

黄鳝孵卵泡的生化成分及其生理作用

尹绍武

周工健

刘筠

海南大学海洋学院 海口

湖南师范大学生命科学学院 长沙

摘要 通过对繁殖季节黄鳝为孵卵所吐的泡沫的特性和生化成分分析 孵卵泡的黏度为 证明了该孵卵泡是糖蛋白 其中糖类含量为 蛋白质含量为 蛋白质 糖类比值为 。分离的泡沫蛋白经 电泳含 种组分 分子量从小到大依次为 、 、 、 。泡沫蛋白含 种氨基酸 氨基酸总含量为 。同时对孵卵泡的生理作用进行了分析和讨论。

关键词 黄鳝 孵卵泡 生化成分 生理作用

中图分类号

文献标识码

文章编号

黄鳝 *Monopterus albus*

俗称鳝鱼 田鳢

隶属硬骨鱼纲 合鳃目 合鳃科 黄鳝属。我国仅产一种。黄鳝是我国重要经济鱼类之一 目前国内外学者主要是针对性逆转前后的研究工作 对黄鳝的人工繁殖技术已有多人研究 但均未使鳝苗生产形成产业化 导致黄鳝的人工繁殖停滞不前。问题的症结在于对黄鳝的繁殖生态学了解甚少 尤其对繁殖季节黄鳝所吐的泡沫的特殊生理功能未进行研究。作者通过野外调查和室内实验相结合的方法 有针对性对孵卵泡的生化成分及其生理作用进行了分析和探讨 为进一步研究孵卵泡的特殊生理功能打下基础 为黄鳝的人工繁殖提供有价值的参考资料。

1 材料与方法

1.1 孵卵泡的采集 年— 年在黄鳝繁殖季节 月 分别在湖南洞庭湖区的稻田黄鳝繁殖洞中 将带卵的泡沫放入培养皿中 然后用勺子将泡沫转移到 离心管中 放入冰桶带回实验室 样品置 ℃冰箱保存备用。

1.2 孵卵泡的分离纯化、特性及生化成分分析 孵卵泡的分离纯化方法参照张惟杰 粘液糖蛋白的分离方法 粘度的测定用锥式平板粘度计

的测定用 试纸检测。糖类的测定采用蒽酮比色法 蛋白质的测定用核酸-蛋白质测定仪

公司生产。

1.3 泡沫蛋白的分子量测定 浓缩胶 分离胶 其他按李建武 电泳约 — 考马司亮蓝 染色。 低分子标准蛋白购自上海生工有限公司 所得图谱带用美国基因有限公司 凝胶成像分析系统进行照像扫描和分析 输入标准蛋白分子量 计算每个蛋白区带的分子量。

1.4 氨基酸组成的测定 氨基酸的测定采用反相高效液相色谱法 盐酸水解、乙醇、二乙胺干燥与中和 衍生 自装色谱柱层板 标准氨基酸混合物为 公司产品。

1.5 孵卵泡的生理作用的实验设计 实验池模拟野外黄鳝的自然产卵条件 在繁殖期间跟踪观察 并在同一时期采集刚产出的受精卵 将一部分受精卵从泡沫中分离出来 作对照实验组用。每组受精卵数为 粒 设置 种不同的温度水平 ℃、℃、℃、℃ 每个水平 次重复 分别比较受精卵的孵化率和被水霉感染的频率 另外采用 种不同孵化方式 静水孵化法、流水孵化法、泡沫孵化法 比较受精卵的发育状况。

2 结果

2.1 孵卵泡的特性

黄鳝在产卵和孵卵期间 会不断地形成许多细小致密、成堆成团的泡沫包围在卵的周围。洞内有水

收稿日期 - - 修订日期 - -

基金项目 湖南省科技厅重点资助项目

作者简介 尹绍武 — 男 博士 研究方向 鱼类发育生物学

通讯作者 刘筠

时 受精卵随泡沫悬浮于产卵室的上部 无水或水少时 泡沫都覆盖在卵的周围 经观察泡沫存在时间天数 与受精卵出膜时间 呈正相关 即

。经光镜下观察分析 泡沫实际上是许多潮湿的、细小的、带粘性的、含空气的水泡的集合体 该孵卵泡的比重小于水 值为 . 偏酸性 粘性较强 在恒温 ℃的条件下 切变速度在 一 范围内 测定孵化泡的粘度分别为 . 土 . 、 . 土 . 、 . 土 . 、 . 土 .

图 。其粘度平均值为 .

