

综述

doi: 10.7541/2013.121

海洋无脊椎生物受精动力学模型：研究方法与应用

刘广绪

(浙江大学动物科学学院, 杭州 310058)

REVIEW OF FERTILIZATION KINETICS MODEL IN MARINE INVERTEBRATES: INVESTIGATING METHODOLOGY AND APPLICATION

LIU Guang-Xu

(College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

关键词: 受精动力学模型; 海洋无脊椎生物; 精子运动速度; 精子寿命; 有效卵径

Key words: Fertilization kinetics model; Marine invertebrates; Sperm velocity; Sperm longevity; Effective egg size

中图分类号: Q132.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2013)05-0938-07

众所周知受精是物种繁衍的重要一步。不同于具有体内受精特性的物种, 很多海洋无脊椎生物直接将精卵排放到自然水体中, 不具有复杂的交配行为, 不存在生物个体水平上的性选择(Sexual selection), 其受精率主要依赖于水中精卵的相互作用^[1, 2]。在理想状态下从生物物理学角度考虑, 具有生殖细胞自由排放(Free-spawning)特性的水生生物, 其生殖细胞在受精过程前散布于三维立体空间内, 因此其受精率直接与精卵碰撞概率(β_0)和每次碰撞能实现受精的概率(β)密切相关^[3]。其中, 精卵碰撞概率(β_0)与每次碰撞能实现受精的概率(β)又直接取决于精子运动速度、运动形式、半衰期、趋化性、卵子大小以及精卵浓度等精卵特性^[1, 2]。而且因为缺少了个体水平的性选择, 自由排放生殖细胞的海洋无脊椎生物的精卵直接处于性选择压力之下。Levitan 于 1996 年在《Nature》上首次对海洋无脊椎动物生殖细胞性状在性选择压力下趋于进化稳定策略(evolutionarily stable strategies, ESS)进行了报道分析^[4]。根据海胆中的实验证明, 在精子竞争(Sperm competition)与精子限制(Sperm limitation)进化选择压力下, 海洋无脊椎动物的精子、卵子分别逐步趋向于高游动速度、短半衰期、小半径、低亲和性与低游动速度、长半衰期、大半径、高亲和性的精卵性状进化动态平衡,

以实现生物适应度(Fitness)的最优化。因此通过精子竞争或精子限制, 获得最优化的精卵碰撞概率(β_0)和每次碰撞能实现受精的概率(β)是生殖细胞进化的主驱动力之一^[5-7]。这些受精动力学参数(β , β_0)的研究对于揭示海洋无脊椎动物受精机制与生殖细胞进化趋势具有重要的科学意义。

自然水体中的精卵相互作用过程十分复杂, 并受到多个因素的综合影响^[8]。然而, 目前国内外对受精方面的研究很多为简单的考察受精率, 忽视了受精动力学理论, 在实验设计上普遍存在不符合受精动力学实验设计原则的现象, 例如: 采用来源于多个个体的配子混合而非单对实验分析、忽略配子性状对受精率的影响、采用单一的高精卵比例进行受精实验而非梯度设计的精卵比例、不量化受精率等, 因此很多研究结果值得进一步分析与商榷。而且仅有少数考虑到受精动力学因素的研究, 也存在着忽视其他影响因素的问题, 多仅仅抓住受精动力学中的部分参数展开了研究。

对水生生物受精动力学最全面详尽的研究手段是建立受精动力学模型。然而受困于对各个受精动力学参数研究方法学的了解与掌握, 目前受精动力学模型仅见于海胆、紫贻贝等几个物种。因此在本文中作者将对受精动力学模型各参数(精子运动速度、精子运动形式、精子半衰

收稿日期: 2012-05-08; 修订日期: 2013-03-17

基金项目: 国家自然科学基金(31001119); 教育部留学回国人员科研启动基金; 中央高校基本科研业务费专项资金; 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室开放基金(J2012002)资助

通信作者: 刘广绪(1978—), 男, 山东济南人; 加拿大纽芬兰纪念大学博士; 副教授; 主要从事海洋贝类的受精动力学、生态毒理学研究。E-mail: guangxu_liu@zju.edu.cn

