

# 河川沙塘鳢胚胎、仔鱼发育过程中 蛋白质含量及氨基酸库的变化

胡先成<sup>①</sup> 李佳坤<sup>①</sup> 赵云龙<sup>②</sup>

① 重庆师范大学重庆市动物生物学重点实验室 重庆 401331; ② 华东师范大学生命科学学院 上海 200241

**摘要:** 采用生物化学方法测定和分析了河川沙塘鳢 (*Odontobutis potamophila*) 胚胎、仔鱼发育过程中蛋白质含量及氨基酸的组成和含量。结果显示, 从受精卵开始到孵出后 8 d 饥饿仔鱼的整个胚胎和仔鱼发育过程中, 其总蛋白和总氨基酸含量均呈下降趋势; 总的必需氨基酸含量和总的非必需氨基酸含量也一样都呈现出下降趋势; 平均含量最高的氨基酸是亮氨酸 Leu、赖氨酸 Lys、谷氨酸 Glu 和天冬氨酸 Asp。与总氨基酸库相反, 游离氨基酸库却呈现出随着发育的进行而不断增长的趋势, 这种增长趋势也反映在游离的必需氨基酸和游离的非必需氨基酸含量的变化上, 并且平均含量最高的游离氨基酸是赖氨酸 Lys、亮氨酸 Leu、脯氨酸 Pro 和谷氨酸 Glu。整个发育过程中, 游离氨基酸的含量仅占总氨基酸库的很小一部分 (在受精卵, 仅占 0.16%)。由于总蛋白和总氨基酸含量在发育过程中均呈下降趋势, 而游离氨基酸含量呈增长趋势, 由此可知, 在整个胚胎发生过程中, 其卵黄蛋白的水解速度大于胚体同化和异化作用对氨基酸的消耗速度。

**关键词:** 河川沙塘鳢; 胚胎发育; 仔鱼发育; 蛋白质; 氨基酸库

中图分类号: Q956 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2020) 06-776-08

## Changes in the Protein Content and Amino Acid Pool during Embryonic and Larval Development of *Odontobutis potamophila*

HU Xian-Cheng<sup>①</sup> LI Jia-Kun<sup>①</sup> ZHAO Yun-Long<sup>②</sup>

① Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331;

② School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200241, China

**Abstract:** The *Odontobutis potamophila* belongs to Perciformes, Odontobutidae. It is an important freshwater commercial fish distributing in the Yangtze River and its tributaries, China. There is no report on the nutritional requirements and metabolic characteristics of the early development of *O. potamophila*. The content of proteins as well as the composition and content of amino acids during the embryonic and larval development of *O. potamophila* were analyzed. The fertilized eggs (I), embryos at cleavage stage (II),

**基金项目** 重庆市科委自然科学基金项目 (No. 7877), 重庆市教委科学技术研究项目 (No. KJ090827), 重庆市科技创新能力建设项目 (No. 2010CA1010);

**第一作者介绍** 胡先成, 男, 教授; 研究方向: 水生动物发育生物学; E-mail: 754578103@qq.com。

收稿日期: 2020-04-20, 修回日期: 2020-09-10 DOI: 10.13859/j.cjz.202006011

blastula stage (III), gastrula stage (IV), lens formation stage (V), eye pigmentation stage (VI), prehatching stage (VII), and larvae of 1 day after hatching (VIII), 8 days after hatching (IX) were collected for biochemical analysis. The results indicated that a significant reduction was detected in the total protein content during the embryonic and larval development ( $P < 0.05$ , Fig. 1). Eighteen kinds of total amino acids (TAA) and nineteen kinds of free amino acids (FAA) were detected. The TAA content decreased during the embryonic and larval development (Table 1). Overall, the changes in the content of total essential amino acids (TEAA) and the content of total non-essential amino acids (TNEAA) reflected that of the TAA content. Qualitatively, the predominant amino acids were leucine, lysine, glutamic acid and aspartic acid during the embryonic and larval development. In contrast, the FAA pool increased with development (Table 2), the changes were reflected in both the free essential amino acids (FEAA) and the free non-essential amino acids (FNEAA), and the predominant free amino acids were lysine, leucine, proline and glutamic acid. Throughout development, the FAA accounted for only a small proportion (0.16% in fertilised eggs) of the TAA content. Because the egg protein content and the TAA content declined with development, the FAA pool increased during development, and it was concluded that the rate of breakdown of yolk protein was higher than the anabolic and catabolic processes during embryogenesis.

