

Na⁺、葡萄糖、果糖对凹目白鲑精子活力的影响

李胜忠^① 郭焱^② 蔡林钢^② 谷巍^① 张人铭^② 马燕武^② 吐尔逊^②

(^① 新疆农业大学动物科学学院 乌鲁木齐 830052 ; ^② 新疆水产科学研究所 乌鲁木齐 830000)

摘要 :研究了凹目白鲑 (*Coregonus autumnalis*) 精子在 302.6 ~ 488.9 kPa 时的 NaCl 溶液、D-葡萄糖溶液及 D-果糖溶液中的活动情况。结果显示,在 NaCl 溶液中凹目白鲑精子在 395.7 kPa 具最佳活力,其快速运动时间(fast movement time, FT)与寿命时间(life time, LT)的最大值分别达 43.57 s 和 90.31 s ;与相同渗透压下 NaCl 溶液相比,凹目白鲑精子在葡萄糖和果糖溶液中的 FT 与 LT 均有不同程度的增加,在葡萄糖溶液中 FT 与 LT 的最大值分别为 57.67 s 和 97.29 s ,在果糖溶液中则为 70.44 s 和 105.29 s 。说明凹目白鲑精子活力不但与溶液渗透压有关,而且与溶液溶质有关。

关键词 :凹目白鲑 精子活力 ;Na⁺ ;D-葡萄糖 ;D-果糖

中图分类号 :Q492 文献标识码 :A 文章编号 :0250-3263(2005)04-82-04

Effects of Na⁺ ,Glucose and Fructose on Sperm Mobility in *Coregonus autumnalis*

LI Sheng-Zhong^① GUO Yan^② CAI Lin-Gang^② GU Wei^①

ZHANG Ren-Ming^② MA Yan-Wu^② TU Er-Xun^②

(^① Xinjiang Agricultural University , Urumqi 830052 ; ^② Xinjiang Fisheries Institute , Urumqi 830000 ,China)

Abstract :The sperm mobility in 302.6 – 488.9 kPa solutions of NaCl , D-Glu and D-Fru was evaluated in *Coregonus autumnalis* .The results showed that the sperm mobility of *C. autumnalis* was the best in 395.7 kPa NaCl solution , with its Fast Movement Time(FT) and Life Time(LT) amounting to 43.57 s and 90.31 s separately . We also found that the sperm mobility increased in the solution of D-Glu or D-Fru in the same osmolarity as NaCl solution . The highest FT and LT were 57.67 s and 97.29 s respectively in D-Glu solution ,and 70.44 s and 105.29 s in D-Fru solution respectively . We concluded that sperm motility is related not only with the osmolarity , but also with solutions .

Key words :*Coregonus autumnalis* ; Spermatozoal mobility ; Na⁺ ; D-Glucose ; D-Fructose

凹目白鲑 (*Coregonus autumnalis*) 属鲑形目 (Salmoniformes) 鲑科 (Salmonidae) 白鲑属 (*Coregonus*) ,自然分布主要在俄罗斯境内除鄂毕河以外的地区,为名优冷水性鱼类。该鱼生长快、适应力强、肉味鲜美、营养丰富,深受国内外水产品市场的欢迎。1998 年新疆水产工作者首次将该鱼从俄罗斯引入我国的赛里木湖。通过对凹目白鲑生长状况和性腺发育的多年观测,课题组发现凹目白鲑可适应赛里木湖水域环境,并已成为赛湖主要捕捞鱼类之一。为解决苗种本地化问题,新疆水产工作人员正积极

开展凹目白鲑的人工繁殖研究。本文作者从提高该鱼精子活力的研究入手,旨在探讨凹目白鲑精子在不同溶液中的活力表现,为凹目白鲑精子稀释液的配制提供理论依据,最终提高人工繁殖的受精率。

第一作者介绍 李胜忠,男,副教授,主要从事鱼类增养殖方面的研究。

收稿日期 2004-12-20 修回日期 2005-05-01

1 材料与方 法

1.1 材料 雄性凹目白鲑均采捕于新疆赛里木湖,时间为 2004 年 10 月下旬 ~ 11 月中旬。挑选体色鲜亮、健康活跃、轻挤压腹部有精液流出的雄鱼作为试验用鱼。试验鱼体重 371 ~ 879 g,体长 285 ~ 398 mm,性腺成熟度为 1.38% ~ 2.82%。

