

海洋硬骨鱼类卵黄囊期生物能学研究*

张传骞 朱鑫华

(中国科学院海洋研究所)

卵黄囊期是鱼类早期发育中的一个重要阶段,是鱼类由内源营养向外源营养转化的一个关键时期。在此期间,游离氨基酸、蛋白质、脂肪酸、总脂和碳水化合物等基本生化成份的变化表现出一定的规律性,并具有种的特异性。从能量学的角度来分析,则表现为主要能源物质在发育过程中有规律的变化,各能量物质是按一定顺序被利用的。

鱼卵是一个高度特化的自组织系统,它在发育过程中,用于细胞活动的物质基础主要是卵黄。在卵黄囊期,卵细胞的代谢过程可描述为依生化成份变化的生化代谢过程和依能量转移和释放的能量代谢过程。从受精到卵黄囊消耗完全的卵黄囊期,以开口摄食为标志分为前后两个阶段,开口之前为全部利用自身营养的内源营养阶段,开口之后为利用自身营养和外源营养相结合的混合营养阶段。探索卵黄囊期海洋硬骨鱼类的能量转化规律,定量分析发育过程中生化成分和能量物质的变化,预测维持仔稚鱼生命活动和提供生长所必需的合适饵料营养成分,已成为鱼类早期发育生物学研究的热点课题。

一、盐度对鱼卵大小、沉浮性的影响

1. 卵的大小

Blaxter(1988)认为影响鱼卵大小的因素主要包括:亲鱼个体的大小,产卵群,生殖季节和食物等。环境盐度对鱼卵大小、渗透性和沉浮性的影响也是很显著的,特别是对庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus* L.)(Tyler *et al.*, 1988; Kjølsvik *et al.*, 1990)。另外排卵周期的影响也不可忽视(Kjesbu, 1989; Finn *et al.*, 1990)。

在鱼卵发育的最后阶段,鱼卵的增大可能是为孵化做准备的结果。海洋鱼类在孵化之前,由一些特别的腺体分泌的孵化酶进入到卵周隙中(Helvik, 1988; Yamagami, 1988; Finn *et al.*, 1990)。孵化酶是一种肽链内切酶,它从内侧刺激卵壳,产生高分子量的多肽,并停留在那里,从而导致卵的体积增大(Oppen-Berntsen *et al.*, 1990)。

胚胎阶段的干重变化极小,而仔鱼阶段的干重随着发育出现明显的减少。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 4153 号。

国家自然科学基金资助项目,39670574 号。

收稿日期:2001 年 2 月 6 日。

2. 沉浮性

Craik 等(1984、1987)的研究表明:硬骨鱼类的浮性主要由所含液体的量决定,脂肪几乎不起作用。一般浮性卵的含水量达 90%~92%,而典型沉性卵为 60%~75%。来自浮性卵的海洋鱼类仔鱼,初孵时漂浮于海面,呈正浮性;而来自沉性卵的仔鱼,初孵时沉于水底,呈负浮性(沉性)。而后,随着仔鱼的进一步发育,来自浮性卵的仔鱼浮力减小,脱离海面稍下沉,而来自沉性卵的仔鱼浮力增大,从底部逐渐上升。约在仔鱼进入初次摄食前后,两者都进入浮游生物水层摄食。

初孵江鲱(*Platichthys flesus* L.)具有一个湿重和干重各占仔鱼湿重和干重 60.6% 和 41.2% 的巨大卵黄囊,且卵黄的含水量达到 93.3%,要比不带卵黄的仔鱼躯体的含水量高很多,实际上起到了“浮力器官”(buoyancy organ)的作用。卵黄囊期仔鱼早期发育阶段浮力和低盐耐力的变化是以体内生化成分,主要是含水量的变化为基础的。含水量增加,意味着体液浓度下降,从而增加仔鱼的浮力和低盐耐力;相反,则降低其浮力和低盐耐力(殷名称,1993)。