**Key words:** *Odontobutis potamophila*; Embryonic development; Larval development; Protein; Amino acid pool

有关鱼类早期发育过程中营养代谢的研究, 国内外的学者已做了一些重要工作, 主要集中在鱼类胚胎发育和卵黄囊仔鱼发育过程中的营养代谢 (Srivastava et al. 1995, Gunasekera et al. 1999, 2000, 马爱军等 2000, 黄旭雄等 2013, 韩慧宗等 2019, 施永海等 2019), 这些研究不仅揭示了鱼类早期发育过程中的营养代谢规律, 也阐明了早期发育过程中鱼类的营养代谢与其形态发生的关系。河川沙塘鳢 (*Odontobutis potamophila*) 属鲈形目 (Perciformes) 虾虎鱼亚目 (Gobioidei) 沙塘鳢科 (Odontobutidae), 为淡水底栖小型肉食性鱼类, 分布于我国长江中、下游, 钱塘江及闽江各水系。目前该鱼种已经成为沪、江、浙等地的重要经济鱼类并已广泛开展人工增养殖。对早期发育过程中河川沙塘鳢的研究主要集中在器官发生, 仔、稚、幼鱼的摄食及其食性转换, 胚胎发育过程中可溶性蛋白组成及含量的变化, 以及胚胎和仔鱼发育过程中脂类含量及脂肪酸组成的变化等方面 (胡先成等 1996, 2007a, b, 胡先成 2007, 胡先成等 2008a, b)。对河川沙塘鳢胚胎发育、卵黄囊仔鱼发育过程中总蛋白的含量及总氨基

酸库和游离氨基酸库变化方面的研究, 将有助于揭示河川沙塘鳢胚胎发育过程中蛋白质及氨基酸代谢的机理, 为在该鱼的全人工繁殖过程中如何强化亲体的营养提供科学依据, 同时也有助于了解河川沙塘鳢卵黄囊仔鱼的氨基酸组成特点及其含量变化, 把握卵黄囊仔鱼自身的营养需求, 从而为成功开发河川沙塘鳢仔鱼开口摄食期的人工配合饵料提供有效依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

河川沙塘鳢亲鱼为野生个体, 共 25 尾, 购自上海市铜川路水产品集贸市场。采用干法人工授精获得受精卵, 将消除粘性的受精卵置于室内水族箱中, 在 18 ~ 24 °C 的室温条件下静水孵化, 每天换水两次。根据河川沙塘鳢胚胎及胚后发育的分期 (谢仰杰等 1996) 观察胚胎、仔鱼发育过程。在受精卵期 (I)、卵裂期 (II)、囊胚期 (III)、原肠胚期 (IV)、眼晶体形成期 (V)、眼黑色素出现期 (VI)、孵化前期 (VII)、孵出后 1 d 仔鱼 (VIII)、孵出后 8 d 仔鱼 (IX) 共 9 个发育时期分别取样 50 粒或尾, 共设 3

个平行组，用滤纸吸干水分后，在 Sartorius 电子天平上称湿重（精确至 0.01 mg），保存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  的低温冰箱中，待测。

## 1.2 方法

将用于蛋白质含量测定、总氨基酸和游离氨基酸分析的样品（每个样 50 粒或尾）置于  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  的烘箱中烘干（24 h），在 Sartorius 电子天平上称重（精确至 0.01 mg）。

将用于蛋白质含量测定的样品碾磨均匀后置于消化管中，向盛有每个样品的消化管中加入浓硫酸 8 ml、消化片 1 片（4.5 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  与 0.5 g  $\text{CuSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ ），在 Digestor 2012 消化系统中于  $420\text{ }^{\circ}\text{C}$  消化 1 h。待样品冷却后，用 Kjeltac 2300 全自动凯氏定氮仪测定其蛋白质含量。

把用于总氨基酸分析的样品放入玻璃水解管内，加入 6 mol/L 盐酸 10 ml，将水解管抽真空 10 min，然后充入高纯氮气；再抽真空充氮气，重复三次后，在充氮气状态下封口，将已封口的水解管放在  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  的恒温干燥箱内水解 22 h，冷却后打开水解管，将水解液过滤后，用去离子水定容至 50 ml。吸取 1 ml 滤液于 5 ml 容量瓶中，用真空干燥器在  $40\sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  干燥，残留物用 1~2 ml 去离子水溶解，再干燥，反复进行两次，最后蒸干，用 1 ml pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲液溶解，用 Bichrom 20 氨基酸全自动分析仪测定样品的氨基酸。

把用于游离氨基酸分析的样品放入 10 ml 离心管中，加入 1.0 ml (0.01 mol/L) 盐酸溶液，超声 2 h，再加入 10% 的磺基水杨酸 1.0 ml，混合均匀后在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  环境中静置 1 h，12 000 r/min 离心 20 min，过  $0.22\text{ }\mu\text{m}$  的滤膜得到待测样品，用 Bichrom 20 氨基酸全自动分析仪测定样品的游离氨基酸。

