

文章编号:1005-8737(2000)02-0113-03

·研究简报·

中国鲎胚胎发育过程主要生化成分分析

Biochemical compositions of *Tachypleus tridentatus* at embryonic development stage

梁军荣, 王 军, 苏永全, 王德祥, 全成干

(厦门大学 海洋学系, 亚热带海洋研究所, 福建 厦门 361005)

LIANG Jun-rong, WANG Jun, SU Yong-quan, WANG De-xiang, QUAN Cheng-gan

(Department of Oceanography & Institute of Subtropical Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

关键词: 中国鲎; 胚胎发育; 生化成分

Key words: *Tachypleus tridentatus*; embryonic development; biochemical compositions

中图分类号: Q959.223.13

文献标识码: A

中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)隶属于节肢动物门, 素有活化石之称。从鲎的胚胎发育过程看, 其幼虫与寒武纪以前即已发生的三叶虫极为相似。因此, 它在研究节肢动物的系统发生上具有重要意义。20世纪40年代OKA就采用活体染色法观察了美洲鲎胚胎发育的变化^[1], 对鲎的胚胎发育有了一定的了解。之后, 日本学者关口晃^[2]和我国学者王渊源^[3]、蔡心一^[4]、吴翎钦^[5]、廖永岩^[6]和王军^[7]等对中国鲎胚胎发育做了进一步的观察。而有关中国鲎发育过程中各发育期胚胎生化成分的变化迄今尚未见有公开报道。本文对中国鲎胚胎发育过程的蛋白质、脂类、糖类和氨基酸进行了分析, 试图了解其变化及利用情况, 以求对中国鲎胚胎发育中能量和物质的需求有较深层次的了解。

1 材料与方 法

1.1 材 料

中国鲎各期胚胎由室内人工授精、培育获得; 精巢和卵巢组织取自用于人工授精的亲鲎。

1.2 方 法

生化测定时将样品(2 g)匀浆。糖类测定采用3,5-二硝基水杨酸比色定糖法^[8]; 脂类分析按Smith抽取法^[9]; 酸水解蛋白质为氨基酸后, 用Biochrom20氨基酸自动分析系统测定氨基酸组成及含量; 蛋白质的含量以氨基酸总量的85%计算。各项数据重复测定2次。

收稿日期: 1999-07-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39670147)

作者简介: 梁军荣(1975-), 女, 福建人, 厦门大学博士生, 从事鱼类生殖神经内分泌方面研究。

2 实验结果

2.1 胚 胎 发 育

中国鲎胚胎发育可分为卵裂期(所需时间2~3 d)、囊胚期(2~3 d)、原肠胚形成期(6~8 d)、附肢原基形成期(约6 d)、组织分化期(约16 d)和快速生长期(约20 d)。在组织分化期中, 胚胎完成3次胚内蜕皮, 并在第2次胚内蜕皮的同时, 胚体外壳也破裂蜕去, 完成3次胚内蜕皮的胚体已具三叶幼体的锥型。在快速生长期内完成第4次胚内蜕皮, 3~4 d后胚体破膜而出, 即为三叶幼体。未发生滞育的中国鲎胚胎的发育过程历时55 d左右。

2.2 生 化 成 分

中国鲎的成熟卵从受精前到第1次胚内蜕皮, 糖类含量逐渐从成熟卵的42.0 mg/g增加到65.0 mg/g。随后糖含量急剧下降, 至第4次胚内蜕皮时仅为4.7 mg/g, 直到三叶幼体期糖的含量才开始上升。成熟亲鲎卵巢的糖含量高于精巢的含量, 其值为精巢的4.26倍, 但两者均低于受精前成熟卵的糖含量(表1)。

中国鲎各期胚胎脂类含量除第1次胚内蜕皮样品因数量不足而无法测定外, 其余样品脂类含量变化趋势与糖类相似(表1)。受精后24 h内受精卵脂类增加了18.2 mg/g, 达130.3 mg/g的最高值, 而完成第4次胚内蜕皮胚体脂类含量仅24.9 mg/g。卵巢组织的脂类含量为102.5 mg/g, 比精巢的高70.9 mg/g, 但略低于受精前成熟卵的脂类含量。

