

硬头鳟受精卵、发眼卵、卵黄囊仔鱼 和开口仔鱼氨基酸及脂肪酸的变化

徐绍刚 田照辉 王跃智 马国庆 杨贵强 杨晓飞

(北京市水产科学研究所, 国家淡水渔业工程技术研究中心, 北京 100068)

AMINO ACID AND FATTY ACID PROFILES IN EARLY STAGES OF EGG AND LARVAE OF STEELHEAD TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

XU Shao-Gang, TIAN Zhao-Hui, WANG Yue-Zhi, MA Guo-Qing, YANG Gui-Qiang and YANG Xiao-Fei

(National Engineering Research Center for Freshwater Fisheries (Beijing) and Beijing Fisheries Research Institute,
Beijing 100068, China)

关键词: 硬头鳟; 氨基酸; 脂肪酸; 卵; 仔鱼

Key words: Steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*); Amino acid; Fatty acid; Egg; Larvae

中图分类号: S965.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2011)06-1032-06

硬头鳟为大麻哈鱼属, 原产于美国阿拉斯加的Kuskokwin 河和加拿大不列颠哥伦比亚省的和平河等水域, 为洄游性、广盐性冷水鱼类, 在淡水至盐度为 10‰的水体中均可良好生存和生长, 可生存在水温 0—22℃的水域环境中, 最适生长水温 10—18℃, 是欧美诸国游钓的主要对象之一^[1]。由于基因工程和驯化手段不断完善, 硬头鳟可以在淡水中集约化养殖。其生长速度、肉味肉质、抗病力、适应力均超过野生和养殖的同科其他鱼类, 15 个月生长期, 体重可达 2 kg。近年来硬头鳟自然产量逐年降低, 产品供不应求, 日本、美国、加拿大、法国和英国等国家都已开始进行硬头鳟人工养殖。我国于 1998 年引进硬头鳟, 由于经济效益突出, 近几年在我国各省逐步推广。对该品种的研究主要有苗种培育技术、红血细胞核的尺度和类型转换、诱导三倍体、细胞体外培养、重金属的急性毒性实验等^[1—5], 在受精卵孵化期间的氨基酸、脂肪酸的消耗规律方面尚未见报道。

不同鱼类受精卵的生化组成各不相同, 受精卵孵化过程中其主要成分(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^[6]。鱼类胚胎

和仔鱼的质量同卵子的生化组成密切相关^[7—9], 鱼类仔鱼发育中的代谢能力与开口时营养需求量密切相关。研究冷水性鱼类在胚胎期和开口摄食之前营养物质消耗有助于确定开口摄食仔鱼的营养需要量^[10—12]。本试验通过分析硬头鳟在受精卵阶段、发眼卵阶段、仔鱼卵黄囊期及仔鱼开口阶段的氨基酸及脂肪酸组成和含量的变化, 了解其受精卵发育过程中氨基酸和脂肪酸的代谢特性, 旨在为探索硬头鳟受精卵发育阶段氨基酸及脂肪酸的代谢机制提供基础资料和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

硬头鳟受精卵、发眼卵和仔鱼取自北京水产科学研究所冷水鱼基地, 为人工培育的亲鱼经过人工授精产卵所得和同一批卵所孵化的仔鱼。将人工授精所得卵放入孵化桶中流水孵化, 流量为 1.3 L/min, 孵化温度为 6.5—7.0℃。受精卵发眼后剔除死卵重新计数, 发眼卵消毒后移入孵化槽内继续流水孵化至出膜, 孵化出的仔鱼暂养于孵化槽内, 暂养密度为 6000 尾/m², 水温为

收稿日期: 2010-09-06; 修订日期: 2011-06-30

基金项目: 北京市科学技术委员会农业科技成果转化专项项目 Z080005032508019 资助

作者简介: 徐绍刚(1973—), 男, 辽宁人; 工程师; 研究方向为鱼类繁育。E-mail: xushaogang@bjfishery.com

通讯作者: 田照辉(1973—), 女, 高工, 研究方向为鱼类繁育。E-mail: zh1973@126.com

(7 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 。仔鱼孵出后水温达到 320—360 度·日时开始上浮, 投喂智利 SALMOFOOD 公司生产的 0 号开口饲料, 2h/次, 日投喂 7 次。在孵化的第 1 天(产卵后 2—4h), 取 15 g 受精卵。孵化至 25 天出现眼点后取发眼卵 15 g, 孵出后第 3 天取 15 g 卵黄囊仔鱼。在仔鱼上浮开口后第 3 天, 取 15 g 开口摄食仔鱼。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, 液氮冷冻, -80°C 保存, 每份样品均有 3 个平行。

