褐菖鲉(*Sebastiscus marmoratus*)受精卵以及仔鱼期氨基酸与脂肪酸变化研究*

郭春阳[1] 林少珍[2] 巩建华[1] 邱成功[1] 赵 淳[1] 徐善良[1①]

(1. 宁波大学海洋学院 宁波 315211; 2. 浙江省海洋水产养殖研究所 温州 325000)

摘要 为研究褐菖鲉(*Sebastiscus marmoratus*)发育早期氨基酸和脂肪酸的组成及变化规律, 采用 GC/MS 法等方法分析了褐菖鲉的受精卵、初产仔鱼、前仔鱼期和后仔鱼期四个阶段的氨基酸和脂肪酸组成特点及其含量变化。结果表明: (1) 总氨基酸含量从受精卵至初产仔鱼显著下降、前仔鱼期又显著回升、至后仔鱼期再次呈显著下降($P<0.05$); (2) 总游离氨基酸量以初产仔鱼最高, 是受精卵的 10 倍, 各期的游离氨基酸占总氨基酸比值为 1.4%—20.0%; (3) 受精卵中以 DHA、C16:0 两者实际含量最高, 分别为 104.88 mg/g 和 68.74 mg/g, C18:1n-9 和 EPA 次之, 分别为 41.23 mg/g 和 27.23 mg/g; (4) 褐菖鲉内源性营养阶段被选择性消耗的主要脂肪酸依次为 C16:0 > C18:1 > EPA > DHA > ARA, 就脂肪酸的利用率而言 MUFA > SFA > PUFA; (5) 褐菖鲉仔鱼在开口后的外源营养阶段对脂肪酸的利用率为 PUFA > SFA > MUFA, 其中 DHA 相对 EPA 和 ARA 被选择性消耗。研究表明, 褐菖鲉受精卵的游离氨基酸/总氨基酸比值符合海水鱼类沉性卵的特征, 褐菖鲉在早期发育不同阶段对脂肪酸消耗具有不同的选择性, C16:1、C16:0、C18:0 和 C18:1 是褐菖鲉早期发育的主要能源物质, 在褐菖鲉开口饵料中添加一定水平的异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸等氨基酸及高度不饱和脂肪酸 DHA 等是十分必要的。

关键词 褐菖鲉; 受精卵; 仔鱼; 氨基酸; 脂肪酸

中图分类号 Q952.6 doi: 10.11693/hyhz20151000273

鱼类胚胎和仔鱼的质量与卵子的生化组成密切相关, 在鱼类胚胎发育和仔鱼发育早期阶段, 营养来源于鱼类卵黄所储存的内源性物质(常青, 2006)。早期仔鱼从内源性营养转变为外源性营养后, 造成早期仔鱼大量死亡主要因为所摄取饵料营养不能满足仔鱼发育需求; 另有研究表明, 海水鱼类仔鱼发育中的代谢强度与仔鱼开口时营养需要量密切相关(冯隆峰, 2012)。因此, 对鱼类胚胎期及仔鱼开口摄食前后营养物质的供给模型研究, 有助于了解开口仔鱼的营养需要量(王金燕, 2011)。

褐菖鲉(*Sebastiscus marmoratus*)又称石狗公, 在我国产于南海、东海、黄海、渤海, 分布于北太平洋西部沿岸。为卵胎生, 因其肉质细嫩、放流回捕率高, 是海洋牧场、垂钓渔业的最佳品种之一(吴莹莹等, 2006)。目前国内外对褐菖鲉已开展了较为广泛的研究(Nakanishi, 1986; 石戈等, 2007; Konishi *et al*, 2009; 邱成功等, 2014), 但对褐菖鲉受精卵、前仔鱼、后仔鱼各个阶段的氨基酸和脂肪酸变化尚未见研究报道。本文分析胚胎发育期以及仔鱼期褐菖鲉的氨基酸、脂肪酸组成变化和含量变化, 旨在明确褐菖鲉在母体内胚胎发育及开口仔鱼、后仔鱼期对氨基酸和脂肪酸营养的需求模式, 为今后褐菖鲉人工培苗中提高育成率提供理论参考。

* 浙江省科技厅创新团队项目, 2010R50025 号; 宁波市重大科技专项, 2015C110003 号。郭春阳, E-mail: 1411091901@nbu.edu.cn
① 通讯作者: 徐善良, 教授, E-mail: xushanliang@nbu.edu.cn
收稿日期: 2015-10-28, 收修改稿日期: 2015-12-29

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用材料取自浙江省海洋水产养殖研究所洞头基地。按受精卵、初产仔鱼、前仔鱼和后仔鱼 4 个不同发育阶段分别采样。受精卵样品采用解剖已受精的褐菖鲉雌鱼而获得；初产仔鱼为刚产出 6h 内的仔鱼；产出后 24h 仔鱼开口摄食，前期仔鱼取开口后 72h 的仔鱼；5d 后进入后仔鱼期，取开口后 10d 的仔鱼作为后仔鱼期样品。各期样品分别取 10—20g，前仔鱼与后仔鱼取样前需饥饿 12h，所有样品取样后立即用蒸馏水冲洗，滤纸吸去水分，放入液氮中冷冻，–80℃下保存。

1.2 实验方法

1.2.1 总氨基酸的测定　样品用 6 mol/L 盐酸 110℃封管水解 24h，然后用超纯水定容，取 2mL 减压蒸干并在干燥之后加 0.02 mol/L 的盐酸溶液 2mL，将全部氨基酸溶解，用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪进行测试。

1.2.2 游离氨基酸的测定　准确称取样品 1.0g，加入 5%三氯乙酸 15mL，定容至 25mL，在振荡器上充分混合，沉淀结合态蛋白质，然后 10000 r/min 离心 10min，用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪测定样品中游离氨基酸。

1.2.3 脂肪酸的测定　称取经冷冻干燥后的样品 0.1—0.2g，根据 Bligh-Dyer 法(Bligh *et al*, 1959)，将样品经过超声提取 2min 后并进行漩涡振荡 5min，在 3000r/min 下离心 6—8min，最后进行旋转蒸发，直至恒重。用 Metcalfe 的 BF3 催化法制取脂肪酸甲脂(Metcalfe *et al*, 1996)，首先将以上所得脂质用 KOH-甲醇于 60℃皂化 2h，之后加正己烷 1min，用 QP2010 气相色谱-质谱仪测定分析上清液。脂肪酸的百分含量用面积归一法求出(汪正范, 2000)。

