

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

常 青^{1,2} 梁萌青¹ 陈四清¹ 张汉华² 王家林¹ 张秀梅³

(11 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 青岛 266071;

21 中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室, 广州 510300;

31 中国海洋大学生命科学与技术学部, 青岛 266003)

摘要: 采用气相色谱仪和氨基酸分析仪测定了半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*) 受精卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼的氨基酸与脂肪酸组成的变化。结果表明: 总氨基酸组成在受精卵和卵黄囊仔鱼之间变化明显, 但是在卵黄囊仔鱼和开口仔鱼之间只有细微的变化。开口仔鱼与其摄食的轮虫的总必需氨基酸组成相关。受精卵、卵黄囊仔鱼、开口仔鱼的游离氨基酸含量分别为 139 mg/g、316 mg/g 和 215 mg/g, 占总氨基酸含量的 2213%、316% 和 215%。饱和脂肪酸的总量从受精卵到卵黄囊仔鱼明显下降, 但是发育到开口仔鱼含量无显著变化。单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的总量在不同发育阶段无显著变化, 而 EPA 和 DHA 的含量从卵黄囊仔鱼到开口仔鱼有明显下降。这表明在早期发育阶段半滑舌鳎主要利用饱和脂肪酸作为能量代谢的基质, 对饱和脂肪酸的利用程度大于单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。半滑舌鳎似乎需要长链的多不饱和脂肪酸如 EPA、DHA 和 ARA。

关键词: 半滑舌鳎; 氨基酸组成; 脂肪酸组成; 卵; 仔鱼

中图分类号: Q493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2007)06-0762-07

在鱼类胚胎发育阶段和仔鱼发育早期, 营养来源于卵黄所储存的内源性物质。一般而言, 鱼卵含有仔鱼在卵黄营养阶段所需的所有营养, 可以在仔鱼摄食外源性营养之前, 保证内环境平衡和发育^[1]。已有研究表明: 不同种类鱼卵的生化组成各不相同, 其主要成分(蛋白质和氨基酸、脂肪和脂肪酸、碳水化合物)的消耗顺序在质和量上都有区别^[2]。鱼类胚胎和仔鱼的质量与其生化组成相关^[3-5], 海水鱼类仔鱼发育中的代谢能力与鱼类开口时营养需要量密切相关。因此, 了解在鱼类胚胎期和开口摄食之前营养物质消耗的模型有助于了解开口摄食仔鱼的营养需要量^[6-8]。本试验的目的在于通过分析半滑舌鳎在胚胎快速发育期和仔鱼卵黄囊期氨基酸及脂肪酸组成和含量的变化, 了解其开口仔鱼对氨基酸和脂肪酸的代谢特性并为确定开口仔鱼对氨基酸和脂肪酸的需求奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料 半滑舌鳎受精卵和仔鱼取自黄海水产有限公司海捕的亲鱼经过自然产卵所得和同一批卵所孵化的仔鱼。将产卵池外集卵箱中上浮卵移入孵化网箱, 孵化温度为 19) 22 e, 盐度为 30) 32 g/L, 轻微充气。孵化出的仔鱼暂养于室内 500 L 的水泥池中, 饲养水温为(21 ? 1) e, 盐度为 30) 32 g/L。从孵化后第二天至第四天投喂经过酵母和小球藻(*Chlorella* sp1) 培育的轮虫, 轮虫的密度为 5 个/mL。培育水体中单胞藻的密度保持在 3 @10⁵ Cells/mL 以上。

在孵化的第一天(产卵后 10) 12h), 取 2 g 上浮的受精卵。在孵出后 36h, 取 2 g 卵黄囊仔鱼。在孵出后第四天(孵化后 80h), 取 2 g 开口摄食仔鱼(卵黄囊完全吸收, 开口, 眼睛色素沉着)。所有样品均用合适的筛网捞取, 蒸馏水冲洗, 用滤纸吸去水分, 放入液氮中冷冻, 在 - 80 e 下保存。每份样品均有 3 个平行。

收稿日期: 20060219; 修订日期: 20070205

基金项目: 中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项资金; 中国水产科学研究院水产种质资源与养殖技术重点开放实验室开放基金(2005A001)资助

作者简介: 常青(1971), 女, 湖南长沙人; 博士, 副研究员; 主要从事水生动物营养与生理研究。E-mail: changqing@ysfri.ac.cn

