

文章编号: 1674-5566(2012)05-0720-08

青石斑鱼与卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪特性及脂肪酸含量变化

冯隆峰¹, 黄旭雄¹, 温文¹, 陈庆凯², 严佳琦¹, 危立坤¹

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 福建省宁德市水产技术推广站, 福建 宁德 352200)

摘要: 定量研究了青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)和卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)的卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪特性及脂肪酸的变化。结果表明:两种仔鱼具有不同的脂肪组成, 青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂与极性脂比值为0.97~1.22; 卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼中性脂与极性脂比值为1.88~3.21。两种卵黄囊仔鱼的总脂含量均随发育而逐步下降, 且都主要消耗中性脂。青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂内含量高的脂肪酸为: 18:1n-9, 16:0, DHA, 16:1 和 18:0; 极性脂中含量高的脂肪酸为: DHA, 16:0, 18:0 和 18:1n-9。卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼中性脂中含量高的脂肪酸为: 18:1n-9, 18:2n-6, DHA, 16:4n-3 和 16:0; 极性脂中含量高的脂肪酸为: DHA, 16:0, 18:1n-9 和 18:2n-6。青石斑鱼卵黄囊仔鱼发育至2日龄时中性脂主要脂肪酸均显著下降; 而卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育至1日龄时中性脂主要脂肪酸均显著下降。两种卵黄囊仔鱼极性脂中的主要脂肪酸均在1日龄时显著升高。上述结果表明尽管脂肪和脂肪酸组成存在显著差异, 但青石斑鱼和卵形鲳鲹的卵黄囊仔鱼在发育过程中利用脂类的规律具有相似性。

海水鱼类育苗生产中仔鱼阶段容易大量死亡, 生产性鱼苗育成率一般仅为10%~30%^[1-3]。早期仔鱼从内源性(卵黄囊)营养转变为外源性营养后, 所摄取饵料营养不能满足仔鱼发育需求是早期仔鱼大量死亡的主要原因之一。脂类是鱼类受精卵中重要的营养贮备物质, 也是其早期发育所需能量的主要来源。仔鱼发育和生理机能是否正常很大程度上依赖于脂肪酸营养是否充足供应^[4]。22:6n-3(DHA), 20:5n-3(EPA)和20:4n-6(ARA)是海水鱼类仔鱼正常发育的必需脂肪酸^[5]。DHA与EPA、EPA与ARA之间存在代谢上的竞争性关系^[6]。研究表明, 不同海水鱼类仔鱼发育过程中对各必需脂

研究亮点: 本研究定量检测了两种海水鱼的卵黄囊仔鱼在发育过程中极性脂和中性脂中的脂肪酸变化, 发现青石斑鱼和卵形鲳鲹的卵黄囊仔鱼发育过程中, 其中性脂与极性脂之间存在脂肪酸的转移。在发育过程中两种卵黄囊仔鱼具有相似的脂类利用规律。研究结果为海水鱼类早期发育的脂类营养代谢及开口仔鱼饵料的营养强化提供参考。

关键词: 青石斑鱼; 卵形鲳鲹; 卵黄囊仔鱼; 中性脂; 极性脂; 脂肪酸

中图分类号: S 965.3

文献标志码: A

肪酸的需求不尽相同^[7-9]。对于开始外源性营养的仔鱼而言, 饵料中理想的脂肪酸组成应与卵或卵黄囊仔鱼的脂肪酸组成相近^[10]。因此, 研究海水鱼类卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪及脂肪酸特性的变化, 有助于了解海水鱼类早期幼体对饵料脂肪酸的需求特点。

青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)俗称土斑、土鲙, 为暖水性中下层鱼类, 主要分布于新加坡、朝鲜、日本、中国南海及东海; 卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)俗称金鲳、黄腊鲳, 为暖水性中上层鱼类, 分布于美洲热带和温带的大西洋海岸、非洲西岸、印度洋、新加坡、印度尼西亚、澳洲、中国沿海及日本^[11]。此两种鱼类为中国南方沿海地区广

收稿日期: 2012-04-09 修回日期: 2012-05-28

基金项目: 上海市教育委员会科研创新项目(12ZZ166)

作者简介: 冯隆峰(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饵料。E-mail: longfeng0102@126.com

通讯作者: 黄旭雄, E-mail: xxhuang@shou.edu.cn

泛养殖的海水经济鱼类。青石斑鱼仔鱼的形态发育^[12~13]、饵料培育^[14]、幼鱼的能量收支利用^[15]和成鱼胃肠道内微生物群^[16]及消化酶^[17]的研究已见报道。卵形鲳鲹的胚胎发育和早期仔鱼的人工繁育^[18~21],以及环境因子对仔幼鱼存活^[22]、消化酶活性^[23~24]影响的研究也已见报道。然而青石斑鱼和卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼阶段脂类特性随发育的变化均未见有报道。本文定量研究了两种鱼类卵黄囊仔鱼阶段脂肪组成及脂肪酸的变化,旨在为深入开展海水鱼类早期仔鱼的脂类营养代谢研究及鱼苗培育中仔鱼开口饵料的脂类营养强化积累基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

