

文章编号: 1674-5566(2019)02-0190-10

DOI:10.12024/jsou.20180502313

人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼卵营养成分分析及评价

黎原谷^{1,2,3}, 李 慷^{1,2,3}, 刘利平^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘 要: 日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)初孵仔鳗的开口饵料一直是实现全人工繁殖的难点, 鱼卵的营养成分分析能够为开口饵料的设计提供帮助, 因此, 本实验对人工繁殖条件下获得的日本鳗鲡鱼卵进行了一般营养成分、氨基酸、脂肪酸和微量元素含量的测定。日本鳗鲡卵中水分含量为 82.28%、粗蛋白质含量为 10.54%、粗脂肪含量为 7.24%、粗灰分含量为 0.78%。此外, 共检测出 17 种氨基酸, 包括 7 种必需氨基酸(EAA)和 10 种非必需氨基酸(NEAA), 总氨基酸(TAA)含量为 8.07%, EAA 含量为 3.19%, NEAA 含量为 4.88%; 依据 FAO/WHO 建议的氨基酸评分模式, 分别对氨基酸进行氨基酸评分(A_{AAS})和化学评分(C_{CS}), 其中, 第一限制性氨基酸为缬氨酸, 第二限制性氨基酸为异亮氨酸。必需氨基酸指数(E_{EAAI})为 7.79%。在日本鳗鲡卵中检测出 27 种脂肪酸, 包括 9 种饱和脂肪酸(SFA)、8 种单不饱和脂肪酸(MUFA)、10 种多不饱和脂肪(PUFA), 分别占脂肪酸总量的 41.14%、18.19%、40.69%, 其中 C20:5n-3(EPA) + C22:6n-3(DHA)占脂肪酸总量的 30.25%。日本鳗鲡鱼卵中钾、钙的含量丰富, 分别为 1 698.676 mg/kg 和 121.268 mg/kg。高含量的 DHA 符合海水鱼类鱼卵的特点, 低含量的氨基酸可能是限制初孵仔鳗生存的原因。研究中所获得的各营养素需求量为初孵仔鳗的开口饵料设计提供了理论参考。

关键词: 日本鳗鲡; 鱼卵; 氨基酸; 脂肪酸; 微量元素

中图分类号: S 963 **文献标志码:** A

日本鳗鲡(*Anguilla japonica*), 又称为河鳗、白鳗、鳗鲡, 是一种降海洄游性鱼类, 喜暗怕光, 常隐居于洞穴、泥沙中, 以小鱼、虾、蟹、螺等水生生物为食。近年来, 由于过度捕捞、水利环境工程和生存环境破坏等因素, 鳗鲡资源正逐年下降。2014 年, 世界自然保护联盟(IUCN)将日本鳗鲡定为濒危物种, 并将其列入“红色名录”。因此, 尽快实现鳗鲡的全人工繁殖研究已经迫在眉睫。

最早的人工诱导鳗鲡性成熟实验始于日本, 1960 年, 日本学者对雄性日本鳗鲡注射脑垂体与绒毛膜促性腺激素的混合液, 使其精巢发育成熟, 并获得精子^[1]; 雌鳗的性腺诱导成熟实验于 1970 年宣告成功, 获得鳗鲡卵^[2-3]。2010 年, 日本宣布实现日本鳗鲡的全人工繁殖, 但是, 所获得的鳗苗数量少, 苗种的质量参差不齐, 投入成

本高, 无法满足市场需求, 其中主要的难点在于未能找到合适的饵料^[4-5]。研究^[6-7]表明, 自然条件下, “海雪”可能是柳叶鳗的食物来源, 这种物质存在于海洋表层。柳叶鳗的身体成分主要为透明质酸, 含水量也很高, 透明质酸是二糖类物质, 而海雪恰巧是各种碳水化合物的集合, 这足以说明糖类是柳叶鳗生长的重要物质^[8]。GOVONI^[9]发现, 欧洲柳叶鳗的肠道中存在纤毛虫类的 DNA。人工条件下, 鲨鱼卵是目前唯一能保证初孵仔鳗过渡到玻璃鳗的饵料。2008 年, TANAKA 等^[12]通过给初孵仔鳗投喂轮虫(Rotifera)和白斑角鲨(*Squalus acanthias*)的冻干鱼卵粉可促使幼苗生长。但是, 鲨鱼卵的营养物质含量仅刚好满足仔鳗的需求, 与野生的柳叶鳗相比, 人工培育的柳叶鳗生长率仍然较低^[11-12]。2013 年, OKAMURA 等^[13]则通过给初孵仔鳗投

收稿日期: 2018-05-10 修回日期: 2018-11-06

基金项目: 中国-东盟海上合作基金项目(DF)

作者简介: 黎原谷(1992—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖。E-mail:406185632@qq.com

通信作者: 刘利平, E-mail:lp-liu@shou.edu.cn

喂冻干鸡蛋黄和磷虾液混合物,促使幼苗生长。此外,还发现向仔鳗投喂葡萄糖、麦芽糖等饵料,同样能达到促进幼苗生长的效果^[14-15]。刘利平等^[16]分别设计了以卤虫(*Artemia salina*)、轮虫、海带、鲨鱼卵、磷虾(*Euphausia superba*)提取液为主的饵料对初孵仔鳗进行投喂,其中,摄食饵料以鲨鱼卵和磷虾提取液为主的初孵仔鳗存活时间最长,达到 20 d。

