体系建设专项资金项目(nycytx-50); 山东省博士后创新基金项目(201103021); 鲆鲽类养殖产业技术体系(08-1-5-1-Jch).

作者简介: 贾玉东(1981-), 男, 博士后, 从事海水鱼类繁殖生理学研究. E-mail: jydspeed456@163.com

通信作者: 雷霖霖, 中国工程院院士, 研究员, 博士生导师. E-mail: LeiJL@ysfri.ac.cn; leijilin@seacul.com

差异很大,在生殖过程中执行不同的生理功能。一般将鱼类卵子发育过程分为 4 个时期:卵原细胞增殖期、初级卵母细胞生长期、卵黄生成期和卵母细胞成熟期(图 1)^[1]。

卵子 是卵母细胞生长和分化的最终产物,其发生、发育这一动态发育阶段的相关调控机制仍不清楚。大量的研究表明,在鱼类卵子发生、发育这个极其复杂的动态生理过程中,多种激素和细胞因子通过内分泌、旁分泌和自分泌等多种途径的共同作用使其有序进行^[2-5]。生殖轴激素如促性腺激素(gonadotropin hormone, GtH)在鱼类卵子发生、发育过程中发挥着主导性作用。早期的研究证实,切除鱼类的垂体后,卵原细胞的数目明显减少;随后注射垂体提取物后,卵原细胞数目有了明显的恢复性增加,但是这种恢复性增加被 GtH 的拮抗剂明显抑制^[6-9]。Baron 等^[10]的研究也表明, GtH 在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)早期配子发生过程中具有抗凋亡作用。而在卵黄生成早期,鱼类卵巢上的 GtH 受体的表达水平有明显增高,同时 GtH 还可以通过增强类固醇激素合成相关蛋白的表达,刺激雌激素合成分泌,从而促进卵母细胞的发育成熟^[11-14]。此外一些细胞因子和生长因子在鱼类卵子发生、发育中同样起着重要的调控作用,尤其是卵母细胞和周围滤泡细胞之间的双向通讯对卵子发育、成熟起着关键作用^[15-18]。对硬骨鱼类研究表明,滤泡膜的颗粒细胞和膜细胞共同参与了性类固醇激素合成,而 GtH 则通过

其受体的介导调控性类固醇激素合成分泌。在卵巢生长发育阶段, GtH 刺激卵母细胞滤泡的膜细胞和颗粒细胞共同合成雌二醇,诱导卵母细胞完成卵黄生成;而在卵巢的成熟阶段, GtH 刺激卵母细胞滤泡的膜细胞和颗粒细胞共同合成 17 α , 20 β -双羟孕酮,诱导卵母细胞的最后成熟和排卵,因此在代谢上的相互作用是鱼类卵巢性类固醇激素形成的主要模式,这与哺乳动物卵泡内性类固醇激素合成的细胞途径极为相似^[19]。

同恒温的脊椎动物(鸟类和哺乳类)不同,鱼类作为一种变温动物,其卵子的发生、发育除了受到机体内生殖轴激素(GtH 等)和局域性内分泌因子(如 insulin-like growth factor, IGF 等)的诱导、调控外,也受到外界环境因子的影响。鱼类感觉器官把外界环境的刺激(如温度、光照、流水等)传送到脑,使下丘脑分泌促性腺激素释放激素,激发脑垂体分泌 GtH, GtH 作用于性腺并促进性腺类固醇激素合成分泌,从而促进卵子的发育成熟和排出。鱼类在排卵前,其卵子处于第二次减数分裂中期,而在哺乳动物则处于第一次减数分裂前期,二者在卵子发育时序上不同,必然在相关调控机制上存在差异^[19-21]。因此深入了解硬骨鱼类卵子发生、发育的内外源性调控机制,对提高卵子质量和养殖效率有重要的现实指导意义。

