

文章编号:1000-0615(2006)02-0241-05

大黄鱼仔、稚、幼鱼发育阶段的脂肪酸组成及其变化

王丹丽, 徐善良, 严小军, 王怡

(宁波大学生命学院海洋生物工程重点实验室, 浙江宁波 315211)

摘要:研究了大黄鱼早期主要发育阶段(前仔鱼期、后仔鱼期、稚鱼、幼鱼)体内脂肪酸的组成及含量的变化规律,并重点比较了发病稚鱼与正常稚鱼的脂肪酸组成。用GC/MS法共检测到24种脂肪酸,且种类随发育而递增,其中饱和脂肪酸(SFA)12种,单不饱和脂肪酸(MUFA)6种,多不饱和脂肪酸(PUFA)6种。分析结果表明:大黄鱼鱼苗内源性营养阶段以饱和脂肪酸C14:0、C16:0及单不饱和脂肪酸C16:1、C18:1作为能量代谢的主要来源;必需脂肪酸C20:4(n-6)(AA)在鱼苗开口前就已存在,而DHA和EPA摄食后才被检测到,其含量受饵料种类的影响,DHA含量变化范围为7.26%~25.36%,EPA为3.41%~8.40%。与同期正常鱼苗相比,病鱼苗的主要脂肪酸DHA、EPA含量显著降低,DHA不足前者的1/3,而AA、C18:1、C18:2、C18:3含量和EPA/DHA的比值显著增加,分别是前者的1.5~3倍。导致稚鱼阶段“胀鳔病”发生的内在原因可能是DHA和EPA的缺乏以及AA偏高。研究结果为预防“胀鳔”鱼苗的发生提供了理论依据。

关键词: 大黄鱼;仔鱼;稚鱼;幼鱼;脂肪酸;胀鳔病

中图分类号:S941.7 文献标识码:A

Fatty acid composition and their changes in larvae and juveniles of *Pseudosciaena crocea*

WANG Dan-li, XU Shan-liang, YAN Xiao-jun, WANG Yi

(Key Laboratory of Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: The fatty acid composition and their changes at main developmental stages (prophase-larvae, anaphase-larvae, juvenile and young) of the *Pseudosciaena crocea* were analyzed by means of GC/MS, and the comparison of fatty acids composition of the diseased juvenile with the normal juvenile was made. The fatty acids were detected, including 12 SFAs, 6 MUFAs and 6 PUFAs. C14:0, C16:0 (SFA) and C16:1, C18:1 (MUFA) were main source of energy metabolism during internal nutrition. The essential fatty acids C20:4 (n-6) (AA) have existed in the larvae before its first feeding, while the DHA and EPA were only detected after feeding, and were affected by the bait kinds. The ranges of DHA and EPA content variety were 7.26% - 25.36% and 3.41% - 8.40% respectively. Compared with FA composition of the normal juvenile of the same period, the content of DHA and EPA in the juvenile with "swim bladder bulge" disease decreased clearly, with the DHA content being only 1/3 of the normal one, while the contents of AA, C18:1, C18:2, C18:3 and EPA/DHA specific value increased markedly, being 1.5-3 times of those in normal juvenile. The inside reason that "swim bladder bulge" disease took place may be lack of DHA and EPA and higher AA. The research result can offer a theoretical foundation to prevent the "swim bladder bulge" disease.

