

条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)发育早期的 脂肪酸组成变化研究*

徐善良 王亚军 王丹丽 严小军

(宁波大学海洋学院 宁波大学应用海洋生物技术教育部重点实验室 宁波 315211)

提要 采用 GC/MS 法分析了条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)的未受精卵、胚胎、仔鱼、稚鱼及幼鱼各阶段的脂肪酸组成特点及含量变动,旨在研究条石鲷发育早期脂肪酸的组成和变化规律。共检测到 28 种脂肪酸,其中饱和脂肪酸(SFA)13 种,单不饱和脂肪酸(MUFA)7 种,多不饱和脂肪酸(PUFA)8 种。结果表明:(1) 鱼卵中主要脂肪酸依次为 C16:0、C22:6(n-3)(DHA)、C20:5(n-3)(EPA)和 C18:1(n-9)(油酸);(2) 胚胎及内源性营养阶段,主要利用 C16:0、C18:0 以及 C18:1 作为能量来源,EPA 和 DHA 被优先保存下来;(3) 摄食轮虫和桡足类 AA、EPA、DHA 含量显著提高,摄食卤虫则 C18:1(n-9)、C18:2(n-6)及 C18:3(n-3)含量迅速增加;(4) 在稚鱼期必需脂肪酸 AA、DHA 含量不足,而 EPA 过高,可能引起细胞膜磷脂中 DHA 与 EPA 比例失衡,出现稚鱼“死亡高峰”。

关键词 条石鲷; 卵; 胚胎; 仔鱼; 稚鱼; 幼鱼; 脂肪酸

中图分类号 S917.4

条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)是一种具有较高食用和观赏价值的优良海产鱼类,亦是中国、日本、韩国等海钓的常见种类(Koh *et al.*, 1992)。近年来,中国科学院海洋研究所等单位已成功培育出人工苗种,并成功进行了多种形式的养殖推广,表现出良好的养殖品质(牛化欣等, 2008; 张鹏等, 2011; 余海等, 2010)。同时,开展了条石鲷仔稚幼鱼的形态(常抗美等, 2005)、生长发育(王菲等, 2010)和生态(徐永江等, 2009)等许多研究,还研究涉及了条石鲷肌肉中的脂肪酸分析(胡玲玲等, 2010)。但是,有关条石鲷发育早期的仔、稚、幼鱼的脂肪酸组成及变化尚未见报道。

脂类是海水仔、稚鱼必需的营养物质,也是其能量的主要来源,脂肪酸在鱼类发育早期起着十分重要的作用,特别是高度不饱和脂肪酸中的 n-3 系列(如 DHA 和 EPA)是海水仔、稚、幼鱼的必需脂肪酸(高淳仁等, 2000; Watanabe *et al.*, 1989)。仔、稚鱼阶段正是脑神经和视神经迅速发育的时期,仔、稚鱼需要从饵料中摄取 DHA 等重要营养物质,以满足其脑神经

和视神经发育的需要(Tocher *et al.*, 1998; 刘镜恪等, 2002)。因此,研究条石鲷早期发育中脂肪酸的需求和变化规律,对提高其人工育苗成功率以及鱼苗的质量均有一定的意义。本研究分析了条石鲷发育早期各阶段的脂肪酸种类和相对含量,并着重比较了主要脂肪酸的实际含量及其变化特点。以期揭示条石鲷人工育苗生产中,经常出现的孵化后 18—25d 的“死亡高峰”的成因,为条石鲷育苗工艺的完善提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用材料,于 2009 年 5 月取自宁波市海洋与渔业研究院横码海水养殖基地。按不同的发育阶段分别采样,共获取未受精卵、胚胎、前仔鱼、后仔鱼、稚鱼、幼鱼等 7 个样品,各样品按卵 10g、仔鱼 10000 尾、稚鱼 500 尾、幼鱼 30 尾取样。取样后立即冷冻,用冰瓶带回,置于实验室-76℃的冰箱中保存。

* 国家海洋局海洋公益性行业科研专项, 201105009-3 号; 浙江省科技厅创新团队项目, 2010R50029 号; 宁波市重大攻关项目, 2012C10020 号。徐善良, 副研究员, E-mail: xushanliang@nbu.edu.cn

收稿日期: 2012-04-15, 收修改稿日期: 2012-05-29

1.2 仪器与试剂

QP2010 气相色谱-质谱分析仪, 带 AOC-20 自动进样器(日本 SHIMADZU 公司), 30m×0.25mm×0.25 μ m SPB-50 色谱柱(美国 SUPELCO 公司); 半自动测序系统(美国 BIO-RAD 公司)等; 14% BF₃-CH₃OH 溶液和标准脂肪酸甲酯(美国 ALLTECH 公司), 色谱纯正己烷(美国 TEDIA 公司), 其它试剂为国产分析纯。

1.3 实验方法

参照 Bligh-Dyer 法(Bligh *et al.*, 1959), 称取经冷冻干燥机干燥得到 0.1—0.2g 干重的样品, 经超声提取 2min, 涡旋振荡 5min, 3000r/min 离心 6—8min, 最后旋转蒸发至恒重。将以上所得脂质用 KOH-甲醇于 60 皂化 2h, 再用 Metcalfe(1966)的 BF₃ 催化法制取脂肪酸甲酯, 加正己烷(用 NaCl 饱和)1min, 取上清液在 QP2010 气相色谱-质谱仪上测定分析。用面积归一法(汪正范, 2000)求得各脂肪酸相对百分含量。

