

化学因子对蓝曼龙精子活力的影响

王璞^{1,2}, 王茂林^{1*}, 姜玉声¹, 王伟¹

(1. 大连海洋大学农业部海洋水产增养殖学重点开放实验室, 辽宁大连 116023; 2. 上海海洋大学, 上海 201306)

摘要 [目的]探讨不同浓度 KCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂ 溶液对蓝曼龙精子活力的影响。[方法]选取成熟蓝曼龙雄鱼, 解剖取 5 期性腺, 匀浆后获得组织液, 在显微镜下观察不同浓度 KCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂ 溶液对精子活力的影响。[结果]当 KCl 浓度为 0.5 g/L 时蓝曼龙精子活力最高, 精子活力为 245 s, 浓度高于 0.5 g/L 时, 精子活力逐渐下降; NaCl 浓度为 0.4 g/L 时蓝曼龙精子运动时间最长, 精子活力为 103 s; CaCl₂ 浓度为 0.4 g/L 时, 蓝曼龙精子活力最高, 精子活力为 26 s; MgCl₂ 浓度为 0.3 g/L 时, 蓝曼龙精子活力最高, 精子活力为 20 s。[结论]该研究可为蓝曼龙的人工繁殖提供参考。

关键词 蓝曼龙; 化学因子; 精子活力; 激活; 抑制

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)03-0068-03

Effects of Several Chemical Factors on the Sperm Motility of *Trichogaster trichopterus*

WANG Pu^{1,2}, WANG Mao-lin¹, JIANG Yu-sheng¹ et al (1. Key Open Laboratory of Marine Aquaculture in the Ministry of Agriculture, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023; 2. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract [Objective] The effects of different concentrations of KCl, NaCl, CaCl₂ and MgCl₂ solutions on the sperm motility of *Trichogaster trichopterus* were studied. [Method] The study chose mature male fish of *T. trichopterus*, dissected five stage gonad, the tissue fluid was obtained after homogenate. The effects of different concentrations of KCl, NaCl, CaCl₂ and MgCl₂ solutions on the sperm motility were observed under the microscope. [Result] When the potassium chloride concentration was 0.5 g/L, the sperm motility was the highest, sperm motility was 245 s, and the sperm motility decreased when the concentration was above 0.5 g/L. The sperm motility was the longest when the concentration of sodium chloride was 0.4 g/L, the sperm motility was 103 s. When the concentration of calcium chloride was 0.4 g/L, the activity of *T. trichopterus* sperm was the highest, sperm motility was 26 s. When the concentration of magnesium chloride was 0.3 g/L, *T. trichopterus* sperm had the highest vitality and the sperm motility was 20 s. [Conclusion] The study provided reference for artificial reproduction of *T. trichopterus*.

Key words *Trichogaster trichopterus*; Chemical factors; Sperm motility; Activation; Inhibition

蓝曼龙(*Trichogaster trichopterus*)属于鲈形目攀鲈亚目丝足鲈科, 又称丝足鲈, 是蓝星鱼的人工变种品种^[1]。身体为椭圆形, 侧扁; 尾鳍呈叉状, 腹鳍胸位, 为长丝状。鱼体呈蓝灰色, 体侧有两块不规则的深蓝色斑块, 一般情况下, 这两块斑块会连接形成一条深蓝色的斑块。腹鳍边缘具有微微的浅黄色; 背鳍、腹鳍和尾鳍的浅蓝灰底色上分布着艳蓝色斑点。蓝曼龙在没有性成熟之前, 雌鱼和雄鱼没有太大区别。成熟后, 雌鱼腹部较饱满, 背鳍圆而钝, 体色较黯淡, 丝状胸鳍基部红色不明显, 雄鱼性状与之相反。亲鱼性成熟年龄为 6 个月, 成熟的蓝曼龙游动起来非常缓慢, 但这种鱼攻击性很强, 喜欢攻击比它弱小的同种或异种类。蓝曼龙鱼体鲜艳好看, 幼鱼经常去水面吐泡泡, 十分滑稽可爱, 它对水质的适应能力较强, 所以是被观赏鱼爱好者广泛养殖的品种^[2]。

