

日本鳊雌鳊卵巢发育期间肌肉脂肪酸的组成及消耗

柳 凌 李 荣 张洁明 郭 峰 张 涛

(中国水产科学研究院长江水产研究所,农业部淡水鱼类种质资源与生物技术重点实验室,荆州 434000)

摘要:研究采用 3 种不同的处理方式 (I&GD、I&nGD 和 A&nGD)对雌鳊处理后,进行了生物学相关参数、肌肉脂肪酸组成和含量变化测定分析。研究结果表明,日本鳊在性腺发育期间,体重一直呈一个下降的趋势,直到产卵前,才显著高于野生海鳊。该现象被称为水合反应。实验结束时,3 个实验组的脂肪总量均有不同程度的下降,其中, I&GD 组下降最多,占总脂肪的 66.55%;其次是 A&nGD 组,占总脂肪的 43.76%;下降最少的是 I&nGD 组,占总脂肪的 34.68%。研究对日本鳊的肌肉共测出了 17 种脂肪酸, SEA 7 种、MUFA 2 种、PUFA 8 种。其中, MUFA 虽然只有 2 种,但在脂肪酸总量中占的百分比却较高达 38.02%,而且它们的消耗与性腺发育和基础代谢有关,与雌鳊的游泳耗能无关。在 8 种 PUFA 中, AA 的变化很特殊。实验期间,它在日本鳊肌肉内是一个积累和消耗的动态过程。而且,积累程度与雌鳊的游动有关,游动越多,积累越多。EPA 虽然能被检出,但量很低,而且各组间的变化无明显规律。DHA 在日本鳊肌肉中的含量达到 123.91 mg/g 干肌肉,占总脂肪的 32.52%。卵巢发育所消耗的量也很多, I&GD 组在卵巢发育结束后,下降到 10.59 mg/g 干肌肉。相关性分析发现,虽然总脂肪酸、PUFA、DHA 和 EPA 与 GS 间均存在一定程度的负相关性,但关系最密切的是 DHA,其 $r = -0.952 (P < 0.01, n = 5)$,关系最小的是 EPA,其 $r = -0.882 (P < 0.05, n = 5)$ 。因此分析认为 DHA 是日本鳊性腺发育所需的最主要的一种脂肪酸。对能量分布进行综合分析后认为,日本鳊在人工诱导性腺发育期间,基础代谢所需的脂肪量 (L_{BM}) 占总脂肪量的 34.68%,性腺发育所需脂肪量 (L_{GD}) 占总脂肪量的 32.49%,运动耗能所需脂肪量 (L_M) 占总脂肪量的 9.79%。因此认为,日本鳊在不摄食的情况下,肌肉中的脂肪不仅能提供性腺发育所需的营养物质,而且还能满足洄游 2000 海里到达产卵场所需的能量。

关键词:脂肪;脂肪酸;肌肉组织;卵巢发育;雌鳊;日本鳊

中图分类号: Q174 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)06-1011-09

日本鳊是一种降河洄游产卵的鱼类。主要分布于东南亚、日本、韩国和中国等地^[1]。在中国,每年的 11 月中旬成群的雌鳊从它们栖息的江河湖泊等淡水区域降河洄游到各个河口,与生活在那里的雄鳊汇合,开始它们漫长的生殖洄游^[2,3]。日本最近的研究已经证明,在马里亚纳群岛以西存在着一个日本鳊的产卵场^[4,5]。换句话说,无论是从日本、中国或台湾下海的日本鳊都需要洄游 2000 海里以上才能到达这个产卵场。

我国从 1980 年开始日本鳊人工诱导性腺成熟和繁殖研究^[6]。目前,日本鳊的催熟率和催产率均能到达 90% 以上^[7]。与日本不同^[8-10],我国用于人工诱导性腺催熟和繁殖的鳊大多数来自野生下海鳊^[11,12]。虽然,目前还无法证明,在自然条件

下野生下海鳊在生殖洄游期间是否摄食,但研究已经证明,在人工条件下,野生海鳊在入海水后是不摄食的^[3,7,12]。根据其他鱼类的生殖洄游习性,如:在中国北方黑龙江中生殖洄游的大麻哈鱼、在中国部长江中生殖洄游的中华鲟、在中国南方珠江中生殖洄游的鲢鱼,以及对欧洲鳊的研究均证明这些鱼在生殖洄游期间均不摄食^[2,13]。因此,推测日本鳊在生殖洄游期间也是不摄食的。

日本鳊在淡水生活期间,其肌肉中积累了丰富的脂肪。当脂肪积累结束时,其形态由黄鳊变成银鳊,并开始准备它们的生殖洄游。这意味着脂肪积累的程度将是决定它们开始生殖洄游的关键因素^[4,14]。这些脂肪将提供它们在以后的生殖洄游期间性腺发育、基础代谢以及洄游所需的能量等一切

收稿日期: 2008-05-14; 修订日期: 2008-12-29

基金项目: 国家十一五支撑项目 (编号: 2006BAD03B08 - 04) 资助

通讯作者: 柳凌 (1959—), 研究员; 主要从事鱼类生殖生理及发育生物学研究。E-mail: Liul@yfi.ac.cn

需要^[15,16]。本研究的目的一方面试图通过在人工条件下,对日本鳗鲡性腺发育期间肌肉脂肪酸的组成和变化研究,探讨日本鳗鲡在生殖洄游期间肌肉中脂肪在性腺发育、基础代谢和游泳耗能3方面的消耗量。另一方面,通过对性腺发育过程中,日本鳗鲡肌肉中脂肪的消耗,探讨日本鳗鲡性腺发育对肌肉脂肪的营养需求,为研究日本鳗鲡人工育苗技术提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源 试验用亲鱼均取自珠江口的下海野生鳗,选择体质健壮,无病害的鳗鲡作为试验用鱼。雌鳗体重为每尾 550—750 g,雄鳗为每尾 250—400 g。所有亲鱼运回长江所试验用养鱼房的玻璃钢水槽中进行养殖。经 15d 逐步适应海水后,分组养殖于盐度 30 的海水中。养殖用玻璃钢水槽直径 3 m,水体积为 2.3 m³,可养殖雌鳗 20 尾。繁殖用雄鳗分开养殖。

1.2 试验设计 试验共分 3 组。试验开始前,每组随机取 5 尾野生下海雌鳗,作为该组的对照组。称重、解剖、测定相关繁殖生物学参数,以及取背部和腹部肌肉各约 10 g, - 20 °C 冰箱保存,准备水分和脂肪酸测定。

