

文章编号: 1000-0615(2017)08-1203-10

DOI: 10.11964/jfc.20160110236

菊黄东方鲀发育早期的脂肪酸组成变化

施永海*, 徐嘉波, 刘永士, 张海明,
邓平平, 陆根海, 张宗锋

(上海市水产研究所, 上海市水产技术推广站, 上海 200433)

摘要: 采用生化分析手段对菊黄东方鲀的未受精卵、胚胎(出膜前, 受精后80~85 h)、初孵仔鱼(0日龄)、开口前仔鱼(3日龄)的脂肪酸组成和含量进行了检测和分析。结果显示, 菊黄东方鲀卵和鱼苗的水分含量随着个体发育出现升高趋势, 而鱼苗总脂含量随着个体发育显著下降。各发育阶段的干样中检出8种饱和脂肪酸(SFA)、7种单不饱和脂肪酸(MUFA)和12种多不饱和脂肪酸(PUFA)。菊黄东方鲀未受精卵脂肪酸组成与其亲本卵巢非常相似; 胚胎期的脂肪酸利用率高, 顺序为SFA (15.08%)、MUFA (14.46%)、n6PUFA (10.20%)和n3PUFA (0.19%), 以C16:0、C16:1、C18:1n9c和C18:2n6c为主要能量来源, n3PUFA被优先保存, 特别是DHA得到完全保留; 孵化后, 在内源性营养阶段, 仔鱼对n3PUFA利用迅速上升, 仔鱼开口前的脂肪酸利用率高, 顺序与胚胎期正好相反: n3PUFA (19.60%)、n6PUFA (16.98%)、SFA (13.50%)和MUFA (13.01%), 以C18:2n6c、C22:5n3(DPA)、C20:5n3(EPA)、C22:6n3(DHA)、C18:1n9c和C16:0为主要能量来源, 其中仔鱼对DHA实际利用量为最高(14.44 mg/g), 仔鱼在开口前期n3PUFA (特别是DHA)被大量利用消耗。研究表明, 菊黄东方鲀仔鱼发育需要消耗大量的n3PUFA (特别是DHA和EPA), 并建议在菊黄东方鲀苗种培育开口阶段及时增加富含EPA和DHA饵料的投喂量, 如海水的轮虫、藻类强化过的卤虫幼体, 缓解苗种开口阶段成活率低下的问题。

关键词: 菊黄东方鲀; 卵; 胚胎; 仔鱼; 脂肪酸

中图分类号: Q 591.5; S 965.3

文献标志码: A

菊黄东方鲀(*Takifugu flavidus*)隶属于硬骨鱼纲(Osteichthyes), 鲀形目(Tetraodontiformes), 鲀科(Tetraodontidae), 俗称“满天星”, 主要分布于我国东海、黄海及渤海, 属于温带近海底层鱼类^[1], 不作长距离的洄游, 菊黄东方鲀具有很高的药用、食用价值^[2], 也因其品质较好, 在国内东方鲀属鱼类中价格最高^[2]。菊黄东方鲀的人工繁殖技术研究从2001年开始^[3], 到2004年养殖逐渐兴起, 养殖面积日益扩大, 其产业主要分布于我国的沿海地区。

鱼类早期发育阶段的营养生理是鱼类营养学研究的前沿领域之一, 脂类是鱼类早期发育过程中的必需营养物质, 不仅是其能量的主要

来源, 还参与构建机体组织和调节生理活动^[4-5]; 脂肪酸营养对海水鱼类早期阶段的生长发育与正常的生理机能起着决定性的作用^[4], 特别是n-3系列的高度不饱和脂肪酸(DHA和EPA)是海水仔稚鱼的必需脂肪酸^[5-6]; 同时不同品种的海水鱼类早期阶段对必需脂肪酸的需求是不完全相同的^[4]。因此, 研究海水鱼类早期发育阶段脂肪酸组成和变化, 有助于了解其早期阶段的脂肪酸需求特性和变化规律。

目前, 有关菊黄东方鲀早期发育阶段的研究, 主要集中于生长发育^[7-8]、消化酶与抗氧化酶活性变化^[9]以及外界环境因子对其的影响^[2, 10-13],

收稿日期: 2016-01-15 修回日期: 2017-03-14

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203065); 上海市科学技术委员会项目(13DZ2251800)

通信作者: 施永海, E-mail: yonghais@163.com

探明了早期各发育阶段的特性和适宜环境范围(如盐度^[10-12]、温度^[2]、光周期^[13]等)。但有关菊黄东方鲀早期发育过程中营养物质的代谢未见报道,本实验采用生化方法,检测分析了菊黄东方鲀早期各发育阶段的脂肪酸组成和含量,比较了胚胎期和仔鱼内源性营养阶段的脂肪酸的实际利用,旨在全面地掌握菊黄东方鲀早期阶段的脂肪酸需求特点,以期揭示该鱼苗种开口阶段死亡率较高的成因,为完善该鱼全人工繁育技术提供依据。

1 材料与方 法

1.1 样品采集与处理

实验用菊黄东方鲀的鱼卵和鱼苗于2014年4—5月取自上海市水产研究所座落于杭州湾北部沿岸的奉贤基地。菊黄东方鲀鱼卵和鱼苗是全人工繁育所得,繁殖用亲本的培育以及强化培育期间所用的饲料均为商品粉状饲料(常熟泉兴营养添加剂有限公司生产的幼鳖商业粉状配合饲料,干物质基础下粗蛋白质含量为48.82%±0.28%,粗脂肪含量为5.74%±0.27%,灰分含量为13.93%±0.05%,饲料中脂肪酸含量见表1,将粉状饲料和水以1:1的比例做成面团投置于饵料台。人工繁殖、受精卵孵化以及仔鱼开口前期的管理方法参照施永海等^[14],菊黄东方鲀早期发育各阶段分期参照施永海等^[8]略作修正,采样按不同的发育阶段分别获取未受精卵、胚胎(出膜前,受精后80~85 h)、初孵仔鱼(0日龄)、开口前仔鱼(3日龄)4组样品,每组样品分3个平行,每个平行分别取自3尾不同雌鱼繁殖所得的卵和鱼苗;每个平行样品按卵4~6 g、仔鱼8~12 g(4000~20 000尾)取样。取样后立即置于-20℃的冰箱冷冻,冷冻后再置于实验室-76℃的冰箱中保存。测量时,将样品真空冷冻干燥至恒重,碾磨、混匀后待测。