通讯作者: 张秀梅, E-mail: gaozhang@ouc.edu.cn

112 干重测定 干重的测定参照 V zquez 等^[9]方法,将预先称重的样品在 110 e 下干燥 24h,然后在干燥器中冷却 1h 后,称重。

113 氨基酸的测定 样品用 6 mol/L 盐酸 110 e 封管水解 24h 之后,利用日立 835250 型氨基酸自动分析仪进行测试。

114 游离氨基酸的测定 准确称取一定量的样品,加入 10% 三氯乙酸 5 mL,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,吸取上清液,在水浴上蒸干,用 0102N HCl 定容,然后上机,利用日立 835250 型氨基酸自动分析仪进行测试。

115 脂肪酸的测定 将冷冻干燥的样品用 1 mol/L 氢氧化钠2甲醇溶液在 70 e 水浴皂化 15min,略冷后加 1 mol/L 盐酸2甲醇溶液在 70 e 水浴甲酯化 10min,取出放冷,加 015 mL 石油醚,旋涡振摇提取,静置分层,取上层液,用 HP5890 气相色谱仪进行测定。色谱条件:氮气作载气,弹性石英毛细管柱 SGE AC2 20, 0125 mm @30 mm;柱温采用程序升温的方式:起始温度为 150 e, 15 e / min 升高到 200 e, 2 e / min 升高到 250 e (保持 10min)。进样口温度 270 e,检测器为 FID,检测器温度 270 e。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。脂肪酸的百份含量用面积归一化的方法给出(以峰值面积的百分比表示)。

116 数据统计处理 采用 SPSS 1210 软件,进行单因素方差分析(One2Way ANOVA)和 Tukey 多重比较,显著性水平为 p< 0105。

2 结果与分析

211 氨基酸组成

总氨基酸组成 受精卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼所包含的 9 种总必需氨基酸和 8 种总非必需氨基酸的含量列于表 1。在必需氨基酸中,除了赖氨酸、组氨酸、精氨酸和苏氨酸以外,其他 5 种必需氨基酸的含量从受精卵发育到开口仔鱼含量都显著下降(p< 0105);在非必需氨基酸中,除了天门冬氨酸、丝氨酸和甘氨酸以外,其他几种非必需氨基酸含量从受精卵发育到开口仔鱼含量也都显著下降(p< 0105)。从单个氨基酸含量来看,由受精卵发育到开口仔鱼,除了天门冬氨酸和甘氨酸的含量是增加以外,其他氨基酸的含量依次下降。因此,受精卵中必需氨基酸总和为 30714 mg/g 干重,开口仔鱼则为 22818 mg/g;非必需氨基酸总和则分别为 31516 mg/g 和 25818 mg/g。

表 1 总氨基酸含量的变化(mg/ g 干重)			
Tabl 1 Changes in total amino acid content (mg/ g dry weight)			
氨基酸	受精卵	卵黄囊仔鱼	开口仔鱼
Amino acid	Fertilized egg	Yolk sac stage	Firs2feeding
		larvae	larvae
必需氨基酸 Essential			
缬氨酸 Val	351 3 ? 112 ^a	291 1 ? 016 ^a	2217 ? 01 2 ^b
蛋氨酸 Met	181 3 ? 013 ^a	1518 ? 015 ^{ab}	1418 ? 01 2 ^b
异亮氨酸 Ile	301 2 ? 019 ^a	231 0 ? 014 ^b	1717 ? 01 8 ^c
亮氨酸 Leu	581 0 ? 214 ^a	441 4 ? 111 ^b	3815 ? 11 4 ^c
苯丙氨酸 Phe	341 0 ? 013 ^a	251 5 ? 015 ^b	2017 ? 01 4 ^b
赖氨酸 Lys	461 6 ? 017 ^a	441 4 ? 112 ^a	4019 ? 01 6 ^a
组氨酸 His	161 4 ? 012 ^a	151 3 ? 015 ^a	1313 ? 01 1 ^a
精氨酸 Arg	371 8 ? 119 ^a	301 1 ? 111 ^b	331 0 ? 11 1 ^{ab}
苏氨酸 Thr	301 9 ? 111 ^a	281 6 ? 113 ^a	2711 ? 01 7 ^a
必需氨基酸总和	3071 5 ? 511 ^a	25612 ? 315 ^b	2281 7 ? 41 1 ^b
Sum essential			
非必需氨基酸			
Non2essential			
天门冬氨酸 Asp	421 8 ? 013 ^a	441 9 ? 114 ^a	4818 ? 11 0 ^a
丝氨酸 Ser	371 8 ? 113 ^a	271 5 ? 018 ^b	3210 ? 01 1 ^a
谷氨酸 Glu	881 2 ? 112 ^a	671 3 ? 110 ^c	7410 ? 11 8 ^b
甘氨酸 Gly	181 9 ? 011 ^b	211 9 ? 012 ^b	2811 ? 01 2 ^a
丙氨酸 Ala	491 1 ? 114 ^a	361 2 ? 017 ^b	2911 ? 01 1 ^c
胱氨酸 Cys	81 2 ? 01 3 ^a	61 1 ? 012 ^b	419 ? 015 ^c
酪氨酸 Tyr	291 0 ? 019 ^a	221 4 ? 018 ^b	1917 ? 01 1 ^b
脯氨酸 Pro	411 6 ? 116 ^a	211 9 ? 014 ^b	2212 ? 01 3 ^b
非必需氨基酸总和	3151 6 ? 313 ^a	24814 ? 214 ^b	2581 8 ? 11 2 ^b
Sum non2essential			
总和 Sum total	6231 0 ? 516 ^a	50414 ? 418 ^b	4871 6 ? 11 4 ^b
amino acids			

