

doi: 10. 3969/j. issn. 2095 - 0780. 2012. 02. 003

基于能量代谢酶相对活力评价大菱鲆卵质

肖永双, 马道远, 肖志忠, 刘清华, 徐世宏, 李 军
(中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 采用卵径形态比较和能量代谢关键酶生理生化分析方法, 对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*) 卵质进行了评价。结果显示, 大菱鲆受精卵卵径平均值为(1. 053 ±0. 020) mm, 不同批次的受精卵卵径间无显著差异。双变量相关统计分析结果显示, 大菱鲆卵径与悬浮率、受精率和孵化率间相关性皆不显著。基于能量代谢关键酶统计结果显示, 大菱鲆受精卵孵化率与参与蛋白代谢关键酶谷草转氨酶(AST) 相对活力存在显著相关性[$E_{AST} \geq (15. 159 \pm 3. 300) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$, $H_{\text{Hatching rate}} > 20\%$, Spearman 相关系数为 $R = 0. 675$, $P = 0. 003$], 悬浮率和受精率与 AST 显著相关; 大菱鲆受精卵悬浮率、受精率和孵化率与参与糖代谢关键酶丙酮酸激酶(PK) 间相关性均不显著。该研究表明, AST 相对活力可以作为用于评价大菱鲆卵质的生理生化参数, 蛋白质在大菱鲆受精卵能量代谢过程中是一个重要的能量来源。

关键词: 大菱鲆; 卵质; 形态; 生理生化评价

中图分类号: S 917. 4 文献标志码: A 文章编号: 2095 - 0780 - (2012) 02 - 0015 - 07

Quality assessment of oosperm of turbot (*Scophthalmus maximus*) based on energy metabolism-related relative enzyme activities

XIAO Yongshuang, MA Daoyuan, XIAO Zhizhong, LIU Qinghua, XU Shihong, LI Jun
(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: We assessed the oosperm quality of turbot (*Scophthalmus maximus*) based on the morphological comparison of oosperm diameter and energy metabolism-related relative enzyme activities. The results show that the average oosperm diameter for turbot is (1. 053 ±0. 020) mm and no significant difference is found among different batches. Bivariate correlation statistics reveal that the correlation is insignificant among oosperm diameter and suspensibility as well as fertilization rate and hatching rate. The statistics of energy metabolism-related relative enzyme activities indicate that significant correlation is found between hatching rate and aspartate amino transferase (AST) [$E_{AST} \geq (15. 159 \pm 3. 300) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$, $H_{\text{Hatching rate}} > 20\%$, Spearman coefficient $R = 0. 675$, $P = 0. 003$]; the correlation among suspensibility, fertilization rate and AST is significant. No significant correlation is found among pyruvate kinase (PK) , suspensibility, fertilization rate and hatching rate. Thus, the relative activity of AST can be used as a physiological and biochemical parameter to assess the oosperm quality of turbot, and protein is an important energetic source for the energy metabolism of turbot's oosperm.

Key words: *Scophthalmus maximus*; quality of oosperm; morphology; physiological and biochemical assessment

能量代谢反应是生物体通过一系列酶促作用进行物质转化的一种活动, 它是生物体维持生命活动的能量来源, 相关酶活力及代谢中间产物的缺失或低水平表达将阻断新陈代谢通路, 从而影响生物能

量的产生^[1-2]。蛋白质代谢和脂质代谢是鱼类能量的重要来源，同时也是参与卵黄囊物质利用的重要途径；糖(如葡萄糖、半乳糖和果糖等)代谢作为糖酵解的重要路径在鱼类及其卵子能量提供过程中发挥着重要作用^[3-4]。谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST) 是一种广泛存在于动物线粒体中重要的氨基酸转氨酶，将多种氨基酸代谢产物天冬氨酸(Asp) 转化为草酰乙酸进入三羧酸循环进行分解，在动物机体蛋白质代谢中起着重要作用^[2,5]。丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK) 是糖代谢途径中的关键酶之一，同时在三磷酸核苷的合成过程中也起着决定作用，它在细胞能量代谢过程中发挥重要作用^[6]。鱼类受精卵在发育过程中，由于不能从外界摄入营养来维持自身的活性，只能从储备的卵黄中提取维持生命所需要的能量物质，因此，通过对鱼类受精卵重要生化组分生理功能进行开发研究，将加深对受精卵各成分功能的认识，为深刻揭示影响受精卵质量的决定机制奠定基础。

大菱鲂(*Scophthalmus maximus*) 隶属于鲆科、菱鲆属，自然分布于东北大西洋沿岸，其生长迅速、适应低温生活，市场潜力巨大，其养殖业已成为一项新兴产业^[7-8]。为促进大菱鲆产业健康、稳定和可持续发展，国内外学者对大菱鲆亲鱼、精子、卵子、受精卵及仔、稚鱼的质量进行了评价^[9-13]，尤其是对大菱鲆精子和卵子的评价从不同的角度进行了探讨，但至今尚无统一的标准应用到实际生产。目前，对大菱鲆卵质评价研究主要集中于亲鱼卵子成熟度控制、卵裂形态学、活细胞染色等标准与受精率和孵化率的相关性^[12-17]，尚无基于生理生化参数对大菱鲆卵质进行评价的报道。该研究选择与蛋白质代谢相关的关键酶 AST 及与糖代谢相关的关键酶 PK 为参数，对大菱鲆卵质进行初步评价，以期为大菱鲆卵质评价及优化亲鱼培育条件等提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