I&GD (Inaction and gonadal development) 组: 为人工诱导性腺发育,不游动组。试验期间,采用外源激素诱导性腺发育。每次注射外源激素及剂量为 0.5 mg 垂体 (Cap pituitary, CP) + 50 IU 人绒毛膜促性腺激素 (Human chorionic gonadotropin, HCG) 每 500 g 雌鳗体重。每次注射间隔为 12d。注射 11—12 次后,性腺发育成熟。养殖试验鱼的玻璃钢水槽中放入几根长 1 m,直径 10 cm 的黑色 PVC 管。所有试验鱼会钻入管中,不游动。每注射 2 次后,随机取 5 尾试验鱼,称重、解剖、测定相关繁殖生物学参数,以及取背部和腹部肌肉各一些,称重, - 20 °C 冰箱保存,准备水分和脂肪酸测定。

I&nGD (Inaction and no gonadal development) 组: 为性腺不发育,不游动组。试验期间,每隔 12d 注射蒸馏水 1 mL/尾。养殖试验鱼的玻璃钢水槽中放入几根长 1 m,直径 10 cm 的黑色 PVC 管。所有试验鱼会钻入管中,不游动。注射第 6 次和注射第 12 次后,分别随机取 5 尾试验鱼,称重、解剖、测定相关繁殖生物学参数,以及取背部和腹部肌肉各一些,称重, - 20 °C 冰箱保存,准备水分和脂肪酸测定。

A&nGD (Action and no gonadal development) 组:

为性腺不发育,游动组。试验期间,每隔 12d 注射蒸馏水 1 mL/尾。养殖试验鱼的玻璃钢水槽中不放 PVC 管。水槽上方安装一电机,电机通过一个轴与水槽底部的有机玻璃叶片相连。试验期间,电机带动叶片保持转速为 30 转/h,迫使试验鱼不停的游动。注射第 6 次和注射第 12 次后,分别随机取 5 尾试验鱼,称重、解剖、测定相关繁殖生物学参数,以及取背部和腹部肌肉各一些,称重, - 20 °C 冰箱保存,准备水分和脂肪酸测定。

1.3 繁殖生物学参数测定 所有待测试验鱼解剖前称取体重。解剖后,取出卵巢和肝脏,分别称重。成熟系数计算方法为: GSI (Gonadosomatic index) = $100 \times (W_g / W)$ (其中: W_g 为卵巢重, W 为体重), 肝系数计算方法为: HSI (Hepatosomatic index) = $100 \times (W_h / W)$ (其中: W_h 为肝重, W 为体重)。然后取背部和腹部肌肉各一块,去皮。 - 20 °C 冰箱保存。

1.4 肌肉水分测定 参照 Howitz 的标准方法^[17]。将每条样品鱼的背部和腹部肌肉混合匀浆,放入 45 °C 真空干燥箱中干燥 25h,样品干燥后,取出称重,计算样品中的水分含量。

1.5 肌肉脂肪酸测定 参照 Christie 的方法并改良^[18]。称取经干燥得到干重样品 1 g,经超声提取 2min,涡旋振荡 5min, 3000 r/min 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 °C 皂化 2h,再用 Furuta, et al. 的方法^[21] BF₃ 催化法制取脂肪酸甲酯,加正己烷 (用 NaCl 饱和) 1mL,取上清液在气相色谱仪 (PC-3380, Varian, USA) 上测定分析。分析条件:分析柱为 PEG220 M 石英毛细管分析柱 (柱温为 200 °C, 进样器温度为 240 °C),分流比为 1:100。色谱柱为 Innowax 色谱柱 (J&W Scientific Co., 长 30 m, 内径 0.32 mm, 液膜厚度 0.5 μm)。载气为高纯氮。用标样比对和等校链长法进行定性分析,用外标法对脂肪酸进行定量计算。

1.6 数据处理 用 SPSS13.0 软件进行统计分析,对各实验组肌肉样品检测所得数据进行单因子方差分析。当 $P < 0.05$ 时,认为两处理组数据间有显著差异。

2 结果

2.1 生物学和生物化学参数概况

表 1 列出了 3 个试验组的体重、 GSI 、 HSI 、总脂肪含量以及肌肉水分含量的变化情况。这些生物学

和生物化学参数是后面研究结果的基础。通过各组组鱼在试验期间与脂肪酸消耗有关的生物学和生物化学参数变化概况。

表 1 实验期间与卵巢发育有关的生物学和生物化学参数变化
Tab. 1 Changes of biological and biochemical data related with ovarian development in the females of Japanese eel during the experiment