Key words: *Pseudosciaena crocea*; larva; juvenile; young fish; fatty acid composition; "swim bladder bulge" disease

随着大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 规模化人工育苗技术的突破, 大黄鱼养殖已成为我国长江

南北沿海一带重要的网箱养殖支柱产业。至今, 国内对大黄鱼的研究主要集中在幼鱼生物学、苗

收稿日期:2005-07-13

资助项目:浙江省科技厅社会发展重点项目(011103991)

作者简介:王丹丽(1962-),女,浙江义乌人,副教授,硕士,主要从事水生生物学的研究。Tel:0574-87600551, E-mail: wdanli@sina.com

com



种的营养需求及能量收支、养殖技术及病害等几方面。由于大黄鱼一般在30日龄左右才具备成鱼的形态特征,所以大黄鱼仔、稚、幼鱼阶段是大黄鱼养殖中最重要的阶段,其涉及到仔稚鱼营养需求、生物饵料供应和配合饲料取代等关键问题^[1]。

脂类是海水鱼类必需的营养要素,也是能量的主要来源,脂肪酸在鱼类苗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^[2-5]。目前,国内外对鱼类脂肪酸的研究以淡水鱼居多,对海水鱼苗期脂肪酸的研究尚不多见^[6-10]。本研究应用GC/MS定性分析了大黄鱼苗期各发育阶段脂肪酸的种类和相对含量,并着重比较了发病前后鱼苗的脂肪酸变化特点,目的在于找寻大黄鱼苗期体内脂肪酸变化规律,从而

揭示大黄鱼人工育苗生产中,经常出现的“胀鳔”病(孵化后18~20d)的发病机理,为大黄鱼育苗中饵料的合理配置,进一步提高育成率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用材料于2004年3月9日-4月13日,取自象山港引种育种有限公司人工培育的鱼苗池中(水温22℃)。按不同的发育阶段分别采样,共获得前仔鱼期、后仔鱼期、稚鱼、幼鱼及“胀鳔”病鱼苗等7个样品,每个样品按仔鱼1000尾、稚鱼500尾、幼鱼30尾取样(表1)。取样后立即冷冻,用冰瓶带回,置于实验室-24℃的冰箱中保存。

表1 不同发育阶段的实验材料

Tab.1 The experimental material of different developmental stages

样品编号 sample no.	1	2	3	4	5	6	7
孵后发育天数(d) growth time after hatching	3	6	14	19	29	35	19
发育阶段 developmental stages	前仔鱼期	后仔鱼期	后仔鱼期	稚鱼	幼鱼	幼鱼	“胀鳔”病 稚鱼
摄食饵料种类 category of bait	开口前	摄食轮虫阶段	摄食轮虫和 卤虫阶段	摄食桡足类 阶段	摄食桡足类 阶段	摄食桡足类和 鱼粉阶段	开始摄食桡足类

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×0.25μm SPB-50色谱柱(美国SPELCO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),其他试剂为国产分析纯。

1.3 色谱及质谱条件

色谱(GC)条件 进样口温度250℃,载气为高纯氮(99.99%),流速0.81mL·min⁻¹,柱前压73.0kPa,柱起始温度150℃,保持3.5min,以20℃·min⁻¹升至200℃,再以5℃·min⁻¹升至280℃,保持37min。分流进样1μL,分流比50:1。

质谱(MS)条件 EI源,电子能量为70eV,离子源温度200℃,接口温度250℃。选取全程

离子碎片扫描模式,质量扫描范围为40~600,溶剂延迟3.5min。用化学电离(Chemical Ionization, CI)源分析时,反应气为甲烷。

1.4 实验方法

参照Bligh-Dyer法^[11],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⁻¹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Metcalf等^[12]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^[13]求得各脂肪酸相对百分含量。

2 结果

2.1 不同发育阶段脂肪酸的组成

大黄鱼苗期各阶段脂肪酸组成测定结果见表

2 和图 1, 共检测出 24 种脂肪酸, 起始碳链长度在 14 碳 - 24 碳之间。其中饱和脂肪酸 (SFA) 12 种, 单不饱和脂肪酸 (MUFA) 6 种, 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 6 种。

