

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20240054

网络首发日期: 2024-07-12; 网络首发地址: <http://link.cnki.net/urlid/12.1355.N.20240710.0751.001>

鸟苷核苷酸在不同品系卤虫卵中的含量及其 对卤虫发育的影响

于梦雨, 徐思雨, 马颖超, 高美荣, 隋丽英

(亚洲区域卤虫参考中心, 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

摘要: 为了探究鸟苷核苷酸在不同品系卤虫卵中的含量及其对卤虫发育的影响, 本研究通过高效液相色谱分析了我国市场上常见的 13 个品系卤虫卵及不同发育时期卤虫中鸟苷核苷酸的含量(以干质量计), 尤其关注了一种特殊的核酸类物质四磷酸二鸟苷(Gp₄G)的含量。结果显示: 不同品系卤虫卵中鸟苷核苷酸的含量有明显差异, 10 个品系 Gp₄G 含量较高, 约占总鸟苷核苷酸的 39.49%~56.88%, 其中新疆艾比湖卤虫卵(CHN-SL-71)中 Gp₄G 的含量最高。此外, 还发现卤虫卵 Gp₄G 的含量与储存时间和孵化能力有关, 卤虫卵储存时间长会导致 Gp₄G 减少, 进而影响孵化能力。进一步分析了不同发育时期卤虫鸟苷核苷酸的含量, 尤其是 Gp₄G 和三磷酸鸟苷(GTP)含量的变化, 发现 Gp₄G 是在卵子形成过程中合成的, 在卤虫卵内含量最高, 在发育过程中经历 2 次急剧下降, 即从卤虫卵到 I 期无节幼体和从 II 期无节幼体到成虫, 最终降至 0。在此期间, GTP 含量逐渐增加。由此推测, 在卤虫发育过程中 Gp₄G 转化为 GTP, 为细胞提供能量。研究结果为卤虫卵活力评价提供了新思路, 为卤虫卵鸟苷核苷酸类活性物质(如 Gp₄G)的开发奠定基础。

关键词: 卤虫卵; 发育; 鸟苷核苷酸; 四磷酸二鸟苷

中图分类号: Q17

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2025)03-0037-07

Content of Guanosine Nucleotide in Different Populations of *Artemia* Cysts and Its Effect on the Development of *Artemia*

YU Mengyu, XU Siyu, MA Yingchao, GAO Meirong, SUI Liying

(Asian Regional Artemia Reference Center, College of Marine and Environmental Sciences,
Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In order to investigate the content of guanosine nucleotides in different populations of *Artemia* cysts and its effect on their development, in the present study we analyzed the content of guanosine nucleotides in the cysts of thirteen populations of *Artemia* in China and *Artemia* at different development stages by high performance liquid chromatography, especially the content of diguanosine tetraphosphate (Gp₄G). The results showed that the contents of guanosine nucleotides had significant differences in cysts of different *Artemia* populations. The Gp₄G content of ten populations was higher than other detected guanosine nucleotides, accounting for 39.49% -56.88% of total guanosine nucleotides. Among them, the Gp₄G content of cysts from Aibi Lake, Xinjiang (CHN-SL-71) was highest. Moreover, it was found that the Gp₄G content of *Artemia* cysts was related to storage time and hatchability, and the longer storage time of *Artemia* cysts would lead to the reduction of Gp₄G, which would further affect hatchability. Further analysis was also conducted on the changes of the contents of guanosine nucleotides, especially Gp₄G and guanosine triphosphate (GTP), in *Artemia* at different developmental stages. It was found that Gp₄G was synthesized during oogenesis, and the content was the highest in *Artemia* cysts. During the devel-

收稿日期: 2024-03-18; 修回日期: 2024-05-17

基金项目: 山西省运城盐湖保护利用研究院 2023 年度“揭榜挂帅”研究项目(YHYJ-2023005)

作者简介: 于梦雨(1998—), 女, 山东烟台人, 硕士研究生; 通信作者: 隋丽英, 教授, suily@tust.edu.cn

opment process, the content of Gp₄G experienced two sharp declines, that is, from cysts to instar I nauplii and from instar II nauplii to adults, finally dropped to zero. During this period, GTP content gradually increased. It is speculated that Gp₄G is converted into GTP to provide energy for cells during the development of *Artemia*. The research results provide a new way to evaluate the vitality of *Artemia* cysts, and lay a foundation for the development of guanosine nucleic acids active products (e.g. Gp₄G) in *Artemia* cysts.

Key words: *Artemia* cysts; development; guanosine nucleotide; Gp₄G

引文格式:

于梦雨,徐思雨,马颖超,等. 鸟苷核苷酸在不同品系卤虫卵中的含量及其对卤虫发育的影响[J]. 天津科技大学学报, 2025, 40(3): 37–43.