中国鲎各期胚胎蛋白质含量变化与糖类不同。在受精后24 h内受精卵蛋白质含量大幅度增高, 为未受精成熟卵的4.9倍, 到第1次胚内蜕皮时, 蛋白质含量明显下降, 这种

下降趋势一直保持到胚体完成第4次胚内蜕皮,三叶幼体的蛋白质含量开始增加。相对于糖类与脂类而言,精巢和卵巢组织中的蛋白质含量都明显高于受精前成熟卵,分别为受精前成熟卵的1.8倍(精巢)和2.3倍(卵巢)(表1)。

2.3 氨基酸组分

中国鲎各期胚胎、三叶幼体、精巢和卵巢的氨基酸分析结果如表2所示。从氨基酸总量来看,受精前的成熟卵氨基酸的含量最低,受精后24h内上升至最高(264.00 mg/g)。随着胚胎的进一步发育,氨基酸含量呈下降趋势,但不同发育期胚胎中各种氨基酸含量与氨基酸总量之比相似。从氨

基酸的组成来看,除了氨基酸样品的制备采用酸水解,Trp受到破坏未检测出外,各样品均含有17种氨基酸,而且都以Glu含量最高(肌肉样品除外)。各样品中含人体所需的必需氨基酸占氨基酸总量之比值较为接近,未受精成熟卵必需氨基酸占氨基酸总量的52.01%,此后各期胚胎的相应比值为49.04%~50.97%,此外卵巢的氨基酸含量高于精巢的含量,但两者中各种氨基酸占氨基酸总量的比值相近。结果还表明,胚胎各期、三叶幼体及性腺组织中Glu含量比肌肉的高3.5~19.6倍。

表1 各期胚胎的生化组成

Table 1 Biochemical compositions at each developing stage 湿重 Wet mg/g

生化成份 Biochemical composition	未受精卵 Unfertilized egg	受精24h胚胎 Embryo fertilized for 24h	第1次蜕皮胚胎 1st M. E.*	第2次蜕皮胚胎 2nd M. E.	第3次蜕皮胚胎 3rd M. E.	第4次蜕皮胚胎 4th M. E.	三叶幼体 Trilobita	精巢 Testis	卵巢 Ovary
糖类 Glycogen	42.0	56.0	65.0	10.7	6.3	4.7	8.3	4.2	17.9
脂类 Lipid	112.1	130.3	-	67.1	54.1	24.9	51.0	31.6	102.5
蛋白质 Protein	45.42	224.40	173.24	151.34	109.04	82.50	93.25	80.14	103.85