前仔鱼期脂肪酸组成特点 此时鱼苗尚未开口, 仅检出 13 种脂肪酸。以 SFA 和 MUFA 为主, 占 34.26% 和 57.88%, PUFA 仅占 7.86%。其中, C18:1 (n - 9) (油酸)、C16:0 (棕榈酸) 和 C16:1 (n - 7) (棕榈油酸) 三者含量最高, 分别为 34.34%、28.90% 和 22.56%, 且都明显超过其它发育阶段; 必需脂肪酸中 C20:4 (n - 6) (花生四烯酸) 含量为 3.07%, 而 C20:5 (n - 3) (EPA) 和 C22:6 (n - 3) (DHA) 都未能检出。

后仔鱼期脂肪酸组成特点 此阶段鱼苗

摄食轮虫、卤虫。与前仔鱼期相比 PUFA 的比例显著增加, MUFA 有所下降, SFA、MUFA 和 PUFA 三者约各占 1/3, 并出现了 2 种重要的多不饱和脂肪酸 EPA 和 DHA。孵化后 6 d (开口后 3 d) 以 C18:1 (n - 9) 含量最高达 27.68%, DHA 次之为 18.78%, EPA 含量为 3.41%; 孵化后 14 d, 仍以 C18:1 (n - 9) 含量最高为 24.11%, 而 DHA 跌至 7.45%, EPA 含量上升为 5.86%。

稚鱼期脂肪酸组成特点 此阶段鱼苗以摄食桡足类为主。此时 MUFA 跌至各阶段最低为 16.82%, PUFA 含量继续增加居各阶段之首达 41.74%, 其中 DHA 含量最高达 25.36%, 且显著高于其它各阶段。C18:1 (n - 9) 含量比仔鱼期下跌 50% 以上。

