

# 鲢早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化

朱邦科 曹文宣

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

**摘要:** 用气相色谱仪分析了鲢受精卵和仔鱼的脂肪酸组成及其变化。受精卵中共检测到 19 种脂肪酸; SFA 含量最高, 其次为 PUFA, MUFA 最少。SFA 中以 16C 0 为主, MUFA 中以 18C 1 为主, PUFA 中以 DHA、AA 和 EPA 为主;  $n-3/n-6$  为 2.45。初孵仔鱼中 HUFA 因卵膜的脱落而减少, 以后逐渐积累; 鲢仔鱼具有将 18C PUFA 转化为长链 HUFA 的能力; 在早期发育阶段, 鲢仔鱼主要消耗 16C 0 作为能量代谢的基质。

**关键词:** 鲢; 受精卵; 仔鱼; 脂肪酸组成

中图分类号: S965.113 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2002)02-0130-06

鱼类脂肪酸研究已有近八十年历史, 国外在鱼体脂肪酸组成、鱼类的脂肪营养以及鱼类脂肪酸对人类健康的作用等方面做了大量研究<sup>[1-3]</sup>。八十年代后国内一些学者开始进行鱼类脂肪酸研究<sup>[4-7]</sup>。在鱼类的胚胎发育和胚后发育阶段, 脂肪是重要的代谢能源。仔鱼孵出后, 卵黄囊中的内源性营养很快被消耗。饥饿时, 仔鱼的脂肪迅速减少, 同时干重下降(如川鲽、大西洋鲱、金头鲷、建鲤等)<sup>[8-10]</sup>。已证明有些种类的仔鱼在饥饿期有选择地消耗脂肪酸<sup>[9, 11]</sup>。饥饿的金头鲷鱼苗中脂肪酸的损失遵循以下顺序: (n-6) > (n-9) > (n-3)<sup>[9]</sup>。根据鱼体脂类组成和脂肪酸组成, 可评价鱼苗和幼鱼的营养状况<sup>[12]</sup>。因此, 研究鱼类早期发育阶段脂肪酸组成的变化和饥饿对其影响, 对评价鱼苗的营养状况并进一步预测鱼苗的早期资源有重要的参考价值, 也可为养殖鱼类仔鱼开口饵料的配制提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** 试验材料取自华中农业大学水产站人工催产的鲢受精卵和同一批卵所孵化的鱼苗。仔鱼平游后(孵出第 4 d)运回实验室饲养: 饥饿组饲养于 2 个直径 24 cm 圆形玻璃缸, 每缸约 1000 尾。试验用水为曝气一昼夜的自来水。每天中午用虹吸管排污后换水一半。试验期间水温 21—25.5 (自然水温, 上午 9 时测量)。每组设一个平行试验。

收稿日期: 2000-07-20; 修订日期: 2000-12-20

基金项目: 国务院三峡办和中国长江三峡工程开发总公司项目资助[ SX(98)-15/KHB/JS ]; 农业部淡水水产增养殖生物学重点开放实验室资助

作者简介: 朱邦科(1964—), 男, 浙江宁波人, 博士, 副教授, 从事鱼类生态学和水产养殖教学与科研, 现工作单位在华中农业大学水产学院(武汉 430070), 华中农业大学水产试验站提供实验材料, 华中农业大学水产学院 99 届毕业生刘全义参加了部分分析工作, 谨此一并致谢

每天下午取样, 每次 0.2—0.4 g(约 100 尾)。样品用滤纸吸去水分后用十万分之一电子天平称重, 保存在低温冰箱(-35℃)至分析。

**1.2 脂肪酸甲脂的制备** 氯仿-甲醇法提取脂质<sup>[13]</sup>。样品研磨后加氯仿和甲醇各 2 mL, 转入试管; 再各用 2 mL 冲洗研钵, 并入试管; 加 3.5 mL 蒸馏水, 摆匀, 过滤。滤液转入 50 mL 离心管; 滤纸和滤器用氯仿(1 mL)淋洗两次, 淋洗液并入离心管, 3500 r/min 离心 5 min, 分层后吸取下层氯仿(含全部脂肪); 残液中加氯仿 3 mL 搅拌, 再离心后吸取氯仿层, 并入提取液。提取液经真空干燥, 2 mL 氯仿再溶, 1 mL 氯仿淋洗, 转移到称重后的试管, 真空干燥后称重, 减量法求脂肪重。