3 个平行组的样品分别测定。蛋白质含量的数据采用 SPSS 17.0 软件进行方差分析， $P < 0.05$  即认为有显著性差异。总氨基酸和游离氨基酸数据的处理是利用统计学方法计算各时期含量的平均值（Mean）、标准差（SD）和变异系数（coefficient of variation, CV）。

## 2 结果

### 2.1 蛋白质含量的变化

在河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中，其蛋白质含量总体呈下降趋势（图 1），方差分析表明，蛋白质含量在不同发育时期的变化显著（ $P < 0.05$ ）。受精卵期的蛋白含量最高，为  $(0.547 \pm 0.011)\text{ mg/卵}$ ；在卵裂期和囊胚期，其蛋白质含量降低的幅度较大；之后，胚胎的蛋白质含量继续下降；从眼黑色素出现期开始，其蛋白质的含量急剧下降，至仔鱼孵出时，仔鱼个体的蛋白质含量已降低到  $(0.338 \pm 0.015)\text{ mg/尾}$ 。仔鱼孵出后，一直处于饥饿状态，其蛋白质含量继续下降，孵出后 8 d 时仔鱼的蛋白质含量已下降至  $(0.259 \pm 0.011)\text{ mg/尾}$ 。而从孵出后第 2 天就开始投喂枝角类的仔鱼，待生长到孵出后 8 d 时，其蛋白质含量已恢复到  $(0.396 \pm 0.012)\text{ mg/尾}$ 。

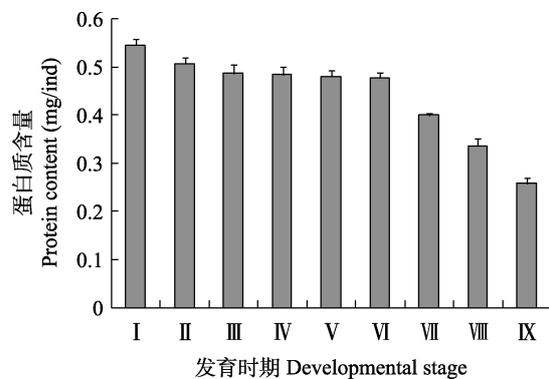


图 1 河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中蛋白质含量的变化

Fig. 1 Variation in protein content during embryonic and larval development of *Odontobutis potamophila*

I. 受精卵；II. 卵裂期；III. 囊胚期；IV. 原肠期；V. 眼晶体形成期；VI. 眼黑色素出现期；VII. 孵化前期；VIII. 孵出后 1 d 仔鱼；IX. 孵出后 8 d 仔鱼。

I. Fertilized egg; II. Cleavage stage; III. Blastula stage; IV. Gastrula stage; V. Lens formation stage; VI. Eye pigmentation stage; VII. Prehatching stage; VIII. 1 day after hatching; IX. 8 days after hatching.

## 2.2 总氨基酸库的变化

河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中总氨基酸组成和含量的变化见表 1。在胚胎和仔鱼的发育过程中, 个体总的氨基酸含量呈现出连续下降的趋势, 即受精卵的总氨基酸含量最高, 之后逐渐下降, 直到原肠期; 原肠期之后, 个体的总氨基酸含量急剧下降, 直到孵出后 1 d 仔鱼; 在仔鱼发育过程中, 仔鱼处于饥饿状态, 其总氨基酸含量继续急剧下降, 至孵出后 8 d 的仔鱼, 其总氨基酸含量仅为 0.198 mg/尾。

在所有检测的氨基酸中, 除色氨酸 Trp 在样品的水解过程中被破坏外, 共检测到 17 种氨

基酸, 其中有必需氨基酸(essential amino acids, EAA) 9 种, 非必需氨基酸(non-essential amino acids, NEAA) 8 种。

在胚胎和仔鱼发育的各个时期, 个体的总必需氨基酸含量及其大部分必需氨基酸的含量也都呈下降的趋势(表 1)。受精卵的总必需氨基酸含量较高, 之后逐渐下降; 原肠期之后, 个体的总必需氨基酸含量急剧下降, 到眼晶体形成期时, 为 0.196 mg/卵, 至孵出后 8 d 的饥饿仔鱼, 其总必需氨基酸含量已下降到最低。各种必需氨基酸中, 亮氨酸 Leu 和赖氨酸 Lys 的含量最高, 9 个发育时期的平均含量分别为

表 1 河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中总氨基酸组成与含量的变化

Table 1 Variation in composition and content of total amino acids at different embryonic and larval development stages of *Odontobutis potamophila* (mg/ind)