YU M Y, XU S Y, MA Y C, et al. Content of guanosine nucleotide in different populations of *Artemia* cysts and its effect on the development of *Artemia*[J]. Journal of Tianjin university of science and technology, 2025, 40(3): 37–43.

卤虫(*Artemia*)是一种小型甲壳动物,在分类学上属于节肢动物门甲壳亚门鳃足纲无甲目卤虫科卤虫属。在自然界中,卤虫主要分布于盐田和盐湖等高盐环境,其对盐度的耐受性极强,能在3~300盐度范围内存活^[1-2]。卤虫可室内养殖且生长周期短,常作为细胞毒理学的实验动物,具有较高的科学研究价值^[3-5]。此外,卤虫幼体作为优质的开口饵料,广泛应用于水产经济动物的苗种培育^[6-9]。在实际应用过程中,卤虫幼体主要通过卤虫卵孵化获得,而卤虫卵的活力会影响卤虫幼体的数量和质量,进而影响使用的效果。目前卤虫卵活力的评价体系较为单一,通常以孵化率表示,缺乏其他评价标准。

卤虫卵是进入休眠的卤虫胚胎,这种休眠状态可以保证其在恶劣条件下维持活力,待条件适宜时卤虫卵去休眠,随即正常发育为卤虫个体。在大多数生物体中,腺苷核酸较为丰富,是主要的供能物质^[10]。研究人员发现在卤虫休眠卵内,鸟苷核苷酸含量显著高于腺苷核苷酸,占总核酸的80%~85%^[11-12],尤其是在缺氧等逆境条件下,主要由鸟苷核苷酸为卤虫休眠卵提供能量^[13]。进一步研究发现,卤虫休眠卵中含有一种特殊的鸟苷核苷酸为四磷酸二鸟苷(diguanosine tetraphosphate, Gp₄G)^[14]。研究人员分析了来自世界各地的13个品系卤虫卵中鸟苷核苷酸含量,发现Gp₄G含量最高,约占总鸟苷核苷酸含量的41.9%~68.1%^[15]。但是,这些样本多来源于美洲,且研究时间距离现在较远,其参考价值有待商榷。在卤虫发育早期,Gp₄G含量较高且参与了能量代谢^[11],但在卤虫整个发育过程中鸟苷核苷酸含量变化情况以及Gp₄G如何参与能量代谢尚不清楚。

基于Gp₄G在卤虫休眠卵中发挥的重要功能,研

究人员对这一活性物质的开发利用产生了兴趣。研究人员发现Gp₄G能促进体外人毛囊细胞代谢和生长。Severino等^[16]以Gp₄G为原料开发了一个护肤品配方,该护肤品能够促进血管生成和提高成纤维细胞活力。近年来,研究人员还发现含Gp₄G提取物的眼药水能治疗兔干眼症^[17-18]。目前Gp₄G已被应用于一些护肤品中,未来还有更广阔的发展空间。然而由于缺乏相关研究,对于我国市场上常见的卤虫卵品系中鸟苷核苷酸含量(尤其是Gp₄G含量)知之甚少,因而其开发面临较大困境。

本研究以我国市场上常见的13个品系卤虫卵作为研究对象,分析其鸟苷核苷酸含量和影响因素。同时,研究了不同发育时期卤虫鸟苷核苷酸含量的变化,揭示其在卤虫发育过程中发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 卤虫卵

本研究使用的实验材料为亚洲区域卤虫参考中心卤虫种质资源库中收录的2015—2023年的13个不同品系的卤虫卵,详细信息见表1。

1.1.2 试剂与仪器

鸟苷标准品、鸟苷酸标准品,北京索莱宝科技有限公司;二磷酸鸟苷标准品、三磷酸鸟苷标准品,上海麦克林生化科技有限公司。

Essentia SIL-16型高效液相色谱仪,岛津仪器(苏州)有限公司;DM500型解剖镜,德国LEICA仪器有限公司;HE83型水分测定仪,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

表 1 卤虫卵基本信息
Tab. 1 Basic information of *Artemia* cysts

品系(产地)	种质库编号	海拔/ m	收集 年份	种属
美国大盐湖	USA-SL-5	1 280	2015	<i>A. franciscana</i>
美国大盐湖	USA-SL-40	1 280	2022	<i>A. franciscana</i>
乌兹别克斯坦咸海	KAZ-SL-28	53	2022	<i>A. parthenogenetica</i>
俄罗斯大亚拉维	RUS-SL-42	2 000	2022	<i>A. parthenogenetica</i>
哈萨克斯坦布拉克湖	KAZ-SL-32	348	2019	<i>A. parthenogenetica</i>
新疆巴里坤	CHN-SL-65	1 650	2018	<i>A. parthenogenetica</i>
新疆艾比湖	CHN-SL-71	189	2016	<i>A. parthenogenetica</i>
西藏其香错	CHN-SL-64	4 800	2018	<i>Artemia</i> sp.
西藏其香错	CHN-SL-84	4 800	2022	<i>Artemia</i> sp.
西藏拉果错	CHN-SL-77	4 443	2021	<i>A. tibetiana</i>
内蒙古巴丹吉林	CHN-SL-83	1 500	2021	<i>A. sinica</i>
塘沽盐场	CHN-SW-77	3.4	2023	<i>A. franciscana</i>
无棣盐场	CHN-SW-49	6	2018	<i>A. franciscana</i>
无棣盐场	CHN-SW-78	6	2023	<i>A. franciscana</i>
曹妃甸	CHN-SW-41	1	2017	<i>A. franciscana</i>
曹妃甸	CHN-SW-71	1	2020	<i>A. franciscana</i>
羊口盐场	CHN-SW-35	5	2017	<i>A. franciscana</i>
羊口盐场	CHN-SW-74	5	2021	<i>A. franciscana</i>