目前只有少数学者对蓝曼龙的生长、繁殖和生物学进行了研究。魏东等^[1]和董艳珍等^[3]研究了蓝曼龙鱼的人工养殖及繁殖; 郑曙明等^[4]研究了 pH 和硬度对曼龙鱼孵化率和稚鱼成活率的影响; 陈友铃等^[5]研究了蓝曼龙的染色体组型; 胡传路等^[6]对蓝曼龙配合饲料中最适蛋白含量进行了初步研究。该研究分析了不同浓度 KCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂ 溶液对蓝曼龙精子活力的影响, 以期对蓝曼龙的人工繁殖提供理论依据。

基金项目 国家海洋局海域管理技术重点实验室开放基金项目(201610); 辽宁省三区人才计划项目(500215201)。

作者简介 王璞(1995—), 男, 陕西西安人, 硕士研究生, 研究方向: 鱼类营养与饲料学。* 通讯作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事鱼类生理生态学研究。

收稿日期 2017-11-10

1 材料与方法

1.1 材料 试验用鱼购自大连市香炉礁观赏鱼市场, 挑选体色鲜艳、健康活泼、体型较大的雄鱼 20 尾, 体长(15.0 ± 0.5) cm。试验用鱼放于实验室中在水温 27 °C 下进行暂养管理, 为采集精液做准备。

1.2 KCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂ 溶液配制 试验采用分析纯的 KCl、NaCl、CaCl₂、MgCl₂ 试剂, 再分别用纯水配制成 10 个浓度梯度: 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 g/L, 纯水作对照。

1.3 精液采集及精子活力观察 将捞出的雄鱼放置在冰袋上, 等鱼体静止后, 用纸巾擦干鱼体表的水分, 解剖获取乳白色的 5 期性腺, 再将收集到的性腺匀浆后放置在培养皿中保存。

打开显微镜, 利用干燥的针头在载玻片上涂抹少量的蓝曼龙精液, 放在 40 × 10 倍的光镜下, 在载玻片的精液上滴 1 滴配制好的试剂, 快速用针头搅拌均匀后观察精子活力。精子活力是指精子从开始运动起到视野内 90% 的精子停止颤动的时间^[7], 用秒表计时。每个浓度试验重复 3 次以上。

1.4 数据处理 试验数据用 SPSS 13.0 统计软件分析, 用 Excel 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 KCl、NaCl 溶液对蓝曼龙精子活力的影响 KCl 处理下对照组精子活力为 56 s, 试验组精子活力为 34 ~ 245 s。由图 1 可知, KCl 浓度很小时(0.1、0.2 g/L), 其对蓝曼龙精子活力的影响并不大。当 KCl 浓度上升到 0.3 g/L 时, 其对蓝曼龙精子活力有了提高的作用。KCl 浓度从 0.3 ~ 0.5 g/L

时,精子活力快速增加,在浓度为 0.5 g/L 时达到最高,为 245 s。当 KCl 浓度高于 0.5 g/L 时,精子活力逐渐下降。

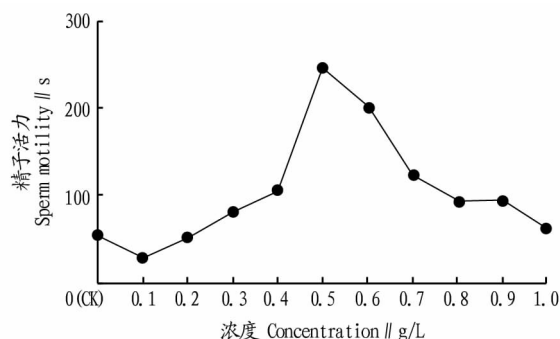


图 1 不同浓度 KCl 溶液对蓝曼龙精子活力的影响

Fig.1 The effects of different concentrations of KCl solution on sperm motility of *T. trichopterus*

NaCl 处理下,对照组精子活力为 56 s,试验组精子活力为 4~103 s。由图 2 可知,加入较低浓度的 NaCl 溶液对精子活力有明显的提升作用,激活率也逐渐升高,当加入的 NaCl 浓度为 0.1~0.4 g/L 时,精子活力不断升高。当 NaCl 浓度为 0.4 g/L 时,蓝曼龙精子活力达到最高,为 103 s,此后再增加 NaCl 浓度,精子活力呈明显下降趋势。NaCl 浓度高于 0.8 g/L 时,已经观察不到精子活动。