a 表中数据为平均值? 标准差;表中不同的上标字母表示差异显著(p< 0105);表 2、3 同

a: Data are shown as mean? SI DI (n= 3)1 Means with different super2 scripts have significant differences(p< 0105); the same as Tabl 2, 3

为了比较轮虫必需氨基酸组成是否平衡,分别计算了轮虫和半滑舌鲷开口仔鱼单个必需氨基酸各自必需氨基酸总和的百分比,将它们进行相关性分析(图 1),发现两者之间具有明显的线性相关(r²= 0194)。

游离氨基酸组成 从受精卵发育到开口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。而从受精卵到开口仔鱼这个阶段,游离必需氨基酸含量的降低程度又大于游离非必需

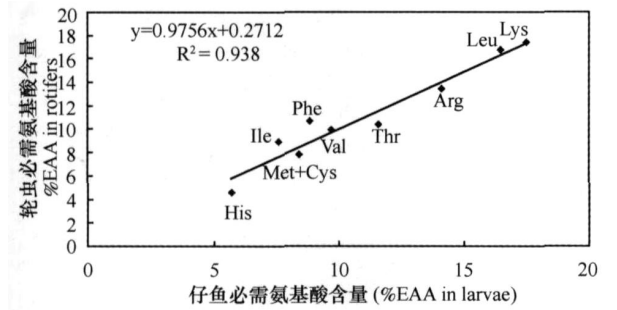


图 1 开口摄食仔鱼和轮虫的必需氨基酸组成比较

Figl 1 Comparison of essential amino acid (EAA) composition (wtl % of total EAAs) in firstfeeding larvae and rotifers

表 2 游离氨基酸含量的变化 (mg/g 干重)

氨基酸 Amino acid	受精卵 Fertilized egg	卵黄囊仔鱼 Yolk sac stage larvae	开口仔鱼 Firstfeeding larvae
必需氨基酸 Essential			
缬氨酸 Val	1416? 012 ^a	118? 014 ^b	019? 011 ^c
蛋氨酸 Met	310? 011 ^a	015? 012 ^b	013? 011 ^b
异亮氨酸 Ile	1311? 017 ^a	019? 013 ^b	015? 012 ^c
亮氨酸 Leu	1819? 014 ^a	118? 010 ^b	018? 011 ^c
苯丙氨酸 Phe	517? 018 ^a	212? 012 ^b	017? 011 ^c
赖氨酸 Lys	910? 013 ^a	019? 010 ^b	016? 011 ^b
组氨酸 His	412? 012 ^a	014? 011 ^c	111? 013 ^b
精氨酸 Arg	1013? 016 ^a	017? 011 ^b	014? 012 ^b
苏氨酸 Thr	515? 012 ^a	017? 013 ^b	015? 011 ^b
必需氨基酸总和 Sum essential	8413? 313 ^a	919? 112 ^b	518? 012 ^c
非必需氨基酸 Nonessential			
天冬氨酸 Asp	412? 013 ^a	018? 015 ^b	017? 010 ^b
丝氨酸 Ser	1215? 012 ^a	017? 011 ^b	017? 013 ^b
谷氨酸 Glu	916? 111 ^a	210? 018 ^b	117? 011 ^b
甘氨酸 Gly	215? 019 ^a	018? 012 ^b	015? 012 ^b
丙氨酸 Ala	1416? 115 ^a	119? 011 ^b	113? 014 ^b
胱氨酸 Cys	-	-	-
酪氨酸 Tyr	416? 014 ^a	115? 011 ^b	113? 011 ^b
脯氨酸 Pro	713? 012 ^a	016? 012 ^b	015? 011 ^b
非必需氨基酸总和 Sum nonessential	5513? 115 ^a	814? 019 ^b	615? 016 ^b
总和 Sum free amino acids	13916? 415 ^a	1813? 017 ^b	1213? 014 ^b
游离氨基酸/总氨基酸 (%) Sum free amino acids/ Sum total amino acids ratio	2213? 118 ^a	316? 012 ^b	215? 011 ^b

