

饵料对毛蚶(*Scapharca subcrenata*)不同发育期幼虫脂肪酸组成的影响*

顾晓英¹ 尤仲杰^{1,2} 沈伟良¹ 施祥元²

(1. “应用海洋生物技术”教育部重点实验室(宁波大学) 宁波 315211; 2. 宁波市海洋与渔业研究院 宁波 315012)

摘要 通过投喂不同藻类饵料, 利用 GC-MS 法, 研究饵料对毛蚶浮游幼虫体内脂肪酸组成变化的影响。结果表明, 不同饵料对幼虫生长和附着变态速度的影响存在差异, 混合饵料组效果最佳; 饵料种类和脂肪酸含量对幼虫体内脂肪酸组成和其生长存在显著影响, 且体内不饱和脂肪酸含量随着幼虫发育呈下降趋势。在众多脂肪酸中, DHA 和 EPA 对幼虫存活有直接关系, 而 AA 及饱和脂肪酸含量对幼虫生长存在显著影响, ω -3 与 ω -6 脂肪酸含量比值也能反映幼虫生长和变态速度。

关键词 GC/MS, 脂肪酸, 毛蚶, 幼虫

中图分类号 S968.3

脂类是个体发育过程中必不可少的物质, 具有重要的生理功能, 它不仅参与机体调节, 同时也是个体发育过程中重要的储能物质。根据脂肪酸碳链双键数量, 可分为饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)、单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)和多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)。很多关于脂肪酸作用的研究结果表明, 当脂肪酸缺乏和不足时会导致动物个体生长缓慢、死亡率增加及亲本产卵量下降和受精卵孵化率降低等现象(季文娟, 1998; Watanabe, 1982; Mourente *et al.*, 1993; Read, 1981)。由于贝类体外受精发育的特点, 从受精卵孵化到幼虫开始摄食这个阶段, 个体所需营养基本由卵黄物质来供给, 其中最大的供能物质是脂肪。关于个体发育过程中脂类物质变化的研究多集中在甲壳动物(王春琳等, 2007; 郭志峰等, 2003; 罗文, 2004¹⁾; 姚俊杰, 2006²⁾), 而贝类浮游阶段研究多集中在饵料对壳顶期幼虫脂肪酸组成变化(Pernet *et al.*, 2004a; Iris *et al.*, 2003; Maurizio *et al.*, 2007; Rico-Villa *et al.*, 2006; Sala-Vila *et al.*, 2004; Lisa *et al.*, 2006), 很少涉及整个变态周期。因此本文中就不同藻类及幼虫不同

发育时期, 其体内脂肪酸组成变化进行分析, 旨在阐明四个主要变态时期幼虫体内脂肪酸组成变化及饵料对其脂肪酸组成的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

毛蚶(*Scapharca subcrenata*)亲贝购于浙江象山, 在 28.5°、盐度 27.4 的砂滤海水中刺激亲贝产卵排精。待亲贝开始产卵, 挑取数个雌贝于水桶中, 加入同温同质砂滤海水, 使其继续产卵并达到一定的卵子数量。使用 350 目筛绢网过滤, 吸取新鲜卵子, 置于 10ml 离心管内冷冻保存。受精卵的孵化水温为(29 ± 0.5)°, 待受精卵发育为 D 形幼虫时用 350 筛绢滤取, 置于离心管中冷冻保存。培养 D 形幼虫至附着, 温度为(29 ± 1.5)°, 盐度为 28 ± 1.2。各期取样用 350 目筛绢滤取冷冻保存。

1.2 方法

1.2.1 幼虫培养方法 不同饵料组幼虫按照 15ind/ml 幼虫密度、使用 250L 塑料大桶培养, 分别设置小球藻 *Chlorella saccharophila* (C.s)、微绿球藻

* 宁波市科技攻关项目资助, 2005C100032 号。顾晓英, 副教授, E-mail: guxiaoying@nbu.edu.cn

通讯作者: 尤仲杰, 研究员, E-mail: zuiyou@163.com

1) 罗 文, 2004. 红鳌螯虾(*Cherax quadricarinatus*)胚胎营养代谢的研究. 华东师范大学博士学位论文

2) 姚俊杰, 2006. 罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)胚胎营养与形态发生相关性的研究. 华东师范大学博士学位论文