表 2 大黄鱼仔幼鱼发育阶段脂肪酸组成

脂肪酸 fatty acid	Tab. 2 Fatty acid composition in larvae and juveniles of <i>P. crocea</i> in different developmental stages %						
	孵化后发育天数 (d) growth time after hatching						
	3	6	14	19	29	35	19 "病鱼"
C14:0	3.03 ± 0.04 ^a	0.82 ± 0.03 ^{b,c}	0.73 ± 0.04 ^c	0.72 ± 0.02 ^c	0.98 ± 0.04 ^b	0.81 ± 0.02 ^{b,c}	0.69 ± 0.03 ^c
C15:0	0.48 ± 0.03 ^b	0.29 ± 0.01 ^c	0.44 ± 0.03 ^b	0.64 ± 0.04 ^a	0.80 ± 0.03 ^a	0.79 ± 0.04 ^a	0.44 ± 0.02 ^b
C16:0	28.90 ± 1.03 ^a	18.59 ± 0.85 ^c	17.26 ± 0.69 ^c	22.79 ± 0.80 ^b	23.90 ± 0.66 ^b	27.23 ± 0.95 ^a	17.32 ± 0.45 ^c
C16:1 (n - 7)	22.56 ± 0.98 ^a	11.14 ± 0.59 ^b	4.02 ± 0.13 ^d	2.19 ± 0.05 ^e	6.06 ± 0.23 ^c	5.77 ± 0.16 ^c	2.18 ± 0.03 ^e
C17:0	0.50 ± 0.02 ^c	2.42 ± 0.23 ^a	0.99 ± 0.11 ^{c,b}	1.52 ± 0.06 ^b	1.49 ± 0.05 ^b	1.47 ± 0.05 ^b	1.11 ± 0.04 ^b
C18:0	0.35 ± 0.01 ^e	7.86 ± 0.27 ^c	9.71 ± 0.29 ^b	3.56 ± 0.03 ^d	12.73 ± 0.99 ^a	14.04 ± 0.93 ^a	12.82 ± 1.11 ^a
C18:1 (n - 9)	34.34 ± 2.05 ^a	27.68 ± 1.65 ^b	24.11 ± 1.43 ^c	12.11 ± 1.12 ^d	12.11 ± 1.07 ^d	14.84 ± 1.17 ^d	22.16 ± 1.21 ^c
C18:2 (n - 6)	3.12 ± 0.09 ^b	1.74 ± 0.07 ^c	6.02 ± 0.21 ^a	2.96 ± 0.07 ^b	2.64 ± 0.03 ^b	1.67 ± 0.06 ^c	6.41 ± 0.23 ^a
C18:3 (n - 6)			1.02 ± 0.01 ^a				0.90 ± 0.01 ^a
C18:3 (n - 3)	1.67 ± 0.07 ^d	1.46 ± 0.04 ^d	15.19 ± 1.09 ^a	3.24 ± 0.03 ^c	2.11 ± 0.02 ^c	1.70 ± 0.05 ^d	12.04 ± 1.03 ^b
C20:0			0.49 ± 0.01 ^b	0.71 ± 0.01 ^a	0.56 ± 0.02 ^b	0.81 ± 0.02 ^a	0.69 ± 0.01 ^a
C20:1 (n - 9)		1.54 ± 0.04 ^a	1.03 ± 0.01 ^b	0.70 ± 0.02 ^c	0.63 ± 0.01 ^c	0.75 ± 0.02 ^c	1.14 ± 0.02 ^b
C20:4 (n - 6)	3.07 ± 0.08 ^b	1.92 ± 0.01 ^c	2.89 ± 0.05 ^b	2.82 ± 0.04 ^b	2.76 ± 0.04 ^b	1.80 ± 0.06 ^c	4.13 ± 0.04 ^a
C20:5 (n - 3)		3.41 ± 0.10 ^c	5.86 ± 0.17 ^b	7.36 ± 0.21 ^a	8.40 ± 0.28 ^a	4.50 ± 0.11 ^c	6.10 ± 0.17 ^b
C22:0			0.38 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.03 ^a	0.38 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.04 ^a
C22:1 (n - 9)	0.70 ± 0.02 ^a			0.44 ± 0.02 ^b	0.34 ± 0.01 ^b	0.31 ± 0.01 ^b	0.41 ± 0.02 ^b
C22:6 (n - 3)		18.78 ± 0.96 ^b	7.45 ± 0.21 ^c	25.36 ± 1.17 ^a	20.45 ± 1.34 ^b	18.92 ± 1.01 ^b	7.26 ± 0.47 ^c
C24:0					0.31 ± 0.01 ^a	0.30 ± 0.01 ^a	
C24:1 (n - 9)	0.28 ± 0.01 ^b		0.26 ± 0.01 ^b	1.38 ± 0.03 ^a	1.14 ± 0.05 ^a	1.31 ± 0.04 ^a	0.31 ± 0.01 ^b
SFA	34.26 ± 1.29 ^{d,c}	31.15 ± 1.17 ^d	32.06 ± 1.33 ^d	41.44 ± 1.07 ^b	42.79 ± 1.39 ^{ba}	47.40 ± 2.31 ^a	36.96 ± 1.05 ^c
MUFA	57.88 ± 2.56 ^a	41.52 ± 2.32 ^b	29.51 ± 1.25 ^c	16.82 ± 0.93 ^f	20.85 ± 1.04 ^e	24.01 ± 1.23 ^{d,c}	26.20 ± 1.41 ^c
PUFA	7.86 ± 0.57 ^d	27.33 ± 1.45 ^c	38.43 ± 1.47 ^{ab}	41.74 ± 2.33 ^a	36.36 ± 1.29 ^b	28.59 ± 1.66 ^c	36.84 ± 2.37 ^b
n - 3HUFA	0	22.19 ± 0.83 ^b	13.31 ± 0.19 ^c	32.72 ± 1.03 ^a	28.85 ± 1.27 ^a	23.42 ± 0.99 ^b	13.36 ± 0.31 ^c
EPA/DHA		0.18	0.79	0.29	0.41	0.24	0.84

注: 采用 Duncan 氏新复极差检验法。n = 3, 表中上标不同字母 (a、b、c、d、e、f) 表示有显著性差异 (P < 0.05)