大菱鲆受精卵于 2011 年 6 月~7 月取自山东烟台百佳水产育苗场，试验所用大菱鲆雌性亲鱼为 4 龄，雄性亲鱼为 3 龄，雌鱼生物学平均全长(496.00 ±23.25) mm，平均体质量(3 535.00 ±350.00) g；雄鱼平均全长(410.75 ±18.13) mm，平均体质量(2 400.00 ±316.23) g。采用腹部挤压法

分别获得大菱鲆亲鱼成熟的卵子和精液，人工干法授精获取受精卵(将成熟的卵子挤入 500 mL 塑料碗中，加入适量精液，摇匀后加入少量海水，放置 5~10 min；加入 300~350 mL 海水，再放置 10 min 后洗卵)。在人工控制水温为(14 ±0.5) ℃，盐度 30 的条件下卵子授精后经过 110 h 左右仔鱼孵出。试验所用 AST 试剂盒、PK 试剂盒及考马斯亮蓝试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 繁殖性状测定及样品制备

用 5 mL 量筒分别量取 0.1 mL 受精卵放入 500 mL 的碗中，分别测定悬浮率、受精率和孵化率。每项设 3 个平行组。悬浮率为卵子授精后 40 min 测定碗中浮卵数占浮卵和沉卵总数的百分比；受精率为取卵子授精 40 min 后的上浮卵、测定授精后 30 h 碗中原肠中期受精卵数占总卵数的百分比；孵化率为卵子授精 40 min 后取 0.1 mL 受精卵放入孵化碗中(3 个平行样) 孵出仔鱼占总卵数的百分比。

根据时序分别取大菱鲆胚胎发育至原肠中期的受精卵进行液氮保存；将液氮保存的受精卵样品进行水浴解冻，同时用吸水纸吸去表面水分并采用微量天平(0.10~1.00 g) 进行等量(0.19 g) 称量；加入 3 倍体积遇冷的 PBS 缓冲液，冰浴下进行匀浆，4 ℃ 6 000 r·min⁻¹ 离心 15 min，取上清液 4 ℃ 保存备用。

1.3 总蛋白含量及酶活性测定与分析方法

AST 活力采用赖氏法进行测定，根据 AST 能够使 α-酮戊二酸和 Asp 转移氨基和酮基，生成谷氨酸(Glu) 和草酰乙酸；草酰乙酸在反应过程中可自行脱羧成丙酮酸；丙酮酸与 204 二硝基苯肼苯腙在碱性溶液中显红棕色，进行比色测定并根据标准曲线计算酶活力。以 1 mL 上清液，反应液总容量 3 mL，25 ℃ 下 1 min 内所生成的丙酮酸，使羟酰辅酶 A 脱氢酶(NADH) 氧化成 NAD⁺而引起吸光度每下降 0.001 为 1 个卡门氏单位。PK 活力测定，根据在腺苷-5'-二磷酸(ADP) 存在下可催化磷酸烯醇式丙酮酸(PEP) 产生丙酮酸，丙酮酸再由乳酸脱氢酶(LDH) 将其转化成乳酸的原理进行测定。在 37 ℃ 每克组织蛋白每分钟将 1 μmol 的 PEP 转变成丙酮酸为 1 个酶活力单位。PK(U·g⁻¹) = (绝对吸光度/ mmol 消光系数) ×[1/(反应时间 ×比色光径)] ×(反应液总体积/取样量) /总蛋白含量。运用 Excel 软件和 SPSS 软件对大菱鲆受精卵卵径进

行形态差异及相关性分析。

原肠期受精卵的总蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法，样品与考马斯亮蓝按体积比 1 60 混合，室温放置 10 min 后采用紫外可见分光光度计 (WFJ 2000)，每组设 3 个平行组，在波长为 595 nm 下测定。

2 结果

2.1 受精卵卵径差异

从 16 批大菱鲆受精卵样品中随机取样(各 31 粒)进行测量(表 1)，其受精卵卵径规格为 1.00 mm 左右，平均值皆大于 1.00 mm，不同批次大菱鲆受精卵卵径间均无显著差异。双变量相关统计分析结果显示，大菱鲆受精卵卵径与悬浮率的 Pearson 相关系数为 $R = 0.015$ ， $P = 0.955$ (双侧)，Spearman 相关系数为 $R = 0.025$ ， $P = 0.927$ (双侧)，两者间均无显著相关性；受精卵卵径与受精率 (Pearson 相关系数 $R = 0.015$ ， $P = 0.955$ ，Spearman 相关系数 $R = 0.025$ ， $P = 0.927$) 和孵化率 (Pearson 相关系数: $R = 0.015$ ， $P = 0.955$ ，Spearman 相关系数 $R = 0.025$ ， $P = 0.927$) 间均无