1.3 统计分析方法

所测数据采用“SPSS version 19.0”软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)；统计间若有显著差异，再用 Duncan 法进行多重比较，$P<0.05$ 表示差异显著。试验数据以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 氨基酸组成及变化

2.1.1 总氨基酸组成　测得受精卵、初产仔鱼和前、后期仔鱼的氨基酸含量列于表 1，包括必需氨基酸和非必需氨基酸各 9 种。从总必需氨基酸含量看，以受精卵最高为 302.82mg/g，至初产仔鱼呈显著下降($P<0.05$)，前期仔鱼又显著上升($P<0.05$)，至后期仔鱼时再次呈显著下降($P<0.05$)；其中甲硫氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸和亮氨酸含量的变化趋势与总必需氨基酸变化趋势完全一致；而赖氨酸则以初产仔鱼阶段最高，比受精卵显著增加了 3 倍($P<0.05$)，至前、后期仔鱼呈显著下跌($P<0.05$)；缬氨酸、苏氨酸和精氨酸的含量，受精卵显著高于各期仔鱼，但仔鱼期含量基本保持稳定。

在非必需氨基酸中，总非必需氨基酸在受精卵含量为 135.43mg/g，至初产仔鱼显著下降($P<0.05$)，仔鱼开口摄食后的前期仔鱼又显著回升至 136.73mg/g ($P<0.05$)，后仔鱼期再次显著下降($P<0.05$)。丙氨酸、酪氨酸的含量以受精卵最高，是仔鱼的 2 倍左右，仔鱼阶段无显著变化。而羟基脯氨酸、天门冬氨酸的含量变化则相反，受精卵中不含羟基脯氨酸，天门冬氨酸含量最低，仔鱼显著上升($P<0.05$)，是受精卵含量的 1.5 倍；脯氨酸和丝氨酸的含量从受精卵至前期仔鱼呈先显著下降再上升的趋势($P<0.05$)，甘氨酸和半胱氨酸则表现从受精卵至后期仔鱼呈先显著上升再下降的趋势($P<0.05$)。只有谷氨酸的含量在褐菖鲉早期发育各阶段中无显著变化($P>0.05$)。

2.1.2 游离氨基酸组成　从受精卵到后期仔鱼各阶段游离氨基酸的含量列于表2。可以看出，游离氨基酸含量在各发育阶段的变化急剧程度远远大于总氨基酸含量，受精卵的游离氨基酸含量为6.31mg/g，初产仔鱼骤升了10倍，至前仔鱼期又下降42%，后仔鱼期再次上升至54.85mg/g。在必需游离氨基酸中，所有必需游离氨基酸从受精卵到初产仔鱼阶段均呈显著升高($P<0.05$)，而从初产仔鱼到前期仔鱼阶段有显著下降的趋势($P<0.05$)，前期仔鱼至后期仔鱼阶段中除缬氨酸含量又呈显著递增($P<0.05$)。从受精卵至初产仔鱼阶段中必需游离氨基酸的含量除缬氨酸外显著升高($P<0.05$)，缬氨酸从初产仔鱼至后期仔鱼阶段却显著下降($P<0.05$)。在非必需游离氨基酸中，所有游离氨基酸的含量从受精卵到初产仔鱼均显著升高($P<0.05$)；除天门冬氨酸从初产仔鱼至后期仔鱼阶段始终无显著变化($P>0.05$)，其它氨基酸的含量从初产仔鱼至前期仔鱼阶段都呈显著降低($P<0.05$)，前期仔鱼至后期仔鱼阶段，谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸的含量也无明显变化，其余氨基酸的含量再次呈升高趋势($P<0.05$)。表2中还可见，褐菖鲉游离氨基酸/总氨基酸的比值范围为1.4%—20.0%。

表 1　总氨基酸含量的变化(mg/g 干重)

Tab.1　Changes in total amino acid content (mg/g DW)

氨基酸	受精卵	初产仔鱼	前期仔鱼	后期仔鱼
必需氨基酸 Essential				
甲硫氨酸 Met	32.23±1.07[a]	19.07±0.93[c]	21.43±1.29[b]	18.20±0.56[c]
赖氨酸 Lys	4.07±0.70[c]	14.20±1.42[a]	0	7.73±1.19[b]
缬氨酸 Val	40.01±3.06[a]	24.83±1.99[b]	25.53±1.42[b]	23.00±0.10[b]
异亮氨酸 Ile	35.17±1.05[a]	18.93±1.29[c]	21.13±0.93[b]	19.80±1.05[bc]
苯丙氨酸 Phe	37.33±6.30[a]	23.47±2.79[c]	32.07±1.06[ab]	26.03±1.02[bc]
亮氨酸 Leu	57.70±8.71[b]	31.73±1.04[c]	84.73±2.42[a]	30.43±1.17[c]
苏氨酸 Thr	37.87±4.54[a]	27.40±2.10[b]	28.60±1.37[b]	25.63±0.95[b]
精氨酸 Arg	42.50±0.69[a]	36.23±1.74[b]	35.20±3.10[b]	44.60±0.62[a]
组氨酸 His	15.07±1.24	15.17±0.96	15.57±1.42	13.70±0.17
色氨酸 Trp	0.41±0.05[d]	6.59±0.35[b]	4.62±0.34[c]	7.98±0.25[a]
必需氨基酸总和 Sum essential	302.82±15.76[a]	224.22±9.40[c]	273.50±0.88[b]	224.97±4.42[c]
非必需氨基酸 Non-essential				
羟基脯氨酸 Hyp	0	0.80±0.17[b]	1.13±0.29[ab]	1.27±0.31[a]
丙氨酸 Ala	22.80±1.47[a]	11.40±1.04[b]	11.07±1.59[b]	11.03±1.86[b]
脯氨酸 Pro	16.70±3.40[a]	11.53±1.19[b]	15.27±0.83[a]	15.40±0.78[a]
丝氨酸 Ser	32.80±1.54[a]	26.27±2.18[b]	34.47±1.82[a]	25.63±0.95[b]
谷氨酸 Glu	21.03±1.37[a]	24.53±1.74[a]	21.93±1.40[a]	23.50±2.82[a]
酪氨酸 Tyr	13.38±0.99[a]	7.97±1.21[b]	8.50±1.08[b]	7.20±0.46[b]
天门冬氨酸 Asp	14.60±0.52[b]	22.00±1.95[a]	21.10±1.05[a]	20.87±0.67[a]
甘氨酸 Gly	13.30±1.05[c]	19.07±1.65[b]	22.07±1.00[a]	18.63±0.95[b]
半胱氨酸 Cys	0.37±0.12[b]	1.20±0.52[a]	1.20±0.44[a]	0.70±0.17[ab]
非必需氨基酸总和 Sum non-essential	135.43±4.35[a]	124.77±3.41[b]	136.73±0.70[a]	124.23±1.74[b]
总和 Sum free amion acids	438.25±19.97[a]	348.99±12.80[c]	401.23±0.81[b]	349.20±2.72[c]