	开始注射 Beginning injection	第 2 针 The 2nd injection	第 4 针 The 4 th injection	第 6 针 The 6 th injection	第 8 针 The 8 th injection	第 10 针 The 10 th injection	产卵 Spawning
I&GD 组							
体重 Body weight (g)	590. 0 ±12. 25 ^a	518. 0 ±28. 71 ^b	510. 0 ±22. 36 ^b	508 ±26. 34 ^b	534 ±20. 64 ^b	564 ±21. 12 ^a	652 ±26. 53 ^c
成熟系数 GSI	1. 83 ±0. 05 ^a	2. 36 ±0. 24 ^a	3. 19 ±0. 16 ^b	5. 04 ±0. 25 ^c	14. 72 ±0. 67 ^d	26. 50 ±0. 64 ^e	37. 23 ±1. 43 ^f
肝系数 HSI	1. 45 ±0. 03 ^a	1. 98 ±0. 04 ^b	2. 06 ±0. 05 ^b	1. 87 ±0. 03 ^b	1. 93 ±0. 05 ^b	1. 62 ±0. 07 ^{ab}	1. 36 ±0. 02 ^a
总脂肪 Total lipid (% DMW)	39. 94 ±0. 94 ^a	37. 66 ±0. 80 ^b	35. 42 ±0. 79 ^c	31. 49 ±0. 77 ^d	25. 46 ±0. 81 ^e	19. 24 ±0. 72 ^f	13. 57 ±0. 64 ^g
水分 Moisture (% MW)	64. 06 ±0. 89 ^a	56. 82 ±0. 95 ^b	60. 69 ±0. 79 ^b	61. 26 ±0. 48 ^a	62. 37 ±0. 88 ^{ab}	63. 42 ±0. 79 ^a	67. 82 ±1. 08 ^c
I&nGD							
体重 Body weight (g)	600 ±14. 14 ^a	504 ±18. 60 ^b	534 ±13. 64 ^c	528 ±6. 63 ^{bc}	512 ±8. 00 ^{bc}	506 ±12. 88 ^c	488 ±8. 66 ^c
成熟系数 GSI	1. 83 ±0. 05	—	—	2. 11 ±0. 05	—	—	2. 16 ±0. 05
肝系数 HSI	1. 45 ±0. 03	—	—	1. 51 ±0. 03	—	—	1. 65 ±0. 04
总脂肪 Total lipid (% DMW)	39. 94 ±0. 94 ^a	—	—	33. 72 ±2. 04 ^b	—	—	26. 09 ±1. 84 ^c
水分 Moisture (% MW)	63. 78 ±1. 33	—	—	62. 75 ±0. 94	—	—	61. 10 ±1. 17
A&nGD							
体重 Body weight (g)	596 ±13. 27 ^a	510 ±11. 40 ^b	514 ±9. 27 ^b	488 ±10. 68 ^b	488 ±12. 81 ^c	394 ±12. 08 ^c	372 ±13. 19 ^c
成熟系数 GSI	1. 83 ±0. 05	—	—	2. 17 ±0. 05	—	—	2. 09 ±0. 03
肝系数 HSI	1. 45 ±0. 03	—	—	1. 49 ±0. 04	—	—	1. 77 ±0. 05
总脂肪 Total lipid (%DMW)	39. 94 ±0. 94 ^a	—	—	31. 20 ±1. 91 ^b	—	—	22. 46 ±1. 35 ^c
水分 Moisture (% MW)	63. 78 ±1. 33 ^a	—	—	60. 28 ±0. 57 ^b	—	—	58. 16 ±0. 72 ^c

注:参数以平均数±标准差(n=5)表示;同一行参数的右上角不同字母代表具有显著性差异(P<0.05);DMW:干肌肉重;MW:肌肉重;下同
Note: Results represent means ±S.D. (n=5) for each female; values in the same row followed by different superscript letter are significantly different (P<0.05); DMW; dry muscle weight; MW: muscle weight; The same as follows

通过比较发现, I&GD 组的体重在人工诱导性腺发育前 10 针前都是一个下降的过程,但第 10 针后到产卵前,体重迅速上升。到产卵时,其体重显著高于野生下海鳗(P<0.05)。与其相应的是肌肉中的水分变化也是第 10 针前呈下降趋势,而产卵时与野生下海鳗比较有显著升高(P<0.05)。I&nGD 和 A&nGD 组的体重,在试验期间,只有下降的过程,没有上升结果。A&nGD 组体重的下降幅度大于 I&nGD

组。同样的情况也发生在水分变化上。Ohta 在他的研究报告中将日本鳗鲡性腺发育期间的这一现象称为水合反应 (Hydration)^[1]。
I&GD 组的 GSI 除第 2 针时与野生鳗比较无显著差异外,第 2 针后, GSI 呈指数增长。统计学结果证明其指数增长曲线公式为 $y = 37.458e^{0.0512x}$ (n=5)。HS 到第 2 针时与野生鳗比较有显著升高的差异(P<0.05),但第 2 针后则无明显的变化。而

I&nGD和 A&nGD组,无论是 *GSI*或 *HIS*,在试验期间均无明显变化。这说明在试验期间前 1组雌鳗卵巢是正常发育的,而后 2组雌鳗的卵巢均没有发育。

3个试验组的总脂肪含量在试验期间均呈下降趋势。但 3组鱼的下降程度是不一样的。下降最多的是 I&GD组,其次是 A&nGD组,而 I&nGD组下降的最少。

2.2 肌肉脂肪酸的组成和比较

在对 3个试验组的肌肉样品进行气相色谱分析中,试验共用了 31种脂肪酸标准样品 (ACROS OR-NAGICS公司生产,美国)。分析后发现,日本鳗鲡肌肉样品中可检测到 26个峰,其中 17个峰可用于定量分析。在这 17种脂肪酸中,饱和脂肪酸 7种、

单不饱和脂肪酸 2种、多不饱和脂肪酸 8种。海水鱼类肌肉中最主要的 3种脂肪酸,AA (A rachido-nate)、EPA (Eicosapentaenoate)和 DHA (Docosahex-anoate)均被检出。

表 2列出了在试验结束时,3个试验组雌鳗肌肉中的 17种脂肪酸含量,以及与野生鳗肌肉脂肪酸含量的比较。比较结果发现,3个试验组肌肉中的脂肪酸总量均比野生鳗有显著地下降 ($P < 0.05$)。下降最多的是 I&GD组,占总脂肪的 66.55%,其次是 A&nGD组,占总脂肪的 43.76%,而 I&nGD组下降的最少,只占总脂肪的 34.68%。这说明无论是性腺发育还是不发育,游动还是不游动,在试验期间均需要消耗脂肪。

表 2 雌鳗在实验开始时和 3个实验组在实验结束时肌肉中脂肪酸的组成

Tab.2 Fatty acid composition of muscle from the female of beginning injection and 3 groups at the end of injection