1.2 实验方法

1.2.1 不同发育时期卤虫样品的收集

以美国大盐湖卤虫卵(USA-SL-40)为实验材料,收集不同状态的卤虫卵样品,包括干卵、水合不脱壳卵(简称水合卵)、脱壳卵以及不能孵化的卵。水合不脱壳卵的处理方式为充气水合 1 h,不能孵化的卵则是收集孵化 24 h 后未孵化出幼体的卵(处理方式依照脱壳卵)。根据研磨状态及研磨液中鸟苷核苷酸的含量确定卤虫卵的处理方式,依次处理表 1 中 13 个品系的卤虫卵并收集样本。此外,选取美国大盐湖卤虫卵(USA-SL-40)、新疆艾比湖卤虫卵(CHN-SL-71)、西藏拉果错卤虫卵(CHN-SL-77)和西藏其香错卤虫卵(CHN-SL-84)4 个品系的卤虫卵,在标准条件下孵化 24 h 收集部分卤虫幼体,剩余幼体转到孵化管中继续培养 40 d,收集成虫。为进一步探究不同发育时期卤虫鸟苷核苷酸的含量,以美国大盐湖卤虫卵(USA-SL-40)为实验材料,分别收集伞状幼体、I 期无节幼体、II 期无节幼体、拟成虫、成虫以及卵巢样品,作为后续实验的材料。

1.2.2 鸟苷核苷酸的提取及检测

取适量样品置于研钵中,添加提取液后研磨 10 min,将研磨液煮沸后冷却至室温,8 000g 离心 10 min,取上清液,用 0.22 μm 水系滤膜过滤备用。采用高效液相色谱仪分析样品。使用鸟苷(G)、鸟苷酸(GMP)、二磷酸鸟苷(GDP)、三磷酸鸟苷(GTP)等的

标准品制作标准曲线,以此对样品中的鸟苷核苷酸进行定量分析。

1.3 统计学分析

上述实验每组设置 3 个平行,用 SPSS 25.0 统计软件对生物学测定值进行分析,并对统计结果进行单因素方差分析,采用 Waller-Duncan’s 多重比较法检验组间显著性差异($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 卤虫粗提取物中鸟苷核苷酸的检测

高效液相色谱分析结果显示,卤虫核酸粗提取物在 254 nm 处可以检测到 9 个主要的峰(图 1),根据标准品的保留时间可以确定其含有 G(7.3 min)、GMP(16.6 min)、GDP(21.9 min)和 GTP(27.1 min)。由于缺乏 Gp₃G 和 Gp₄G 的标准品,这两种物质的定性参考 Warner 等^[15]的方法,其保留时间分别为 21.0 min 和 34.7 min,并根据 G 的标准曲线进行相对定量(表 2),即 Gp₃G 含量为 Gp₃G 峰面积与 G 峰面积的比值再与 G 含量进行乘积运算,Gp₄G 含量为 Gp₄G 峰面积与 G 峰面积的比值再与 G 含量进行乘积运算。

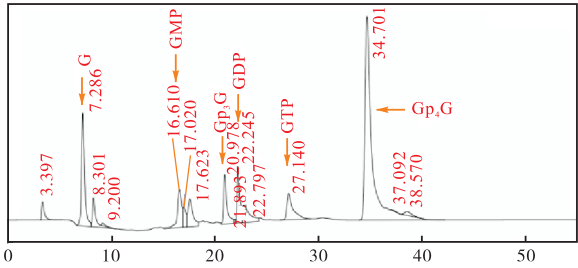


图 1 卤虫鸟苷核苷酸的高效液相色谱分析结果
Fig. 1 Results of high performance liquid chromatographic analysis of guanosine nucleotides of *Artemia*

表 2 鸟苷核苷酸标准品的保留时间和线性回归方程
Tab. 2 Retention time and linear regression equation of guanosine nucleotide standard