期等)的研究方法进行详细综述,并对受精动力学模型在理论与实践中的应用展开探讨。

1 受精动力学研究方法

1.1 精子运动速度

精子运动速度越快,也就意味着精子在一定时间内与散布在三维水体内的卵子相遇的几率越大,因此精子运动速度直接与受精成败相关。作为重要的与受精直接相关的受精动力学参数,水生生物精子运动速度研究已在环节动物^[9]、棘皮动物^[10, 11]、软体动物^[12]以及鱼类^[13]中有所报道。而且随着科学技术的进步,精子运动速度已经可以通过多种手段进行研究。总体上这些研究手段可以分为精子运动速度的间接测定与直接测定。早期精子运动速度测定主要采用通道计数(Passage counting)的方法来间接测定。其原理是通过测定在单位时间内通过某一线或者某一区域的精子个数来估算精子速度^[14-16]。例如,分光比色法即是通过测量精子溶液浊度的变化来间接测定平均精子运动速度^[16-19];激光多普勒测速仪则是通过测量由于精子运动导致的光频变化来对精子运动速度进行间接测定^[20, 21]。这些方法都相对简单快捷,但是提供的精子运动信息有限。随着影像技术的发展,精子运动速度越来越多地通过精子运动轨迹重建方法被直接测定。这类方法包括显微电影摄像技术(Microcinematography)^[21]、显微定时显影照相技术(Timed-exposure photomicrography, TEM)^[22]、多次显影照相技术(Multi-exposure photography, MEP)^[23]、显微摄像技术(Videomicrography)^[24, 25]以及计算机辅助精子运动分析技术(Computer aided sperm analysis, CASA)^[26-29]。这类技术通过确定精子在不同时间的位置坐标来重建精子的运动轨迹,并由此计算出精子运动速度。其中计算机辅助精子运动分析技术是目前在精子运动研究中最常用到的方法,这种方法不但直观而且能够提供详细的精子运动信息,因此可以得到一系列详细描述精子运动的参数,例如曲线运动速度(Curvilinear velocity, VCL)、直线运动速度(Straight line velocity, VSL)、平均轨迹速度(Average path velocity, VAP)、运动线性(Linearity, LIN)、运动直度(Straightness, STR)、摆动频率(Wobble, WOB)等^[12, 30]。

大多数的计算机辅助精子运动分析系统都十分昂贵,大大限制了水生生物受精动力学的研究开展。近年来,随着CASA已经能够通过免费开放源软件Image-J来实现^[30, 31],大大降低了开展此类研究的成本。

1.2 精子半衰期

随着精子被排到水体中时间的增长,精子逐步丧失使卵子受精的能力,这个时间在海洋无脊椎生物受精动力学研究中被称为精子寿命(Sperm lifespan)^[32]。精子寿命越长也就意味着精子有越多的时间与三维水体内的卵子相遇,因此增加了精卵相互作用的累计概率。精子寿命一

般通过精子半衰期(Half-life, T_{50})来表示。现在测定精子半衰期的方法分为两种。经典的精子半衰期测定是通过建立特定精卵比例下(大多数物种采用 100:1)精子排放时间(Sperm age)与受精率之间关系的方法来推算精子受精能力下降到最初水平一半所需的时间^[11, 33, 34]。这种方法的优点是直接反映了精子的受精能力变化,但是也存在一系列的缺点。首先,这种方法必须同时具有精卵才能实施,对于一些很难获得精卵的物种来说并不适用。其次,通过这种方法测定精子半衰期必须严格控制受精实验中卵子的质量,因为根据受精动力学理论卵子质量的变异也是导致受精率变化的重要因素之一。在实际研究中很多水生生物例如贝类、鱼类的精卵均为人工获得,卵子由于成熟程度不同等原因质量变异很大^[4, 7],因此具有很大的应用局限性。

随着精子排放后时间的增加,精子运动速度也随之下降,而且很多研究表明,多种生物中精子运动速度与受精率直接相关^[35, 36],因此另一种精子半衰期的估算方法则是根据精子运动速度变化来间接推算^[37, 38]。因为与受精率一样,精子速度随时间的递减是时间(t)的函数,因此可以得到 $V_t = V_0 \cdot e^{-\alpha t}$,其中 V_t 是精子在排放后 t 小时的速度, V_0 是精子的初始速度, α 是反映精子速度随时间递减快慢的递减系数^[39]。上述方程关系也可以表述为 $V_{\text{relative}} = e^{-\alpha t}$,其中 V_{relative} 为相对精子速度(精子在排放后 t 小时的速度与初始速度之比)。因此通过构建相对精子速度与时间(t)的指数递减模型,就可求出 $V_{\text{relative}} = 0.5$ (即精子速度下降到初始速度 50%)时所需的时间(即精子半衰期 T_{50})。相比于第一种方法,这种方法完全排除了卵子质量对精子半衰期计算的干扰,直接反映了精子自身性状,但是需要对精子进行连续的速度测定。CASA 技术的出现,大大降低了这种方法的复杂度与工作量,使之成为可能。