氨基酸 Amino acids	胚胎、仔鱼发育时期 Embryonic and larval development stages									平均值 Mean	标准差 Standard deviation (SD)	变异系数 Coefficient of variation (CV)
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX			
苏氨酸 Threonine*	0.025	0.024	0.023	0.024	0.020	0.020	0.016	0.011	0.010	0.019	0.006	29.52
缬氨酸 Valine*	0.040	0.036	0.036	0.035	0.024	0.030	0.026	0.020	0.013	0.029	0.009	30.64
蛋氨酸 Methionine*	0.010	0.006	0.012	0.012	0.009	0.009	0.008	0.005	0.004	0.008	0.003	34.47
异亮氨酸 Isoleucine*	0.033	0.032	0.031	0.031	0.018	0.025	0.018	0.013	0.009	0.023	0.009	38.87
亮氨酸 Leucine*	0.054	0.051	0.048	0.047	0.039	0.041	0.031	0.026	0.018	0.039	0.012	30.92
苯丙氨酸 Phenylalanine*	0.021	0.022	0.023	0.022	0.016	0.018	0.014	0.010	0.009	0.017	0.005	30.83
赖氨酸 Lysine*	0.041	0.040	0.039	0.038	0.033	0.032	0.026	0.022	0.018	0.032	0.008	26.12
组氨酸 Histidine <sup>+</sup>	0.018	0.018	0.018	0.017	0.011	0.014	0.012	0.007	0.005	0.013	0.005	37.12
精氨酸 Arginine <sup>+</sup>	0.037	0.036	0.035	0.035	0.026	0.029	0.023	0.016	0.013	0.028	0.009	32.24
ΣTEAA	0.281	0.270	0.265	0.260	0.196	0.218	0.174	0.131	0.099			
天冬氨酸 Aspartic acid	0.043	0.042	0.040	0.040	0.034	0.035	0.029	0.022	0.019	0.034	0.009	25.88
丝氨酸 Serine	0.030	0.028	0.026	0.028	0.026	0.022	0.017	0.012	0.009	0.022	0.008	34.54
谷氨酸 Glutamic acid	0.054	0.052	0.050	0.049	0.043	0.044	0.017	0.030	0.029	0.041	0.013	31.04
甘氨酸 Glycine	0.014	0.014	0.013	0.013	0.010	0.012	0.038	0.011	0.012	0.015	0.009	56.78
丙氨酸 Alanine	0.031	0.030	0.029	0.029	0.024	0.024	0.013	0.015	0.012	0.023	0.008	33.40
半胱氨酸 Cysteine	0.012	0.012	0.012	0.011	0.009	0.009	0.019	—	—	0.012	0.003	28.05
酪氨酸 Tyrosine	0.026	0.025	0.025	0.024	0.019	0.020	0.015	0.011	0.008	0.019	0.007	34.29
脯氨酸 Proline	0.032	0.026	0.027	0.025	0.023	0.021	0.017	0.010	0.011	0.021	0.007	34.68
ΣTNEAA	0.242	0.229	0.222	0.219	0.188	0.188	0.165	0.111	0.099			
ΣTAA	0.523	0.499	0.487	0.479	0.384	0.406	0.339	0.242	0.198			

\* 必需氨基酸; + 半必需氨基酸; — 未检测出; ΣTEAA. 总必需氨基酸; ΣTNEAA. 总非必需氨基酸; ΣTAA. 总氨基酸。

\* Essential amino acid; + Semi-essential amino acid; — means not detected; ΣTEAA. Total essential amino acids; ΣTNEAA. Total non-essential amino acids; ΣTAA. Total amino acids.

0.039 mg/卵和 0.032 mg/卵, 占总氨基酸含量的比例分别为 9.87%和 8.10%; 蛋氨酸 Met 的含量最低, 仅为 0.008 mg/卵, 占总氨基酸含量的比例为 2.03%。各种氨基酸的变异系数都较大, 其范围为 26.12%~38.87%。

个体的总非必需氨基酸含量和大部分非必需氨基酸的含量也呈逐渐下降的趋势(表 1)。受精卵的总非必需氨基酸含量较高, 之后也逐渐下降; 原肠期之后, 个体的总非必需氨基酸含量亦急剧下降, 至孵出后 8 d 的饥饿仔鱼, 其总非必需氨基酸含量下降到最低。各种非必

需氨基酸中, 谷氨酸 Glu 和天冬氨酸 Asp 的含量最高, 9 个发育时期的平均含量分别达到 0.041 mg/卵和 0.034 mg/卵, 占总氨基酸含量的比例分别为 10.38%和 8.61%; 半胱氨酸 Cys 的含量最低, 平均含量为 0.012 mg/卵, 占总氨基酸含量的 3.03%。甘氨酸 Gly 的变异系数最大, 为 56.78%, 其余 7 种非必需氨基酸的变异系数范围为 25.88%~34.68%。

### 2.3 游离氨基酸库的变化

河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中游离氨基酸组成和含量的变化见表 2。与总氨基酸含

表 2 河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中游离氨基酸组成与含量的变化

Table 2 Variation in composition and content of free amino acids during embryonic and larval development of *Odontobutis potamophila* (mg/ind)