1.4 数据分析统计与检验

试验所得数据以平均值 (Mean, M) \pm 标准差 (Stdeva, SD) 表示, 所测数据以 SPSS 13.0 软件进行数据统计分析, 采用 One-Way ANOVA 法进行显著性检验, 并用 Duncan 检验法进行多重比较。

2 结果

2.1 各发育阶段的总脂含量

条石鲷各阶段样品的总脂含量测定结果见表 1。由表可见, 条石鲷从胚胎至前仔鱼发育期间, 脂肪作为其能量的主要来源, 总脂的绝对含量由未受精卵的 306.00mg/g 急剧跌至 92.78mg/g; 后仔鱼期摄食轮虫后又迅速升至 389.91mg/g, 此后其总脂含量呈逐步递减趋势, 至幼鱼期, 总脂含量降为 292.69mg/g, 下跌达 24.93%。

2.2 不同发育阶段脂肪酸的组成

条石鲷发育早期各阶段脂肪酸百分比含量测定结果见表 2。由表 2 可见, 共检测出 28 种脂肪酸, 碳链长度在 14 碳—24 碳之间。其中饱和脂肪酸(SFA)13 种, 单不饱和脂肪酸(MUFA)7 种, 多不饱和脂肪酸(PUFA)8 种。

2.2.1 未受精卵的脂肪酸组成特点 此时脂肪酸

以 SFA 和 PUFA 为主, 占 33.25%和 41.23%, MUFA 稍低, 占 25.53%, 且能检测出 C₂₀:5(n-3)(EPA)和 C₂₂:6(n-3)(DHA)。所检测到的脂肪酸中, 以 C₁₆:0(软脂酸)、C₂₂:6(n-3)(DHA)两者含量最高, 分别为 21.63%和 12.43%; C₂₀:5(n-3)(EPA)和 C₁₈:1(n-9)(油酸)次之, 分别为 9.99%和 10.07%; 其它几种重要的脂肪酸含量较低, 分别为 C₁₈:2(n-6)(亚油酸)1.23%、C₁₈:3(n-3)(亚麻酸)4.74%、C₂₀:4(n-6)(AA 花生四烯酸)4.47%, 唯 22:5(n-3)(DPA)含量居各发育阶段中较高水平, 为 7.01%; EPA+DHA 为 22.41%。

2.2.2 胚胎期的脂肪酸组成特点

受精前后的脂肪酸组成及百分含量变化较小, 仍以 SFA 和 PUFA 为主, 占 36.78%和 39.05%。其中 C₁₆:0、DHA 两者含量有所提高, 分别为 24.03%和 16.13%, 而 EPA 显著下降($P<0.05$)。

2.2.3 前仔鱼期脂肪酸组成特点

前仔鱼期尚未开口摄食, 此时 PUFA 显著上升为 47.64%, 其中 DHA 和 EPA 含量同时显著上升($P<0.05$), 分别达到 23.0%和 12.28%; 而 C₁₈:0(硬脂酸)、C₁₈:1(n-9)(油酸)和 22:5(n-3)(DPA)含量呈显著下降($P<0.05$)。

2.2.4 后仔鱼期脂肪酸组成特点

此阶段仔鱼开始摄食轮虫和卤虫, SFA 显著回升($P<0.05$), 其中 C₁₆:0 仍是百分含量最高的脂肪酸, 但已下降至 20% 以下, DHA 骤跌至前仔鱼的约 1/5, 仅为 4.26%—5.94%。而 C₁₇:0、C₁₈:0 含量比前仔鱼显著增加了 0.5 倍和 5 倍($P<0.05$); 同时, 摄食轮虫后 AA 和 DPA 迅速上升至 6.72%和 7.96%, 比前仔鱼期增加了近一倍。摄食卤虫无节幼体阶段, AA、EPA 和 DPA 三者同时显著回落, 但 C₁₈:1(油酸)、C₁₈:2(亚油酸)和 C₁₈:3(亚麻酸)含量却显著上升($P<0.05$)。

2.2.5 稚鱼期脂肪酸组成特点

此阶段鱼苗以摄食卤虫为主。MUFA 比后仔鱼期显著增加($P<0.05$), 为 36.71%, 此时 SFA、MUFA 和 PUFA 三者约各占 1/3; 其中 C₁₆:0、C₂₀:4(n-6)(花生四烯酸)、22:5(n-3)(DPA)、C₂₂:6(n-3)(DHA)含量均显著跌至各阶段最低值($P<0.05$), 分别为 15.49%、1.85%、0.52%和 1.50%, 尤其是 DPA 含量仅为此前约 1/10; C₁₈:1(油酸)、C₁₈:2(亚油酸)和 C₁₈:3(亚麻酸)含量则继续显著上升

表 1 条石鲷各发育阶段总脂含量($n=3$, mg/g)

Tab.1 Total lipid content of *O. fasciatus* in different developmental stages ($n=3$, mg/g)

样品	未受精卵	胚胎期	前仔鱼期	后仔鱼期-轮虫	后仔鱼期-卤虫	稚鱼期	幼鱼期
总脂含量	306.00 \pm 8.67 ^c	237.74 \pm 4.24 ^e	92.78 \pm 6.45 ^f	389.91 \pm 9.24 ^a	376.24 \pm 2.78 ^a	320.03 \pm 12.79 ^b	292.69 \pm 12.15 ^d

