

# 瓯江彩鲤胚胎发育过程中脂、蛋白及碳水化合物水平的变化

何登菊<sup>①</sup> 姚俊杰<sup>①\*</sup> 赵云龙<sup>②</sup> 姜海波<sup>②</sup>

① 贵州大学动物科学学院水产科学系 贵阳 550025; ② 华东师范大学生命科学学院 上海 200062

**摘要:**为了探究鱼类胚胎发育过程中主要营养物质消耗利用的规律,采用生物化学方法测定了瓯江彩鲤(*Cyprinus carpio* var. *color*)胚胎发育过程中7个发育期的主要生化成分。结果表明,(1)瓯江彩鲤受精卵期水分含量达70%以上,随着发育的进行,胚胎的含水量呈逐渐上升的趋势;(2)胚胎发育过程中脂质的利用主要集中在胚胎发育的晚期,总脂中磷脂的含量低于中性脂,且磷脂含量随胚胎发育进程明显下降,而中性脂含量趋于稳定;(3)胚胎发育过程中粗蛋白的含量明显增加,可溶性蛋白的含量逐渐降低;(4)胚胎碳水化合物的含量较低,其中胚胎发育早期含量最低,至神经胚期含量又出现回升。

**关键词:**瓯江彩鲤;胚胎发育;生化组成

中图分类号:Q492 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2011)02-102-06

## Changes in Lipids, Protein and Carbohydrate Composition during Embryonic Development of *Cyprinus carpio* var. *color*

HE Deng-Ju<sup>①</sup> YAO Jun-Jie<sup>①\*</sup> ZHAO Yun-Long<sup>②</sup> JIANG Hai-Bo<sup>②</sup>

① Department of Aquaculture Science, College of Animal Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025;

② School of Life Science, East Normal University, Shanghai 200062, China

**Abstract:** Changes in biochemical compositions during embryonic development were studied in *Cyprinus carpio* var. *color* by biochemical methods. The water content of fertilized eggs accounted for more than 70% and increased during the incubation period. Lipid utilization mainly occurred in the late embryonic development. The content of phospholipids was higher than that of neutral lipids and decreased with embryonic development, while the neutral lipids nearly remained constant. During embryonic development the total protein content increased significantly, contrary to the change of soluble protein. The carbohydrate content in embryos of *C. c.* var. *color* was very low, and a significant decrease was observed during embryogenesis, however, the carbohydrate content was increased close to the time of hatching.

**Key words:** *Cyprinus carpio* var. *color*; Embryonic development; Biochemical composition

胚胎发育期是鱼类早期发育的重要阶段,是鱼类依靠内源营养进行必要的生理活动的重要阶段。在此期间,脂质、蛋白质和糖类等基本生化成分的变化表现出一定的规律性,并具有种间的特殊性。从生物能量学的角度来看,则表现为主要能源物质在发育过程中有规律的变化,各能量物质按一定顺序被利用。胚胎发育

的营养利用和形态发生密切相关,研究胚胎期

**基金项目** 贵州大学自然科学专项基金项目(No. 701136303),贵州省教育厅培育项目(No. 701136105);

\* 通讯作者, E-mail: junjieyao@163.com;

**第一作者介绍** 何登菊,女,硕士研究生;研究方向:水生动物繁殖与发育生物学; E-mail: hedengju456@163.com。

收稿日期:2010-07-19,修回日期:2011-01-07

营养与发生的相关性已经成为当前虾蟹、鱼类繁殖生物学的一个重要内容<sup>[1-5]</sup>。对胚胎和卵黄囊期仔鱼来说,合适的营养对它们的存活和发育起着至关重要的作用,因为这一阶段的生长和发育所需要的营养完全由卵黄中的营养物质提供。不同的鱼所提供的卵黄营养不同,胚胎及仔鱼对它们的利用顺序(利用速率)也有物种间的差异。系统地研究胚胎发育各期主要生化组成含量的变化,有助于认识胚胎发育期间的能量来源和利用模式,对揭示维持胚胎、早期仔鱼生命活动的营养物质及探索生化成分的利用和转化规律有重要意义,进而可以为亲本营养需求提供依据。