1.2 水分、总脂和脂肪酸测定方法

采用冷冻干燥法测定样品中的水分,按氯仿甲醇法提取总脂,脂肪的皂化和衍生见国标(GB/T22223-2008)食品中总脂肪、饱和脂肪(酸)、不饱和脂肪(酸)的测定,以脂肪酸甲酯作标准定性,以色谱峰峰面积归一法计算出各脂肪酸相对含量,仪器为Agilent 6890型气相色谱仪。

表1 亲本饲料的脂肪酸组成及含量
Tab. 1 Fatty acid composition and content of

parents feed				%
脂肪酸 fatty acid	含量 content	脂肪酸 fatty acid	含量 content	
C14:0	3.41	C22:2	0.40	
C15:0	0.31	C18:3n6	0.11	
C16:0	15.07	C18:3n3	3.58	
C17:0	0.43	C20:3n6	0.11	
C18:0	4.90	C20:3n3	0.32	
C20:0	0.48	C20:4n6	0.98	
C22:0	0.32	C20:5n3(EPA)	8.78	
C23:0	0.03	C22:5n3(DPA)	1.33	
C16:1	3.87	C22:6n3(DHA)	13.31	
C17:1	0.11	∑SFA	24.95	
C18:1n9t	0.23	∑MUFA	24.47	
C18:1n9c	17.30	∑PUFA	50.57	
C20:1n9	0.98	EPA+DHA	22.08	
C22:1n9	1.50	∑n3PUFA	27.31	
C24:1n9	0.49	∑n6PUFA	1.09	
C18:2n6t	0.10	∑SFA/∑UFA	0.33	
C18:2n6c	21.29	∑n3PUFA/∑n6PUFA	25.14	
C20:2	0.29			

注: SFA为饱和脂肪酸, MUFA为单不饱和脂肪酸, PUFA为多不饱和脂肪酸, UFA为不饱和脂肪酸, 下同

Notes: SFA. saturated fatty acids, MUFA. mono-unsaturated fatty acids, PUFA. poly-unsaturated fatty acids, UFA. unsaturated fatty acids, the same below

1.3 数据处理和统计

所有数据用mean±SD表示,采用Excel和SPSS 17.0处理数据及图表。用One-Way ANOVA对各发育阶段组数据差异进行方差分析,如数据是百分数,先采用反正弦函数转换后再进行方差分析;用Duncan氏法作多重比较,以P<0.05为差异显著。

脂肪酸利用量和利用率的计算公式:

单位干物质中各脂肪酸实际含量(mg/g DW)

$$M=T_1 \times C_1 \times 10;$$

胚胎阶段脂肪酸利用量(mg/g DW)

$$M_g = M_u - M_e;$$

胚胎阶段脂肪酸利用率(%)

$$R_g = (M_u - M_e) / M_u \times 100;$$

仔鱼内源性营养阶段脂肪酸利用量(mg/g DW)

$$M_f = M_n - M_b;$$

仔鱼内源性营养阶段脂肪酸利用率(%)

$$R_f = (M_n - M_b) / M_n \times 100;$$

式中, T_1 是单位干物质中总脂的含量(%), C_i 是各脂肪酸的百分含量(%), DW 为干重, M_u 、 M_e 、 M_n 和 M_b 分别为未受精卵、胚胎(出膜前, 受精后80~85 h)、初孵仔鱼(0日龄)、开口前仔鱼(3日龄)的脂肪酸实际含量(mg/g DW)。

2 结果

2.1 各发育阶段的水分和总脂含量变化

菊黄东方鲀开口前仔鱼的水分含量显著高于未受精卵、胚胎和初孵仔鱼($P < 0.05$), 但与未受精卵、胚胎和初孵仔鱼之间的水分含量均没有显著差异($P > 0.05$), 水分含量随着个体发育表现升高趋势(表2)。菊黄东方鲀未受精卵总脂肪占干物质百分含量(23.73%)略高于胚胎的总脂含量(21.27%)($P > 0.05$)(表2), 但二者的总脂含量(21.27%~23.73%)均显著低于初孵仔鱼(31.70%)($P < 0.05$); 鱼苗孵出后, 随着个体发育, 其总脂含量从初孵仔鱼的31.70%显著下降至开口前仔鱼的26.73%($P < 0.05$)(表2)。

表2 菊黄东方鲀各发育阶段水分和总脂含量

Tab. 2 The moisture and total lipid content of

T. flavidus in different developmental stages $n=3$, %

指标 index	未受精卵 unfertilized eggs	胚胎 embryos	初孵仔鱼 newly hatched larvae	开口前仔鱼 before feeding larvae
水分/(%湿重) moisture	74.78±1.75 ^a	74.53±1.75 ^a	76.58±0.88 ^a	82.49±1.46 ^b
脂肪/(%干重) total lipid	23.73±1.70 ^{ab}	21.27±1.37 ^a	31.70±2.70 ^c	26.73±0.74 ^b

注: 同行中不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同
Notes: values within a line followed by different letters were significantly different ($P < 0.05$), the same below