注: 同行数据上标不同字母表示有显著差异($P<0.05$)。表 2、表 3 同

表 2 条石鲷各发育阶段脂肪酸组成($n=3$, %)
Tab.2 Fatty acid composition of *O. fasciatus* in different developmental stages ($n=3$, %)

脂肪酸	未受精卵	胚胎期	前仔鱼期	后仔鱼期-轮虫	后仔鱼期-卤虫	稚鱼期	幼鱼期
C14:0	0.94±0.01 ^c	1.05±0.14 ^{bc}	1.46±0.08 ^{ab}	1.89±0.14 ^a	2.04±0.06 ^a	1.25±0.06 ^b	1.94±0.29 ^a
12-M-C15:0	0.07±0.01 ^c	0.08±0.02 ^c	0.07±0.02 ^c	0.31±0.08 ^b	0.49±0.04 ^a	0.24±0.16 ^b	0.17±0.04 ^{bc}
14-M-C16:0	0.10±0.03 ^d	0.16±0.05 ^c	0.10±0.04 ^d	0.21±0.03 ^b	0.34±0.06 ^a	0.43±0.02 ^a	0.11±0.01 ^{cd}
C16:0	21.63±3.95 ^a	24.03±0.71 ^a	23.22±2.33 ^a	22.46±0.88 ^a	19.65±0.99 ^{ab}	15.49±1.06 ^b	21.07±0.59 ^a
C16:1(n-9)	8.22±1.00 ^a	7.42±0.40 ^{ab}	9.17±0.70 ^a	6.17±1.03 ^b	6.02±0.14 ^b	4.73±0.49 ^c	4.36±2.45 ^c
C16:2(n-4)	0.13±0.03 ^b	0.20±0.07 ^b	0.03±0.01 ^c	0.18±0.04 ^b	0.23±0.04 ^b	0.29±0.05 ^a	0.07±0.02 ^c
14-M-C17:0	0.37±0.12 ^b	0.75±0.15 ^a	0.34±0.34 ^b	0.79±0.12 ^a	0.95±0.09 ^a	0.71±0.10 ^a	0.34±0.17 ^b
15-M-C17:0	0.09±0.06 ^d	0.21±0.10 ^c	0.12±0.08 ^d	0.14±0.04 ^d	0.38±0.03 ^b	0.78±0.07 ^a	0.20±0.02 ^c
C17:0	0.69±0.04 ^b	0.79±0.13 ^b	0.63±0.09 ^b	0.93±0.05 ^a	0.88±0.06 ^a	0.77±0.06 ^a	1.04±0.04 ^a
3,7,11,15-M-C20:0	0.06±0.03 ^c	0.10±0.06 ^{bc}	0.03±0.01 ^c	0.28±0.02 ^a	0.17±0.03 ^a	0.18±0.02 ^a	0.14±0.02 ^b
C18:0	8.60±1.76 ^b	8.93±0.48 ^b	2.41±1.12 ^c	13.11±0.74 ^a	12.44±0.51 ^a	10.60±0.80 ^b	13.24±0.90 ^a
C18:1(n-9)	10.07±0.38 ^c	9.57±0.73 ^c	5.83±0.55 ^d	7.68±0.25 ^d	10.86±0.03 ^{bc}	19.48±0.34 ^a	13.05±0.27 ^b
C18:1(n-7)	5.57±0.03 ^c	5.99±0.53 ^c	6.26±0.53 ^c	5.93±0.18 ^c	7.18±0.13 ^b	10.90±0.32 ^a	4.31±0.08 ^d
C18:2(n-6)	1.23±0.09 ^d	1.20±0.26 ^d	1.30±0.18 ^{cd}	0	3.95±0.22 ^b	6.89±0.24 ^a	6.45±0.35 ^a
C18:3(n-3)	4.74±0.16 ^c	1.86±0.44 ^d	1.12±0.30 ^d	3.26±0.80 ^c	7.14±1.08 ^b	15.20±1.22 ^a	2.46±0.10 ^{cd}
C19:0	0.14±0.03 ^a	0.39±0.19 ^a	0.08±0.01 ^b	0.26±0.08 ^a	0.14±0.03 ^a	0.07±0.02 ^b	0.20±0.02 ^a
C19:1(n-9)	0.14±0.03 ^b	0.37±0.17 ^a	0.07±0.01 ^c	0.16±0.02 ^a	0.09±0.03 ^b	0.06±0.02 ^c	0.09±0.04 ^{bc}
C20:0	0.50±0.13 ^b	0.24±0.05 ^c	1.12±0.09 ^a	0.83±0.06 ^{ab}	0.45±0.04 ^b	0.36±0.07 ^{bc}	1.53±0.10 ^a
C20:1(n-9)	1.02±0.23 ^b	0.61±0.13 ^d	1.23±0.18 ^b	0.95±0.07 ^{bc}	0.69±0.05 ^c	1.04±0.03 ^b	2.03±0.16 ^a
C20:2(n-7)	1.26±0.19 ^a	0.86±0.01 ^b	1.33±0.10 ^a	0.54±0.03 ^b	0.36±0.08 ^b	0.30±0.03 ^b	0.60±0.03 ^b
C20:4(n-6)	4.47±0.26 ^c	3.82±0.07 ^{cd}	3.97±0.16 ^c	6.72±0.17 ^a	5.68±0.27 ^b	1.85±0.18 ^d	1.87±0.05 ^d
C20:5(n-3)	9.99±0.96 ^a	8.52±0.67 ^b	12.28±1.31 ^a	13.43±0.33 ^a	8.01±0.25 ^b	5.39±0.66 ^c	4.81±0.08 ^c
C22:0	0.03±0.01 ^c	0.05±0.02 ^c	0.06±0.02 ^c	0.37±0.08 ^b	0.26±0.01 ^b	0.37±0.03 ^b	1.13±0.19 ^a
C22:1(n-9)	0.22±0.08 ^a	0.09±0.03 ^b	0	0.26±0.04 ^a	0.14±0.02 ^{ab}	0.17±0.01 ^a	0.31±0.09 ^a
C22:5(n-3)	7.01±0.69 ^a	6.46±0.29 ^a	4.61±0.49 ^b	7.96±0.12 ^a	4.91±0.19 ^b	0.52±0.10 ^d	1.59±0.08 ^c
C22:6(n-3)	12.43±2.69 ^b	16.13±2.13 ^b	23.00±2.41 ^a	4.26±0.69 ^c	5.94±0.51 ^c	1.50±0.28 ^d	15.69±1.28 ^b
C24:0	0.05±0.02 ^c	0	0	0.19±0.01 ^b	0.20±0.01 ^b	0.11±0.01 ^b	0.35±0.00 ^a
C24:1(n-9)	0.30±0.07 ^b	0.15±0.06 ^b	0.16±0.07 ^b	0.73±0.04 ^a	0.41±0.02 ^a	0.33±0.04 ^{ab}	0.86±0.07 ^a
SFA	33.25±5.75 ^b	36.78±0.52 ^{ab}	29.64±3.13 ^c	41.77±1.43 ^a	38.40±1.64 ^a	31.34±1.76 ^{bc}	41.46±0.90 ^a
MUFA	25.53±1.57 ^b	24.17±1.45 ^b	22.72±1.51 ^c	21.88±1.18 ^c	25.39±0.06 ^b	36.71±0.84 ^a	25.01±2.46 ^b
PUFA	41.23±4.18 ^a	39.05±1.30 ^{ab}	47.64±2.74 ^a	36.35±1.92 ^b	36.21±1.58 ^b	31.95±2.60 ^b	33.53±1.57 ^b
EPA+DHA	22.41±4.65 ^b	24.65±1.51 ^b	35.28±3.08 ^a	17.69±0.90 ^c	13.94±0.40 ^c	6.89±0.94 ^d	20.49±1.36 ^{bc}