青石斑鱼、卵形鲳鲹受精卵采自福建省宁德市横屿水产养殖公司育苗池。将两种受精卵分别放入1 000 L的孵化桶中进行孵化并培育仔鱼,孵化密度为2万粒卵/m³。青石斑鱼幼体培育水温为22.2~22.4℃、卵形鲳鲹幼体培育水温为21.2~21.5℃,孵化及培育所用的沙滤海水的盐度均为25。两种鱼类初孵仔鱼出膜后在实验水温下均在3日龄时开口。自初孵仔鱼出膜始,每天定时采集初孵卵黄囊仔鱼(0DPH)、1日龄卵黄囊仔鱼(1DPH)、2日龄卵黄囊仔鱼(2DPH)和投饵前的3日龄仔鱼(3DPH)样品各2 g。样品用蒸馏水漂洗,沥干后冻存。冷冻干燥机-46℃冷冻干燥,冻干样品粉碎均匀后,用于脂肪及脂肪酸特性分析。

1.2 总脂及总脂的分离

样品总脂肪含量的测定参照FOLCH等^[25]方法,用含有0.01% BHT(Sigma)的氯仿-甲醇(2:1)浸提^[26]。提取液经旋转蒸发后于真空干燥箱中烘干至恒重。样品平行测定2次。

中性脂和极性脂的分离采用石油醚和95%含水甲醇组成的液-液分离系统^[27]于分液漏斗中进行,将等体积的两种溶剂加入到粗脂肪中,充分振荡后静置片刻,清晰分层后移去下层甲醇,再用同样量的甲醇重复萃取上层溶液两次;移去的甲醇再加入同量的石油醚重复萃取两次。溶于石油醚中的为中性脂,溶于甲醇中的为极性脂。分离液经旋转蒸发后于真空干燥箱中烘干至

恒重,计算中性脂和极性脂的含量。

1.3 脂肪酸甲酯化与定量检测

脂肪酸的甲酯化采用三氟化硼甲酯化法^[28],采用C19烷酸(Sigma)作为内标测定脂肪酸绝对量。用1 mL正己烷溶解圆底烧瓶中已经真空干燥的脂肪样品并转移到甲酯化瓶中,再用1 mL正己烷漂洗圆底烧瓶并转移到甲酯化瓶中,加入C19内标后抽真空去除正己烷;加入14% BF₃-甲醇(Sigma)溶液(含0.01% BHT)2 mL,100℃水浴25 min;取出第一步甲酯化的样品,加入2 mL苯和2 mL甲醇继续100℃水浴25 min;将甲酯化产物完全转移到10 mL离心管中,加入2 mL蒸馏水和2 mL正己烷,充分震荡后3 000 r/min离心10 min,取上清液待测。

采用Agilent-6890A型气相色谱仪分析脂肪酸。毛细管柱为30.0 m×0.32 mm×0.25 μm,型号为Omegawax 320。FID检测器进样口温度260℃;载气为高纯度氮,流量为1.9 mL/min,氢气流量为30 mL/min,空气流量为300 mL/min。起始温度60℃,以50℃/min的速度提至170℃,再以2.0℃/min的速度提至180℃,保持2 min,然后以2.0℃/min的速度提至230℃,保持1 min,再以1.0℃/min的速度提至240℃,保持1 min,分析时间共计46.2 min。进样量1 μL,分流比为5:1,进样口压力为60 kPa。

根据脂肪酸标准品(Sigma)的分析图谱和保持时间对样品脂肪酸进行定性,按内标法计算各脂肪酸的绝对值:

$$C_x = \frac{C_{19} V_{19} M_x S_x}{M_{19} S_{19} m} \quad (1)$$

式中:C_x表示某脂肪酸在冻干样品中的含量(mg/g);C₁₉为内标物浓度(mg/mL);V₁₉为内标物加入的体积(mL);M₁₉为内标物甲酯分子量;S₁₉为内标物的峰面积;M_x为某脂肪酸甲酯的分子量;S_x为某脂肪酸的峰面积;m为冻干样品质量(g)。每个样品平行测定2次,取平均值。

1.4 数据处理

测定结果以平均值±标准差(Mean ± SD)表示。试验数据用SPSS 17.0软件进行ANOVA单因子方差分析,并用Duncan检验进行多重比较,P<0.05时为有显著性差异。

2 结果

2.1 青石斑鱼与卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪组成及含量的变化

两种鱼类卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪含量变化如表1所示。随着仔鱼的发育,青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂含量在2日龄显著下降($P < 0.05$);极性脂含量随发育呈降低趋势($P >$

0.05);总脂含量和中与极性脂比值在2日龄均显著下降($P < 0.05$)。卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中,中性脂含量同样在2日龄显著下降($P < 0.05$);极性脂含量呈现先下降后上升,在2日龄时含量最低,3日龄超过初孵仔鱼水平,但卵黄囊仔鱼阶段均无显著差异($P > 0.05$);总脂含量在2日龄显著下降($P < 0.05$);中/极性脂比值在3日龄显著下降($P < 0.05$)。

表1 不同日龄青石斑鱼与卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼体内脂肪含量变化

Tab. 1 Changes in lipid content of yolk-sac larvae of *E. awoara* and *T. ovatus* during the development %