研究鱼卵的营养成分,可以帮助了解海水鱼类幼苗对各营养物质的需求量,为开发开口饵料提供帮助,同时还能避免生物饵料易携带病菌、寄生虫对幼苗造成危害^[17]。目前,已有许多通过分析鱼卵营养成分来确定初孵仔鱼开口饵料营养配比的研究。MOURENTE 等^[18]检测了塞纳加尔鳎目鱼(*Solea senegalensis Kaup*)鱼卵的脂类成分,确定了其仔鱼饵料的脂肪酸配比。POUSAO FERREIRA 等^[19]检测了金头鲷(*Sparus aurata*)鱼卵中的蛋白质成分,确定了其仔鱼饵料中蛋白质的配比。杨晶晶等^[17]通过对绒杜父鱼(*Hemitripterus villosus*)卵的营养成分检测,提出了绒杜父鱼仔鱼的蛋白质和脂肪的理论营养需求量分别为 75.33% 和 12.42%。李成等^[20]通过研究刺鲃(*Spinibarbus caldwelli*)鱼卵的营养成分,提出了刺鲃仔鱼饵料中的蛋白质和脂肪需求量应为 77.39% 和 8.90%。因此,研究人工繁殖条件下的日本鳗鲡鱼卵的营养成分,对初孵仔鳗的开口饵料设计、尽早实现日本鳗鲡的全人工繁殖有重要意义。

本研究对人工繁殖条件下获得的日本鳗鲡鱼卵进行一般营养成分、氨基酸、脂肪酸和微量元素含量检测,以此来了解初孵仔鳗对各营养物的理论需求量,为其开口饵料研发提供帮助。

1 材料与方法

1.1 实验材料与采样

亲鳗的处理方法参考蒲金成等^[21]的方法。2016 年 10 月从江苏省启东市购买捕捞的野生降海日本鳗鲡。雌鳗体质量为 550 ~ 1 100 g,身体健康无明显伤痕,活力强,雌鳗于水泥池中使用淡水培养,水温控制在 18 ~ 20 °C,通过添加海盐盐卤,逐步将盐度调为 20。2017 年 2 月底开始人工催熟催产,使用红海盐逐步将盐度调至 31。雌鱼通过注射鲤鱼脑垂体[carp pituitary extract,

CPE, 20 mg/(kg·次)]和人类绒毛膜促性腺激素[human chorionic gonadotropin, HCG, 300 IU/(kg·次)]匀浆液,进行催熟。当雌鱼体重指数超过 110,腹部明显凸起,泄殖孔扩大时,便进行催产。通过观察卵细胞形态结构和油脂大小判断催产时机。卵细胞发育良好的个体注射 17 α -羟基孕酮(17 α -hydroxyprogesterone, OHP, 10mg/kg)和 CPE(3 颗/kg)混合液进行催产。12 ~ 15 h 后,通过人工挤卵的方式采集 5 尾雌鳗的鱼卵,混合均匀,保存于 -80 °C 冰箱中,用于后续检测。

1.2 实验方法

1.2.1 一般营养成分含量测定

粗脂肪采用氯仿-甲醇提取法:称取 0.2 g 捣碎的样品于 20 mL 试管中,加入 10 mL 含 0.01% BHT 的氯仿-甲醇混合液(2:1),放置于 4 °C 冰箱中浸提 24 h,其间用超声波低温水浴 2 ~ 3 次,每次 30 min。将浸提液过滤到 20 mL 试管中,加入 2 mL 0.4% 氯化钙溶液混匀,静置 30 min,分层后移去上清液。轻轻转动试管,沿管壁加入清洗液(氯仿甲醇:水 = 8:4:3,取上清液)1.5 mL,混匀移去上清,重复 2 次后加入 200 μ L 甲醇,混匀后于 40 °C 真空干燥 12 h 以上至恒重。

采用 150 °C 直接干燥法(GB/T 5009.3—2010)测定水分含量。采用 550 °C 马弗炉灼烧法(GB/T 5009.4—2010)测定粗灰分含量。粗蛋白采用碳氮元素分析法测定,取 0.2 g 干燥样品,通过元素分析仪(Elementar vario MAX CNS)进行检测。

1.2.2 氨基酸组成测定

氨基酸组成采用茚三酮法(GB 5009.124—2016)测定。具体操作如下:取 1 g 样品,用 6 mol/L 的盐酸 110 °C 下水解 22 h,取水解液 1 mL 在 40 °C 下减压干燥,残留物用 2 mL 水溶解,再减压干燥,最后蒸干。用 2 mL pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲溶液溶解残留物,充分振荡混匀,吸取溶液通过 0.22 μ m 滤膜后转入进样瓶,上机检测。使用氨基酸自动分析仪(日立 L-8900 高速氨基酸分析仪)测定样品氨基酸组成及含量。

1.2.3 脂肪酸组成测定

脂肪酸测定依据氯仿-甲醇提取法,具体方法:称取 0.2 g 捣碎的样品于 20 mL 试管中,加入 10 mL 含 0.01% BHT 的氯仿-甲醇混合液(2:1),放置于 4 °C 冰箱中浸提 24 h,其间用超声波低温

水浴 2~3 次,每次 30 min。将浸提液过滤到 20 mL 试管中,加入 2 mL 0.4% CaCl₂ 混匀,静置 30 min,分层后移去上清液。轻轻转动试管,加入清洗液(氯仿:甲醇:水=8:4:3,取上清液)1.5 mL,混匀移去上清,重复 2 次后加入 200 μL 甲醇,混匀后于 40 °C 真空干燥 12 h 以上至恒重。将干燥所得的脂肪用 1 mL 正己烷溶解,转入带帽试管中,加入 1 mL C19 内标-正己烷,40 °C 真空干燥 2 h 以上至恒重。干燥后加入 2 mL 14% BF₃-甲醇溶液至带帽试管中,溶解脂肪,而后在 100 °C 下恒温水浴 25 min。水浴后加入 2 mL 苯和 2 mL 甲醇,在 100 °C 下恒温水浴 25 min。水浴完成后转移至 10 mL 塑料离心管,加入少量甲醇洗净残体。加入 2 mL 蒸馏水,2 mL 正己烷,充分振荡混匀后通过离心机 3 000 r/min 离心 10 min。取上清至 5 mL 塑料离心管,加入 0.5 mL 正己烷混匀,3 000 r/min 离心 5 min。取上清通过 0.22 μm 滤膜后转移至进样瓶,上机检测。