氨基酸 Amino acids	胚胎、仔鱼发育时期 Embryonic and larval development stages									平均值 Mean	标准差 Standard deviation (SD)	变异系数 Coefficient of variation (CV)
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX			
苏氨酸 Threonine*	0.027	0.027	0.030	0.075	0.219	0.414	0.511	0.685	0.114	0.234	0.245	104.85
缬氨酸 Valine*	0.052	0.054	0.052	0.082	0.324	0.234	0.717	0.779	0.337	0.292	0.283	96.76
蛋氨酸 Methionine*	0.006	0.015	0.017	0.023	0.151	0.004	0.284	0.246	0.356	0.122	0.140	114.36
异亮氨酸 Isoleucine*	0.051	0.041	0.039	0.058	0.246	0.479	0.494	0.469	0.455	0.259	0.214	82.54
亮氨酸 Leucine*	0.067	0.055	0.050	0.065	0.233	0.629	0.804	0.780	0.743	0.381	0.348	91.33
苯丙氨酸 Phenylalanine*	0.072	0.098	0.113	0.124	0.326	0.450	0.332	0.397	0.454	0.263	0.160	60.69
赖氨酸 Lysine*	0.030	0.028	0.032	0.138	0.511	1.008	1.166	1.013	1.497	0.603	0.576	95.66
色氨酸 Tryptophan*	0.037	0.018	0.025	0.036	0.114	0.201	0.111	0.099	0.102	0.083	0.059	71.92
组氨酸 Histidine <sup>+</sup>	0.007	0.009	0.011	0.029	0.131	0.480	0.589	0.611	0.677	0.283	0.298	105.25
精氨酸 Arginine <sup>+</sup>	—	0.005	—	0.015	—	—	0.055	0.436	0.126	0.071	0.143	202.39
ΣFEAA	0.350	0.351	0.367	0.646	2.254	3.900	5.064	5.514	4.861			
天冬氨酸 Aspartic acid	0.045	0.056	0.058	0.074	0.404	0.749	0.253	0.769	0.257	0.296	0.290	97.77
丝氨酸 Serine	0.032	0.039	0.037	0.087	0.395	0.717	0.271	0.692	0.054	0.258	0.282	109.25
谷氨酸 Glutamic acid	0.078	0.093	0.102	0.126	0.387	0.702	0.943	0.802	1.210	0.494	0.431	87.33
甘氨酸 Glycine	0.063	0.074	0.073	0.085	0.145	0.156	0.438	0.362	0.479	0.208	0.169	81.22
丙氨酸 Alanine	0.077	0.084	0.083	0.089	0.180	0.265	0.930	0.748	0.889	0.372	0.371	99.86
半胱氨酸 Cysteine	0.106	0.027	0.028	0.025	0.051	0.899	0.018	—	0.051	0.134	0.288	215.46
酪氨酸 Tyrosine	0.077	0.088	0.089	0.126	0.202	0.356	0.116	0.444	0.470	0.219	0.161	73.41
脯氨酸 Proline	—	0.162	0.153	0.123	0.440	0.930	1.646	0.828	1.024	0.590	0.552	93.65
ΣFNEAA	0.478	0.624	0.622	0.735	2.204	4.773	4.615	4.645	4.434			
ΣFAA	0.828	0.975	0.989	1.381	4.458	8.673	9.679	10.159	9.295			

\* 必需氨基酸; + 半必需氨基酸; — 未检测到; ΣFEAA. 游离必需氨基酸; ΣFNEAA. 游离非必需氨基酸; ΣFAA. 游离氨基酸。  
\* Essential amino acid; + Semi-essential amino acid; — means not detected; ΣFEAA. Free essential amino acids; ΣFNEAA. Free non-essential amino acids; ΣFAA. Free amino acids.

量的变化趋势不同，整个胚胎发育过程中，游离氨基酸的含量逐渐升高；仔鱼发育过程中，在未投放饵料的条件下，孵出后 8 d 仔鱼的游离氨基酸含量稍低于孵出后 1 d 的仔鱼。在胚胎发育阶段，受精卵的游离氨基酸总含量最低，占总氨基酸含量的 0.16%，之后逐渐上升，直到原肠期；原肠期之后，个体的游离氨基酸总含量急剧上升，到眼晶体形成期时，其游离氨基酸总含量占总氨基酸含量的 1.16%，至孵出后 1 d 的仔鱼，其游离氨基酸总含量达到最高，占总氨基酸含量的比例达到 4.20%；在仔鱼发育阶段，个体游离氨基酸总含量又稍有下降，直到孵出后 8 d 的饥饿仔鱼，其游离氨基酸总含量仅为 9.295  $\mu\text{g}/\text{尾}$ ，占总氨基酸含量的 4.69%。

