



草鱼卵及胚胎发育时期水溶性氨基酸的变化

AMINO ACIDS CHANGES DURING THE EARLY DEVELOPMENT OF GRASS CARP

刘荣臻 韩晓冬

(南京大学生物系)

Liu Rongzhen and Han Xiaodong

(Department of Biology, University of Nanjing)

氨基酸是构成蛋白质的基本单位,它参与卵母细胞的代谢。正在生长的卵母细胞中,卵黄的合成(即蛋白质)很旺盛,而草鱼胚胎主要以卵内贮备的营养物作为早期发育及器官分化所需的能量来源。关于鱼卵氨基酸的代谢,Michizo Suyama and Takeshi Suzuki(1978)用柱层析方法对红鲮鱼鱼卵中结合和游离的氨基酸进行了研究,他们证明红鲮鱼鱼卵的谷氨酸和天门冬氨酸含量最高。Takeshi Suzuki and Michizo Suyama (1983)年发现成熟鱼卵中游离和结合的氨基酸组分有较大的变化。他们还发现游离氨基酸在各种鱼中不同。Kavanau (1953, 1954a, b) 研究发现海胆卵发育过程中氨基酸浓度有着周期性的变化,受精时氨基酸代谢变化急剧。尽管有关鱼类早期发育氨基酸的代谢有过一些研究,但各种鱼类的生殖过程都有它的特殊性,因此表现在鱼卵及早期胚胎发育的化学物质代谢方面也会存在很大差异,这就决定了各种鱼类的发育特征。草鱼是四大家鱼之一,其胚胎发育各时期水溶性氨基酸的代谢至今尚未见报导。因此我们系统地对草鱼早期胚胎发育各时期水溶性氨基酸的代谢进行了定量分析。该工作将从理论上阐明草鱼胚胎发育时期水溶性氨基酸的代谢特征,从而对生产实践提供参考资料。

材 料 和 方 法

本实验材料草鱼鱼卵取自本市江东门水产养殖场,胚胎发育分期参考中国科学院实验生物所编的《家鱼人工繁殖的研究》一书中白鲢胚胎发育分期,用解剖镜选择发育正常的卵子。以 20 个卵为一样品,加入 1ml 重蒸蒸馏水,匀浆,8000 转/分离心 10 分钟,吸取上清液,置于水解管中冻干,加入 0.5ml 5.7N 恒沸盐酸,封管,将水解管置 110°C 水解 24 小时,然后抽干盐酸,加入 0.02N 的盐酸 1ml 溶解,采用日本产 835-50 高速氨基酸自动分析仪进行测定。测定时共分“未受精卵、受精卵”等八个发育时期(均见附表)。

附表 草鱼胚胎发育过程中各种氨基酸含量的分析
Attached Table Analysis of amino acids content changes during the early development of *Ctenopharyngodon idellus*

发育时期 development stage ×10 ⁻³ 克/ 1 卵卵胚 氨基酸 amino acid	未受精卵 unfertilized egg stage	受精卵 fertilized egg stage	卵裂十六细胞 16-cell stage	囊胚早期 early blastula stage	原肠早期 early gastrula stage	神经胚期 neurula stage	心跳期 heart beat stage	出膜前期 outgrowth-of- membrana stage
天门冬氨酸 (Asp)	8860.8	7251.9	5140.65	8366.0	6938.1	6092.4	5384.93	8810.45
苏氨酸 (Thr)	7135.0	5795.7	4127.93	6926.7	5717.6	5029.9	4461.44	4319.7
丝氨酸 (Ser)	5463.2	4806.8	3053.25	5104.3	4080.1	3672.3	3076.85	3223.2
谷氨酸 (Glu)	17838.9	14726.67	10405.95	16894	14526.9	12475.05	11675.95	11288.4
甘氨酸 (Gly)	3780.4	3172.17	2200.10	3542.7	3072.8	2728.8	2473.82	2729.1
丙氨酸 (Ala)	13647.45	10706.33	8089.19	13119.7	11104.1	9816.3	8588.64	8136.6
半胱氨酸 (Cys)	1350.2	1188.85	986.10	1566.1	1348.2	1224.5	1018.96	1065
缬氨酸 (Val)	8874.7	7820.32	5514.23	8561.1	7512.8	6716.55	6168.3	6068.25
甲硫氨酸 (Met)	3539.7	2830.27	1970.03	3225.1	2670.6	2406.9	2074.23	2081.55
异亮氨酸 (Ile)	7787.9	6918.86	5019.50	7739.1	6744.2	6025.35	5550.03	5101.65
亮氨酸 (Leu)	15233.3	12549.94	9334.14	15146.8	12731.7	11343.5	10139.11	9577.35
酪氨酸 (Tyr)	3781.5	3092.35	2688.15	4518.1	3728.9	3320.55	2753.32	2336.85
苯丙氨酸 (Phe)	4367.6	3580.97	2764.05	4416.6	3765.1	3394.8	3003.33	3005.1
赖氨酸 (Lys)	8679.6	7288.98	5564.98	8927.1	7630.5	6826.05	5837.24	5875.35
组氨酸 (His)	3298.4	2790.45	1994.40	3190.6	2762.0	2446.2	2060.74	2034
精氨酸 (Arg)	8060.2	6001.33	4140.79	7750.16	6170.164	5220.8	4243.29	33760.11