采用面积归一法计算各脂肪酸的组分含量,并以占脂肪酸总量的百分比形式呈现。

1.2.4 微量元素含量测定

微量元素的测定方法:将样品真空干燥,取 0.1 g 上机检测。检测机器为 ICP 发射光谱仪(赛默飞 iCAP7000 型)和 X 射线荧光光谱仪(XRF-1800 型)。

1.2.5 初孵仔鳗开口饵料中各营养物质的理论需求量计算

初孵仔鳗的开口饵料中,各营养物质的理论需求量的计算方法参考李成等^[20]的方法:将鲜重基础下的粗脂肪和粗蛋白含量转化成干重基础,即为初孵仔鳗对脂肪和蛋白质的理论需求量;各氨基酸的需求量可根据干重基础下粗蛋白的含量进行换算,但由于本研究中的氨基酸以干重基础进行检测,因此检测值就是初孵仔鳗饲料中氨基酸的理论需求量;同理,依据干重基础下粗脂肪的含量,可计算出饲料中脂肪酸的理论需求量;本研究中的微量元素以干重基础的进行检测,所以检测值就是初孵仔鳗饲料中微量元素的理论需求量。

1.2.6 营养品质的评价方法

根据 1973 年联合国粮农组织/世界卫生组织(FAO/WHO)1973 年提出的氨基酸评分标准模式^[22]和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式^[23],依照公

式计算氨基酸评分(A_{AAS})、化学评分(C_{CS})和必需氨基酸指数(E_{EAAI})^[24]:

$$A_{AAS} = \frac{A_{aa}}{A_{FAO}/A_{WHO}} \quad (1)$$

$$C_{CS} = \frac{A_{aa}}{A_{Egg}} \quad (2)$$

$$E_{EAAI} = \sqrt{\frac{100A_A}{A_{AE}} \times \frac{100A_B}{A_{BE}} \times \dots \times \frac{100A_H}{A_{HE}}} \quad (3)$$

式中: A_{aa} 为样品中氨基酸含量(干重基础%); $A_{FAO/WHO}$ 为评分标准模式中提出的同种氨基酸含量,%; A_{Egg} 则是全鸡蛋蛋白质中同种氨基酸含量,%; n 为必需氨基酸个数; A_A, A_B, \dots, A_H 为样品蛋白质中各必需氨基酸含量(干物质基础%); $A_{AE}, A_{BE}, \dots, A_{HE}$ 为全鸡蛋蛋白质中对应的各必需氨基酸含量(干物质基础%)。

1.3 数据处理

实验中各组数据采用平均数 ± 标准差(mean ± SD)表示,通过 Excel 2010 统计软件进行数据分析。

2 结果

2.1 日本鳗鲡鱼卵一般营养成分含量和氨基酸组成

通过人工繁殖获得的日本鳗鲡鱼卵(鲜重)中水分含量为 82.28%,粗蛋白含量为 10.56%,粗脂肪含量为 8.24%,粗灰分含量为 0.78%(表 1)。

表 1 人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼卵一般营养成分含量(鲜重基础)

Tab.1 Common nutritional contents of artificially reproduced *Anguilla japonica* eggs (fresh weight)

项目 Item	水分 Moisture	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude fat	粗灰分 Ash
含量 Content/%	82.28 ± 0.06	10.56 ± 0.41	7.24 ± 0.32	0.78 ± 0.10

在人工繁殖条件下获得的日本鳗鲡鱼卵中共检测出 17 种氨基酸(色氨酸因水解未检出),其中:必需氨基酸(essential amino acids, EAA)有 7 种,非必需氨基酸(nonessential amino acids, NEAA)10 种,总氨基酸(total amino acids, TAA)含量为 8.07%,含量最高的氨基酸为谷氨酸(0.98%),其次是丙氨酸(0.82%)、亮氨酸

(0.69%)、赖氨酸(0.63%),胱氨酸的含量(0.16%)最低;EAA含量为3.19%,NEAA的含量为4.88%,EAA与TAA的比率(EAA/TAA)为39.53%,EAA与NEAA的比率(EAA/NEAA)为65.37%(表2)。

2.2 日本鳗鲡鱼卵氨基酸营养品质评价

根据FAO/WHO氨基酸评分标准模式和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式,人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼卵在AAAS中分数最低的是缬氨酸(0.08),其次是异亮氨酸(0.09);分数最高的是蛋氨酸+半胱氨酸(0.14),其次是赖氨酸(0.12);在CCS中,分数最低的是缬氨酸(0.06),其次是异亮氨酸(0.07),分数最高的是赖氨酸和苏氨酸,均为0.09。说明缬氨酸为第一限制性氨基酸,异亮氨酸为第二限制性氨基酸。必需氨基酸指数EAAI为7.79(表3)。

2.3 日本鳗鲡鱼卵的脂肪酸组成

通过人工催熟催产获得的日本鳗鲡鱼卵中含有27种脂肪酸:饱和脂肪酸(SFA)9种,单不饱和脂肪酸(MUFA)8种,多不饱和脂肪酸(PUFA)10种,分别占总脂肪酸的41.14%、18.19%和40.69%,其中C16:0、C18:0、C16:1、C18:1n9c、C20:5n3(EPA)、C22:6n3(DHA)、C18:3n3为主要成分,共占总脂肪酸的83.51%。鱼卵中,EPA占脂肪酸总量的4.27%,DHA占

25.98%,两者之和EPA+DHA占总脂肪酸的30.25%。n-3 PUFA占总脂肪酸的34.3%,n-6 PUFA占总脂肪酸的5.04%,n-3/n-6为6.79(表4)。

表2 人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼卵的氨基酸组成(干重基础)