显著的相关性。

2.2 AST 在受精卵中的表达

大菱鲆不同批次受精卵的 AST 相对活性存在显著差异(表 2)。单因子方差分析(ANOVA) 统计检验结果显示，不同批次受精卵的 AST 相对活性差异系数为 $F = 50.39$ ， $P = 0.00$ 。基于双变量相关统计分析结果显示，大菱鲆受精卵的孵化率与 AST 相对活力的 Pearson 相关系数为 $R = 0.569$ ， $P = 0.022$ ，Spearman 相关系数为 $R = 0.675$ ， $P = 0.003$ ，两者存在显著相关性。同时结果显示 AST 相对活力与受精卵的生活状态(沉降与悬浮)存在极显著的正相关性(Pearson 相关系数 $R = 0.651$ ， $P = 0.006$ ，Spearman 相关系数 $R = 0.751$ ， $P = 0.001$)，其中第 3、第 10、第 12 和第 14 批受精卵(沉降)的 AST 相对活力极低($<5.6 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$)，其孵化率皆低于 11%；当 AST 相对活力值大于 $(15.159 \pm 3.330) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ (FEQ5) 时，大菱鲆受精卵孵化率皆高于 20% (表 2，图 1)。另外，在该研究中大菱鲆受精卵悬浮率和受精率与 AST 相对活力间无显著的相关性(图 2)。

表 1 大菱鲆受精卵取样及亲鱼繁殖性状信息

Tab.1 Sampling data and broodstock reproductive characteristics of *S. maximus*

样品(批次)	采样地点	采样时间	发育时期	保存状态	卵径规格 / μm	悬浮率 / %	受精率* / %	孵化率 / %
sampling batch	sampling location	sampling period	development stage	preservation state	oosperm diameter	suspensibility	fertilization rate	hatching rate
FEQ1	山东烟台	2011.06.01	原肠期	液氮	1 049.66 $\pm$ 19.31	96.1 $\pm$ 1.3	45.3 $\pm$ 9.2	37.0 $\pm$ 4.4
FEQ2	山东烟台	2011.06.01	原肠期	液氮	1 051.45 $\pm$ 30.62	80.3 $\pm$ 5.2	39.7 $\pm$ 7.6	11.0 $\pm$ 5.2
FEQ3	山东烟台	2011.06.02	原肠期	液氮-沉降卵	1 053.75 $\pm$ 26.04	31.6 $\pm$ 7.3	40.3 $\pm$ 4.8	1.0 $\pm$ 6.7
FEQ4	山东烟台	2011.06.02	原肠期	液氮	1 048.61 $\pm$ 30.19	53.8 $\pm$ 10.2	42.9 $\pm$ 9.2	35.0 $\pm$ 8.2
FEQ5	山东烟台	2011.06.03	原肠期	液氮	1 060.85 $\pm$ 19.99	81.6 $\pm$ 5.1	43.8 $\pm$ 6.7	24.0 $\pm$ 6.9
FEQ6	山东烟台	2011.06.03	原肠期	液氮	1 057.48 $\pm$ 10.27	90.5 $\pm$ 2.8	38.1 $\pm$ 3.5	32.0 $\pm$ 4.2
FEQ7	山东烟台	2011.06.04	原肠期	液氮	1 046.27 $\pm$ 30.08	78.2 $\pm$ 6.8	44.6 $\pm$ 9.1	30.0 $\pm$ 5.3
FEQ8	山东烟台	2011.06.04	原肠期	液氮	1 055.61 $\pm$ 21.73	71.2 $\pm$ 3.2	34.9 $\pm$ 11.2	29.0 $\pm$ 7.8
FEQ9	山东烟台	2011.06.05	原肠期	液氮	1 061.54 $\pm$ 14.41	80.3 $\pm$ 7.9	43.4 $\pm$ 5.4	20.0 $\pm$ 5.1
FEQ10	山东烟台	2011.06.05	原肠期	液氮-沉降卵	1 048.98 $\pm$ 23.78	52.0 $\pm$ 4.3	38.2 $\pm$ 6.4	11.0 $\pm$ 9.8
FEQ11	山东烟台	2011.06.06	原肠期	液氮	1 052.34 $\pm$ 28.93	70.7 $\pm$ 5.8	40.6 $\pm$ 5.5	41.0 $\pm$ 10.4
FEQ12	山东烟台	2011.06.06	原肠期	液氮-沉降卵	1 059.58 $\pm$ 18.33	60.2 $\pm$ 10.5	41.7 $\pm$ 3.2	10.0 $\pm$ 7.9
FEQ13	山东烟台	2011.06.07	原肠期	液氮	1 047.59 $\pm$ 30.76	83.7 $\pm$ 8.8	39.3 $\pm$ 8.1	53.0 $\pm$ 4.6
FEQ14	山东烟台	2011.06.08	原肠期	液氮-沉降卵	1 059.08 $\pm$ 19.77	53.0 $\pm$ 11.5	40.0 $\pm$ 4.5	8.0 $\pm$ 10.2
FEQ15	山东烟台	2011.06.09	原肠期	液氮	1 060.55 $\pm$ 12.61	46.2 $\pm$ 7.0	38.1 $\pm$ 2.8	23.0 $\pm$ 5.9
FEQ16	山东烟台	2011.06.10	原肠期	液氮	1 050.36 $\pm$ 21.20	15.2 $\pm$ 6.6	42.6 $\pm$ 7.7	12.0 $\pm$ 4.6