1.2 水分测定

检测方法采用 GB/T6435-2006。

1.3 氨基酸的测定

检验方法采用 GB/T18246-2000, 色氨酸以 4.2 mol/L 的 NaOH 水解; 以过甲酸氧化法处理测定胱氨酸; 其余氨基酸样品以 6 mol/L 的 HCL110 $^{\circ}\text{C}$ 封管水解 24h 之后, 利用日立 L-8900 型氨基酸分析仪进行测试。

1.4 游离氨基酸的测定

检验方法采用 GB/T18246-2000, 称量样品并移入

50 mL 容量瓶中, 用 3% 磺基水酸溶液溶解样品并定容摇匀样品溶液后过滤、离心、上机, 用日立 L-8900 型氨基酸分析仪进行测试。

1.5 脂肪酸的测定

检测方法依据 GB/21514-2008, 使用日本岛津 GC-14C 气相色谱仪测定。

1.6 数据统计处理

采用 SPSS11.5 软件, 进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 Duncan 多重比较, 显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 氨基酸组成

水解氨基酸组成 受精卵、发眼卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼所包含的 9 种必需氨基酸和 9 种非必需氨基酸的含量列于表 1, 从受精卵到开口仔鱼四个时期, 水解总氨基酸的含量分别为 24.24、20.92、13.38、9.81 g/100 g, 呈显著下降($P<0.05$)趋势。必需氨基酸的含量从受精卵发育

表 1 水解氨基酸含量的变化
Tab. 1 Changes in total amino acid content (g/100 g)

氨基酸 Amino acid	受精卵 Fertilized egg	发眼卵 Eyed egg	卵黄囊仔鱼 Yolk sac larvae	开口仔鱼 First-feeding larvae
必需氨基酸 Essential				
缬氨酸 Val	1.75 $\pm$ 0.03 ^a	1.55 $\pm$ 0.55 ^b	0.84 $\pm$ 0.02 ^c	0.53 $\pm$ 0.03 ^d
蛋氨酸 Met	0.71 $\pm$ 0.01 ^a	0.58 $\pm$ 0.02 ^b	0.42 $\pm$ 0.03 ^c	0.29 $\pm$ 0.04 ^d
异亮氨酸 Ile	1.15 $\pm$ 0.01 ^a	1.01 $\pm$ 0.02 ^b	0.58 $\pm$ 0.01 ^c	0.37 $\pm$ 0.03 ^d
亮氨酸 Leu	2.44 $\pm$ 0.01 ^a	2.14 $\pm$ 0.04 ^b	1.24 $\pm$ 0.02 ^c	0.71 $\pm$ 0.11 ^d
苯丙氨酸 Phe	1.25 $\pm$ 0.01 ^a	1.09 $\pm$ 0.01 ^b	0.66 $\pm$ 0.01 ^c	0.39 $\pm$ 0.02 ^d
赖氨酸 Lys	1.96 $\pm$ 0.01 ^a	1.72 $\pm$ 0.05 ^b	1.17 $\pm$ 0.01 ^c	0.85 $\pm$ 0.01 ^d
组氨酸 His	0.61 $\pm$ 0.01 ^a	0.54 $\pm$ 0.01 ^b	0.37 $\pm$ 0.01 ^c	0.28 $\pm$ 0.01 ^d
精氨酸 Arg	1.50 $\pm$ 0.01 ^a	1.29 $\pm$ 0.02 ^b	0.84 $\pm$ 0.01 ^c	0.65 $\pm$ 0.02 ^d
苏氨酸 Thr	1.13 $\pm$ 0.01 ^a	0.96 $\pm$ 0.02 ^b	0.63 $\pm$ 0.01 ^c	0.48 $\pm$ 0.02 ^d
非必需氨基酸 Non-essential				
天冬氨酸 Asp	2.27 $\pm$ 0.01 ^a	1.95 $\pm$ 0.01 ^b	1.28 $\pm$ 0.02 ^c	1.06 $\pm$ 0.05 ^d
脯氨酸 Pro	1.12 $\pm$ 0.00 ^a	0.95 $\pm$ 0.00 ^b	0.54 $\pm$ 0.02 ^c	0.39 $\pm$ 0.02 ^d
丙氨酸 Ala	2.16 $\pm$ 0.03 ^a	1.90 $\pm$ 0.03 ^b	1.01 $\pm$ 0.01 ^c	0.62 $\pm$ 0.03 ^d
酪氨酸 Tyr	1.08 $\pm$ 0.02 ^a	0.91 $\pm$ 0.01 ^b	0.66 $\pm$ 0.01 ^c	0.36 $\pm$ 0.03 ^d
甘氨酸 Gly	0.49 $\pm$ 0.01 ^a	0.42 $\pm$ 0.00 ^b	0.49 $\pm$ 0.01 ^a	0.64 $\pm$ 0.03 ^c
胱氨酸 Cys	0.25 $\pm$ 0.00 ^a	0.20 $\pm$ 0.01 ^b	0.08 $\pm$ 0.00 ^c	0.07 $\pm$ 0.00 ^d
丝氨酸 Ser	1.43 $\pm$ 0.02 ^a	1.20 $\pm$ 0.02 ^b	0.71 $\pm$ 0.02 ^c	0.48 $\pm$ 0.02 ^d
谷氨酸 Glu	2.87 $\pm$ 0.01 ^a	2.42 $\pm$ 0.04 ^b	1.78 $\pm$ 0.03 ^c	1.57 $\pm$ 0.07 ^d
色氨酸 Trp	0.06 $\pm$ 0.00 ^a	0.09 $\pm$ 0.00 ^b	0.08 $\pm$ 0.01 ^c	0.08 $\pm$ 0.00 ^c
必需氨基酸总和 Sum essential	12.50 $\pm$ 0.07 ^a	10.88 $\pm$ 0.20 ^b	6.75 $\pm$ 0.10 ^c	4.55 $\pm$ 0.02 ^d
非必需氨基酸总和 Sum non-essential	11.73 $\pm$ 0.04 ^a	10.04 $\pm$ 0.08 ^b	6.62 $\pm$ 0.09 ^c	5.27 $\pm$ 0.17 ^d
总和 Sum total amino acid	24.24 $\pm$ 0.11 ^a	20.92 $\pm$ 0.27 ^b	13.38 $\pm$ 0.18 ^c	9.81 $\pm$ 0.18 ^d