注: SFA. 饱和脂肪酸; MUFA. 单不饱和脂肪酸; PUFA. 多不饱和脂肪酸

至峰值, 为 19.48%、6.89%和 15.20%; EPA+DHA 跌至最低, 仅为 6.89%。

2.2.6 幼鱼期脂肪酸组成特点 幼鱼期摄食桡足类和鱼粉。此阶段又以 SFA 含量居最高, 达 41.46%; DHA 剧增至 15.69%, EPA+DHA 增至为 20.49%。

2.3 几种重要脂肪酸的实际含量变化

由总脂含量计算得到几种重要脂肪酸的实际含量见表 3。由表 3 可见, 鱼卵中脂肪酸含量 SFA>n-3HUFA>MUFA; 在条石鲷发育早期的各个阶段, 这 10 种重要的脂肪酸中始终以 C16:0 饱和脂肪酸的

实际含量最高, 且这些重要的脂肪酸均有完全相同的变化规律, 即在仔鱼开口前, 呈不断下降趋势, 前仔鱼期降至最低; 开口摄食后立即出现极显著回升 ($P<0.05$), 且多数升至峰值, 此后随鱼体生长发育的消耗再次呈波动回落趋势。如: C16:0 在未受精卵中含量高达 64.44mg/g, 前仔鱼期降至 21.07mg/g, 开口摄食轮虫(后仔鱼期)后立即回升至最高含量 83.98mg/g。C18:0(硬脂酸)、AA(花生四烯酸)、EPA、DPA 也均是如此, 在摄食轮虫阶段含量达峰值; 而 C18:1(n-9)(油酸)、C18:3(n-3)(亚麻酸)在稚鱼期含量

表 3 条石鲷各发育阶段主要脂肪酸实际含量($n=3$, mg/g)
Tab.3 The actual content of the main fatty acids of *O. fasciatus* in different developmental stages ($n=3$, mg/g)