Notes: Duncan's multiple range test. Within a row, means with the same superscript are not significantly different at P < 0.05

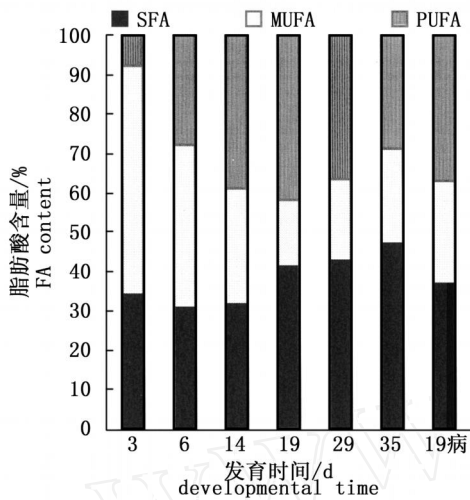


图1 SFA、MUFA、PUFA 在各阶段的变化

Fig.1 Changes of SFA, MUFA and PUFA in different developmental stages

幼鱼期脂肪酸组成特点 幼鱼期摄食桡足类和鱼粉。这阶段 SFA 含量上升至各阶段最高达 42.79%~47.40%，其中 C16:0 含量最高，29 d 时为 23.90%，35 d 时为 27.23%；其次是 DHA，分别占 20.45% 和 18.92%。29 d 时 EPA 含量为各阶段最高达 8.40%，C18:0 (硬脂酸) 含量也达到各阶段最高为 12.73%~14.04%。此阶段脂肪酸种类最全面包含所有 24 种脂肪酸中的 22 种。

2.2 “胀鳔病”鱼苗脂肪酸的组成

与同期 19 d 正常鱼苗相比，DHA 含量仅为 7.26%，不足前者的 1/3，且显著低于除 14 d 外的其它各阶段；EPA 降为 6.10%，与前者 7.36% 也有显著差异；相反，C20:4 (n-6) (AA) 的含量 4.13% 是前者的 1.5 倍，且显著高于其它各期；此外，C18:1 (n-9)、C18:2 (n-6)、C18:3 (n-3) 的含量分别为 22.16%、6.41% 和 12.04%，均为前者的 2~3 倍，与 14 d 时相近；EPA/DHA 的比值为 0.84，高于各阶段正常鱼苗。

3 讨论

3.1 大黄鱼苗期各阶段主要脂肪酸组成的变化

海水鱼类胚胎发育阶段和仔鱼吸收卵黄内源性营养的发育阶段，首先利用饱和脂肪酸 (SFA) 和单不饱和脂肪酸 (MUFA) [14]。由表 2 可见，饱和脂肪酸中的 C14:0、C16:0 及单不饱和脂肪酸中的 C16:1、C18:1 在开口前四者含量最高，孵化后

6 d (开口后 3 d) 显著下降，且随着发育进程呈下降趋势。因此，可以认为这 4 种脂肪酸在内源性营养阶段作为主要的能量被首先利用。

DHA、EPA 和 AA 是海水鱼类重要的必需脂肪酸，由图 2 可见，只有 AA 在鱼苗开口前就已存在，其含量在各发育阶段变化不大；EPA 和 DHA 在鱼苗摄食后才被检测到，说明初孵仔鱼不具备合成 EPA 和 DHA 的能力。EPA 在鱼苗整个发育阶段基本呈上升趋势，幼鱼后期略有下降。DHA 含量在完全摄食轮虫 (孵化后 6 d) 时期为 18.78%，摄食卤虫 (孵化后 14 d) 时降为 7.45%，至摄食桡足类阶段 (孵化后 19 d) 又上升到最高为 25.36%。可以认为 DHA 这一波动现象是由于饲料的改变所引起，因为投喂经过营养强化的轮虫及海洋桡足类富含 DHA，而卤虫缺乏 DHA [1]。这与海水鱼类不能自身合成、转化 DHA 等高度不饱和脂肪酸规律相符合 [5]。