1.3 精子运动形式与有效卵径

在人类精子研究中,曲线运动、蠕动或不动的精子均被认为健康状况较差,只有快速前行精子被认为具有很好的活力。但是水生生物的精子运动形式多种多样,与具有体内受精的高等生物具有很大区别,水生生物不同的精子运动形式多反映了该生物精子在进化选择压力下的进化结果^[30]。例如,有些将配子直接排放到水体中的水生生物的卵子能释放吸引精子或者激活精子的化学物质。因此在这种自然选择压力下,一些水生生物的精子在未探测到来自卵子的化学信号之前进行慢速圆周运动,以扩大精子接收化学信号的范围,同时降低能量损耗且避免游离卵子,而在感应到信号后改变游动形式,采用径直或螺旋轨迹游向卵子^[40, 41]。

水生生物精子运动形式的不同与受精结果息息相关^[3, 30]。如前所述,线性运动精子的受精能力直接取决于精子速

度,但是非线性精子运动例如螺旋运动、圆周运动的精子则能通过增加精子前进过程中的单位覆盖面积进而增加了与散布在水中的卵子发生碰撞的几率。这种碰撞几率的增加决定于精子螺旋运动或圆周运动的轨迹半径,相当于变向地增加了卵子半径,而且可以通过 $R_{\text{effective}}^2 = R_{\text{egg}}^2 + R_{\text{helical}}^2$ 公式计算实际有效卵径(其中 $R_{\text{effective}}$ 、 R_{egg} 、 R_{helical} 分别为有效卵径、卵径与精子螺旋运动半径)^[3],因而在构建受精动力学模型时必须考虑在内。目前,对精子运动形式的研究不多,多受困于研究手段的不足。Liu, *et al.*^[30] 采用 Image-J 开放源软件,对紫贻贝(*Mytilus edulis*, *M. trossulus*)的精子运动形式进行了量化分析,并根据精子坐标开发了精子运动半径(R)、精子运动弧度变化速率(θ)等参数,为开展精子运动形式的研究提供了很好的量化分析方法。

1.4 受精率的量化分析

除了上述的配子性状,精卵的浓度比例也对受精产生重要影响^[42, 43]。使用单一精卵浓度尤其是过高或过低的精卵浓度将会导致受精率数据的不可靠。一方面精子的运动性状与精子浓度直接相关,精子浓度过低时,由于海水的稀释作用(Dilution effect)精子运动等性状将受到显著影响,运动速度下降,半衰期变短,甚至直接丧失使卵子受精的能力^[44—46]。另一方面精卵浓度比例过高时,过多的精子又往往导致多精受精,容易发生多精受精卵子的降解,使得统计数据不能真实反映实际受精情况^[47, 48]。

为了避免上述提到的问题,而且为了受精率进一步量化分析的简便,通常精卵比例按等对数法设置 $10^{-1}:1$ 、 $10^0:1$ 、 $10^1:1$ 、 $10^2:1$ 、 $10^3:1$ 、 $10^4:1$ 几个浓度梯度。由此方法可以得到精卵浓度比例与受精率之间的 S 型曲线关系(如图 1A 所示)进而计算得到 F_{50} (受精率为 50% 时所需的精卵比例)^[49]。另外上述 S 曲线关系可以通过对数转化的方法线性化,并由此计算出 F_{50} (如图 1B 所示)^[50, 51]。

在受精率的量化分析中,在何阶段根据何标准来衡量受精率也对受精率结果的真实与否有着重要影响。目前有两种常用的判断受精率的方法,第一种方法一般使用化学试剂例如福尔马林在精卵混合较长时间后固定早期胚胎,通过镜检基于是否发生卵裂来判定卵子的受精与否^[49]。总体上这种方法具有简单易行的特点。但是由于部分受精卵虽然能被受精,却由于种种原因无法进行正常卵裂与早期胚胎发育,因此这种方法容易忽略这些受精卵,从而低估受精率。为了避免这一问题,越来越多的科研工作者采用在精卵混合相对较短时间后观察极体排放、卵裂与早期胚胎的方法来判断受精与否^[50]。