注：* . 发育到原肠期的受精卵数 / 受精卵总数 $\times 100\%$
Note: * . the number of oosperm in gastrulation / total oosperm $\times 100\%$

表 2 大菱鲆受精卵谷草转氨酶活力

Tab. 2 Relative activity of aspartate amino transferase (AST) for <i>S. maximus</i>					
样品 sample	保存状态 preservation state	净质量/g net weight	AST 含量/卡门氏 content of AST	α 总蛋白) /mg·mL ⁻¹ content of protein	AST 相对活性/U·mg ⁻¹ relative activity of AST
FEQ1	液氮	0.19	112.51 ±8.30	7.974 ±1.993	14.109 ±4.164
FEQ2	液氮	0.19	128.78 ±6.21	16.575 ±4.140	7.770 ±1.500
FEQ3	液氮-沉降卵	0.19	14.54 ±1.12	9.123 ±2.188	1.594 ±0.512
FEQ4	液氮	0.19	192.68 ±10.57	9.892 ±2.472	19.478 ±4.276
FEQ5	液氮	0.19	132.23 ±7.20	8.723 ±2.182	15.159 ±3.300
FEQ6	液氮	0.19	154.40 ±9.63	7.553 ±1.888	20.441 ±5.100
FEQ7	液氮	0.19	221.83 ±11.34	8.285 ±2.071	26.775 ±5.467
FEQ8	液氮	0.19	35.92 ±3.78	1.474 ±0.369	24.367 ±10.256
FEQ9	液氮	0.19	174.89 ±5.17	3.494 ±0.874	50.053 ±5.916
FEQ10	液氮-沉降卵	0.19	33.04 ±2.39	7.552 ±1.890	4.374 ±1.264
FEQ11	液氮	0.19	197.35 ±6.60	6.196 ±1.549	31.845 ±4.260
FEQ12	液氮-沉降卵	0.19	33.04 ±4.31	5.987 ±1.499	5.518 ±2.876
FEQ13	液氮	0.19	115.64 ±7.18	4.832 ±1.208	23.933 ±5.943
FEQ14	液氮-沉降卵	0.19	20.19 ±2.54	10.202 ±2.550	1.979 ±0.996
FEQ15	液氮	0.19	243.01 ±9.39	9.089 ±2.273	26.736 ±4.132
FEQ16	液氮	0.19	109.45 ±7.08	14.267 ±3.569	7.671 ±1.983