瓯江彩鲤(*Cyprinus carpio* var. *color*)属鲤形目鲤科鲤亚科,俗称青田田鱼,1999年由李思发命名为瓯江彩鲤,是浙江省瓯江流域传统的养殖鱼类。据记载,在龙泉市已有1200余年的养殖历史,2005年浙江青田县的青田田鱼稻鱼共生系统被联合国粮农组织列为全球农业文化遗产保护项目。我们在基本了解了瓯江彩鲤生殖、生长及胚胎形态发生的基础上,在实验条件下,对瓯江彩鲤不同发育时期胚胎的体积、水分、脂质、蛋白质及碳水化合物的变化进行了测定和分析,以期深入了解瓯江彩鲤胚胎发育过程中能量来源、组成变化和利用模式,丰富淡水鱼类胚胎发育研究的生物学内容。

## 1 材料与amp;方法

**1.1 材料** 亲鱼来源于贵州大学实验鱼场。在繁殖盛期随机选取成熟的亲鱼,采用干法人工授精获得受精卵,将消除粘性的受精卵置于室内水族箱中,在18~23℃的室温条件下静水孵化,每天换水两次。根据瓯江彩鲤胚胎及胚后发育的分期观察胚胎发育过程,在授精后0 min 受精卵期(I)、授精后1 h 53 min 卵裂期(II)、授精后7 h 58 min 囊胚期(III)、授精后14 h 43 min 原肠胚期(IV)、授精后24 h 48 min 神经胚期(V)、授精后44 h 15 min 眼黑色素出现期(VI)、授精后98 h 48 min 出膜前期(VII)共7个发育时期分别取样,用滤纸吸干水分后,

在电子天平上称湿重(精确至0.0001 g),保存于-80℃的低温冰箱中备用。同一批亲鱼7个不同时期的样本为一组,共设3个平行组。

**1.2 方法** 取各个时期的胚胎,在显微镜下用目测微尺分别逐个测量胚胎。由于瓯江彩鲤的胚胎大多呈卵圆形,分别测量其长径和短径。胚胎体积( $V$ )用椭圆体积公式计算, $V = (\pi/6) \cdot L \cdot h^2$ ,式中, $L$ 为卵黄囊长径, $h$ 为卵黄囊短径。取20 g左右各期新鲜胚胎,先在75℃下烘3 h,之后在105℃下烘至恒重,测定水分含量。粗蛋白含量按改进的凯氏定氮法测定<sup>[6]</sup>;可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝法测定,以牛血清蛋白作标准。总脂分析采用Bligh等的方法<sup>[7]</sup>,即用氯仿:甲醇(体积比1:2)抽提法测定总脂的含量,中性脂和磷脂的提取采用溶剂法(液-液体分离法)。碳水化合物采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定,标样为葡萄糖,用752分光光度计比色。

**1.3 数据分析** 用SPSS 17.0软件对相应的数据进行方差分析和Duncan多重比较检验。文中描述性统计值用平均值±标准差(Mean±SD)表示,显著性水平设置为 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 胚胎发育不同阶段体积及其含水量变化

瓯江彩鲤各发育时期胚胎的水分含量变化见图1。瓯江彩鲤胚胎水分含量较高,占胚胎的70%以上。整个胚胎发育过程中的含水量呈上升的趋势,第I期的水分含量最低,占胚胎重量的76.35%,以后逐渐增高,发育到第VII期含水量高达82.06%。其中第IV期到第V期、第VI期到第VII期各有一个显著的升高过程,分别由78.68%增至80.19%、80.72%增至82.06%。由图1可知,瓯江彩鲤胚胎发育时期的体积变化与其水分含量表现出相似的变化趋势,从第I期的9.33 mm<sup>3</sup>增加至第VII期的14.79 mm<sup>3</sup>。前两个时期增加迅速,增幅达8.15%、9.02%,后续发育各期增幅有所减缓,各期增幅分别为3.4%、5.01%、7.2%、4.7%。