2.2 各发育阶段脂肪酸的组成变化

检测了C6~C24的37种脂肪酸, 在菊黄东方鲀早期各发育阶段的干样中, 共检测到碳链长度为C14~C22的27种脂肪酸, 分别为8种饱和脂肪酸(SFA)、7种单不饱和脂肪酸(MUFA)和12种多不饱和脂肪酸(PUFA)(表3)。

各发育阶段的单个脂肪酸百分含量的变化

菊黄东方鲀早期各发育阶段的C18:1n9c占总脂肪酸的百分含量均为最高(25.75%~26.38%), 且

含量稳定、无显著性差异($P > 0.05$)(表3)。C16:0在各发育阶段的百分含量较丰富, 且随个体发育呈现明显下降趋势($P < 0.05$), 其数值从19.81%下降至16.62%(表3)。C18:0的百分含量在各发育阶段之间无显著差异($P > 0.05$), 其数值范围为7.95%~8.59%(表3)。C16:1的百分含量随个体发育呈现微弱的下降趋势($P > 0.05$), 其数值从未受精卵的6.51%下降至开口前仔鱼的5.37%(表3); C18:2n6c也有类似的现象, 随个体发育呈现微弱的下降趋势($P > 0.05$), 其数值从未受精卵的4.07%下降至开口前仔鱼的3.56%(表3)。

菊黄东方鲀个体早期发育过程中, C22:6n3(DHA)的百分含量随个体发育显著升高($P < 0.05$), 数值从17.70%升高至23.40%(表3)。C20:5n3(EPA)百分含量在各发育阶段之间无显著变化($P > 0.05$), 其数值范围为3.21%~3.75%(表3)。随个体发育, DHA+EPA变化与DHA的相似, 从未受精卵、胚胎到初孵仔鱼的DHA+EPA百分含量显著升高($P < 0.05$), 数值从20.91%升高至27.15%; 开口前仔鱼的DHA+EPA含量(25.73%)与初孵仔鱼和胚胎均没有显著差异($P > 0.05$)(表3)。

各发育阶段的SFA、MUFA和PUFA百分含量的变化 菊黄东方鲀从未受精卵到后期仔鱼, 脂肪酸组成中SFA的比例随个体发育呈现明显下降趋势($P < 0.05$), 其数值从30.35%下降至26.28%(表3)。MUFA比例在各发育阶段之间无显著差异($P > 0.05$), 其数值范围为32.99%~36.25%($P > 0.05$)(表3)。相反, PUFA的比例随个体发育呈现显著升高趋势($P < 0.05$), 其数值从33.41%上升至40.76%(表3)。

各发育阶段的 $\sum SFA / \sum UFA$ 和 $\sum n3PUFA / \sum n6PUFA$ 比率的变化 菊黄东方鲀早期阶段的饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸的比率($\sum SFA / \sum UFA$)随个体发育呈现显著下降趋势($P < 0.05$), 其数值从0.59下降到0.46(表3)。相反, $\sum n3PUFA / \sum n6PUFA$ 比率变化随个体发育呈现显著的上升趋势($P < 0.05$), 其数值从5.26下降到6.55(表3)。

2.3 各发育阶段主要脂肪酸实际含量的变化

由于菊黄东方鲀的卵膜相对较厚, 仔鱼出膜后, 卵膜脱离仔鱼, 为排除卵膜对生物体脂肪酸实际利用的干扰, 脂肪酸实际含量变化的分析分为孵化前和孵化后两个阶段。

孵化前主要脂肪酸实际含量的变化 菊黄

表 3 菊黄东方鲀各发育阶段脂肪酸组成及含量
 Tab. 3 Fatty acid composition and content of *T. flavidus* in different developmental stages $n=3$, %

