

乌龟胚胎发育过程中钙、镁代谢的研究

由文辉 王培潮

(华东师范大学生物系 上海 200062)

摘要 本文对乌龟胚胎发育过程中的钙、镁代谢特征进行了研究。结果表明:卵壳为乌龟胚胎发育提供54.07%的钙、12.26%的镁;其余的45.93%钙、87.74%的镁由卵内容物(卵黄+卵清)提供。

关键词 乌龟,胚胎发育,钙,镁代谢

爬行动物胚胎在发育过程中所需要的钙、镁元素由卵黄+卵清(以下统称为卵内容物)和卵壳提供,但在不同种动物中,这两部分对胚胎发育的贡献有所不同^[1-2]。龟鳖类、鳄类同鸟类相类似,其卵内容物中所含钙量不足以满足胚胎的正常发育,胚胎尚需自卵壳中吸收一部分钙^[3]。而蜥蜴、蛇等有鳞类爬行动物胚胎发育过程中所需钙完全来自于卵内容物(主要是卵黄)^[4-5]。一般说来,卵壳提供的钙量与其钙化程度正相关^[6-7]。在以往的报道中,有关镁的代谢情况提及甚少^[8-9],据此本文除研究乌龟(*Chinemys reevesii*)胚胎发育过程中的钙代谢,还对镁代谢进行了初步探讨。

1 材料和方法 实验用乌龟卵购自上海市奉贤县齐贤水产养殖场。实验进行时间为1989年6月至10月。根据卵壳的颜色判断产卵日期^[10],本实验选用产下3天内的卵孵化。于孵化前,称量卵鲜重,编号,并随机取卵10枚,分离卵壳和卵内容物(不区分卵黄和卵清)。卵壳内表面用无离子水冲洗干净,计录无离子水用量,然后用吸水纸吸干卵壳表面,称重。冲洗液与卵内容物一起称重,减去所用无离子水的重量后即为卵内容物的鲜重。取50枚卵半埋在沙盘内孵化,沙盘上方用遮光纸盖严。沙盘水分含量为10%(重量比),空气相对湿度为90%。沙盘中的沙子在用前用蒸馏水及无离子水漂洗干净,并在105℃烘箱中烘烤48小时,用无离子水调节沙

盘含水量。孵化期间,沙盘每周称重二次,用无离子水补充水耗量。孵化温度为 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。仔龟孵化后,及时收集仔龟及其卵壳,擦净、吸干,并称鲜重,冰冻(-12°C)杀死仔龟。以上收集的样品均在 60°C 烘箱中烘烤48小时,称干重后,置于盛有硅胶的干燥器中备用。

钙、镁含量测定:取上述烘干样品,先在高温电炉(600°C)内灰化,冷却后加10%(体积比)盐酸20毫升,缓缓煮沸10分钟,过滤,以热水洗涤3次。滤液及洗液合并后,加10%(重量比)的氢氧化钠溶液调至弱碱性($\text{pH} = 7.5$ 左右)。钙、镁含量测定使用EDTA络合滴定法^[11]。

2 结果 本实验用乌龟卵平均鲜重为8.3905克($n = 10$),卵内容物和卵壳分别占87.72%和12.28%,它们的含水量分别为72.69%、78.79%和29.11%。龟卵孵化期为55天(52—59天),孵化率为88%。孵化后,卵壳干重平均减少5.9毫克($n = 10$),含水量为27.91%;仔龟鲜重占卵鲜重的60.55%,含水量为76.59%。

2.1 卵壳、卵内容物和仔龟中的钙含量 孵化前后,卵壳中钙含量分别占其干重的31.09%和25.30%,换算成碳酸钙含量则分别为77.72%和63.25%。仔龟孵化后,卵壳中的钙减少了43.8毫克/只(见表1),经方差检验,差异显著($p < 0.05$)。卵内容物和仔龟的钙含量分别为15.6734毫克/只和34.1210毫克/只(见表1)。

表1 乌龟卵壳,卵内容物及仔龟钙,镁含量(毫克/只, n = 10)

含量	样品	卵壳		卵内容物	仔龟
		孵化前	孵化后		
钙		227.1±19.2	183.3±29.05	15.6734±4.67	34.1210±1.04
镁		1.629±0.144	0.985±0.145	2.0138±0.406	2.2953±0.547

分别占其干重的1.004%和2.869%。

孵化后,卵内容物全部为仔龟吸收,因此仔龟体内的钙约有45.93%(15.6734毫克)由卵内容物提供,其余部分(54.07%)由卵壳提供,约为18.4476毫克/只,占卵壳于孵化前后钙减少总量的42.12%。

2.2 卵壳、卵内容物和仔龟中的镁含量 孵化前后,卵壳镁含量分别为0.223%和0.136%,换算成碳酸镁含量分别为0.7805%和0.476%。在整个孵化过程中,卵壳中的镁约减少0.6435毫克/只,经方差检验,差异显著($p < 0.05$)。卵内容物和仔龟中的镁含量分别为0.129%和0.193%,相当于2.0138毫克/只和2.2953毫克/只(见表1),前者占后者的87.74%。仔龟体内其余的12.26%镁(约为0.2814毫克)来源于卵壳,约占孵化前后卵壳中镁减少总量的43.74%。

3 讨论 以往的研究表明,龟鳖类、鳄类和鸟类胚胎发育过程中所需要钙有50%—80%来自于卵壳^[1,9,10]。乌龟与此类似,卵壳也是其胚胎发育的重要钙源,提供了钙总需求量的54.07%,占孵化前卵壳钙含量的8.12%,约为卵内容物提供胚胎钙量的1.177倍。因此说,仅在钙源方面卵壳对乌龟胚胎的正常发育就是不可缺少的。鸡胚的去壳培养(Chick embryos shell-less culture)结果表明:在孵化开始的10天内,鸡胚外表发育正常,但最后仅有少数能够孵出,并且这些雏鸡都具有不同程度的异常^[2]。Dunn等人^[3]认为,造成雏鸡畸形的原因可能包括:除壳(1)改变了胚胎张力(Embryonic tensile forces),减少了对胚胎的束缚和侧压;(2)矿物质缺乏;(3)卵清吸收不充分;(4)气体交换异常和(5)湿度过高。如果将卵壳连同壳膜一起放在去卵壳培养胚胎的绒毛膜尿囊膜上,则可恢复胚胎的矿化作用^[4]。半壳培养(Semi-

shell-less culture)密西西比鳄(*Alligator mississippiensis*)亦可孵出正常幼鳄^[11]。该项技术是否亦适用于乌龟,尚有待于进一步研究。在本项研究中发现,卵壳损坏的乌龟卵无一孵出仔龟,可能就是由于上述(10)、(6)原因造成的。

孵化前后乌龟卵壳的钙减少总量中仅有42.12%为胚胎发育所吸收,其余的57.88%钙可能是由于卵壳在空气中二氧化碳或沙盘中酸的作用下,自壳中浸出而损耗。顾浩等人在对扬子鳄(*A. sinensis*)卵壳的研究中,证实了这种化学作用的存在^[8]。

乌龟仔龟中的镁87.74%由卵内容物提供,卵壳仅提供了12.26%,前者为后者的7.157倍。与钙源的情况相反,卵内容物是乌龟胚胎发育的主要镁源。卵内容物、仔龟以及孵化前后卵壳中镁、钙含量之比分别为12.85%、6.73%、0.72%和0.54%。由于化学作用,卵壳中镁的损失率约为0.3620毫克/只,约占孵化前后卵壳中镁减少总量的56.26%。与钙的损失率(57.88%)相近,说明两者可能以相近的比例自卵壳中浸出而损失掉。

卵生脊椎动物胚胎的骨骼发育主要发生于孵化期的后半部分,因此在孵化期的前半部分,胚胎的钙代谢很缓慢,在以后的一半时间内,钙代谢急剧上升^[1,5,7]。至于乌龟胚胎钙、镁代谢随时间变化的规律问题,还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 Packard M. J. and G. C. Packard, Comparative aspects of calcium metabolism in embryonic reptiles and birds. In: Respiration and Metabolism in Embryonic Vertebrates. R. S. Seymour, ed. 1984, 155—179. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- 2 Packard M. J. and G.C. Packard. The effect of water balance of eggs on growth and calcium metabolism of embryonic painted turtles (*Chryse-*

- mys picta*). *Physiol. Zool.*, 1986, 59:398—405.
- 3 Duan B.E. and M.A. Boone. Growth and mineral content of cultured chick embryos. *Poult. Sci.*, 1977, 56:662—672.
 - 4 Jenkins N.K. and K. Simkiss. The calcium and phosphate metabolism of reproducing reptiles with particular reference to the adder (*Vipera berus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 1968, 26:865—876.
 - 5 Simkiss K. Calcium in Reproductive Physiology. Reinhold, New York, 1967.
 - 6 Clark N.R. and K. Simkiss. Time, targets and triggers: a study of calcium regulation in the birds. In *Avian Endocrinology*, (ed. A. Epple), 1980. 191—208. London: Academic Press.
 - 7 Packard M. J. and G.C. packard. Sources of calcium and phosphorus during embryogenesis in bullsnakes (*Pituophis melanoleucus*). *J. Exp. Zool.*, 1988, 246:132—138.
 - 8 顾浩, 许秋华, 顾长明. 扬子鳄卵壳中镁、钙元素含量测定及其相关问题的讨论. *两栖爬行动物学报*, 1987, 6(1): 23—26.
 - 9 Jenkins N.K., Chemical composition of the eggs of the crocodile (*Crocodylus novaeguineae*) *Comp. Biochem. Physiol.*, 1975, 51A:891—895.
 - 10 Bustard H.R. *et al.* Some analyses of artificially incubated eggs and hatchlings of green and loggerhead sea turtles. *J. Zool. Lond.*, 1969, 158: 311—315.
 - 11 Ferguson M.W.J., The structure and composition of the eggshell and embryonic membranes of *Alligator mississippiensis*. *Trans. Zool. Soc. Lond.*, 1982, 36:99—152.