		初孵(0DPH)	1 DPH	2DPH	3DPH
青石斑鱼 <i>E. awoara</i>	中性脂肪	13.44 ± 0.65 ^a	12.77 ± 0.03 ^a	10.65 ± 0.10 ^b	9.58 ± 0 ^c
	极性脂肪	11.04 ± 0.74	10.72 ± 0.60	10.73 ± 0.33	9.92 ± 0
	总脂	24.48 ± 1.39 ^a	23.49 ± 0.64 ^{ab}	21.38 ± 0.43 ^{bc}	19.50 ± 0 ^c
	中性脂/极性脂	1.22 ± 0.02 ^a	1.19 ± 0.06 ^a	0.99 ± 0.02 ^b	0.97 ± 0.00 ^b
卵形鲳鲹 <i>T. ovatus</i>	中性脂肪	20.07 ± 0.26 ^a	20.42 ± 0.54 ^a	17.26 ± 0.04 ^b	15.29 ± 0.42 ^c
	极性脂肪	7.14 ± 0.84	6.37 ± 0.46	5.58 ± 0.57	8.14 ± 0.71
	总脂	27.21 ± 0.59 ^a	26.79 ± 1.01 ^a	22.84 ± 0.61 ^b	23.43 ± 1.13 ^b
	中性脂/极性脂	2.83 ± 0.37 ^a	3.21 ± 0.15 ^a	3.11 ± 0.31 ^a	1.88 ± 0.11 ^b

注:同一行数值上标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 青石斑鱼与卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪酸含量的变化

从表2可以看出,青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂内含量较高的脂肪酸为:18:1n-9,16:0,DHA,16:1和18:0;2日龄仔鱼的中性脂内DHA、饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)、多不饱和脂肪酸(PUFA)和n-3PUFA含量均显著下降($P < 0.05$),3日龄仔鱼除上述脂肪酸外,EPA、ARA和n-6PUFA含量也出现显著下降($P < 0.05$);中性脂内EPA与ARA比值在2日龄及3日龄均显著下降($P < 0.05$),DHA/EPA和n-3/n-6比值随仔鱼发育呈下降趋势($P > 0.05$)。极性脂中含量高的脂肪酸为:DHA,16:0,18:0和18:1n-9;主要脂肪酸除EPA外,其余脂肪酸的含量在1日龄仔鱼中均显著升高($P < 0.05$),在3日龄仔鱼中恢复或仍高于初孵仔鱼水平;极性脂中DHA与EPA呈上升趋势,EPA与ARA及n-3与n-6比值在卵黄囊仔鱼发育过程中保持相对稳定($P > 0.05$)。

卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼中性脂内含量高的脂肪酸为:18:1n-9,18:2n-6,DHA,16:4n-3和16:0。

1日龄仔鱼中性脂内DHA、EPA、SFA、MUFA和PUFA含量均显著下降($P < 0.05$),随后趋于稳定;ARA含量先下降后上升,1日龄仔鱼含量最低($P < 0.05$);EPA与ARA比值在2日龄仔鱼开始显著下降($P < 0.05$)。极性脂中含量高的脂肪酸为:DHA,16:0和18:1n-9,极性脂内DHA、EPA、ARA和PUFA呈现波动性变化,2日龄仔鱼含量最低,3日龄时含量最高,分别为10.19 mg/g、0.92 mg/g、0.78 mg/g和17.18 mg/g(表3)。

3 讨论

在鱼类开始摄入外源性营养前,其细胞分化、器官发生和代谢所需要的营养和能量均来自于卵黄。卵黄物质的消耗与转化直接影响仔鱼早期发育,与仔鱼的成活密切相关。脂类是卵黄囊(含油球)的主要成分之一,也是早期仔鱼发育所需能量的主要来源和细胞膜的组成性物质^[29]。甘油三酯是鱼类中性脂的主要成分,而磷脂则是鱼类极性脂的主要成分。生物体内磷脂的重要生物学功能是构成细胞膜的基本结构。

表2 青石斑鱼卵黄囊仔鱼发育过程中主要脂肪酸含量变化
Tab. 2 The changes in contents of main fatty acids in yolk-sac larvae of *E. awoara* during development mg/g