收稿日期: 2007-12-25, 收修改稿日期: 2008-01-10

Nannchloropsis oculata (N.o)、等鞭金藻 *Isochrysis galbana* (I.g)、湛江叉鞭金藻 *Isochrysis zhanjiangensis* (I.z)和等鞭金藻 + 湛江叉鞭金藻 + 角毛藻 *Goniotrichum alsidii* (混合比例为 1 : 1 : 3)五个饵料组, 各组设置 3 个平行。每天早晨换水 1/2 并投饵, 投饵密度前期控制在 50000cell/ml 左右, 傍晚根据镜检幼虫摄食情况, 补充投饵一次。根据幼虫发育的实际情况, 分别在壳顶初期、后期、附着后及放射肋形成四个时期, 用 350 目筛绢网滤取幼虫或稚贝冷冻保存。由于小球藻组和微绿球藻组幼虫存活率低, 只取第一次。整个实验期间不间断充气。

1.2.2 脂肪酸样品检测前处理 样品经过冷冻干燥后, 用玻璃研磨器充分研磨, 参考 Bligh-Dyer 法提取总脂; 总脂提取后加入 5%—6% 氢氧化钾甲醇水(体积比为 4 : 1)溶液 2ml, 充氮气 1min, 密封后 60 水浴皂化 2h, 冷却。使用 1 : 1 盐酸溶液调节 pH, 使其小于 1, 加入氯仿: 正己烷(体积比为 1 : 4) 6ml, 分三次提取, 用旋转蒸发器蒸发得到脂肪酸混合物。向上述混合物中加入 14% $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ 溶液 0.5ml, 充氮气 1min, 密封后 60 水浴甲脂化 1h, 冷却, 分别用正己烷: 氯仿(体积比为 4 : 1) 2ml 提取两次和正己烷 2ml 提取一次, 合并提取液, 用 2ml 重蒸水洗一次, 移出上层液, 加入 1g 无水硫酸钠吸水过夜, 氮气吹干; 加入 100 μl 过量 BSTFA, 密封后 60 水浴 2h, 氮气吹干, 用正己烷定容后使用质谱联用分析仪检测脂肪酸种类分析。

1.2.3 GC-MS 分析条件 使用 SHIMADZU(岛津)QP2010GC/MS 质谱联用仪及 $30\text{m} \times 0.25\text{mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ SPB-50 色谱柱(美国 SUPELCO 公司)分析检测脂肪酸的种类和相对含量。工作条件为: 进样 1 μl , 分流比为 50 : 1, 载气为高纯氦, 流速 0.81ml/min, 柱前压 73kPa, 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$ 。柱起始温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3.5min, 后以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 200 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5min, 再以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 280 $^{\circ}\text{C}$, 保持 15min。质谱条件: 电子轰击源(EI), 电子能量 70eV, 离子源温度 200 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 全程离子碎片扫描(SCAN)模式, 质量扫描范围 40—650m/L, 溶剂延迟 3.5min。在上述分析条件下, 选择内标 C19:0 脂肪酸作为标准, 其它组分对 C19:0 脂肪酸的相对保留时间恒定, 以此作为定性依据, 根据各自的质谱图, 用面积归一法计算出各组分的百分含量。

2 结果

2.1 不同饵料对幼虫生长的影响

实验结果(图 1)表明, 投喂不同饵料对幼虫生长存在极显著影响($P < 0.01$)。混合组幼虫在实验开始后 16d 出现附着; 18d 后, 50% 以上个体附着, 而单一饵料组幼虫附着时间比混合组晚 3d; 在稚贝放射肋出现时间上, 混合组也早于单一组。