### 2.2 脂质含量的变化 瓯江彩鲤胚胎时期脂

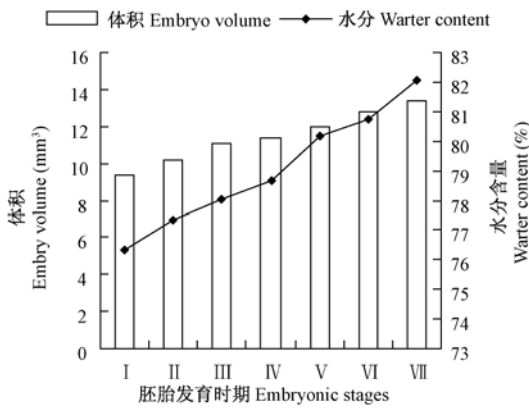


图1 瓯江彩鲤胚胎发育过程中体积及其含水量的变化  
 Fig.1 Variation in volume and water content during embryonic development

质含量占胚胎干重的 19.67% ~ 12.54% , 在受精卵期含量最高, 总脂含量在胚胎发育过程中呈下降趋势(表 1), 原肠胚期之前下降较为缓慢, 从神经胚期胚胎的脂质含量急剧下降, 由受精卵期的  $(0.32 \pm 0.03) \mu\text{g}/\text{卵}$  下降到出膜前的  $(0.20 \pm 0.06) \mu\text{g}/\text{卵}$ , 降幅为 37.50%。胚胎发育过程中磷脂的含量也明显下降, 降幅为 36.36%, 磷脂/总脂比率在胚胎发育期从 62.27% 下降到 58.74%。中性脂含量在胚胎发育过程中基本保持稳定, 但从中性脂/总脂的比率来看, 从受精卵期到孵化前期, 中性脂在总脂中所占的百分比从 36.83% 上升到 41.26%。

表 1 瓯江彩鲤胚胎发育各期脂质的含量(湿重, Mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ )

Table 1 Lipid content during embryonic development of *Cyprinus carpio* var. *color* (wet weight, Mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ )

胚胎发育时期 Embryonic stages	总脂( $\mu\text{g}/\text{卵}$ ) Total lipids ( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )	磷脂( $\mu\text{g}/\text{卵}$ ) Phospholipids ( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )	中性脂( $\mu\text{g}/\text{卵}$ ) Neutral lipids ( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )
I	$0.32 \pm 0.03^a$	$0.22 \pm 0.04^a$	$0.11 \pm 0.08$
II	$0.30 \pm 0.07^a$	$0.21 \pm 0.05^a$	$0.12 \pm 0.09$
III	$0.29 \pm 0.01^a$	$0.20 \pm 0.09^a$	$0.11 \pm 0.02$
IV	$0.28 \pm 0.02^a$	$0.19 \pm 0.04^a$	$0.13 \pm 0.08$
V	$0.26 \pm 0.02^a$	$0.17 \pm 0.06^a$	$0.10 \pm 0.09$
VI	$0.24 \pm 0.00^a$	$0.16 \pm 0.00^b$	$0.11 \pm 0.01$
VII	$0.20 \pm 0.06^b$	$0.14 \pm 0.05^b$	$0.09 \pm 0.04$

每列数值的上标字母不同, 表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different superscript letters within the same vertical row represent significant difference ( $P < 0.05$ ).