脂肪酸	未受精卵	胚胎期	前仔鱼期	后仔鱼期-轮虫	后仔鱼期-卤虫	稚鱼期	幼鱼期
C16:0	64.44±5.77 ^b	55.08±1.20 ^c	21.07±5.48 ^e	83.98±3.43 ^a	70.67±3.81 ^b	47.34±4.89 ^d	59.59±1.60 ^c
C16:1(n-9)	24.60±3.75 ^a	17.00±0.79 ^{ab}	8.32±2.27 ^c	23.07±3.18 ^a	21.64±0.31 ^a	14.47±2.01 ^b	12.42±7.23 ^b
C18:0	28.61±4.45 ^c	20.47±1.24 ^c	2.04±1.42 ^d	49.02±2.59 ^a	44.74±1.95 ^a	32.41±3.61 ^b	37.42±2.22 ^b
C18:1(n-9)	30.11±2.09 ^{bc}	21.94±1.52 ^c	5.14±1.81 ^d	28.72±1.53 ^c	39.06±0.44 ^b	59.47±3.15 ^a	36.92±1.00 ^b
C18:2(n-6)	3.67±0.39 ^c	2.75±0.59 ^c	1.18±0.26 ^d	0	14.20±0.76 ^b	21.02±0.16 ^a	18.24±0.92 ^a
C18:3(n-3)	14.50±0.56 ^c	4.99±1.02 ^d	1.02±0.12 ^e	12.19±1.22 ^c	25.69±3.83 ^b	46.30±1.92 ^a	6.97±0.56 ^d
C20:4(n-6)	13.34±0.36 ^b	8.76±0.24 ^{bc}	3.60±0.30 ^d	25.13±0.42 ^a	20.41±0.81 ^a	5.64±0.35 ^c	5.29±0.11 ^c
C20:5(n-3)	29.83±6.89 ^b	19.53±1.43 ^c	11.24±1.04 ^d	50.22±0.91 ^a	28.79±0.79 ^b	16.39±1.40 ^c	13.60±0.54 ^d
C22:5(n-3)	20.90±1.39 ^b	14.81±0.65 ^c	4.18±1.02 ^d	29.76±0.36 ^a	17.64±0.51 ^b	1.58±0.25 ^d	4.49±0.33 ^d
C22:6(n-3)	37.03±5.51 ^a	36.84±5.18 ^a	21.01±1.84 ^b	15.93±1.95 ^c	21.36±2.03 ^b	4.57±0.68 ^d	44.34±3.14 ^a
SFA	90.05±8.05 ^c	75.55±1.17 ^d	23.11±2.54 ^e	133±10.23 ^a	115.41±5.76 ^b	79.75±8.50 ^d	97.01±6.28 ^c
MUFA	54.71±4.13 ^{bc}	38.94±2.29 ^d	13.46±0.82 ^e	51.79±4.65 ^c	60.70±3.17 ^b	73.94±4.89 ^a	49.34±3.58 ^c
(n-3)HUFA	87.76±8.82 ^a	71.18±4.07 ^b	36.43±4.45 ^d	95.91±7.89 ^a	67.79±2.37 ^{cb}	22.54±2.32 ^e	62.43±3.18 ^c
(n-6)PUFA	17.01±0.23 ^c	11.51±1.31 ^c	4.78±1.21 ^d	25.13±2.34 ^b	34.61±1.44 ^a	26.66±1.38 ^b	23.53±1.99 ^b

注: SFA. 饱和脂肪酸; MUFA. 单不饱和脂肪酸; PUFA. 多不饱和脂肪酸

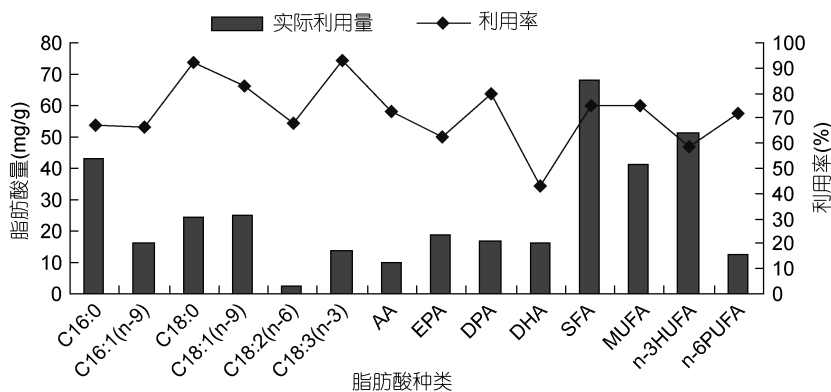


图 1 胚胎及内源营养阶段主要脂肪酸利用程度

Fig.1 Utilization degree of the main fatty acids in embryos and endogenous vegetative stage

最高($P<0.05$), 同时, AA、DPA 和 DHA 含量却在稚鱼期跌至谷底, 但 DHA 含量在幼鱼期又显著回升至稚鱼期的 10 倍。

条石鲷在胚胎及前仔鱼期(内源营养阶段)主要脂肪酸的实际利用程度见图 1。就单一脂肪酸来看, 从鱼卵至开口前的实际被利用的量, 以 C16:0 最多, 达 43.37mg/g, 其次是 C18:0 和 C18:1(n-9); 但从利用率看, C18:0 和 C18:3(n-3)最高, 消耗量占了鱼卵阶段含量的约 92%, DHA 的利用率最低, 仅为鱼卵 DHA 含量的 43.26%。就 SFA、MUFA、PUFA 及 HUFA 来看, SFA 被利用量和利用率最高, 分别为 69.94mg/g 和 75.16%, (n-3)HUF(n-3 高度不饱和脂肪酸)的利用率最低为 58.49%。