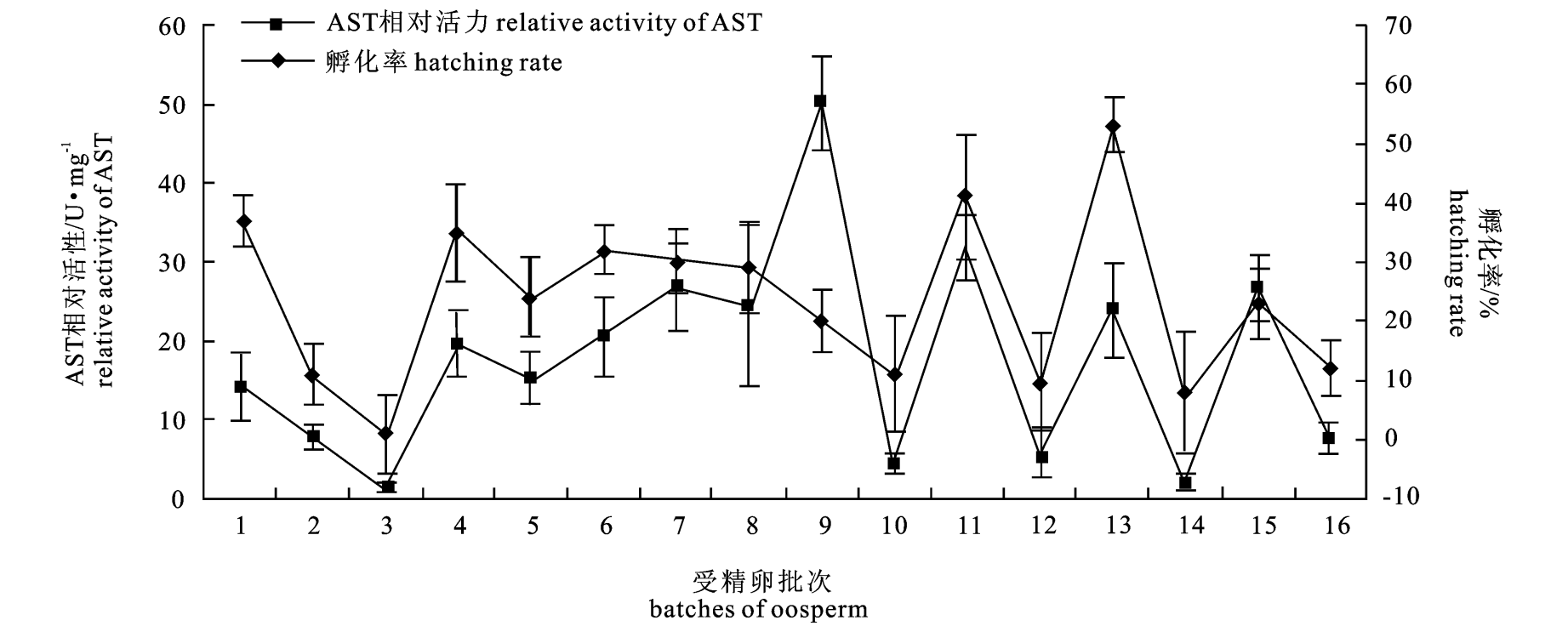


图 1 大菱鲆受精卵谷草转氨酶相对活性与孵化率相关性
Fig. 1 Correlation of AST relative activity and hatching rate of *S. maximus* in different batches of oosperm

2.3 PK 在受精卵中的表达

大菱鲆不同批次的受精卵 PK 相对活力值存在一定差异，但皆极低(图 3)。双变量相关统计分析结果显示 PK 相对活力与悬浮率(Spearman 相关系数 $R = 0.152$, $P = 0.575$)、受精率(Spearman 相关系数 $R = 0.078$, $P = 0.773$)和孵化率(Spearman 相

关系数 $R = 0.160$, $P = 0.553$) 均不存在显著的相关性。PK 相对活力总体上呈现极低的表达趋势，平均值为 $(0.156 \pm 0.206) \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。另外，双变量相关统计检验结果显示，大菱鲆受精卵悬浮率与孵化率间存在显著的相关性(Pearson 相关系数 $R = 0.591$, $P = 0.016$, Spearman 相关系数 $R = 0.590$,