检测到游离氨基酸 18 种，其中必需氨基酸 (EAA) 10 种，非必需氨基酸 (NEAA) 8 种。

在胚胎和仔鱼发育过程中，个体的游离必需氨基酸总含量和大部分必需氨基酸的含量变化见表 2，呈现出胚胎发育过程中逐渐升高，而仔鱼发育过程中稍有降低的趋势。10 种游离的必需氨基酸中，赖氨酸 Lys 的含量最高，9 个发育时期的平均含量为 0.603  $\mu\text{g}/\text{卵}$ ，占游离氨基酸总量的 11.69%，其次是亮氨酸 Leu，平均含量为 0.381  $\mu\text{g}/\text{卵}$ ，占游离氨基酸总量的 7.38%。精氨酸 Arg 的含量最低，仅为 0.071  $\mu\text{g}/\text{卵}$ ，占游离氨基酸总量的比例为 1.38%。各种氨基酸的变异系数都非常大，除精氨酸 Arg 外的其他 9 种必需氨基酸的变异系数范围为 60.69% ~ 114.36%。

个体游离的非必需氨基酸总含量和大部分非必需氨基酸的含量也呈现出胚胎发育过程中逐渐升高，而仔鱼发育过程中稍有降低的趋势 (表 2)。8 种游离的非必需氨基酸中，脯氨酸 Pro 和谷氨酸 Glu 的含量最高，各发育时期的平均含量分别为 0.590  $\mu\text{g}/\text{卵}$  和 0.494  $\mu\text{g}/\text{卵}$ ，占游离氨基酸总量的比例分别为 11.43% 和 9.57%。半胱氨酸 Cys 的含量最低，为 0.134  $\mu\text{g}/\text{卵}$ ，占游离氨基酸总量的比例为 2.60%。各种氨基酸

的变异系数也都非常大，除半胱氨酸 Cys 外的其他 7 种非必需氨基酸的变异系数范围为 73.41% ~ 109.25%。

### 3 讨论

#### 3.1 蛋白质含量与总氨基酸库的变化

在胚胎和仔鱼发育过程中，其卵黄蛋白被水解成氨基酸，从而为胚胎的组织分化和器官发生提供原料，同时也为胚胎的发育提供能量。在河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中，其总蛋白质的含量呈下降趋势，这与河川沙塘鳢胚胎发育过程中可溶性蛋白含量逐渐降低的变化趋势相似 (胡先成等 2008a)。在受精后的卵裂期，蛋白质含量明显降低，从眼黑色素出现期开始，其蛋白质的含量急剧下降，直至孵出后 1 d 的仔鱼，在整个胚胎发育过程中，其蛋白质含量降低了 38.21%；在仔鱼发育过程中，其蛋白质含量继续急剧下降。受精后，胚胎开始启动细胞分裂和组织分化，需要消耗较多能量，导致受精后卵裂期和囊胚期蛋白质含量的明显降低；在眼黑色素出现期，胚胎的组织分化和器官发生处于快速发展阶段，胚胎的代谢耗能急剧增长，从而导致其蛋白质含量急剧下降，也说明河川沙塘鳢的胚胎发育过程中，首先是以卵黄蛋白作为代谢的能量来源，其次才是脂类 (胡先成等 2008b)；从孵出后直到 8 d 的仔鱼，尽管脂类成为代谢的主要能量来源 (胡先成等 2008b)，但由于没有投喂饵料，仔鱼处于饥饿状态，也导致一些蛋白质被分解用于维持其基本的生命活动，蛋白质含量继续下降，降低至  $(0.259 \pm 0.011) \text{ mg}/\text{尾}$ 。而从孵出后第 2 d 的仔鱼开始投饵，到第 8 d 的仔鱼已经完成了开口摄食 (胡先成等 1996)，在蛋白质含量继续下降一段时间后便逐渐恢复，达到了  $(0.396 \pm 0.012) \text{ mg}/\text{尾}$ 。

在河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中，总氨基酸含量呈现出连续下降的趋势，而且在胚胎发育后期也呈现出急剧下降的状况，这与其蛋白质含量的变化趋势一致；而总脂类在胚胎

发育过程中并没有呈现出这样的变化趋势（胡先成等 2008b）。总氨基酸含量的连续下降也见于其他海洋和淡水鱼类的胚胎和仔鱼发育过程中（Srivastava et al. 1995, Gunasekera et al. 1999, 2000）。河川沙塘鳢与大西洋鲑（*Salmo salar*, Srivastava et al. 1995）、突吻麦鲱（*Maccullochella macquariensis*）及虫纹麦鲱（*M. peelii*）（Gunasekera et al. 1999）和许氏平鲷（*Sebastes schlegelii*）（韩慧宗等 2019）一样，在其胚胎发育过程中，优先选择蛋白质作为主要的能源物质。