注: *表中数据为平均值 $\pm$ 标准差; 不同的上标字母表示差异显著($P<0.05$); 表 2、3 同

Note: *Data are shown as mean $\pm$ S.D ($n=3$); Means with different super-scripts have significant differences($P<0.05$); the same as follow

到开口仔鱼含量同样显著下降($P<0.05$);在非必需氨基酸中,从受精卵发育到开口仔鱼,除了色氨酸和甘氨酸以外,其他几种非必需氨基酸含量也都显著下降($P<0.05$),甘氨酸的含量从受精卵到发眼卵稍有下降,而从发眼卵发育到开口仔鱼含量增加,色氨酸的含量很少,发眼卵含量稍高,几个时期含量变化不大。

在每一个发育时期,水解必需氨基酸总和与非必需氨基酸总和大致相当,在前三个发育阶段必需氨基酸总量稍高于非必需氨基酸的含量,开口仔鱼必需氨基酸含量低于非必需氨基酸。四个发育阶段非必需氨基酸中谷氨酸的含量总是最高,其次是天冬氨酸,并且谷氨酸是所有氨基酸中含量最高的;必需氨基酸中含量高的是亮氨酸和赖氨酸。从卵黄囊期仔鱼到开口仔鱼丙氨酸含量下降最快,其次是亮氨酸。

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。从受精卵到开口仔鱼,游离必需氨基酸含量分别为 0.083、0.130、1.393、0.789 g/100 g,

游离非必需氨基酸总和分别为 0.276、0.235、1.033、0.767 g/100 g,四时期变化显著($P<0.05$)。从受精卵到发眼卵游离氨基酸少数略有降低,基本是略有增加,但从发眼卵到卵黄囊期仔鱼游离氨基酸急剧增加,到开口仔鱼急剧下降:游离氨基酸中必需氨基酸含量除蛋氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸外,受精卵和发眼卵的含量没有显著变化,从受精卵到卵黄囊期仔鱼,含量急剧增加,而卵黄囊期仔鱼到开口仔鱼又稍有下降,但都有显著性差异($P<0.05$);非必需氨基酸除甘氨酸、丝氨酸外受精卵和发眼卵时期的含量变化不显著,其他氨基酸各时期变化显著($P<0.05$),并且具有共同的特点:前两个时期差距较小,卵黄囊期仔鱼含量剧增达到最高,之后到开口仔鱼含量缓慢降低。