脂肪酸 Fatty acid	含量 Contents(mg/g DMW)			
	开始注射 Beginning injection	I&GD	I&nGD	A &nGD
C12 0	0.26 ±0.01 ^a	0.17 ±0.01 ^b	0.33 ±0.02 ^a	0.14 ±0.01 ^b
C14 0	12.37 ±1.74 ^a	4.6 ±0.31 ^b	7.16 ±0.82 ^c	5.75 ±0.65 ^c
C15 0	1.47 ±0.14 ^a	1.22 ±0.13 ^b	1.69 ±0.01 ^a	0.58 ±0.06 ^c
C16 0	57.44 ±3.27 ^a	27.51 ±1.75 ^b	38.96 ±2.79 ^c	33.38 ±3.05 ^c
C16 1n-7	42.64 ±2.31 ^a	16.42 ±1.06 ^b	23.72 ±2.17 ^c	14.96 ±1.49 ^b
C17 0	1.04 ±0.11 ^a	1.62 ±0.15 ^a	1.82 ±0.22 ^a	0.34 ±0.03 ^b
C18 0	16.22 ±0.96 ^a	6.86 ±0.59 ^b	10.42 ±1.15 ^c	9.59 ±1.28 ^c
C18 1n-9	109.2 ±6.41 ^a	46.22 ±2.71 ^b	81.19 ±5.33 ^c	72.5 ±4.74 ^c
C18 3n-6	7.68 ±0.66 ^a	2.03 ±0.09 ^b	5.03 ±0.46 ^c	3.47 ±0.22 ^d
C20 0	5.24 ±0.38 ^a	2.39 ±0.10 ^b	3.20 ±0.37 ^c	3.24 ±0.35 ^c
C20 2n-6	2.43 ±0.17 ^a	0.96 ±0.07 ^b	1.70 ±0.19 ^c	0.98 ±0.08 ^b
C20 3n-6	2.21 ±0.12 ^a	0.72 ±0.04 ^b	1.70 ±0.13 ^a	0.63 ±0.04 ^b
C20 4n-6AA	3.55 ±0.24 ^a	3.41 ±0.23 ^a	5.51 ±0.52 ^b	9.85 ±0.87 ^c
C20 5n-3EPA	4.48 ±0.29 ^a	1.86 ±0.08 ^b	2.96 ±0.10 ^c	3.04 ±0.19 ^{ac}
C22 4n-6	1.38 ±0.12 ^a	3.00 ±0.20 ^b	2.94 ±0.13 ^b	0.89 ±0.13 ^a
C22 5n-3	5.71 ±0.41 ^a	2.41 ±0.11 ^b	3.20 ±0.09 ^b	2.35 ±0.11 ^b
C22 6n-3DHA	123.91 ±7.29 ^a	10.59 ±0.85 ^b	67.97 ±4.28 ^c	61.43 ±4.92 ^c
Unknown	2.17 ±0.11	1.62 ±0.16	1.38 ±0.08	1.52 ±0.11
Totals	399.4 ±10.28 ^a	133.61 ±7.88 ^b	260.88 ±8.19 ^c	224.64 ±7.66 ^d
SFA	94.04 ±5.16 ^a	44.37 ±2.44 ^b	63.58 ±4.25 ^c	53.02 ±4.96 ^d
MUFA	151.84 ±8.66 ^a	62.64 ±3.91 ^b	104.91 ±6.17 ^c	87.46 ±5.55 ^d
n-3	134.10 ±7.92 ^a	14.86 ±1.01 ^b	74.13 ±5.02 ^c	66.82 ±5.60 ^c
n-6	17.25 ±1.18 ^a	10.12 ±0.82 ^b	16.88 ±1.21 ^a	15.82 ±1.74 ^a
PUFA	151.35 ±8.64 ^a	24.98 ±1.47 ^b	91.01 ±6.30 ^c	82.64 ±6.75 ^d
AA /EPA	0.79	1.83	1.86	3.24
DHA /EPA	27.66	5.69	22.96	20.21
n-3 /n-6	7.77	1.47	4.39	4.22

虽然 3 个试验组肌肉中的 SFA (Saturated fatty acid)总量与脂肪酸总量一样,均有不同程度的显著下降 ($P < 0.05$),但仔细观察每个脂肪酸变化后发现,7种饱和脂肪酸的下降没有明显的规律。很难从中区分那些脂肪酸分别与性腺发育、基础代谢和游动耗能有关。

MUFA (Monounsaturated fatty acid)虽然只有 2 种,在脂肪酸总量中占的百分比却较高,到达 38.02%。其中,3个试验组的 C16 1酸与野生鳗比较均显著下降 ($P < 0.05$)。进一步分析发现, I&nGD 组与 A&nGD 组比较无有显著差异 ($P > 0.05$),而 I&nGD 组的含量却显著低于 I&nGD 组 ($P < 0.05$)。同样的情况也发生在 3 个组的 C18 1酸上,与野生鳗比较 C18 1酸也有显著下降 ($P < 0.05$),但 I&nGD 组与 A&nGD 组却没有显著差异 ($P > 0.05$),而与 I&nGD 组却存在显著差异 ($P < 0.05$)。因此,认为 C16 1酸和 C18 1酸与鳗鱼的运动无关,而与性腺发育和基础代谢有关。

PUFA (Polyunsaturated fatty acid)在日本鳗鲡肌肉中共检测出 8 种。其中,AA、EPA 和 DHA 是海水鱼中主要的 3 种脂肪酸^[22-24]。AA 在 3 个实验组种的变化很特殊, I&nGD 组与野生鳗比较无显著差异 ($P > 0.05$),而 I&nGD 组和 A&nGD 组的 AA 与野生鳗比较则显著升高 ($P < 0.05$),而 A&nGD 组与 I&nGD 组比较, A&nGD 组的 AA 显著高于 I&nGD 组。这个现象暗示了在试验期间,AA 在日本鳗鲡肌肉内是一个积累和消耗同时发生的动态过程。由于 I&nGD 组性腺发育消耗了 AA,同时又在产生 AA,因此在试验结束时, I&nGD 组的 AA 与野生鳗比较无显著增加。但 I&nGD 组和 A&nGD 组的 AA 由于性腺不发育,所以出现了显著增加。而且,AA 的积累程度还与雌鳗的游动有关,游动越多,积累越多。因此, A&nGD 组的 AA 显著高于 I&nGD 组 ($P < 0.05$)。但有关 AA 的代谢机理,作者认为还有待进一步的研究。EPA 虽然能被检出,但由于量很低,而且各组间的变化无明显规律,因此,很难由 EPA 的变化得出结论。DHA 在日本鳗鲡肌肉中所占的百分含量很高,而且在各实验组间的变化也十分明显。因此,在后面的结果中重点分析了 DHA 在各组间的变化规律。

2.3 脂肪酸的百分比变化与 GSI的关系

虽然 3 个实验组在实验结束时,与野生鳗比较,无论是肌肉的脂肪酸总量,还是 SFA、MUFA 和 PU-

FA 的总量均有不同程度的下降 (图 1)。但进一步分析发现,当以直方图的形式将 3 个实验组中 SFA、MUFA 和 PUFA 在脂肪中所占百分比含量与野生鳗比较时 (图 2),只有 I&nGD 组的 SFA、MUFA 和 PUFA 与野生鳗比较发生了显著的变化 ($P < 0.05$)。其中, SFA 和 MUFA 的百分比增加了,而 PUFA 则减少了。进一步将 PUFA 中的 3 中主要脂肪酸 AA、EPA 和 DHA 用直方图 3 表示后,比较发现 DHA 减少的最多。它的减少直接影响了整个 PUFA 的下降。