注: 同行数据肩注不同字母表示有显著性差异(P<0.05)。下表同

表 2　游离氨基酸含量及与总氨基酸的比值(mg/g 干重)

Tab.2　Changes in total free amino acid content (mg/g DW)

氨基酸	受精卵	初产仔鱼	前期仔鱼	后期仔鱼
必需氨基酸 Essential				
甲硫氨酸 Met	0.04±0.01[d]	4.33±0.16[a]	2.06±0.44[c]	2.71±0.10[b]
赖氨酸 Lys	2.91±0.02[c]	7.75±0.07[a]	2.72±0.14[d]	7.10±0.09[b]
缬氨酸 Val	0.16±0.05[c]	2.44±0.06[a]	1.42±0.05[b]	2.60±0.23[c]
异亮氨酸 Ile	0.13±0.02[d]	1.86±0.07[b]	1.38±0.10[c]	2.19±0.05[a]
苯丙氨酸 Phe	0.06±0.02[d]	3.26±0.12[b]	2.19±0.09[c]	3.73±0.06[a]
亮氨酸 Leu	0.25±0.02[d]	5.19±0.05[a]	3.83±0.02[c]	4.38±0.09[b]
苏氨酸 Thr	0.23±0.05[d]	4.03±0.06[a]	2.03±0.05[c]	2.60±0.16[b]
精氨酸 Arg	0.40±0.02[d]	3.63±0.06[a]	1.89±0.09[c]	2.55±0.06[b]
组氨酸 His	0.58±0.09[d]	6.03±0.10[b]	4.32±0.96[c]	7.39±0.30[a]
必需氨基酸总和 Sum essential	4.77±0.07[d]	38.51±0.04[a]	21.84±0.92[c]	35.25±0.17[b]
非必需氨基酸 Non-essential				
羟基脯氨酸 Hyp	0	0.04±0.01[a]	0.02±0.01[b]	0.03±0.01[ab]
丙氨酸 Ala	0.27±0.02[d]	6.15±0.06[a]	3.74±0.05[c]	3.93±0.06[b]
脯氨酸 Pro	0.06±0.02[d]	1.04±0.11[b]	0.90±0.07[c]	1.19±0.06[a]
丝氨酸 Ser	0.80±0.09[d]	5.70±0.11[a]	3.36±0.02[c]	4.10±0.02[b]
谷氨酸 Glu	0.17±0.03[c]	4.47±0.05[a]	3.03±0.13[b]	3.12±0.10[b]
酪氨酸 Tyr	0.12±0.03[d]	3.50±0.03[a]	2.20±0.04[c]	3.2±0.06[b]
天门冬氨酸 Asp	0.05±0.01[b]	1.55±0.08[a]	0.91±0.05[a]	1.04±0.90[a]
甘氨酸 Gly	0.10±0.02[c]	3.93±0.09[a]	1.55±0.06[b]	1.48±0.11[b]
半胱氨酸 Cys	0	0.10±0.01[a]	0.04±0.02[b]	0.05±0.02[b]
非必需氨基酸总和 Sum non-essential	1.54±0.15[d]	28.62±0.32[a]	17.64±0.15[c]	19.60±0.24[b]
总和 Sum free amion acids	6.31±0.17[d]	67.14±0.29[a]	39.48±0.81[c]	54.85±0.41[b]
游离氨基酸/总氨基酸	0.01	0.02	0.10	0.16

2.2 褐菖鲉早期发育各阶段主要脂肪酸组成特点

表3为褐菖鲉各阶段总脂的含量，从褐菖鲉受精卵至初产仔鱼，总脂的绝对含量由受精卵的332.52mg/g急剧跌至114.81mg/g，这可能是因为脂肪作为其能量的主要来源；从初产仔鱼至前期仔鱼阶段因摄食轮虫总脂的含量迅速升至274.24mg/g，至摄食轮虫与丰年虫的后期仔鱼阶段升至366.85mg/g。

表 3 褐菖鲉各阶段总脂的含量(mg/g 干重)

Tab.3 *S. marmoratus*'s total lipid content in different developmental stages (mg/g DW)

发育阶段	受精卵	初产仔鱼	前期仔鱼	后期仔鱼
总脂含量	332.52±12.37[b]	114.81±9.75[d]	274.24±10.41[c]	366.85±16.32[a]

表4为褐菖鲉各阶段脂肪酸的百分比组成，其中共检测出脂肪酸26种，这些脂肪酸的起始碳链长度在14碳至24碳之间。在这些脂肪酸中，饱和脂肪酸(SFA)有14种，单不饱和脂肪酸(MUFA)和多不饱和脂肪酸(PUFA)均各有6种。前期仔鱼的∑SFA最高，为33.86%($P<0.05$)，SFA中百分含量居前两位的是C16:0(软脂酸)和C18:0(硬脂酸)，C16:0在受精卵含量最高，为20.67%，随着仔鱼发育百分含量不断下降，至后期仔鱼显著下降为13.39%($P<0.05$)；C18:0则不同，受精卵至初产仔鱼阶段显著下降，但开口后又显著上升为受精卵含量的2倍；∑MUFA表现为从受精卵至前仔鱼期显著降低，后期仔鱼又显著升高($P<0.05$)，其中以C18:1 n-9 (油酸)含量最高，受精卵为12.4%，初产仔鱼下降至11.4%，前仔鱼期开始迅速上升，后期仔鱼含量是受精卵的1.5倍。∑PUFA比例占33.27%—51.27%，在前三个阶段占绝对优势，但后期仔鱼阶段∑SFA、∑MUFA和∑PUFA各占1/3。PUFA中DHA高达15.57%—37.31%，其次是EPA保持在8.19%—9.58%，第三位的是ARA(花生四烯酸)，占3.75%—6.27%。