脂肪酸	0DPH	1DPH	2DPH	3DPH
中性脂肪				
14:0	2.35 ± 0.42 ^a	2.15 ± 0.26 ^a	1.39 ± 0.00 ^b	0.83 ± 0.05 ^b
16:0	16.56 ± 2.29 ^a	15.91 ± 1.94 ^a	10.72 ± 0.93 ^b	7.01 ± 0.27 ^b
16:1	6.67 ± 0.93 ^a	6.31 ± 0.79 ^a	4.13 ± 0.17 ^b	2.33 ± 0.03 ^c
18:0	4.71 ± 0.20 ^{ab}	5.34 ± 0.29 ^a	4.38 ± 0.41 ^b	2.89 ± 0.05 ^c
18:1n-9	17.67 ± 0.14 ^a	17.99 ± 0.28 ^a	14.80 ± 1.08 ^b	8.72 ± 0.16 ^c
18:1n-7	3.53 ± 0.24 ^a	3.67 ± 0.14 ^a	3.07 ± 0.07 ^b	1.56 ± 0.08 ^c
20:4n-6(ARA)	2.14 ± 0.12 ^a	2.30 ± 0.05 ^a	2.10 ± 0.15 ^a	1.36 ± 0.15 ^b
20:5n-3(EPA)	3.41 ± 0.17 ^a	3.29 ± 0.06 ^a	2.71 ± 0.44 ^a	1.45 ± 0.11 ^b
22:6n-3(DHA)	15.19 ± 1.22 ^a	14.39 ± 0.97 ^a	10.07 ± 0.34 ^b	5.81 ± 0.22 ^c
DHA/EPA	4.45 ± 0.13	4.37 ± 0.21	3.77 ± 0.74	4.03 ± 0.47
EPA/ARA	1.59 ± 0.01 ^a	1.43 ± 0.00 ^{ab}	1.29 ± 0.12 ^b	1.07 ± 0.03 ^c
SFA	24.14 ± 2.99 ^a	23.89 ± 2.52 ^a	16.92 ± 1.43 ^b	11.00 ± 0.37 ^c
MUFA	29.26 ± 0.94 ^a	29.40 ± 1.40 ^a	23.59 ± 1.67 ^b	13.40 ± 0.28 ^c
PUFA	27.52 ± 1.57 ^a	26.48 ± 0.86 ^a	20.79 ± 1.55 ^b	11.97 ± 0.14 ^c
n-3PUFA	21.02 ± 1.60 ^a	19.93 ± 1.23 ^a	14.72 ± 0.34 ^b	8.39 ± 0.08 ^c
n-6PUFA	4.65 ± 0.18 ^a	4.85 ± 0.20 ^a	4.60 ± 1.04 ^a	2.66 ± 0.22 ^b
n-3/n-6	4.52 ± 0.17	4.12 ± 0.42	3.28 ± 0.67	3.16 ± 0.30
极性脂肪				
16:0	5.97 ± 0.89 ^b	9.01 ± 0.07 ^a	9.27 ± 0.08 ^a	9.38 ± 1.19 ^a
18:0	3.64 ± 0.21 ^b	4.34 ± 0.08 ^a	4.34 ± 0.23 ^a	4.07 ± 0.15 ^{ab}
18:1n-9	3.28 ± 0.28 ^b	5.29 ± 0.57 ^a	6.14 ± 1.14 ^a	4.93 ± 0.19 ^{ab}
20:4n-6(ARA)	2.54 ± 0.07 ^b	3.04 ± 0.03 ^a	3.28 ± 0.10 ^a	2.59 ± 0.17 ^b
20:5n-3(EPA)	1.97 ± 0.08 ^{ab}	2.28 ± 0.03 ^a	2.45 ± 0.38 ^a	1.66 ± 0.16 ^b
22:6n-3(DHA)	7.56 ± 0.72 ^c	9.90 ± 0.48 ^b	11.90 ± 0.15 ^a	9.68 ± 0.93 ^b
DHA/EPA	3.84 ± 0.22	4.34 ± 0.26	4.92 ± 0.82	5.89 ± 1.12
EPA/ARA	0.77 ± 0.01	0.75 ± 0.02	0.74 ± 0.09	0.64 ± 0.10
SFA	9.91 ± 1.13 ^b	13.99 ± 0.07 ^a	14.21 ± 0.20 ^a	13.95 ± 1.41 ^a
MUFA	5.06 ± 0.46 ^b	8.39 ± 0.74 ^a	9.33 ± 1.35 ^a	7.61 ± 0.17 ^a
PUFA	14.13 ± 0.65 ^c	18.49 ± 0.23 ^b	21.47 ± 1.12 ^a	17.11 ± 0.83 ^b
n-3PUFA	10.05 ± 0.71 ^c	13.21 ± 0.09 ^b	15.35 ± 0.31 ^a	12.16 ± 0.78 ^b
n-6PUFA	3.44 ± 0.02 ^b	4.41 ± 0.30 ^a	5.18 ± 0.77 ^a	4.00 ± 0.17 ^a
n-3/n-6	2.92 ± 0.19	3.00 ± 0.22	2.99 ± 0.38	3.04 ± 0.07

注:同一行数值上标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。中性脂SFA包含14:0, 16:0, 17:0和18:0; MUFA包含14:1, 16:1, 18:1n9, 18:1n7和20:1; PUFA包含16:3n, 18:2n6, 18:3n3, 20:4n6, 20:5n3, 22:4n6, 22:5n3和20:6n3; 极性脂SFA包含14:0, 16:0和18:0; MUFA包含14:1, 15:1, 16:1和18:1n9; PUFA包含16:3n, 18:2n6, 20:4n6, 20:5n3, 22:4n6, 22:5n3和20:6n3。

蛋白质、脂肪和碳水化合物是鱼类发育所需能量的主要来源物质^[30],不同鱼类仔鱼发育过程中参与能量代谢的物质并不相同。对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[31-32]、金头鲷(*Sparus aurata*)^[33]和舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[34]的研究表明,含油球浮性卵海水鱼类的胚胎和卵黄囊仔鱼阶段优先利用游离氨基酸作为发育所需能量的主要来源。本研究中,与初孵仔鱼相比,青石斑鱼及卵形鲳鲹的1日龄卵黄囊仔鱼的中性脂、极性脂和总脂含量均无显著变化,表明这两种鱼类从初孵仔鱼到1日龄仔鱼阶段发育所需的能量并非来自脂肪,符合大多数含油球浮性