二、硬骨鱼类的代谢功能

1. 耗氧率

海洋硬骨鱼类胚胎的耗氧率一般随着胚胎发育而增高,这可能与硬骨鱼类代谢活动的增强有关。刚受精的鱼卵耗氧率是很低的,如大西洋鳕(*Gadus morhua*)只有 0.4nmol/(个·h)(Finn *et al.*, 1991)。很多鱼在最适宜温度下孵化的耗氧率一般在 3~5nmol/(个·h)之间,如大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、大西洋鳕(*Gadus morhua*)和金鲷(*Sparus aurata*)等(Rønnestad *et al.*, 1992b; Finn *et al.*, 1995a, b; Rønnestad *et al.*, 1994)。当然物种特异性也是存在的,这和鱼卵的大小有关系,如具有较大鱼卵的庸鲈的耗氧率约为 10nmol/(个·h)(Finn *et al.*, 1991)。Dabuowski 等(1984)总结了 11 种鱼的数据,得出孵化时耗氧率公式

$$V(O_2) = 0.1334 M^{0.6634} T^{0.7143}$$

其中 $V(O_2)$ 代表耗氧率($\mu\text{l/h}$), M 是受精卵的干重(mg/个), T 是孵化温度($^{\circ}\text{C}$)。

Rombough(1988)根据几十种鱼的仔鱼耗氧率与干重的关系,得出一个关系式

$$V(O_2) = aM^b$$

其中, a 、 b 是常数, M 是干重,虽然这个公式也有不足之处,无法表示仔鱼耗氧率不规则的波动,但因为它简单直接,所以被广泛应用于仔鱼的研究上。

2. 排氨率

氨是动物体内氨基酸代谢的有毒副产物。一些动物能把氨转化为毒性小的物质,水生脊椎动物则通常把氨直接排泄到环境中(Rice *et al.*, 1974)。

近 20 年来很多学者对各种鱼的研究表明,鱼卵在发育过程中,一部分氨自然排泄,另一部分以 NH_4^+ 的形式储存在卵内直到孵化。那么孵化时,这些积累的铵的命运如何? Rice 等(1974)的结果显示虹鳟初孵仔鱼体内铵的浓度比孵化前卵子高,表明卵子中的铵被初孵仔鱼所继承,而且仍以铵的形式存在。但是这一结果并没有被其他实验所支持。

更多的实验结果显示,孵化过程中铵离子的浓度是极迅速下降。一部分研究人员(Fyhn *et al.*, 1987; Rønnestad *et al.*, 1993)认为这些失去的铵离子主要以 NH_3 的形式排到水环境中。而另一些研究人员(Finn *et al.*, 1995a)在水中没有测到铵,因而推测在孵化过程中铵或者以另外一种形式如尿素排泄到环境中,或者被整合到其他含氮的分子中。

3. 蛋白质和游离氨基酸代谢

在动物体内,氨基酸以两种形式存在,一种是完全游离的氨基酸(FAA),另一种是以结合蛋白质的形式存在。

硬骨鱼类的胚胎与作为营养源的卵黄囊是分开的,胚胎细胞必须从卵黄囊中吸收营养成分,积累物质,再进行有丝分裂。但是卵黄囊中的大分子蛋白质不能通过细胞膜直接进入胚胎。卵黄蛋白质必须水解成氨基酸,才能被胚胎吸收并合成所需要的蛋白质(Monroy *et al.*, 1961)。

近十年来的许多研究(Fyhn *et al.*, 1987, 1989; Rønnestad *et al.*, 1992a; Rønnestad *et al.*, 1992b; Finn *et al.*, 1995a)表明鱼类胚胎发育中作为主要能源物质被消耗的是游离氨基酸而不是蛋白质;相反,许多鱼类的卵子中由于游离氨基酸合成蛋白质而使蛋白质含量增加。那些认为蛋白质是鱼类发育主要能量来源的学者,可能是由于测定方法上的原因而把游离氨基酸当作蛋白质。Fyhn(1989)的研究还表明,在仔鱼游离氨基酸耗尽之前,补充外源的游离氨基酸是必要的。