* M. E.: molting embryo

表2 各期胚胎氨基酸的种类、含量及比例

Table 2 Contents of amino acids at each developing stage 湿重 Wet mg/g

氨基酸 Amino acids	未受精卵 Unfertilized egg		受精24h胚胎 Embryo fertilized for 24h		第1次蜕皮胚胎 1st M. E.		第2次蜕皮胚胎 2nd M. E.		第3次蜕皮胚胎 3rd M. E.		第4次蜕皮胚胎 4th M. E.		三叶幼体 Trilobita		精巢 Testis		卵巢 Ovary		肌肉 Muscle	
	含量 %		含量 %		含量 %		含量 %		含量 %		含量 %		含量 %		含量 %		含量 %		含量 %	
	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%	Content	%
天冬氨酸 Asp	5.06	9.47	26.83	10.16	20.08	9.85	17.60	9.88	12.52	9.76	10.30	10.61	10.33	9.42	8.42	8.93	11.91	9.75	11.17	10.96
苏氨酸 Thr	2.67	5.00	14.47	5.48	11.46	5.62	9.63	5.41	6.93	5.40	5.43	5.59	5.39	4.91	3.77	4.00	5.46	4.47	5.34	5.24
丝氨酸 Ser	3.37	6.31	18.08	6.85	14.00	6.87	11.72	6.58	8.66	6.75	6.18	6.37	6.44	5.87	4.70	4.99	5.84	4.78	5.57	5.47
谷氨酸 Glu*	5.68	10.63	31.31	11.86	24.42	11.98	22.07	12.40	15.48	12.07	12.22	12.59	12.73	11.60	15.00	15.91	17.95	14.69	1.61	1.58
甘氨酸 Gly	1.56	2.92	7.46	2.83	6.33	3.11	5.67	3.18	3.89	3.03	3.76	3.87	4.86	4.43	4.85	5.14	5.57	4.56	4.67	4.58
丙氨酸 Ala	1.45	2.71	7.20	2.73	5.78	2.84	5.52	3.10	3.58	2.79	3.25	3.35	4.14	3.77	3.43	3.64	4.49	3.67	5.58	5.48
半胱氨酸 Cys	1.97	3.69	6.24	2.36	4.08	2.00	3.39	1.90	3.21	2.50	2.37	2.44	2.97	2.71	3.77	4.00	4.36	3.57	2.50	2.45
缬氨酸 Val	3.62	6.78	16.40	6.21	11.96	5.87	10.81	6.07	7.84	6.11	6.11	6.30	7.07	6.44	5.79	6.14	7.30	5.97	5.93	5.82
甲硫氨酸 Met	2.16	4.04	6.55	2.48	4.58	2.25	4.50	2.53	3.53	2.75	3.04	3.13	4.00	3.65	3.94	4.18	4.44	3.63	4.37	4.29
异亮氨酸 Ile	3.60	6.74	16.44	6.23	11.90	5.84	9.97	5.60	7.87	6.14	5.82	6.00	6.72	6.13	4.96	5.26	6.78	5.55	5.79	5.68
亮氨酸 Leu	5.01	9.38	22.76	8.62	16.83	8.26	14.55	8.17	10.83	8.44	8.26	8.51	9.68	8.82	8.33	8.84	10.70	8.76	9.76	9.58
酪氨酸 Tyr	3.98	7.45	19.96	7.56	14.90	7.31	12.27	6.89	9.26	7.22	7.20	7.42	8.00	7.29	4.64	4.92	5.83	4.77	4.65	4.56
苯丙氨酸 Phe	3.61	6.75	17.56	6.65	15.04	7.38	13.24	7.44	9.52	7.42	4.90	5.05	5.06	4.61	5.74	6.09	7.78	6.37	5.82	5.71
组氨酸 His	1.79	3.35	9.95	3.77	7.59	3.72	6.44	3.62	4.75	3.70	3.48	3.59	4.42	4.03	3.57	3.79	4.34	3.55	3.42	3.36
赖氨酸 Lys	3.26	6.10	18.07	6.84	13.96	6.85	12.76	7.17	8.26	6.44	6.04	6.22	7.05	6.43	5.90	6.26	8.04	6.58	10.00	9.82
精氨酸 Arg	2.07	3.87	11.69	4.43	9.32	4.57	8.83	4.96	5.56	4.33	4.51	4.65	5.01	4.57	4.91	5.21	6.64	5.43	10.76	10.56
脯氨酸 Pro	2.57	4.81	13.05	9.94	11.60	5.69	4.08	5.10	6.61	5.15	4.19	4.32	5.83	5.31	2.59	2.75	4.76	3.90	4.93	4.84
必需氨基酸 EAA	27.79	52.01	133.89	50.71	102.64	50.36	90.73	50.97	65.09	50.73	47.59	49.04	54.40	49.59	46.91	49.77	61.48	50.31	61.19	60.06
氨基酸总量 TAA	53.43		264.00		203.82		178.05		128.28		97.06		109.70		94.31		122.19		101.87	

* Glu 含 Gln; Asp 含 Asn; 必需氨基酸包括: Thr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, His, Lys, Arg, 其中 His 和 Arg 为半必需氨基酸。