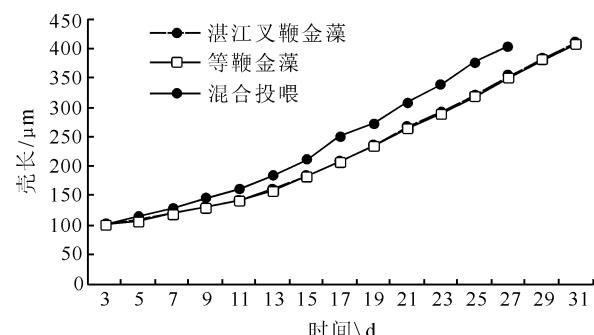


图 1 不同藻类对毛蚶幼虫生长的影响

Fig.1 The impact of different algae on the larvae growth of *S. subcrenata*

2.2 不同发育时期幼虫的脂肪酸组成

实验结果(表 1)表明, 幼虫在各个不同发育阶段, 其体内脂肪酸组分中不饱和脂肪酸含量较高, 而饱和脂肪酸含量较低。受精卵发育到 D 形幼虫后, 幼虫脂肪酸组分中单不饱和脂肪酸(MUFA)含量降低, 而多不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸含量升高, -3/-6 在幼虫孵化过程中显著升高; 高不饱和脂肪酸如 EPA 等含量显著降低, 这与幼虫在附着时 EPA 含量变化规律相同。同时, 脂肪酸种类随个体发育发生变化: C22:0 出现在刚孵化的 D 形幼虫中, 但在卵子和其它各个时期幼虫中并未检测到; C22:1 在孵化后幼虫的各个阶段都存在, 但在卵子中没有检测到; C19:0 则仅存在于卵子和 D 形幼虫, 随着幼虫的个体发育, 都检测不到这种脂肪酸。多种脂肪酸及其相互比例, 在整个幼虫发育过程中具有一定的规律性。随幼虫生长, 花生四烯酸(AA)含量逐渐升高, 在附着前达到最大, 幼虫附着变态时显著降低, 而后逐渐升高。随着幼虫发育, 花生四烯酸/廿碳五烯酸(AA/EPA)、花生四烯酸/总不饱和脂肪酸(AA/UFA)的比值逐渐升高, 且在附着完成后达到最大值, 而在放射肋形成时比值相对降低。廿碳五烯酸/廿二碳六烯酸(EPA/DHA)的比值随幼虫生长逐渐升高, 在壳顶

表 1 不同饵料及不同发育时期对毛蚶幼虫脂肪酸组成的影响

Tab.1 The influences of different algae and development stages on the fatty acid composition of *S. subcrenata* larvae