脂肪酸 fatty acid	未受精卵 unfertilized eggs	胚胎 embryos	初孵仔鱼 newly hatched larvae	开口前仔鱼 before feeding larvae
C14:0	1.47±0.25 ^a	1.29±0.03 ^{ab}	1.04±0.11 ^{bc}	0.98±0.08 ^c
C15:0	0.18±0.01 ^a	0.16±0.02 ^{ab}	0.14±0.02 ^b	0.14±0.01 ^b
C16:0	19.81±1.78 ^a	18.56±0.28 ^{ab}	16.62±0.63 ^b	16.62±0.96 ^b
C17:0	0.27±0.08 ^a	0.22±0.03 ^a	0.19±0.05 ^a	0.17±0.02 ^a
C18:0	8.35±0.85 ^a	8.14±0.74 ^a	7.95±0.66 ^a	8.59±0.75 ^a
C20:0	0.22±0.01 ^a	0.26±0.02 ^b	0.27±0.01 ^b	0.31±0.01 ^c
C22:0	0.03±0.00 ^a	0.04±0.00 ^{ab}	0.03±0.02 ^a	0.06±0.01 ^b
C23:0	0.01±0.00 ^a	0.02±0.01 ^{ab}	0.02±0.01 ^{ab}	0.03±0.01 ^b
C16:1	6.51±1.25 ^a	5.90±0.60 ^a	5.37±0.37 ^a	5.39±0.83 ^a
C17:1	0.32±0.01 ^{ab}	0.46±0.04 ^c	0.40±0.09 ^{bc}	0.28±0.01 ^a
C18:1n9t	0.20±0.01 ^a	0.20±0.02 ^a	0.20±0.04 ^a	0.18±0.02 ^a
C18:1n9c	27.55±1.94 ^a	26.38±1.73 ^a	25.75±1.45 ^a	26.36±2.01 ^a
C20:1n9	1.34±0.08 ^a	1.30±0.06 ^a	0.90±0.65 ^a	1.42±0.07 ^a
C22:1n9	0.15±0.06 ^a	0.15±0.04 ^a	0.17±0.04 ^a	0.18±0.05 ^a
C24:1n9	0.18±0.07 ^a	0.18±0.04 ^a	0.19±0.07 ^a	0.26±0.06 ^a
C18:2n6t	0.11±0.01 ^a	0.09±0.02 ^a	0.09±0.02 ^a	0.16±0.13 ^a
C18:2n6c	4.07±0.31 ^a	3.91±0.44 ^a	3.93±0.43 ^a	3.56±0.43 ^a
C20:2	0.51±0.09 ^a	0.45±0.02 ^a	0.45±0.05 ^a	0.45±0.04 ^a
C22:2	0.11±0.02 ^a	0.19±0.12 ^a	0.10±0.02 ^a	0.08±0.01 ^a
C18:3n6	0.06±0.01 ^a	0.06±0.00 ^{ab}	0.06±0.01 ^{ab}	0.05±0.01 ^b
C18:3n3	1.06±0.13 ^a	0.99±0.03 ^a	0.59±0.30 ^b	0.94±0.05 ^a
C20:3n6	0.11±0.02 ^a	0.13±0.01 ^a	0.13±0.01 ^a	0.13±0.01 ^a
C20:3n3	0.18±0.08 ^a	0.21±0.02 ^a	0.24±0.03 ^a	0.24±0.03 ^a
C20:4n6	0.86±0.08 ^a	1.06±0.05 ^b	1.14±0.11 ^b	1.34±0.10 ^c
C20:5n3(EPA)	3.21±0.58 ^a	3.47±0.35 ^a	3.75±0.22 ^a	3.53±0.43 ^a
C22:5n3(DPA)	5.42±0.74 ^a	6.00±0.26 ^{ab}	6.88±0.13 ^b	6.37±0.49 ^b
C22:6n3(DHA)	17.70±2.10 ^a	20.17±0.63 ^{ab}	23.40±1.25 ^c	22.21±1.17 ^{bc}
ΣSFA	30.35±2.29 ^a	28.69±0.82 ^{ab}	26.26±1.42 ^b	26.89±1.31 ^b
ΣMUFA	36.25±2.96 ^a	34.58±2.27 ^a	32.99±1.17 ^a	34.06±2.62 ^a
ΣPUFA	33.41±4.08 ^a	36.73±1.62 ^{ab}	40.76±1.18 ^b	39.06±2.73 ^b
EPA+DHA	20.91±2.61 ^a	23.64±0.97 ^{ab}	27.15±1.17 ^c	25.73±1.56 ^{bc}
Σn3PUFA	27.56±3.55 ^a	30.84±1.22 ^{ab}	34.86±1.54 ^b	33.28±2.09 ^b
Σn6PUFA	5.22±0.43 ^a	5.24±0.46 ^a	5.36±0.38 ^a	5.24±0.60 ^a
ΣSFA/ΣUFA	0.59±0.08 ^a	0.53±0.02 ^{ab}	0.46±0.02 ^b	0.48±0.04 ^b
Σn3PUFA/Σn6PUFA	5.26±0.25 ^a	5.90±0.34 ^{ab}	6.55±0.71 ^b	6.38±0.31 ^b

东方鲀在孵化前, 在未受精卵和胚胎的主要脂肪酸中, 实际含量排名前三的均为C18:1n9c、C22:6n3(DHA)和C16:0(表4)。从未受精卵到孵化前胚胎, C14:0和C16:0实际含量显著减少($P<0.05$), C20:4n6和DHA实际含量略微上升($P>0.05$), 其他各单个脂肪酸实际含量均略微下降($P>0.05$)(表4)。未受精卵的SFA、MUFA和PUFA的实际含量(分别为68.14、81.91和76.47 mg/g)均略微高于($P>0.05$)孵化前胚胎(分别为57.86、70.06和74.94 mg/g)(表4)。

孵化后主要脂肪酸实际含量的变化 菊黄东方鲀从初孵仔鱼到开口前仔鱼阶段, 除C18:3n3的实际含量略微上升外($P>0.05$), C14:0、C16:0、C18:2n6c、C20:5n3(EPA)、C22:5n3(DPA)和C22:6n3(DHA)的实际含量随个体发育均显著降低($P<0.05$), 其他各单个脂肪酸的实际含量随鱼苗发育也均略微减少($P>0.05$), 这也导致了SFA、MUFA和PUFA实际含量也随鱼苗发育而显著减少($P<0.05$)(表4)。

2.4 胚胎和仔鱼内源性营养阶段主要脂肪酸的实际利用

胚胎阶段主要脂肪酸的实际利用 菊黄东方鲀胚胎单个脂肪酸中实际利用量最高的为C18:1n9c(8.68 mg/g), 其次为C16:0(6.97 mg/g)和C16:1(2.87 mg/g)(图1)。从利用率看, C16:1最高(19.43%), 其次为C16:0(15.70%)、C18:2n6c(14.00%)和C18:1n9c(13.96%)。胚胎对DHA实际利用非常低, 数据监测结果出现了负值(图1)。就SFA、MUFA、PUFA来看, 胚胎利用量最高的是MUFA(11.84 mg/g), 而利用率最高是SFA(15.08%), 胚胎对n3PUFA的实际利用非常低, 利用量和利用率分别为0.19 mg/g和0.31%(图1)。

仔鱼内源性营养阶段主要脂肪酸的实际利用 菊黄东方鲀仔鱼在内源性营养阶段, 单个脂肪酸中实际利用量最高的为C22:6n3(DHA)(14.44 mg/g), 其次为C18:1n9c(10.69 mg/g)和C16:0(7.77 mg/g)(图2)。从利用率看, C18:2n6c最