Tab.2 Amino acid composition of artificially reproduced *Anguilla japonica* eggs (dry weight)

氨基酸 Amino acid	含量 Content/%
天门冬氨酸 Asp	0.58
苏氨酸 Thr*	0.40
丝氨酸 Ser	0.49
谷氨酸 Glu	0.98
甘氨酸 Gly	0.32
丙氨酸 Ala	0.82
半胱氨酸 Cys	0.16
缬氨酸 Val*	0.42
蛋氨酸 Met*	0.32
异亮氨酸 Ile*	0.39
亮氨酸 Leu*	0.69
酪氨酸 Tyr	0.34
苯丙氨酸 Phe*	0.34
赖氨酸 Lys*	0.63
组氨酸 His	0.30
精氨酸 Arg	0.55
脯氨酸 Pro	0.34
总氨基酸 TAA	8.07
必需氨基酸 EAA	3.19
非必需氨基酸 NEAA	4.88
必需氨基酸/非必需氨基酸 EAA/NEAA	65.37
必需氨基酸/总氨基酸 EAA/TAA	39.53

注:*必需氨基酸

Notes:* Essential amino acids

表3 人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼卵的氨基酸评分、化学评分及必需氨基酸指数

Tab.3 AAAS, CCS and EAAI scores of artificially reproduced *Anguilla Japonica* eggs

氨基酸 Amino acids	日本鳗鲡卵 Eggs of <i>Anguilla japonica</i>	FAO/WHO 标准模式 FAO/WHO standard mode	全鸡蛋蛋白质 Whole egg protein	氨基酸评分 AAAS	化学评分 CCS
亮氨酸 Leu	43.10	440	534	0.10	0.08
异亮氨酸 Ile	24.38	250	331	0.09**	0.07**
赖氨酸 Lys	39.38	340	441	0.12	0.09
苏氨酸 Thr	25.13	250	292	0.10	0.09
缬氨酸 Val	25.46	310	441	0.08*	0.06*
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	30.04	220	386	0.14	0.08
苯丙氨酸+酪氨酸 Phe+Tyr	42.54	380	565	0.11	0.08
合计	230.03	2190	2960		
必需氨基酸指数 EAAI/%	7.79				

注:*第一限制性氨基酸;**第二限制性氨基酸

Notes:* The first limiting amino acid;** The second limiting amino acid

表 4 人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼卵脂肪酸组成
(鲜重基础,占脂肪酸总量的百分比)

Tab. 4 Fatty acids composition of artificially reproduced *Anguilla japonica* eggs (fresh weight)

脂肪酸 Fatty acids	含量 Content/%
C14:0	1.60 ± 0.13
C15:0	0.40 ± 0.04
C16:0	29.39 ± 2.52
C18:0	6.32 ± 0.48
C20:0	0.65 ± 0.06
C21:0	0.44 ± 0.06
C22:0	0.56 ± 0.07
C23:0	0.65 ± 0.08
C24:0	0.73 ± 0.09
SFA	41.14 ± 1.61
C14:1	0.02 ± 0.01
C15:1	0.07 ± 0.01
C16:1	8.25 ± 0.14
C17:1	0.42 ± 0.03
C18:1n9c	6.23 ± 0.36
C20:1	1.77 ± 0.08
C22:1n9	0.72 ± 0.07
C24:1	0.71 ± 0.08
MUFA	18.19 ± 0.69
C18:2n6c	0.84 ± 0.10
C18:3n3	3.07 ± 0.20
C18:3n6	0.64 ± 0.07
C20:2	0.87 ± 0.08
C20:3n3	0.69 ± 0.07
C20:3n6	0.72 ± 0.09
C20:4n6	2.83 ± 0.23
C20:5n3 (EPA)	4.27 ± 0.24
C22:2	0.74 ± 0.10
C22:6n3 (DHA)	25.98 ± 0.49
PUFA	40.69 ± 1.11
HUFA	36.14 ± 1.01
n-3 PUFA	34.03 ± 0.50
n-6 PUFA	5.04 ± 0.48
n-3/n-6	6.79 ± 0.57

2.4 日本鳗鲡鱼卵的微量元素含量

人工繁殖下获得的日本鳗鲡鱼卵中共检测出 4 种微量元素,分别是钾、钙、钠、硅,其中钾的含量为 1 698.676 mg/kg;钙的含量为 121.268 mg/kg;钠的含量为 39.172 mg/kg;硅的含量为 7.375 mg/kg。由于检测时是以干物质作为基础的,所以检测出来的微量元素含量即为初孵仔鳗开口饵料中微量元素的理论需求量(表 5)。

表 5 人工繁殖条件下日本鳗鲡鱼
卵微量元素含量(干物质基础)

Tab. 5 Trace elements contents of artificially reproduced *Anguilla japonica* eggs (dry weight)

微量元素 Trace elements	钾 K	钙 Ca	钠 Na	硅 Si
含量 Content /(mg/kg)	1 698.676	121.268	39.172	7.375

2.5 初孵仔鳗开口饵料中营养物质的理论需求量

通过人工繁殖获得的初孵仔鳗,其开口饵料的蛋白质和脂肪的理论需求量分别为 59.59% 和 40.86% (表 6)。C16:0 和 C22:6n3 的需求量较高,分别为 12.89% 和 11.39%,而 EPA 的含量建议在 1.87%,n-3 多不饱和脂肪酸的含量应为 14.91%,n-6 多不饱和脂肪酸的含量为 2.21%。除此之外,由于缬氨酸和异亮氨酸为限制性氨基酸(表 3),因此,饵料中缬氨酸和异亮氨酸的添加量应不小于鱼卵中的相应含量,即 0.42% 和 0.39%。饵料中微量元素的理论需求量参考表 5。