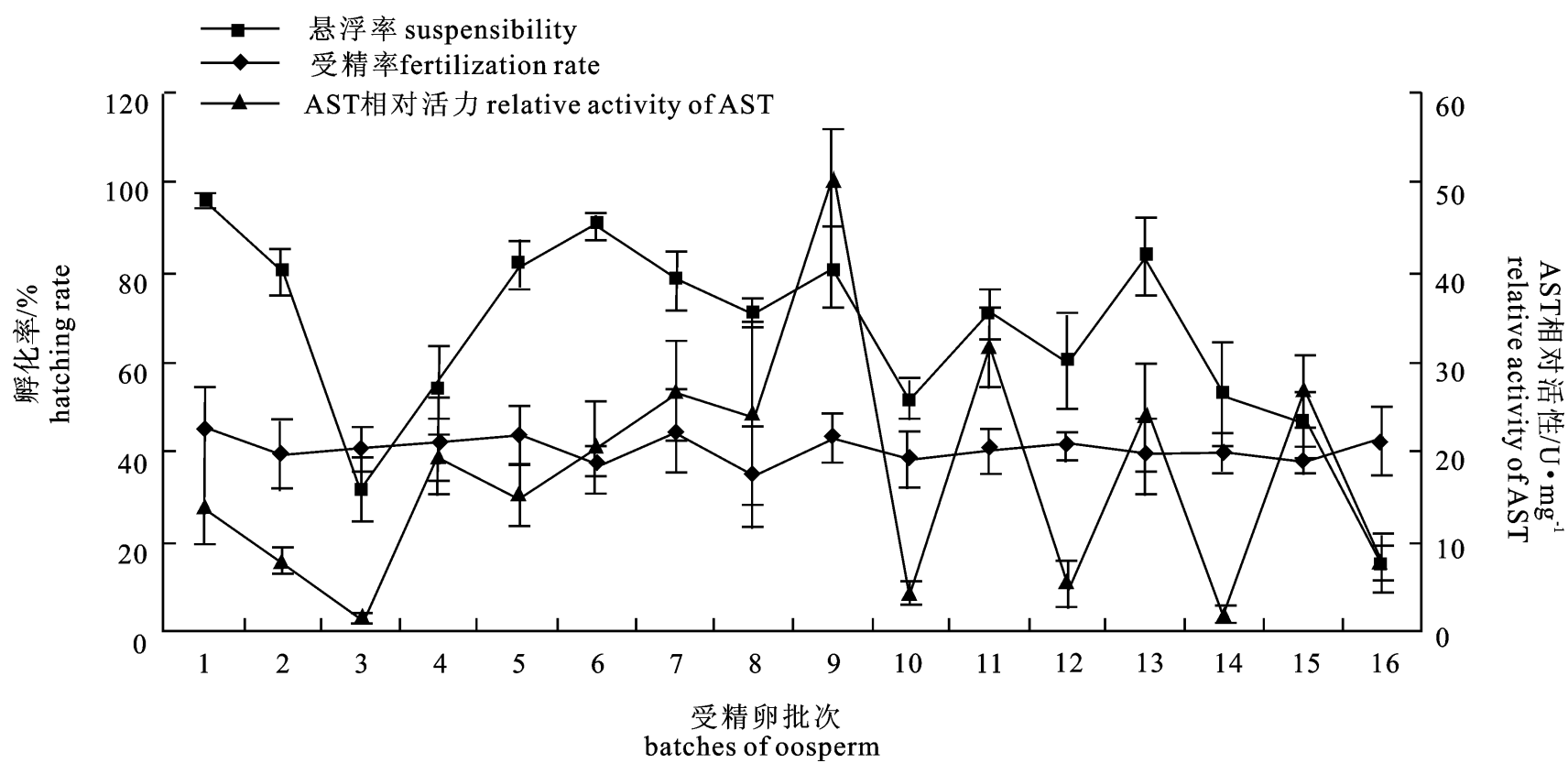


图 2 大菱鲆受精卵谷草转氨酶相对活性与悬浮率和受精率相关性

Fig. 2 Correlation between AST and suspensibility, fertilization rate of *S. maximus*

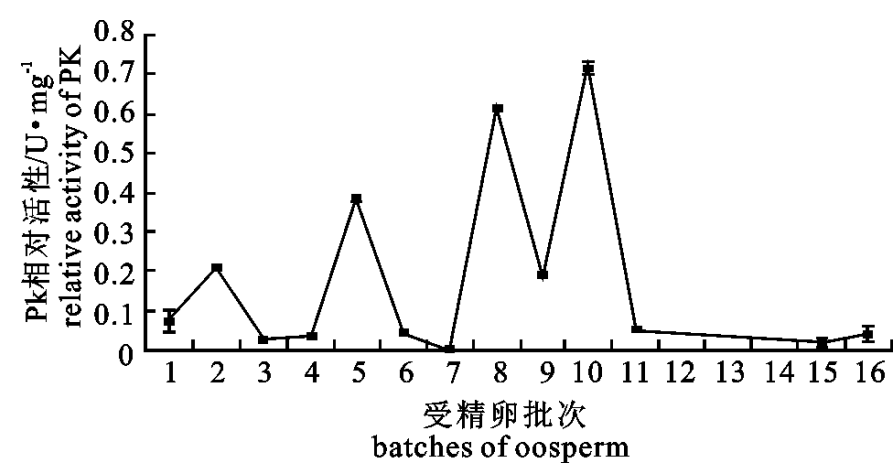


图 3 大菱鲆不同批次受精卵丙酮酸激酶相对活性

Fig. 3 PK relative activity of *S. maximus* in different batches of oosperm

$P=0.016$)。

3 讨论

优质苗种的规模生产是进行现代鱼类养殖产业化研究的重要因素，目前养殖鱼类的质量良莠不齐，往往呈现高死亡率、异速生长以及在鲆鲽鱼类中出现的白化现象^[10]。以往的研究发现受精卵质量优劣直接影响胚胎的发育以及仔、稚、幼鱼的成活和生长，并且在多种海水养殖鱼类中得到证实^[18-21]。KJ RSVIK 等^[17]认为鱼类受精卵质量的高低决定着受精卵发育成苗种的潜能。同时研究还揭示在野生和人工养殖条件下鱼类卵子的质量受内源因素(如激素和酶等)调控和外源性因素(如亲鱼年龄、生殖周期及环境因子等)的影响^[17,22]。该研

究通过对维持物种生命活动的能量代谢反应过程中的关键酶展开研究，基于生理生化参数对大菱鲆卵质进行了初步探讨。

3.1 受精卵卵径评价分析

以往的研究认为，通过鱼类卵径规格和外形可以评估卵在受精后的发育潜能^[23]。BOBE 和 LABB^[23]指出虽然在生态学研究提出鱼类卵子的规格对后期胚胎发育存在很重要的影响，但是很少有直接的研究支持这一假设。BROMAGE 等^[24]通过研究发现虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)在相同温度、排卵时期和人工授精条件下，小规格卵子与大规格卵子具有相似的受精率。BONNET 等^[25]提出通过观察鱼类胚胎或幼鱼早期发育畸形情况来评估受精卵的发育潜能。AEGERTER 和 JALABERT^[26]采用虹鳟老化卵子进行人工授精发现容易引发高机率的独眼畸形。

对大菱鲆早期发育的研究发现，大菱鲆受精卵从形态上呈圆球形，无色透明，中央有油球 1 个，亦无色透明，卵径范围为 0.91 ~1.20 mm^[27-28]。HOWELL 和 SCOTT^[29]报道大菱鲆受精卵卵径范围是 0.97 ~1.10 mm，在每一繁殖季节期间卵径存在下降趋势。该研究结果显示大菱鲆受精卵卵径规格为 1.00 mm 左右，其平均值为 (1.053 ±0.020) mm，处于以往研究结果的上限，这与该研究所选择大菱鲆亲鱼的产卵周期有关。该研究所采用的大菱鲆亲鱼为苗种繁育后期的预备亲鱼，亲鱼处于产