1.2 方 法

1.2.1 试验液配置 NaCl、D-葡萄糖、D-果糖均为分析纯,用去离子水和 3 种溶质分别配制 5 个渗透压组。由于本研究的前期工作已经初步确定了凹目白鲑精子活力较佳时的适宜渗透压范围,故选定的溶液渗透压值分别为 302.6、349.2、395.7、442.3、488.9 kPa。将配好的试剂分装于洁净青霉素小瓶中,密闭避光待用。

1.2.2 精液获得 将雄鱼体表水分擦干,用挤压法采精。弃去第一滴精液,其余滴入干燥洁净的培养皿中盖好,然后将培养皿置于盛有湖水的水浴箱中,以保证精液温度与湖水水温一致。试验用精液应乳白、粘稠,无血、尿、粘液等污染。采精时避免高温和阳光。每次采集的精液,观察应在 20 ~ 30 min 内做完,保持接近于湖水的温度,避免长时间暴露于空气中,否则会对精子活性产生影响。

1.2.3 精子活力观察 取干燥洁净载玻片,吸取一滴试验液于片上,置于 10 × 40 倍显微镜下,定好视野,用洁净注射器针头挑取少量精液涂于试验液中并使其均匀分散,即刻用秒表计时。每个梯度做两次,取平均值为观测数据。精子活动等级参照苏德学、严安生(2004)方法^[1]。本次实验只观察快速运动时间(fast movement time, FT)和寿命时间(life time, LT)。

实验数据用 SPSS 11.0 统计软件进行统计分析。数据用平均值加标准差表示,渗透压用千帕(kPa)和毫渗(mOsm)两种单位表示。

2 结 果

2.1 不同渗透压 Na^+ 溶液对凹目白鲑精子活力的影响 由表 1 中可知,凹目白鲑精子 FT,

在渗透压由 302.6 kPa 上升到 395.7 kPa 时,延长到最大值 43.57 s;而后随渗透压继续升高而缩短,在 488.9 kPa 时,缩短为 35.88 s。对数据进行统计分析表明,395.7 kPa 和 442.3 kPa 时,二者 FT 值差异不显著($P > 0.05$),而和其他三者皆有显著的差异($P < 0.01$)。LT 的变化规律与 FT 基本相同,在 395.7 kPa 时达到最大值 90.31 s。与 FT 不同之处在于,该值和 LT 其他各值都有极显著的差异($P < 0.01$)。

表 1 不同渗透压的 Na^+ 凹目白鲑精子 FT、LT 的影响 ($n = 20$)

渗透压		FT (s)		LT (s)	
kPa	mOsm	范围	$\bar{X} \pm SD$	范围	$\bar{X} \pm SD$
302.6	130	22 ~ 43	29.00 ± 4.58	54 ~ 82	66.88 ± 7.07
349.2	150	33 ~ 45	34.67 ± 4.50	65 ~ 123	79.44 ± 12.35
395.7	170	40 ~ 48	43.57 ± 3.78	70 ~ 130	90.31 ± 14.44
442.3	190	35 ~ 55	40.50 ± 3.37	69 ~ 104	81.89 ± 12.72
488.9	210	30 ~ 41	35.88 ± 5.57	58 ~ 102	72.04 ± 11.99

n 为检测鱼尾数,以下同。

2.2 不同渗透压葡萄糖溶液对凹目白鲑精子活力的影响 表 2 表明,葡萄糖对凹目白鲑精子活力的影响和 Na^+ 的情况基本相似。随着渗透压的升高,FT 和 LT 都有延长,并都在 395.7 kPa 时分别达到最大值 57.67 s 和 97.29 s。之后,随渗透压升高而缩短。395.7 kPa 时的 FT 与其他渗透压之间差异极显著($P < 0.01$)。395.7 kPa 时的 LT 与 442.3 kPa 之间差异显著($P < 0.05$)和其他值差异极显著($P < 0.01$)。

表 2 不同渗透压葡萄糖对凹目白鲑精子 FT、LT 的影响 ($n = 20$)

渗透压		FT (s)		LT (s)	
kPa	mOsm	范围	$\bar{X} \pm SD$	范围	$\bar{X} \pm SD$
302.6	130	40 ~ 50	45.00 ± 4.76	72 ~ 86	75.38 ± 4.63
349.2	150	46 ~ 59	47.40 ± 5.34	75 ~ 95	80.83 ± 7.25
395.7	170	55 ~ 80	57.67 ± 2.52	90 ~ 102	97.29 ± 4.75
442.3	190	45 ~ 57	50.63 ± 2.13	75 ~ 88	82.11 ± 4.26
488.9	210	39 ~ 54	45.00 ± 4.53	71 ~ 97	78.56 ± 7.86