氨基酸(分别为从 84) 518 mg/g, 55) 615 mg/g)。每个游离氨基酸在卵黄囊仔鱼中的含量都比在受精卵中的低,且两者之间有显著性差异($p < 0105$),从孵出后(卵黄囊仔鱼到开口仔鱼),游离非必需氨基酸的含量以及游离必需氨基酸中的蛋氨酸、赖氨酸、苏氨酸和精氨酸的含量下降,但无显著性差异($p > 0105$)。亮氨酸和异亮氨酸的含量变化分别从受精卵时的 1819 和 1311 mg/g,下降到开口仔鱼时的 018 和 015 mg/g,均降低了 96%。

212 脂肪酸组成

半滑舌鲷不同发育阶段的脂肪酸组成变化(表 3)。饱和脂肪酸(SFA)的总量从受精卵的 29191%,降低到卵黄囊仔鱼的 27124% ($p < 0105$),但是其含量在卵黄囊仔鱼和开口仔鱼之间没有显著性差异。饱和脂肪酸中 16B0 在各发育阶段所占比例最大,而且下降的幅度最大。从受精卵到卵黄囊仔鱼其含量下降 713%,从卵黄囊仔鱼到开口仔鱼下降 14103%。单不饱和脂肪酸(MUFA)的总量没有明显

表 3 半滑舌鲷受精卵、卵黄囊仔鱼及开口仔鱼的脂肪酸组成变化(占峰面积的百分比)

脂肪酸 Fatty acid	受精卵 Fertilized egg	卵黄囊仔鱼 Yolk sac stage	开口仔鱼 Firstfeeding larvae
14:00	1193? 0106 ^a	2103? 0117 ^a	2100? 0133 ^a
16:00	20114? 0199 ^a	18167? 0123 ^b	16105? 0158 ^c
16:1n27	6110? 0162 ^a	7162? 0125 ^a	6149? 0121 ^a
18:00	7184? 0179 ^a	6154? 0131 ^b	8121? 0174 ^a
18:1	13131? 0122 ^a	12123? 0140 ^a	11180? 0126 ^b
18:2n26	4119? 0171 ^a	3183? 0111 ^a	3193? 1123 ^a
18:3n23	2123? 0102 ^b	2111? 0115 ^b	10134? 0124 ^a
20:1	1114? 0111 ^a	1110? 0108 ^a	1128? 0124 ^a
20:4n26	1143? 0109 ^a	1140? 0106 ^a	1164? 0131 ^a
20:5n23	6116? 0126 ^a	5125? 0135 ^a	4191? 0117 ^b
22:1	0195? 0126 ^a	1102? 0119 ^a	0191? 0108 ^a
22:4n26	2176? 0114 ^a	3109? 0112 ^a	3104? 0120 ^a
22:5n23	5164? 0111 ^a	5121? 0118 ^a	2187? 0111 ^b
22:5n26	2188? 0151 ^a	2165? 0117 ^a	1198? 0107 ^b
22:6n23	15149? 0128 ^a	15144? 0136 ^a	13189? 0123 ^b
E SFA	29191? 0144 ^a	27124? 0156 ^b	26126? 0122 ^b
E MUFA	21151? 1133 ^a	21197? 2153 ^a	20148? 0198 ^a
E PUFA	40178? 0129 ^a	38198? 0178 ^a	4216? 1125 ^a
E n26	11126? 0198 ^a	13197? 0139 ^b	10159? 0127 ^a
E n23	27129? 1133 ^a	28101? 1198 ^a	32101? 1110 ^b