卵繁殖周期中期，营养积累比较充足，性腺发育成熟充分，因此卵径比较大。

FORES 等^[30]认为大菱鲆卵径是决定卵子活力的一个重要指标，卵径规格与受精率存在很紧密的关系。OMNES 等^[15]和 KJ RSVIK 等^[17]认为海水鱼类受精卵相关形态参数可以作为卵质评价的重要指标，但是不能仅局限于卵径，受精卵的卵裂对称性是一个重要参数。该研究结果显示，大菱鲆不同批次的受精卵卵径间未检测到显著的差异，双变量相关统计分析结果显示，大菱鲆卵径与悬浮率、受精率和孵化率间皆未检测到显著的相关性。因此，以卵径作为卵质评价的形态学指标需要谨慎，为有效进行卵质评价，有必要筛选多组形态学参数如卵裂对称性进行综合形态学评价。

3.2 受精卵生理生化评价分析

海水鱼类受精卵的质量与其胚胎及后期仔、稚、幼鱼的发育和生长存在密切关系。FAUVEL 等^[14]通过研究发现，大菱鲆卵子的活力与孵化率存在正相关，并将卵子活力率(活的卵子数/总卵子数)作为卵子质量评价的指标。上述研究仅从大菱鲆卵子表型活力上进行判断，而未深入发掘可用于衡量卵子活力的生理生化指标。近年来，多项研究发现鱼类卵巢液或体腔液低水平的 pH 与卵质降低存在显著相关性^[23]。FAUVEL 等^[31]通过研究发现大菱鲆卵质降低是由于大菱鲆卵巢液 pH 降低导致排除的卵子老化而引起的，相似的研究结果在虹鳟中也被检测到。LAHNSTEINER 等^[32]通过对湖鲢(*Salmo trutta lacustris*)卵巢生理生化指标与卵活力相关性进行研究，发现当卵巢中 AST 活力和 β -葡萄糖糖苷酶活力分别低于 $31.65 \mu\text{m}\cdot(\text{min}\cdot\text{L})^{-1}$ 和 $8.62 \mu\text{m}\cdot(\text{min}\cdot\text{L})^{-1}$ 时，卵的活力皆高于 80%，认为卵子本身及其内部的溶酶体破损是导致湖鲢卵巢中上述 2 种代谢酶活力值升高的原因。

该研究选择与蛋白质和糖等能量代谢相关的关键酶 AST 和 PK 作为生理生化指标对大菱鲆卵质进行评价。统计结果显示，大菱鲆受精卵孵化率与 AST 相对活力存在显著相关性，当 AST 相对活力大于 $(15.159 \pm 3.330) \text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ 时，大菱鲆受精卵孵化率皆高于 20%(表 1，表 2 和图 1)；悬浮率和受精率与 AST 相对活力间无显著相关性，受精率是衡量亲鱼繁殖特征和卵子质量的重要指标，此研究中所测定的受精率是以原肠期中期受精卵数占总卵数的百分比进行统计，这可能是造成此研究中大菱

鲆受精率普遍较低、以及受精率与 AST 相对活力间无显著相关性的原因。综上所述，此研究结果表明，AST 相对活力可以作为用于评价大菱鲆卵质的生理生化参数，同时蛋白质是大菱鲆受精卵能量代谢过程中一个重要的能量来源，对维持大菱鲆受精卵活力起着重要的作用。在大菱鲆卵质检测中，其悬浮率、受精率和孵化率与 PK 间均无显著的相关性(图 3)，表明糖在大菱鲆受精卵能量代谢过程中可能不是主要的能量来源，在该研究中不适合作为大菱鲆卵质评价的指标。

鱼类卵质评价技术对中国现代鱼类养殖产业化发展具有重要意义，尤其是对现代优质种苗繁育生产具有直接的影响。形态学评价标准及受精率和孵化率是对鱼类卵质好坏与否的反映，并没有揭示影响卵质的决定因素。该研究从形态学和生理学角度对大菱鲆卵质进行了初步评价探讨，检测到蛋白能量代谢与大菱鲆受精卵孵化潜能具有显著相关性，今后有必要进一步开展与蛋白代谢相关的酶及产物研究，同时开展与脂肪代谢相关的研究，从生理学角度综合评价大菱鲆卵质，以期建立大菱鲆受精卵质量评价生理学指标，为海水鱼类的卵质评价奠定理论基础。

参考文献:

[1] RIEDRICH C. Physiology and genetics of sulfur-oxidizing bacteria [J]. Adv Microb Physiol, 1998, 39: 235 - 289.

[2] SMITH E, MOROWITZ H. Universality in intermediary metabolism [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2004, 101(36): 13168 - 13173.

[3] R NNESTAD I, FYHN R N, GRAVNINGEN K. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Mar Biol, 1992, 114(4): 517 - 524.

[4] MOMMSEN T P, WALSH P J. Vitellogenesis and oocyte assembly [M] HOAR W S, RANDALL D J. Fish physiology. The physiology of developing fish, eggs and larvae. London: Academic Press, 1988, 11A: 347 - 406.

[5] SAKAMI W, HARRINGTON H. Amino acid metabolism[J]. Annu Rev Biochem, 1963, 32: 355 - 398.