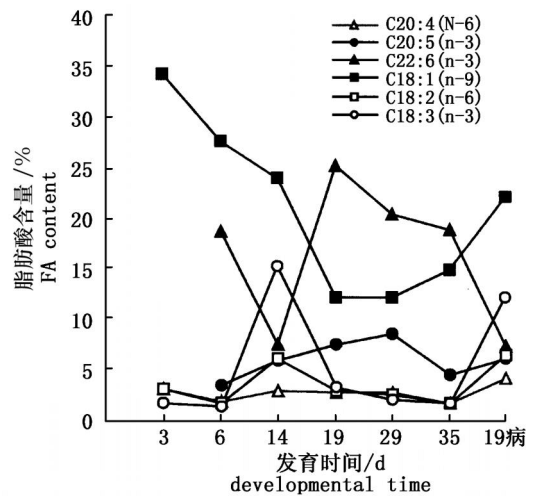


图2 几种主要脂肪酸的变化规律

Fig.2 Variety regulation of a few main FA

3.2 大黄鱼苗脂肪酸组成与淡水鱼苗的比较

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。大黄鱼的脂肪酸组成与朱邦科等 [15] 对“鲢早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化”的研究结果相比较存在明显不同。首先，大黄鱼的脂肪酸种类更为丰富全面，鲢仔鱼仅有 14 种脂肪酸；其次，尽管大黄鱼仔鱼和鲢仔鱼都含有丰富的 18C 多不饱和脂肪酸 (PUFA)，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，在未投饵前，EPA 和 DHA 就已存

在, 而大黄鱼仔鱼不具备这种生物转化能力, 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; 再者, 大黄鱼的 $n-3$ HUFA 值明显高于鲢鱼苗, 这也符合海洋鱼类的 $n-3$ HUFA 比淡水鱼类含量高的规律^[1]。

3.3 “胀鳔”鱼苗的病因探讨与对策

在海水鱼类人工育苗中, 稚鱼阶段经常会出现“胀鳔”病, 大黄鱼也不例外。病苗表现为腹部肠管与体壁之间出现硕大的“鳔泡”, 使鱼苗摄食受阻、游动困难, 常腹朝上浮于水面, 堆积于池角, 不久因能量耗尽消瘦而死, 此现象多出现在孵化后 18~20 d。从本研究结果来看, 病鱼苗的主要脂肪酸 DHA、EPA、AA、C18:1、C18:2、C18:3 与同期正常鱼苗相比较均存在显著差异(图 3), 其中, 前二者含量显著降低, 后四者含量显著增加。在病鱼苗中 DHA 和 EPA 收支失衡, 尽管病鱼苗体内 C18:1、C18:2、C18:3 是正常鱼苗的 2~3 倍, 但由于大黄鱼不具备将它们转化为长链高度不饱和脂肪酸的能力, 因此无法弥补 EPA 和 DHA 的缺乏。同时由于花生四烯酸(AA)是前列腺素合成的前体, 而前列腺素能抑制脂质的分解^[16], 因而在病鱼苗中 AA 含量过高, 可导致稚鱼体内脂类运输障碍, 出现脂泡堆积现象^[17], 这与病鱼的表现症状相符。另从 EPA/DHA 值分析看, 病鱼苗最高, 这可能是机体自身对 AA 过高的一种负反馈调节作用, 因 EPA 可阻止由 AA 生成前列腺素, 但过高的 EPA/DHA 对鱼体生长、存活不利^[5]。

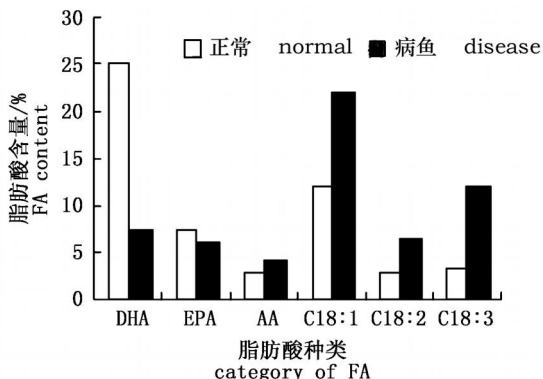


图 3 病鱼与正常鱼苗几种脂肪酸比较

Fig. 3 Comparison of FA between the diseased juvenile and the normal juvenile

导致“胀鳔病”的内在原因可能是 DHA 和 EPA 的缺乏以及 AA 偏高。因为 DHA 和 EPA 是鱼类细胞膜的主要 PUFA, 在仔稚鱼脑神经组织

和视网膜发育中起着重要作用^[1], 当大黄鱼苗发育至 14 d 时, DHA、EPA、AA、C18:1、C18:2、C18:3 和 EPA/DHA 七项指标已有发生“胀鳔病”的“先兆”。所以在大黄鱼人工育苗的稚鱼阶段, 为防止“胀鳔病”的发生, 必须在 14~19 d 时, 提供足够的富含 DHA 的饵料, 加强轮虫强化, 缩短卤虫投喂时间, 尽量提前投喂活的桡足类, 是确保顺利渡过稚鱼危险期的关键。

参考文献:

- [1] 张其永, 洪万树. 海洋养殖鱼类稚鱼摄食和营养研究的进展[J]. 台湾海峡, 2001, 20(增刊): 1-10.
- [2] Sargent J R, Bell J G, Bell M V, *et al.* Requirement criteria for essential fatty acids[J]. J Appl Ichthyol, 1995, 11:183-198.
- [3] Watanabe T, Izquierdo M S, Takeuchi T, *et al.* Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red sea bream [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1989, 55:1635-1640.
- [4] 王吉桥, 张欣, 刘革利. 海水鱼类必需脂肪酸营养与需要的研究进展[J]. 水产科学, 2001, 20(5): 39-43.
- [5] 高淳仁, 雷霖. 海水鱼类高度不饱和脂肪酸营养研究概况[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(3): 72-75.
- [6] 童圣英. 四种鲤科鱼类越冬时脂肪酸组成的变化[J]. 水产学报, 1997, 21(4): 373-379.
- [7] Njinkoue J M, Barnathan G, Miralles J, *et al.* Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 2002, 131: 395-402.
- [8] Luzzana U G, Serrini W M, Moretti P, *et al.* Seasonal variation in fat content and fatty acid composition of male and female coregonid 'bondella' from Lake Maggiore and landlocked shad from Lake Como (Northern Italy) [J]. J Fish Biol, 1996, 48: 352-266.
- [9] 王胜, 刘永坚, 田丽霞, 等. 斜带石斑仔鱼不同饲料的营养分析及其对生长和鱼体脂肪酸组成的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2003, 42(2): 210-213.
- [10] 薛敏, 李爱杰, 张显娟, 等. 牙鲆幼鱼对 EPA 和 DHA 的营养需求[J]. 水产学报, 2004, 28(3): 285-291.
- [11] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method lipid extraction and purification[J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37: 911-923.
- [12] Metcalfe L D. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis[J]. Analytical Chemistry, 1966, 38: 514-515.
- [13] 汪正范. 色谱定性定量[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 168-169.
- [14] 刘镜恪, 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.
- [15] 朱邦科, 曹文宣. 鲢早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化[J]. 水生生物学报, 2002, 26(2): 130-135.
- [16] 沈同, 王镜岩, 赵邦悌. 生物化学(上)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1980. 35-37.
- [17] 刘镜恪, 周利, 雷霖. 海水仔稚鱼脂类营养研究进展[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(4): 446-452.