实 验 结 果

实验共测定草鱼卵及胚胎八个发育时期,发现在草鱼卵及胚胎中存在着丰富的水溶性氨基酸,草鱼早期发育各时期都含有相同的十六种氨基酸,但它们的含量在各发育时期有着明显的差异。实验测得草鱼胚胎发育各时期氨基酸共有天门冬氨酸(Asp)等十六种,均见附表。其含量在 $1000(\times 10^{-6}$ 克/1颗卵胚)(该数字设为C)以上的有:谷氨酸、丙氨酸和亮氨酸;其含量为C/2的有丝氨酸、天门冬氨酸、缬氨酸、赖氨酸、苏氨酸、精氨酸、异亮氨酸;其含量在C/2以下的为甘氨酸、组氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸。其中以半胱氨酸含量为最低,谷氨酸和亮氨酸含量为最高。实验结果发现:不同发育时期,各种氨基酸含量很高,而且呈周期性变化,十六种氨基酸在各发育时期都存在相似的规律性,未受精卵和囊胚早期氨基酸的含量上升为高峰,受精后氨基酸含量明显下降,在卵裂期(十六细胞时期)下降到最低值,从十六细胞时期以后氨基酸含量又开始上升为高峰,发育到囊胚早期氨基酸上升到接近于未受精时含量;随着胚胎发育到原肠早期,氨基酸含量又逐渐下降,一直下降到心跳期和出膜前期为最低值。实验表明:未受精卵和囊胚早期氨基酸含量最丰富,而十六细胞时期和心跳期、出膜前期为氨基酸含量最低的时期,而且所有氨基酸在各发育时期均符合这一规律(见附表)。

讨 论

草鱼胚胎发育早期氨基酸分析结果表明:未受精卵及囊胚早期的氨基酸含量最高,但在十六细胞时期、心跳期和出膜前期氨基酸含量最低,因此说明草鱼胚胎发育过程中氨基酸浓度有周期性变化,这一点与 Kavanau (同前引)研究海胆卵时的情况极为相似。但 1941 年 Örström 发现海胆卵在受精后 10 分钟,游离氨基酸有增加的现象,这一点与我们测定草鱼受精卵的结果正相反。我们的实验结果,受精卵时期的氨基酸含量比未受精卵的要低,作者认为这可能是实验材料不同造成的,海胆为无脊椎海生生物,而草鱼为脊椎淡水水生生物,无论从种族和亲缘关系相比都存在较大差异,所以它们的代谢在发育上存在着差异也是可以理解的。

实验所测得的十六种氨基酸中以谷氨酸含量最高,这一结果同 Michizo Suyama and Takeshi Suzuki(1978)在红鲟鱼卵中所得结果相一致。但为什么囊胚早期氨基酸含量突然升高,而在心跳时期和出膜前期含量最低呢?作者认为在胚胎发育过程中,卵内贮存的卵黄不断地分解,胚胎中蛋白质也不断合成,蛋白质合成以周期性规律更迭出现与 Kavanau (同前引)的工作相一致,这是因为囊胚时期急待为原肠期胚胎分化特异蛋白的合成作准备,因此贮胚期氨基酸含量最高,而心跳期各器官已发育完全,出膜前期是即将结束胚胎时期而进入独立生活方式阶段,这可能是氨基酸含量下降到最低值的原因。

参 考 文 献

- [1] Kavanau, J.L., 1953. Metabolism of Free Amino Acids, Peptides and Proteins in early Sea urchin. *J. Exp. Zool.*, **122**: 285—337.
- [2] ————, 1954a. Amino Acid Metabolism in Developing Sea urchin Embryos. *Exp. Cell. Res.* **6**: 563—573.
- [3] ————, 1954b. Amino Acid Metabolism in the early Development of the Sea urchin *Paracentrotus Lividus*. *Exp. Cell. Res.* **7**: 530—557.
- [4] Michizo Suyama and Takeshi Suzuki, 1978. Free and Conjugated Amino Acids in the extract of Rainbow Trout Eggs. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. **44**(4): 345—349.
- [5] Takeshi Suzuki and Michizo Suyama, 1983. Free Amino Acids and Phosphopeptides in the Extracts of Fish Egg. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. **49**(11): 1747—1753.