卵海水鱼类早期发育的营养利用特征。2日龄时两种鱼类卵黄囊仔鱼中性脂和总脂含量显著下降,暗示此时中性脂作为主要能量来源用于代谢消耗。3日龄时青石斑鱼卵黄囊仔鱼内中性脂与极性脂含量均下降,而卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼3日龄时中性脂含量显著下降,但极性脂含量则上升,表明在开始外源性营养前,两种鱼类卵黄囊仔鱼的营养消耗程度存在差异。由于鱼类幼体对磷脂的合成能力较弱,卵形鲳鲹3日龄卵黄囊仔鱼极性脂含量的升高,推测其可能从中性脂转化而来。RAINUZZO等^[35]认为冷水性鱼类,如大西洋鳕(*Gadus morhua*)和欧洲海鲽(*Pleuronectes*

platessa), 在早期发育过程中, 中性脂与极性脂均作为卵黄囊仔鱼发育所需能量的来源。本研究中, 青石斑鱼与卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中

均利用中性脂作为主要的能量来源, 而极性脂则被相对保留, 这与对美国红鱼 (*Sciaenops ocellata*)^[36] 等暖水性鱼类的研究结果相一致。

表3 卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中主要脂肪酸含量变化

Tab.3 The changes in contents of main fatty acids in yolk-sac larvae of *T. ovatus* during development mg/g

脂肪酸	0DPH	1DPH	2DPH	3DPH
中性脂肪				
16:0	16.65 ± 0.22 ^a	8.44 ± 2.49 ^b	10.22 ± 0.41 ^b	9.14 ± 0.06 ^b
16:1n-5	6.68 ± 0.08 ^a	3.63 ± 1.06 ^b	4.45 ± 0.18 ^b	4.10 ± 0.03 ^b
16:4n-3	16.69 ± 0.76	8.34 ± 5.35	11.57 ± 0.74	9.14 ± 0.97
18:0	3.12 ± 1.13	1.92 ± 0.63	2.37 ± 0.14	2.21 ± 0.21
18:1n-9	39.28 ± 0.35 ^a	20.89 ± 7.38 ^b	26.65 ± 0.68 ^b	25.11 ± 0.08 ^b
18:1n-7	4.53 ± 0.06 ^a	2.57 ± 0.74 ^b	3.27 ± 0.17 ^b	3.01 ± 0.02 ^b
18:2n-6	20.11 ± 0.15 ^a	10.65 ± 3.99 ^b	13.79 ± 0.37 ^b	12.34 ± 0.05 ^b
18:3n-3	2.04 ± 0.00 ^a	1.24 ± 0.21 ^b	1.35 ± 0.04 ^b	1.20 ± 0.01 ^b
18:4n-6	3.05 ± 0.31	1.49 ± 1.12	2.13 ± 0.14	1.44 ± 0.50
18:4n-3	6.32 ± 0.50 ^a	2.23 ± 2.34 ^b	3.43 ± 0.06 ^b	2.36 ± 0.56 ^b
20:4n-6(ARA)	0.77 ± 0.01 ^a	0.51 ± 0.06 ^c	0.70 ± 0.01 ^{ab}	0.62 ± 0.02 ^b
20:5n-3(EPA)	1.87 ± 0.02 ^a	1.15 ± 0.24 ^b	1.29 ± 0.01 ^b	1.10 ± 0.00 ^b
22:6n-3(DHA)	18.65 ± 0.14 ^a	8.85 ± 3.43 ^b	10.71 ± 0.03 ^b	8.98 ± 0.03 ^b
DHA/EPA	9.97 ± 0.04	7.52 ± 1.40	8.27 ± 0.09	8.16 ± 0.05
EPA/ARA	2.44 ± 0.06 ^a	2.25 ± 0.23 ^a	1.86 ± 0.00 ^b	1.76 ± 0.07 ^b
SFA	24.73 ± 1.43 ^a	12.20 ± 3.71 ^b	16.83 ± 0.47 ^b	15.37 ± 0.43 ^b
MUFA	53.79 ± 0.56 ^a	29.37 ± 10.47 ^b	37.46 ± 1.10 ^b	35.04 ± 0.15 ^b
PUFA	74.79 ± 1.92 ^a	37.18 ± 17.97 ^b	48.37 ± 1.26 ^b	39.97 ± 2.16 ^b
n-3PUFA	49.40 ± 1.39 ^a	23.83 ± 12.38 ^b	30.86 ± 0.71 ^b	24.94 ± 1.51 ^b
n-6PUFA	24.68 ± 0.52 ^a	13.10 ± 5.40 ^b	17.12 ± 0.50 ^{ab}	14.74 ± 0.65 ^b
n-3/n-6	2.00 ± 0.01 ^a	1.78 ± 0.21 ^{ab}	1.80 ± 0.01 ^{ab}	1.69 ± 0.03 ^b
极性脂肪				
16:0	6.66 ± 0.45	7.28 ± 0.86	8.90 ± 0.96	9.05 ± 0.07
18:0	1.72 ± 0.00 ^c	1.79 ± 0.09 ^c	2.09 ± 0.10 ^b	2.62 ± 0.00 ^a
18:1n-9	3.74 ± 0.08 ^c	5.55 ± 0.43 ^b	5.04 ± 0.49 ^b	7.52 ± 0.00 ^a
18:2n-6	2.10 ± 0.17 ^c	3.16 ± 0.23 ^b	2.49 ± 0.20 ^c	3.92 ± 0.03 ^a
20:4n-6(ARA)	0.52 ± 0.00 ^c	0.59 ± 0.01 ^b	0.40 ± 0.00 ^d	0.78 ± 0.02 ^a
20:5n-3(EPA)	0.53 ± 0.05 ^c	0.71 ± 0.06 ^b	0.46 ± 0.01 ^c	0.92 ± 0.04 ^a
22:6n-3(DHA)	7.03 ± 0.33 ^c	8.79 ± 0.14 ^b	5.64 ± 0.01 ^d	10.19 ± 0.10 ^a
DHA/EPA	13.23 ± 0.63	12.47 ± 1.26	12.19 ± 0.29	11.07 ± 0.41
EPA/ARA	1.03 ± 0.09	1.19 ± 0.08	1.15 ± 0.02	1.18 ± 0.02
SFA	8.68 ± 0.45 ^c	9.39 ± 0.99 ^{bc}	11.44 ± 1.12 ^{ab}	12.05 ± 0.07 ^a
MUFA	4.76 ± 0.14 ^c	6.87 ± 0.58 ^b	6.19 ± 0.64 ^b	9.45 ± 0.00 ^a
PUFA	12.34 ± 0.30 ^c	14.36 ± 0.14 ^b	11.19 ± 0.19 ^d	17.18 ± 0.28 ^a
n-3PUFA	8.72 ± 0.36 ^c	10.36 ± 0.11 ^b	6.66 ± 0.04 ^d	12.21 ± 0.20 ^a
n-6PUFA	3.62 ± 0.06 ^b	4.00 ± 0.24 ^b	4.53 ± 0.23 ^a	4.98 ± 0.08 ^a
n-3/n-6	2.41 ± 0.14 ^a	2.60 ± 0.19 ^a	1.47 ± 0.08 ^b	2.45 ± 0.00 ^a