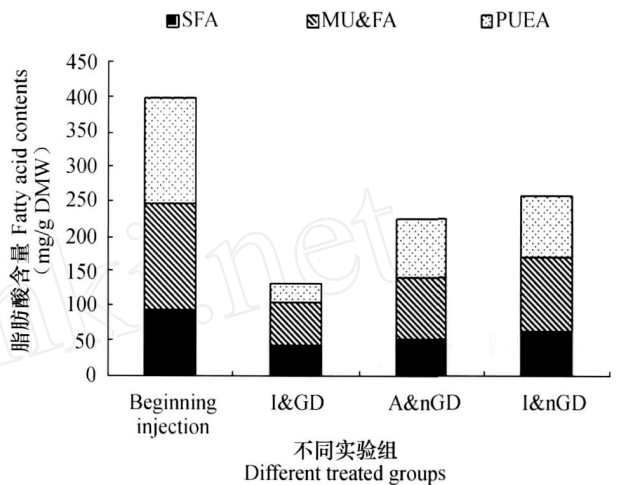


图 1 三个实验组在实验结束时的肌肉总脂肪、SFA、MUFA 和 PUFA 含量与对照组的比较
Fig. 1 Comparing with the levels of total lipids, SFA, MUFA and PUFA in muscle of females at the beginning injection and 3 different treated groups at the end of injection

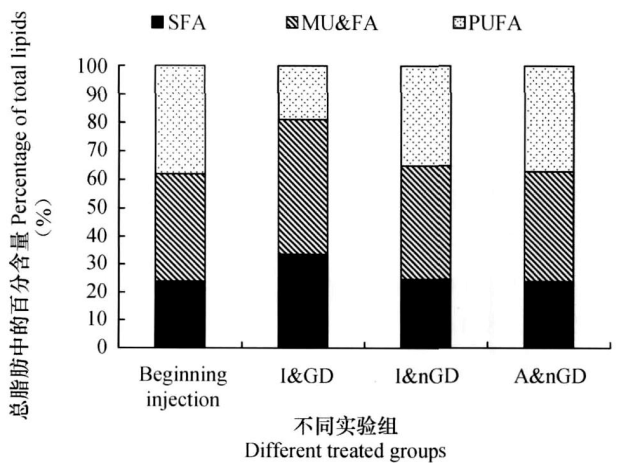


图 2 三个实验组在实验结束时的 SFA、MUFA 和 PUFA 在脂肪中的百分含量与对照组的比较
Fig. 2 comparing with percentage (%) total lipid) of SFA, MUFA and PUFA in muscle of females at the beginning injection and 3 different treated groups at the end of injection

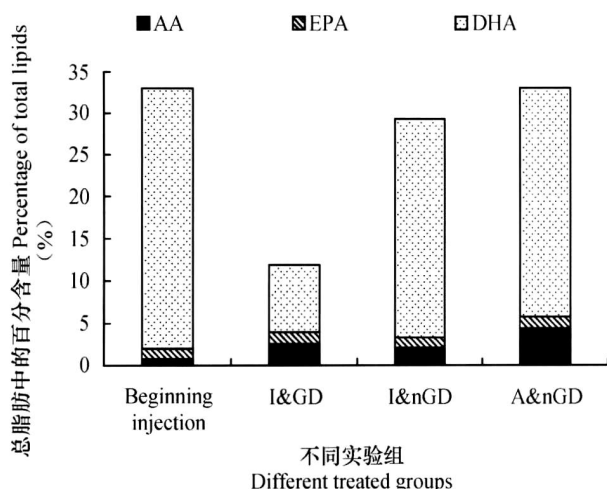


图3 三个实验组在实验结束时的 AA、EPA 和 DHA 在脂肪中的百分含量与对照组的比较

Fig. 3 Comparing with percentage (%) total lipid of AA, EPA and DHA in muscle of females at the beginning injection and 3 different treated groups at the end of injection

本试验分别分析了总脂肪酸、PUFA、DHA 和 EPA 在脂肪中的百分含量与 $GS I$ 之间的相关性。结果发现,总脂肪酸、PUFA、DHA 和 EPA 与 $GS I$ 间均存在一定程度的负相关性。其中,总脂肪酸与 $GS I$ 的相关曲线为 $y = 40.351e^{-0.0273x}$,相关因子为 $r = -0.947$ ($P < 0.01$, $n = 5$); PUFA 的相关曲线为 $y = 16.182e^{-0.0466x}$,相关因子为 $r = -0.935$ ($P < 0.01$, $n = 5$); DHA 的相关曲线为 $y = 13.359e^{-0.0584x}$,相关因子为 $r = -0.952$ ($P < 0.01$, $n = 5$); EPA 的相关曲线为 $y = 4.3022e^{-0.0228x}$,相关因子为 $r = -0.882$ ($P < 0.05$, $n = 5$)。由此不难看出关系最密切的是 DHA,关系最小的是 EPA。因此分析认为 DHA 是日本鳎性腺发育所需的最主要的一种脂肪酸。

2.4 能量分布的分析

在本研究中首先假定日本鳎在自然条件下,其性腺发育过程中,脂肪消耗主要在 3 个方面,即:基础代谢、性腺发育和洄游过程中的能量消耗。在实验组中, I&GD 组的脂肪主要反映性腺发育和基础代谢, I&nGD 组的脂肪主要反映基础代谢,而 A&nGD 组的脂肪主要消耗在基础代谢和运动耗能方面。因此,按如下公式可以计算出日本鳎在人工条件下,性腺发育期间各部分的脂肪需要量:

$$L_{BM} = (L_{WE} - L_{I\&nGD}) / L_{WE} \quad (1)$$

$$L_{GD} = (L_{WE} - L_{I\&GD} - L_{BM}) / L_{WE} \quad (2)$$

$$L_{SE} = (L_{WE} - L_{A\&nGD} - L_{BM}) / L_{WE} \quad (3)$$

其中: L_{BM} 为基础代谢所需脂肪量; L_{WE} 为野生鳎的脂肪总量; $L_{I\&nGD}$ 为 I&nGD 组的剩余脂肪量。通过公

式 (1) 和表 2 的脂肪总量,可以计算出基础代谢所需的脂肪量 (L_{BM}) 占总脂肪量的 34.68%。 L_{GD} 为性腺发育所需的脂肪量; $L_{I\&GD}$ 为 I&GD 组的剩余脂肪量。通过公式 (2) 和表 2 的脂肪总量,可以计算出性腺发育所需脂肪量 (L_{GD}) 占总脂肪量的 32.49%。 L_M 为鳎运动耗能所需的脂肪量; $L_{A\&nGD}$ 为 A&nGD 组的剩余脂肪量。通过公式 (3) 和表 2 的脂肪总量,可以计算出运动耗能所需脂肪量 (L_M) 占总脂肪量的 9.79%。剩余的 23.04% 的脂肪为繁殖结束后鳎肌肉内的剩余脂肪。