2.3 不同渗透压果糖溶液对凹目白鲑精子活力的影响 从表 3 可以看出,果糖对凹目白鲑精子活力的影响不同于 Na^+ 和葡萄糖。随着渗

透压的升高, FT 和 LT 都有延长, 但是在 442.3 kPa 时才达到最大值, 分别为 70.44 s 和 105.29 s, 随后 FT 和 LT 才开始变短。统计分析显示, FT 值 70.44 s 与 68.21 s 间没有差异, 与其他值之间差异极显著 ($P < 0.01$); LT 值 105.29 s (488.9 kPa 时) 与 97.64 s (395.7 kPa 时) 差异显著 ($P < 0.05$), 与其他值差异极显著 ($P < 0.01$)。

表 3 不同渗透压果糖对凹目白鲑精子 FT、LT 的影响 ($n = 20$)

渗透压		FT(s)		LT(s)	
kPa	mOsm	范围	$\bar{X} \pm SD$	范围	$\bar{X} \pm SD$
302.6	130	48~57	52.50 ± 3.42	74~132	86.53 ± 14.32
349.2	150	50~63	55.86 ± 5.58	77~142	90.71 ± 9.38
395.7	170	55~70	61.02 ± 7.49	76~190	97.64 ± 14.32
442.3	190	54~79	70.44 ± 6.88	80~154	105.29 ± 15.11
488.9	210	49~73	68.21 ± 2.98	72~123	92.88 ± 8.02

2.4 Na⁺ 与葡萄糖、果糖间 FT 和 LT 的显著性检验 由表 4 可知, 在相同渗透压的情况下, 与 Na⁺ 的 FT 和 LT 相比, 葡萄糖和果糖延长 FT 和 LT 效果都很明显。在 FT 的比较中, Na⁺ 与葡萄糖在 302.6 ~ 395.7 kPa 间, 两者差异极显著 ($P < 0.01$), 在 442.3 ~ 488.9 kPa, 差异显著 ($P < 0.05$); Na⁺ 与果糖在所有实验组都有极显著的差异 ($P < 0.01$)。在 LT 比较中, 302.6 kPa 组, Na⁺ 与葡萄糖存在极显著的差异 ($P < 0.01$), 在 349.2 kPa 和 442.3 kPa 组, 两者间没有差异 ($P > 0.05$), 在 395.7 kPa 和 488.9 kPa, 两者存在显著差异 ($P < 0.05$); Na⁺ 与果糖除在 395.7 kPa 组有显著差异外 ($P < 0.05$), 在其他渗透压组都存在极显著的差异 ($P < 0.01$)。

表 4 Na⁺ 与葡萄糖、果糖间 FT 和 LT 的显著性检验

渗透压 kPa	FT 比较		LT 比较	
	Na ⁺ 与 葡萄糖	Na ⁺ 与 果糖	Na ⁺ 与 葡萄糖	Na ⁺ 与 果糖
302.6	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$
349.2	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P > 0.05$	$P < 0.01$
395.7	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.05$	$P < 0.05$
442.3	$P < 0.05$	$P < 0.01$	$P > 0.05$	$P < 0.01$
488.9	$P < 0.05$	$P < 0.01$	$P < 0.05$	$P < 0.01$

3 讨论

3.1 Na⁺ 对凹目白鲑精子活力的影响 渗透压对鱼类精子的活动有着重要的影响。鱼类精子在精巢和精浆中是不活动的, 而进入低渗透压水环境中则被激活, 其重要的抑制因素就是渗透压。Na⁺ 对鱼类精子活力的影响已被许多研究所证实^[2-6]。鱼类精浆渗透压一般为 656.8 ~ 838.3 kPa, 淡水鱼类精子激活最适渗透压一般为 300 ~ 400 kPa 左右^[5]。本研究设定的 NaCl 溶液渗透压范围在 302.6 ~ 488.9 kPa, 这与多数淡水鱼类精子激活的最适渗透压范围较接近, 凹目白鲑的 FT 在 395.7 kPa 时达到最大值, 说明精子在该渗透压下的能量损失最小, 从而延长了精子活力较强时的时间, 这对于提高受精率是十分必要的。

3.2 单糖对凹目白鲑精子活力的影响 精浆中的碳水化合物主要是一些单糖, 如葡萄糖、果糖、半乳糖等^[3]。Phronen 和 Hyvarinen 曾测定白鲑、硬头鲷等鱼类的精浆时发现, 葡萄糖浓度是果糖的 5 倍, 与哺乳动物较为接近^[7]。Kruger 发现莫桑比克罗非鱼和鲤精浆中存在碱性磷酸酶, 暗示着碱性磷酸酶有助于葡萄糖和果糖成为鱼类精浆的重要成分^[8]。Gardinerl 发现虹鳟的精子可以利用外源性葡萄糖维持较长时间的活动^[9]。苏德学发现, 适宜浓度的葡萄糖可以明显延长白斑狗鱼^[1]和丁鲷精子活动时间^[4]。严安生在鲤鱼、团头鲂上也有类似发现^[3]。所以, 鱼类精浆中单糖的存在, 可能在维持鱼类精子的生命活动中发挥着重要作用。