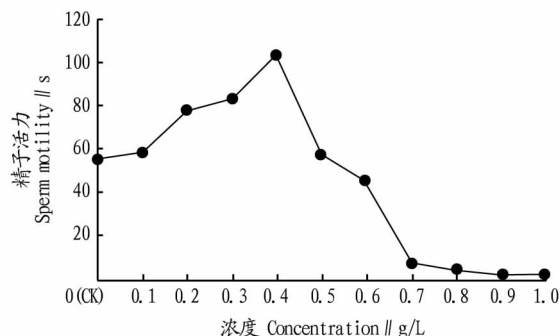


图 2 不同浓度 NaCl 溶液对蓝曼龙精子活力的影响

Fig.2 The effects of different concentrations of NaCl solution on sperm motility of *T. trichopterus*

2.2 CaCl₂、MgCl₂ 溶液对蓝曼龙精子活力的影响 CaCl₂ 处理下,对照组精子活力为 56 s,试验组精子活力为 0~26 s。由图 3 可知,加入较低浓度的 CaCl₂ 溶液对精子活力具有显著的抑制作用。当 CaCl₂ 浓度为 0.4 g/L 时,蓝曼龙精子活力达最高值(26 s)。此后再增加 CaCl₂ 浓度,精子活力逐渐消失。当 CaCl₂ 浓度高于 0.8 g/L 时,已经观察不到精子运动。

MgCl₂ 处理下,对照组精子活力为 56 s,试验组精子活力为 2~20 s。由图 4 可知,加入较低浓度的 MgCl₂ 溶液对精子活力具有明显的抑制作用。当 MgCl₂ 浓度为 0.3 g/L 时,蓝曼龙精子活力达到最高值(20 s)。此后再增加 MgCl₂ 浓度,精子活力逐渐消失。当 MgCl₂ 浓度高于 0.4 g/L 时,已经观察不到快速运动的精子。

3 讨论

3.1 Na⁺、K⁺ 对精子活力的影响 鱼类的精巢中,除了精液

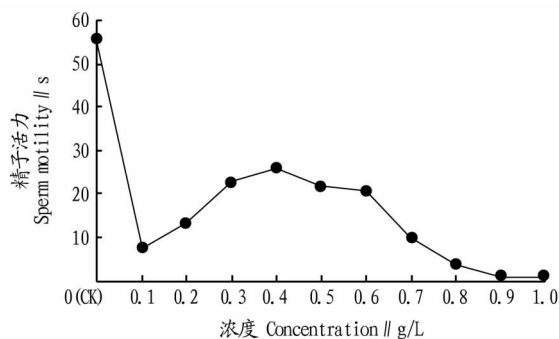


图 3 不同浓度 CaCl₂ 溶液对蓝曼龙精子活力的影响

Fig.3 The effects of different concentrations of CaCl₂ solution on sperm motility *T. trichopterus*

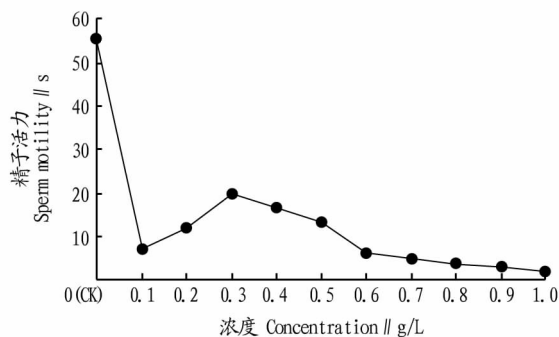


图 4 不同浓度 MgCl₂ 溶液对蓝曼龙精子活力的影响

Fig.4 The effects of different concentrations of MgCl₂ solution on sperm motility *T. trichopterus*

外,还存在许多其他物质。其中有一些抑制精子活动的因素,它们可以通过减缓运动强度来减少精子能量的消耗。一方面促进了精子的成熟,另一方面也保障了精子的储存。因此,到了繁殖季节,雄鱼可以持续不断地产出有活性的精子^[8-9]。