脂质用 2 mL 氯仿溶解, 转入 10 mL 具盖刻度试管; 0.5 mL 氯仿淋洗两次并入试管, 加 5 mL 0.5 mol/L NaOH 甲醇溶液, 混匀, 充氮气, 盖紧管盖, 置 80℃ 水浴 2 h。冷却后加 14% 三氟化硼甲醇溶液 3.5 mL, 充氮气, 80℃ 水浴 2 h 转甲脂。1 mL 正己烷萃取, 吸取上层正己烷; 0.5 mL 正己烷再萃取两次, 萃取液合并, 置真空干燥箱中干燥。最后将脂肪酸甲酯用 0.5 mL 正己烷溶解, 供色谱分析用。

**1.3 脂肪酸分析条件** 岛津 GC-9A 型气相色谱仪, 配备有 C-R3A 型数据微处理器; 层析柱: 胶联弹性石英毛细管柱(30m × 0.25mm, 中国科学院大连化学物理研究所一室提供); 载气: N<sub>2</sub>; 燃气: H<sub>2</sub>; 柱温: 225℃, 采用程序升温, 180℃保持 3 min, 9℃/min, 升温到 225℃, 保留 30 min; 进样口温度: 250℃。色谱峰的定性采用部分脂肪酸甲酯标准样(Sigma 公司)与当量链长值相结合的方法进行。分析结果经岛津 C-R3A 型处理器输出, 脂肪酸的百分含量用面积归一化的方法给出(以峰值面积的百分比表示)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 受精卵的脂肪酸组成

鲤受精卵中共检测到 19 种脂肪酸(表 1), 饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)和多不饱和脂肪酸(PUFA)三者含量约各占三分之一, 分别为 34.88%、30.40% 和 33.32%。其中 SFA 主要为 16C<sub>0</sub>, 占 30.43%; MUFA 主要为 18C<sub>1</sub>, 占 29.59%; PUFA 中 DHA(22C<sub>6</sub> n-3, docosahexaenoic acid)最多, 占 12.78%, 其次分别为 AA(20C<sub>4</sub> n-6, arachidonic acid)和 EPA(eicosapentaenoic acid), 分别占 8.67% 和 8.38%。n-3 系列和 n-6 系列 PUFA 之比(n-3/n-6)为 2.45。

### 2.2 初孵仔鱼的脂肪酸组成

初孵仔鱼的脂肪酸组成与受精卵的有很大差异, 在初孵仔鱼中仅检测到 9 种脂肪酸, 受精卵中含有的很多长链(20C 以上)脂肪酸包括 DHA 在初孵仔鱼中都没有检测到(表 1)。与受精卵相比, 初孵仔鱼 SFA 和 MUFA 含量相对增加, PUFA 含量则急剧降低。PUFA 中, AA 的含量从受精卵的 8.67% 下降到初孵仔鱼的 4.48%, 孵出第 2 d 更降至 0.87%; EPA 的含量在孵出当天有所上升(从受精卵的 8.38% 上升到 13.18%), 但在孵出第 2 d 急剧降低(0.54%)。

表1 鲢受精卵及初孵仔鱼的脂肪酸组成(%)

Tab. 1 Fatty acid composition of fertilized eggs and larvae of silver carp

脂肪酸 Fatty acid	发育阶段 Development stage											
	Egg	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D13
14C 0	0.18	0.29	0.21	0.11	0.17	0.87	0.47	0.35	0.12	0.33	0.27	0.18
16C 0	30.43	32.13	50.75	49.62	46.33	42.33	35.81	34.14	33.19	32.48	29.79	27.28
16C 1	0.06	0.21	0.11	0.05	0.17	0.52	0.64	0.21	0.06	0.02	0.15	0.07
18C 0	3.39	10.44	5.52	7.69	6.73	6.54	6.09	6.78	7.40	6.65	7.32	7.21
18C 1	29.59	34.68	38.32	37.28	34.35	33.53	34.32	35.86	33.55	34.71	33.18	34.21
18C 2 n-6	0.45	1.11	0.97	0.78	2.82	3.66	2.25	2.66	4.37	1.01	1.21	1.27
18C 3 n-3	0.78	1.78	0.65	0.37	3.54	2.91	4.60	3.64	4.12	4.33	5.56	4.09
20C 0	0.88	-	-	-	-	0.02	0.22	0.63	0.19	0.21	0.23	0.31
20C 1	0.15	-	-	-	-	-	0.80	1.24	0.54	0.34	0.12	0.95
20C 2 n-6	0.18	-	-	-	-	-	1.31	1.08	0.46	0.13	0.97	0.34
20C 3 n-3	0.38	-	-	-	-	-	0.53	0.50	0.31	1.09	0.87	0.76
20C 4 n-6	8.67	4.48	0.87	1.10	2.76	3.32	5.73	5.10	5.49	7.92	8.15	8.75
20C 5 n-3	8.38	13.18	0.54	0.92	1.01	4.61	4.69	5.16	7.31	6.88	8.99	10.37
22C 1	0.60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22C 2 n-6	0.17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22C 3 n-3	0.75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22C 4 n-6	0.19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22C 5 n-3	0.59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22C 6 n-3	12.78	-	-	-	-	0.12	0.78	1.02	1.45	1.87	2.05	2.99
$\Sigma$ SFA	34.88	42.86	56.48	57.42	53.23	49.76	42.59	41.90	40.90	39.67	37.61	34.98
$\Sigma$ MUFA	30.40	34.89	38.43	37.33	34.52	34.05	35.76	37.31	34.15	35.07	33.45	35.23
$\Sigma$ PUFA	33.32	20.55	3.03	3.17	10.13	14.62	19.89	19.16	23.51	23.23	27.80	28.57
n-3/n-6	2.45	2.68	0.65	0.69	0.82	1.09	1.14	1.17	1.28	1.56	1.69	1.76
含脂量%	2.15	3.54	2.04	1.15	0.68	0.45	0.38	0.34	0.35	0.32	0.27	0.28

注：“-”示未检测到。“-”means not detected.

## 2.3 饥饿时仔鱼含脂量和脂肪酸组成的变化

**2.3.1 含脂量的变化** 鲢受精卵含脂肪 2.15% (湿重), 初孵仔鱼的含脂量为 3.54%。仔鱼初次摄食前卵黄囊内的营养物质被迅速消耗, 含脂量急剧下降(图 1), 到孵出第 4 d 降至 0.68%, 仅为初孵仔鱼含脂量的 20% 左右。第 5—6 d 卵黄基本耗尽后, 饥饿仔鱼含脂量缓慢减少, 到孵出第 13 d 含脂量降至 0.28%。

**2.3.2 饥饿仔鱼脂肪酸组成的变化** 饥饿时鲢仔鱼的脂肪酸组成变化很大(表 1, 图 2)。16C 0 在孵出第 3 d 最高, 占 49.62%, 之后很快减少, 孵出第 13 d 降至 27.28%; 18C 0 含量稳定, 在 6%—8% 左右; 18C 1 含量变化不大, 变动在 33.18%—37.38% 之间。孵出

第3 d 以后亚麻酸和亚油酸也有不同程度的增加, 但亚油酸含量在孵出第8 d—第9 d间明显下降, 其后稳定在较低水平。DHA 在孵出第5 d 才开始检测到(0.12%), 以后其比例逐渐上升, 孵出第13 d 达到2.99%; EPA 和 AA 也分别从孵出第3 d 的0.92% 和 1.10% 增加到8.37% 和 9.75%。

从脂肪酸大类上看, 自孵出第3 d 开始 PUFA 含量持续增加, 第13 d 达到28.57%; MUFA 含量变化不大, 波动在33.45%—37.33%之间; SFA 则持续减少, 从孵出第3 d 的57.42% 降到第13 d 的34.98%。 $n-3/n-6$  比逐渐上升, 孵出第13 d 达1.76。

根据脂肪酸的组成, 可判断鲢仔鱼主要以16C<sub>0</sub>作为能量代谢的基质。

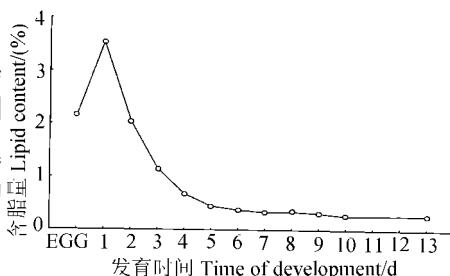


图1 鲢早期发育阶段含脂量的变化

Fig. 1 Changes of lipid content in the fertilized eggs and larvae of silver carp

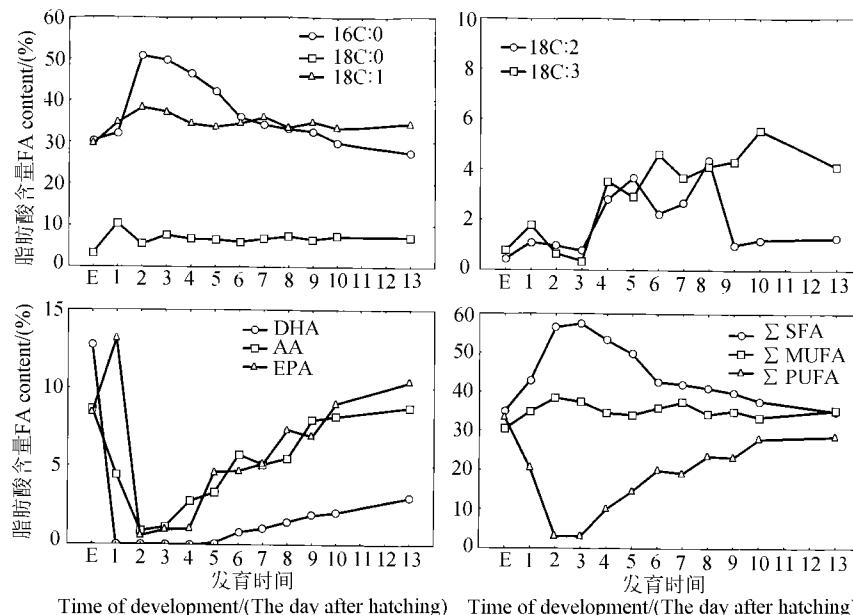


图2 鲢饥饿仔鱼脂肪酸组成的变化

Fig. 2 Changes in fatty acid composition in starved larvae of silver carp

### 3 讨论

#### 3.1 出膜对仔鱼的影响

鲢受精卵属于漂流性卵, 产出后卵膜吸水膨胀, 在卵膜和卵质膜之间出现较大的卵周隙, 使卵的体积增加以减少比重, 提高卵的浮力, 从而使之在流水中漂浮发育。仔鱼孵出时, 由于鳔尚未形成, 鳍褶也还没有分化, 出膜无疑将使其失去主要的浮力。同时, 在受精卵的卵膜上结合有大量的DHA、EPA、AA, 仔鱼孵出时, 随着卵膜的脱落, 这些脂肪酸也随之损失了。也使仔鱼失去了一道重要的渗透屏障。

在孵出时, 鲢仔鱼的 PUFA 特别是 HUFA 的含量随卵膜的脱落而急剧降低。HUFA 在维持生物膜的结构和功能上起重要作用, 这些脂肪酸的损失将使仔鱼对环境适应能力下降。这也正是仔鱼特别“娇嫩”, 环境条件如水温、pH 值的变化很易导致其死亡的重要原因。因此, 在仔鱼的开口饲料中提供充足的 HUFA, 可提高仔鱼对环境变化的忍耐力, 从而提高仔鱼的存活率。在这方面已经有不少成功的例证, 如在饲料中添加 EPA、DHA、大豆卵磷脂等, 能促进各种鱼类仔鱼的生长、提高存活率和对环境变化的耐受力<sup>[14]</sup>。

### 3.2 鲢仔鱼早期发育阶段的能量消耗

脂肪是鱼类胚胎和胚后发育阶段重要的代谢能源, 卵中所含脂肪的质和量对仔鱼的存活有重要影响。相对于其他一些鱼类如鲻、条纹石、大鳞大麻哈鱼, 鲢受精卵的含脂量是比较低的, 这符合“鱼卵脂肪含量与其孵化期长短呈负相关”的一般关系。

鲢受精卵含脂量低于初孵仔鱼, 一方面可能是由于取样时受精卵已少量吸水(半干法人工受精), 使得测定值偏低; 另一方面可能是因为蛋白质作为胚胎发育期的主要代谢能源被大量消耗, 使初孵仔鱼的含脂量高于受精卵。在其他一些鱼类中也见到类似的情形<sup>[10]</sup>。孵出后, 鲢仔鱼的脂肪迅速消耗, 含脂量急剧下降, 特别是在孵出到开口摄食阶段, 含脂量减少近 80% (由于仔鱼鱼体的长大, 脂肪绝对值的减少可能低于此值)。卵黄耗尽后的饥饿仔鱼含脂量下降缓慢, 与饥饿的大菱鲆仔鱼相似(干重下降, 脂肪酸总量减少但含脂量恒定)<sup>[11]</sup>, 表明饥饿时仔鱼仍在一定程度上维持其生化组成的稳定。饥饿时, 鲢仔鱼主要以 16C 0 作为能量代谢基质。