3 讨论

蛋白质是动物生长、维持生命的必要物质^[25]。鲜重基础上,人工繁殖获得的日本鳗鲡鱼卵中粗蛋白的含量为 10.56%,低于刺鲃(27.66%)^[20]、绒杜父鱼(17.26%)^[17]、施氏鲟(*Acipenser schrenckii*, 20.70%)^[26]、西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*, 20.38%)^[27]、小体鲟(*Acipenser ruthenus*, 18.40%)^[26]。根据计算得出初孵仔鳗开口饵料的理论需求量为 59.59%。熊邦喜等^[28]在 1996 年对鳗鲡饲料的研究中指出,玻璃鳗对饲料中蛋白质的需求量为 51.10%,幼鳗为 47.17%,成鳗为 46.70%。由此可见,随着生长发育,鳗鲡对蛋白质的需求量是逐渐降低的。本实验得出的初孵仔鳗的蛋白质需求量均高于上述三者,符合该规律。同时,文章还指出了玻璃鳗饲料中 EAA 的含量为 22.24%,而本实验检测结果显示,初孵仔鳗的 EAA 理论需求量为 3.19%,远低于玻璃鳗的需求。在近些年来的繁

表 6 人工繁殖条件下初孵仔鳊营养素的理论需求量(干重基础)

Tab.6 Theoretical requirements of nutrients of *Anguilla japonica* larvae (dry weight)

项目 Items	理论需求量 Theoretical requirement/%
蛋白质 Protein	59.59
脂肪 Fat	40.86
C14:0	0.70
C15:0	0.18
C16:0	12.89
C18:0	2.77
C20:0	0.29
C21:0	0.19
C22:0	0.25
C23:0	0.29
C24:0	0.32
C14:1	0.01
C15:1	0.03
C16:1	3.62
C17:1	0.18
C18:1n9c	2.73
C20:1	0.78
C22:1n9	0.32
C24:1	0.31
C18:2n6c	0.37
C18:3n3	1.35
C18:3n6	0.28
C20:2	0.38
C20:3n3	0.30
C20:3n6	0.32
C20:4n6	1.24
C20:5n3 (EPA)	1.87
C22:2	0.32
C22:6n3 (DHA)	11.39
n-3 PUFA	14.91
n-6 PUFA	2.21

殖实验中,本实验室人工催产下获得的初孵仔鳊早期存活率低,卵中的营养物质含量不足,低含量的 EAA 可能正是鳊苗在开口前夭折的原因。日本鳊鱼卵的 EAA/TAA 为 39.53%, EAA/NEAA 为 65.37%, 达到 FAO/WHO^[22] 提出的质量较好的蛋白质标准(EAA/TAA 在 40% 左右, EAA/NEAA 大于 60%), 说明鳊鱼卵的氨基酸组成配比达到平衡。虽然卵中的氨基酸含量较低,但在受精后仍可孵化出鳊苗且保证其存活一段时间,因此,人工繁殖鳊鱼卵中氨基酸含量可以作为饵料中的最低值。此外,相关研究显示调整鱼类饵料氨基酸比例可以促进生长,增强机体免疫。杨翼羽等^[29] 向鳊(*Aristichthys nobilis*) 和鲤

(*Cyprinus carpio*) 的开口苗投喂蛋氨酸强化的卤虫,发现开口苗的生长率会随着蛋氨酸的浓度上升而上升,同时,开口苗的抗氧化性酶活性上升。而在本实验的检测结果中,蛋氨酸的含量仅为 0.32%, 低于大多数氨基酸。因此,可以通过在开口料中增添蛋氨酸的配比,促进初孵仔鳊的生长发育,提高抗氧化能力,并延长其生存时间。缬氨酸是初孵仔鳊的第一限制性氨基酸,说明该氨基酸会影响仔鳊对其他氨基酸的利用,因此在开口饵料中,缬氨酸的含量一定要得到保证。在异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*) 的研究^[30] 中发现,缬氨酸可有效提高其幼鱼的特定生长率、饲料转换率等,相似的结果在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 的实验^[31] 中也有所体现。除此之外,缬氨酸还能提高机体的免疫能力,通过给草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[32] 投喂不同剂量的缬氨酸饲料,发现随着缬氨酸含量的增加,草鱼肠道中溶菌酶酸性磷酸酶的活性升高。因此,提高初孵仔鳊饲料中缬氨酸的含量,一方面保证鱼体机能的正常运转,另一方面改善苗种的摄食状况,增强幼苗的免疫力,延长生存时间。

日本鳊鱼卵中粗脂肪含量为 7.24% (鲜重), 低于俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedti*) (10.41%)^[27]、高白鲑(*Coregonus peled*) (10.90%)^[33]、凹目白鲑(*Coregonus autumnalis*) (9.20%)^[33], 高于虹鳟(*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 5.19%)^[34]、太门哲罗鲑(*Hucho taimen*, 6.43%)^[35]、刺鲃(3.18%)^[20]、绒杜父鱼(2.83%)^[17] 等的鱼卵,与金鳟(*Oncorhynchus mykiss*, 7.37%)^[36] 的鱼卵接近。干重基础下鳊鱼卵中粗脂肪含量高达 40.86%, 说明初孵仔鳊对脂肪需求量较高,在开口饵料的设计上,应考虑高脂肪的物质为基础。脂肪酸是机体主要的能量来源之一,鳊鱼卵的 SFA 占脂肪酸总量的 41.14%, 而其中又以 C16:0 的含量最高,达到 12.89%, 因此,开口饵料中应保证棕榈酸充足。PUFA 主要来源于深海鱼类,近年来的研究^[37] 指出 PUFA 能有效促进鱼类生长发育,提高鱼类的免疫力、存活率。鳊鱼卵中 PUFA 占脂肪酸总量的 40.69%, 而其中最重要的 DHA 含量为 25.98%, EPA 含量为 4.27%, EPA + DHA 含量为 30.25%。相关研究^[38-39] 指出部分海水鱼类,如真鲷(*Pagrosomus major*) 仔鱼,会优先使用其他