| 脂肪酸 | 不同发育时期(卵子、初孵D形幼虫、小球藻、微绿球藻、叉鞭金藻、等鞭金藻)及不同饵料组 | | | | | |
|-------------|--|--------|---------|--------|--------|-------|
| | 卵子 | 初孵D形幼虫 | 小球藻 | 微绿球藻 | 叉鞭金藻 | 等鞭金藻 |
| C14:0 | 2.7 | 1.84 | — | — | 4.89 | 4.48 |
| C15:0 | 0.75 | 0.65 | — | 1.63 | 0.65 | 0.66 |
| C16:0 | 25.69 | 27.27 | 22.47 | 23.03 | 18.48 | 18.13 |
| C17:0 | 3.67 | 3.4 | 5.6 | 5.27 | 2.09 | 2.05 |
| C18:0 | 8.96 | 10.12 | 18.54 | 23.12 | 7.43 | 7.58 |
| C19:0 | 0.09 | 0.12 | — | — | — | — |
| C20:0 | 3.19 | 2.16 | 6.3 | 6.75 | 1.03 | 1.09 |
| C21:0 | — | 0.21 | — | — | — | — |
| C22:0 | — | 0.27 | — | — | — | — |
| C16:1 | 6.53 | 4.02 | 0 | — | 4.7 | 4.72 |
| C18:1 | 5.6 | 4.73 | 2.77 | — | 4.56 | 4.43 |
| C20:1 | 2.34 | 3.03 | 1.28 | — | 2.59 | 2.8 |
| C22:1 | 5.92 | 5.35 | 22.58 | 21.22 | 6.41 | 6.47 |
| C16:2 | 0.67 | — | — | — | — | — |
| C16:3 | — | — | — | — | 1.35 | 1.17 |
| C18:2 | 9.29 | 8.74 | — | — | 14.11 | 14.39 |
| C18:3 | 2.32 | 5.82 | — | — | 6.5 | 6.58 |
| C20:4 | 2.84 | 2.02 | — | — | 3.79 | 3.73 |
| C20:5 | 11.08 | 11.38 | — | — | 11.45 | 11.42 |
| C22:4 | 1.17 | — | — | — | 1.21 | 1.22 |
| C22:6 | 7.19 | 8.87 | 20.46 | 18.98 | 11.86 | 11.78 |
| SFA | 42.350 | 44.200 | 52.91 | 59.80 | 29.680 | 29.51 |
| MUFA | 20.390 | 17.130 | 26.63 | 21.22 | 18.260 | 18.42 |
| PUFA | 34.560 | 36.830 | 20.46 | 18.98 | 50.270 | 50.29 |
| UFA | 54.950 | 53.960 | 47.09 | 40.20 | 68.530 | 68.71 |
| (n-3)/(n-6) | 2.047 | 2.796 | — | — | 2.162 | 2.161 |
| EPA/DHA | 1.541 | 1.283 | — | — | 0.965 | 0.969 |
| AA/EPA | 0.256 | 0.178 | — | — | 0.331 | 0.327 |
| AA/ PUFA | 0.082 | 0.055 | — | — | 0.075 | 0.074 |
| EPA/ PUFA | 0.321 | 0.309 | — | — | 0.228 | 0.227 |
| PUFA/ UFA | 0.629 | 0.683 | 0.434 | 0.47 | 0.734 | 0.732 |
| FA | 97.300 | 98.160 | 100.000 | 100.00 | 98.210 | 98.22 |
| 未鉴定 FA | 2.700 | 1.840 | 0.000 | 0.00 | 1.790 | 1.78 |
| 脂肪酸 | 不同发育时期(卵子、初孵D形幼虫、小球藻、微绿球藻、叉鞭金藻、等鞭金藻)及不同饵料组 | | | | | |
| | 混合藻类 | 叉鞭金藻 | 等鞭金藻 | 混合藻类 | 叉鞭金藻 | 等鞭金藻 |
| C14:0 | 5.48 | 5.46 | 5.30 | 5.13 | 4.77 | — |
| C15:0 | 1.46 | 0.29 | 0.25 | 0.69 | 2.33 | — |
| C16:0 | 18.73 | 17.9 | 17.98 | 17.22 | 12.24 | — |
| C17:0 | 2.25 | 1.65 | 1.26 | 3.68 | 2.46 | — |
| C18:0 | 8.58 | 7.21 | 7.25 | 7.86 | 10.82 | — |
| C19:0 | — | — | — | — | — | — |
| C20:0 | 1.23 | 1.49 | 1.53 | 1.05 | 1.41 | — |