在河川沙塘鳢胚胎和仔鱼发育过程中，必需氨基酸和非必需氨基酸的变异系数相对较大，其含量变化也较大，但总体呈下降趋势，与总氨基酸含量的变化趋势大致相近。在所检测的必需氨基酸中，亮氨酸 Leu 和赖氨酸 Lys 的含量最高。这是因为在生物体的代谢中，二者均可分解成乙酰辅酶 A 和乙酰乙酸，它们是沟通糖类与脂类代谢的重要中间物质（沈同等 1990）。河川沙塘鳢胚胎和仔鱼的非必需氨基酸中谷氨酸 Glu 含量最高，半胱氨酸 Cys 含量最低。这是因为 Glu 可与水产动物的蛋白代谢物  $\text{NH}_3$  结合，经谷氨酰胺酶分解成游离  $\text{NH}_3$  排出体外；另外，Glu 在酶的催化下，可生成相应的  $\alpha$ -酮戊二酸，而  $\alpha$ -酮戊二酸又是三羧酸循环的关键中间代谢产物。Glu 很可能在胚胎发育时期沟通糖、脂、核酸、蛋白质代谢的三羧酸循环反应中比较活跃（沈同等 1990, 张明凤等 2005），因此含量最高。Cys 的巯基是一种不太稳定的基团，反应性能高，在胚胎发育的各种代谢活动中，或在氨基酸测定的过程中易转化成其他物质。因此 Cys 的变异系数较大且与总氨基酸的相关性不明显，很可能与其自身的特点有关。

### 3.2 游离氨基酸库的构建及其变化

各种鱼类，其受精卵的游离氨基酸占总氨基酸的比例差异很大。河川沙塘鳢受精卵游离氨基酸的含量为  $0.828 \mu\text{g}/\text{卵}$ ，仅占总氨基酸含量的 0.16%，这与 Gunasekera 等（1999）发现

的淡水鱼类突吻麦鲱和虫纹麦鲱受精卵的游离氨基酸占总氨基酸的比例为 0.19% 相近；而比尼罗罗非鱼（*Oreochromis niloticus*）（Gunasekera et al. 1996）、褐菖鲈（*Sebastes marmoratus*）（郭春阳等 2016）、大西洋鲑（Srivastava et al. 1995）和许氏平鲷（韩慧宗等 2019）都低，它们受精卵的游离氨基酸占总氨基酸的比例分别为 0.5%、1.4%、2% 和 2.37%。产浮性卵的海洋鱼类，其卵的游离氨基酸占总氨基酸的比例较高，在 20% ~ 50% 之间变化；产沉性卵的海洋鱼类，其卵的游离氨基酸占总氨基酸的比例仅为 2% ~ 3%（Rønnestad et al. 1993）。

在产浮性卵的海洋鱼类的卵母细胞成熟过程中，其大量的卵黄蛋白水解为氨基酸，从而构建成一个很大的游离氨基酸库，这有助于调节卵的渗透压，使得卵大量吸水膨胀而降低其比重，保持卵的浮性；同时，游离氨基酸库也是其胚胎和仔鱼发育过程中代谢的能量源（Fyhn 1989, Rønnestad et al. 1993），因此，在产浮性卵的海洋鱼类的胚胎和仔鱼发育过程中，其游离氨基酸的含量逐渐降低。而淡水鱼类与海洋鱼类不同，其卵的游离氨基酸库很小，这与其所处的低渗环境有关，不需要大量的游离氨基酸来调节卵的渗透压；然而，在淡水鱼类的胚胎和仔鱼发育过程中，受精卵很小的游离氨基酸库不能满足胚胎发育过程中组织器官发生和代谢耗能的需要，胚胎必须促进卵黄蛋白的水解，从而形成更大的游离氨基酸库，为进一步的形态建成和能量代谢做好准备，因此，在绝大多数淡水鱼类的胚胎和仔鱼发育过程中，其游离氨基酸的含量是逐渐升高的（Gunasekera et al. 1999）。与其他淡水鱼类一样，河川沙塘鳢的卵也构建了一个很小的游离氨基酸库，而且在胚胎和仔鱼发育期间，其游离氨基酸库呈现出一个动态的变化过程，其含量从受精卵的  $0.828 \mu\text{g}/\text{卵}$ ，增长到孵出后 1 d 仔鱼的  $10.159 \mu\text{g}/\text{尾}$ ，占总氨基酸的比例从 0.16% 增长到 4.2%。游离氨基酸的这种增长趋