1.5 经典受精动力学模型的构建

1982 年 Vogel 在海胆(*Paracentrotus lividus*)中通过大量实验数据整合首次构建了海洋无脊椎动物的受精动力学模型^[32]。

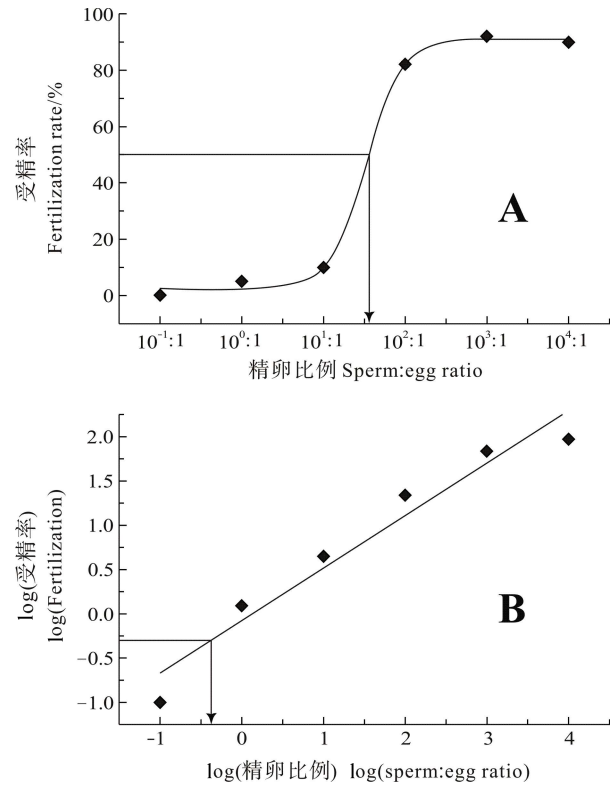


图 1 受精率量化分析方法示意图

Fig. 1 Schema of quantitative analysis methods for fertilization rate A. 通过精卵比例与受精率 S 曲线获得 F_{50} ; B. 通过对数转化后的线性模型获得 F_{50}

A. F_{50} obtained from the sigmoid curve between sperm:egg ratio and fertilization rate; B. F_{50} obtained from the logit transformed linear model

$$\varphi_{\infty} = 1 - \exp \left\{ - \frac{\beta \cdot S_0}{\beta_0 \cdot E_0} (1 - e^{-\beta_0 E_0 \tau}) \right\}$$

其中, φ_{∞} 为受精率; S_0 和 E_0 分别为精子浓度与卵子浓度; β (mm^3/s) 为受精常数, 衡量每次三维空间内的精卵碰撞可能产生受精现象的概率; β_0 (mm^3/s) 为精卵碰撞概率, 反映三维空间内精子、卵子发生碰撞的概率; τ 为精子寿命, 多用精子半衰期 T_{50} 来衡量, 反映精子在排到三维水体后保留受精能力的时间限度。其中精卵碰撞概率 β_0 又为精子运动速度 v 与卵子横截面积 σ_0 ($\sigma_0 = \pi R^2$, R 为卵径或有效卵径) 之积。

由经典受精动力学模型可以看出, 构建这一模型首先需要收集大量的相关数据, 包括精子运动速度(v)、精子半衰期(T_{50})、卵子半径(R_{egg})或有效卵径($R_{\text{effective}}$)、精卵浓度、量化的受精率。在获得了所需数据之后, 可以将各个数据代入模型进行拟合分析, 进而得到受精常数与模型的拟合度、可信度。因为受精动力学模型基本上考虑到了所有受精相关变量, 能较真实详尽地反应该生物的受精情况。但是由于构建受精动力学模型需要大量前期工作, 目前经典受精动力学模型只在很少数的几个种中得以构

建。Harper 和 Hart 在 2005 年通过上述方法构建了海星两个种(*Asterias forbesi*, *A. ruben*)的经典受精动力学模型^[50], Liu, *et al.* 构建了紫贻贝两个种(*M. edulis*, *M. trossulus*)的经典受精动力学模型^[39]。

2 受精动力学模型的应用

2.1 受精动力学模型与多精受精

在正常条件下大多数海洋无脊椎生物受精均为单精受精, 即一个卵子只被一个精子受精。而且很多海洋无脊椎生物都存在着连续性的多精受精阻止机制, 包括卵膜的去极化(Depolarization of egg membrane)、受精膜形成(Formation of fertilization membrane)来防止多精受精现象的发生^[52]。但是这些多精受精阻止机制都需要一定的时间来发挥作用, 最快的阻止机制(卵膜去极化)也需要大约 1—3s 的时间。由于大多数将精卵排放到水体中的海洋无脊椎生物都符合 Batemen 原则^[53], 产生的精子数量是卵子数量的上千倍、上万倍, 因此在实验室模拟与人工育苗场生产实践中都存在着精卵比例过高的现象, 根据受精动力学模型我们知道随着精卵浓度与比例的升高, 精卵在三维水体中发生碰撞的概率也就增大, 也就增高了已经与一个精子结合的卵子在多精受精阻止机制形成之前再与其他精子结合的概率, 从而增加了多精受精现象的发生。