标准品	保留时间/min	线性回归方程
G	7.3	$y = 6 \times 10^7 x + 3.33 \times 10^5 (R^2 = 0.998)$
GMP	16.6	$y = 2 \times 10^7 x + 10^6 (R^2 = 0.985)$
GDP	21.9	$y = 6 \times 10^7 x + 3.93 \times 10^5 (R^2 = 0.967)$
GTP	27.1	$y = 3 \times 10^7 x - 3 \times 10^6 (R^2 = 0.996)$
Gp ₃ G	21.0	*
Gp ₄ G	34.7	*

注: *表示以 G 的标准曲线进行相对定量。

2.2 不同状态的卤虫卵中鸟苷核苷酸的含量

通过 DM500 型解剖镜观察干卵、水合卵和脱壳卵研磨后的状态,发现研磨效果最好的是脱壳卵,其次是水合卵和干卵。鸟苷核苷酸含量与研磨效果一致,在相同条件下,脱壳卵获得的鸟苷核苷酸含量最

高,总含量可达 (18.29 ± 0.13) mg/g(表 3),因而采用脱壳卵作为后续实验材料。此外,不能孵化的卵中鸟苷核苷酸总量显著低于脱壳卵($P<0.001$),说明鸟苷核苷酸的含量在一定程度上会影响卤虫的孵化,由此推测鸟苷核苷酸与卤虫发育有关。

表 3 不同状态的卤虫卵中鸟苷核苷酸的含量

Tab. 3 Contents of guanosine nucleotides in different treated cysts of <i>Artemia</i>							mg/g
状态	G	GMP	GDP	GTP	Gp ₃ G	Gp ₄ G	总鸟苷核苷酸
干卵	1.66 ± 0.16^a	0.01 ± 0.08^b	0.09 ± 0.003^b	5.50 ± 0.20^d	0.45 ± 0.02^b	0.80 ± 0.16^d	6.85 ± 0.27^d
水合卵	0.17 ± 0.002^b	—	—	9.63 ± 0.32^a	0.13 ± 0.03^c	1.16 ± 0.09^c	10.92 ± 0.44^b
脱壳卵	1.60 ± 0.003^a	2.07 ± 0.04^a	1.47 ± 0.08^a	6.34 ± 0.005^c	1.05 ± 0.003^a	7.37 ± 0.02^a	18.29 ± 0.13^a
不能孵化的卵	0.33 ± 0.05^b	—	—	7.25 ± 0.02^b	0.11 ± 0.01^c	2.18 ± 0.15^b	9.55 ± 0.17^c

注:—表示未检出,不同字母表示同一物质在不同样品中具有显著差异。

2.3 不同品系卤虫卵中鸟苷核苷酸的含量

检测结果显示卤虫卵中总鸟苷核苷酸含量约占干质量的 0.80% ~ 1.88%,其中美国大盐湖卤虫卵和乌兹别克斯坦咸海卤虫卵总鸟苷核苷酸含量较高,约为 18 mg/g(表 4)。在检测的鸟苷核苷酸中,Gp₄G 和

GTP 含量较高,其中在美国大盐湖卤虫卵等 10 个品系卤虫卵中 Gp₄G 含量最高,占总鸟苷核苷酸的比例约为 39.49% ~ 56.88%,新疆艾比湖卤虫卵含量最高,为 (7.83 ± 0.16) mg/g。