表 4 褐菖鲉各阶段脂肪酸的组成百分比(%)

Tab.4 Fatty acid composition of *S. marmoratus* in different stages (%)

脂肪酸	受精卵	初产仔鱼	前期仔鱼	后期仔鱼
C14:0	1.70±0.13[b]	3.93±0.62[a]	2.05±0.10[b]	0.73±0.18[c]
9-M-C15:0	0.11±0.02[b]	0.16±0.03[b]	0.14±0.02[b]	0.40±0.14[a]
12-M-C15:0	0.02±0.00[b]	0.70±0.12[a]	0.03±0.01[b]	0.04±0.01[b]
C15:0	0.19±0.01[d]	1.04±0.07[a]	0.57±0.09[c]	0.42±0.05[b]
14-M-C16:0	0.09±0.01[d]	0.48±0.04[a]	0.34±0.09[c]	0.22±0.03[b]
C16:0	20.67±0.54[a]	16.28±0.56[b]	15.06±0.33[c]	13.39±0.43[d]
C16:1n-7	6.35±0.46[b]	0.01±0.00[c]	0	7.13±0.33[a]
15-M-C17:0	0.27±0.04[c]	0.47±0.04[b]	0.33±0.03[c]	0.72±0.05[a]
14-M-C17:0	0.06±0.01[c]	0.31±0.03[a]	0.16±0.05[b]	0.13±0.04[b]
C17:0	1.42±0.10[a]	0.94±0.08[b]	0.93±0.08[b]	0.93±0.08[b]
9,10-CP-C17:0	0.01±0.00[a]	0	0	0
C18:0	6.94±0.12[b]	5.70±0.33[c]	13.30±0.21[a]	13.06±0.27[a]
C18:1n-9	12.40±0.53[c]	11.04±0.08[d]	14.43±0.46[b]	19.31±0.39[a]
C18:1n-7	3.61±0.05[c]	5.03±0.06[b]	4.80±0.10[b]	6.75±0.18[a]
C18:2n-6	0.99±0.03[c]	0.83±0.07[d]	1.74±0.10[a]	1.56±0.08[b]
C18:3n-6	0.07±0.01[c]	0.23±0.06[b]	0.34±0.02[a]	0.33±0.02[a]
C18:3n-3	0.64±0.02[b]	0.48±0.04[c]	0.59±0.03[b]	2.09±0.10[a]
C19:0	0	0.39±0.02[a]	0.36±0.03[a]	0.01±0.00[b]
C20:0	0.21±0.02[c]	0.72±0.03[a]	0.53±0.06[b]	0.52±0.04[b]
C20:1n-9	0.29±0.02[d]	0.73±0.04[c]	0.81±0.01[b]	1.70±0.02[a]
C20:4n-6	3.75±0.16[c]	4.17±0.16[bc]	6.27±0.37[a]	4.50±0.50[b]
C20:5n-3	8.19±0.33[b]	8.25±0.21[b]	9.58±0.50[a]	9.22±0.36[a]
C22:0	0.02±0.00[c]	0.01±0.00[c]	0.07±0.01[b]	0.71±0.05[a]
C22:1n-9	0.16±0.02[c]	0.22±0.03[c]	0.42±0.09[b]	0.61±0.08[a]
C22:6n-3	31.54±1.43[b]	37.31±0.59[a]	26.53±0.23[c]	15.57±0.52[d]
C24:1n-9	0	0	0.14±0.02[a]	0
∑n-3 PUFA	39.73±1.60[b]	45.56±0.39[a]	36.11±0.56[c]	24.79±0.87[d]
∑n-6 PUFA	3.75±0.16[c]	4.17±0.16[bc]	6.27±0.37[a]	4.50±0.49[b]
∑SFA	31.71±0.55[b]	31.12±0.57[b]	33.86±0.37[a]	31.30±0.51[b]
∑MUFA	22.81±0.94[b]	17.03±0.09[d]	20.68±0.53[c]	35.50±0.34[a]
∑PUFA	45.18±1.70[b]	51.27±0.35[a]	45.05±0.37[b]	33.27±1.31[c]
∑DHA+EPA	39.73±1.61[b]	45.56±1.29[a]	36.11±0.56[c]	24.79±1.07[d]
EPA/ DHA	25.97%	22.11%	36.11%	59.22%

由总脂含量计算得到几种重要脂肪酸的实际含量见表 5。由表 5 可知, 在褐菖鲉发育早期的各个阶段, 这 17 种重要的脂肪酸中 DHA 的实际含量最高, 在受精卵至初产仔鱼不断下降, 而到了开口摄食阶段后立即呈显著回升趋势($P<0.05$), 多数脂肪酸升至峰值, 这与其它 10 种脂肪酸变化规律完全相同。也有 C18:3n-6、C20:1n-9、C20:5n-3、C22:0、C22:1n-9 和 C24:1n-9 等 6 种重要的脂肪酸从受精卵至初产仔鱼阶段均无明显变化, 但开口摄食后立即出现显著上升($P<0.05$), 且多数升至峰值。C16:1n-7 从受精卵至前期仔鱼阶段均无明显变化, 但从后期仔鱼开始显著上升($P<0.05$)。

褐菖鲉受精卵中的脂肪酸以PUFA和SFA为主, 分别为150.23 mg/g和105.40 mg/g, MUFA稍低, 为75.85 mg/g。就单个脂肪酸而言, 以DHA、C16:0两者含量最高, 分别为104.88 mg/g和68.74 mg/g; C18:1n-9和EPA次之, 分别为41.23 mg/g和27.23 mg/g; 初产仔鱼尚未开口摄食, 此时脂肪酸的实际含量急剧显著下降($P<0.05$), ∑SFA、∑MUFA和∑PUFA分别跌至36.02、19.55和58.86 mg/g, 主要表现为DHA、C16:0、C18:1n-9、EPA、C18:0和C16:1n-7显著下降($P<0.05$); 因为开始摄食轮虫, 前期仔鱼脂肪酸的含量出现显著回升($P<0.05$), ∑SFA、∑MUFA和∑PUFA分别比初产仔鱼升高1.6倍、1.9倍和1.1倍, 其中C16:0、C18:0分别升高1.2倍和5.6倍, 同时, DHA、EPA和ARA含量也迅速上升至72.76、26.27和17.20 mg/g; 后期仔鱼以摄食卤虫为主, ∑MUFA和∑SFA含量继续显著增加($P<0.05$), 尤其是∑MUFA含量比前期仔鱼增加了1.3倍, 此时, 17种重要脂肪酸中的∑SFA、∑MUFA和∑PUFA的实际含量分别是114.83、130.24、122.05 mg/g, 三者约各占1/3。

由表5计算得图1、图2。∑SFA、∑MUFA、∑PUFA之间的比值, 以及∑n-3 PUFA与∑n-6 PUFA比值变化见图1, 褐菖鲉从受精卵至初产仔鱼阶段, ∑SFA/∑MUFA及∑PUFA/∑MUFA 比值显著升高($P<0.05$), 说明MUFA相对于SFA和PUFA被选择性消耗, 又因

表 5　褐菖鲉各阶段主要脂肪酸的实际含量(mg/g 干重)

Tab.5　Actual contents of main fatty acids in *S. marmoratus* of different stages (mg/g DW)

脂肪酸	受精卵	初产仔鱼	前期仔鱼	后期仔鱼
C16:0	68.74±1.78[a]	18.69±0.64[d]	41.31±3.14[c]	49.13±4.23[b]
C16:1n-7	21.10±1.54[b]	0.01±0.00[c]	0	26.17±1.22[a]
C17:0	4.73±0.32[a]	1.08±0.09[d]	2.54±0.27[c]	3.41±0.29[b]
C18:0	23.07±0.38[c]	6.54±0.48[d]	36.46±2.35[b]	47.91±1.34[a]
C18:1n-9	41.23±5.80[b]	12.67±0.09[c]	39.58±1.25[b]	70.84±1.45[a]
C18:1n-7	11.99±0.16[b]	5.77±0.29[c]	13.16±0.87[b]	24.76±0.88[a]
C18:2n-6	3.28±0.40[c]	0.95±0.08[d]	4.76±0.27[b]	5.74±0.29[a]
C18:3n-6	0.23±0.04[c]	0.26±0.06[c]	0.93±0.06[b]	1.21±0.04[a]
C18:3n-3	2.12±0.34[b]	0.55±0.04[c]	1.61±0.30[b]	7.67±0.50[a]
C20:0	0.69±0.10[c]	0.83±0.09[c]	1.46±0.11[b]	1.92±0.21[a]
C20:1n-9	0.97±0.05[c]	0.84±0.05[c]	2.23±0.27[b]	6.22±0.43[a]
C20:4n-6	12.48±0.85[b]	4.79±0.28[c]	17.20±1.00[a]	16.49±3.22[a]
C20:5n-3	27.23±1.11[b]	9.48±0.93[c]	26.27±1.51[b]	33.81±2.02[a]
C22:0	0.05±0.01[bc]	0.01±0.00[c]	0.19±0.06[b]	2.62±0.17[a]
C22:1n-9	0.54±0.14[c]	0.25±0.08[c]	1.16±0.24[b]	2.24±0.29[a]
C22:6n-3	104.88±4.76[a]	42.83±0.68[d]	72.76±3.03[b]	57.13±1.91[c]
C24:1n-9	0	0	0.38±0.01[c]	0.01±0.00[a]
∑n-3 PUFA	134.24±5.47[a]	52.86±1.45[c]	100.64±1.79[b]	98.61±4.25[b]
∑n-6 PUFA	15.99±0.50[b]	6.01±0.19[c]	22.89±0.94[a]	23.44±3.49[a]
∑SFA	105.40±1.80[b]	36.02±0.74[d]	92.87±0.73[c]	114.83±3.89[a]
∑MUFA	75.85±4.859[b]	19.55±0.44[d]	56.52±1.41[c]	130.24±1.23[a]
∑PUFA	150.23±5.75[a]	58.86±1.49[c]	123.54±1.54[b]	122.05±5.08[b]
∑DHA+EPA	132.11±5.34[a]	52.31±1.48[d]	99.04±1.55[b]	90.94±3.91[c]
EPA/ DHA	0.26	0.22	0.36	0.59

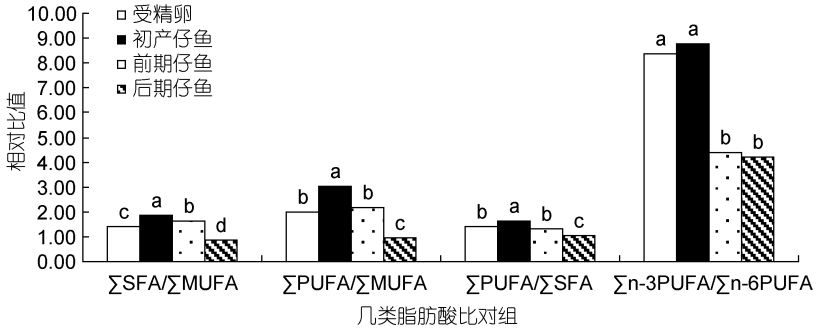

图 1 褐菖鲉胚胎及仔鱼发育中几类重要脂肪酸相对比值的变化

Fig.1 Changes in relative ratio among essential fatty acids in developmental egg and larvae of *S. marmoratus*

同一组标注不同字母表示有显著性差异(P<0.05)。下同

为∑PUFA/∑SFA比值也显著升高(P<0.05)，说明SFA相对于PUFA被选择性消耗，所以在受精卵至初产仔鱼阶段脂肪酸选择性消耗次序为MUFA > SFA > PUFA。而从初产仔鱼至后期仔鱼阶段，上述三个比值却呈显著降低(P<0.05)，说明此阶段利用次序为PUFA > SFA > MUFA。在PUFA中，∑n-3 PUFA/∑n-6 PUFA在褐菖鲉受精卵至初产仔鱼以及前期仔鱼至后期仔鱼阶段无显著变化(P>0.05)，但在初产仔鱼至前期仔鱼阶段却显著下降(P<0.05)。说明在这一阶段中，∑n-3 PUFA相对∑n-6 PUFA被机体选择性消耗。