试验结果显示 Na⁺ 和 K⁺ 在调控鱼类精子活力方面起到了重要作用。研究表明,Na⁺、K⁺ 对不同鱼类精子的调控结果不尽相同^[10]。如柴毅等^[10] 研究表明 Na⁺ 浓度为 0.4% 时,泥鳅的精子活力最强;而刘鉴毅等^[11] 研究表明 Na⁺ 浓度为 0.2% 时,中华鲟的精子活力最强。该试验结果表明,NaCl 浓度为 0.4 g/L 时,蓝曼龙的精子活力最强,激活率也最高。张涛等^[12] 研究证明了 K⁺ 浓度为 0.2% 时,高体雅罗鱼精子活力最强;而刘鉴毅等^[11] 研究表明 K⁺ 浓度为 0.05% 时,中华鲟的精子活力最强。该试验结果表明,KCl 浓度为 0.5 g/L 时,蓝曼龙精子活力最强,激活率也最高。说明 Na⁺、K⁺ 对不同种类的最适调节浓度不同。

在鱼类的精浆中,存在着以 Na⁺、K⁺ 为主的多种离子,导致精浆是一个高渗透压的环境,鱼类精子在这个环境中的活动受到了抑制^[7]。但是当精液排出到水中,精液中的各种离子就会被水稀释,原本存在的抑制作用就会被减弱,精子被激活并开始运动。而一旦开始运动就会伴随着大量能量的消耗,此时精子活力就会逐渐减弱^[13]。一定浓度的 NaCl 或者 KCl 对精子活力的减弱有限制作用,可以达到延长精子运动时间和激烈运动时间的作用^[14]。因此,要注意 Na⁺ 和 K⁺ 浓度对精子活力的影响。当蓝曼龙精子活力达到最大

后,再增加 NaCl 或是 KCl 浓度精子活力会逐渐降低。也就是说当外界激活液中离子的渗透压大于精液的渗透压,此时对精子的活动具有抑制作用。

3.2 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对精子活力的影响 在精浆的高渗透压环境中,除了存在 Na^+ 、 K^+ 外,同样存在 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ,但是试验结果显示, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对蓝曼龙精子活力的激活作用大体上与 Na^+ 、 K^+ 相反,对蓝曼龙精子的激活与活力存在明显的抑制作用^[7]。即使是低浓度的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 都会对精子活力产生十分明显的抑制作用,精子的快速运动时间和寿命同用纯水激活相比都是骤然下降,激活率同样如此。随着 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度的继续升高,精子活力继续快速下降,抑制作用不断加大^[15]。该试验中,当 MgCl_2 浓度高于 0.3 g/L 时,显微镜下的视野中只有约 1/5 的精子在缓慢游动,并且很快就全部不动了;当 CaCl_2 浓度高于 0.4 g/L 时,视野内几乎没有游动的精子,少数能动的精子也只是在原地颤动。这表明当 CaCl_2 、 MgCl_2 浓度过高时,其对蓝曼龙精子活力存在极强的抑制作用。究其原因,很可能还是与渗透压有关。 CaCl_2 、 MgCl_2 对蓝曼龙精子激活和精子活力存在明显的抑制作用。在配制激活液的时候,需尽量避免 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度过高。

参考文献

[1] 魏东,孙向军,梁拥军. 蓝曼龙鱼的人工养殖及繁殖 [J]. 齐鲁渔业,

2009,11(3):65-67.

- [2] 施振宁,陈亚琴. 蓝曼龙的生活习性、繁殖及仔稚鱼的培育[J]. 水产科技情报,2002,29(3):132-134.
- [3] 董艳珍,吴健东. 蓝曼龙鱼的人工繁殖试验[J]. 西昌学院学报(自然科学版),2009,23(3):44-45.
- [4] 郑曙明,吴青,李玉宏,等. pH 和硬度对曼龙鱼孵化率和稚鱼成活率的影响[J]. 水生生态学杂志,1999(1):4-5.
- [5] 陈友铃,吴文珊,汪彦楷. 蓝曼龙(*Trichogaster trichopterus*)的染色体组型、Ag-NORs 及 C-带型的研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版),2005,21(2):86-89.
- [6] 胡传路,杨超,王基伟,等. 蓝曼龙配合饲料中最适蛋白含量的初步研究[J]. 河北渔业,2013(8):13-15.
- [7] 严安生,彭安生,姚杏珍. 不同浓度的电解质和非电解质溶液对花鲢精子活动的影响[J]. 华中农业大学学报,1988,7(4):375-378.
- [8] 鲁大椿,刘宪亭,方建萍,等. 我国主要淡水养殖鱼类精浆的元素组成[J]. 淡水渔业,1992,22(2):10-12.
- [9] 邓岳松,林浩然. 鱼类精子活力研究进展[J]. 生命科学研究,1999,3(4):271-278.
- [10] 柴毅,黄栋才,李罗新. 几种化学因子对泥鳅精子活力的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(36):17981-17982.
- [11] 刘鉴毅,甘芳,危起伟,等. 几种不同浓度的离子及单糖对中华鲟精子活力的影响[J]. 水生生物学报,2007,31(6):849-854.
- [12] 张涛,李胜忠,牛建功,等. Na^+ 、 K^+ 、葡萄糖及甘油对高体雅罗鱼精子活力的影响[J]. 南方农业学报,2017,48(4):734-738.
- [13] 张树成,王弘毅,王介东. 低温冷冻保存技术与精子库、卵细胞和胚胎库[J]. 生物学通报,2001,36(9):4-5.
- [14] 周立新,苏天凤,江世贵. 中华乌塘鳢精子的生物学特性的研究[J]. 水产科技,1995,22(4):18-20.
- [15] 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[J]. 动物学杂志,2004,39(1):16-20.