2.2 孵卵泡的主要生化成分 从表 可以看出 孵卵泡是一种糖蛋白 其中糖类含量为 . 蛋白质含量为 . 蛋白质 糖类比值为 . 。

2.3 纯化泡沫蛋白的分子量测定

从图 可以看出 泡沫蛋白含 种组分 是一种复合蛋白质 其分子量从小到大依次为 . 、 . 、 . 、 . 作者分别命名为泡沫蛋白 、 、 、 依次简称为 、 、 、 和 的分子量相差不大 其蛋白含量大小依次为

。

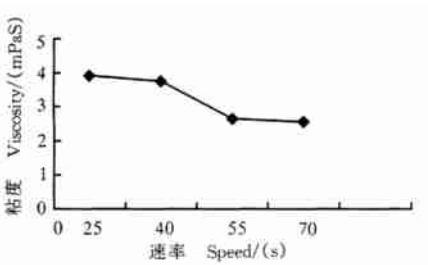


图 孵卵泡不同切变速度下表观粘度

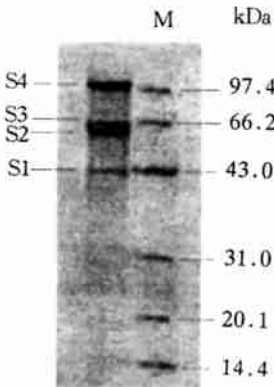


图 泡沫蛋白的

表 1 泡沫的主要生化成分

泡沫组分	测试结果				均值
糖类	.	.	.	.	土 .
蛋白质	.	.	.	.	土 .

2.4 泡沫蛋白的氨基酸含量和组成

经分离黄鳝在繁殖季节为孵卵所吐的泡沫蛋白 除不含半胱氨酸外 含有 种氨基酸 表 其氨基酸总量为 . 其中丙氨酸、赖氨酸、亮氨酸的含量最高 而酪氨酸、组氨酸、蛋氨酸含量较低。泡沫蛋白的 种必需氨基酸含量为 .

占氨基酸总量的 . 。

2.5 孵卵泡的生理作用分析

2.5.1 提高受精卵孵化率的作用 从图 可以看出 在不同温度下 泡沫组受精卵的孵化率分别为 . 、 . 、 . 、 . 而对照组受精卵的孵化率分别为 . 、 . 、 . 、 . 。泡沫组受精卵的孵化率大大高于对照组 由此说明泡沫在黄鳝受精卵的胚胎发育过程中起提高孵化率的作用。而且在水温 一 ℃之间 孵化率明显高于

其他温度水平的孵化率 由此说明黄鳝胚胎发育的最佳温度是 一 ℃。

2.5.2 抑制水霉生长和防止受精卵受水霉菌感染的作用 从图 可以看出 在不同温度水平 泡沫组受精卵受水霉感染的频率分别为 . 、 . 、 . 、 . 对照组受精卵受水霉感染的频率分别为 . 、 . 、 . 、 . 。由于水温高于 ℃ 水霉发生率高 随着温度的升高 受水霉感染的频率明显升高。对照组受水霉感染的频率平均为 . 泡沫组受水霉感染的频率平均为 . 对照组明显高于泡沫组 而泡沫组受精卵受水霉感染的频率达不到自然条件下的标准 几乎为零 这是由于在实验的过程中 有的受精卵从泡沫上脱落下来 受到水霉的感染。结果进一步说明泡沫有抗菌的作用 尤其对水霉病有强烈的抑制作用

表 第 组试验也验证了泡沫的杀菌作用 。

表 2 黄鳝泡沫蛋白的氨基酸组成及含量

M. albus

氨基酸种类	泡沫蛋白	必需氨基酸占总氨基酸量的比例
苏氨酸	. ± .	.
缬氨酸	. ± .	.
蛋氨酸	. ± .	.
异亮氨酸	. ± .	.
亮氨酸	. ± .	.
苯丙氨酸	. ± .	.
赖氨酸	. ± .	.
组氨酸	. ± .	.
精氨酸	. ± .	.
色氨酸	—	—
必需氨基酸	. ± .	.
天冬氨酸	. ± .	.
丝氨酸	. ± .	.
谷氨酸	. ± .	.
甘氨酸	. ± .	.
丙氨酸	. ± .	.
半胱氨酸		
酪氨酸	. ± .	.
脯氨酸	. ± .	.
氨基酸总量	. ± .	.

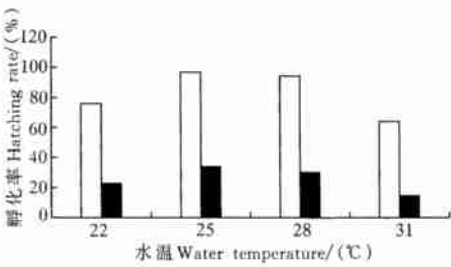


图 不同水温下泡沫组 □ 与对照组 ■ 的孵化率的比较

2.5.3 增加溶氧量,促使卵膜正常破裂的作用 水温为 ℃时 受精卵 — 可孵出 孵化时间的快慢 除了与水温有关外 还有一重要因素——溶氧量。水体溶氧充足 孵化时间较快 仔鳝发育正常 如果水体严重缺氧 即使其它条件都很好 也不可能孵化成功。从表 可以看出 静水孵化法由于溶氧不充足 又无泡沫存在 易受水霉感染 受精卵孵化