脂肪酸,保存 DHA 和 EPA,说明在仔鱼发育过程中,DHA、EPA 在营养摄取方面尤为重要。在卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*) 幼鱼的研究^[40]中发现,提高饲料中 DHA 的比例,幼鱼的粗蛋白含量会上升,肝脏中超氧化物歧化酶的活性先升后降,这就说明 DHA 促进了幼鱼对蛋白质的吸收,同时提高了幼鱼的抗氧化能力,但高含量 EPA 会降低其幼鱼的生存率。而在菊黄东方鲀幼鱼 (*Takifugu flavidus*) 的驯化转食过程中,增加 DHA 与 EPA 的含量有助于幼鱼发育完全^[41]。此外,DHA 与 EPA 的比值会影响幼鱼的生长,在石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*) 的研究^[42]中发现,这两者的比值在 3 时幼鱼生长状况最佳。所以在初孵仔鳗的开口饵料中,DHA 和 EPA 可按照本实验中测定出的理论需求量进行配比,也可添加适量 DHA 促进生长。对于亲鱼,可在人工繁殖前进行 DHA 和 EPA 的营养强化,但要控制好两者的比例。日本鳗鲡鱼卵中 n-3 脂肪酸与 n-6 脂肪酸的比值为 6.79,而 FAO/WHO 推荐的两者的比值为 0.1~0.2^[22],说明鳗鲡鱼卵所含的脂肪酸有着较高的营养价值。综上可知,人工繁殖所获得的日本鳗鲡鱼卵中脂肪酸含量丰富,为初孵仔鳗的发育提供了良好的基础。

日本鳗鲡鱼卵中钾、钙的含量较高,分别为 1 698.676 mg/kg 和 121.268 mg/kg。在鱼类身上,钾元素最主要的功能是调节机体的渗透压,同时还参与到维持神经正常敏感性、糖类代谢等过程^[43]。初孵仔鳗尚处在鱼鳔未形成的阶段,只能通过体液交换保证自身离子平衡,保持浮力,这些过程就需要大量的钾离子参与,因此,在初孵仔鳗的饲料中适当添加钾元素有利于它们更好的生长。钙是维持鱼类骨骼发育和牙齿构成的重要元素,通常状况下,鱼类从水环境中吸收的钙已满足自身对钙的需求^[44],因此本研究中检测出来的钙含量即可作为初孵仔鳗饲料中钙元素的理论需求量。

本实验预测日本鳗鲡初孵仔鳗开口饵料中蛋白质和脂肪的需求量分别为 59.59% 和 40.86%。由于检测出的氨基酸含量均较低,所以在给初孵仔鳗的饵料中氨基酸的量应该高于本实验的结果,可将实验中得出氨基酸含量作为饲料中的最低值,特别是作为第一限制氨基酸的缬氨酸。在脂肪酸的配比中,可根据仔鳗的生长

状况适当增加饵料中 DHA 的含量,而 EPA 的含量可将实验中的值作为理论参考值。

参考文献:

- [1] HIBIYA T. Success in collecting fully matured eel eggs [J]. *Aquaculture (Yoshoku)*, 1970, 3:12-15.
- [2] ISHIDA O, ISHII T. Studies on the artificial maturation of Japanese eel, *Anguilla japonica*-II: Induction of maturation by mammalian gonadotrophic hormones [J]. *Aquaculture Science*, 1971, 19(5/6):195-200.
- [3] YAMAMOTO K, MORIOKA T, HIROI O, et al. Artificial maturation of female Japanese eels by the injection of salmonid pituitary [J]. *Nihon-suisan-gakkai-shi*, 1974, 40(1):1-7.
- [4] IJIRI S, TSUKAMOTO K, CHOW S, et al. Controlled reproduction in the Japanese eel (*Anguilla japonica*), past and present [J]. *Aquaculture Europe*, 2011, 36:13-17.
- [5] MASUDA Y, IMAIZUMI H, ODA K. Artificial Completion of the Japanese Eel, *Anguilla japonica*, Life Cycle: Challenge to Mass Production (The 39th Scientific Symposium of UJNR Aquaculture Panel: The Present and Future of the Aquaculture Industry) [R]. 水産総合研究センター研究報告, 2012:111-117.
- [6] OTAKE T, NOGAMI K, MARUYAMA K. Dissolved and particulate organic-matter as possible food sources for Eel Leptocephali [J]. *Marine Ecology Progress*, 1993, 92(1/2): 27-34.
- [7] MOCHIOKA N, IWAMIZU M. Diet of *Anguilloid* larvae: leptocephali feed selectively on larvacean houses and fecal pellets [J]. *Marine Biology*, 1996, 125(3): 447-452.
- [8] PFEILER E. Developmental physiology of eel leptocephali [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology*, 1999, 123(2): 113-128.
- [9] GOVONI J. Feeding on protists and particulates by the leptocephali of the worm eels *Myrophis* spp. (Teleostei: Anguilliformes: Ophichthidae), and the potential energy contribution of large aloricate protozoa [J]. *Scientia Marina*, 2010, 74(2):339-344.
- [10] TSUKAMOTO K. Recruitment mechanism of the eel, *Anguilla japonica*, to the Japanese Coast [J]. *Journal of Fish Biology*, 2010, 36(5):659-671.
- [11] ISHIKAWA S, SUZUKI K, INAGAKI T, et al. Spawning time and place of the Japanese eel *Anguilla japonica* in the North Equatorial Current of the Western North Pacific Ocean [J]. *Fisheries Science*, 2001, 67(6):1097-1103.
- [12] TANAKA H, KAGAWA H, OHTA H, et al. The first report of eel larvae ingesting rotifers [J]. *Fisheries Science*, 2008, 61.
- [13] OKAMURA A, YAMADA Y, HORIE N, et al. Hen egg yolk and skinned krill as possible foods for rearing leptocephalus