2 卵子质量评价标准

硬骨鱼类繁殖策略的多样性,决定了对其卵

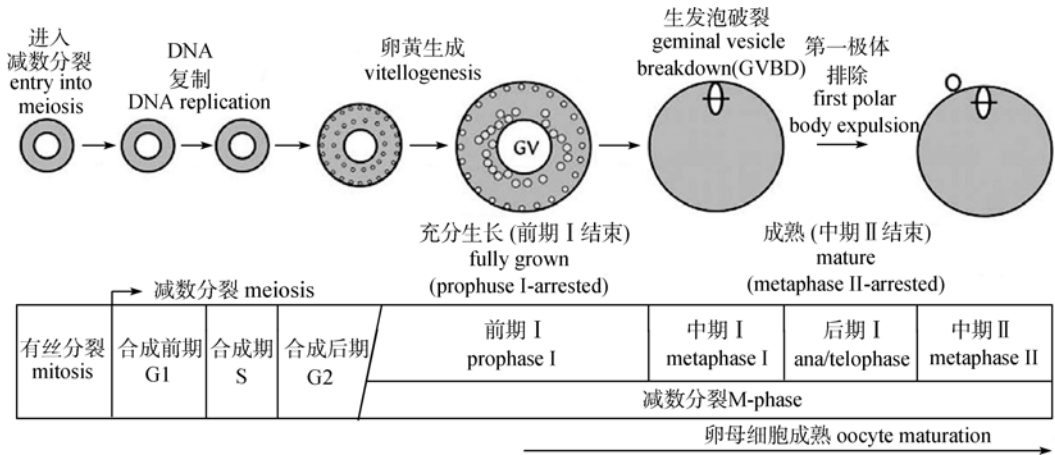


图 1 硬骨鱼类卵子发生示意图

Fig. 1 A schematic description of ovum developmental stages in teleost fish

子质量评价标准不尽相同,但是大致可以从卵子的形态结构、生化组成、受精率、孵化率和胚胎畸形率等指标对卵子质量进行初步评价。

2.1 卵子形态结构

大量的研究证实,对大多数硬骨鱼类而言,卵子的直径、表面色泽、透明度、沉浮性、油球的形态和分布状况,可在一定程度上反映其质量的优劣。卵子直径可作为决定卵子活性的一个重要指标,但是较大卵径的卵并不一定代表较高的受精率和孵化率,如Fores等^[22]对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)卵子活性的研究表明,当卵径为0.9~1.1 mm时能产生较高的受精率,而卵径为1.1~1.2 mm时,可产生中等或比较低的受精率。此外对同一种属的鱼类而言,卵子的直径差异对其发育潜能并没有明显的影响^[23],因而利用卵径来评价卵子质量有一定局限性。卵子的透明度和沉浮性在一定程度上也可以反映卵子质量,Aristizabal等^[24]研究表明,卵子沉浮性比例决定了红鲷(*Pagrus pagrus*)受精卵的孵化率和幼鱼的存活率;Kjörsvik等^[25-26]指出,卵子的色泽、透明度和沉浮性可影响到某些鱼类的受精率和随后的胚胎发育。

在鱼类胚胎发育阶段,脂类为其提供了主要的能量来源,因此卵子中脂滴的形态分布也被用来评价卵子质量。Mansour等^[27-28]对鲑科鱼类的研究发现,卵子中脂滴的分布状态可影响到胚胎的发育;Lahnsteiner等^[29]研究也表明卵子中脂滴的形状和大小脂滴的比例可影响鲷属幼鱼的存活率,同时Zarski等^[30]在对欧亚鲈(*Perca fluviatilis* L.)卵子质量研究中也得到了相似的结论;但是Ciereszko等^[31]应用这种方法来评价人工养殖的虹鳟卵子质量,则无显著的效果。因此有些研究者认为,卵子受精后的胚胎发育过程能更准确地反映卵子质量的优劣,特别是受精后早期卵裂阶段异常细胞的出现常被用作卵子质量评价的有效标识^[32],同时,早期卵裂阶段卵细胞的对称性也影响胚胎发育和幼鱼成活率,这在大菱鲆等多种海水硬骨鱼类中已得到证实,并被用来作为卵子质量评价标准^[33-35]。

2.2 卵子生化组成

卵子是一种高度特化的细胞,各种动物卵子的基本结构是相似的,主要由含有卵黄质的细胞质、卵核和核膜构成。大量研究表明,卵子生化组成对胚胎发育和仔、稚、幼鱼存活生长具有重要意义。卵子中的脂类为鱼类胚胎发育提供了重要的能量来源,同时也是构成细胞膜的重要成分^[20,32],特别是二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和花生四烯酸(arachidonic acid, AA)对鱼类整个繁育过程中起到重要调节作用。Henrotte等^[36]研究表明DHA可促进欧亚鲈胚胎发育和幼鱼生长存活,同时EPA和AA的比例直接影响了卵子的质量;Penney等^[37]对大西洋鳕(*Gadus morhua* L.)卵子的研究也得到相似的结论;但是Mansour等^[38]对红点鲑(*Salvelinus alpinus*)的研究表明,卵子脂肪酸的组成对其繁殖力和胚胎的发育并没有显著的影响,因此利用脂肪酸的组成来评价卵子质量,存在种属差异,不能一概而论。

一些酶(转醛酮酶、葡萄糖-6-磷酸-转移酶、磷酸酶、脱氢酶等)、碳水化合物的代谢产物(葡萄糖、果糖)、总氨基酸水平,丙氨酸转移酶的活性、乙酰辅酶A、磷脂和甘油三酯的含量变化同胚胎的发育和孵化有着一定相关性,也常常被用来评价卵子质量^[39]。

卵子所处的生存环境,即卵巢液和体液的生理生化变化也可间接反映卵子质量。许多研究已证实低pH的卵巢液或体液容易降低卵子质量,Fauvel等^[40]研究发现大菱鲆卵子过熟同卵巢液的低pH有一定相关性;对虹鳟卵子质量研究也得到了相似的结果^[41-42]。但是大量的研究表明,卵巢液或体液的低pH只能用来解释由于卵子过熟导致的卵子质量下降,而对由其他原因引起的卵质下降则无明显的评价效果。

2.3 受精率、孵化率和胚胎畸形率

受精率是卵子质量的一个重要评价标准。产透明卵的硬骨鱼类,可较容易地检测其卵子受精率,但是对于产不透明卵的硬骨鱼类,检测其卵

子受精率则比较困难,需要通过一些特异性的化学染色方法,因此检测硬骨鱼类受精率会因种属差异、难易程度有所不同。卵子受精后,胚胎细胞发生卵裂,卵裂细胞的形态和非正常细胞的出现也被用于评价卵子质量。Avery等^[43]的研究表明,异常卵裂导致了黄盖鲽(*Limanda yokohamae*)早期胚胎的死亡;而且大量研究也证实鱼类卵裂球的形态同胚胎后期的发育密切相关^[30,33-34,39]。但是,对大西洋鳕的研究表明,尽管异常卵裂胚胎有较高死亡率,但是同正常卵裂胚胎相比,二者在孵化率上差异并不显著^[44]。