表 4 不同品系卤虫卵中各鸟苷核苷酸的含量

Tab. 4 Contents of various guanosine nucleotides in cysts of different populations of <i>Artemia</i>							mg/g
种质库编号	G	GMP	GDP	GTP	Gp ₃ G	Gp ₄ G	总鸟苷核苷酸
USA-SL-40	1.60 ± 0.003^a	2.07 ± 0.04^c	1.47 ± 0.08^a	6.34 ± 0.005^b	1.05 ± 0.003^a	7.37 ± 0.02^{abc}	18.29 ± 0.13^a
KAZ-SL-28	1.31 ± 0.01^b	3.02 ± 0.14^b	1.93 ± 0.06^a	5.75 ± 0.34^{bc}	0.70 ± 0.03^{cde}	7.44 ± 0.11^{ab}	18.84 ± 0.64^a
CHN-SL-71	1.23 ± 0.01^{bc}	1.55 ± 0.12^d	1.56 ± 0.33^a	6.25 ± 0.42^b	0.65 ± 0.06^{de}	7.83 ± 0.16^a	17.84 ± 0.85^a
CHN-SL-65	0.92 ± 0.01^{def}	—	0.01 ± 0.01^c	3.51 ± 0.01^{ef}	0.45 ± 0.01^f	4.06 ± 0.06^g	8.02 ± 0.08^c
CHN-SL-84	1.03 ± 0.01^{cde}	4.37 ± 0.17^a	1.80 ± 0.01^a	4.09 ± 0.02^{de}	0.95 ± 0.003^{ab}	3.15 ± 0.09^h	14.35 ± 0.11^b
CHN-SL-77	0.68 ± 0.01^{fg}	1.99 ± 0.42^{cd}	0.85 ± 0.69^b	5.26 ± 0.24^c	0.85 ± 0.12^{bc}	6.55 ± 0.44^{cde}	15.50 ± 0.74^b
CHN-SW-77	1.13 ± 0.01^{bcd}	—	0.91 ± 0.004^b	7.34 ± 0.18^a	0.52 ± 0.0002^{ef}	5.64 ± 0.08^f	14.41 ± 0.27^b
KAZ-SL-32	0.87 ± 0.06^{ef}	—	0.16 ± 0.03^c	3.23 ± 0.10^f	0.54 ± 0.07^{ef}	4.07 ± 0.11^g	8.00 ± 0.09^c
RUS-SL-42	1.02 ± 0.01^{cde}	—	0.14 ± 0.002^c	4.56 ± 0.01^d	0.82 ± 0.01^{bcd}	4.17 ± 0.06^g	9.68 ± 0.05^d
CHN-SL-83	0.52 ± 0.20^g	—	0.19 ± 0.06^c	4.29 ± 0.46^d	0.53 ± 0.19^{ef}	6.61 ± 1.18^{bcd}	11.62 ± 1.77^c
CHN-SW-74	0.57 ± 0.01^g	—	0.03 ± 0.004^c	4.27 ± 0.02^d	0.45 ± 0.001^f	6.06 ± 0.02^{def}	10.82 ± 0.005^{cd}
CHN-SW-71	0.90 ± 0.30^{def}	—	0.21 ± 0.03^c	4.31 ± 0.52^d	0.71 ± 0.15^{cde}	5.76 ± 0.18^{ef}	11.00 ± 0.88^{cd}
CHN-SW-78	1.09 ± 0.02^{bcde}	1.61 ± 0.05^{cd}	1.54 ± 0.05^a	6.03 ± 0.03^b	0.97 ± 0.003^{ab}	7.36 ± 0.03^{abc}	17.50 ± 0.04^a

注:—表示未检出,不同字母表示同一物质在不同样品中具有显著差异。

进一步分析间隔 3 ~ 7 年的美国大盐湖卤虫卵等 5 个品系卤虫卵中鸟苷核苷酸含量,结果如图 2 所示,其中***表示组间具有极显著差异($P<0.001$)。同一品系的卤虫卵年份较近的 Gp₄G 含量显著高于年份较远的样品($P<0.001$)。

2.4 不同发育时期卤虫鸟苷核苷酸的含量

对美国大盐湖等 4 个品系卤虫卵、幼体和成虫中的鸟苷核苷酸进行分析,结果如图 3 所示,其中***表示组间具有极显著差异($P<0.001$)。卤虫幼体中的 Gp₄G 含量显著低于卤虫卵($P<0.001$),而在成虫样本中未检测到 Gp₄G。进一步以美国大盐湖卤虫卵为实验材料,研究卤虫不同发育时期鸟苷核苷酸含量,

结果如图 4 所示。

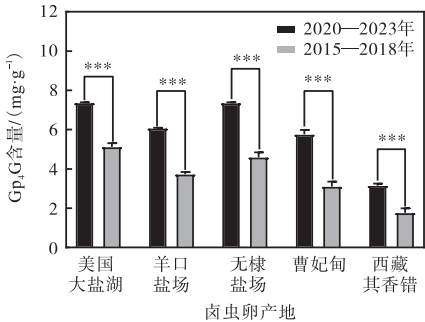


图 2 不同储存年份的 5 个品系卤虫卵的 Gp₄G 含量
Fig. 2 Gp₄G content in cysts of five populations of *Artemia* in different storage years

卤虫卵中 Gp₄G 含量最高, 随着卤虫的发育, 含量逐渐降低, 成虫时降为 0, GMP、GDP 和 Gp₃G 也随之减少, 而 GTP 则与之相反(图 4)。结合卤虫不同发育时期形态绘制了示意图(图 5), 更直观地展示卤

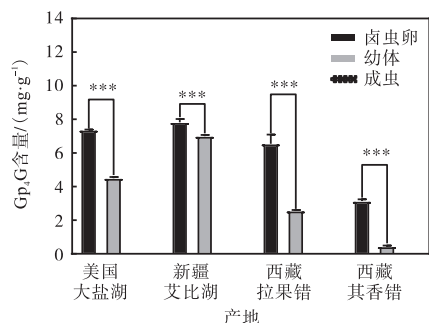


图 3 不同品系不同发育时期卤虫的 Gp₄G 含量

Fig. 3 Gp₄G content in *Artemia* in different populations and different developmental stages

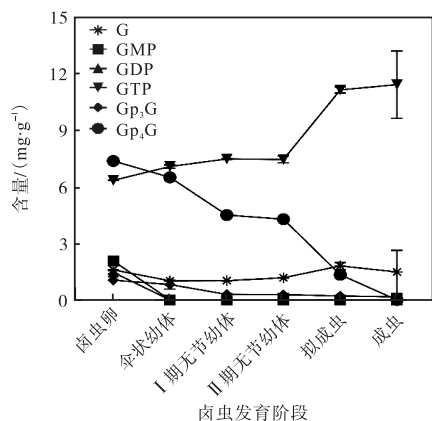


图 4 不同发育时期卤虫中各类鸟苷核苷酸含量变化

Fig. 4 Change of various guanosine nucleotide content in *Artemia* at different developmental stages