率为 . 仔苗成活率为 . 水霉感染率为 . 滴水孵化法由于增加了溶氧量 基底铺有细沙 在一定程度上减少了水霉的发生 受精卵孵化率为 . 仔苗成活率为 . 水霉感染率为 . 泡沫孵化法由于泡沫通过与空气的结束面

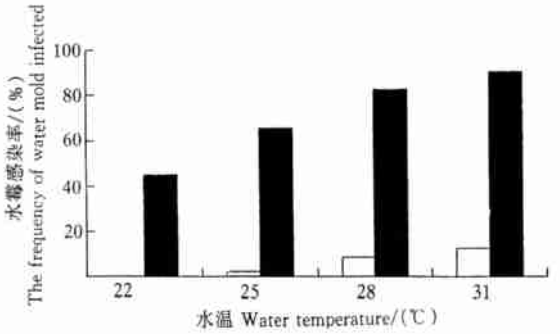


图 不同水温下泡沫组 □ 与对照组 ■ 水霉病发生频率

溶氧 使受精卵受到泡沫的保护 抑制了水霉的发生 其受精卵孵化率为 . 仔苗成活率为 . 水霉感染率为 . 。通过三种不同孵化方式的比较 有效的说明了泡沫在胚胎发育过程中提供受精卵所需的氧 保证了胚胎发育的顺利进行。实验中同时发现受精卵卵膜破膜的速率和比例在三

种不同孵化方式中有明显差别 泡沫孵化法 滴水孵化法 静水孵化法 从孵化时间到出苗时间的长短和整齐度 泡沫孵化法 滴水孵化法 静水孵化法 从受精卵孵化率和仔苗成活率比较 泡沫孵化法 滴水孵化法 静水孵化法。由此说明 泡沫有增加溶氧量 促使卵膜正常破裂的作用。

表 3 不同孵化方式对黄鳝受精卵孵化率和仔苗成活率的影响
gf Malbus

孵化方式	水温 ℃	受精卵数	出膜数	孵化率	平均	成活数	成活率	平均	受水霉感染频率	平 均
注 . 静水孵化法					12. 0			5. 3		88. 67
. 滴水孵化法					70. 6			46. 6		29. 3
. 泡沫孵化法					95. 3			82. 0		4. 67

3 小结与讨论

孵卵泡作为黄鳝繁殖过程中的特殊生理现象 作者通过对黄鳝孵卵泡的生化成分及生理作用的分析 证实了黄鳝繁殖季节所产的孵卵泡为大分子的糖蛋白类 在对提高受精卵孵化率、仔苗成活率、增加溶氧量 促使卵膜正常破裂、抗水霉病等方面具有独特的生理功能。

从本实验研究的结果来看 与野外调查研究结果一致 。作者通过野外调查发现 产在水稻田里的黄鳝卵 处在水浅、水温高、溶氧低等特殊而不良的环境条件下 除了黄鳝在繁殖方式和胚胎发育时期形成了独特的适应性外 孵化卵始终由泡沫悬浮于水面 有利于气体交换 同时堆积的泡沫给卵搭起了“凉棚”而避免强烈光线的不利刺激。在自然条件下 产卵前 亲鳝预先吐出一片泡沫 并于洞口处堆成浮巢。由于卵粒无粘性 比重大于水 故亲鳝必须将卵粒产在浮巢的泡沫中 以借助于泡沫的浮力托住受精卵。一般亲鳝排卵和射精基本上是同步的 精液的浮力也有助于卵粒的漂浮。黄鳝卵的受精率一般很高 几乎达 且孵化率也极高 一般可达到 以上 且不易受水霉等病菌感染。卵在泡

沫上受精孵化发育 可大大提高受精和孵化率。因为 一是孵卵泡能保护受精卵 使之不易被敌害发现 二是可提高受精率 因精子在水中的寿命极短 而在孵卵泡中的寿命较长 这就为提高受精率提供了条件 三是使受精卵浮在水面 水面一般含溶解氧量较多 水温也高 而且还可以直接从空气中得到氧气 利于提高孵化率。

从孵卵泡的作用来看 若须人工繁殖 受精卵应放在与空气接触最大的水表面进行孵化 并适当充气 增加含氧量。同时针对孵卵泡在黄鳝繁殖过程中的重要作用 在目前黄鳝全人工催产繁殖不理想的情况下 作者认为从黄鳝的生态学入手 通过模拟自然生态条件 用人工巢代替泥洞 在无泥土的池中进行半人工繁殖是可行的。有关孵卵泡的产生机制和抗菌效应的机理有待进一步研究。

参考文献

Monopteris albus I
Monpterus albus Acta
Sci. Nat. Univ. Norm. Hunan. — 肖亚梅
黄鳝繁殖生物学研究I 黄鳝生殖腺早期发生及其结构变化 湖南师范大学自然科学学报 16 —