从受精卵到开口仔鱼四个时期,游离氨基酸总和分别为 0.359、0.365、2.427、1.556 g/100 g,游离氨基酸总和与水解氨基酸总和比值 1.48%、1.74%、18.14%、15.86%。四个时期的游离氨基酸总和与水解氨基酸总和比值,受精卵期和发眼卵时期差异不显著,卵黄囊期仔鱼期较前

表 2 游离氨基酸含量的变化
Tab. 2 Changes in total free amino acid content (g/100 g)

氨基酸 Amino acid	受精卵 Fertilized egg	发眼卵 Eyed egg	卵黄囊仔鱼 Yolk sac Larvae	开口仔鱼 First-feeding larvae
必需氨基酸 Essential				
缬氨酸 Val	0.011±0.001 ^a	0.018±0.001 ^a	0.183±0.006 ^b	0.102±0.001 ^c
蛋氨酸 Met	0.007±0.001 ^a	0.016±0.001 ^b	0.080±0.000 ^c	0.064±0.002 ^d
异亮氨酸 Ile	0.006±0.001 ^a	0.017±0.001 ^b	0.103±0.006 ^c	0.062±0.001 ^d
亮氨酸 Leu	0.011±0.000 ^a	0.017±0.001 ^a	0.223±0.006 ^b	0.147±0.002 ^c
苯丙氨酸 Phe	0.008±0.001 ^a	0.019±0.001 ^b	0.127±0.006 ^c	0.096±0.001 ^d
赖氨酸 Lys	0.010±0.001 ^a	0.015±0.001 ^a	0.150±0.010 ^b	0.111±0.001 ^c
组氨酸 His	0.006±0.001 ^a	0.011±0.001 ^a	0.103±0.006 ^b	0.086±0.001 ^c
精氨酸 Arg	0.003±0.001 ^a	0.000±0.000 ^a	0.217±0.006 ^b	0.020±0.001 ^c
苏氨酸 Thr	0.020±0.001 ^a	0.017±0.002 ^a	0.207±0.006 ^b	0.102±0.001 ^c
必需氨基酸总和 Sum essential	0.083±0.006 ^a	0.130±0.003 ^b	1.393±0.035 ^c	0.789±0.009 ^d
非必需氨基酸 Non-essential				
天冬氨酸 Asp	0.076±0.002 ^a	0.021±0.001 ^b	0.043±0.006 ^c	0.00±0.00 ^d
脯氨酸 Pro	0.049±0.001 ^a	0.000 ^b	0.113±0.001 ^c	0.096±0.001 ^d
丙氨酸 Ala	0.019±0.002 ^a	0.076±0.003 ^b	0.237±0.012 ^c	0.216±0.002 ^d
酪氨酸 Tyr	0.009±0.001 ^a	0.032±0.001 ^b	0.110±0.010 ^c	0.051±0.002 ^d
甘氨酸 Gly	0.005±0.000 ^a	0.007±0.001 ^a	0.113±0.006 ^b	0.142±0.001 ^c
胱氨酸 Cys	—	—	—	—
丝氨酸 Ser	0.018±0.001 ^a	0.017±0.001 ^a	0.180±0.010 ^b	0.045±0.001 ^c
谷氨酸 Glu	0.100±0.001 ^a	0.082±0.002 ^b	0.237±0.006 ^c	0.217±0.001 ^d
色氨酸 Trp	—	—	—	—
非必需氨基酸总和 Sum non-essential	0.276±0.000 ^a	0.235±0.003 ^b	1.033±0.023 ^c	0.767±0.005 ^d
氨基酸总和 Total amino acid	0.359±0.006 ^a	0.365±0.006 ^a	2.427±0.021 ^b	1.556±0.014 ^c
游离氨基酸/水解氨基酸 Sum free amino acids/Sum total amino acids ratio (%)	1.48±0.03 ^a	1.74±0.05 ^a	18.14±0.32 ^b	15.86±0.36 ^c