续表

| 脂肪酸 | 不同发育时期(卵子、初孵D形幼虫、 、 、 及不同饵料组) | | | | |
|-------------|--|-------|-------|-------|-------|
| | 混合藻类 | 叉鞭金藻 | 等鞭金藻 | 混合藻类 | 叉鞭金藻 |
| C21:0 | — | 0.33 | 0.38 | 0.17 | 0.33 |
| C22:0 | — | — | — | — | — |
| C16:1 | 4.98 | 4.71 | 4.84 | 7.89 | 3.67 |
| C18:1 | 5.86 | 5.9 | 5.7 | 6.62 | 5.88 |
| C20:1 | 2.06 | 2.06 | 1.94 | 2.04 | 1.15 |
| C22:1 | 5.46 | 4.06 | 3.86 | 3.18 | 7.26 |
| C16:2 | — | — | — | 1.9 | 1.23 |
| C16:3 | 2.63 | 1.03 | 0.85 | 2.07 | 1.75 |
| C18:2 | 12.08 | 14.34 | 15.1 | 9.74 | 10 |
| C18:3 | 4.28 | 9.32 | 9.3 | 4.39 | 8.28 |
| C20:4 | 4.38 | 4.14 | 4.21 | 4.67 | 3.81 |
| C20:5 | 12.32 | 11.82 | 11.77 | 12.28 | 9.68 |
| C22:4 | 1.09 | 1.36 | 1.47 | 0.87 | 1.33 |
| C22:6 | 10.13 | 10.63 | 10.57 | 10.82 | 14.47 |
| SFA | 32.25 | 28.87 | 28.65 | 30.67 | 29.59 |
| MUFA | 18.36 | 16.73 | 16.34 | 19.73 | 17.96 |
| PUFA | 46.91 | 52.64 | 53.27 | 46.74 | 50.55 |
| UFA | 65.27 | 69.37 | 69.61 | 66.47 | 68.51 |
| (n-3)/(n-6) | 2.024 | 2.268 | 2.281 | 2.053 | 2.762 |
| EPA/DHA | 1.216 | 1.112 | 1.114 | 1.135 | 0.669 |
| AA/EPA | 0.356 | 0.350 | 0.358 | 0.380 | 0.394 |
| AA/ PUFA | 0.093 | 0.079 | 0.078 | 0.100 | 0.075 |
| EPA/ PUFA | 0.263 | 0.225 | 0.221 | 0.263 | 0.191 |
| PUFA/ UFA | 0.719 | 0.759 | 0.765 | 0.703 | 0.738 |
| FA | 97.52 | 98.24 | 98.26 | 97.14 | 98.1 |
| 未鉴定 FA | 2.48 | 1.76 | 1.74 | 2.86 | 1.9 |
| 脂肪酸 | 不同发育时期(卵子、初孵D形幼虫、 、 、 及不同饵料组) | | | | |
| | 等鞭金藻 | 混合藻类 | 叉鞭金藻 | 等鞭金藻 | 混合藻类 |
| C14:0 | 4.52 | 4.28 | 2.78 | 2.99 | 2.89 |
| C15:0 | 2.63 | 2.29 | 0.66 | 0.5 | 0.91 |
| C16:0 | 12.33 | 14.78 | 18.24 | 18.37 | 17.32 |
| C17:0 | 2.99 | 3.4 | 1.36 | 1.51 | 2.63 |
| C18:0 | 10.65 | 11.1 | 8.24 | 8.09 | 9.89 |
| C19:0 | — | — | — | — | — |
| C20:0 | 1.28 | 2.91 | 1.29 | 1.22 | 2.63 |
| C21:0 | 0.42 | — | — | — | 0.82 |
| C22:0 | — | — | — | — | — |
| C16:1 | 3.44 | 6.13 | 5.28 | 5.32 | 8.39 |
| C18:1 | 5.56 | 6.04 | 5.85 | 5.93 | 6.95 |
| C20:1 | 1.43 | 1.06 | 0.82 | 0.76 | 1.01 |
| C22:1 | 7.19 | 4.61 | 4.89 | 5.09 | 3.48 |
| C16:2 | 1.26 | 2.86 | 2.67 | 2.46 | 2.85 |
| C16:3 | 1.53 | 3.52 | 1.23 | 1.16 | 2.21 |

续表

| 脂肪酸 | 不同发育时期(卵子、初孵 D 形幼虫、 、 、)及不同饵料组 | | | | |
|-------------|--|-------|-------|-------|-------|
| | 等鞭金藻 | 混合藻类 | 叉鞭金藻 | 等鞭金藻 | 混合藻类 |
| C18:2 | 9.71 | 6.62 | 9.69 | 9.98 | 6.09 |
| C18:3 | 8.39 | 4.01 | 8.61 | 8.44 | 3.59 |
| C20:4 | 3.84 | 4.19 | 3.81 | 3.83 | 4.21 |
| C20:5 | 9.74 | 10.25 | 11.89 | 11.96 | 12.12 |
| C22:4 | 1.27 | 0.53 | 1.37 | 1.31 | 0.89 |
| C22:6 | 14.58 | 13.58 | 12.03 | 12.06 | 11.58 |
| SFA | 30.3 | 34.48 | 29.79 | 29.69 | 34.2 |
| MUFA | 17.62 | 17.84 | 16.84 | 17.1 | 19.83 |
| PUFA | 50.32 | 45.56 | 51.3 | 51.2 | 43.54 |
| UFA | 67.94 | 63.4 | 68.14 | 68.3 | 63.37 |
| (n-3)/(n-6) | 2.823 | 2.189 | 2.850 | 2.986 | 2.280 |
| EPA/DHA | 0.668 | 0.755 | 0.988 | 0.992 | 1.047 |
| AA/EPA | 0.394 | 0.409 | 0.320 | 0.321 | 0.347 |
| AA/ PUFA | 0.076 | 0.092 | 0.074 | 0.075 | 0.097 |
| EPA/ PUFA | 0.194 | 0.225 | 0.232 | 0.234 | 0.278 |
| PUFA/ UFA | 0.741 | 0.719 | 0.753 | 0.750 | 0.687 |
| FA | 98.24 | 97.88 | 97.93 | 97.99 | 97.57 |
| 未鉴定 FA | 1.76 | 2.12 | 2.07 | 2.01 | 2.43 |