[6] BELL G, BURANT C, TAKEDA J, et al. Structure and function of mammalian facilitative sugar transporters [J]. J Biol Chem, 1993, 268(26): 19161 - 19164.

[7] S NCHEZ-MOLANO E, CERNA A, TORO M A, et al. Detection of growth-related QTL in turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. BMC Genomics, 2011, 12: 473.

[8] 雷霖霖. 大菱鲆养殖技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 5 - 10.

LEI Jilin. The turbot (*Scophthalmus maximus*) culture technology [M] . Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2003: 5 - 10. (in Chinese)

[9] JONES A. Sexual maturity, fecundity and growth of the turbot *Scophthalmus maximus* L[J] . J Mar Biol Assoc UK, 1974, 54 (1): 109 - 125.

[10] UQUET M, OMNES M H, NORMANT Y, et al. Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*) [J] . Aquaculture, 1992, 101(1/2): 177 - 185.

[11] GEFFEN A J, FRAYER O. Retention of sperm motility in turbot, *Scophthalmus maximus* L.: the effects of time from activation, thermal shock and adenosine triphosphate levels[J] . Aquac Manag, 1993, 24(2): 203 - 209.

[12] KJ RSVIK 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(1/2/3/4): 9 - 20.

[13] 马爱军, 雷霖霖, 王新安, 等 . 大菱鲆亲鱼、配子和仔稚鱼的质量评价[J] . 海洋科学, 2011, 35(1): 98 - 104.

MA Aijun, LEI Jilin, WANG Xinan, et al. Quality assessment of broodstock, sperm, egg, oosperm and larva of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J] . Mar Sci, 2011, 35(1): 98 - 104. (in Chinese)

[14] FAUVEL C, OMNES M H, SUQUET M, et al. Enhancement of the production of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), larvae by controlling overripening in mature females[J] . Aquac Fish Manag, 1992, 23(2): 209 - 216.

[15] OMNES M H, DORANGE G, SUQUET M, et al. Application of staining techniques to improve the viability assessment of turbot (*Psetta maxima*) ova[C] NORBERG B. Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, Bergen, Norway, July 4 - 9, 1999. Norway: International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish, 2000: 435.

[16] DEVAUCHELLE N, ALEXANDRE J C, Le CORRE N, et al. Spawning of turbot *Scophthalmus maximus* in captivity[J] . Aquaculture, 1988, 69(1/2): 159 - 184.

[17] KJ RSVIK E, MANGOR-JENSEN A, HOLMEFJORD I. Egg quality in fishes[J] . Adv Mar Biol, 1990, 26: 71 - 113.

[18] AEGERTER S, JALABER 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(3): 377 - 385.

[19] 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(3/4): 265 - 273.

[20] TANDLER A, HAREL M, KOVEN W M, et al. Broodstock and larvae nutrition in gilthead seabream *Sparus aurata*: new findings on its mode involvement in improving growth, survival and swim-bladder inflation[J] . Israel J Aquac, 1995, 47: 95 - 111.

[21] PAVLOV D A, MOKSNESS E. Production and quality of eggs obtained from wolffish (*Anarhichas lupus* L.) reared in captivity[J] . Aquaculture, 1994, 122(4): 295 - 312.

[22] DIETRICH G J, WOJTCZAK M, SKA M, et al. Broken eggs decrease pH of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovarian fluid [J] . Aquaculture, 2007, 273(4): 748 - 751.

[23] BOBE J, LABB C. Egg and sperm quality in fish[J] . Gen Comp Endocrinol, 2010, 165(3): 535 - 548.

[24] 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(1/2/3): 141 - 166.

[25] 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, 2007, 67(4): 786 - 794.

[26] 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(1/2/3/4): 59 - 71.

[27] DENIEL C. Les poissons plats en baie de Douarnenez. Reproduction, croissance et migration des Bothidac, Scophthalmidae, Pleuronectidae et Soleidae[J] . Thèse dr, Univ Bretagne Occidentale, Brest, 1981, 22: 476.

[28] 雷霖霖 . 海水鱼类养殖理论与技术[M] . 北京: 中国农业出版社, 2005: 524 - 591.

LEI Jilin. Marine fish culture theory and technology[M] . Beijing: China Agriculture Press, 2005: 524 - 591. (in Chinese)

[29] HOWELL R, SCOTT A P. Ovulation cycles and post-ovulatory degradation of eggs of the turbot (*Scophthalmus maximus* (L.)) [J] . Rapports et Procès-Verbaux des Réunions du Conseil International pour l'Exploration de la Mer, 1989, 191: 21 - 26.

[30] FORES R, IGLESIAS J, OLMEDO M, et al. Induction of spawning in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) by a sudden change in the photoperiod[J] . Aquac Engin, 1990, 9(5): 357 - 366.

[31] FAUVEL C, OMN S M H, SUQUET M, et al. Reliable assessment of overripening in turbot (*Scophthalmus maximus*) by a simple pH measurement[J] . Aquaculture, 1993, 117(1/2): 107 - 113.

[32] LAHNSTEINER F, WEISMANN T, PATZNER R A. Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris*[J] . Fish Physiol Biochem, 1999, 20(4): 375 - 388.