表 4 菊黄东方鲀各发育阶段主要脂肪酸实际含量

脂肪酸 fatty acid	未受精卵 unfertilized eggs	胚胎 embryos	初孵仔鱼 newly hatched larvae	开口前仔鱼 before feeding larvae
C14:0	3.27±0.30 ^a	2.59±0.20 ^b	3.08±0.07 ^a	2.45±0.14 ^b
C16:0	44.38±0.78 ^b	37.41±2.03 ^a	49.85±2.45 ^c	42.08±1.35 ^b
C18:0	18.88±2.16 ^{ab}	16.46±1.26 ^a	23.93±1.30 ^c	21.86±1.82 ^{bc}
C16:1	14.75±2.35 ^{ab}	11.89±1.43 ^b	16.19±2.31 ^a	13.64±1.88 ^{ab}
C18:1n9c	62.19±5.00 ^{ab}	53.51±6.08 ^a	77.80±8.91 ^c	67.11±5.36 ^{bc}
C20:1n9	3.05±0.39 ^a	2.66±0.28 ^a	2.68±1.95 ^a	3.63±0.28 ^a
C18:2n6c	9.22±1.31 ^a	7.93±1.18 ^a	11.78±0.35 ^b	9.08±1.30 ^a
C18:3n3	2.41±0.46 ^a	2.01±0.18 ^a	1.82±1.01 ^a	2.41±0.18 ^a
C20:4n6	1.97±0.31 ^a	2.15±0.07 ^a	3.47±0.55 ^b	3.45±0.22 ^b
C20:5n3(EPA)	7.36±1.73 ^a	7.09±0.69 ^a	11.40±0.76 ^b	9.07±1.21 ^a
C22:5n3(DPA)	12.31±2.48 ^a	12.15±1.02 ^a	20.78±2.14 ^c	16.23±1.66 ^b
C22:6n3(DHA)	40.68±7.50 ^a	41.31±2.52 ^a	71.66±9.68 ^c	57.22±4.24 ^b
ΣSFA	68.14±1.81 ^b	57.86±2.58 ^a	78.84±3.05 ^c	68.20±1.71 ^b
ΣMUFA	81.91±6.24 ^{ab}	70.06±7.72 ^a	99.59±10.22 ^c	86.63±6.66 ^{bc}
ΣPUFA	76.47±14.30 ^a	74.94±5.45 ^a	124.16±13.51 ^c	100.29±9.11 ^b
EPA+DHA	48.04±9.11 ^a	48.39±3.03 ^a	83.06±10.30 ^c	66.30±5.31 ^b
Σn3PUFA	63.18±12.24 ^a	62.99±4.24 ^a	106.39±13.20 ^c	85.54±7.16 ^b
Σn6PUFA	11.86±1.75 ^a	10.65±1.31 ^a	16.12±0.29 ^b	13.38±1.80 ^a

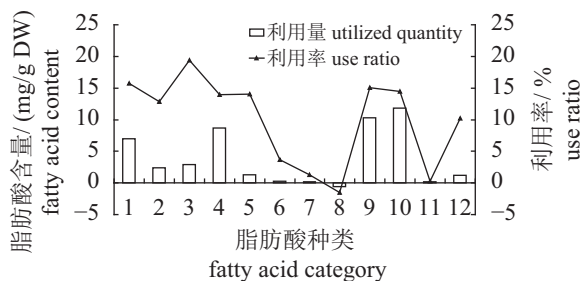


图1 菊黄东方鲀胚胎主要脂肪酸的实际利用程度

Fig. 1 Utilization degree of the main fatty acids of *T. flavidus* in embryos stage

1. C16:0, 2. C18:0, 3. C16:1, 4. C18:1n9c, 5. C18:2n6c, 6. EPA, 7. DPA, 8. DHA, 9. ΣSFA, 10. ΣMUFA, 11. Σn3PUFA, 12. Σn6PUFA

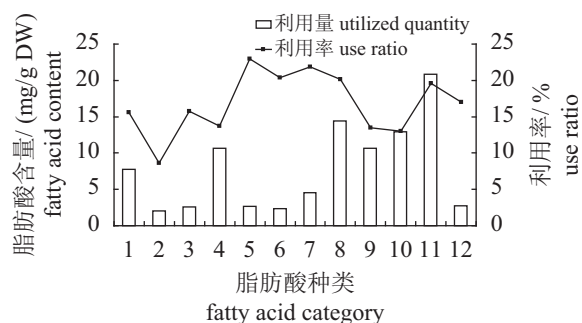


图2 菊黄东方鲀仔鱼内源性营养阶段主要脂肪酸的实际利用程度

Fig. 2 Utilization degree of the main fatty acids of *T. flavidus* larvae in endogenous vegetative stage

1. C16:0, 2. C18:0, 3. C16:1, 4. C18:1n9c, 5. C18:2n6c, 6. EPA, 7. DPA, 8. DHA, 9. ΣSFA, 10. ΣMUFA, 11. Σn3PUFA, 12. Σn6PUFA

高(22.94%), 其次为C22:5n3(DPA)(21.88%)、C20:5n3(EPA)(20.41%)和C22:6n3(DHA)(20.15%)(图2)。利用量和利用率均最低的为C18:0, 分别为2.07 mg/g和8.64%。就SFA、MUFA、PUFA来看, 利用量和利用率均最高的为n3PUFA, 分别为20.85 mg/g和19.60%(图2)。

3 讨论

3.1 未受精卵脂肪酸组成与其亲本卵巢、亲本饲料的关系

海水鱼类在胚胎和开口摄食前卵黄囊仔鱼的发育过程中完全依赖内源性营养物质来维持正常的生理活动, 鱼卵中包含着胚胎和卵黄囊仔鱼发育所必需的全部营养^[4]; 脂肪作为鱼卵中最重要的能量储存物质, 不仅是鱼类胚胎和胚后发育阶段重要的代谢能源^[15], 而且还参与构建