从整体上看, 试验使用单糖物质后, 其 FT 和 LT 大多数有了延长。在葡萄糖溶液中, 最大 FT 和最大 LT 分别为 57.67 s 和 97.29 s (395.7 kPa), 比相同渗透压下 (395.7 kPa) Na⁺ 的 43.57 s ($P < 0.01$) 和 90.31 s ($P < 0.05$) 都有显著延长; 在果糖溶液中, 最大 FT 和最大 LT 分别为 70.44 s 和 105.29 s (442.3 kPa), 与 Na⁺ 相比差异都极显著 ($P < 0.01$)。这说明, 单糖物质在维持精子活动中的作用是十分明显的, 这与 Kruger、严安生等人观点一致; 同时也说明, 葡萄

糖、果糖虽同为单糖,但他们对延长精子活力的作用已不是完全由渗透压一个因素所决定的,而是与溶质的性质密切相关。关于凹目白鲑精子对不同单糖吸收、利用的具体机制,还需要今后进一步的研究。

从本实验的结果可以看出,单糖物质延长 FT 的效果比 LT 要好,可能是因为在凹目白鲑精子活动的早期,即精子快速运动时间内,单糖物质具有较好的能量补偿效果。这在理论上和生产上都具有重要的意义。其理论意义在于,发现凹目白鲑精子活动所表现出的这一规律,使人们可以从鱼类繁殖学的角度对该鱼的精子活动进行调控;而生产上的意义是,FT 的延长为该鱼的人工授精争取了较多的时间,有助于提高受精率。

3.3 精子活力表现与水环境的关系 鱼类精子的活力表现与其自身所生活的水环境有着密切的联系。凹目白鲑原产江湖与赛里木湖在水域生态环境上的差异,对引入赛湖后凹目白鲑的生产发育是会产生一定影响的。赛里木湖水化学型属于硫酸盐镁组 II 型,属微咸水,其矿化度平均为 2.967 g/L,高于淡水的标准 0.5 g/L。笔者认为赛里木湖凹目白鲑精子在 395.7 ~ 442.3 kPa (170 ~ 190 mOsm) 溶液获得最佳活力表现,高于许多淡水鱼类。这种结果在赛里木湖高白鲑精子活力实验中也有类似情况(待发

表),这可能是鱼体与水环境相互适应的结果。

致谢 本研究得到新疆水产科学研究所科研人员、新疆天润赛里木湖渔业科技开发有限责任公司领导及员工的支持和帮助,特此表示感谢!

参 考 文 献

- [1] 苏德学,严安生,田永胜等. 钠、钾、钙和葡萄糖对白斑狗鱼精子活力的影响. 动物学杂志, 2004, **39**(1): 16 ~ 20.
- [2] 潘德博,许淑英,叶星等. 广东鲂精子主要生物学特性的研究. 中国水产科学, 1999, **6**(4): 111 ~ 112.
- [3] 严安生,宋贵文,闫拥军. 鲤、团头鲂精子生理生态特性的研究 III. 单糖和渗透压对精子活力的影响. 淡水渔业, 1995, **25**(2): 3 ~ 5.
- [4] 苏德学,严安生,田永胜等. 阳离子、葡萄糖及渗透压对丁鲷精子活力的影响. 水利渔业, 2004, **24**(1): 7 ~ 8.
- [5] 邓岳松,林浩然. 鱼类精子活力研究进展. 生命科学研究, 1999, **3**(4): 271 ~ 278.
- [6] Morisawa M, Suzuki K, Shimizu H, *et al.* Effect of osmolarity and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *J Exp Biol*, 1983, **107**: 95 ~ 103.
- [7] Phronen J, Hyvarinen H. Composition of the milt of some teleost fish. *J Fish Biol*, 1983, **22**: 351 ~ 361.
- [8] Kruger J C De W, Smit G L, Van Vuren J H J, *et al.* Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *J Fish Biol*, 1984, **24**(3): 263 ~ 272.
- [9] Gardiner D M. Utilisation of extracellular glucose by spermatozoa of two viviparous fishes. *Comp Biochem Physiol*, 1978, **59A**: 165 ~ 168.