由图2可知，从受精卵至后期仔鱼的C16:0/C18:0比值下降，反映了SFA中的C18:0相对得到保留，而C16:0被选择性消耗。同样在主要的MUFA中，C16:1/C18:1变化反映出从受精卵至初产仔鱼阶段，C16:1被选择性大量消耗，而从前期仔鱼至后期仔鱼阶段，比值显著上升(P<0.05)，则此阶段C18:1被选择性消耗。DHA/EPA比值在受精卵至初产仔鱼显著升高，此后比值显著降低(P<0.05)。从初产仔鱼至前期仔鱼阶段，EPA/ARA与DHA/ARA显著降低(P<0.05)，反映在此阶段中EPA和DHA相对ARA被选择性消耗，且DHA相对EPA消耗更甚。而前期仔鱼至后期仔鱼阶段，EPA/ARA显著升高(P<0.05)，DHA/ARA则变化不显著(P>0.05)，这说明在此阶段ARA相对EPA被选择性消耗。

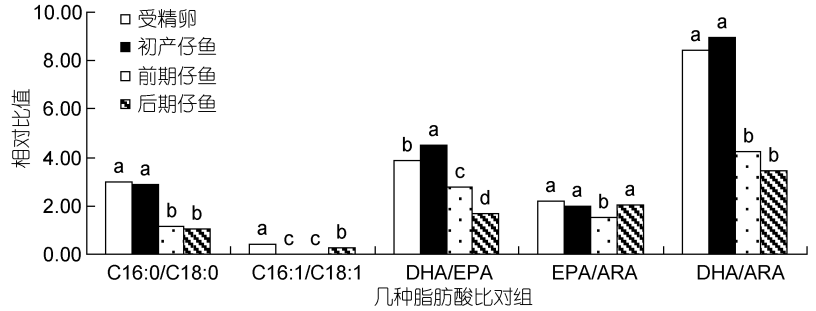

图 2 褐菖鲉胚胎及仔鱼发育中几种重要脂肪酸的相对比值变化

Fig.2 Changes in relative ratio among essential fatty acids in developmental egg and larvae of *S. marmoratus*

3 讨论

3.1 褐菖鲉发育早期的氨基酸组成及其变化规律

很多海水硬骨鱼类的卵子中有一个或者数个油球，为浮性卵，林丹军等(2002)却发现褐菖鲉卵子虽含有 1 个较大的油球，但其为沉性卵。另据研究认为，海洋鱼类浮性卵的游离氨基酸含量为总氨基酸含量的 20%—50%而沉性卵仅为 2%—3% (Rønnestad *et al*, 1993)。由表 2 已知，褐菖鲉的受精卵中游离氨基酸/总氨基酸值为 1.4%，因褐菖鲉属于卵胎生鱼类，具有其特殊性，故其比值接近沉性卵而低于沉性卵。

褐菖鲉从受精卵到初产仔鱼时总氨基酸含量显著下降了 23.23% (P<0.05)，必需氨基酸总和、非必需氨基酸总和也分别下降了30.13%和7.83%，这与半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)的报道类似(常青等，2007)。褐菖鲉的受精卵在母体内完成胚胎发育，孵化出膜后继续在卵巢液中发育至开口，当卵黄囊将要

耗尽时才由母体内产出, 在母体内的这个过程中胚胎和仔鱼消耗了卵黄囊中的大量能量与营养物质。因此, 初产仔鱼所含的氨基酸总量呈显著降低。随着仔鱼开口摄食, 前期仔鱼开始获得外源营养, 故其体内的总氨基酸也迅速积累。但是随着仔鱼的快速生长, 代谢活动不仅要消耗大量的能量物质, 各个器官组织的发育也需要大量的氨基酸用于身体结构蛋白的合成, 可能是由于摄入的蛋白质跟不上鱼体对氨基酸的需求, 因而出现了后期仔鱼中的总氨基酸含量暂时下跌的现象。

从游离氨基酸总量看, 初产仔鱼的含量是受精卵的 10 倍, 前期仔鱼又显著下降了 41.20%, 游离氨基酸占总氨基酸比值也表明, 在受精卵发育阶段游离氨基酸被大量利用, 使游离氨基酸含量降到谷底。至初产仔鱼随着水解氨基酸总量下降, 但游离氨基酸迅速上升, 这与六带牙鲷(*Pelates sexlineatus*)、半滑舌鳎的游离氨基酸含量从受精卵到卵黄囊仔鱼再到初产仔鱼一直降低的研究结果差异较大(Brown *et al*, 2005; 常青等, 2007)。但却与大西洋鲑鱼(*Salmo salar*) (Srivastava *et al*, 1995)以及硬头鳟(*Salmo gairdneri*) (徐绍刚等, 2011)的研究结果一致。有报道指出海水仔鱼受精卵发育到开口仔鱼期间, 游离氨基酸的总和持续下降, 但是有的种类在卵和卵黄囊两个阶段都有发生, 而有的种类在二者中的一个阶段中发生。褐菖鲉孵化后 1d 便可以看到摄食现象, 卵黄囊体积减小, 消化道也已分化。由此可见, 褐菖鲉游离氨基酸的消耗主要发生在受精卵阶段, 而在摄食后的消耗相对较少。在胚胎发育中游离氨基酸的主要作用是参加鱼体蛋白的合成以及作为能源被分解利用, 而氧化分解代谢基质的模式又根据鱼的受精卵是否具有油球而异, 对于具有油球的受精卵, 50%的能量来自氨基酸的分解代谢(主要是游离氨基酸, 但当其耗尽则分解蛋白质), 50%的能量来自中性脂如蜡酯和甘油三酯的分解代谢(Rønnestad *et al*, 1993)。褐菖鲉的受精卵具有 1 个较大的油球, 其能量的代谢模式应该属于这种。

对于褐菖鲉仔鱼开口饵料来说, 从受精卵到开口仔鱼氨基酸的变化更有参考意义。有研究指出, 仔鱼的开口期是发育的关键时期, 其营养逐步由内源性营养经混合型营养最后转换为外源性营养, 此时会表现仔鱼快速死亡, 它常被称作“死亡期”或是“危险期”, 所以及时地供给丰富、足够的开口饵料在鱼苗培育过程中十分重要。褐菖鲉仔鱼从母体产出时就已开口, 第 6 天卵黄囊彻底消失, 鱼体进入完全外源性营养阶段。鱼体的氨基酸组成往往作为其氨基酸需要量的参考标准, 当饲料中含有的可消化吸收氨基酸比例与鱼类对各种氨基酸需要量的比例相近时, 即达到氨基酸平衡时, 就能满足鱼类对氨基酸的需要量。褐菖鲉从受精卵到开口仔鱼时期总氨基酸含量快速下降的是丙氨酸, 其次是异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸和甲硫氨酸, 必需氨基酸下降程度高于非必需氨基酸。因此, 在褐菖鲉仔鱼的开口饵料中添加一定水平的上述氨基酸尤其是必需氨基酸是十分必要的。