胚胎孵化是受精卵成功发育的一个关键标志,因此胚胎各个阶段的发育状况常被用来评价卵子的质量,如原肠胚阶段、孵化阶段和卵黄吸收阶段^[32]。另外,观察不同试验条件下,胚胎在各个阶段发育状况以及最后存活率,对评价卵子质量都有很大的帮助。

异常胚胎和畸形幼鱼的比例是评价卵子受精后发育潜能的最佳指标。通常异常胚胎和畸形幼鱼的出现同饲养管理的关联较大,例如虹鳟人工养殖时卵子的过熟会导致其幼鱼的畸形发育^[45]。

2.4 分子标识

随着分子生物学技术的不断提高,从分子水平检测卵子质量的工作也逐步开展。大量研究已证实,硬骨鱼类卵黄蛋白的含量与卵子质量密切相关,组织蛋白酶D和L是卵黄蛋白合成过程中的关键酶,对其生物学功能的深入研究,将为发现与卵子质量相关的基因标志提供新思路^[32,46-48]。此外,细胞因子和生长因子在哺乳动物卵子的发生、发育和早期胚胎发育过程中发挥着重要的协同调控作用,同时一些生长因子作为特异性生物学标志物已被用来评价哺乳类胚胎质量的优劣^[15-18,49-50],但是硬骨鱼类胚胎质量评价方面的研究尚未见报道,因此这些在卵巢局部分泌,通过旁分泌和自分泌途径调控卵子发育的内分泌因子可能成为评价硬骨鱼类卵子质量的指标之一。

3 卵子质量的影响因素和相关调控机制

鱼类的繁殖性能由其遗传特性所决定,同时

又受内在因素(激素、内分泌因子等)和外部环境条件(温度、光照、营养素等)的调控。而影响因子对鱼类繁殖性能的调控,主要是通过下丘脑-垂体-性腺轴的介导来实现。影响卵子质量的因素主要有以下 5 种。

3.1 遗传因素

亲本的遗传因素能影响卵子的质量,在硬骨鱼类中得到初步证实。Brooks等^[51]研究发现,在上一个生殖季节产较高质量卵子的雌性虹鳟,翌年还能产出较高质量的卵子。随后, Bonnet等^[45]利用cDNA芯片技术,分析了注射激素和调控光周期诱导产生卵子的基因转录差异,发现两者在一些特定基因表达丰度上存在明显差异。这些研究表明,遗传差异对卵子质量也有重要影响,但是引起这些差异的遗传因素还无法鉴定,同时对影响这些遗传因素的主导性调控机制尚不明确。因此,从遗传育种的角度出发,研究遗传因素导致卵子质量差异的机制,是提高硬骨鱼类卵子质量的一条有效途径。

3.2 激素调控

鱼类卵子发生、发育和最终成熟的调控,主要通过下丘脑-垂体-性腺轴介导分泌GtH来实现。卵母细胞外包颗粒细胞和膜细胞组成双层滤泡膜,是产生性腺类固醇激素的部位。膜细胞层合成睾酮(testosterone, T),颗粒细胞层在芳香化酶的作用下将睾酮转化成雌二醇(estradiol, E₂),而E₂可促进性腺发育和卵黄蛋白的合成。大量研究表明,GtH可通过激活芳香化酶P450 mRNA表达,诱导E₂的分泌,促进卵子中卵黄蛋白的合成,进而促进卵子的发育和成熟^[11,13,32]。同时在卵黄蛋白合成过程中,E₂可通过肝的负反馈作用调控卵黄蛋白和其他相关蛋白的合成,进而调节卵母细胞的发育,此外其他一些激素和旁分泌生长因子也协同调控卵黄蛋白的合成^[52-54]。在硬骨鱼类的研究中也发现,其滤泡细胞可合成分泌成熟诱导激素(maturation inducing hormone, MIH)和成熟诱导类固醇激素(maturation inducing steroid, MIS), MIS可通过与卵母细胞膜上特异性受体结合,通过一系列信号转导,激活卵母细胞成熟促进因子(matura-

tion-promoting factor, MPF)的生成和表达,从而恢复卵母细胞减数分裂,促进卵母细胞成熟^[55-56]。在硬骨鱼类人工养殖过程中,经常用激素来诱导不能自发排卵的鱼类,或是诱导同期产卵。激素诱导技术主要通过影响卵子发育潜能,来影响卵子质量,因此激素诱导技术的效果会直接影响卵子质量。

在卵子发育的最后阶段(即卵母细胞最终成熟阶段),卵母细胞要重新恢复减数分裂,同时获得发育成正常胚胎的潜能,但是用激素人工诱导处于减数分裂阶段的卵母细胞,并不一定能使卵母细胞获得完全的发育潜能。大量研究已经证实,硬骨鱼类人工繁、养殖过程中,选择成熟度好和生理状态最佳的亲鱼,采用激素诱导才能获得高质量的卵子,而选择激素诱导的时机不当,则会影响卵子受精率和受精后卵子的发育潜能,降低胚胎存活率,但不会造成胚胎畸形和畸形幼鱼比例的显著增加^[32,45,57-58]。