两个时期急剧升高达到最大值, 卵黄囊期仔鱼期至开口仔鱼期明显下降, 差异显著。

2.2 脂肪酸组成

硬头鲂不同发育阶段的脂肪酸组成变化(表 3)。由表 3 可见, 硬头鲂脂肪酸含量最高为多不饱和脂肪酸(PUFA), 占脂肪酸总量的 62.20%—65.11%, 其中含量最高为 C22:6n3 和 C18:2n6c, 含量分别占总脂肪酸的 22.95%—33.36%和 16.40%—23.01%, 变化也最为剧烈; 饱和脂肪酸总量(Σ SFA)与单不饱和脂肪酸总量(Σ MUFA)相差不多, 保持在 16.05%—19.98%之间。SFA 中 C16:0 含量最高 C18:0 次之, 上述两种脂肪酸占 SFA 总量的 97.74%, MUFA 中 C18:1n9c 的含量高于其他单不饱和脂肪酸含量的 10 倍以上; ω 6 系列脂肪酸占总脂肪酸含量的 30.40%—35.17%, ω 3 系列脂肪酸占总脂肪酸含量的 24.65%—38.39%, Σ n-6 变化剧烈程度大于 Σ n-3。四个发育阶段除 C14:0、C20:5n3、C24:1n9 外, 其余单个脂肪酸含量以及 Σ SFA、 Σ MUFA、 Σ PUFA、 Σ n-6、 Σ n-3 由高到低依次为发眼卵、受精卵、卵黄囊期仔鱼、开口仔鱼, 并且差异显著($P<0.05$), 脂肪酸含量变化规律为从受精卵到发眼卵含量缓慢上升, 从发眼卵到卵黄囊期仔鱼含量急剧下降, 卵黄囊期仔鱼到开口仔鱼仍然快速下降到最低点。C14:0 也呈现受精卵到发眼卵含量上升, 发育到卵黄囊期仔鱼降低的特点, 而卵黄囊期仔鱼发育到开口仔鱼含量

没有变化。受精卵和卵黄囊期仔鱼不含 C20:5n3, 发眼卵和开口仔鱼 C20:5n3 含量也极低, 两个时期差异显著($P<0.05$)。四个时期 C24:1n9 含量较低, 其中受精卵、卵黄囊期仔鱼、开口仔鱼含量相同为 0.2 g/kg, 发眼卵、仔鱼含量稍低为 0.1 g/kg。

3 讨论

有学者已通过测定发育中的卵及开口仔鱼中氨基酸及脂肪酸的浓度变化, 或者给开口仔鱼投喂已知营养成分组成的活饵料或配合饲料, 再测定营养物质在仔鱼体内的转运和生长特性, 确定了部分种类不饱和脂肪酸的需要量^[13, 14]及部分种类氨基酸的需要量^[15, 16]。

3.1 硬头鲂鱼卵和仔鱼氨基酸组成

鱼肉蛋白质氨基酸组成和鱼类对氨基酸的营养需要量密切相关^[17], 因此对该鱼类的营养需求尚未研究清楚之前, 在实践中可以采用鱼肉氨基酸组成指标作为鱼类必须氨基酸需要量指导, 能收到较好的效果。

本次试验系统地测定了硬头鲂从受精卵到开口仔鱼四个时期的水解氨基酸和游离必需氨基酸的含量。硬头鲂从受精卵到开口仔鱼四个时期, 水解必需氨基酸总和、水解非必需氨基酸总和、水解总氨基酸含量分别下降了 63.6%、55.1%、59.5%。这在半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)、突吻雪鲈(*Maccullochella macquariensis*)和虫纹

表 3 硬头鲂脂肪酸组成变化
Tab. 3 Changes in lipid fatty acid content (g/kg)