3 讨论

3.1 条石鲷鱼卵中脂肪酸组成及被利用顺序

鱼卵含有从胚胎发育至前期仔鱼(卵黄内源营养阶段)所必需的各种营养物质, Tocher 等(1984)认为, 脂肪是鱼卵中最重要的能量储存物质, 成熟卵子脂肪酸组成的不同将影响海水鱼早期阶段的发育, 众多研究还表明, 鱼类卵子的脂肪酸, 尤其是 n-3 长链高度不饱和脂肪酸的含量十分重要(Owen *et al*, 1975; Cowey *et al*, 1976; Gatesoupe *et al*, 1977)。庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、真鲷(*Pagrus major*)和大西洋鳕(*Gadus morhus*)等海鱼鱼卵总脂中的主要脂肪酸均为 C22:6(n-3) (DHA)、C20:5(n-3)(EPA)、C16:0 (软脂酸)和 C18:1(n-9) (油酸)(Klungsoy *et al*, 1989), 说明这些脂肪酸对胚胎和仔、稚鱼的发育至关重要。条石鲷未受精卵的脂肪酸中, 也以 C16:0(软脂酸)、C22:6(n-3)(DHA)含量最高, 其次是 C20:5(n-3) (EPA)和 C18:1(n-9)(油酸), 这一结果与金头鲷(*Sparus aurata*)鱼卵中主要脂肪酸组成顺序完全一致(刘镜恪等, 2002), 并且与条石鲷成鱼肌肉中的主要脂肪酸组成也十分吻合(胡玲玲等, 2010)。大量研究证实, EPA 和 DHA 等(n-3)HUFA 是海水仔、稚鱼的必需脂肪酸,

最高($P<0.05$), 同时, AA、DPA 和 DHA 含量却在稚鱼期跌至谷底, 但 DHA 含量在幼鱼期又显著回升至稚鱼期的 10 倍。

鱼卵中的这些(n-3)HUFA 对胚胎发育十分重要(Rainuzzo *et al.*, 1997; Lie, 1993)。表 3 结果显示, 在条石鲷的鱼卵中含有丰富的 DHA、EPA 和 DPA, (n-3)HUFA 含量高达 87.76mg/g, 与 SFA 含量相当。

大菱鲆和金头鲷等在胚胎发育阶段和仔鱼吸收卵黄内源营养的发育阶段, 饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸作为重要能源被首先利用, 而 n-3HUFA 被适当地保存下来。脂肪酸按照 n-9 系列、n-6 系列、n-3 系列的顺序被先后利用(Mourente *et al.*, 1993; 刘镜恪等, 2002), 由图 1 发现, 条石鲷在胚胎和前仔鱼期对脂肪酸的利用也完全符合这个规律, 饱和脂肪酸(SFA)中的 C16:0 和 C18:0 以及单不饱和脂肪酸(MUFA)中的 C18:1 被利用得最多, 而(n-3)HUFA 中的 EPA 和 DHA 利用率最低被优先保存下来。

3.2 条石鲷发育早期各阶段主要脂肪酸组成变化

DHA 和 EPA 等 n-3PUFA 在鱼类脑、神经组织和视网膜发育中起着重要作用, 一般鱼体组织中的 DHA 和 EPA 含量比 AA 高(Rainuzzo *et al.*, 1997)。表 2 及表 3 结果证实, 条石鲷鱼卵在受精前就已具有 n-3 系列的 AA、DHA、EPA 这三种海水鱼类必需脂肪酸, 且 DHA 含量显著高于 EPA 和 AA。在条石鲷胚胎和前期仔鱼发育过程中, 既无外源营养, 又不能将亚麻酸和亚油酸等短链脂肪酸延长和去饱和生成 EPA 和 DHA。因此, EPA 和 DHA 等 n-3 系列高度不饱和脂肪酸(HUFA)的实际含量随着鱼体发育也有所下降, 但由于被利用程度远不及其它饱和脂肪酸, 才出现表 2 中 DHA、EPA 的百分含量在前仔鱼期不降反升的现象。同理, 仔鱼开口后摄食轮虫后, 仔鱼发育加速, 主要饱和脂肪酸 C16:0 和 C18:0、单不饱和脂肪酸 C16:1(n-9)和 C18:1(n-9)以及 n-3 高度不饱和脂肪酸 AA、EPA 和 DPA 均得到迅速补充, 但 DHA 补充量不及消耗量, 出现后仔鱼期百分含量骤降至 4.26%。摄食卤虫无节幼体后, C18:2(n-6)(亚油酸)、C18:3(n-3)(亚麻酸)立即增加, 并在稚鱼期达到峰值, 而 DHA 却在稚鱼期继续下跌至最低谷。进入幼鱼期, 随着摄入富含 DHA 的海洋桡足类, 鱼体内的 DHA 含量也迅速回升。因此, 可以认为在条石鲷发育早期不仅利用 SFA, 一些重要的 PUFA 也同时被少量利用; 在条石鲷胚胎及前仔鱼阶段, 脂肪酸营养全部来自母体; 当摄食营养强化后的轮虫及桡足类后, 体内的 n-3 高度多不饱和脂肪酸迅速增加, 当主要摄食寡含 n-3 高度多不饱和脂肪酸的卤虫无节幼体时, AA、EPA、DPA、DHA 全部大幅下跌, 证明这些鱼类必需脂肪酸含量

变化与饵料密切相关, 主要依赖外界营养提供, 这也与大黄鱼等众多鱼类的研究相一致(王吉桥等, 2001)。

3.3 稚鱼期的脂肪酸特点与“死亡高峰”的成因

海洋鱼类早期仔鱼混合营养期及稚鱼变态期经常出现死亡高峰, 迄今的研究认为, 与能否及时获得必需脂肪酸密切相关(Sargent, 1999; 刘镜恪等, 2002)。条石鲷进入稚鱼期后, 以摄食卤虫为主, C18:1(n-9)(油酸)及 C18:2(n-6)(亚油酸)、C18:3(n-3)(亚麻酸)迅速增长了近一倍, 而对鱼类发育十分重要的 DHA、AA、DPA 含量却跌至最低, DHA 仅为 4.57mg/g,

EPA+DHA 仅为 6.89%。这正是由于卤虫无节幼体富含油酸、亚油酸, 而不具有 DHA、AA 等高度不饱和脂肪酸(HUFA)的缘故(徐秀兰等, 1997)。另外发现, 此时的 EPA 含量达 16.39mg/g, 显著偏高。稚鱼阶段生长快速, 正是脑神经和视神经迅速发育的时期, 稚鱼需要从饵料中摄取 DHA 等重要营养物质, 以满足其脑神经和视神经发育的需要, 且稚鱼对必需脂肪酸的需要量是幼鱼的 2 倍(王吉桥等, 2001)。真鲷和牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)仔、稚鱼的研究结果也已证实, DHA 的营养价值比 EPA 更为重要, 对 DHA 的需要量也更高。一些学者认为, 仔、稚鱼生物膜磷脂中的 DHA 和 EPA 有一定的比例关系, 高含量的 EPA 会引起磷脂结构组成的不平衡, 能影响仔、稚鱼的正常生长(Rainuzzo *et al.*, 1997), 特别是过高的 EPA 含量和过低的 DHA 含量会导致海水仔、稚鱼应激能力的下降及死亡率的增高(Watanabe, 1994; 刘镜恪等, 2002)。尽管此时 C18:1(n-9)、C18:2(n-6)、C18:3(n-3)和 EPA 含量很高, 但由于条石鲷不具备将它们转化为 DHA 的能力(Bell *et al.*, 1995), 因此无法弥补 DHA 的缺乏。由此可见, 在条石鲷人工育苗中 18—25d 的稚鱼期, 最容易发生的“死亡高峰”, 是一种不可逆的必需脂肪酸营养障碍性疾病, 与大黄鱼等鱼类十分类似(Sargent *et al.*, 1995; 王丹丽等, 2006)。此“死亡高峰”的淘汰率往往在 50%以上, 严重影响了条石鲷的育成率。预防的有效途径是尽量缩短卤虫无节幼体的投喂时间, 并应在生产中采取富含高度不饱和脂肪酸的营养剂或单胞藻强化技术加以弥补, 以增加稚鱼对 PUFA 的摄入量, 减少“死亡高峰”的发生。

3.4 条石鲷鱼苗脂肪酸组成与其它鱼苗比较

生活在海、淡水环境中的鱼类, 由于渗透压、饵料来源等外因的不同, 经长期进化造成海水鱼和淡水鱼对脂肪酸需求与合成、转移途径的差异。本研究结果与朱邦科等(2002)对“鲢早期发育阶段鱼体脂肪

酸组成变化”和王丹丽等(2006)对大黄鱼仔稚幼鱼脂肪酸的研究结果相比较不难发现,条石鲷的脂肪酸种类更为丰富、全面,鲢仔鱼仅有14种脂肪酸,大黄鱼为24种;尽管条石鲷和大黄鱼仔鱼以及鲢仔鱼都含有丰富的18C多不饱和脂肪酸(PUFA),但鲢仔鱼具有将18C多不饱和脂肪酸转化为20C和22C长链高度不饱和脂肪酸(HUFA)的能力,在未开口前鲢仔鱼已存在EPA和DHA,鲢仔鱼属自身合成;条石鲷仔鱼则不具备这种生物转化能力,HUFA来自母体提供,在卵子中也已存在较高含量的EPA和DHA,而大黄鱼仔鱼在摄食前却检测不到EPA和DHA。这符合通常淡水和河口性鱼类具备这种能力,而海洋鱼类不具备的现象(Watanabe *et al.*, 1989; Bell *et al.*, 1995)。此外,淡水鱼类仔、稚鱼一般不存在脂肪酸营养障碍问题,而海水仔、稚鱼通常会发生n-3HUFA的营养性疾病。大黄鱼“胀鳔病”与条石鲷的“死亡高峰”的成因有所不同,前者是由于DHA和EPA的缺乏以及AA偏高导致的稚鱼体内脂类运输障碍,后者则是因DHA不足,而EPA过高,可能引起细胞膜磷脂中DHA与EPA比例失衡所致。

参 考 文 献

- 王 菲,程家骅,罗海忠,2010. 东海条石鲷仔鱼耳石日轮与生长的关系. 中国水产科学, 17(2): 320—327
- 王丹丽,徐善良,严小军等,2006. 大黄鱼仔、稚、幼鱼发育阶段的脂肪酸组成及其变化. 水产学报, 30(2): 241—245
- 王吉桥,张 欣,刘革利,2001. 海水鱼类必需脂肪酸营养与需要的研究进展. 水产科学, 20(5): 39—43
- 牛化欣,常 杰,马 甦,2008. 条石鲷的生物学及养殖生态学研究进展. 水产科技情报, 35(1): 50—52
- 朱邦科,曹文宣,2002. 鲢早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化. 水生生物学报, 26(2): 130—135
- 刘镜恪,陈晓琳,2002. 海水仔稚鱼的必需脂肪酸——n-3系列高度不饱和脂肪酸研究概况. 青岛海洋大学学报, 32(6): 897—902
- 余 海,黄大宏,殷兴奎等,2010. 条石鲷工厂化养殖技术的初步研究. 浙江海洋学院学报, 29(3): 215—221
- 汪正范,2000. 色谱定性与定量. 北京: 化学工业出版社, 168—169
- 张 鹏,黄贤克,王铁杆等,2011. 不同混养模式下条石鲷·文蛤·龙须菜的生长状况研究. 安徽农业科学, 39(16): 9719—9720
- 胡玲玲,李加儿,区又君等,2010. 条石鲷肌肉营养成分分析及评价. 华南农业大学学报, 31(3): 72—75
- 徐永江,柳学周,王妍妍等,2009. 温度、盐度对条石鲷胚胎发育影响及初孵仔鱼饥饿耐受力. 渔业科学进展, 30(3): 25—31
- 徐秀兰,蒋企洲,胡磊军等,1997. 卤虫中蛋白质和脂肪酸组成的研究. 中国生化药物杂志, 18(6): 289—291
- 高淳仁,雷霖霖,2000. 海水鱼类高度不饱和脂肪酸营养研究概况. 海洋水产研究, 21(3): 72—75
- 常抗美,毛建平,吴剑锋等,2005. 条石鲷胚胎及仔稚鱼的发育. 上海水产大学学报, 14(5): 401—405
- Bell M V, Batty R S, Dick J R *et al.*, 1995. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids*, 30: 443—449
- Bligh E G, Dyer W J, 1959. A rapid method lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, 37: 911—923
- Cowey C B, Adron J W, Roberts R J, 1976. The effect of dietary oils on tissue fatty acids and tissue pathology in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Comp Biochem Physiol*, 53B: 399—403
- Gatesoupe F J, Leger C, Metailler R *et al.*, 1977. Alimentation lipidique du turbot (*Scophthalmus maximus* L.). I. Influence de la longueur de chaine des acides gras de la série 3. *Ann Hydrobiol*, 8: 89—97
- Klungsoy J, Tilseth S, Wilhelmssen S *et al.*, 1989. Fatty acid composition as an indicator of food intake in cod larvae *Gadua morhua* from Lofoten, Northern Norway. *Marine Biology*, 102: 183—188
- Koh J N, Kin Y U, 1992. Embryonic development and morphology of larvae and juveniles of parrot fish *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel). *Bulletin of the National Fisheries University of Pusan (Natural Science)*, 32: 29—45
- Lie O, 1993. Changes in the fatty acid composition of neutral lipids and glycerophospholipids in developing cod eggs. In: Walther B T, Fyhn H J ed. *Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development*. University of Bergen, Bergen, Norway, 330—337
- Metcalfe L D, 1966. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 38: 514—515
- Mourente G, Rodriguez A, Tocher D R *et al.*, 1993. Effects of dietary doco-sahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture*, 112: 79—98
- Owen J M, Adorn J W, Middleton C *et al.*, 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Lipids*, 10: 528—531
- Rainuzzo J R, Reitan K I, Olsen Y, 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155: 103—115
- Sargent J R, 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture*, 179: 217—229

- Sargent J R, Bell J G, Bell M V *et al*, 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *J Appl Ichthyol*, 11: 183—198
- Tocher D R, Harvie D G, 1998. Fatty acid composition of the major phosphoglycerides from fish neural tissues; (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cod (*Gadus morhua*) brains and retinas. *Fish Physiol Biochem*, 5: 229—239
- Tocher D R, Sargent J R, 1984. Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some Northwest European fish. *Lipids*, 19: 492—499
- Watanabe T, 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture*, 124: 223—251
- Watanabe T, Izquierdo M S, Takeuchi T *et al*, 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red sea bream. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 55: 1635—1640

THE STUDY OF FATTY ACID COMPONENTS IN EARLY DEVELOPMENTAL STAGE OF *OPLEGNATHUS FASCIATUS*

XU Shan-Liang, WANG Ya-Jun, WANG Dan-Li, YAN Xiao-Jun
(Marine College of Ningbo University, Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology,
Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo, 315211)

Abstract In order to investigate the fatty acid composition and changes of *Oplegnathus fasciatus* in early development, the total lipid and fatty acids composition of *O. fasciatus* in different developmental stages (unfertilized eggs, embryos, larval, juvenile, young) were measured by means of GC/MS. The *O. fasciatus* was sampled from the Hengma mariculture base of Ningbo Marine and Fisheries Research Institute, Ningbo, Zhejiang Province in May 2009. As a result, Twenty-eight fatty acids were detected in *O. fasciatus*, including 13 saturated fatty acids (SFA), 7 single unsaturated fatty acids (MUFA) and 8 poly unsaturated fatty acids (PUFA). Found the following characteristics: (1) The major fatty acids in eggs followed by C16:0, C22:6 (n-3) (DHA), C20:5 (n-3) (EPA) and C18:1 (n-9) (oleic acid), and the content of C16:0 was topped in each stage; (2) C16:0, C18:0 (SFA) and C18:1 (MUFA) were main source of energy metabolism during embryos and internal nutrition, while the DHA and EPA were preferentially preserved; (3) Feeding rotifers and copepods can significantly improve the content of essential fatty acid (AA, EPA, DHA), and feeding artemia can only increase rapidly in the C18:1 (n-9) (oleic acid), C18:2 (n-6) (suboleic acid) and C18:3 (n-3) (linolenic acid); (4) The main reason that “death peak” took place in juvenile fish may be lack of essential fatty acids AA and DHA and higher EPA in juveniles, which may cause the imbalance of DHA and EPA ratio in membrane phospholipid. The research result can offer a theoretical foundation to perfect the bait sequence of *O. fasciatus* during seedling stage and improve the success rate of artificial breeding.

Key words *Oplegnathus fasciatus*; eggs; embryos; larval; juvenile; young; fatty acids