机体组织和调节生理活动^[16]; 有研究显示成熟卵子脂肪酸组成的不同将影响海水鱼类早期阶段的发育, 对胚胎和仔鱼的发育至关重要^[5, 17]。本研究中, 菊黄东方鲀未受精卵脂肪酸组成与其亲本卵巢非常相似^[18](表5), 特别是百分含量较高的脂肪酸, 如C16:0(19.81%和21.6%)、C18:0(8.35%和5.7%)、C16:1(6.51%和8.4%)、C18:1n9c(27.55%和22.3%)、C20:5n3(EPA)(3.21%和3.9%)、C22:6n3(DHA)(17.7%和18.9%), 这说明未受精卵的脂肪酸组成与其亲本卵巢有非常紧密的联系, 或者说未受精卵的脂肪主要来源于其亲本卵巢; 另外, 菊黄东方鲀未受精卵以及其亲本卵巢的脂肪酸组成与亲本所摄食配合饲料的脂肪酸组成相差较大^[18](表5)。配合饲料的脂肪酸中百分含量最高的C18:2n6c(21.29%)在亲本卵巢以及未受精卵中的百分含量非常低(分别为3.7%和4.07%); 相反, 亲本卵巢以及未受精卵的脂肪酸中百分含量最高的C18:1n9c(22.32%和27.55%)在配合饲料中的百分含量相对较低(17.30%)(表5)。因此, 在实际的菊黄东方鲀人工繁育过程中, 要加强亲本强化培育期间的营养积累, 建议亲本的饲料中减少C18:2n6c比例、适量增加C18:1n9c的比例。

3.2 胚胎期和仔鱼内源性营养阶段脂肪酸消耗的特点及差异

鱼类在胚胎和仔鱼开口前的早期发育阶段, 饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)作为重要能源往往首先被利用, 而n3PUFA会被适当地保存下来, 脂肪酸利用先后顺序为SFA、MUFA、n6PUFA、n3PUFA, 这在许多鱼类中得到了证实, 如条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)^[5]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[6]、塞内加尔鲷(*Solea senegalensis*)^[19]、金头鲷(*Maccullochella macquarensis*)^[20]等。在本研究中, 菊黄东方鲀胚胎阶段对脂肪酸的利用完全符合此顺序规律, 但在其孵化后仔鱼内源性营养阶段对脂肪酸利用的顺序正好相反, 在胚胎期脂肪酸的实际利用率高为SFA(15.08%)、MUFA(14.46%)、n6PUFA(10.20%)和n3PUFA(0.19%), 单个脂肪酸实际利用较高的为C16:0(15.70%)、C16:1(19.43%)、C18:1n9c(13.96%)和C18:2n6c(14.00%), 可以看出菊黄东方鲀胚胎对n3PUFA的实际利用非常

表 5 菊黄东方鲀未受精卵、亲本卵巢及亲本饲料脂肪酸组成及含量
 Tab. 5 Fatty acid composition and content of *T. flavidus* in eggs, ovaries and parents feed

脂肪酸 fatty acid	亲本饲料 parents feed	卵巢 ^[18] ovaries	未受精卵 eggs	脂肪酸 fatty acid	亲本饲料 parents feed	卵巢 ^[18] ovaries	未受精卵 eggs
C14:0	3.41	2.0	1.47	C20:2	0.29	0.8	0.51
C15:0	0.31	0.3	0.18	C22:2	0.40	0.5	0.11
C16:0	15.07	21.6	19.81	C18:3n6	0.11	0.1	0.06
C17:0	0.43	0.3	0.27	C18:3n3	3.58	0.6	1.06
C18:0	4.90	5.7	8.35	C20:3n6	0.11	0.1	0.11
C20:0	0.48	0.2	0.22	C20:3n3	0.32	0.1	0.18
C22:0	0.32	0.1	0.03	C20:4n6	0.98	—	0.86
C23:0	0.03	0.5	0.01	C20:5n3(EPA)	8.78	3.9	3.21
C16:1	3.87	8.4	6.51	C22:5n3(DPA)	1.33	—	5.42
C17:1	0.11	—	0.32	C22:6n3(DHA)	13.31	18.9	17.70
C18:1n9t	0.23	0.2	0.20	∑SFA	24.95	30.7	30.35
C18:1n9c	17.30	22.3	27.55	∑MUFA	24.47	31.9	36.25
C20:1n9	0.98	0.8	1.34	∑PUFA	50.57	28.6	33.41
C22:1n9	1.50	0.1	0.15	∑n3PUFA	27.31	23.5	27.56
C24:1n9	0.49	0.1	0.18	∑n6PUFA	1.09	4.4	5.22
C18:2n6t	0.10	—	0.11	∑SFA/∑UFA	0.33	0.51	0.59
C18:2n6c	21.29	3.7	4.07	∑n3PUFA/∑n6PUFA	25.14	5.4	5.26

低, n3PUFA被优先保存下来, 特别是DHA, 其数据监测结果出现了负值, 数据显示在菊黄东方鲀胚胎期DHA得到了完全保留, 这点与塞内加尔鳎^[19]十分相似。而孵化后, 在内源性营养阶段, 仔鱼对n3PUFA实际利用迅速上升, 仔鱼开口前的脂肪酸实际利用率高与胚胎期正好相反, 分别为n3PUFA (19.60%)、n6PUFA (16.98%)、SFA (13.50%)和MUFA (13.01%), 单个脂肪酸利用较高的为C18:2n6c (22.94%)、C22:5n3(DPA)(21.88%)、C20:5n3(EPA)(20.41%)和C22:6n3(DHA)(20.15%), 另外仔鱼对C22:6n3(DHA)实际利用量为最高(14.44 mg/g)。仔鱼在开口前n3PUFA (特别是DHA)被大量利用消耗, 这也说明了n3PUFA (如DHA)对菊黄东方鲀开口前的仔鱼发育的重要性。这种仔鱼开口前n3PUFA被大量消耗的现象与日本鬼鲀(*Inimicus japonicus*)^[4]和条石鲷^[5]的研究结果相似, 但对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)的研究发现在饥饿情况下其7日龄的仔鱼还优先保留大量的DHA, DHA百分含量还比前期有所上升^[15], 可能是因为海水鱼类发育早期对DHA的需求量比淡水鱼类更多。