脂肪酸 Fatty acid	受精卵 Fertilized egg	发眼卵 Eyed egg	卵黄囊仔鱼 Yolk sac Larvae	开口仔鱼 First-feeding larvae
C14:0	0.30±0.01 ^a	0.4±0.01 ^b	0.20±0.00 ^c	0.20±0.01 ^c
C16:0	8.69±0.17 ^a	10.09±0.14 ^b	6.50±0.15 ^c	3.20±0.07 ^d
C16:1n7	1.20±0.02 ^a	1.50±0.02 ^b	0.80±0.02 ^c	0.40±0.01 ^d
C18:0	4.30±0.08 ^a	5.20±0.07 ^b	3.0±0.07 ^c	1.40±0.04 ^d
C18:1n9c	11.66±0.24 ^a	15.51±0.22 ^b	7.60±0.18 ^c	3.38±0.08 ^d
C18:2n6c	15.30±0.30 ^a	20.28±0.29 ^b	9.21±0.22 ^c	4.17±0.10 ^d
C18:3n6	0.70±0.01 ^a	1.0±0.01 ^b	0.40±0.01 ^c	0.10±0.00 ^d
C18:3n3	1.10±0.02 ^a	1.40±0.02 ^b	0.70±0.02 ^c	0.50±0.01 ^d
C20:1	0.40±0.01 ^a	0.50±0.01 ^b	0.30±0.01 ^c	0.10±0.00 ^d
C20:2	1.70±0.03 ^a	2.10±0.03 ^b	1.00±0.02 ^c	0.30±0.01 ^d
C20:3n6	2.80±0.05 ^a	3.20±0.05 ^b	1.80±0.04 ^c	0.50±0.01 ^d
C20:4n6	4.60±0.09 ^a	6.50±0.09 ^b	3.90±0.09 ^c	1.70±0.04 ^d
C20:5n3	0.00±0.00 ^a	0.10±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.80±0.02 ^c
C22:6n3	18.37±0.36 ^a	20.22±0.28 ^b	14.74±0.45 ^c	8.45±0.19 ^d
C24:1n9	0.20±0.00 ^a	0.10±0.00 ^b	0.20±0.00 ^a	0.20±0.01 ^a
Σ SFA	13.29±0.26 ^a	15.70±0.22 ^b	9.71±0.22 ^c	4.79±0.11 ^d
Σ MUFA	13.46±0.27 ^a	17.61±0.25 ^b	8.90±0.21 ^c	4.08±0.09 ^d
Σ PUFA	44.57±0.86 ^a	54.81±0.76 ^b	31.75±0.79 ^c	16.55±0.36 ^d
Σ n-6	23.40±0.45 ^a	30.99±0.43 ^b	15.31±0.36 ^c	6.48±0.14 ^d
Σ n-3	19.47±0.38 ^a	21.72±0.30 ^b	15.44±0.46 ^c	9.76±0.21 ^d

雪鲈 (*Maccullochella peelii*)^[16] 以及在大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[18] 中也有类似的报道。在水解非必需氨基酸中, 从受精卵发育到开口仔鱼, 除了色氨酸和甘氨酸以外, 其他几种非必需氨基酸含量显著下降 ($P < 0.05$)。

在硬头鲂受精卵中游离氨基酸含量为总氨基酸含量的 1.48%, 这与海洋鱼类浮性卵的游离氨基酸含量为总氨基酸含量的 20%—50%^[19] 相差很大, 海洋鱼类沉性卵游离氨基酸的含量为总氨基酸含量的 2%—3%^[20], 淡水鱼类受精卵游离氨基酸与总氨基酸含量的比值小于 5%^[16], 与本实验接近。游离氨基酸总量分别为 0.359、0.365、2.427、1.556 g/100 g, 受精卵发育至发眼卵过程中除精氨酸、苏氨酸等少量种类含量下降外, 其余游离氨基酸种类含量略有增加, 发眼卵发育至卵黄囊仔鱼阶段各游离氨基酸含量急剧增加, 精氨酸含量增加相对量最多, 由 0 增加至 0.207 g/100 g, 增加量最少的 (除胱氨酸、色氨酸一直没有检出外) 天冬氨酸增加了 105%, 到开口仔鱼又急剧下降, 这与半滑舌鳎受精卵至开口仔鱼游离氨基酸的变化规律差异较大, 半滑舌鳎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)^[21]。大西洋鲑鱼卵和初孵仔鱼的总氨基酸含量下降, 游离氨基酸含量显著增加^[18], 与本实验研究的结果一致。

硬头鲂受精卵至开口仔鱼游离氨基酸总和与水解氨基酸总和比值分别为 1.48%、1.74%、18.14%、15.86%, 呈现出逐步升高又急剧下降的趋势。这与常青等^[21] 对半滑舌鳎、Brown, *et al.*^[22] 对六带牙鲷 (*Pelates sexlineatus*) 的研究结果截然相反。海水仔鱼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^[20]。由此可见, 硬头鲂受精卵发育到开口仔鱼期间其游离氨基酸的消耗机制与海水鱼类完全不同。