注: 同一行数值上标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。中性脂 SFA 包含 12:0, 14:0, 16:0, 17:0, 18:0 和 21:0; MUFA 包含 14:1, 15:1, 16:1n7, 16:1n5, 18:1n9, 18:1n7 和 20:1; PUFA 包含 16:2n, 16:4n, 18:2n6, 18:3n3, 18:4 n6, 18:4n3, 20:2 n6, 20:2 n3, 20:4 n6, 20:5n3, 22:5n3 和 20:6n3; 极性脂 SFA 包含 14:0, 16:0 和 18:0; MUFA 包含 15:1, 16:1 和 18:1n9; PUFA 包含 18:2n6, 18:3n3, 20:4n6, 20:5n3, 22:5n3 和 20:6n3。

脂肪酸营养在卵黄囊仔鱼发育过程中起着十分重要的作用, 鱼类对不同种类脂肪酸的利用顺序具有一定的规律。黄颡鱼 (*Pelteobagrus*

fulvidraco)^[37] 卵黄囊仔鱼在饥饿期间, 脂肪酸按 n-9、n-6、n-3 顺序被先后利用, DHA 和 ARA 相对 EPA 被优先保留。金头鲷^[38] 卵黄囊仔鱼饥饿期

间,脂肪酸按 n-6、n-9、n-3 顺序被先后利用,DHA 相对 EPA 被优先保留。本研究中,青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂内 DHA/EPA 随仔鱼发育无显著变化,极性脂内 DHA/EPA 呈上升趋势,表明青石斑鱼卵黄囊仔鱼对中性脂内 DHA、EPA 的利用无明显的优先顺序,极性脂中则优先保留 DHA。EPA/ARA 的趋势同样表明 ARA 在青石斑鱼卵黄囊仔鱼体内被优先保留。2 日龄和 3 日龄的青石斑鱼卵黄囊仔鱼 n-3PUFA 含量在极性脂内高于其在中性脂内含量,且 2 日龄仔鱼中性脂内 DHA 含量显著下降,极性脂内 DHA 含量显著上升。表明此时青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂内 n-3PUFA 除了作为能量来源被消耗外,还转化为磷脂的组成部分参与机体组织的构建。3 日龄青石斑鱼卵黄囊仔鱼中性脂与极性脂内 DHA、EPA 和 PUFA 含量均出现显著性下降,这与大西洋鳕、欧洲海鲽的报道相似^[35],也证实了仔鱼在开口后面临营养素匮乏时,会动用体内贮存的能量来维持正常的生命活动^[39]。卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪酸变化同样表明仔鱼对中性脂内 DHA、EPA 的利用无明显的优先顺序,ARA 则相对 EPA 被优先保留。卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼中性脂内 MUFA 和 PUFA 含量在 1 日龄时显著下降,而极性脂内 MUFA 和 PUFA 含量在 1 日龄时显著上升,暗示卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼在 1 日龄时机体组织迅速构建,这与陈伟洲等^[20],区又君等^[21]对卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼生长发育的报道相一致。卵形鲳鲹卵黄囊仔鱼发育过程中也存在脂肪酸由中性脂向极性脂转移的现象。对比两种卵黄囊仔鱼发育过程中脂肪酸的变化,发现尽管两种仔鱼中性脂中主要脂肪酸含量均随发育而下降,但快速下降出现的时间不同,青石斑鱼在 2 日龄卵黄囊仔鱼时主要脂肪酸均出现了显著下降;而卵形鲳鲹在 1 日龄卵黄囊仔鱼时主要脂肪酸均出现了显著下降。而极性脂中两种鱼类的卵黄囊仔鱼的主要脂肪酸均在 1 日龄时出现了显著升高。