**2.3 粗蛋白、可溶性蛋白及碳水化合物含量的变化** 在瓯江彩鲤胚胎发育过程中, 其粗蛋白含量总体呈显著上升的趋势 ( $F_{7,14} = 20.79, P < 0.05$ ), 如图 2 所示。受精卵期的粗蛋白含量最低, 为  $(0.51 \pm 0.01) \text{mg}/\text{卵}$ , 占干重的 70.18%。从卵裂期开始粗蛋白出现上升, 到出膜期上升至  $(0.60 \pm 0.13) \text{mg}/\text{卵}$ , 占干重的 76.67%。可溶性蛋白含量的变化与粗蛋白含量正好相反, 总体呈下降的趋势(图 2)。方差分析表明, 可溶性蛋白的含量在不同发育时期的变化极为显著 ( $F_{7,14} = 22.33, P < 0.01$ )。受精卵的可溶性蛋白含量最高, 为  $(0.19 \pm 0.02) \text{mg}/\text{卵}$ , 胚胎发育至原肠胚期, 其可溶性蛋白含量已降至  $(0.14 \pm 0.02) \text{mg}/\text{卵}$ 。此后,

胚胎的可溶性蛋白含量下降较为平稳, 至出膜期, 胚胎的可溶性蛋白含量已降至  $(0.1 \pm 0.01) \text{mg}/\text{卵}$ 。

在瓯江彩鲤胚胎发育过程中, 其碳水化合物的含量较低, 只占胚胎干重的 7.88% ~ 11.88%, 总体呈显著下降后又上升的趋势(图 2)。方差分析表明, 碳水化合物含量在不同发育时期的变化显著 ( $F_{7,14} = 16.77, P < 0.05$ )。受精卵期的碳水化合物含量最高, 为  $(0.89 \pm 0.31) \mu\text{g}/\text{卵}$ , 占干重的 0.89%。从卵裂至原肠胚期, 其碳水化合物含量降低的幅度较大, 之后, 胚胎的碳水化合物含量相对稳定, 略上升(图 2)。从眼黑色素期以后, 胚胎的碳水化合物含量又急剧下降, 至出膜前期胚胎的碳水化

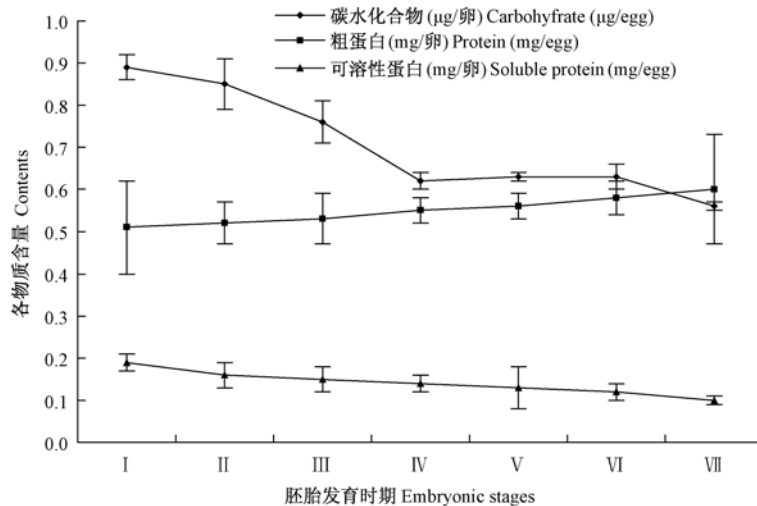


图2 瓯江彩鲤胚胎发育过程中碳水化合物、粗蛋白及可溶性蛋白的变化

Fig. 2 Variation in carbohydrate, total protein and soluble protein contents during embryonic development of *Cyprinus carpio* var. *color*

合物含量已降至 $(0.56 \pm 0.01) \mu\text{g}/\text{卵}$ ,占胚胎干重的7.88%。

### 3 讨论

**3.1 水分含量的变化** 瓯江彩鲤受精卵期水分含量较高,达75%以上,随着发育的进行,胚胎的含水量呈逐渐上升的变化趋势,从受精卵期至出膜前期水分含量迅速增加了7.5%,相似的结果在银鲟鱼(*Pampus argenteus*)及军曹鱼(*Rachycentron canadum*)等多种鱼类中也有报道<sup>[8-9]</sup>。