- larvae of *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel [J]. Aquaculture Research, 2013, 44(10):1531-1538.
- [14] SKOOG A, ALLDREDGE A, PASSOW U, et al. Neutral aldoses as source indicators for marine snow [J]. Marine Chemistry, 2008, 108(3/4):195-206.
- [15] COWEN J P, HOLLOWAY C F. Structural and chemical analysis of marine aggregates; in situ macrophotography and laser confocal and electron microscopy [J]. Marine Biology, 1996, 126(2):163-174.
- [16] 刘利平, 刘登攀, 蒲金成, 等. 日本鳗鲡仔鱼的开口饵料和行为特征[J]. 水产学报, 2017, 41(5):703-710.
- LIU L P, LIU D P, PU J C, et al. Effects of different initial diets on the survival and behavior characteristics of the larvae of Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(5):703-710.
- [17] 杨晶晶, 姜志强, 左然涛, 等. 绒杜父鱼卵营养成分分析及评价[J]. 动物营养学报, 2014, 26(4):1103-1110.
- YANG J J, JIANG Z Q, ZUO R T, et al. Nutritional analysis and evaluation on eggs of *Hemitripterus villosus* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(4):1103-1110.
- [18] MOURENTE G, VÁZQUEZ 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 Physiology & Biochemistry, 1996, 15(3):221.
- [19] POUSAO FERREIRA P, MORAIS S, DORES E, et al. Eggs of gilthead seabream *Sparus aurata* L. as a potential enrichment product of *Brachionus* sp. in the larval rearing of gilthead seabream *Sparus aurata* L. [J]. Aquaculture Research, 1999, 30(10):751-758.
- [20] 李成, 程小飞, 洪波, 等. 刺鲃鱼卵营养成分分析及评价[J]. 动物营养学报, 2016, 28(7):2204-2212.
- LI C, CHENG X F, HONG B, et al. Nutritional analysis and evaluation on eggs of *Spinibarbus caldwelli* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(7):2204-2212.
- [21] 蒲金成, 湛嘉, 刘登攀, 等. 人工诱导日本鳗鲡成熟过程中血清及性腺内类固醇激素含量的变化[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(1):48-54.
- PU J C, ZHAN J, LIU D P, et al. The determination of steroid hormones in *Anguilla japonica* gonad and blood during the artificial induction of maturation by UPLC-MS/MS [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(1):48-54.
- [22] FAO/WHO. Energy and protein requirements [M]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1973:63.
- [23] 中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所. 食物成分表[M]. 北京:人民卫生出版社, 1991.
- INSTITUTE FOR NUTRITION AND FOOD SAFETY OF THE CHINESE CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Food Composition [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [24] P. L. 佩利特, V. R. 扬. 蛋白质食物的营养评价[M]. 北京:人民卫生出版社, 1984.
- PELLETT P L, YOUNG V R. Nutritional evaluation of protein foods [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984.
- [25] 周柳, 朱少轩, 李小霞, 等. 太平洋双色鳗鲡肌肉营养成分分析与评价[J]. 广东农业科学, 2014, 41(12):105-109.
- ZHOU L, ZHU S X, LI X X, et al. Basic components analysis and nutritive value evaluation of *Anguilla bicolor pacifica* muscle [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(12):105-109.
- [26] 刘晓勇, 索力, 张颖, 等. 三种养殖鲟鱼卵营养成分的比较分析[J]. 淡水渔业, 2014, 44(5):82-86.
- LIU X Y, SUO L, ZHANG Y, et al. An analysis of the nutritive composition of eggs in three cultured sturgeons [J]. Freshwater Fisheries, 2014, 44(5):82-86.
- [27] 高露皎, 夏永涛, 黄艳青, 等. 俄罗斯鲟鱼卵与西伯利亚鲟鱼卵的营养成分比较[J]. 海洋渔业, 2012, 34(1):57-63.
- GAO L J, XIA Y T, HUANG Y Q, et al. Comparison of nutritive components of eggs between *Acipenser gueldenstaedti* and *Acipenser baerii* [J]. Marine Fisheries, 2012, 34(1):57-63.
- [28] 熊邦喜, 龙良启, 苏夏, 等. 国产鳗鲡饲料中蛋白质与必需氨基酸含量的测定[J]. 华中农业大学学报, 1996(1):60-63.
- XIONG B X, LONG L Q, SU X, et al. Crude protein and essential amino acid contents among eel feeds made in China [J]. Journal Huazhong Agricultural University, 1996(1):60-63.
- [29] 杨翼羽, 陈玉珂, 林伟杰, 等. L-蛋氨酸强化卤虫对鳃开口苗生长、氨基酸组成及相关酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2017, 45(1):14-20.
- YANG Y Y, CHEN Y K, LIN W J, et al. Effects of L-methionine enriched *Artemia nauplii* on growth, amino acids composition and enzyme activities of the first feeding larvae of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. Journal of Northwest A & F University, 2017, 45(1):14-20.
- [30] 李桂梅, 解绶启, 雷武, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料中缬氨酸需求量的研究[J]. 水生生物学报, 2010, 34(6):1157-1165.
- LI G M, XIE S Q, LEI W, et al. Dietary valine requirement for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 36(6):1157-1165.
- [31] 周歧存, 王用黎, 黄文文, 等. 凡纳滨对虾幼虾的缬氨酸需要量[J]. 动物营养学报, 2015, 27(2):459-468.
- ZHOU Q C, WANG Y L, HUANG W W, et al. Valine requirement of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(2):459-468.
- [32] LUO J B, FENG L, JIANG W D, et al. The impaired intestinal mucosal immune system by valine deficiency for