4. 脂肪和脂肪酸的代谢

脂类在大多数鱼的干物质含量中仅次于蛋白质。不同种类的鱼,脂类含量可能有较大的差别,甚至能在干重含量的 0.1% 到 45% 之间变动(Balon, 1977)。脂类可以构建包括细胞膜在内的结构物质,也可作为能量物质被分解。

鱼卵中的脂肪主要有两种存在形式,一种是游离的脂肪,主要存在于油球中;另外一种是在高密度组分中的结合脂肪(Nakagawa *et al.*, 1971, 1972)。油球的主要成分是三酯酰甘油(Hemming *et al.*, 1988),磷脂在鲑鱼的油球中几乎测不到(Nakagawa *et al.*, 1971),但它可能存在于暖水性鱼类的油球中。而在卵黄片状物的高密度组分里磷脂含量要比三酯酰甘油高。对许多种鱼来说,则是蜡在脂类中含量最高(Kaitaranta *et al.*, 1981)。例如,在美国红鱼(*Sciaenops ocellata*)卵中,蜡占总脂的 29%,并在胚胎发育中提供 53% 的热量。Finn 等(1995b)证实在大西洋鳕(*Gadus morhua*)的卵中含有胆固醇、心磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、游离脂肪酸、鞘磷脂和不饱和脂肪酸等。许多种鱼的卵黄中还含有脂溶性的类胡萝卜素(Kitahara, 1984)。

金鲷(Rønnestad *et al.*, 1994)、鲱鱼(区又君等, 1997)和大西洋鳕(Finn *et al.*, 1995a, b)等鱼类的卵黄囊期仔鱼以脂肪作为主要的能量来源,而在胚胎阶段则消耗不显著。

有些不饱和脂肪酸在鱼体内不能合成,但又是不可缺少的,称为必需脂肪酸(EFA)。硬骨鱼类一般富含 $n-3$ 系列的多不饱和脂肪酸(PUFA),特别是 $20:5n-3$ (EPA) 和 $22:6n-3$ (DHA)(Sargent *et al.*, 1989)。这些多不饱和脂肪酸既可作为组织的构成,也能被氧化,提供能量。DHA 在神经和精巢组织中的含量特别高(Tocher *et al.*, 1984), Siversand 等(1996)认为鱼类神经组织在早期发育中发育和生长相当快,因而对 DHA 的需求

较大。海水仔稚鱼体内,EPA可转化为 $22:5n-3$ 和DHA。尽管转化为后者的速度非常慢,但是DHA却不能转化为前两者(Watanabe,1989)。

5. 碳水化合物代谢

鱼卵的碳水化合物含量较低,而且大部分是作为结构物质分布于卵膜上而不能被分解利用(Hemming *et al.*, 1988)。鱼卵中的碳水化合物一部分处于游离状态,其余则与卵黄蛋白结合。鱼卵中糖原是最主要的碳水化合物(Terner, 1979)。碳水化合物可能是卵黄营养中分解利用率最高的,但因为糖原含量低,产生的热量所占的比例就很小,如美国红鱼(*Sciaenops ocellata*)胚胎阶段糖原产生的热量仅占总热量的1.7%。

6. 氮熵(N:O)

中性脂肪(NL)曾被认为是海洋硬骨鱼类早期发育中最重要的能源物质,其次是蛋白质和碳水化合物(Blaxter *et al.*, 1988)。然而,最近的研究发现游离氨基酸(FAA)是可以作为补充的内源能源物质(Fyhn, 1989; Rϕnnestad *et al.*, 1993)。在新近产出的浮性鱼卵中,游离氨基酸库构成了总氨基酸含量的20%到40%(Rϕnnestad *et al.*, 1993),并且游离氨基酸基本上存在于卵黄中(Rϕnnestad *et al.*, 1993)。能量学的研究表明,游离氨基酸在海洋硬骨鱼类的胚胎发育中作为能源物质起重要的作用(Fyhn 1989, 1990; Rϕnnestad *et al.*, 1992 a,b; Rϕnnestad *et al.*, 1993)。