瓯江彩鲤在胚胎发育过程中之所以始终保持如此高的含水量,特别是神经胚期和出膜前期,胚胎内水分含量急剧增加,一方面因为卵子受精后,受精膜的快速膨胀吸收了较多的水分,而后由于神经胚期构成组织或器官的细胞开始增多,含水量相应增加有利于营养物质的运输和代谢,同时代谢水的保留也会逐渐地增多;另一方面,胚胎内水分含量的变化与卵黄的减少有关,随着卵黄的逐渐消耗,胚胎靠水分补充来使细胞及机体保持确定的形状,以维持其正常的功能。田华梅等的相关研究也证实了这一点<sup>[10]</sup>。同时,在胚胎发育末段的出膜前期,胚胎通过吸入大量的水分,以增加内压来打破卵

膜而帮助幼体破膜而出,同样的研究结果在Calado等的研究中出现过<sup>[11]</sup>。体积的变化与水分的变化有很大同步性,整个胚胎发育过程中体积增加了43.73%,这正好验证了水分变化规律的正确性,因为水分增加了体积自然会增加。

**3.2 总脂、中性脂和磷脂的含量变化** 脂质是鱼类胚胎发育过程中重要的代谢能源,参与能量代谢的脂质数量及脂质种类随着鱼类的不同而变化。瓯江彩鲤胚胎中脂质含量随胚胎发育而降低的结果表明,卵黄中大量脂质被不断分解,为新组织、新器官的形成和生长提供了物质和能量基础。实验中我们发现,胚胎发育过程中脂质的利用明显地分为两个阶段。胚胎发育早期,由于受精卵到原肠期是胚胎细胞分裂和原基器官形成的重要时期,除部分为胚胎发育提供能量外,可能主要用于构建生物膜等结构物质;胚胎发育的晚期,特别是眼黑色素期后,脂质的含量急剧降低,与此期大量器官原基的形成和发育需要较多的能量密切相关。从眼黑色素期开始到胚胎发育完全是感觉器官、消化器官和各种组织、器官分化和形成的关键时期,期间胚胎新陈代谢旺盛,所以脂质可能为此阶段的各项生理活动提供较多能量。胡先成

等<sup>[12]</sup>的研究也指出,河川沙塘鳢(*Odontobutis potam ophila*)的胚胎发育至眼黑色素期出现时,其细胞、组织分化速度加快,眼和脑等器官系统也处于快速发育阶段,脂质被大量利用,使其含量急剧降低。

不同物种间不同的脂质利用变化主要是由于各物种的胚胎发育所需的营养不同,因此胚胎对脂质的吸收有一定的选择性<sup>[13]</sup>。影响脂质选择性吸收的因素很多,根据鱼类卵及胚胎中主要脂质的利用情况,一般可将鱼类胚胎的能量利用方式分为两种类型。一种是鱼类在胚胎发育过程中主要利用中性脂如甘油三酯、酯等作为能量来源,如虹鳟(*Sciaenops ocellata*)<sup>[14]</sup>属于这一类型的鱼,这一类型的鱼基本都含有油球,且油球的成分主要是中性脂,所以这一类型鱼的胚胎其脂质含量特别是中性脂的含量都较高。而另一种类型的鱼类如大西洋真鳕(*Gadus morhua*)<sup>[15]</sup>、大西洋比目鱼(*Hippoglossus hippoglossus*)<sup>[16]</sup>及条斑星鲽(*Verasper moseri*)<sup>[17]</sup>都没有油球结构,这些鱼类的卵及胚胎内的脂质含量都相对较低,且磷脂被认为是胚胎发育的主要能量来源。瓯江彩鲤胚胎在不同发育阶段总脂中磷脂及中性脂的含量变化(图1)表现出与第二类型鱼类相似的特征。其总脂中磷脂的含量低于中性脂,在胚胎发育过程中,磷脂的含量出现明显的下降趋势,降幅为35.89%,表明磷脂是瓯江彩鲤胚胎发育过程的主要能源物质;而中性脂含量趋于稳定,虽略有下降,但主要体现在晚期,显示出储存于卵黄中的中性脂在胚胎发育过程中主要转化成了胚胎组织器官中的组成成分。也有学者指出,中性脂和磷脂被选择作为能量消耗的程度可能与温度对代谢过程的影响有关<sup>[16,18]</sup>。瓯江彩鲤胚胎发育过程优先利用磷脂作为能量物质,与大多数冷水性的鱼类不同,冷水性鱼类胚胎发育过程中一般中性脂和磷脂都作为能量被消耗<sup>[19]</sup>,也与温水性鱼类胚胎中中性脂优于极性脂被利用<sup>[17]</sup>不同,表明不同鱼类的胚胎发育期在营养物质的利用上有其自身的特殊性。