3 讨论

(1)中国鲎的精巢和卵巢呈网状结构分布于头胸部,精巢和卵巢的每个部分基本上具有相同的结构和功能,是一种同质性的网状结构^[2]。精巢和卵巢是产生精子和卵子的场所,也是精子和卵子形成的物质基础。中国鲎卵巢的各生化成分含量明显高于精巢,保证了卵子形成时所需的大量物质与能量。而精巢组织3种生化成分中较高的蛋白质含量可能与精子形成时需要大量合成蛋白质和精子染色质高度浓缩形成DNA—蛋白质复合物有关^[10]。

(2)生物体的卵子在受精前后无论结构功能还是物质组成都发生了很大的变化。就物质组成而言,中国鲎卵子受精后24 h内(还未进入卵裂期)糖类、脂类、蛋白质和各种氨基酸含量均有明显增加,特别是氨基酸为受精前的4.94倍。受精卵氨基酸的增加,可能直接来自卵黄逐渐水解供给^[11]。而氨基酸含量的增加,可进一步促进蛋白质的合成,提高其蛋白质的含量。蛋白质、脂类和糖类在受精卵中含量的增加为受精卵合成新的大分子提供了必需的物质基础。随着胚胎的发育,胚胎内各营养成分均呈明显下降趋势,表明胚胎发育期间对各种营养消耗的速率远大于其合成速率,同时也说明了糖类、脂类和蛋白质是中国鲎胚胎发育的主要能源物质。此外,在胚胎各期的蛋白质含量一直高于受精前成熟卵的含量,也可认为蛋白质同时也是参与胚胎各期组织构建和分化的主要物质。

(3)与蛋白质含量最高值出现在受精后24 h内不同的是,糖类含量在第1次胚内蜕皮时达到最高值,这可能与中国鲎胚胎外膜含有较大量的酸性氨基酸有关^[12],但仍有待于今后进一步的探讨。

值得一提的是,无论是中国鲎的精巢、卵巢、成熟卵子,还是各期胚胎,其所含氨基酸的种类及各种氨基酸组成比例

都较相近,而且均以Glu含量最高(占总氨基酸10.63%~15.91%),这可能是由于在性腺和各期胚胎的发育过程中,沟通糖、脂、核酸和蛋白质代谢的三羧酸循环反应比较活跃的缘故。同时从中国鲎整个胚胎发育过程中各种氨基酸含量都比较接近这一测定结果还可推测中国鲎在繁育过程中对各种氨基酸的相对需求量较稳定。

参考文献:

- [1] Oka H. Recherches sur l'embryologie Causale de Limule II [A]. Sci Rep[C]. Tokyo: Bunrika Daigaku, 1943, B. 6: 87-127.
- [2] Koichi S. Biology of Horseshoe Crab [M]. Tokyo: Sciencehouse. Co Ltd, 1988.
- [3] 王渊源,等. 幼鲎发育的初步报告[J]. 海洋科学, 1984, 3: 47-48.
- [4] 蔡心一,等. 中国鲎的生殖习性和早期胚胎发育[J]. 海洋学报, 1984, 6(5): 663-671.
- [5] 吴翔钦,等. 中国鲎早期胚胎发育的光镜和电镜观察[J]. 电子显微学报, 1994, 13(5): 352.
- [6] 廖永岩,等. 中国鲎人工授精育苗的初步研究[J]. 湛江海洋大学学报, 1997, 17(2): 23-26.
- [7] 王军,等. 温度和盐度对中国鲎胚胎发育的影响[J]. 中国学术期刊文摘, 1999, 5(9): 1180-1182.
- [8] 张龙翔,等. 生化实验方法和技术(第二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997. 1-3.
- [9] Smith P Jr, et al. Improved rapid method for determining total lipids in fish meat[J]. Comme Fish Rev J, 1964, 26: 1-5.
- [10] E H 戴维森林. 早期发育的基因活性[M]. 蒋耀育译. 北京: 科学出版社, 1985. 62-150.
- [11] J 布拉舍. 分子胚胎学引论[M]. 傅文庆译. 北京: 科学出版社, 1987.
- [12] 洪水根,等. 中国鲎卵巢膜发生的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1986, 25(2): 233-237.