3.3 营养因素

亲鱼摄入充足营养,对硬骨鱼类性腺发育、成熟和胚胎发育、孵化至关重要;处于产卵前和产卵期间的亲鱼,摄食量和食物成分不仅会影响到卵子质量,而且对亲鱼排卵量、排卵频率、类固醇激素水平和促性腺激素诱导成熟也有显著影响。在雌性亲鱼卵巢快速发育阶段,通过外源性饮食摄入,在肝合成大量的蛋白、脂类和葡萄糖等营养物质,这些营养物质在细胞内吞作用下,被卵母细胞吸收、储存,为早期胚胎发育提供能量储备,从而保证了胚胎的正常发育。大量的研究证实,主要摄食营养物质(如维生素、蛋白质、矿物质和必需脂肪酸等)的长期缺乏容易导致胚胎发育异常和幼鱼的死亡率增高^[51,59-61]。Gunasekera等^[62]研究表明罗非鱼摄食高蛋白饲料(40%粗蛋白)时,其卵巢发育迅速,卵母细胞的质量要优于摄食低蛋白饲料(15%粗蛋白)组。以低蛋白饲料喂养的真鲷(*Pagrosomus major*)亲鱼,其卵子的受精率和孵化率显著低于摄食高蛋白饲料组^[59],这表明亲鱼饲料中必须有较高含量的蛋白质。除了蛋白质,食物中高度不饱和脂肪酸的种类和数量对

促进鱼类性腺发育成熟和提高产卵量也会起到非常重要的作用。通常鱼类卵子中含有大量的磷脂,相关研究表明,食物中含有足够的磷脂时,胚胎的成活率和幼鱼的生长率都有显著提高^[63]。此外维生素和矿物质的缺乏,也容易引起亲鱼产卵异常和卵子质量下降。

3.4 环境因子

鱼类的生殖周期在很大程度上受光照时间长短的调控,光线通过刺激鱼类视觉器官,经过中枢神经的传导,引起脑垂体分泌活动,从而影响生殖轴激素(GtH, GnRH等)的合成分泌,进而调控卵子的发生、发育。Carrillo等^[64]应用不同光周期对黑鲈(*Dicentrarchus labrax* L.)的研究表明,光照对其卵子质量、孵化率和仔鱼存活率产生了显著影响。因此在鱼类繁殖周期中,应当选择合适的光周期来促进卵子发育、成熟。

在鱼类产卵季节,温度是影响卵子质量的一个重要因素,温度过高或过低,都会影响卵子的质量。不同鱼类其最适宜卵子发育的外界环境温度也不尽相同,一般而言,在适温范围内,春季产卵的鱼类,其性腺发育速度与温度成正比;而秋季产卵的鱼类性腺成熟却要求降低水温。例如,当饲养虹鳟的温度超过15℃时,其卵子质量显著下降;鲑科鱼类的温度超过12℃时其孵化率会大幅度下降;Aegerter等^[42]和Bobe等^[32]研究也表明高温显著增加鲑科鱼类胚胎畸变的比例。某些海水鱼类,在其卵黄蛋白生成阶段,当温度低于最适温度时,其卵子质量也会明显下降^[57]。温度对鱼类卵子质量影响还在于它是鱼类产卵的温度阈值,每种鱼在某一地区开始产卵的温度是恒定的,一旦温度异常就会造成鱼类产卵停滞或者受精卵异常发育,进而影响到仔鱼孵化。一些研究表明,温度可调控鱼类内源性激素的分泌和对外源性激素的吸收,对卵黄蛋白合成起反馈调节作用,进而影响卵子发生、发育,但这是否是温度影响卵子质量的内部作用机制,有待进一步研究确证^[65-66]。

不同种鱼类对盐度变化的适应能力不同,因此盐度对不同鱼类卵子质量的影响也会存在差

异。对一些广盐性鱼类而言,盐度改变导致渗透压的变化通常会对卵子质量产生一定影响,鲑(*Salmo salar*)在盐度高的海水中产的卵,其受精率很低,卵子质量显著下降^[67];对银大马哈鱼(*Coho salmon*)的研究也得到相似的结论^[68]。水体盐度影响鱼类渗透压改变,渗透压改变会影响调节渗透压平衡的激素——催乳素的合成分泌,而催乳素又可以通过抑制GtH的合成分泌,调控卵子的发育、成熟,进而影响卵子质量^[69-70]。

3.5 饲养管理

对大多数硬骨鱼类而言,卵子的质量受排卵后时间的影响。金鱼排卵 10 h 后的卵子其受精卵孵化率为 0^[71];对大菱鲈的研究也表明,新鲜排出的卵子其受精率能达到 90% 以上,而当卵子在体腔内保持 24 h 后,其受精卵孵化率接近 0;同时在大菱鲈、胡鲈(*Clarias macrocephalus*)、大西洋庸鲈(*Hippoglossus hippoglossus*)、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)和鲈(*Roccus saxatilis*)等的研究中也观察到类似的现象^[26,72-74]。对鲑科鱼类而言,虽然卵子能够在体内存活较长时间,但是超过卵子质量达到最优的时间点,不但会影响胚胎的孵化和存活,也增加了畸形胚胎的比例和三倍体出现频率^[42,45]。