- young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) is associated with decreasing immune status and regulating tight junction proteins transcript abundance in the intestine [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 40 (1): 197-207.
- [33] 郭焱, 马燕武, 蔡林刚, 等. 赛里木湖高白鲑和凹目白鲑肌肉、卵的营养分析评价[J]. *水产学杂志*, 2004, 17 (1): 62-67.
- GUO Y, MA Y W, CAI L G, et al. Analysis of the nutritive composition in muscle and eggs of *Coregonus peled* and *Coregonus autumnalis* in Sailimu Lake [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2004, 17 (1): 62-67.
- [34] 姜作发, 刘永, 卢彤岩, 等. 两种颜色虹鳟卵氨基酸、脂肪酸含量的比较[J]. *大连水产学院学报*, 2004, 19 (4): 306-308.
- JIANG Z F, LIU Y, LU T Y, et al. Amino acid and fatty acid levels in rainbow trout eggs with different colors [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2004, 19 (4): 306-308.
- [35] 张永泉, 尹家胜, 郭文学, 等. 太门哲罗鲑成熟卵子营养成分分析及评价[J]. *食品科学*, 2015, 36 (4): 97-100.
- ZHANG Y Q, YIN J S, GUO W X, et al. Analysis of Nutritional Components and Evaluation of Nutritive Quality of Mature Eggs from *Hucho taimen* [J]. *Food Science*, 2015, 36 (4): 97-100.
- [36] 蒋左玉, 李建, 姚俊杰, 等. 山泉水人工养殖金鳟鱼卵及鱼皮营养成分的测定与分析[J]. *食品科学*, 2015, 36 (1): 234-239.
- JIANG Z Y, LI J, YAO J J, et al. Nutritional components of eggs and skin of *Oncorhynchus mykiss* (*Walbaum*) cultured in spring water [J]. *Food Science*, 2015, 36(1): 234-239.
- [37] 许友卿, 李伟峰, 丁兆坤. 多不饱和脂肪酸对鱼类免疫与成活的影响及机理[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 551-556.
- XU Y Q, LI W F, DING Z K. Effects of polyunsaturated fatty acids on immunity and survival of fish and their mechanisms [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(3): 551-556.
- [38] RODRIGUEZ C, PEREZ J A, LORENZO A, et al. n-3 HUFA requirement of larval gilthead seabream *Sparus aurata*, when using high levels of eicosapentaenoic acid [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A Physiology*, 1994, 107(4): 693-698.
- [39] RAINUZZO J R, REITAN K I, JØRGENSEN L, et al. Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A Physiology*, 1994, 107 (4): 699-710.
- [40] 戚常乐. LNA、ARA、DHA 和 EPA 对卵形鲳幼鱼生长及免疫影响的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- QI C L. The study on effects of dietary LNA, ARA, DHA and EPA levels on growth performance and immunity of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) [D]. Shanghai: Journal of Shanghai Ocean University, 2016.
- [41] 施永海, 谢永德, 刘永士, 等. 菊黄东方鲀幼鱼转食过程中生长和脂肪酸组成变化[J]. *上海海洋大学学报*, 2017, 26(1): 48-56.
- SHI Y H, XIE Y D, LIU Y S, et al. The changes in growth and fatty acid composition of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) juvenile during the bait conversion period [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2017, 26(1): 48-56.
- [42] WU F C, TING Y Y, CHEN H Y. Docosahexaenoic acid is superior to eicosapentaenoic acid as the essential fatty acid for growth of grouper, *Epinephelus malabaricus* [J]. *Journal of Nutrition*, 2002, 132 (1): 72.
- [43] 朱伟星, 睢敏, 何亚丁, 等. 钾在水产动物中的生理作用和营养代谢功能[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(5): 1174-1179.
- ZHU W X, JU M, HE Y D, et al. Physiological and nutrient metabolic functions of potassium in aquatic animals [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26 (5): 1174-1179.
- [44] 聂家全, 董晓慧, 谭北平, 等. 鱼类钙、磷营养研究进展[J]. *饲料工业*, 2014 (s1): 34-40.
- NIE J Q, DONG X H, TAN B P, et al. The research progress of the calcium and phosphorus nutrition in fishes [J]. *Feed Industry*, 2014 (s1): 34-40.

Nutritional analysis and evaluation of eggs from the artificially induced maturation *Anguilla japonica*

LI Yuangu^{1,2,3}, LI Kang^{1,2,3}, LIU Liping^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Since an appropriate initial feed for *Anguilla japonica* larvae is still the bottleneck of eel artificial reproduction, the nutritional analysis of its eggs could provide knowledge to study the initial feed. The contents of common nutritional components, trace elements, amino acid and fatty acid were detected using conventional analytical methods. The results showed that the contents of crude protein, crude fat, moisture and ash in fresh eggs of *Anguilla japonica* were 10.54%, 7.24%, 82.28% and 0.78%, respectively. Seventeen amino acids including 7 essential amino acids (EAA) and 10 nonessential amino acids (NEAA) were found in *Anguilla japonica* eggs. The contents of total amino acids (TAA), EAA and NEAA were 8.07%, 3.19% and 4.88%, respectively. According to the FAO/WHO standard of amino acid score (A_{AAS}) and chemical score (C_{CS}), the first limiting amino acid was valine, and the second limiting amino acid was isoleucine. Essential amino acid index (EAAI) of *Anguilla japonica* eggs was 7.79%. There were 27 fatty acids detected in eggs, including 9 saturated fatty acids (SFA), 8 mono-unsaturated fatty acids (MUFA), and 10 polyunsaturated fatty acids (PUFA). The composition of SFA, MUFA and PUFA were 41.14%, 18.19% and 40.69%, respectively, with EPA + DHA taking the 30.25% of total fatty acids. The potassium (K) and calcium (Ca) of the *Anguilla japonica* eggs were 1 698.676 mg/kg and 121.268 mg/kg, respectively. The high level of DHA is commonly found in marine fish, and the limited content of amino acids might cause the short survival time of larvae.

Key words: *Anguilla japonica*; egg; amino acid; fatty acid; trace elements