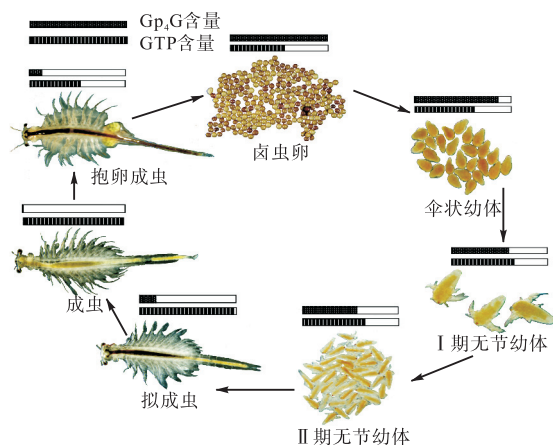


图 5 不同发育时期卤虫形态及 Gp₄G 和 GTP 含量变化示意图

Fig. 5 Schematic diagram of the change of morphology, Gp₄G and GTP content in *Artemia* at different developmental stages

虫卵发育过程中 Gp₄G 和 GTP 含量变化。结果显示, Gp₄G 在两个阶段迅速下降, 分别为从卤虫卵到 I 期无节幼体、从 II 期无节幼体到成虫, 与此同时 GTP 含量快速上升。

3 讨论

我国幅员辽阔, 卤虫资源十分丰富, 卤虫卵年产量 1 000 ~ 1 500 t, 约占世界卤虫卵总产量的三分之一^[19-20]。我国对卤虫卵的需求也比较大, 每年还会从俄罗斯、哈萨克斯坦、乌兹别克斯坦等国家进口卤虫卵^[21]。因此, 本研究使用的卤虫卵除了我国的 9 个品系外, 还选择了进入我国市场的俄罗斯大亚拉维卤虫卵、哈萨克斯坦布拉湖卤虫卵和乌兹别克斯坦咸海卤虫卵 3 个代表性品系。此外, 美国大盐湖卤虫卵以产量高和加工工艺稳定而著称, 因而也成了本研究的样本之一。

卤虫卵与其他生物不同, 鸟苷核苷酸是其主要的供能物质, 但其在我国不同品系卤虫卵中的含量及其影响因素尚不明确。本研究结果显示, 不同品系卤虫卵中鸟苷核苷酸含量差异显著, 且大部分品系中 Gp₄G 含量最高, 这与 Warner 和 Sonnenfeld 对世界各地 13 个品系卤虫卵鸟苷核苷酸含量的研究结果一致^[15], 表明 Gp₄G 在卤虫卵鸟苷核苷酸中占有重要地位。研究^[22-25]表明, Gp₄G 也存在于其他生物体内, 包括大型溞 (*Daphnia magna*)、酿酒酵母、人血小板、牛肾上腺等, 但其含量远低于卤虫卵, 如卤虫卵 Gp₄G 含量约为大型溞的 4 倍。由此可见, Gp₄G 是卤虫卵的特色核酸物质。当然, 有些品系卤虫卵中鸟苷核苷酸含量和 Gp₄G 含量较低, 如西藏其香错和山西运城盐湖, 由于样品并非商品卵, 运输和加工技术也有可能对其鸟苷核苷酸含量造成影响。

本研究进一步分析了海拔和储存时间对 Gp₄G 含量的影响。高海拔地区的卤虫卵主要为西藏其香错和拉果错两个产地的卤虫卵。2022 年收集的西藏其香错卤虫卵 (CHN-SL-84, 海拔 4 800 m) 的 Gp₄G 含量显著低于同年收集的较低海拔的美国大盐湖 (USA-SL-40, 海拔 1 280 m) 和俄罗斯大亚拉维卤虫卵 (RUS-SL-42, 海拔 2 000 m) 卤虫卵中的 Gp₄G 含量 ($P < 0.05$)。但更低海拔的乌兹别克斯坦咸海卤虫卵 (KAZ-SL-28, 海拔 53 m) 的 Gp₄G 含量与美国大盐湖卤虫卵 (USA-SL-40, 海拔 1 280 m) 无显著性差异。2021 年收集的西藏拉果错卤虫卵 (CHN-SL-77,