OGATA 等^[40]对菲律宾中部野生紫红笛鲷等 5 种鱼类的研究认为,生活在热带、亚热带海区的鱼类相比生活在冷水或高纬度海区的鱼类而言,其卵和初孵仔鱼中 ARA 水平通常等于或高于 EPA 水平。青石斑鱼和卵形鲳鲹为暖水性鱼类,两者初孵仔鱼中性脂内 EPA/ARA 分别为 1.59,

2.44,与野生紫红笛鲷具有较大差别;而极性脂内 EPA/ARA 分别为 0.77 和 1.03,则与热带、亚热带鱼类特征一致,其原因可能是环境以及饵料的变化对鱼类中性脂中 EPA/ARA 变化具有影响,极性脂内 EPA/ARA 则相对稳定,保持其遗传特性。

参考文献:

- [1] 刘锐恪,雷霖. 海水仔稚鱼营养研究动态 [J]. 海洋科学, 1995(5): 18-20.
- [2] 谢起浪,刘伟成,单乐州. 海水鱼类人工繁育技术的研究进展 [J]. 水产科学, 2009, 28(6): 361-364.
- [3] 张其永,洪万树. 海洋养殖鱼类仔稚鱼摄食和营养研究的进展 [J]. 台湾海峡, 2001, 20(s1): 1-10.
- [4] ROBIN J H, VINCENT B. Micro particulate diets as first food for gilthead sea bream larval (*Sparus aurata*): study of fatty acid incorporation [J]. Aquaculture, 2003, 225: 463-474.
- [5] CASTELL J D, BELL J G, TOCHER D R, et al. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival growth and fatty acid composition of juvenile turbot [J]. Aquaculture, 1994, 128:315-333.
- [6] BELL M V, HENDERSON R J, SARGENT J R. The role of polyunsaturated fatty acids in fish [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1986, 83(4): 711-719.
- [7] SARGENT J, MCEVOY L, ESTEVEZ A, et al. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions [J]. Aquaculture, 1999, 179:217-229.
- [8] SARGENT J, BELL G, MCEVOY L, et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish [J]. Aquaculture, 1999, 177: 191-199.
- [9] CASTELL J, BLAIR T, NEIL S, et al. The effect of different HUFA enrichment emulsions on the nutritional value of rotifers (*Brachionus plicatilis*) fed to larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) [J]. Aquaculture International, 2003, 11(1/2):109-117.
- [10] RAINUZZO J R, REITAN K I, OLSEN Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: A review [J]. Aquaculture, 1997, 155:103-115.
- [11] 朱元鼎,张春霖,成庆泰. 东海鱼类志 [M]. 上海:科学出版社, 1963:220-261.
- [12] 张伟新,李世栋. 青石斑鱼的人工孵化和早期发育 [J]. 海洋科学, 1988, 1(1): 38-42.
- [13] 薄治礼,周婉霞,辛俭,等. 青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)仔、稚、幼鱼日龄和形态、生长发育的研究 [J]. 浙江水产学院学报, 1993, 12(3): 165-173.
- [14] 周婉霞,薄治礼,辛俭,等. 人工培育青石斑鱼仔、稚、幼鱼的饵料系列 [J]. 浙江水产学院学报, 1994, 13(2):