对于大多数海洋无脊椎生物来说, 多精受精现象会导致受精卵无法正常发育而死亡, 从而降低了新生后代的数量。这一现象对很多具有重要经济价值的海洋无脊椎生物(例如海洋贝类泥蚶)的工厂化育苗具有很大危害。Dong, *et al.* 的实验研究已经证实高的精卵浓度与比例将会大大降低泥蚶的出苗率^[54]。受精动力学模型的构建将能为解决类似问题提供理论基础。正如 Levitan 在一系列海洋无脊椎生物精卵性状进化研究中指出的, 精子竞争(Sperm competition)越激烈的海洋无脊椎生物, 其卵子越不易被受精, 且存在着越有效的多精受精阻止机制; 反之精子限制(Sperm limitation)越严重的海洋无脊椎生物, 其卵子越易被精子受精, 且其多精受精阻止机制越不完备, 也就越容易在高精卵浓度与比例情况下发生多精受精现象^[5—7]。因此在构建了该生物的受精动力学模型之后, 通过考察其重要参数 β , 即可推断出该生物是否容易发生多精受精现象。越高的 β 值也就意味着该生物的卵子越容易与精子结合, 也就越容易发生多精受精现象, 那么在人工受精生产中就可以采取稀释精卵浓度、严格控制亲本数量等方法人为降低精卵碰撞几率, 避免或降低多精受精带来的危害。

2.2 海洋环境生态学与受精动力学模型

海洋水体是一个复杂的水体环境, 其细微变化也有可能对栖息其中的海洋无脊椎生物的受精产生重要影

响^[8]。受精又是物种繁衍的最重要一步, 受精的成败甚至直接决定着该生物种群的命运。而且相对于生活史其他阶段, 受精也是非常敏感、容易受到外部环境变化影响的生命过程, 因此受精动力学模型与重要参数是开展环境因子对海洋无脊椎生物影响作用的理想研究对象。刘广绪等研究了海洋重金属污染物对缢蛏(*Sinonovacula constricta*)重要受精动力学参数精子运动速度的影响^[12], 结果表明海洋中的重金属(铜、锌、铅、镉)离子浓度的增加可能通过损害缢蛏精子运动能力而影响其受精能力, 进而对整个种群繁衍产生危害。类似的, Krause 运用受精动力学方法揭示了溢油污染能显著降低紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)配子的受精能力^[55]。此外, 受精动力学模型方法还广泛应用于研究全球变暖、海洋酸化等诸多其他因素对海洋无脊椎生物受精繁育的影响之中^[56, 57]。

2.3 受精动力学模型与生殖隔离机制

种是进化理论的重要概念之一, 也是进化理论中解释为什么从少数共同祖先能够进化出如此多各种各样物种的基础。经典的判断同种或异种的原则就是基于是否存在生殖隔离机制(Reproductive isolation mechanism)来进行区分^[58]。在高等生物中, 这种生殖隔离往往通过种特异的个体行为例如求偶、种内交配等方式实现。然而很多海洋无脊椎生物直接将配子排放于开放水体之中, 不具有或基本不具有个体水平的选择^[6, 11]。而且很多海洋无脊椎生物的配子排放周期往往都取决于相同的环境理化因子(例如水温、日长、潮汐周期等), 存在多种生物同时、同地排放精卵的现象^[59]。因此, 同时同地排放配子的不同种海洋无脊椎生物之间多存在着配子水平的生殖隔离机制—配子亲和性^[49—51]。受精动力学模型为量化评估配子亲和性提供了有效的手段。例如, F_{50} 与 F_{20} (使 50% 或 20% 卵子受精所需的精卵浓度比例)就被大量用来评价海洋无脊椎生物种内、种间的生殖隔离程度^[49—51]。 F_{50} 与 F_{20} 越大也就表明测试精子与测试卵子的亲和性越低, 即配子来源亲本间的生殖隔离水平越高。同样, 在已构建了受精动力学模型的情况下, 这种比较分析能进一步量化。因为受精动力学参数 β 反映了每次三维空间内的精卵碰撞可能产生受精现象的概率, 侧面体现了测试精子识别蛋白、卵子识别蛋白受体的相互吻合程度, 不受精子速度、卵子大小等其他因素干扰, 能最直接地说明在其他因素都相同的情况下, 受试亲本之间的配子亲和性(Gamete compatibility)。Liu, *et al.* 运用这种方法对加拿大紫贻贝自然杂交带的生殖隔离进行了研究, 说明两种紫贻贝(*M. edulis*, *M. trossulus*)之间存在很高的配子水平生殖隔离, 部分解释了加拿大紫贻贝自然杂交带的存在原理^[39]。

3 展望

受精动力学模型从生物物理学角度解释了散布在三维水体空间内精卵细胞间的相互作用, 为开展细致详尽的多种海洋无脊椎生物受精研究提供了理论支持。可以预见, 受精动力学模型与其重要参数的研究势必随着海洋无脊椎生物研究的深入与相关实验技术手段的提高而得到大力发展, 并在海洋无脊椎生物进化、生态毒理学等方面得到更广阔的应用。