3.3 仔鱼脂肪酸特点与苗种培育早期成活率低的成因探讨

海水鱼类n3PUFA中DHA和EPA主要是通过食物链的富集作用在体内积聚起来的, DHA和EPA也已被称为人和动物生长发育的必需脂肪酸^[21-22], 仔稚鱼阶段是脑神经和视神经迅速发育的时期, 需要大量的DHA等重要营养物质来应对脑神经和视神经发育的需求^[15]。在本研究中, 菊黄东方鲀实际的苗种培育过程中, 其仔鱼在开口前n3PUFA (特别是DHA)被大量利用消耗, 其体内急需从外界补充大量的n3PUFA, 但如果仔鱼开口后, 投喂的是寡含n3PUFA的饵料, 如未经n3PUFA强化的卤虫幼体, 这会导致菊黄东方鲀仔鱼体内n3PUFA进一步匮乏, 而过低的DHA会造成海水鱼类仔稚鱼应激能力的下降甚至死亡^[23], 这可能是菊黄东方鲀苗种培育的开口阶段成活率低下的原因之一。因此, 在菊黄东方鲀苗种培育的仔鱼开口阶段, 要及时投喂富含EPA和DHA的饵料, 如海水轮虫、藻类强化过的卤虫幼体。

4 结论

菊黄东方鲀卵和鱼苗的水分含量随着个体发育呈现升高趋势,而鱼苗总脂含量随着个体发育显著下降。菊黄东方鲀未受精卵脂肪酸组成与其亲本卵巢非常相似;胚胎期以C16:0、C16:1、C18:1n9c和C18:2n6c为主要能量来源,n3PUFA被优先保存,特别是DHA得到完全保留;孵化后,在仔鱼内源性营养阶段,仔鱼对n3PUFA利用迅速上升,仔鱼在开口前期n3PUFA(特别是DHA)被大量利用消耗。建议在菊黄东方鲀苗种培育的仔鱼开口期间及时增加富含EPA和DHA饵料的投喂量,如海水轮虫、藻类强化过的卤虫幼体,缓解苗种开口阶段成活率低下的问题。

参考文献:

- [1] 杨竹舫,张汉秋,匡云华.渤海湾菊黄东方鲀*Fugu flavidus*生物学的初步研究[J].海洋通报,1991,10(6):44-47.
Yang Z F, Zhang H Q, Kuang Y H. Studies on biology of *Fugu flavidus* in Bohai bay[J]. Marine Science Bulletin, 1991, 10(6): 44-47(in Chinese).
- [2] Shi Y H, Zhang G Y, Zhu Y Z, et al. Effects of temperature on fertilized eggs and larvae of tawny puffer, *Takifugu flavidus*[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(12): 1741-1747.
- [3] 虞建辉,周志云.菊黄东方鲀低盐度人工育苗技术[J].科学养鱼,2002(3):12-13.
Yu J H, Zhou Z Y. Artificial breeding technique of *Fugu flavidus* under low salinity[J]. Scientific Fish Farming, 2002(3): 12-13(in Chinese).
- [4] 黄旭雄,冯隆峰,温文,等.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[J].水产学报,2013,37(4):526-535.
Huang X X, Feng L F, Wen W, et al. The changes in lipid and fatty acid profiles of devil stinger *Inimicus japonicas* during the development of embryo and yolk-sac larvae[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(4): 526-535(in Chinese).
- [5] 徐善良,王亚军,王丹丽,等.条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)发育早期的脂肪酸组成变化研究[J].海洋与湖沼,2013,44(2):438-444.
Xu S L, Wang Y J, Wang D L, et al. The study of fatty acid components in early developmental stage of *Oplegnathus fasciatus*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(2): 438-444(in Chinese).
- [6] 王丹丽,徐善良,严小军,等.大黄鱼仔、稚、幼鱼发育阶段的脂肪酸组成及其变化[J].水产学报,2006,30(2):241-245.
Wang D L, Xu S L, Yan X J, et al. Fatty acid composition and their changes in larvae and juveniles of *Pseudosciaena crocea*[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(2): 241-245(in Chinese).
- [7] 施永海,张根玉,朱雅珠,等.河口区养殖菊黄东方鲀的胚胎发育[J].大连海洋大学学报,2010,25(3):238-242.
Shi Y H, Zhang G Y, Zhu Y Z, et al. Embryonic development in cultured tawny puffer *Takifugu flavidus* in an estuary[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2010, 25(3): 238-242(in Chinese).
- [8] 施永海,张根玉,刘建忠,等.菊黄东方鲀仔稚鱼的生长、发育及行为生态[J].水产学报,2010,34(10):1509-1517.
Shi Y H, Zhang G Y, Liu J Z, et al. Growth, development and behavior ecology of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) larvae and juveniles[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(10): 1509-1517(in Chinese).
- [9] 刘永士,施永海,张根玉,等.菊黄东方鲀仔稚鱼生长及其消化酶与抗氧化酶活性[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2014,40(6):688-696.
Liu Y S, Shi Y H, Zhang G Y, et al. Growth, digestive enzyme and antioxidant enzyme activities of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) larvae[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 2014, 40(6): 688-696(in Chinese).
- [10] Zhang G Y, Shi Y H, Zhu Y Z, et al. Effects of salinity on embryos and larvae of tawny puffer, *Takifugu flavidus*[J]. Aquaculture, 2010, 302(1-2): 1-75.
- [11] 陈林,周文玉,潘桂平.盐度对菊黄东方鲀受精卵孵化和仔鱼生长的影响[J].广东海洋大学学报,2012,32(4):73-77.
Chen L, Zhou W Y, Pan G P. Effect of the salinity on embryo and larval of *Takifugu flavidus*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2012, 32(4): 73-77(in Chinese).
- [12] 郑惠东.盐度对菊黄东方鲀受精卵发育和仔稚鱼生长的影响[J].福建水产,2008(3):12-15.

- Zheng H D. Effects of salinity on development of fertilizer eggs and growth of larvae and juvenile of *Fugu flavidus*[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2008(3): 12-15(in Chinese).
- [13] Shi Y H, Zhang G Y, Liu J Z, *et al.* Effects of photoperiod on embryos and larvae of tawny puffer, *Takifugu flavidus*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2012, 43(2): 278-285.
- [14] 施永海, 张根玉, 朱雅珠, 等. 菊黄东方鲀河口区海水全人工繁育技术研究[J]. 水产科技情报, 2007, 34(3): 99-102, 106.
- Shi Y H, Zhang G Y, Zhu Y Z, *et al.* Study on the artificial breeding technology of *Takifugu flavidus* in estuary seawater[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2007, 34(3): 99-102, 106(in Chinese).
- [15] 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.
- Lu S F, Zhao N, Liu H B, *et al.* Changes in fatty acid composition during development in *Pelteobagrus fulvidraco* fertilized eggs and larvae[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(5): 711-716(in Chinese).
- [16] 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.
- Zhang Q Y, Hong W S. Recent advances in studies on feeding and nutrition of cultured marine fish larvae[J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2001, 20(S1): 1-10(in Chinese).
- [17] Tocher D R, Harvie D G. Fatty acid compositions of the major phosphoglycerides from fish neural tissues; (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acids in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and cod (*Gadus morhua*) brains and retinas[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1998, 5(4): 229-239.
- [18] 徐嘉波, 施永海, 张根玉, 等. 菊黄东方鲀不同组织脂肪酸的组成及含量分析[J]. 食品科学, 2014, 35(16): 133-137.
- Xu J B, Shi Y H, Zhang G Y, *et al.* Analysis of lipid and fatty acid composition in different tissues of adult female and male *Takifugu flavidus*[J]. Food Science, 2014, 35(16): 133-137(in Chinese).
- [19] Mourente G, Vázquez R. 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[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1996, 15(3): 221-235.
- [20] Gunasekera R M, De Silva S S, Ingram B A. Chemical changes in fed and starved larval trout cod, *Macculllochella macquarensis* during early development[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2001, 25(4): 255-268.
- [21] 唐雪, 徐钢春, 徐跑, 等. 野生与养殖刀鲚肌肉营养成分的比较分析[J]. 动物营养学报, 2011, 23(3): 514-520.
- Tang X, Xu G C, Xu P, *et al.* A comparison of muscle nutrient composition between wild and cultured *Coilia nasus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23(3): 514-520(in Chinese).
- [22] 庄平, 宋超, 章龙珍. 舌虾虎鱼肌肉营养成分与品质的评价[J]. 水产学报, 2010, 34(4): 559-564.
- Zhuang P, Song C, Zhang L Z. Evaluation of nutritive quality and nutrient components in the muscle of *Glossogobius giurus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(4): 559-564(in Chinese).
- [23] 刘镜格, 陈晓琳. 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[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(6): 897-902.
- Liu J K, Chen X L. A survey of research on n-3 HUFA nutrition for marine fish larvae[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2002, 32(6): 897-902(in Chinese).

Changes in fatty acid composition during early developmental stage of tawny puffer (*Takifugu flavidus*)

SHI Yonghai*, XU Jiabo, LIU Yongshi, ZHANG Haiming,
DENG Pingping, LU Genhai, ZHANG Zongfeng

(Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433, China)

Abstract: In order to understand the value of changes in fatty acid composition during early developmental stage of tawny puffer *Takifugu flavidus*, the fatty acid composition and content of tawny puffer in different developmental stages (unfertilized eggs, embryos 80–85 h after fertilization, newly hatched larvae 0-day-age, and before feeding larvae 3-day-age) were detected and analyzed by biochemical analysis methods. The results show that the moisture of egg and fry increased significantly with ontogenesis; the total lipid contents of fry decrease significantly with ontogenesis. 8 saturated fatty acids (SFA), 7 mono-unsaturated fatty acids (MUFA), and 12 poly-unsaturated fatty acids (PUFA) were found in the dry samples at different developmental stages. There was very similar tendency in fatty acid composition between unfertilized egg and its parent ovaries. At the embryonic period, the order of utilization rate of fatty acid was SFA (15.08%), MUFA (14.46%), n6PUFA (10.20%), and n3PUFA (0.19%), and C16:0, C16:1, C18:1n9c, and C18:2n6c were main sources of energy metabolism, and n3PUFA was preserved by priority, especially DHA, which was fully retained. After hatched, at the endogenous feeding stage, utilization rate of n3PUFA rose rapidly, followed by n3PUFA (19.60%), n6PUFA (16.98%), SFA (13.50%), and MUFA (13.01%). This was reverse to the embryo; C18:2n6c, C22:5n3(DPA), C20:5n3(EPA), C22:6n3(DHA), C18:1n9c, and C16:0 were main sources of energy metabolism, and the highest practical utilized quantity was DHA (14.44 mg/g), n3PUFA (especially DHA) was largely consumed before the larvae feeding. Therefore, larval development of tawny puffer needs to consume large amounts of n3PUFA (especially DHA and EPA). In larval breeding of tawny puffer, in order to improve the survival rate of larvae, enhancement of bait enriched with DHA and EPA (e.g., seawater rotifera, and *Artemia* sp. nauplii enriched with algae) was suggested.

Key words: *Takifugu flavidus*; egg; embryo; larvae; fatty acid

Corresponding author: SHI Yonghai. E-mail: yonghais@163.com

Funding projects: Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest of China (201203065); Sciences and Technology Commission of Shanghai (13DZ2251800)