人工授精过程中,卵子所处的外界环境条件(温度、溶氧等)也会影响卵子的质量。大量研究已经证实,卵子的保存温度可显著影响卵子的质量,大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)未受精卵子在 3℃ 的条件下可保存数天^[75];虹鳟和褐鳟(*Salmo trutta*)的未受精卵在 0~2℃ 的体液至少可保存 5~7 d^[76-77];对温水性鱼类罗非鱼(*Sarotherodon mossambicus*)的研究表明,其卵子在高于 15℃ 温度下至少存活 1.5 h,而当温度低于 13℃ 时,其卵子受精率会明显下降^[78];此外淡水鱼类卵子受精前所处的环境温度,对其胚胎孵化率和存活率都有明显影响^[79]。而其他外界环境因子对排卵后卵子质量影响的报道较少,因此需要结合相关影响因素进行深入研究。此外,应激会对卵子的发育和成熟产生显著影响。例如在虹鳟和褐鳟繁殖过程中,反复的急性应激会导致卵子体积和质量下降,

胚胎发育的异常^[80]。Contreras-sanchez 等^[81]研究表明,剧烈的急性应激会显著降低虹鳟胚胎存活率,中等程度应激在早期卵黄蛋白合成阶段,容易导致卵子直径变小,在后期卵子最终成熟阶段,则容易诱导提前排卵,而对后代存活率没有显著的影响;Stratholt 等^[82]也证实银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)在卵子最后成熟阶段,应激会导致排卵数量增多,同时其卵子中皮质醇的含量会有明显升高。

4 展望

卵子的质量对胚胎发育和仔、稚、幼鱼的存活会产生直接影响。因此,将卵子形态结构特征、生化组成、分子标识与发育性状等方面的因素相结合,深入研究硬骨鱼类卵子质量决定机制,建立全面的质量评价体系,将可有效评价卵子质量的优劣。

在硬骨鱼类人工繁养殖过程中,除了可以通过观察其沉浮性和外观形状来判别少数活性极差的卵子,目前尚无有效指标能够准确评价卵子质量的优劣,而一些外观正常的卵子,尽管没有表现出任何低活性标识,但可能实际上其发育潜能非常低,因而检测受精率、胚胎发育状况、幼鱼存活率等指标,是从生物学角度评价卵子质量的唯一途径。此外,对卵子发育过程中生化组成及其生理功能的深入剖析,将进一步确立优质卵子质量标准,从而使卵子质量评价更加明确具体,同时与影响卵子质量的内外源因素结合起来,为硬骨鱼类卵子质量评价体系的建立提供有效的参考依据,是当前硬骨鱼类繁养殖中极为重要的研究内容。

随着研究的逐步深入,硬骨鱼类卵子发生、发育和成熟的生理学机制日渐清晰,从分子和细胞水平深入阐明调控卵母细胞发育潜能和早期胚胎发育的机理,将是实现硬骨鱼类卵子质量有效调控的必备前提。哺乳动物的研究表明,双亲的基因型能够影响其后代生产力和卵子的质量,而硬骨鱼类中对影响其卵子质量的基因至今仍了解不多。而大量研究已经初步证实,硬骨鱼类卵子

的发生和早期胚胎的发育,主要通过母源性基因产物(母源mRNA和蛋白)的调控,同时这些母源性mRNA和蛋白的表达又受到环境变化等非基因因素的调控,但是有关卵子发生和早期胚胎发育的细胞调控机制仍不清楚,同时相关功能性基因的作用机制仍需要深入研究^[83-85]。此外,基因选择也影响到卵子的质量,尽管在畜牧养殖过程中,已经证实奶牛繁殖性能的下降同基因选择密切相关^[86],但在水产养殖业中尚未深入研究,所以在未来硬骨鱼类繁殖过程中,有关基因选择同繁殖性能关系的研究也将受到特别关注。

参考文献:

- [1] Lubzens E, Young G, Bobe J, et al. Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2010, 165: 367-389.
- [2] Ando H, Urano A. Molecular regulation of gonadotropin secretion by gonadotropin releasing hormone in salmonid fishes[J]. *Zool Sci*, 2005, 22: 379-389.
- [3] An K W, Nelson E R, Habibi H R, et al. Molecular characterization and expression of three GnRH forms mRNA during gonad sex-change process, and effect of GnRHs on GTH subunits mRNA in the protandrous black porgy (*Acanthopagrus schlegelii*)[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2008, 159: 38-45.
- [4] Bobe J, Maugars G, Nguyen T, et al. Rainbow trout follicular maturational competence acquisition is associated with an increased expression of follicle stimulating hormone receptor and insulin-like growth factor 2 messenger RNAs[J]. *Mol Reprod Dev*, 2003, 66: 46-53.
- [5] Chang J P, Johnson J D, Sawisky G R, et al. Signal transduction in multifactorial neuroendocrine control of gonadotropin secretion and synthesis in teleosts-studies on the goldfish model[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2009, 161: 42-52.
- [6] Levavi-sivan B, Bogerd J, Mañanó E L, et al. Perspectives on fish gonadotropins and their receptors[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2010, 165: 367-389.
- [7] Tyler C R, Sumpter J P. Oocyte growth and development in teleosts[J]. *Rev Fish Biol Fish*, 1996, 6: 287-318.
- [8] Yamazaki F. Endocrinological studies on the reproduction of the female goldfish *Carassius auratus* L., with special reference to the function of the pituitary gland[J]. *Mem Fac Fish Hokkaido Univ*, 1965, 13: 1-64.
- [9] Dadzie S, Hyder M. Compensatory hypertrophy of the remaining ovary and the effects of methallibure in the unilaterally ovariectomized *Tilapia aurea*[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1976, 29: 433-440.
- [10] Baron D, Houlgatter R, Fostier A, et al. Large-scale temporal gene expression profiling during gonadal differentiation and early gametogenesis in rainbow trout[J]. *Biol Reprod*, 2005, 73: 959-966.
- [11] Kobayashi T, Pakarinen P, Torgersen J, et al. The gonadotropin receptors FSH-R and LH-R of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)-2. Differential follicle expression and asynchronous oogenesis[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2008, 156: 595-602.
- [12] Kwok H, So W, Wang Y, et al. Zebrafish gonadotropins and their receptors: I. cloning and characterization of zebrafish follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptors-evidence for their distinct functions in follicle development[J]. *Biol Reprod*, 2005, 72: 1370-1381.
- [13] Montserrat N, González A, Méndez E, et al. Effects of follicle stimulating hormone on estradiol-17 beta production and P-450 aromatase (CYP19) activity and mRNA expression in brown trout vitellogenic ovarian follicles in vitro[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2004, 137: 123-131.
- [14] Ings J S, Van Derkraak G J. Characterization of the mRNA expression of StAR and steroidogenic enzymes in zebrafish ovarian follicles[J]. *Mol Reprod Dev*, 2006, 73: 943-954.
- [15] Berishvili G, Dcotta H, Baroiller J F, et al. Differential expression of IGF-I mRNA and peptide in the male and female gonad during early development of a bony fish, the tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2006, 146: 204-210.
- [16] Halm S, Ibañez A J, Tyler C R, et al. Molecular characterization of growth differentiation factor 9 (gdf9) and bone morphogenetic protein 15 (bmp15) and their patterns of gene expression during the ovarian reproductive cycle in the European sea bass[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2008, 291: 95-103.
- [17] Sawatari E, Shikina S, Takeuchi T, et al. A novel transforming growth factor-b superfamily member expressed in gonadal somatic cells enhances primordial germ cell and spermatogonial proliferation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Dev Biol*, 2007, 301: 266-275.
- [18] Wuertz S, Gessner J, Kirschbaum F, et al. Expression of IGF-I and IGF-I receptor in male and female sterlet, *Acipenser ruthenus*-evidence for an important role in gonad maturation

- tion[J]. Comp Biochem Physiol, 2007, 147A: 223–230.
- [19] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 中山大学出版社, 2011: 237–324.
- [20] 雷霖. 海水鱼类养殖理论与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 43–86.
- [21] 杨增明, 孙青原, 夏国良. 生殖生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 73–136.
- [22] Fores R, Iglesias J, Olmedo M. Induction of spawning in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) by a sudden change in the photoperiod[J]. Aquac Eng, 1990, 9(5): 357–366.
- [23] Bromage N, Jones J, Randall C, et al. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1992, 100, 141–166.
- [24] Aristizabal E, Suárez J, Vega A, et al. Egg and larval quality assessment in the Argentinean red porgy (*Pagrus pagrus*)[J]. Aquaculture, 2009, 287: 329–334.
- [25] Kjörsvik E. Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L.[J]. J World Aquac Soc, 1994, 25: 22–31.
- [26] Kjörsvik E, Mangorjensen A, Holmefjord I. Egg quality in fish[J]. Adv Mar Biol, 1990, 26: 71–113.
- [27] Mansour N, Lahnsteiner F, Patzer R A. Distribution of lipid droplets is an indicator of egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario*[J]. Aquaculture, 2007: 273: 744–747.
- [28] Mansour N, Lahnsteiner F, Mcniven M A, et al. Morphological characterization of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, eggs subjected to rapid postovulatory aging at 7°C[J]. Aquaculture, 2008, 279: 204–208.
- [29] Lahnsteiner F, Patarnello P. The shape of the lipid vesicle is a potential marker for egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, and in the sharpsnout seabream, *Diplodus puntazzo*[J]. Aquaculture, 2005, 246: 423–435.
- [30] Zarski D, Palinska K, Targonska K, et al. Oocyte quality indicators in Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L., during reproduction under controlled conditions[J]. Aquaculture, 2011, 313: 84–91.
- [31] Ciereszko A, Wojtczak M, Dietrich G J, et al. A lack of consistent relationship between distribution of lipid droplets and egg quality in hatchery-raised rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2009, 289: 150–153.
- [32] Bobe J, Labbe C. Egg and sperm quality in fish[J]. Gen Comp Endocrinol, 2010, 165: 535–548.
- [33] Kjörsvik E, Hoehne-reitan K, Reitan K I. Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. Aquaculture, 2003, 227: 9–20.
- [34] Hansen J H, Puvanendran V. Fertilization success and blastomere morphology as predictors of egg and juvenile quality for domesticated Atlantic cod, *Gadus morhua*, broodstock[J]. Aquac Res, 2010, 41: 1791–1798.
- [35] Shield R J, Brown N P, Bromage N R. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability[J]. Aquaculture, 1997, 155: 1–12.
- [36] Henrotte E, Mandiki R S N M, Prudencio A T, et al. Egg and larval quality, and egg fatty acid composition of Eurasian perch breeders (*Perca fluviatilis*) fed different dietary DHA/EPA/AA ratios[J]. Aquac Res, 2010, 41: 53–61.
- [37] Penney R W, Lush P L, Wade J, et al. Comparative utility of egg blastomere morphology and lipid biochemistry for prediction of hatching success in Atlantic cod, *Gadus morhua* L.[J]. Aquac Res, 2006, 37: 272–283.
- [38] Mansour N, Lahnsteiner F, Mcniven M A, et al. Relationship between fertility and fatty acid profile of sperm and eggs in Arctic char, *Salvelinus alpinus*[J]. Aquaculture, 2011, 318: 371–378.
- [39] Lahnsteiner F, Patarnello P. Egg quality determination in the gilthead seabream, *Sparus aurata*, with biochemical parameters[J]. Aquaculture, 2004, 237: 443–459.
- [40] Fauvel C, Omnè M-H, Suquet M, et al. Reliable assessment of overripening in turbot (*Scophthalmus maximus*) by a simple pH measurement[J]. Aquaculture, 1993, 117: 107–113.
- [41] Lahnsteiner F. Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs[J]. Fish Physiol Biochem, 2000, 23: 107–118.
- [42] Aegerter S, Jalabert B. Effects of post-ovulatory oocyte ageing and temperature on egg quality and on the occurrence of triploid fry in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2004, 231: 59–71.
- [43] Avery T S, Brown J A. Investigating the relationship among abnormal patterns of cell cleavage, egg mortality and early larval condition in *Limanda ferruginea*[J]. J Fish Biol, 2005, 67: 890–896.
- [44] Avery T S, Killen S S, Hollinger T R. The relationship of embryonic development, mortality, hatching success, and larval quality to normal or abnormal early embryonic cleavage in Atlantic cod, *Gadus morhua*[J]. Aquaculture, 2009, 289: 265–273.
- [45] Bonnet E, Fostier A, Bobe J. Characterization of rainbow