的变化,其中 18B1 的含量在受精卵和卵黄囊仔鱼之间无显著性差异,但是在卵黄囊仔鱼和开口仔鱼之间则差异显著($p < 0.05$),其他几种单不饱和脂肪酸的含量在不同发育阶段无显著性差异。多不饱和脂肪酸(PUFA)的总量在 3 个发育阶段差异不显著,尽管 20B5n23(EPA)、22B5n23、22B5n26 和 22B6n23(DHA)的含量从受精卵到卵黄囊仔鱼有下降的趋势,但是不明显,发育到开口仔鱼则明显降低。20B4n26(ARA)的含量一直保持不变。然而 18B3n23 的变化趋势恰恰相反,发育到开口仔鱼其含量则急剧的增加。其他几种多不饱和脂肪酸的含量在 3 个阶段没有明显的差异。

3 讨论

一些研究者已经通过测定发育中的卵及开口仔鱼中主要营养物质的浓度,或者给仔鱼投喂已知生化组成的活饵料,再测定营养物质在仔鱼体内的转运和储存及生长特性,确定了一些种类不饱和脂肪酸的需要量^[10,11]、氨基酸的需要量^[12,13]。

3.1.1 氨基酸组成

半滑舌鲷在仔鱼孵出后,总氨基酸含量明显地下降,这在突吻雪鲈(*Maccullochella macquariensis*)和虫纹雪鲈(*Maccullochella peelii*)^[13]以及在大西洋鲑(*Salmo salar*)^[14]中也有类似的报道。有研究表明,鱼类对必需氨基酸的需要量模式与构成鱼体蛋白的必需氨基酸模式之间明显相关^[15]。本试验发现半滑舌鲷开口仔鱼与所摄食的轮虫的必需氨基酸组成模式有明显的相关性,这与上述结论相符。当仔鱼游离氨基酸库的量仅占总氨基酸含量很小一部分时,例如在本试验中的 21.5%) 31.6%,细点牙鲷(*Dentex dentex*)仔鱼的 2%) 5%^[11],就可以利用这种方法来为仔鱼的必需氨基酸需要量提供参考。

在半滑舌鲷的受精卵中游离氨基酸的含量很高,占干重的 13.19%,为总氨基酸含量的 22.13%。这与其他海洋鱼类浮性卵的游离氨基酸含量测定结果相一致,为总氨基酸含量的 20%) 50%^[16]。与之相反,海洋鱼类沉性卵游离氨基酸的含量仅为总氨基酸含量的 2%) 3%^[17],这个比例在淡水鱼类的卵中小于 5%^[13]。半滑舌鲷卵中缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸和丙氨酸的含量十分丰富,这与一些鱼类浮性卵中主要游离氨基酸的种类完全相符,这种不同种类之间的共性是在卵母细胞发育过程中卵黄蛋白水解的结果^[17]。

游离氨基酸的总量从受精卵(139 mg/kg)到卵

黄囊仔鱼(18 mg/g)明显地下降,然后到开口仔鱼继续下降(12 mg/g)。在其他海水仔鱼的研究中发现,受精卵发育到开口仔鱼期间,游离氨基酸库的总量持续下降,不同种类之间会有差别,有的主要发生在卵或卵黄囊仔鱼阶段,有的在这两个阶段。游离氨基酸含量的减少,发生在每一种游离氨基酸中,对存留的必需游离氨基酸并没有选择性^[17]。单个必需游离氨基酸的损失在半滑舌鲷的受精卵发育到开口仔鱼阶段的幅度为 74%) 96%。然而,必需游离氨基酸的总的下降幅度为 93%,大于非必需氨基酸的总的下降幅度为 88%。这与 Brown 等^[18]对六带牙(Pdates sexlineatus)的研究结果相近。

在仔鱼个体发育的早期,游离氨基酸的主要作用有两点:(1)参加鱼体蛋白的合成;(2)作为能源被分解利用。大菱鲆和柠檬鲷(*Solea fulvomarginata*)大约有 20%) 30%的游离氨基酸用于合成鱼体蛋白,但是其他鱼类的情况不甚明了^[17]。在半滑舌鲷受精卵中必需游离氨基酸的消耗,有可能与被利用合成新的蛋白质有关。

已有研究证明,游离氨基酸在海洋鱼类的发育进程中的功效之一是作为能量代谢的基质^[6,19]。而氧化分解代谢基质的模式根据鱼的受精卵是否具有油球而异。具有油球的种类游离氨基酸库在海洋鱼类发育过程中的重要性低于没有油球的种类^[20,21]。没有油球的鱼卵其 70%的能量来自氨基酸的分解代谢,30%的能量来自甘油三酯等的分解代谢。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^[16]。半滑舌鲷的受精卵具有多个油球,其能量的代谢模式属于后一种。

在仔鱼开始外源性摄食之后,氨基酸可能还是重要的能源,例如 R nnestad 和 Naas^[22]研究庸鲈(*Hippoglossus hippoglossus*)的仔鱼,在开始摄食的头一个月有 60%的能源来自氨基酸。蛋白质、小肽以及游离氨基酸都是食物中的氨基酸源,但是它们的相对利用率可能与种类、仔鱼发育阶段、摄食率以及这些成分在食物中的比例有关^[23,24]。仔鱼可以通过黏膜细胞的胞饮作用和细胞内消化来吸收蛋白质,然而实际上仔鱼消化系统对蛋白质的消化能力仍然很有限^[24]。小肽可能来源于活饵料的自溶,它在肠道中的吸收效率比蛋白质高。Zambonino Infante 等^[25]发现在微颗粒饲料中用二肽和三肽替代 20%的蛋白质,可以改善舌齿鲈仔鱼的发育和成活率。

而游离氨基酸比蛋白质和肽类的吸收效率更高, 这在塞内加尔鲷和庸鲷中都有体现^[24, 26]。R nnestad 等^[16]建议在早期仔鱼饲料中应该有相当比例的氨基酸。因此, 在半滑舌鲷仔鱼的开口饵料中添加一定水平的游离氨基酸似乎很有必要。

312 脂肪酸组成

脂肪被认为是胚胎发育阶段重要的代谢能源。可以明显地看出, 半滑舌鲷在发育的早期利用饱和脂肪酸的程度大于单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。从受精卵发育到开口仔鱼, 主要消耗 16: 0 和 18: 1 作为能源。18: 2n26 和 18: 3n23 的含量在受精卵和卵黄囊仔鱼之间没有显著的差异, 但是有一定的下降趋势。这有可能表明它们没有被利用作为能源或者进行碳链延长、去饱和合成长链的高不饱和的脂肪酸(HUFA)。对于 20 碳的多不饱和脂肪酸, 其发育进程似乎有两种模型: 一是 n23 系列的脂肪酸, 例如 20: 5n23, 它的含量明显的降低, 有可能被作为能源或者作为 22: 5n23 的前体, 然后进一步去饱和合成 DHA, 这在鱼类发育中相当重要。这是因为海水鱼类不具备将 18C PUFA 转化为 20C 和 22C 长链 HUFA 的能力。二是 20: 4n26(ARA) 的含量在发育过程中保持不变。这在 Cejas 等^[27]对异带重牙鲷 (*Diplodus sargus*) 的受精卵和开口仔鱼的研究中也有相似的报道。尽管 n23 多不饱和脂肪酸在海水鱼类细胞膜的脂类中占相当大的比例, 但是在海水鱼中前列腺素的合成主要来源于 ARA, 而不是 EPA^[28]。半滑舌鲷在发育早期对 ARA 持续的蓄积, 有可能表明这个品种在开口摄食期间对 ARA 有特殊的需求。这似乎与大西洋鳕 (*Gadus morhua*) 和 鳕的仔鱼在饥饿期间, 它们的磷脂部分优先保留 ARA 和 DHA 的研究结果相一致, 而且这些脂肪酸含量对于其存活率很重要^[8, 10]。

DHA 是海水鱼类脑和视神经发育所必需的^[29] 31], 由于缺乏 DHA, 可能会使视觉和神经受到损害, 从而造成鱼类行为的异常^[32]。DHA 的含量从受精卵到卵黄囊仔鱼保持不变, 但是发育到开口仔鱼则明显地下降, 这个规律在 EPA 和 22: 5n23 也有同样的体现。这表明在仔鱼卵黄囊被吸收的阶段, 生物转化或 DHA 的合成很少, 这三种多不饱和脂肪酸可能被选择进行代谢。这与 V zquez 等^[9]对塞内加尔鲷的研究结果相似, 但是与 Mourente 等^[1]对饥饿的塞内加尔鲷仔鱼的研究结果有些不同, 在这个实验中 DHA 在发育进程中始终保持不变。因此, 在半滑舌鲷仔鱼开口时补充 DHA, 对于获得其良好的

生长性能是很有必要的, 因为 EPA、22: 5n23 和 DHA 在半滑舌鲷仔鱼发育过程中有明显的消耗。

参考文献:

[1] Mourente G, V zquez 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 Physiol. Biocheml*, 1996, 15: 221) 235

[2] Sargent J R, Henderson R J, Tocher D R. The lipids [A]. In: Halver J E (Edsl), *Fish nutrition* [M]. New York: Academic Press. 1989, 153) 218

[3] Rodriguez C, P rez J A, Izquierdo M S, et al. Essential fatty acid requirements of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* (L) [J]. *Aquac. Fish Manage*, 1993, 24: 295) 304

[4] Rodriguez C, P rez J A, Diaz M, et al. Influence of the EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval develop2ment [J]. *Aquaculture*, 1999, 150: 77) 89

[5] Kestemont P, Cooremans J, Ab2Ayad A, M lard C. Cathepsin L in eggs and laecae of perdh *Perc2 fluviatilis*: Variation with developmer2tal stage and spawning period [J]. *Fish Physiol. Biocheml*, 1999, 21: 59) 64

[6] Fyhn H J, Serigstad B. Free amino acids as energy substrates in de2veloping eggs and larvae of the cod (*Gadus morhua*) [J]. *Mar. Biol*1, 1987, 96: 335) 341

[7] Fyhn H J. First feeding of marine larvae: are free amino acids the source of energy [J]. *Aquaculture*, 1989, 80: 111) 120

[8] Fraser A J, Gamble J C, Sargent J R. Changes in lipid content, lipid class and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae cod (*Gadus morhua*) [J]. *Mar. Biol*1, 1988, 99: 307) 313

[9] V2zquez R, Gonz lez S, Rodr2guez A, Mourente G. Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first2feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup) [J]. *Aquaculture*, 1994, 119: 273) 286

[10] Ostrowski A C, Divakaran S. Energy substrates for eggs and preefed2ing larvae of the dolphin *Coryhaena hippurus* [J]. *Marl Biol*1, 1991, 109: 149) 155

[11] 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

[12] Tulli F, Tibaldi E. Changes in amino acids and essential fatty acids during early larval rearing of dentex [J]. *Aquac. Intl*1, 1997, 5: 229) 236

[13] Gunasekera R, DeSilva S S, Ingram B A. The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquariensis* and Murry cod, *Maccullochella peelii* [J]. *Aquat. Living Resourl*, 1999, 12: 255) 261

[14] Srivastava K, Brown J A, Shahidi F. Changes in the amino acid pool during embryonic development of cultured and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 1995, 131: 115) 124

[15] Mambrini M, Kaushik S J. Indispensable amino acid requirements of

- fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 1995, 11: 240-247
- [16] Rønnestad I, Thorsen A, Finn R N. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids [J]. *Aquaculture*, 1999, 177b: 201-216
- [17] Rønnestad I, Fyhn H J. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae [J]. *Rev. Fish. Sci.*, 1993, 1: 239-259
- [18] Brown M R, Battaglene S C, Morehead D T, Brock M. Ontogenetic changes in amino acid and vitamins during early larval stages of striped trumpeter (*Latris lineate*) [J]. *Aquaculture*, 2005, 248: 263-274
- [19] 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*, 1992a, 114: 517-525
- [20] Fyhn H J, Govoni J J. Endogenous nutrient mobilisation during egg and larval development in two marine fishes, Atlantic menhaden and spot [J]. *ICES Marine Science Symposia*, 1995, 201: 64-69
- [21] Rønnestad I, Koven W, Tandler A, et al. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. *Marine Biology*, 1994, 120: 187-196
- [22] Rønnestad I, Naas K E. Routine metabolism in Atlantic halibut at first feeding—a first step towards an energetic model [A]. In: Walther B T, Fyhn H J (Eds.), *Physiology and biochemistry of Marine fish larval development* [M]. Bergen: University of Bergen, 1993, 279-284
- [23] Zambonino Infante J L, Cahu C L. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine larval fish larvae [J]. *Comp. Biochem. Physiol*, 2001, 130: 477-487
- [24] Rønnestad I, Tonheim S K, Fyhn H J, et al. The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings [J]. *Aquaculture*, 2003, 227: 147-164
- [25] Zambonino Infante J L, Cahu C L, Peres A. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* development [J]. *J. Nutr.*, 1997, 127: 608-614
- [26] Rust M B, Hardy R W, Stickney R R. A new method for force-feeding larval fish [J]. *Aquaculture*, 1993, 116: 341-352
- [27] Cejas J R, Almansa E, Jerez S, et al. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae [J]. *Comp. Biochem. Physiol*, 2004, 139B: 209-216
- [28] Sargent J R, Bell M V, Henderson R J, et al. Polyunsaturated fatty acids in marine and terrestrial food webs [A]. In: Mellinger J (Ed.), *Animal nutrition and transport processes. 1. Nutrition in wild and domestic animals* [M]. *Comparative Physiology*, 1990, 5: 11-23
- [29] Bell M V, Dick J R. Molecular species composition of the major diacylglycerol phospholipids from muscle, liver, retina and brain of cod (*Gadus morhua*) [J]. *Lipids*, 1991, 26: 565-573
- [30] Mourente G, Tocher D R, Sargent J R. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22: 6n3) in brain lipids during development of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L [J]. *Lipids*, 1991, 26: 871-877
- [31] Mourente G, Tocher D R. Lipid class and fatty acid composition of brain lipids from Atlantic herring (*Clupea harengus*) at different stages of development [J]. *Mar. Biol.*, 1992, 112: 553-558
- [32] Navarro J C, Sargent J R. Behavioral differences in starving herring *Clupea harengus* L. larvae correlate with body levels of essential fatty acids [J]. *J. Fish Biol.*, 1992, 41: 509-513