(上接第 7 页)

3 结论

提出了一种基于 CSO 的点云简化算法,该算法能够自适应地调节扫描线的平均距离,解决了原始点云数据量大和分布不均匀的问题。利用该算法可使分布更加均匀、简化。该研究所提出的算法是一种可以代替平均距离法解决存储粮食体积问题的简单和实用的方法。

参考文献

- [1] FLEISHMAN S, COHEN-OR D, ALEXA M, et al. Progressive point set surfaces[J]. ACM Transactions on Graphics, 2003, 22(4): 997-1011.
- [2] KIL Y J, AMENTA N. Defining point-set surfaces[J]. ACM Transactions on Graphics, 2004, 23(3): 264-270.
- [3] LEVOY M, PULLI K, CURLESS B, et al. The digital Michelangelo project: 3D scanning of large statues[C]//Proceedings of SIGGRAPH. New York: ACM Press, 2000.
- [4] LIU H, TAO Y L, FU J W. Data processing of scanning beam point-cloud based measuring freeform surface[J]. Modular machine tool & automatic manufacturing technique, 2011(5): 77-80.
- [5] FANG Y M, XIA Y H, CHEN J. Study on point cloudy data simplification of goal based on improved angular deviation method[J]. Journal of earth sciences and environment, 2012, 34(2): 106-110.
- [6] WANG G F, LV Y M, HAN N, et al. Simplification method and application of 3D laser scan point cloud data[C]//Mechanical engineering and material science, 2012 international conference on mechanical engineering and

material science (MEMS 2012). France: Atlantis Press, 2012: 266-268.

- [7] 陈璋雯,达飞鹏. 基于模糊熵迭代的三维点云精简算法[J]. 光学学报, 2013, 33(8): 153-159.
- [8] MCCAFFREY K J W, JONES R R, HOLDSWORTH R E, et al. Unlocking the spatial dimension: Digital technologies and the future of geoscience fieldwork[J]. Journal of the geological society, 2005, 162(6): 927-938.
- [9] QIN J. Open access publishing of scientific scholarly journals in China [M]. Tianjin: Tianjin University of Technology, 2011: 63.
- [10] 徐伟恒,冯仲科,苏志芳,等. 一种基于三维激光点云数据的单木树冠投影面积和树冠体积自动提取算法[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(2): 465-471.
- [11] ZHU L L, HYYPPA J. The use of airborne and mobile laser scanning for modeling railway environments in 3D[J]. Remote sensing, 2014, 6(4): 3075-3100.
- [12] FERRARI S, FERRIGNO G, PIURI V, et al. Reducing and filtering point clouds with enhanced vector quantization[J]. IEEE Transactions on Neural Networks, 2007, 18(1): 161-177.
- [13] SONG H, FENG H Y. A global clustering approach to point cloud simplification with a specified data reduction ratio[J]. Computer-aided design, 2008, 40(3): 281-292.
- [14] YU Z W, WONG H S, PENG H, et al. ASM: An adaptive simplification method for 3D point-based models[J]. Computer-aided design, 2010, 42(7): 598-612.
- [15] SHI B Q, LIANG J, LIU Q. Adaptive simplification of point cloud using k-means clustering[J]. Computer-aided design, 2011, 43(8): 910-922.
- [16] FENG H M. Particle swarm optimization learning fuzzy system design [C]//Proceedings of the third international conference on information technology and applications. [s.l.]: ICITA, 2001: 101-106.