海洋硬骨鱼类含油球的数目是不同的,大部分海洋硬骨鱼类含有一个油球,而有些则含有两个或多个油球,只有一小部分没有油球。从定量分析的角度,没有油球单纯依赖卵黄提供营养的游离氨基酸对能量代谢的重要性比含有油球的更大(Rϕnnestad *et al.*, 1994)。一个很明显的例子就是大菱鲆,它在胚胎发育阶段的能量消耗很大一部分来自油球提供的脂肪而不是单纯来自氨基酸。

对含有一个油球的海洋硬骨鱼类来说,卵黄的吸收与游离氨基酸的利用是同步的,这主要是因为游离氨基酸是位于卵黄内;而油球的吸收主要发生在孵化后并在卵黄利用完成之后,与中性脂肪脂肪酸的分解作用相对应(Rϕnnestad *et al.*, 1992a; Rϕnnestad *et al.*, 1994)。游离氨基酸是鱼卵阶段的主要能源物质,从油球中性脂肪来的脂肪酸是卵黄囊期仔鱼阶段的主要能源物质。

在鱼类生物能学研究中,氮熵NQ(产生 NH_3 的mol数与消耗 O_2 的mol数的比值)可用来估计利用的能源物质(Gnaiger, 1983)。而一些生物学家喜欢用氧氮比(O:N),它是氮熵的倒数。从几种生物得来的纯净体蛋白分解代谢的氮熵平均为 0.27 ± 0.01 (Gnaiger, 1983)。如果富含氮的氨基酸(如精氨酸、组氨酸和赖氨酸)含量少的话,得到的体蛋白的氮熵可能会略微低一些。当分解物质中无氮物质(脂肪或碳水化合物)的含量增加时,氮熵会趋向于0。Rϕnnestad等(1994)对黄鲷(*Sparus aurata*)的研究发现在受精卵发育的最后阶段有氧代谢的能量来源60%到70%是来自游离氨基酸,并且消失游离氨基酸中大约80%被用来作为能量物质,其余的20%被用来合成蛋白质(Rϕnnestad *et al.*, 1994)。同样在大菱鲆上也发现了相似的情况(Rϕnnestad, 1992)。不断降低的氮熵值说明主要的能源物质在发育过程中逐渐由氨基酸转变为脂肪(因为碳水化合物在鱼类中的含量很低,而且主要是作为结构物质而不参与代谢过程)。

7. 生物能学

在鱼类受精卵发育阶段或者卵黄囊期仔鱼发育阶段,干重的变化不是很显著,基本上保持不变或变化很小。所以只要测得蛋白质、氨基酸、脂肪和碳水化合物的含量,就可以推算出各自的质量,然后根据燃烧时的热量系数[蛋白质、脂肪、碳水化合物分别为 23.6kJ/g、39.5kJ/g 和 17.6kJ/g (Brafield, 1985),氨基酸需转化为相应数量的蛋白质],就可求得生物体的热量含量(简称焓),与用微弹热量计测得的数据进行比较。

在确定焓的哪一部分转化为生物量产量,哪一部分因代谢和排泄而消耗时,焓的相对守恒是一个重要的标准。关于卵黄囊期仔鱼的热量含量可用下式表示

$$P = C + R + E$$

其中, P 是生物量产量, C 是卵黄囊的焓, R 是代谢消耗(负值), E 是因排泄含氮终产物(尿或粪)导致的丢失(负值)(Finn *et al.*, 1994)。

三、结 论

综上所述,海洋硬骨鱼类在胚胎发育阶段的主要能源物质是因种而异的,具有物种的特异性;并且就同一种鱼来说,主要能源物质也是随着发育阶段的不同而不同。对于含油球的鱼类来说,脂肪[特别是中性脂肪(NL)]在发育中的作用是很重要的;而对于没有油球的鱼类来说,氨基酸所起的作用将会更大一些。这些发现对决定海洋鱼类开口饵料的成分是很重要的。