海拔 4 443 m)的 Gp₄G 含量与同年收集的低海拔的内蒙古巴丹吉林卤虫卵(CHN-SL-83, 海拔 1 500 m)和羊口盐场卤虫卵(CHN-SW-74, 海拔 5 m)无显著差异。上述结果未显示海拔与 Gp₄G 含量之间存在直接联系,而对于不同储存时间卤虫卵的鸟苷核苷酸的分析发现,Gp₄G 含量与储存时间成反比。曾有研究人员将卤虫卵储存在厌氧环境中 5.6 年,也发现了类似的规律,并且随着 Gp₄G 含量的降低,卤虫卵的孵化率发生了变化,到 5.6 年时其孵化率已经降至 4%^[26]。这些发现可用于指导卤虫卵的加工和保存,即为了获得具有较强孵化能力的卤虫卵,可以减少储存时间,或者通过提高加工工艺,减少 Gp₄G 的流失。

本研究还发现不能孵化的卵中鸟苷核苷酸和 Gp₄G 含量较低,分别是普通卵的 52% 和 30%。由此推测鸟苷核苷酸含量(尤其是 Gp₄G)与卤虫发育密切相关。Warner 和 Finamore 测定了从卤虫卵到幼体(孵化 36 h)期间酸性核苷酸含量的变化,发现 Gp₄G 含量逐渐降低^[11]。本研究发现在 Gp₄G 含量快速减少的同时,GTP 含量不断增加。此前有研究表明卤虫卵内有 Gp₄G 合成酶,能够将 Gp₄G 转化为 GTP^[26]。由此推测,在卤虫发育过程中 Gp₄G 逐步转化为 GTP 以提供能量。本研究进一步分析了卤虫整个发育过程中鸟苷核苷酸含量,发现在此期间 Gp₄G 经历了两次快速下降,分别是从小虫卵到 I 期无节幼体和从 II 期无节幼体到成虫。也就是说,当卤虫形态发生较大变化时(如卵到幼体、幼体到成虫),需消耗更多的 Gp₄G 以提供能量。因此,本研究认为 Gp₄G 含量可以作为卤虫卵活力评价的一个指标。同时,这一发现也为卤虫孵化和养殖提供了新思路,即在卤虫发育的重要节点(如卤虫卵和 II 期无节幼体),通过外源添加 Gp₄G 可能会促进卤虫的发育。

Gp₄G 作为活性物质,还具有促进毛囊生长、提高细胞活力及治疗干眼症等功效^[16-18],其开发利用得到了人们的关注,而开发利用的关键则是原料的选择。曾有研究^[27]指出,Gp₄G 是在卵子发生时期合成的。本研究也从抱卵卤虫的卵巢中检测到了 Gp₄G,但可能选择的卵巢时期较早,检测的含量不是很高,但也可以证明在卵子形成过程中已经开始合成 Gp₄G。因而 Gp₄G 被认为是雌性成虫特有的,甚至有人推测其在孤雌卤虫卵中含量更高。然而,本研究的结果显示不同品系的孤雌卤虫卵中鸟苷核苷酸(8.00 ~ 18.84 mg/g)和 Gp₄G 含量(4.06 ~ 7.83 mg/g)

存在较大差异(表 6),部分品系含量甚至低于两性卤虫卵,如俄罗斯大亚拉维卤虫卵(*A. parthenogenetica*, 孤雌)的鸟苷核苷酸含量和 Gp₄G 含量均低于同年获得的美国大盐湖卤虫卵(*A. franciscana*, 两性)。尽管如此,卤虫卵依然是 Gp₄G 含量最丰富的时期,未来鸟苷核苷酸类物质(尤其是 Gp₄G)的开发应以卤虫卵为原料。

4 结 语

本研究发现 Gp₄G 为我国市场上常见品系卤虫卵内主要的鸟苷核苷酸,且长期储存会降低 Gp₄G 含量,进而影响其孵化率。在卤虫发育的过程中,Gp₄G 能够转化为 GTP,为细胞提供能量。因此,Gp₄G 含量可以用于评价卤虫卵的活力。研究结果能够完善对卤虫休眠卵内代谢活动的认知,为卤虫卵鸟苷核苷酸类活性物质的开发提供依据。

参考文献:

- [1] 刘贤华,许越. 卤虫的研究与应用[J]. 中国水产, 2023(5): 73-74.
- [2] 隋丽英,王娇. 不同品系卤虫卵的生物学测定值和营养组成分析[J]. 天津科技大学学报, 2014, 29(1): 46-50.
- [3] RAGUPATHI RAJA KANNAN R, ARUMUGAM R, IYAPPARAJ P, et al. *In vitro* antibacterial, cytotoxicity and haemolytic activities and phytochemical analysis of seagrasses from the Gulf of Mannar, South India[J]. Food chemistry, 2013, 136(3/4): 1484-1489.
- [4] MENDONÇA DE ASSIS P, CYPRIANO DUTRA R, AMARANTE C B D, et al. *Plinia cauliflora* (Mart.) Kausel: toxicological assays, biological activities, and elemental analysis of organic compounds[J]. Natural product research, 2021, 35(10): 1727-1731.
- [5] HAYYAN M, HASHIM M A, AL-SAAD M A, et al. assessment of cytotoxicity and toxicity for phosphonium-based deep eutectic solvents[J]. Chemosphere, 2013, 93(2): 455-459.
- [6] 吴文化,张秀娟,宋聘,等. 不同饵料对匙吻鲟仔鱼生长发育和消化酶活性的影响[J]. 动物学杂志, 2015, 50(4): 571-580.
- [7] 刘晓翠,邓洪刚,于学权,等. 不同产地卤虫幼体对云龙石斑鱼幼苗生长和抗胁迫能力的影响[J]. 天津科技大学学报, 2022, 37(2): 18-23.