势, 也说明在发育过程中, 其卵黄蛋白水解产生的氨基酸超过了由于同化和异化作用所消耗的氨基酸 (Srivastava et al. 1995)。这也有助于保障组织分化和器官发生过程中的蛋白质合成作用所需要的氨基酸供应, 从而促进胚胎和仔鱼发育; 此外, 逐渐增长的游离氨基酸库也使得仔鱼具备了一定的渗透压调节潜能, 以应对孵出后可能面临的新的水体环境 (Gunasekera et al. 1999)。在河川沙塘鳢的仔鱼发育过程中, 为了揭示鱼体本身的氨基酸组成, 从而确定开口饲料中可消化吸收的氨基酸比例, 没有给卵黄囊期的仔鱼投饵。卵黄基本耗尽的仔鱼, 其游离氨基酸库不能再通过卵黄蛋白的水解来得到补充, 而进一步的形态建成和生命代谢又需要利用一部分游离氨基酸, 从而使得游离氨基酸的含量有所降低, 至孵出后 8 d 仔鱼的游离氨基酸含量降低到 9.295  $\mu\text{g}/\text{尾}$ 。

在河川沙塘鳢的胚胎和仔鱼发育过程中, 各种游离氨基酸的变异系数很大, 说明各种游离氨基酸的含量极不稳定, 随着胚胎及仔鱼的发育产生急剧的变化, 从受精卵到孵出后 1 d 的仔鱼, 各种游离氨基酸的含量增长了 3 ~ 86 倍不等。可能是因为在胚胎和仔鱼发育过程中, 随着特定组织、器官的发育, 对于不同游离氨基酸的需求是不一致的。

## 参 考 文 献

- Fyhn H J. 1989. First feeding of marine fish larvae: are free amino acids the source of energy. *Aquaculture*, 80: 111–120.
- Gunasekera R M, De Silva S S, Ingram B A. 1999. The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquariensis* and Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquatic Living Resources*, 12(4): 255–261.
- Gunasekera R M, De Silva S S. 2000. The amino acid profiles of estuary perch, *Macquaria colonorum*, during early development at different salinities. *Aquatic Living Resources*, 13(3): 153–162.
- Gunasekera R M, Shim K F, Lam T J. 1996. Influence of protein content of broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 146: 245–259.
- Rønnestad I, Fyhn H J. 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine eggs and larvae. *Reviews in Fisheries Science*, 1(3): 239–259.
- Srivastava R K, Brown J A, Shahidi F. 1995. Changes in the amino acid pool during embryonic development of cultured and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 131: 115–124.
- 郭春阳, 林少珍, 巩建华, 等. 2016. 褐菖鲉 (*Sebastes marmoratus*) 受精卵以及仔鱼期氨基酸与脂肪酸变化研究. *海洋与湖沼*, 47(1): 173–181.
- 韩慧宗, 王腾腾, 张明亮, 等. 2019. 许氏平鲈发育早期的氨基酸与脂肪酸组成及变化. *水生生物学报*, 43(3): 526–536.
- 胡先成. 2007. 河川沙塘鳢早期发育过程中的器官发生、营养代谢及其能量收支. 上海: 华东师范大学博士学位论文, 26–68.
- 胡先成, 罗颖, 赵云龙, 等. 2008a. 河川沙塘鳢胚胎发育过程中可溶性蛋白组成及含量的变化. *淡水渔业*, 38(1): 20–22.
- 胡先成, 孙帼英. 1996. 河川沙塘鳢消化系统的发育及仔、稚、幼鱼摄食的研究. *上海水产大学学报*, 5(2): 75–82.
- 胡先成, 赵云龙. 2007a. 河川沙塘鳢视觉器官的发育及其与摄食的关系. *动物学杂志*, 42(5): 41–48.
- 胡先成, 赵云龙. 2008b. 河川沙塘鳢胚胎、仔鱼发育过程中脂类含量及脂肪酸组成的变化. *淡水渔业*, 38(3): 46–50.
- 胡先成, 周忠良, 赵云龙, 等. 2007b. 河川沙塘鳢孵化腺的发生及孵化酶的分泌. *动物学报*, 53(3): 511–518.
- 黄旭雄, 冯隆峰, 温文, 等. 2013. 日本鬼鲉胚胎及卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪及脂肪酸特性变化. *水产学报*, 37(4): 526–535.
- 马爱军, 雷霖霖, 孙颺, 等. 2000. 真鲷胚胎及胚后发育各阶段氨基酸组成的研究. *中国水产科学*, 7(1): 113–115.
- 沈同, 王镜岩. 1990. 生物化学. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 74–79.
- 施永海, 刘永士, 严银龙, 等. 2019. 刀鲚胚胎及胚后发育早期脂肪酸组成变化. *动物学杂志*, 54(3): 414–424.
- 谢仰杰, 孙帼英. 1996. 河川沙塘鳢的胚胎和胚后发育以及温度对胚胎发育的影响. *厦门水产学院学报*, 18(1): 55–62.
- 张明凤, 赵云龙, 赵艳民, 等. 2005. 隆线蚤夏卵胚胎发育过程中形态及蛋白质、氨基酸组成和含量的变化. *水产学报*, 29(6): 783–790.