3.2　褐菖鲉发育早期的脂肪酸组成及其变化规律

在鱼类受精卵和仔鱼发育过程中, 脂肪酸起着十分重要的作用。海水鱼类在开口摄食前的发育过程完全依赖内源性营养物质维持正常的生理活动(常青, 2006)。褐菖鲉的受精卵的主要脂肪酸实际含量中, 以 DHA、C16:0 最高, 其次是 C18:1n-9 和 EPA, 这一结果与大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、大西洋鳕、真鲷(*Pagrus major*)和庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)等(Klungsøyr *et al*, 1989)海洋鱼类鱼卵总脂中的主要脂肪酸组成相同, 说明这些脂肪酸对褐菖鲉早期发育至关重要。但与金头鲷(*Sparus aurata*)鱼卵中主要脂肪酸组成顺序不同(刘镜恪等, 2002), 这可能是由于存在种间差异所致。

在褐菖鲉的内源性营养阶段中, PUFA 的含量显著高于 MUFA 和 SFA, 这个结果与半滑舌鳎(常青等, 2007)以及黑线鳕(*Melanogrammus aeglefinus*) (Plante *et al*, 2007)等许多海水鱼类的研究结果一致。淡水鱼类中的受精卵中, 却是 SFA 高于 MUFA 和 PUFA 的含量, 这是淡水鱼类与海水鱼类受精卵和卵黄囊仔鱼中脂肪酸组成的重要差别(黄旭雄等, 2013)。

有研究表明, 某些鱼类在发育过程中对脂肪酸的利用存在一定的选择性(黄旭雄等, 2013)。图 1 和图 2 中, 在褐菖鲉吸收卵黄内源营养的发育阶段, C16:0 > C18:1 > EPA > DHA > ARA 为被选择性消耗的主要脂肪酸, PUFA 相对 SFA 和 MUFA 被机体选择性保留, 而 SFA 又相对于 MUFA 被机体选择性保留。所以, SFA、MUFA、PUFA 三者在褐菖鲉内源性营养阶段的利用率为 MUFA > SFA > PUFA。即 MUFA 和 SFA 作为褐菖鲉胚胎及仔鱼发育阶段重要能源被首先利用, 其中 MUFA 利用率较 SFA 高, 而 PUFA 被适当地保存下来, 这与海水鱼类在内源性营养阶段首先利用 SFA 和 MUFA 的规律一致(刘镜恪等, 2002)。如黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*) (卢素芳等, 2008)

和突吻鳕鲈(*Maccullochella macquariensis*) (Gunasekera *et al*, 1999)的仔鱼也优先利用MUFA作为能量基质被消耗, MUFA 中 C16:1 相对 C18:1 被选择性消耗。其次, SFA 中 C16:0、C18:0 在菖鲉受精卵至后期仔鱼发育期间亦起着重要作用, 表 5 所示, 从受精卵至初产仔鱼显著下降, 可以认为在褐菖鲉胚胎及体内仔鱼发育阶段也主要利用C16:0和C18:0为主要能源物质, 这与硬头鳟、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)等海水鱼鱼类的研究结果一致(徐绍刚等, 2011; 徐善良等, 2013)。

大量研究证实, EPA、DHA 和 ARA 是海水仔、稚鱼的必需脂肪酸(Lie, 1993), 尤其是 n-3 系列 PUFA(EPA、DHA)在海水鱼类细胞膜的脂类中占相当大的比例, 能影响水产动物亲体的繁殖力、受精率以及仔鱼生长和存活(Gunasekera *et al*, 2001)。n-6 系列中, ARA是海水鱼前列腺素合成的主要来源, 且ARA对海水仔稚鱼的生长存活等多方面发挥重要的影响(徐善良等, 2013)。本研究结果显示, 在褐菖鲉的受精卵中含有丰富 DHA、EPA 和 ARA, 三者的百分含量在初产仔鱼期表现出不降反升的现象。这说明 PUFA 中, EPA、DHA 和 ARA 利用率较低被优先保存下来。尽管如此, 在褐菖鲉仔鱼开口前既无外源营养, 又不能将短链脂肪酸延长去饱和生成 EPA 和 DHA。因此表现为初产仔鱼 DHA、EPA 和 ARA 实际含量仍然显著下降, 这表明在褐菖鲉仔鱼卵黄囊被吸收的前期阶段, 已开始利用 DHA 等 PUFA。这也与条石鲷的研究结果相似(徐善良等, 2013)。而与 Mourente 等(1996)对饥饿的塞内加尔鳎仔鱼的研究中发现 DHA 始终保持不变的结果不同。

而当褐菖鲉仔鱼开口摄食轮虫后, SFA 中 C16:0、C18:0, MUFA 中 C18:1, 以及 PUFA 中 DHA、EPA 和 ARA 均得到迅速补充, 此后的脂肪酸利用次序则表现为 PUFA > SFA > MUFA。至后仔鱼期, 由于开始摄食富含 C18:0、C18:1 而缺乏 PUFA 的卤虫, 仔鱼体内的 C18:0 和 C18:1 迅速上升, 这与黄旭雄等(2013)对日本鬼鲉的研究结果完全相同。同时, 在后仔鱼期因食物中 PUFA 获取不足或 n-3 PUFA 被选择性消耗, 出现∑PUFA 百分比显著下降, 而 DHA 相对 EPA 和 ARA 则被选择性消耗, 实际含量下降更甚。因此, 在褐菖鲉后期仔鱼阶段适当补充 DHA, 对获得其良好的生长性能很有必要。也证明了这些鱼类的高度不饱和脂肪酸含量变化与饵料密切相关, 主要依赖外界营养提供。以上结果表明褐菖鲉在各发育阶段对脂肪酸的利用同样具有不同的选择性。

参 考 文 献

王金燕, 2011. 哲罗鲑胚胎和仔鱼发育期的生化组成变化及温度对仔稚鱼生长的影响研究. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 2—4