参 考 文 献

- 区又君、李加儿, 1997, 鲮鱼胚胎和卵黄囊期仔鱼的发育与营养研究, *海洋学报*, **19**(3): 102~110。
- 殷名称, 1993, 江鲮在卵和卵黄囊期仔鱼发育阶段生化成分的变化, *动物学报*, **39**(3): 272~278。
- Balon, E. K., 1977, Early ontogeny of *Labeotropheus* Ahl., 1927 (Mbuna, Cichlidae, Lake Malawi), with a discussion on advanced protective styles in fish reproduction and development, *Environ. Biol. Fishes*, **2**: 147~176。
- Blaxter, J. H. S., 1988, Pattern and variety in development, In: Hoar, W. S., Randall, D. J. (eds.) *Fish physiology*, XI (A): 1~58。
- Brafield, A. E., 1985, Laboratory studies of energy budgets, In: Tytler, P., Calow, P. (eds.) *Fish energetics: new perspectives*, 257~281。
- Craik, J. C. A., Harvey, S. M., 1984, Biochemical changes occurring during final maturation of eggs of some marine and freshwater teleosts, *J. Fish. Biol.*, **24**: 599~610。
- Craik, J. C. A., Harvey, S. M., 1987, The causes of buoyancy in eggs of marine teleosts, *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, **67**: 169~182。
- Dabrowski, K., Kaushik, S. J., Luquet, P., 1984, Metabolic utilization of body stores during the early life of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.), *J. Fish. Biol.*, **24**: 721~729。
- Finn, R. N., Fyhn, H. J., Evjen, M. S., 1995a, Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). I. Respiration and nitrogen metabolism, *Mar. Biol.*, **124**: 355~369。
- Finn, R. N., Fyhn, H. J., Evjen, M. S., 1995b, Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). II. Lipid metabolism and enthalpy balance, *Mar. Biol.*, **124**: 371~379。
- Finn, R. N., Fyhn, H. J., Evjen, M. S., 1991, Respiration and nitrogen metabolism of Atlantic halibut eggs (*Hippoglossus hippoglossus* L.), *Mar. Biol.*, **108**: 11~19。
- Finn, R. N., Fyhn, H. J., Evjen, M. S., 1990, Respiration and nitrogen of Atlantic halibut eggs, *Mar. Bio.*, **108**: 11~19。