### 3.3 粗蛋白及碳水化合物含量的变化 卵黄

的营养物质主要是卵黄蛋白和脂质,不同鱼类的营养利用策略各不相同。蛋白质是生命现象的物质基础,在生命体内占有特殊的地位。与脂质的变化趋势不同,瓯江彩鲤整个胚胎发育过程中,粗蛋白的含量明显增加,与河川沙塘鳢<sup>[12]</sup>等淡水鱼类不同,在这些鱼类的胚胎发育过程中,其卵黄蛋白被作为能量消耗而逐渐降低,但与大西洋真鳕<sup>[2]</sup>、及海鲷(*Latescalcarife*)<sup>[20]</sup>中观察到粗蛋白含量上升的趋势相同。从眼黑色素期开始,瓯江彩鲤胚胎中粗蛋白含量急剧上升,在整个胚胎发育过程中,其粗蛋白含量上升了17.65%,可能是由于自由氨基酸的合成,也可能是受精后,胚胎开始启动细胞分裂和组织的分化,随着各组织、器官的不断形成,蛋白质的合成也随之迅速增长,尤其在眼黑色素期后发育变化较大时期,蛋白质的含量也变化较大。

瓯江彩鲤胚胎可溶性蛋白含量的变化与粗蛋白相反,受精卵期的可溶性蛋白含量占干重的57.18%,出膜前期下降到29.33%。在胚胎发育过程中,可溶性蛋白逐渐被水解为氨基酸,不仅为胚胎发育过程中组织构建提供物质基础,也为维持胚胎的新陈代谢提供能量。因此,根据瓯江彩鲤胚胎粗蛋白与可溶性蛋白的变化规律可以看出,卵内的营养物质不断进行着异化与同化作用,一部分的可溶性蛋白转化为蛋白质用于构建组织和器官,另一部分可溶性蛋白则被分解,为胚胎发育提供能量。胡先成等<sup>[12]</sup>在河川沙塘鳢胚胎的研究中指出,可溶性蛋白的含量在胚胎发育前期缓慢下降,从眼晶体期才开始急剧下降,这与瓯江彩鲤胚胎中可溶性蛋白在整个胚胎发育过程中都显著下降不同,体现了不同物种对可溶蛋白中卵黄蛋白的利用以及形成器官组织蛋白存在时间上的差异。

碳水化合物主要为糖类物质,也可以为鱼类提供能量。碳水化合物及其衍生物还是鱼体组织细胞的组成成分,也是合成体脂的重要原料,为鱼、虾合成必需氨基酸提供碳架<sup>[8,10]</sup>。瓯江彩鲤胚胎中碳水化合物的含量较低,最高值

也只有 0.89%,但在胚胎发育早期,碳水化合物的含量显著降低,主要是与胚胎发育启动后,受精卵进入快速卵裂和分化为囊胚、原肠胚的时期,在胚胎由单细胞变为多细胞的过程中,需要水解大量的碳水化合物参与细胞构建以及合成多种复合物,这些复合物在细胞分化中起着重要的信号传递作用,同时,从瓯江彩鲤胚胎发育早期脂质含量下降缓慢以及粗蛋白含量的上升可以看出,部分碳水化合物参与形成各种蛋白、脂质复合物。值得注意的是,经过卵裂等几个时期的快速发育后,碳水化合物又出现一个调整和重新积累的过程,至神经胚期碳水化合物的含量又出现回升,眼黑色素期后是瓯江彩鲤胚胎形成各种组织和器官的关键时期,糖类作为结构物质参与构建不可缺少,所以碳水化合物的含量又出现下降。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Fyhn H J, Serigstad B. Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod *Gadus morhua*. *Mar Biol*,1987,96: 335 - 341.
- [ 2 ] Finn R N, Fyhn H J, Evjen M S. Physiological energetics of developing embryos and yolk-sac larvae of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Mar Biol*,1995,124: 355 - 369.
- [ 3 ] Cejas J R, Almansa E, Jérez S, et al. Changes in lipid class and fatty acid composition during development in white seabream (*Diplodus sargus*) eggs and larvae. *Comp Biochem Physiol B*,2004, 139: 209 - 216.
- [ 4 ] Clarke A, Brown J H, Holmes L J. The biochemical composition of eggs from *Macrobrachium rosenbergii* in relation to embryonic development. *Comp Biochem Physiol B*, 1990, 96: 505 - 511.
- [ 5 ] Rosa R, Calado A M. Changes in amino acids and lipids during embryogenesis of European lobster, *Homarus gammarus* (Crustacea; Decapoda). *Comp Biochem Physiol B*, 2005, 140:241 - 249.
- [ 6 ] 刘宗柱,朱风华,徐永立,等.凯氏定氮法测定牙鲆肌肉粗蛋白含量方法的改进. *实验与技术*,1999(6): 1 - 3.
- [ 7 ] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, 1959, 37: 911 - 917.
- [ 8 ] 李伟微. 银鲧亲鱼、胚胎及仔稚鱼的脂肪酸与氨基酸营养. 上海:上海海洋大学硕士学位论文,2008.
- [ 9 ] 金波昌. 军曹鱼胚胎发育的最适生态价研究及生化成分分析. 广东:广东海洋大学硕士学位论文,2006: 44 - 53.
- [ 10 ] 田华梅,赵云龙,李晶晶. 中华绒螯蟹胚胎发育过程中主要生化成分的变化. *动物学杂志*,2002,37(5): 19 - 21.
- [ 11 ] Calado R, Rosa R, Nunes M L. Amino and fatty acid dynamics of *Lysmata seticaudata* (Decapoda: Hippolytidae) embryos during early and late reproductive season. *Marine Biology*, 2005, 147: 341 - 351.
- [ 12 ] 胡先成,赵云龙. 河川沙塘鳢胚胎、仔鱼发育过程中脂类含量及脂肪酸组成的变化. *淡水渔业*,2008, 38(3): 46 - 50.
- [ 13 ] Nobuyuki O, Sayumi S, Tomonori H. Utilization of free amino acids, yolk proteins and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). *Fisheries Science*, 2006, 72: 620 - 630.
- [ 14 ] Vetter R D, Hodson R E, Arnold C R. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Can J Fish Aquat Sci*, 1983,40: 627 - 634.
- [ 15 ] Fraser A J, Gamble J C, Sargent J R. Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*). *Mar Biol*, 1988, 99: 307 - 313.
- [ 16 ] Ronnestad I, Groot E P, Fyhn H J. Compartmental distribution of free amino acids and protein in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Mar Biol*, 1993, 116: 349 - 354.
- [ 17 ] Ohkubo N, Matsubara T. Sequential utilization of free amino acids, yolk proteins and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of barfin flounder (*Verasper moseri*). *Mar Biol*, 2002, 140: 187 - 196.
- [ 18 ] Rainuzzo J R, Reitan K L, Jorgensen L. Comparative study on the fatty acid and lipid composition of four marine fish larvae. *Comp Biochem Physiol B*, 1992, 103:21 - 26.
- [ 19 ] Ivar R, William K, Amos T. Utilisation of yolk fuels in developing eggs and larvae of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 1998, 162: 157 - 170.
- [ 20 ] Sivaloganathan B, Walford J, Ip Y K, et al. Free amino acids and energy metabolism in eggs and larvae of seabass (*Lates calcarifer*). *Mar Biol*, 1998,131: 695 - 702.