- [8] 邢明威, 邓洪刚, 高美荣, 等. 不同产地卤虫幼体对凡纳滨对虾仔虾生长、肌肉组分和抗胁迫能力的影响[J]. 中国水产科学, 2022, 29(1): 70–78.
- [9] VAN STAPPEN G, SUI L, HOA V N, et al. Review on integrated production of the brine shrimp *Artemia* in solar salt ponds[J]. Reviews in aquaculture, 2020, 12(2): 1054–1071.
- [10] ATKINSON D E, WALTON G M. Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation[J]. Journal of biological chemistry, 1967, 242(13): 3239–3241.
- [11] WARNER A H, FINAMORE F J. Nucleotide metabolism during brine shrimp embryogenesis[J]. Journal of biological chemistry, 1967, 242(8): 1933–1937.
- [12] CLEGG J S, WARNER A H, FINAMORE F J. Evidence for the function of p_1, p_4 -diguanosine 5'-tetrphosphate in the development of *Artemia salina*[J]. Journal of biological chemistry, 1967, 242(8): 1938–1943.
- [13] STOCCO D M, BEERS P C, WARNER A H. Effect of anoxia on nucleotide metabolism in encysted embryos of the brine shrimp[J]. Developmental biology, 1972, 27(4): 479–493.
- [14] FINAMORE F J, WARNER A H. The occurrence of p_1, p_4 -diguanosine 5'-tetrphosphate in brine shrimp eggs[J]. Journal of biological chemistry, 1963, 238(1): 344–348.
- [15] WARNER A H, SONNENFELD M J. Comparative study of guanosine nucleotide levels in thirteen populations of *Artemia* cysts[J]. Comparative biochemistry and physiology part B: comparative biochemistry, 1990, 97(4): 855–860.
- [16] SEVERINO D, ZORN T M T, MICKE G A, et al. Diguanoside tetrphosphate(Gp₄G) is an epithelial cell and hair growth regulator[J]. Journal of cosmetic science, 2011, 62: 469–482.
- [17] CARPENA-TORRES C, PINTOR J, HUETE-TORAL F, et al. Efficacy of artificial tears based on an extract of *Artemia salina* containing dinucleotides in a rabbit dry eye model[J]. International journal of molecular sciences, 2021, 22(21): 11999.
- [18] CARPENA-TORRES C, PINTOR J, HUETE-TORAL F, et al. Preclinical development of artificial tears based on an extract of *Artemia salina* containing dinucleotides in rabbits[J]. Current eye research, 2021, 46(2): 174–178.
- [19] 沈海燕. 卤虫资源的开发利用[J]. 特种经济动植物, 2002(8): 14.
- [20] 周笃珺, 山发寿, 马海州, 等. 卤虫资源利用与卤虫产业发展简述[J]. 青海科技, 2002(1): 27–29.
- [21] 张收元. 卤虫研究及山东卤虫产业化发展现状[J]. 科学养鱼, 2020(11): 3–4.
- [22] OIKAWA T G, SMITH M. Nucleotides in the encysted embryos of *Daphnia magna*[J]. Biochemistry, 1966, 5(5): 1517–1521.
- [23] PLATEAU P, FROMANT M, SCHMITTER J M, et al. Catabolism of bis(5'-nucleosidyl) tetrphosphates in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Journal of bacteriology, 1990, 172(12): 6892–6899.
- [24] SCHLÜTER H, GROBETA I, BACHMANN J, et al. Adenosine(5') oligophospho-(5') guanosines and guanosine(5') oligophospho-(5') guanosines in human platelets [J]. Journal of clinical investigation, 1998, 101(3): 682–688.
- [25] JANKOWSKI J, JANKOWSKI V, SEIBT B, et al. Identification of dinucleoside polyphosphates in adrenal glands[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2003, 304(2): 365–370.
- [26] WARNER A H, CLEGG J S. Diguanosine nucleotide metabolism and the survival of artemia embryos during years of continuous anoxia[J]. European journal of biochemistry, 2001, 268(6): 1568–1576.
- [27] WARNER A H, MCCLEAN D K. Studies on the biosynthesis and role of diguanosine tetrphosphate during growth and development of *Artemia salina*[J]. Developmental biology, 1968, 18(3): 278–293.

责任编辑: 郎婧