- trout egg quality: a case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic malformations[J]. *Theriogenology*, 2007a, 67: 786–794.
- [46] Carnevali O, Mosconi G, Cardinali M, et al. Molecular components related to egg viability in the gilthead sea bream, *Sparus aurata*[J]. *Mol Reprod Dev*, 2001, 58: 330–335.
- [47] Carnevali O, Centonze F, Brooks S, et al. Yolk formation and degradation during oocyte maturation in seabream *Sparus aurata*: involvement of two lysosomal proteinases[J]. *Biol Reprod*, 1999, 60: 140–146.
- [48] Carnevali O, Centonze F, Brooks S, et al. Molecular cloning and expression of ovarian cathepsin D in seabream *Sparus*[J]. *Biol Reprod*, 1999, 61: 785–791.
- [49] Wang Q, Sun Q Y. Evaluation of oocyte quality: morphological, cellular and molecular predictors[J]. *Reprod Fer Dev*, 2006, 19(1): 1–12.
- [50] Mermillod P, Dalbiès-Tran R, Uzbekova S, et al. Factors Affecting Oocyte Quality: Who is Driving the Follicle?[J]. *Reprod Dom Anim*, 2008, 43: 393–400.
- [51] Brooks S, Tyler C R, Sumpter J P. Egg quality in fish: what makes a good egg? [J]. *Revi Fish Biol Fish*, 1997, 7: 387–416.
- [52] Hiramatsu N, Matsubara T, Fujita T, et al. Multiple piscine vitellogenins: biomarkers of fish exposure to estrogenic endocrine disruptors in aquatic environments[J]. *Mar Biol*, 2006, 149: 35–47.
- [53] Jalabert B. Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals[J]. *Reprod Nutr Develop*, 2005, 45: 261–279.
- [54] Polzonetti-magni A, Mosconi G, Soverchia L, et al. Multihormonal control of vitellogenesis in lower vertebrates [J]. *Int Rev Cytol*, 2004, 239: 1–45.
- [55] Patiño R, Sullivan C V. Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish[J]. *Fish Physiol Biochem*, 2002, 26: 57–70.
- [56] Patiño R, Yoshizaki G, Thomas P, et al. Gonadotropic control of ovarian follicle maturation: the two-stage concept and its mechanisms[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2001, 129B: 427–439.
- [57] Marino G, Panini E, Longobardi A, et al. Induction of ovulation in captive-reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained-release GnRHa implant[J]. *Aquaculture*, 2003, 219: 841–858.
- [58] Arabaci M, Diler I, Sari M. Induction and synchronisation of ovulation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by administration of emulsified buserelin (GnRHa) and its effects on egg quality[J]. *Aquaculture*, 2004, 237: 475–484.
- [59] Izquierdo M S, Ndez-palacios H, Tacon A G J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish[J]. *Aquaculture*, 2001, 197: 25–42.
- [60] Reidel A, Boscolo W R, Feiden A, et al. The effect of diets with different levels of protein and energy on the process of final maturation of the gametes of *Rhamdia quelen* stocked in cages[J]. *Aquaculture*, 2010, 298: 354–359.
- [61] Nguyen B T, Koshio S, Sakiyama K, et al. Effects of dietary vitamins C and E and their interactions on reproductive performance, larval quality and tissue vitamin contents in kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Bate[J]. *Aquaculture*, 2012, 334/337: 73–81.
- [62] Gunasekera R M, Shim K F, Lam T J. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)[J]. *Aquaculture*, 1995, 134: 169–183.
- [63] Mourente G, Odriozola J M. Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. *Fish Physiol Biochem*, 1990, 8: 93–101.
- [64] Carrillo M, Bromage N, Zanuy S, et al. The effect of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)[J]. *Aquaculture*, 1989, 81: 351–365.
- [65] Gillet C. Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) brood stock: effects of temperature on the timing of spawning and the quality of eggs[J]. *Aquat Living Resour*, 1991, 4: 109–116.
- [66] King H R, Pankhurst N W, Wattas M, et al. Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon[J]. *J Fish Biol*, 2003, 63: 153–167.
- [67] Haffray P, Fostier A, Normant Y, et al. Influence du maintien en mer ou de la période du transfert en eau douce des reproducteurs de saumon atlantique *Salmo salar* sur la maturation sexuelle et la qualité des gamètes[J]. *Aquat Living Resour*, 1995, 8: 135–145.
- [68] Sower S A, Schreck C B, Donaldson E M. Hormone-induced ovulation of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) held in seawater and fresh water[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1982, 39: 627–632.
- [69] Bodinier C, Sucré E, Belfond L L, et al. Ontogeny of os-