硬头鲂受精卵在发育过程中水解氨基酸一直在降低, 在仔鱼开口后, 游离氨基酸库迅速降低, 一方面是因为胚胎和仔鱼需要消耗大量氨基酸促进各器官迅速发育, 一方面作为能源消耗。对于仔鱼开口饲料参考而言, 从卵黄囊期仔鱼到开口仔鱼氨基酸的变化更有意义: 从卵黄囊期仔鱼到开口仔鱼水解氨基酸含量下降最快的是亮氨酸, 其次是赖氨酸、缬氨酸和酪氨酸, 总必需氨基酸的下降程度远高于非必需氨基酸; 从卵黄囊期仔鱼到开口仔鱼游离氨基酸含量下降最快的是苏氨酸, 其后依次是缬氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、赖氨酸, 同样必需氨基酸含量降低程度远高于非必需氨基酸。Rnnestad, *et al.*^[19] 建议在早期仔鱼饲料中应该有相当比例的氨基酸。因此, 在硬头鲂仔鱼的开口饵料中添加一定水平的氨基酸尤其是

必需氨基酸很有必要。

3.2 脂肪酸

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^[23]。本试验测定的饱和脂肪酸中 C16:0 含量最高, C18:0 次之, 单不饱和脂肪酸中 C18:1n9c 的含量明显高于其他单不饱和脂肪酸的含量, 与 Sheridan M A, *et al.*^[24] 对硬头鲂 parr 时期的测定结果一致。

由表 3 可明显看出, 硬头鲂在发育的早期利用 PUFA 的程度最高, 其次为 MUFA, SFA 利用程度最低。在 PUFA 中 $\omega 6$ 系列脂肪酸利用程度高于 $\omega 3$ 系列脂肪酸。就单个脂肪酸而言, 受精卵发育到开口仔鱼, C22:6n3(DHA)、亚油酸 C18:2n6c、C18:1n9c、C16:0、C20:4n6、C18:0 的含量明显高于其他脂肪酸, 占总脂肪酸含量的 88.3% 以上, 消耗程度相应也是最高的。冷水鱼虹鳟型的必须脂肪酸为 $\omega 3$ 系列, 在本实验中 $\omega 6$ 系列多不饱和脂肪酸含量最高并且变化最大。因此保证鱼卵中和饲料中 $\omega 3$ 和 $\omega 6$ 系列多不饱和脂肪酸含量对硬头鲂胚胎发育和仔鱼成活具有重要意义。C18:2n6c、C22:6n3 的含量在发眼卵、卵黄囊仔鱼和开口仔鱼之间呈现急剧下降趋势, 其下降幅度明显高于其他脂肪酸, 这有可能表明它们被利用作为能源或者进行碳链延长、去饱和合成更高长链的高不饱和的脂肪酸 (HUFA)。

硬头鲂 20 碳的多不饱和脂肪酸含量较低, 占总脂肪酸含量的 12.59%—13.50%, 其中 C20:5n3(EPA) 在卵黄囊仔鱼前为微量, 只有到开口仔鱼期才略有上升。这表明 EPA 不可能被作为主要能源或者作为 c22:5n3 的前体, 进一步去饱和合成 DHA。20:4n6(ARA) 的含量占总脂肪酸含量的 6.45%—7.74% 之间, 在发育过程中呈现先升后降的趋势。这与 Cejas, *et al.*^[25] 对异带重牙鲷 (*Diplodus sargus*) 的受精卵和开口仔鱼的研究相差很大, 表明硬头鲂受精卵发育过程中在脂肪酸的利用机制上与海水鱼类相去甚远。

硬头鲂在受精卵至开口仔鱼的发育过程中, 脂肪酸的变化规律表现为受精卵至发眼卵阶段急剧上升, 至卵黄囊仔鱼和开口仔鱼阶段又急剧下降; 水解氨基酸除甘氨酸和色氨酸外, 总体表现出一直升的趋势; 游离氨基酸总体表现为从受精卵至发眼卵变化不大, 至卵黄囊仔鱼阶段急剧上升至开口仔鱼阶段又急剧下降的趋势。这表明硬头鲂在胚胎形成期以消耗脂肪酸作为能源为主, 以氨基酸消耗为辅; 仔鱼孵出后进入卵黄囊仔鱼期, 该时期随着卵黄囊的迅速吸收, 眼、口、消化管、肛门、鳍等和初次摄食相关的仔鱼器官将迅速发育, 初具功能, 同时建立巡游模式, 从而具备条件进行初次索饵摄食, 这个发育阶段将同时消耗游离氨基酸和脂肪酸, 很难分出主次。

参考文献:

- [1] Xu S G, Tian Z H, Yang G Q. Steelhead trout fry rearing technology [J]. *China Fisheries*, 2009, (4): 47—48 [徐绍刚, 田照辉, 杨贵强. 硬头鲑苗种培育技术. 中国水产, 2009, (4): 47—48]
- [2] Cai G X. Size variation and type transition of erythrocyte nuclei in early developing steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 1996, 9(1): 1—6 [蔡国雄. 硬头鲑(*Oncorhynchus mykiss*)早期发育过程中红血细胞核的尺度变化和类型转换. 水产学杂志, 1996, 9(1): 1—6]
- [3] Cai G X, Igor I. Solar, Edward M Donaldson. Comparison of heat and hydrostatic pressure shocks to induce triploidy in steelhead trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 1990, 3(2): 31—35 [蔡国雄, 伊格·I·所罗, 爱德华·M·唐纳森. 热休克和水静压刺激诱导三倍体硬头鲑(*Oncorhynchus mykiss*)对比研究. 水产学杂志, 1990, 3(2): 31—35]
- [4] Tong S L. Long term culture of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) macrophages in vitro [J]. *Acta Biologica Experimentalis Sinica*, 1989, 22(2): 241—245 [童裳亮. 硬头鲑巨噬细胞的体外长期培养(简报). 实验生物学报, 1989, 22(2): 241—245]
- [5] Yao Z W. Acute Toxicity study of zinc on steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Japan [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1984, (1): 26 [姚再旺. 日本研究锌对硬头鲑的急性毒性. 水产科技情报, 1984, (1): 26]
- [6] Sargent J R, Henderson R J, Tocher D R. The lipids [A]. In: Halver J E (Eds.), *Fish Nutrition* [M]. New York: Academic Press. 1989, 153—218
- [7] Rodriguez C, Pérez J A, Izquierdo M S, et al. Essential fatty acid requirements of larval gilthead sea bream, *Sparus aurata* (L.) [J]. *Aquaculture Research*, 1994, 25(3): 295—304
- [8] Rodriguez C, Pérez J A, Diaz M, et al. Influence of the EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larval development [J]. *Aquaculture*, 1997, 150(1-2): 77—89
- [9] Kestemont P, Cooremans J, Abi-Ayad A, et al. Cathepsin L in eggs and larvae of perch *Perca fluviatilis*: variations with developmental stage and spawning period [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1999, 21: 59—64
- [10] Fyhn H J, Serigstad B. Free amino acids as energy substrates in developing eggs and larvae of the cod (*Gadus morhua*) [J]. *Marine Biology*, 1987, 96(3): 335—341
- [11] Fyhn H J. First feeding of marine larvae: are free amino acids the source of energy [J]. *Aquaculture*, 1989, 80(1-2): 111—120
- [12] 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]. *Marine Biology*, 1988, 99(3): 307—313
- [13] Ostrowski A C, Divakaran S. Energy substrates for eggs and prefeeding larvae of the dolphin *Coryhaena hippurus* [J]. *Marine Biology*, 1991, 109(1): 149—155
- [14] 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
- [15] Tulli F, Tibaldi E. Changes in amino acids and essential fatty acids during early larval rearing of dentex [J]. *Aquaculture International*, 1997, 5: 229—236
- [16] Gunasekera R, De Silva 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 peelii* [J]. *Aquatic Living Resource*, 1999, 12: 255—261
- [17] 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
- [18] 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
- [19] Rnnestad 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
- [20] Rnnestad I, Fyhn H J. Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae [J]. *Review in Fisheries Science*, 1993, 1: 239—259
- [21] 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]
- [22] Brown M R, Battaglene S C, Morehead D T, et al. Ontogenetic changes in amino acid and vitamins during early larval stages of striped trumpeter (*Latris lineate*) [J]. *Aquaculture*, 2005, 248: 263—274
- [23] Zhu B K, Cao W X. Fatty acid composition and their changes during early life stage of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26(2): 130—135 [朱邦科, 曹文宣. 鲢早期发育阶段鱼体脂肪酸组成变化. 水生生物学报, 2002, 26(2): 130—135]
- [24] Sheridan M A, Allen W V, Kerstetter T H. Changes in the fatty acid composition of steelhead trout, *Salmo gairdnerii* Richardson, associated with parr-smolt transformation [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Comparative Biochemistry*, 1985, 80(4): 671—676
- [25] Cejas J R, Almansa E, Jérez S, et al. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white sea bream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Comparative Biochemistry*, 2004, 139: 209—216