CHANGES IN AMINO ACID AND FATTY ACID COMPOSITION DURING DEVELOPMENT IN TONGUE SOLE (*CYNOGLOSSUS SEMILAEIS*) EGGS AND LARVAE

CHANG Qing^{1, 2}, LIANG Meng²Qing¹, CHEN Si²Qing¹, ZHANG Han²Hua², WANG Jia²Lin¹ and ZHANG Xiu²Mei³

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Key Laboratory of Fisheries Genetic Resource & Aquaculture, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Guangzhou 510300; 3. Division of Life Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract: The tongue sole, *Cynoglossus semilaeis* is a Chinese inshore species with a great potential for aquaculture. In spite of great commercial interest, there is limited information about the biology, nutritional requirements or techniques for intensive rearing of larvae of this species. An estimation of the utilization of endogenous nutrients from the yolk sac that occurs during embryonic and early larval development can be a useful approach to the study of the nutritional requirements of fish larvae. In order to estimate the metabolic characteristics and nutritional requirements of Tongue sole first-feeding larvae, the changes in amino acid and fatty acid content that occur during the rapid development of the embryonic and yolk sac larval stages were examined.

Eggs obtained from captive broodstock which spawned naturally, and larvae used were hatchery-reared from the same batch. Eggs were incubated at 19) 22 °C in incubation baskets held in a hatchery tank with gentle aeration and a continuous flow of 0.14

L/min. After hatching, larvae were reared in 500 L indoor circular tanks at $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$ temperature and 30–32 g/L salinity. The composition of amino acid and fatty acid in eggs and larvae were examined with gas chromatography and automatic amino acid analyser. The results showed that the composition of total amino acids changed significantly from egg to yolk sac larvae, but from yolk sac larvae to first-feeding larvae, it showed minor compositional changes. The composition of total, essential amino acids (EAAs) in first-feeding larvae was closely correlated to the composition in rotifers, which suggested no major dietary imbalances of EAAs. High concentrations of free amino acids (FAAs) were found in tongue sole eggs, i.e. 139 mg/g dry weight (DW) and 2213% of total amino acids. Concentrations dropped significantly in yolk sac larvae (316 mg/g) and no further changed in larvae at first-feeding (215 mg/g). These changes suggested a major metabolic role of FAAs during early ontogeny of tongue sole. Total saturated fatty acids content significantly decreased from fertilized egg to yolk sac larvae, but no significant difference was found between the contents of yolk sac larvae and first-feeding larvae. Total monounsaturated fatty acids and total polyunsaturated fatty acids contents were not significantly different among different developmental stages. Eicosapentaenoic acid (20:5n3) and docosahexaenoic acid (22:6n3) significantly decreased from yolk sac larvae to first-feeding larvae, while arachidonic acid (20:4n6) was specifically retained throughout development, which suggested a requirement for long-chain polyunsaturated fatty acids such as 20:5n3, 20:4n6 and 22:6n3.

Key words: *Cynoglossus semilaevis*; Amino acid composition; Fatty acid composition; Egg; Larvae