- moregulation and salinity tolerance in the gilthead sea bream *Sparus aurata*[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2010, 157: 220–228.
- [70] Power D M. Developmental ontogeny of prolactin and its receptor in fish[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2005, 142: 25–33.
- [71] Formacion M J, Venkatesh B, Tan C H, et al. Overripening of ovulated eggs in goldfish, *Carassius auratus*: II. possible involvement of postovulatory follicles and steroids[J]. *Fish Physiol Biochem*, 1995, 14: 237–246.
- [72] Meevov L A. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. [J]. *J Fish Biol*, 1984, 24: 437–448.
- [73] Hirose K, Machida Y, Donaldson E M. Induced ovulation of Japanese flounder (*Limanda yokohoma*) with HCG and salmon gonadotropin, with special references to changes in the quality of eggs retained in the ovarian cavity after ovulation[J]. *Bull Jpn Soc Fish*, 1979, 45: 31–36.
- [74] Bromage N, 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]. *J World Aquac Soc*, 1994, 25: 13–21.
- [75] Jensen J O, Alderdice D F. Effect of temperature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon[J]. *Aquaculture*, 1984, 37: 251–265.
- [76] Babiak I, Dabrowski K. Refrigeration of rainbow trout gametes and embryos[J]. *J Exp Zool A: Comp Exp Biol*, 2003, 300: 140–151.
- [77] Billard R, Gillet C. Ageing of eggs and temperature potentialization of micropollutant effects of the Aquaculture medium on trout gametes[J]. *Cahier du Laboratoire de Monttereau*, 1981, 12: 35–42.
- [78] Harvey B, Kelley R N. Short-term storage of *Sarotherodon mossambicus* ova[J]. *Aquaculture*, 1984, 37: 391–395.
- [79] Rothbard S, Rubinshtein I, Gelman E. Storage of common carp, *Cyprinus carpio* L., eggs for short durations[J]. *Aquac Res*, 1996, 27: 175–181.
- [80] Campbell P M, Pottinger T G, Sumpter J P. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout[J]. *Aquaculture*, 1994, 120: 151–169.
- [81] Contreras-sanchez W M, Schreck C B, Fitzpatrick M S, et al. Effects of stress on the reproductive performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Biol Reprod*, 1998, 58: 439–447.
- [82] Stratholt M L, Donaldson E M, Lilley N R. Stress induced elevation of plasma cortisol in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), is reflected in egg cortisol content, but does not appear to affect early development[J]. *Aquaculture*, 1997, 158: 141–153.
- [83] Aegerter S, Jalabert B, Bobe J. Large scale real-time PCR analysis of mRNA abundance in rainbow trout eggs in relationship with egg quality and post-ovulatory ageing[J]. *Mol Reprod Dev*, 2005, 72: 377–385.
- [84] Ziv T, Gattegno T, Chapovetsky V, et al. Comparative proteomics of the developing fish (zebrafish and gilthead seabream) oocytes[J]. *Comp Biochem Physiol D: Genomics Proteomics*, 2008, 3: 12–35.
- [85] Crespel A, Rime H, Fraboulet E, et al. Egg quality in domesticated and wild seabass (*Dicentrarchus labrax*): a proteomic analysis[J]. *Cybio*, 2008, 32: 205.
- [86] Weigel K A. Prospects for improving reproductive performance through genetic selection[J]. *Anim Reprod Sci*, 2006, 96: 323–330.

Advances in teleost egg quality research

JIA Yudong^{1,2}, LEI Jilin^{1,2}

1. Key Laboratory for Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Qingdao 266071, China

Abstract: Fish egg quality can be defined as the ability of the egg to be fertilized and subsequently develop into a normal embryo. Egg quality determines the artificial breeding, affects the efficient and sustainable development of the industry in marine fish culture. In this paper, progress on the study of fish egg quality has been summarized in detail, which focuses on the oogenesis and development, evaluation criteria and influencing factors of egg quality, together with the underlining mechanisms. Meanwhile, further elucidate regulatory mechanism of egg quality and will provide the scientific basis for egg quality assessment in teleosts, thus providing controllable process of seed industry in marine fish culture.

Key words: egg; teleost; aquaculture; oogenesis and development; quality estimation

Corresponding author: LEI Jilin. E-mail: LeiJL@ysfri.ac.cn; leijilin@seacul.com