3 讨论

许多鱼类在性腺发育期间都会减少或停止摄食,其性腺发育所需的营养完全依赖于此前在体内储存和积累的内源性物质^[19-21]。尽管目前还没有直接证据表明,在自然状态下,日本鳎在性腺发育期间会停止摄食,但在人工条件下,日本鳎一旦进入海水,开始人工诱导性腺发育后,在长达 100 多天的性腺发育期是完全不摄食的^[1,7,11]。在此期间,它们的基础代谢、性腺发育以及游泳所需能量和营养物质均来自此前在淡水中积累在体内的内源物质。然而,到目前为止,肌肉脂肪作为日本鳎重要的内源物质之一,对在这 3 方面是如何分配的了解却非常有限。在本研究中,3 个实验组的肌肉总脂肪含量到实验结束时与对照组比较呈显著下降,说明日本鳎肌肉脂肪在性腺发育期间是重要的内源物质,满足了包括提供性腺发育所需的营养物质在内的各种需要。此外,在鱼类中,脂肪储存的部位主要是骨骼肌和肝脏。脂肪主要储存在肝脏中的鱼类被称为少脂肪鱼 (Lean fish),脂肪主要储存在骨骼肌中的鱼类被称为多脂肪鱼 (Fat fish)^[22]。日本鳎显然属于后者。而且,本研究中,3 个实验组的 HIS 在实验期间与对照组比较无显著变化,也从另一个侧面证明了这个结果。

3.1 几种重要脂肪酸与性腺发育的关系

虽然大多数在骨骼肌中含有丰富脂肪的鱼类,在它们的生殖期内,这些脂肪不仅要提供生殖洄游所需的能量,而且还要提供基础代谢和性腺发育所必须的物质^[20,21]。然而,不同的鱼肌肉中脂肪酸的功能是不完全相同的。在有些鱼类中,研究已经证明多不饱和脂肪酸,如: 20 5n-3 和 22 6n-3,与性腺的生理成熟有密切的关系^[23]。而在另一些鱼类中,骨骼肌中的 n-3 PUFA 与怀卵量、受精率和卵子质量有关^[24,25]。在本研究中,与对照组比较, SFA 的总

量在 3 个实验组中均呈现不同程度的下降,但就每一种 SFA 来讲,由于没有明显的变化规律,很难分别就它们与基础代谢,卵巢发育或游动耗能 3 方面进行相关性评估。然而,本研究注意到,MUFA 的 C16 1 酸和 C18 1 酸与雌鳗的运动无关,而与性腺发育和基础代谢有关。这一点与 Henderson 和 Pérez, *et al.* 在其他鱼类中获得的结果是一致的^[26]。

在许多鱼类中已经证明,骨骼肌中的 PUFA 是与繁殖有关的代谢能量源。而且,AA、EPA 和 DHA 是最重要的 3 种 PUFA^[24,25]。然而这 3 种脂肪酸的功能并不完全相同。AA 是鱼类卵子中类花生酸类物质 (Eicosanoids) 的前体,而类花生酸类物质主要参与调控鱼类的排卵^[27]。另一方面,EPA 通过酶系统竞争性的调控 AA 产生类花生酸类物质^[28]。因此,AA 与 EPA 的比例成为了影响鱼类排卵、卵子质量以及胚胎的后天发育关键性的营养因子^[29]。Furuita, *et al.* 的研究发现,日本鳗鲡不同质量的卵子,其脂肪酸的组成有显著的差异。当 AA/EPA 大于 0.7 时,卵子质量较低;当 AA/EPA 小于 0.46 时,卵子质量则较高^[30]。本研究中,由于测定的是肌肉中的脂肪酸,而不是卵子的脂肪酸,虽然结果发现 3 个实验组的 AA/EPA 均大于 0.7,但是否会影响到卵子质量,尚需进一步的研究。尽管如此,研究仍然发现 AA 在 3 个实验组的变化非常特殊,I&GD 组的 AA 与对照组比较无显著差异,但 I&nGD 组和 A&nGD 组,特别是 A&nGD 组,与对照组比较却有明显的差异。分析认为,日本鳗鲡肌肉中的 AA 含量与卵巢发育和雌鳗的不断游动有关。卵巢发育是一个消耗 AA 的过程,而游动是一个积累 AA 的过程。DHA 在鱼类的胚胎和幼苗发育阶段起着十分重要的作用,许多鱼类的卵中都含有丰富的 DHA^[31,32]。它不仅是形成细胞膜结构的主要成分,而且在细胞膜形成过程中起着关键性的生理调节作用。因此,DHA 在鱼类胚胎及幼苗发育过程中具有十分重要的生物学意义^[33]。在本研究中发现,日本鳗鲡肌肉中的 DHA 含量是相当高的,达到 (123.91 ± 7.29) mg/g 干肌肉重。同时,随着性腺发育大量的 DHA 又被消耗了,I&GD 组到实验结束时,肌肉中剩余 DHA 的含量只有 (10.59 ± 0.85) mg/g 干肌肉重。这与 Palstra, *et al.* 研究日本鳗鲡卵巢中的 DHA 含量迅速增加的结果是一致的^[13]。而且,本研究中 DHA 与 GSI 的相关性也证明了这个结果。因此,可以认为 DHA 在日本鳗鲡性腺发育及胚胎和