### 3.3 鲢仔鱼的生物转化能力

鱼类将 18C PUFA(亚麻酸和亚油酸)转化为 20C 和 22C 长链 HUFA 的能力称为生物转化能力。通常淡水和河口性鱼类具备这种能力而海洋鱼类不具备。本实验中, 鲢饥饿仔鱼体内的各种 PUFA 特别是 DHA、EPA 和 AA 均持续增加, 这一方面是源于脂肪消耗时对 PUFA 的蓄留, 另一方面也表明鲢仔鱼具有将碳链较短的脂肪酸前体转化为长链 HUFA 的能力。

通常认为, 鱼类本身不能全程合成 n-3 和 n-6 系列的脂肪酸, 而必须从食物中获得, 因此, 一般将 n-3 系列和 n-6 系列的脂肪酸都列为必需脂肪酸(EFA)<sup>[2]</sup>。但在本实验中, 饥饿的鲢仔鱼自孵出后各种 HUFA 都有增加, 而刚孵出时其前体(18C PUFA)含量也不高。那么, 这些脂肪酸是从哪里来的? 是否可能鲢和草鱼仔鱼能够从饱和酸或其他系列(n-7、n-9 等)的脂肪酸合成 n-3 和 n-6 系列脂肪酸? 这一问题值得进一步研究探讨。

### 参考文献:

- [1] Cowey CB, Sargent JR. Lipid nutrition in fish[J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1977, **57B**: 269– 273
- [2] Watanabe T. Lipid nutrition in fish [J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1982, **73B**: 3– 15
- [3] Steffens W. Effects of variation in essential fatty acids in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans [J]. *Aquaculture*, 1997, **151**: 97– 119
- [4] 陈少莲, 胡传林, 华元渝. 鲢、鳙肌肉脂肪的脂肪酸组成初步研究[C]. 鱼类学论文集, 1983(第三辑): 61—67
- [5] 刘玉芳. 中国 5 种淡水鱼脂肪酸组成分析[J]. 水产学报, 1991, **15**: 169–171
- [6] 王学文, 张秀杰, 杨全珍, 等. 施用鱼特利型肥对鲢背肌中 EPA、DHA 含量的影响[J]. 华中农业大学学报, 1997, 增刊: 147—152

- [ 7 ] 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**: 373—379
- [ 8 ] Rainuzzo JR, Reitan KI, Olsen Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review [ J ]. *Aquaculture*, 1997, **155**: 103—115
- [ 9 ] Koven WM, Kissil G Wm, Tandler A. Lipid and n-3 requirement of *Sparus aurata* larvae during starvation and feeding [ J ]. *Aquaculture*, 1989, **79**: 185—191
- [ 10 ] 熊传喜, 谢从新, 黎会平, 等 . 建鲤卵和仔鱼发育阶段生化成分的变化 [ J ]. 华中农业大学学报, 1995, **14**: 180
- [ 11 ] Rainuzzo JR, Reitan KI, Jorgensen L et al. Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsion of different lipid classes [ J ]. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1994, **107A**: 699—710
- [ 12 ] Fraser A J, Sargent J R, Gamble J C et al. Lipid classes and fatty acid composition as indicators of the nutritional condition of larval Atlantic herring [ J ]. *Am. Fish. Soc. Symp.*, 1987, **2**: 129—143
- [ 13 ] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, **37**: 911—917
- [ 14 ] Coutteau P, Geurden I, Camara M R et al. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture [ J ]. *Aquaculture*, 1997, **155**: 149—164

## FATTY ACID COMPOSITION AND THEIR CHANGES DURING EARLY LIFE STAGE OF SILVER CARP *HYPOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX*

ZHU Bang-ke and CAO Wen-xuan

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Science, Wuhan 430072)

**Abstract:** The fatty acid composition and their changes in the fertilized eggs and larvae of silver carp were analyzed by means of gas chromatography (GC). There are 19 fatty acids in the fertilized eggs of silver carp. The proportion of SFA, MUFA and PUFA was almost one third for each group, with SFA being the highest and MUFA being the lowest. 16C 0 accounts the main part in SFA, 18C 1 in MUFA, and DHA, AA and EPA in PUFA. The n-3/n-6 ratio in the lipid of the fertilized eggs of silver carp was 2.13. In the newly hatched larvae, many kinds of PUFA were lost accompanying the loss of egg membrane during hatch and DHA was not detected. The larvae of silver carp have the ability of conversion 18C PUFA precursor to HUFA. During early development stage, the larvae of silver carp mainly mobilize 16C 0 as energy substrates.

**Key words:** Silver carp; Fertilized eggs; Larvae; Fatty acid composition