参考文献:

- [1] Bishop J D, Pemberton A J. The third way: spermcast mating in sessile marine invertebrates [J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2006, **46**(4): 398—406
- [2] Levitan D R. Gamete traits influence the variance in reproductive success, the intensity of sexual selection, and the outcome of sexual conflict among congeneric sea urchins [J]. *Evolution*, 2008, **62**: 1305—1316
- [3] Farley G S. Helical nature of sperm swimming affects the fit of fertilization kinetics models to empirical data [J]. *Biological Bulletin*, 2002, **203**: 51—57
- [4] Levitan D R. Effects of gamete traits on fertilization in the sea and the evolution of sexual dimorphism [J]. *Nature*, 1996, **382**: 153—155
- [5] Levitan D R, Irvine S D. Fertilization selection on egg jelly coat size in the sand dollar *Dendraster excentricus* [J]. *Evolution*, 2001, **55**: 2479—2483
- [6] Levitan D R. Theory and empirical evidence for the role of egg size on fertilization success in marine invertebrates [J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2004, **44**: 592—592
- [7] Levitan D R. The relationship between egg size and fertilization success in broadcast spawning marine invertebrates [J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2006, **46**: 298—311
- [8] Riffell J A, Zimmer R K. Sex and flow: the consequences of fluid shear for sperm egg interactions [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2007, **210**: 3644—3660
- [9] Kupriyanova E, Havenhand J N. Variation in sperm swimming behaviour and its effect on fertilization success in the serpulid polychaete *Galeolaria caespitosa* [J]. *Invertebrate Reproduction and Development*, 2002, **41**: 21—26
- [10] Shiba K, Tagata T, Ohmuro J, et al. Peptide-induced hyperactivation-like vigorous flagellar movement in starfish sperm [J]. *Zygote*, 2006, **14**: 23—32
- [11] Levitan D R. Sperm velocity and longevity trade off each other and influence fertilization in the sea urchin *Lytechinus variegatus* [J]. *Proceedings of the Royal Society of London*, 2000, **267B**: 531—534
- [12] Liu G X, Wu H X, Chai X L, et al. Toxic effect of copper, zinc, lead and cadmium on sperm of razor clam (*Sinonovacula constricta* Canarck) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(6): 1043—1048 [刘广绪, 吴洪喜, 柴雪良, 等. 重金属对滩涂贝类缢蛏精子的毒性作用. 水生生物学报, 2011, **35**(6): 1043—1048]
- [13] Gage M J G, Macfarlane C P. Spermatozoal traits and sperm competition in Atlantic salmon: relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success [J]. *Current Biology*, 2004, **14**: 44—47
- [14] Bartak V. Sperm velocity and morphology in 1927 ejaculates with normal sperm count [J]. *International Journal of Fertility*, 1973, **18**: 116—118
- [15] Hynie J. A quick calculation of the velocity of spermatozoa [J]. *International Journal of Fertility*, 1962, **7**: 345—346
- [16] Levin R M, Hypolite J A, Wein A J. Clinical use of the turbidimetric analysis of sperm motility: an update [J]. *Andrologia*, 1984, **16**: 434—438
- [17] Halangk W, Bohnsack R. Quantification of sperm motility by a turbidimetric assay correlation to cellular respiration [J]. *Biomedica Biochimica Acta*, 1986, **45**: 331—341
- [18] Sokoloski J E, Blasco L, Storey B T, et al. Turbidimetric analysis of human sperm motility [J]. *Fertility and Sterility*, 1977, **28**: 1337—1341
- [19] Saha S, Paul D, Mukherjee A, et al. A computerized spectrophotometric instrumental system to determine the “vertical velocity” of sperm cells: a novel concept [J]. *Cytometry*, 2007, **71A**: 308—316
- [20] Jouannet P, Volochine B, Deguent P, et al. Light scattering determination of various characteristic parameters of spermatozoa motility in a serie of human sperm [J]. *Andrologia*, 1977, **9**: 36—49
- [21] Mortimer D, Aitken R J, Mortimer S T, et al. Workshop report: clinical CASA: the quest for consensus [J]. *Reproduction Fertility and Development*, 1995, **7**: 951—959
- [22] Chan S Y W, Zhang G H, Lo T, et al. Comparison of measurements of human sperm motility characteristics by the automated cellsoft system and time-exposure photomicrography [J]. *International Journal of Andrology*, 1991, **14**: 149—158
- [23] Oliva A, Santillan M G, Caille A, et al. Sperm motility analysis using multi-exposure photography (MEP): validity of the method with normal and abnormal patterns [J]. *Andrologia*, 1993, **25**: 189—193
- [24] Gottlieb C, Bygdeman M, Thyberg P, et al. Dynamic laser-light scattering compared with video micrography for analysis of sperm velocity and sperm head rotation [J]. *Andrologia*, 1991, **23**: 1—5
- [25] Tessler S, Olds-Clarke P. Linear and nonlinear mouse sperm motility patterns [J]. *Journal of Andrology*, 1985, **6**: 35—44
- [26] Betancourt M, Resendiz A, Casas E, et al. Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis (CASA) in vitro [J]. *Reproductive Toxicology*, 2006, **22**: 508—512
- [27] King L M, Holsberger D R, Donoghue A M. Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm mobility