幼苗发育过程中都可能起着十分重要的作用。

3.2 日本鳗鲡在生殖洄游过程中的脂肪消耗

一般认为,鱼类的洄游可能会受到来自体内的和周围环境,如:温度、盐度、潮汐等诸多变化因子的影响^[34],鱼类在洄游过程中由于要克服这些变化因子所带来的影响,会消耗大量的内能 (Energy content)^[16]。Hickman 在对欧洲鳗鲡洄游的研究中也推测,由于要洄游 3000 海里以上,欧洲鳗鲡在生殖洄游期间,在不摄食的情况下,可能会消耗大量的内能来克服环境的变化^[35]。然而,本研究的结果却与我们预期的相差较大,日本鳗鲡消耗在游动中的脂肪只占总脂肪的 9.79%。这里必须说明的是,本研究中的实验条件并不能代表日本鳗鲡在自然界的真实状况。在自然界,日本鳗鲡在生殖洄游期间除了向前游动要耗内能外,在潮汐期间,它们还要做上下游动,以及将它们保持在一定水层,所有这些都需要消耗内能^[36]。除此之外,尽管鳗鲡有很强的渗透压调节能力,但研究同时也证明鳗鱼在克服盐度变化时也需要消耗大量的内能^[37,38]。幸运的是,根据本研究的计算,日本鳗鲡除了基础代谢、卵巢发育和游动耗能 3 方面消耗肌肉脂肪外,到产卵结束时,理论上肌肉中还会剩余约 23% 的脂肪。因此,完全有理由相信日本鳗鲡在不摄食的情况下,不仅能完成 2000 海里以上的生殖洄游,而且肌肉中有足够的脂肪来提供卵巢发育和基础代谢所必须的内源性营养。

参考文献:

- [1] Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, *et al.* Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica* [J]. *Fish Physiol. Biochem.*, 1997, 17: 163—169
- [2] Huang D M, Chang S Q. Exploring on the life cycle and artificial breeding of Japanese eel [J]. *Journal of Bioengineering*, 1997, 17(2): 3—12 [黄大明,陈世群. 鳗鲡的生活史和人工育苗技术探讨. 生物工程进展, 1997, 17(2): 3—12]
- [3] Xie G. Survey and prospect of studies on artificial propagation and rearing eel (*Anguilla japonica*) fry: a review [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2001, 16(1): 42—48 [谢刚. 鳗鲡苗种人工繁育的研究概况及其展望. 大连水产学院学报, 2001, 16(1): 42—48]
- [4] Tsukamoto K. Discovery of the spawning area for Japanese eel [J]. *Nature*, 1992, 356: 789—791
- [5] Tsukamoto K. Spawning of eels near a seamount [J]. *Nature*, 2006, 439: 929
- [6] Wang Y Q, Zhao C C, Shi Z F, *et al.* Studies on the artificial inducement of reproduction in common eel [J]. *Fish. China*, 1980, 4(2): 147—158 [王义强,赵长春,施正峰,等. 河鳗人

- 工繁殖的初步研究. 水产学报, 1980, 4(2): 147—158]
- [7] Liu L, Guo F, Zhang J M, *et al.* Artificial induction of ovulation in Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12 (1): 49—54 [柳凌, 郭峰, 张洁明, 等. 日本鳗鲡排卵的人工诱导. 中国水产科学, 2005, 21(1): 49—55]
- [8] Kagawa H, Tanaka H, Ohta H, *et al.* Induced ovulation by injection of 17, 20 α -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the artificially matured Japanese eel, with special reference to ovulation time [J]. *Fish. Sci.*, 1997, 63: 365—367
- [9] Tanaka H, Kagawa H, Ohta H, Production of leptocephali of Japanese eel (*Anguilla japonica*) in captivity [J]. *Aquaculture*, 2001, 201: 51—60
- [10] Tanaka H, Kagawa H, Ohta H, *et al.* The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture [J]. *Fish. Physiol. Biochem.*, 2003, 28: 493—497
- [11] Liu L, Zhang J M, Guo F, *et al.* Effects of renewal cultivation and renewal reproduction after spawning in Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, 11 (1): 54—58 [柳凌, 张洁明, 郭峰, 等. 日本鳗鲡人工催产后亲鱼恢复培养与再催产效果. 中国水产科学, 2004, 11(1): 54—58]
- [12] Xie J, Yu D G, Wang G J, *et al.* Spawning and development of embryo and larva in cultivated *Anguilla japonica* by artificial induction [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 29 (5): 688—694 [谢俊, 余德光, 王广军, 等. 人工诱导池塘养殖鳗鲡成熟产卵以及胚胎和仔鱼发育. 水产学报, 2005, 29 (5): 688—694]
- [13] Palstra A, Curiel D, Fekkes M, *et al.* Swimming stimulates oocyte development in European eel [J]. *Aquaculture*, 2007, 270: 321—332
- [14] Larsson P, Hamrin S, Okla L, Fat content as a factor inducing migratory behaviour in the eel (*Anguilla anguilla*) to the Sargasso Sea [J]. *Naturwissenschaften*, 1990, 77: 488—490
- [15] Van Ginneken V J T, van den Thillart G E E J M. Eel fat stores are enough to reach the Sargasso [J]. *Nature*, 2000, 403: 156—157
- [16] Van den Thillart G, van Ginneken V, Kemer F, *et al.* Endurance swimming of European eel [J]. *J. Fish Biol.*, 2004, 65: 1—7
- [17] Horwitz W. Methods of Analysis, 13th ed [M]. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. 1980, 149
- [18] Christie W W. Lipid Analysis, 2nd ed [M]. Pergamon Press, Oxford. 1982, 209
- [19] Chang Q, Liang M Q, Chen S Q, *et al.* Changes in amino acid and fatty acid composition during development in Tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) eggs and larvae [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, 31 (6): 767—773 [常青, 梁萌青, 陈四清, 等. 半滑舌鲷受精卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼氨基酸及脂肪酸的变化. 水生生物学报, 2007, 31(6): 767—773]
- [20] Jobling M, Johansen S J S, Foshaug H, *et al.* Lipid dynamics in anadromous Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): seasonal variations in lipid storage depots and lipid class composition [J]. *Fish. Physiol. Biochem.*, 1998, 18: 225—240
- [21] Saether B S, Johnsen H K, Jobling M. Seasonal changes in food composition and growth of Arctic charr exposed to either simulated natural or a 12/12 LD photoperiod at constant water temperature [J]. *J. Fish Biol.*, 1996, 48: 1113—1122
- [22] Weatherley A H, Gill H S. The Biology of Fish Growth [M]. Academic Press, London, UK. 1987, 443—445
- [23] Mourente G, Odriozola J M, Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. *Fish. Physiol. Biochem.*, 1990, 8: 93—101
- [24] Harel M, Tandler A, Kissil G W. The kinetics on nutrient incorporation into body tissues of gilthead seabream (*Sparus aurata*) females and the subsequent effects on egg composition and egg quality [J]. *Br. J. Nutr.*, 1994, 72: 45—48
- [25] Navas J M, Bruce M, Thrush M, *et al.* The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *J. Fish Biol.*, 1997, 57: 760—773
- [26] Pérez M J, Rodríguez C, Cejas J R, *et al.* Lipid and fatty acid content in wild white seabream (*Diplodus sargus*) broodstock at different stages of the reproductive cycle [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2007, 146(B): 187—196
- [27] Bell J G, Tocher D R, Sargent J R. Effect of supplementation with 20:3(n-6), 20:4(n-6) and 20:5(n-3) on the production of prostaglandins E and F of the 1-, 2- and 3-series in turbot (*Scophthalmus maximus*) brain astroglial cell in primary culture [J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1994, 1211: 335—342
- [28] Mustafa T, Srivastava K C. Prostaglandins (eicosanoids) and their role in ectothermic organisms [J]. *Adv. Comp. Environ. Physiol.*, 1989, 5: 157—207
- [29] Palstra A, Curiel D, Fekkes M, *et al.* Swimming stimulates oocyte development in European eel [J]. *Aquaculture*, 2007, 270: 321—332
- [30] Funita H, Unuma T, Nomura K, *et al.* Lipid and fatty acid composition of eggs producing larvae with high survival rate in the Japanese eel *Anguilla japonica* [J]. *T. & S. J. Fish Biol.*, 2006, 69: 1178—1189
- [31] Tocher D R, Fraser A J, Sargent J R, *et al.* Fatty acid composition of phospholipids and neutral lipids during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus* L.) [J]. *Lipids*, 1985, 20: 69—74
- [32] Wu Z Q, Wang J W, Chang J B, *et al.* Fatty acid composition of *Gobiocypris rarus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26 (4): 388—392 [吴志强, 王剑伟, 常剑波, 等. 稀有鮎鲫的脂肪酸组成. 水生生物学报, 2002, 26(4): 388—392]
- [33] Watanabe T. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish [J]. *J. World Aquac. Soc.*, 1993, 24: 152—161
- [34] Azevedo P A, Leeson S, Cho C Y, *et al.* Growth, nitrogen and energy utilization of juveniles from four salmonid species: diet, species and size effects [J]. *Aquaculture*, 2004, 234 (4): 393—414