冯隆峰, 2012. 日本鬼鲉早期发育及其脂类与脂肪酸特性变化: 与含油球浮性卵仔鱼的比较. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 50—54

卢素芳, 赵 娜, 刘华斌等, 2008. 黄颡鱼早期发育阶段受精卵和鱼体脂肪酸组成变化. 水产学报, 32(5): 711—716

石 戈, 王健鑫, 刘雪珠等, 2007. 褐菖鲉消化道的组织学和组织化学. 水产学报, 31(3): 293—302

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

吴莹莹, 柳学周, 马爱军等, 2006. 饥饿对半滑舌鳎仔鱼生长和发育的影响. 海洋水产研究, 27(2): 87—93

汪正范, 2000. 色谱定性与定量. 北京: 化学工业出版社, 168—169

邱成功, 徐善良, 林少珍等, 2014. 不同温度条件下褐菖鲉幼鱼的耗氧率和排氨率. 应用海洋学学报, 33(1): 84—89

林丹军, 尤永隆, 2002. 卵胎生硬骨鱼褐菖鲉胚胎及仔鱼的发育. 台湾海峡, 21(1): 45—52

徐绍刚, 田照辉, 王跃智等, 2011. 硬头鳟受精卵、发眼卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼氨基酸及脂肪酸的变化. 水生生物学报, 35(6): 1032—1037

徐善良, 王亚军, 王丹丽等, 2013. 条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)发育早期的脂肪酸组成变化研究. 海洋与湖沼, 44(2): 438—444

常 青, 2006. 半滑舌鳎仔稚鱼营养生理与开口饲料的开发研究. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 1—2

常 青, 梁萌青, 陈四清等, 2007. 半滑舌鳎受精卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼氨基酸及脂肪酸的变化. 水生生物学报, 31(6): 767—773

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

Bligh E G, Dyer W J, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37(8): 911—917

Brown M R, Battaglene S C, Morehead D T *et al*, 2005. Ontogenetic changes in amino acid and vitamins during early larval stages of striped trumpeter (*Latris lineata*). Aquaculture, 248(1—4): 263—274

Gunasekera R M, De Silva S S, Ingram B A, 2001. Chemical changes in fed and starved larval trout cod, *Maccullochella macquarensis* during early development. Fish Physiology and Biochemistry, 25(4): 255—268

Gunasekera R, Desilva 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 Murry cod, *Maccullochella peelii*.

Aquaculture, 12: 255—261

Klungsøyr J, Tilseth S, Wilhelmsen S *et al*, 1989. Fatty acid composition as an indicator of food intake in cod larvae *Gadus morhua* from Lofoten, Northern Norway. Marine Biology, 102(2): 183—188

Konishi S, Koyama S, Hayashi J *et al*, 2009. Establishment and characterization of scorpion fish (*Sebastiscus marmoratus*) fin cell line KSG-1. Journal of Bioscience and Bioengineering, 108(1): S5—S6

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, Schmitz A A, Pelka J R, 1996. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Analytical Chemistry, 38(3): 514—515

Mourente G, Vázquez R, 1996. Changes in the content of total lipid, lipid classes and their fatty acids of developing eggs and unfed larvae of the Senegal sole, *Solea senegalensis* Kaup. Fish Physiol Biochem, 15: 221—235

Nakanishi T, 1986. Seasonal changes in the humoral immune response and the lymphoid tissues of the marine teleost, *Sebastiscus marmoratus*. Veterinary Immunology and Immunopathology, 12(1—4): 213—221

Plante S, Pernet F, Haché R *et al*, 2007. Ontogenetic variations in lipid class and fatty acid composition of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* in relation to changes in diet and microbial environment. Aquaculture, 263(1—4): 107—121

Rønnestad I, Fyhn H J, 1993. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae. Reviews in Fisheries Science, 1(3): 239—259

Srivastava K R, 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(1—2): 115—124

COMPOSITION AND VARIATION OF AMINO ACID AND FATTY ACID IN FERTILIZED EGGS AND LARVAE OF *SEBASTISCUS MARMORATUS* IN DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES

GUO Chung-Yang[1], LIN Shao-Zhen[2], GONG Jian-Hua[1], QIU Cheng-Gong[1], ZHAO Chun[1], XU Shan-Liang[1]

(1. *School of Marine Sciences*, *Ningbo University*, *Ningbo* 315211, *China*;
2. *Zhejiang Mariculture Research Institute*, *Wenzhou* 325000, *China*)

Abstract　To investigate amino acids and fatty acid composition and changes of *Sebastiscus marmoratus* in different development stages. Amino acids and fatty acid composition of the fish in four stages (fertilized eggs, first larvae fish, prophase larvae fish, and late stage larvae fish) were analyzed in GC/MS. Five results were followed. (1) The total amino acid content decreased significantly from fertilized eggs to first larvae fish stage, then increased significantly during prophase larvae fish stage, and finally decreased significantly again in late stage larvae fish ($P<0.05$). (2) The total amount of free amino acids during first larvae fish was the highest among the four stages, which was 10 times of the fertilized eggs. The ratio of free amino acids each stage was 1.4%—20.0%. (3) The maximum content was DHA (104.88 mg/g) and C16:0 (68.74 mg/g) in fertilized eggs, followed by C18:1n-9 (41.23 mg/g) and EPA (27.23 mg/g). (4) The main fatty acid selective consumed during endogenous vegetative stage of *S. marmoratus* was in the sequence of C16:0>C18:1> EPA>DHA>ARA, and MUFA>SFA>PUFA for the utilization of fatty acid. (5) The fatty acid utilization was in sequence of PUFA>SFA>MUFA during exogenous vegetative stage after weaning larvae, of which DHA was selectively consumed compared to EPA and ARA. We found that the ratio of free amino acid in the fertilized eggs accorded with features of demersal eggs of marine fishes, showing different selectivity when the fish consumed fatty acid during different early development stages. C16:1, C16:0, C18:0 and C18:1 are main energy substances during early development stage. Therefore, it is necessary to enrich the diet with a certain level of amino acids, such as isoleucine, leucine, tyrosine, etc. as well as polyunsaturated fatty acids DHA.

Key words　*Sebastiscus marmoratus*;　fertilized eggs;　larvae;　amino acid;　fatty acid