- phenotype in turkeys [J]. *Journal of Andrology*, 2000, **21**: 65—71
- [28] Mortimer S T. CASA: practical aspects [J]. *Journal of Andrology*, 2000, **21**: 515—524
- [29] Toth G P, Christ S A, McCarthy H W, et al. Computer-assisted motion analysis of sperm from the common carp [J]. *Journal of Fish Biology*, 1995, **47**: 986—1003
- [30] Liu G X, Innes D J, Thompson R J. Quantitative analysis of sperm plane circular movement in the blue mussels *Mytilus edulis*, *Mytilus trossulus* and their hybrids [J]. *Journal of Experimental Zoology*, 2011, **315**(5): 280—290
- [31] Liu G X. Application of open software Image-J in microscopic movement tracking: movement track reconstruction and parameter algorithms [J]. *Applied mechanics and Materials*, 2011, **66—68**: 827—832
- [32] Vogel H, Czihak G, Chang P, et al. Fertilization kinetics of sea urchin eggs [J]. *Mathematical Biosciences*, 1982, **58**: 189—216
- [33] Bolton T F, Havenhand J N. Chemical mediation of sperm activity and longevity in the solitary ascidians *Ciona intestinalis* and *Asciodiella aspersa* [J]. *Biological Bulletin*, 1996, **190**: 329—335
- [34] Johnson S L, Yund P O. Remarkable longevity of dilute sperm in a free-spawning colonial ascidian [J]. *Biological Bulletin*, 2004, **206**: 144—151
- [35] Malo A F, Garde J J, Soler A J, et al. Male fertility in natural populations of red deer is determined by sperm velocity and the proportion of normal spermatozoa [J]. *Biology of Reproduction*, 2005, **72**: 822—829
- [36] Moore H D M, Akhondi M A. Fertilizing capacity of rat spermatozoa is correlated with decline in straight-line velocity measured by continuous computer-aided sperm analysis: epididymal rat spermatozoa from the proximal cauda have a greater fertilizing capacity in vitro than those from the distal cauda or vas deferens [J]. *Journal of Andrology*, 1996, **17**: 50—60
- [37] Naud M J, Havenhand J N. Sperm motility and longevity in the giant cuttlefish, *Sepia apama* (Mollusca, Cephalopoda) [J]. *Marine Biology*, 2006, **148**: 559—566
- [38] Elofsson H, Van Look K, Borg B, et al. Influence of salinity and ovarian fluid on sperm motility in the fifteen-spined stickleback [J]. *Journal of Fish Biology*, 2003, **63**: 1429—1438
- [39] Liu G X. Gamete compatibility, gamete trait variation and their effect on fertilization success in a Northwest Atlantic blue mussel (*Mytilus edulis* L. and *Mytilus trossulus* Gould) hybrid zone [D]. Thesis for PhD of philosophy, Biology Department of Memorial University of Newfoundland, St John's, Canada. 2009
- [40] Eisenbach M. Sperm chemotaxis [J]. *Reviews of Reproduction*, 1999, **4**: 56—66
- [41] Eisenbach M. Towards understanding the molecular mechanism of sperm chemotaxis [J]. *Journal of General Physiology*, 2004, **124**: 105—108
- [42] Grubert M A, Mundy C N, Ritar A J. The effects of sperm density and gamete contact time on the fertilization success of blacklip (*Haliotis rubra*, Leach, 1814) and greenlip (*H. laevisgata*, Donovan, 1808) abalone [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2005, **24**: 407—413
- [43] McCartney M A, Lessios H A. Quantitative analysis of gametic incompatibility between closely related species of neotropical sea urchins [J]. *Biological Bulletin*, 2002, **202**: 166—181
- [44] Oliver J, Babcock R. Aspects of the fertilization ecology of broadcast spawning corals: sperm dilution effects and insitu measurements of fertilization [J]. *Biological Bulletin*, 1992, **183**: 409—417
- [45] Powell D K, Tyler P A, Peck L S. Effect of sperm concentration and sperm ageing on fertilisation success in the Antarctic soft-shelled clam *Laternula elliptica* and the Antarctic limpet *Nacella concinna* [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2001, **215**: 191—200
- [46] Benzie J A H, Dixon P. The effects of sperm concentration, sperm-egg ratio, and gamete age on fertilization success in crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) in the laboratory [J]. *Biological Bulletin*, 1994, **186**: 139—152
- [47] Levitan D R, terHorst C P, Fogarty N D. The risk of polyspermy in three congeneric sea urchins and its implications for gametic incompatibility and reproductive isolation [J]. *Evolution*, 2007, **61**: 2007—2014
- [48] Styan C A. Polyspermy, egg size, and the fertilization kinetics of free-spawning marine invertebrates [J]. *American Naturalist*, 1998, **152**: 290—297
- [49] Rawson P D, Slaughter C, Yund P O. Patterns of gamete incompatibility between the blue mussels *Mytilus edulis* and *M. trossulus* [J]. *Marine Biology*, 2003, **143**: 317—325
- [50] Harper F M, Hart M W. Gamete compatibility and sperm competition affect paternity and hybridization between sympatric *Asterias* sea stars [J]. *Biological Bulletin*, 2005, **209**: 113—126
- [51] Slaughter C, McCartney M A, Yund P O. Comparison of gamete compatibility between two blue mussel species in sympatry and in allopatry [J]. *Biological Bulletin*, 2008, **214**: 57—66
- [52] Togo T, Osanai K, Morisawa M. Existence of three mechanisms for blocking polyspermy in oocytes of the mussel *Mytilus edulis* [J]. *Biological Bulletin*, 1995, **189**: 330—339
- [53] Levitan D R. Does Bateman's principle apply to broadcast-spawning organisms? Egg traits influence in situ fertilization rates among congeneric sea urchins [J]. *Evolution*, 1998, **52**: 1043—1056
- [54] Dong Y H, Yao H H, Lin Z H, et al. The effects of sperm-egg ratios on polyspermy in the blood clam, *Tegillarca granosa* [J]. *Aquaculture Research*, 2011, **42**(4): 1—9
- [55] Krause P R. Effects of an oil production effluent on gameto-