- [35] Hickman R A. Densities and swimbladder development of juvenile *Anguilla anguilla* as related to energetics of migration [J]. *J Fish Biol*, 1981, **18**: 507—517
- [36] Forward Jr R B, Tankersley R A. Selective tidal-stream transport of marine animals [J]. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev*, 2001, **39**: 305—353
- [37] Ciccotti E, Macchi E, Rossi A, *et al*. Glass eel (*Anguilla anguilla*) acclimation to freshwater and seawater: morphological changes of the digestive tract [J]. *J Appl Ichthyol*, 1993, **9**: 74—81
- [38] Crean S R, Dick J T A, Evans D W, *et al*. Survival of juveniles European eels (*Anguilla anguilla*), transferred among salinities, and developmental shifts in their salinity preference [J]. *J Zool Res (London)*, 2005, **266**: 11—14

COMPOSITION AND METABOLIZING OF LIPIDS AND FATTY ACIDS IN MUSCLE OF FEMALE *ANGUILLA JAPONICA* DURING THE PERIOD OF ARTIFICIAL INDUCING OVARIAN MATURATION

LIU Ling, LI Rong, ZHANG Jie-Ming, GUO Feng and ZHANG Tao

(Key Lab of Freshwater Fish Germplasm Resources and Biotechnology, Ministry of Agriculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Jingzhou, 434000 China)

Abstract: This experiment adopted three methods (IGD, IGD and AIGD) to treat the females of Japanese eel. After being treated, the biological data of female, which related with their gonadal development, were investigated and the changes of fatty acids in their muscle were measured by gas liquid chromatography. The purpose of this study is try to discuss the lipid consumptions for gonadal development, basal metabolism and migration fuel during spawning migration, as well as the relationship between gonadal development and fatty acids consumption in the period of artificial inducing gonadal maturation, in order to provide referenced foundation for future studies on artificial propagation in Japanese eel. The results indicated that the body weight of females came through a course of gradual downward trend before the 10 injection and rapid rise at the beginning of spawning, which was called hydration, as well as the lipids of muscle tissue were necessary not only for gonadal development, but also for basal metabolism and migration energies in Japanese eels during the spawning migration. In this study, 17 fatty acids were detected in muscle tissues of females, including 7 SFA, 2 MUFA and 8 PUFA. Among them, there were only two kinds of MUFA, but their total levels were higher and reached at 38.02 percent of total lipids. Their consumptions were related with gonadal development and basal metabolism, unrelated to the energy for swimming. Among 8 PUFA, the changes of AA in three treated groups were very special. It was a dynamic course of accumulation and consumption in muscle tissue of Japanese eel during the period of experiment and the accumulation was related with the swimming of females. The more the females swam, the more AA was accumulated in muscle tissues. DHA levels of muscle tissues in Japanese eels were the highest, its change was remarkably different between treated groups and its level in control reached up to (123.91 ± 7.29) mg/g DMW, accounting for 32.52 percent of total lipids. However, its level in IGD group dropped at (10.59 ± 0.85) mg/g DMW at the end of experiment. Relativity analyses indicated that the relativities between GSI and the levels of total lipids, PUFA, DHA and EPA were all showed in some extent negative relativities, but the closest factor was DHA, $r = -0.952$ ($P < 0.01$, $n = 5$), the most distant one was EPA, $r = -0.882$ ($P < 0.05$, $n = 5$). Therefore, it was indicated that DHA was the most important fatty acid during the period of gonadal development in Japanese eel. Analyzing for energy distribution considered that the lipid consumption for basal metabolism (L_{BM}) accounted for 34.68% of total lipids, gonadal development (L_{GD}) accounted for 32.94% and swimming energy (L_{SE}) accounted for 9.79%. After finished spawning, the muscle of females was also reserved 23.04% of total lipids. Therefore, it can be undoubted that Japanese eels not only can provide enough energy to finish the spawning migration so far as over 2000 sea miles but also make the gonadal normal development without intake any food.

Key words: Lipids; Fatty acids; Muscle tissue; Gonadal development; Female; *Anguilla japonica*