- Fyhn, H. J., Serigstad, B., 1987, Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod (*Gadus morhua*), *Mar. Biol.*, **96**: 335~341.
- Fyhn, H. J., 1989, First feeding of marine fish larvae: are free amino acids the source of energy, *Aquaculture*, **80**: 11~120.
- Gnaiger, E., 1983, Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In: Gnaiger, E., Forstner, H. (eds) *Polarographic oxygen sensors*. Springer Verlag, Berlin, 337~345.
- Helvik, J. V., 1988, Klekkeprosessen hos kveite (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Cand. Scient. thesis. University of Bergen. Norway (In Norwegian).
- Hemming, T. A., Buddington, R. K., 1988, Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: Hoar W. S., Randall D. J. (eds) *Fish physiology*. Vol. XI. The physiology of developing fish. Part A. eggs and larvae, Academic Press, 404~446.
- Kaitaranta, J. K., Ackman, R. G., 1981, Total lipids and lipid classes of fish roe. *Comp. Biochem. Physiol.*, **69B**: 725~729.
- Kitahara, T., 1984, Behavior of carotenoids in the Chun Salmon *Oncorhynchus keta* during development, *Bull Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **50**: 531~536.
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I., 1990, Egg quality in marine fishes, *Adv. Mar. Biol.*, **26**: 71~113.
- Kjesbu, O. S., 1989, The spawning activity of cod (*Gadus morhua* L.), *J. Fish. Biol.*, **34**: 195~206.
- Koven, W. M., Tandler, A., Kissil, G. W., Sklan, D., 1992, The importance of n-3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval *Sparus aurata* and their effect on survival, lipid composition and size distribution. *Aquaculture*, **104**: 91~104.
- Monroy, A., Ishida, M., Nakano, E., 1961, The pattern of transfer of the yolk material to the embryo during the development of the teleostean fish (*Oryzias latipes*), *Embryol.*, **6**: 151~158.
- Nakagawa, H., Tsuchiya, Y., 1971, Studies on rainbow trout egg (*Salmo gairdnerii irideus*). III. Determination of lipid composition of oil globule and lipoprotein, *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **10**: 11~19.
- Nakagawa, H., Tsuchiya, Y., 1972, Studies on rainbow trout egg (*Salmo gairdnerii irideus*). IV. Changes of yolk content during embryogenesis, *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, **11**: 111~118.
- Oppen-Berntsen, D. O., Helvik, J. V., Walther, B. T., 1990, The major structural proteins of cod (*Gadus morhua* L.) eggshell and protein crosslinking during teleost egg hardening, *Dev. Biol.*, **137**: 258~265.
- Rønnestad, I., Fyhn, H. J., Gravningen, K., 1992, The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*), *Mar. Biol.*, **114**: 517~525.
- Rønnestad, I., Finn, R. N., Groot, E., Fyhn, H. J., 1992, Utilization of free amino acids related to energy metabolism of developing eggs and larvae of lemon sole (*Microstomus kitt*) reared in the laboratory, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **88**: 195~205.
- Rønnestad, I., Fyhn, H. J., 1993, Metabolic aspects of free amino acids in developing marine fish eggs and larvae, *Rev. Fish. Sci.*, **1**: 239~259.
- Rønnestad, I., Koven, W. M., Tandler, A., Harel, M., Fyhn, H. J., 1994, Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilt head sea bream (*Sparus aurata*), *Mar. Biol.*, **120**: 187~196.
- Rice, S. D., Stokes, R. M., 1974, Metabolism of nitrogenous wastes in the eggs and larvae of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). In: Blaxter, J. H. S. (ed) *The early life history of fish*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 325~337.
- Sargent, J. R., Hendersen, J. R., Tocher, D. R., 1989, The lipids. In: Halver, J. R. (ed) *Fish nutrition*. Academic Press. San Diego, 154~209.
- Silversand, C., Norberg, B., Haux, C., 1996, Fatty acid Composition of ovulated eggs from wild and cultured turbot (*Scophthalmus maximus*) in relation to yolk and oil globule lipids, *Mar. Biol.*, **125**: 267~278.
- Terner, C., 1979, Metabolism and energy conversion during early development. In: *Fish physiology*. VIII Ed. by Hoar, W. S., Randall, D. J., Brett, J. R., **8**: 261~278.
- Tocher, D. R., Sargent, J. R., 1984, Analyses of lipids and fatty acids in rip roes of some northwest European marine fish. *Lipids*, **19**: 492~499.

- Tytler, P., Blaxter, J. H. S., 1988, Dinking in yolk-sac stage larvae of the halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), *J. Fish. Biol.*, **32**:493~494.
- Watanabe, T., 1989, Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red sea bream, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **55**(9):1633~1640.
- Yamagami, K., 1988, Mechanism of hatching in fish. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. (eds) *Fish Physiology*. **11** (A), 447~449.

RESEARCH ON BIOENERGETICS IN THE YOLK-STAGE OF MARINE TELEOSTS *

Zhang Chuanqian, Zhu Xinhua

(Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

During the yolk-sac stage of the teleosts from the sea, biochemical components such as FAA, protein, FA, total lipid and carbohydrate, vary distinctly and decrease with the development. The decrement varies largely among them. This suggests that in the early development of the fish, its nutrition requirement is not the same. It may change with different species, developmental stage and survival environment. Thus if we know the exact change in the biochemical components, we can find the most appropriate food to meet the larval nutritional requirement and reduce the mortality.

* Contribution No.4153 from the Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences.