

鸡胚胎期蛋白营养吸收的研究*

张贵林 于文革

(齐齐哈尔师范学院生物系)

禽类的胚胎发育,主要在蛋内完成,其受精蛋是一个独立的自给自足的胚胎发育单位。胚胎发育的营养来源,除气体外均由蛋内供给。关于鸡胚胎期,鸡胚营养吸收的途径问题,派登(Patten)曾作过概略性的阐述,认为主要靠循环方式完成的。循环有3:即卵黄囊循环、尿囊

循环和胚内循环¹⁾。其卵黄囊循环和尿囊循环起主要作用,也易被人们所理解,然而对于处在

* 实验中得到齐齐哈尔市种禽场和齐齐哈尔市崖门种畜场孵化站的大力支持,深表谢意。

1) B. M. 派登: 1965 鸡的早期胚胎发育, 上海科技出版社, 106—124。

两囊之外，包在蛋白囊 (albumen sac) 内大量的蛋白又是怎样在很短的时期为鸡胚所吸收的呢？对于蛋白吸收的研究，无论在探索胚胎营养吸收规律还是对孵化期胚胎发育特点的研究，皆有理论和实践意义。

有关鸡胚营养吸收方面的研究，早在 1921 年维斯劳克 (Wislocki)、1949 年塞卡尔 (Sacur) 和泰勒 (Taylar) 用 Trypan Blue (锥虫兰)、Eraus' Blus (尹凡兰)、放射性铬化磷等，注于发育中的鸡胚羊膜腔内查其去向，注射两天后均在鸡胚血液和胚体内部发现了注射物质，这是较早对鸡胚胎期营养吸收的研究。近年拉格基娜 (Рагозина) 等也做了有关研究，刘文生在家禽胚胎期肺吸收营养功能的研究中也作过表述。对于鸡胚胎期蛋白的营养吸收研究所见报道不多。

1981 和 1982 年用齐齐哈尔市种禽场莱航星杂 288、日系卵用莱航和崔门种畜场卵用莱航种蛋，做了多批次试验，对孵化期蛋白量变化规律、蛋白营养吸收方式与途径，做了详细试验观察，现将有关蛋白营养吸收的试验结果整理如下。

试验材料和方法

试验用于蛋白量变化测定的鸡蛋四批 700 枚，试验用于蛋白吸收观察的鸡蛋两批 87 枚。各批次试验种蛋均在中型立体孵化器内进行孵化。孵化温度保持在 $37.8^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度为 55—60%，孵化器用自然通气，每隔 4 小时翻转蛋一次。

试验蛋打孔采用 6 毫米高速手枪式电钻，在孵化蛋水平静止 5 分钟后，尖端下方钻孔。蛋白追踪着色剂用食用国产红色素，配制成灭菌溶液。

纸上层析采用国产新华滤纸，展层用的有机溶剂系统为酸性溶剂系统，按正丁醇：甲酸：水 (15:3:2) 之比例配制而成，显色剂用 0.5% 苛三酮无水酒精溶液。

测试蛋白 pH 值用国产精密 pH 试纸。氨

基酸单向上行纸上层析按常规操作进行。

在试验过程中对每批蛋都重复观察和测定下列内容：

1. 用万分之一天秤，称测和换算蛋白所占比例和变化规律；
2. 每天抽取活胚蛋白液进行纸上氨基酸层析，观测其蛋白生物化学变化；
3. 通过向孵化活胚蛋白注入蛋白追踪着色剂，追踪和查明蛋白的吸收情况；
4. 在进行纸上氨基酸层析的同时，逐日测定活胚蛋白液生化性质的变化。

通过以上观察和测定，较系统地探讨了鸡胚胎期蛋白营养的吸收途径和有关规律。

鸡胚胎期蛋白的吸收

(一) 鸡胚胎期蛋白吸收情况的观察

1. 鸡胚蛋白液红色素的标记 从 9 日龄开始逐日注入 2% 灭菌食用红色素溶液。由于鸡卵列属于端黄卵类型，其动物极较植物极轻，胚盘始终位于卵黄的上端，这也是孵化过程中应该经常翻转蛋的原因。蛋白在孵化初期包在卵黄之外，随孵化日龄的增加胚胎和尿囊、浆膜的发育，水分逐渐渗入卵黄，蛋白渐渐浓缩体积变小，到中后期被挤至蛋的尖端一侧，因此在钻孔注入色素之前，应将孵化器蛋盘调至水平位置，经 5 分钟左右待胚胎移到蛋的上方钝端后，再开始钻孔才能准确的注入蛋白囊内。

每日各取 3 枚胚蛋，每枚注入 0.3 毫升红色素溶液，注完后即用消毒胶布封孔，做好标记和标号，放回孵化器内继续孵化。

2. 蛋白液吸收的追踪 由于蛋白注有食用红色素溶液，蛋白染成红色，通过着色蛋白液的去向，就可追踪、观察蛋白吸收的方式和吸收的时间。对注入色素后的鸡胚蛋每隔 6 或 12 小时剖检做观察、镜检、记录。

(二) 鸡胚孵化期间各日龄蛋白液生化的变化

逐日龄抽取蛋白液，进行氨基酸纸上层析，并测定其各日龄蛋白液的生化变化。

1. 样品的制备 逐日龄抽取活胚蛋白液。

白液，每枚蛋每次取蛋白液3毫升，将蛋白液经热水浴凝固再捣碎，然后加2毫升蒸馏水放入离心管中以3000—4000转/分转速离心，30分钟后取其上清液准备点样。

2. 氨基酸单向上行纸上层析 步骤如下：滤纸制作→点样→展层→显色。在操作中要失掉一部分非水溶性氨基酸，并且还可能使一部分水溶性氨基酸被凝固的蛋白质大分子吸附或包围，在制清溶液时不能得到全部的氨基酸是正常的。但当测定出水溶性游离氨基酸出现的时间，也就证实了恰是蛋白酶类开始活动的时间¹⁾，进而证明了有酶类的存在和酶类的活动。

(三) 鸡胚孵化期间各日龄蛋白生化性质的测定 在测定蛋白生物化学物质变化的同时，用精密pH试纸逐日龄测定蛋白液生物化学性质变化，以蛋白液pH值在孵化期间连续的变化规律和蛋白液生物化学物质的变化等综合分析，可较为系统地阐明了蛋白营养吸收的途径和实质。

结果及分析

通过试验观察和测定，蛋白的吸收是鸡胚发育到13日龄时，蛋白囊液经浆羊膜道进入羊膜腔内。蛋白囊的形成是胚胎发育到中后期，蛋白被卵黄囊和尿囊、浆膜褶包围和卵黄一样都被包在胚外膜内。由于着色蛋白的进入其羊膜腔液呈现红色，同时用双筒解剖镜检查鸡胚各器官，在嗉囊中观察到有红色色素的遗迹，在胃中发现有乳糜状色素块的沉积，随日龄增加而逐渐增多。因此证实，对蛋白营养的吸收除以卵黄囊、尿囊循环方式外，还有这种所谓“吞饮”的功能。对胚胎其它器官系统的检查，也证实了刘文生提及的肺在胚胎期也具有吸收作用，在气管和肺中也观察到有红色素的存在。通过氨基酸单向上行纸上层析确切观察，胚胎发育到11日龄时，开始出现水溶性游离氨基酸。也就是蛋白液开始进入羊膜腔内的前两天。

关于蛋白液在孵化期间生化性质的变化，通过对各日龄蛋白液pH值测定曲线变化的分析，其变化是较有规律的，一般都是在发育到

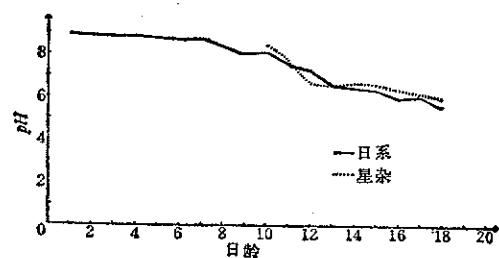


图1 鸡胚孵化期各日龄蛋白液pH值变化图

13天时，pH值逐渐达到6.5左右。测定蛋白囊液呈现弱酸性反应(见图1)。

蛋白液由碱性变弱酸性，是胚胎发育所导致的，尿囊浆膜血管网在蛋壳和内外壳膜之内，通过血管壁吸收氧、排出二氧化碳，二氧化碳在尿囊液中增多，使其碳酸量不断增加。另外其胚胎早期蛋白代谢产物主要是尿素，而中后期主要以尿酸形式排出，尿囊中尿酸含量逐渐增多，此时蛋白液呈其弱酸性反应，而弱酸性环境又为大多数酶类的活动创造了适宜的条件。

从试验结果可看出鸡胚发育到11天后，蛋白囊液生物化学性质发生明显变化，呈弱酸性反应。另外在同期氨基酸纸上层析时又测出了水溶性游离氨基酸的出现，证明鸡胚发育完成胚胎期3/5时蛋白酶类开始活动，并将蛋白水解成水溶性游离氨基酸，为消化和非消化系统(肺等)对蛋白营养的吸收创造了条件。因此在鸡胚发育到胚胎期后2/5时，是鸡胚集中“吞饮”大量蛋白，是进行营养吸收实验的依据。

结 论

综合以上结果，可得出如下结论：

1. 鸡胚在胚胎中后期，蛋白吸收除了以胚外卵黄囊、尿囊循环外，蛋白被卵黄囊、尿囊、浆膜褶所包围，和卵黄都被包在胚外膜内，通过膜被吸收、运转可由胚外循环到胚胎里。而更重要的是此期在酶类活动作用下，通过蛋白浆羊膜道进羊膜腔里，其胚胎有所谓“吞饮”蛋白进行营养吸收的功能。

1) 刘文生：1981。家禽胚胎期肺吸收营养功能研究；黑龙江八一农垦大学学报。

2. 随着胚胎的发育，气体代谢和物质代谢排出的二氧化碳和尿酸逐渐积累，使蛋白囊液呈弱酸性反应。由于蛋白囊液呈弱酸反应，pH值的降低有利于蛋白的水解，将其蛋白水解成氨基酸，创造了胚胎的消化和非消化系统(肺)对蛋白进行营养吸收的条件。

3. 鸡胚发育到胚胎期约 3/5 时，蛋白囊液呈弱酸性反应，蛋白酶类开始活动；蛋白囊液开始经浆羊膜道进入羊膜腔中，胚胎开始“吞饮”

蛋白。因此在胚胎期后 2/5 时，是胚胎“吞饮”蛋白进行营养吸收的集中时期。

4. 孵化后期的温度条件切不可忽视。根据多次试验和孵化生产实践的观察，如中后期遇有停电较多的情况，胚胎发育受低温影响在鸡雏出壳时，多残留有少量浓蛋白，而温度正常时就没有这种现象。所以根据出壳后有否浓蛋白的残留，可做监测孵化中后期温度条件是否适宜的依据。