- 86–92.
- [15] SUM L H, CHEN H R, HUANG L G. Growth, faecal production, nitrogenous excretion and energy budget of juvenile yellow grouper (*Epinephelus awoara*) relative to ration level [J]. Aquaculture, 2007, 264:228–235.
- [16] ZHOU Z G, LIU Y C, SHI P J, et al. Molecular characterization of the autochthonous micro biota in the gastrointestinal tract of adult yellow grouper (*Epinephelus awoara*) cultured in cages [J]. Aquaculture, 2009, 286: 184–189.
- [17] 刘西之, 邱晓燕, 蔡秋凤, 等. 青石斑鱼胃蛋白酶原的分离纯化及酶学性质 [J]. 水产学报, 2011, 35(11): 1736–1744.
- [18] 区又君, 李加儿. 卵形鲳鲹的早期胚胎发育 [J]. 中国水产科学, 2005, 12(6): 786–789.
- [19] 甘炼, 郭邦勇, 刘丽, 等. 池养条件下卵形鲳鲹仔、稚鱼生长与摄食特性 [J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(4): 74–77.
- [20] 陈伟洲, 许鼎盛, 王德强, 等. 卵形鲳鲹人工繁殖及育苗技术研究 [J]. 台湾海峡, 2007, 26(3): 435–442.
- [21] 区又君, 何永亮, 李加儿. 卵形鲳鲹消化系统的胚后发育 [J]. 台湾海峡, 2011, 30(4): 533–539.
- [22] 王贵宁, 李兵, 罗蕾, 等. 温度及盐度对卵形鲳鲹仔鱼存活和发育的影响 [J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(6): 831–837.
- [23] 范春燕, 区又君, 李加儿. 卵形鲳鲹消化酶活性的研究 V 大规格幼鱼消化酶活性在不同消化器官中的分布及盐度对酶活性的影响 [J]. 海洋渔业, 2011, 33(4): 423–428.
- [24] 区又君, 罗奇, 李加儿, 等. 卵形鲳鲹消化酶活性的研究 IV 养殖水温和酶反应温度对幼鱼酶活性的影响 [J]. 海洋渔业, 2011, 33(1): 28–32.
- [25] FOLCH J, LEES M, STANLEY G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. The Journal of biological chemistry, 1957, 226(1): 497–509.
- [26] CEJAS J R, ALMANSA E, JEREZ S. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white Sea bream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2004, 139:209–216.
- [27] 刘书成, 李德涛, 高加龙, 等. 三种贝类的脂类成分及其营养价值评价 [J]. 营养学报, 2009, 31(4): 414–416.
- [28] MORRISON W R, SMITH L M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethyl acetals from lipids with boron trifluoride methanol [J]. Journal of Lipid Research, 1964, 5: 600–608.
- [29] KEEMBIYEHETTY C N, WILSON R P. Effects of water temperature on growth and nutrient utilization of sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) fed diets containing different energy/protein ratios [J]. Aquaculture, 1998, 166: 151–162.
- [30] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996:8.
- [31] RØNNESTAD I, FYHN H J, GRAVNINGEN K. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Marine Biology, 1992, 114(4): 517–525.
- [32] FINN R N, FYHN H J, HENDERSON R J, et al. The sequence of catabolic substrate oxidation and enthalpy balance of developing embryos and yolk-sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1996, 115A:133–155.
- [33] RØNNESTAD I, KOVEN W M, TANDLER A, et al. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. Marine Biology, 1994, 120(2): 187–196.
- [34] RØNNESTAD I, KOVEN W M, TANDLER A, et al. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 1998, 162:157–170.
- [35] RAINUZZO J R, REITAN K I, JØRGENSEN L. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1992, 103:21–26.
- [36] VETTER R D, HOUDSON R E, AMOLD C. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellatus*) [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1983, 40(5): 627–634.
- [37] 卢素芳, 赵娜, 刘华斌, 等. 黄颡鱼早期发育阶段受精卵和鱼体脂肪酸组成变化 [J]. 水产学报, 2008, 32(5): 711–716.
- [38] KOVEN W M, KISSIL G W, TANDLER A. Lipid and (n-3) requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding [J]. Aquaculture, 1989, 79:185–189.
- [39] 谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展 [J]. 水生生物学报, 1998, 22(2): 181–188.
- [40] OGATA H Y, EMATA A C, GARIBAY E S, et al. Fatty acid composition of five candidate aquaculture species in central Philippines [J]. Aquaculture, 2004, 236: 361–375.

Changes in lipid characteristics and fatty acid contents of developmental yolk-sac larvae of *Epinephelus awoara* and *Trachinotus ovatus*

FENG Long-feng¹, HUANG Xu-xiong¹, WEN Wen¹, CHEN Qing-kai², YAN Jia-qi¹, WEI Li-kun¹

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Ningde Fisheries Technical Extension Station, Ningde 352200, Fujian, China)

Abstract: Lipid as well as fatty acid is important substrate fueling normal metabolism and development of marine fish larvae. The changes in lipid characteristics and fatty acid contents of developing yolk-sac larvae of *Epinephelus awoara* and *Trachinotus ovatus* were investigated in this study. The newly hatched larvae and 1 d, 2 d, 3 d post hatching larvae of *E. awoara* and *T. ovatus* were sampled and their lipid contents and fatty acid profiles were assayed quantitatively. The results indicated that there were different lipid compositions between the two larvae. The neutral lipid/polar lipid ratio in *E. awoara* was between 0.97 and 1.22 during the development of yolk-sac larva. While in *T. ovatus* it was between 1.88 and 3.21. The total lipid contents of the two larvae both decreased with the development due to large consumption of neutral lipid. The dominating fatty acids in neutral lipid of *E. awoara* yolk-sac larva were 18:1n-9, 16:0, DHA, 16:1 and 18:0. While DHA, 16:0, 18:0 and 18:1n-9 were the dominating in polar lipid. However, the dominating fatty acids in neutral lipid of *T. ovatus* larvae were 18:1n-9, 18:2n-6, DHA, 16:4n-3 and 16:0, and in polar lipid were DHA, 16:0, 18:1n-9 and 18:2n-6. Significant decreasing of main fatty acids in neutral lipid appeared at 1 day post hatching in *T. ovatus* larva and at 2 days post hatching in *E. awoara* larva respectively. But the contents of main fatty acids in polar lipid increased significantly at 1 day post hatching in both larvae. It is therefore suggested that despite the significant differences in lipid and fatty acid profiles, the lipid consumption law was similar during the development of yolk-sac larvae of *E. awoara* and *T. ovatus*.

Key words: *Epinephelus awoara*; *Trachinotus ovatus*; yolk-sac larvae; neutral lipids; polar lipids; fatty acid