- genesis and gamete performance in the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus* stimpson) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1994, **13**(7): 1153—1161
- [56] Marshall D J. Reliably estimating the effect of toxicants on fertilization success in marine broadcast spawners [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, **52**(7): 734—738
- [57] Reuter K E, Lotterhos K E, Crim R N, *et al.* Elevated $p\text{CO}_2$ increases sperm limitation and risk of polyspermy in the red sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus* [J]. *Global Change Biology*, 2011, **17**(1): 163—171
- [58] Nei M, Maruyama T, Wu C I. Models of evolution of reproductive isolation [J]. *Genetics*, 1983, **103**: 557—579
- [59] Hay M. Synchronous spawning-When timing is everything [J]. *Science*, 1997, **275**: 1080—1081

《水生生物学报》编辑委员会

EDITORIAL BOARD OF ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

主 编 **Chief Editor** 桂建芳 GUI Jian-Fang

副主编 **Associate Editor** 解绶启 XIE Shou-Qi

委 员 **Members** (以姓氏拼音为序)

蔡庆华	CAI Qing-Hua	曹文宣	CAO Wen-Xuan	常剑波	CHANG Jian-Bo
陈家宽	CHEN Jia-Kuan	陈宜瑜	CHEN Yi-Yu	陈毅峰	CHEN Yi-Feng
高坤山	GAO Kun-Shan	何舜平	HE Shun-Ping	洪云汉	HONG Yun-Han
胡征宇	HU Zheng-Yu	李文鑫	LI Wen-Xin	李钟杰	LI Zhong-Jie
林浩然	LIN Hao-Ran	刘建康	LIU Jian-Kang	刘永定	LIU Yong-Ding
麦康森	MAI Kang-Sen	聂 品	NIE Pin	曲久辉	QU Jiu-Hui
宋立荣	SONG Li-Rong	唐启升	TANG Qi-Sheng	王 丁	WANG Ding
吴灶和	WU Zao-He	吴振斌	WU Zhen-Bin	相建海	XIANG Jian-Hai
肖 伟	XIAO Wei	谢 平	XIE Ping	谢小军	XIE Xiao-Jun
熊邦喜	XIONG Bang-Xi	熊思岳	XIONG Si-Yue	徐旭东	XU Xu-Dong
杨先乐	YANG Xian-Le	于 丹	YU Dan	余其兴	YU Qi-Xing
游 力	YOU Li	张奇亚	ZHANG Qi-Ya	朱作言	ZHU Zuo-Yan

Harald Rosenthal (德国)

编辑部 **Editorial office** 杜新征 DU Xin-Zheng 王 芹 WANG Qin 余 茜 YU Xi