:壳顶初期(微绿球藻和小球藻为实验后 5d); :壳顶后期; :附着初期; :放射肋形成期

期达到最大, 附着变态时降低, 在放射肋形成期又升高。在幼虫的各个发育时期, 多不饱和脂肪酸(PUFA)在不饱和脂肪酸中比例(PUFA/ UFA)相对稳定。

2.3 不同饵料对幼虫脂肪酸组成的影响

小球藻组和微绿球藻组幼虫在实验开始后 5d 脂肪酸组成出现显著变化, 包括 C14:0、C19:0、C21:0、C22:0 等多种饱和脂肪酸缺失, 而多不饱和脂肪酸仅见 DHA 存在, 其余多不饱和脂肪酸均发生严重缺失, 使 PUFA/ UFA 比值显著降低。由于多不饱和脂肪酸的缺失, 饱和脂肪酸含量显著高于其它饵料组幼虫的饱和脂肪酸含量。在各发育阶段, 混合组 AA/EPA、AA/ PUFA 和 AA/EPA 都显著高于单一饵料组, 且这种差异随着幼虫生长更为显著。而 EPA/DHA 比值在三种不同饵料组中, 单一饵料组始终比混合组低, 表明混合饵料组中 EPA 含量相对较高。在多不饱和脂肪酸含量上, 单一饵料组的幼虫, PUFA/ UFA 显著高于混合饵料组, 这与 -3/ -6 值的变化相同。

3 讨论

对贝类的很多研究表明, 其不饱和脂肪酸含量较饱和脂肪酸含量高, 且许多种类的多不饱和脂肪酸含量显著高于单不饱和脂肪酸含量(劳邦盛等, 2001; 李太武等, 1996; 方富永等, 2007; 庆宁等,

1999); 同时, 在性腺的不同发育时期, 其脂肪酸组成也存在着差异。本次实验结果也表明, 在浮游期, 幼虫脂肪酸组成中不饱和脂肪酸含量比饱和脂肪酸含量高。由于海洋动物很少甚至没有通过延长或改造碳链结构来构建长链多不饱和脂肪酸, 因此在这些多不饱和脂肪酸中, 多数都是贝类的必需脂肪酸, 如长链多不饱和 -3 与 -6 类。在 -3 类中, 廿碳五烯酸(EPA)和廿二碳六烯酸(DHA)普遍被认为对贝类生长有着极显著影响。Langdon 等(1981)给太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)稚贝投喂缺乏 DHA 的微胶囊饵料, 结果表明 DHA 是生长限制因子。Delaunay 等(1993)、Laura 等(1995)的研究也证明, DHA 摄入不足会对双壳贝类的附着有很大影响, 这与 DHA 和 EPA 参与磷脂成分, 进而构建生物体的膜结构有关。本次实验的检测结果也表明, 受精卵和浮游幼虫各期, 不饱和脂肪酸含量较饱和脂肪酸高, 而多不饱和脂肪酸含量在不饱和脂肪酸中比重较高。同时研究还表明, AA 含量多少在很大程度上决定了贝类的生长速度, Castell 等(1994)、Koven 等(2001)通过对 AA 含量占总脂肪酸含量 8.8% 的 *Crassostrea muelleri* 及占总脂肪酸含量 1.8% 的 *Pavlova* sp. 实验, 结果显示高 AA 含量组生长速度比对照组快 31%, 个体死亡率较对照组低, 这与本次实验中投喂混合饵料组幼虫生长性状相符合。

Soudant 等(1998)也发现 AA 对双壳类性腺发育、繁殖过程和生长的重要性比 EPA 更为显著。

藻类脂肪酸组成存在差异是造成幼虫体内脂肪酸组成差异的主要原因。徐继林(2006)¹⁾对 29 种微藻脂肪酸组成研究表明, 金藻含有丰富的多不饱和脂肪酸, 其含量超过总脂肪酸含量的 55%, 角毛藻含有很高的 AA(11.8%), 而小球藻中 EPA 和 AA 的含量极低, 微绿球藻中单不饱和脂肪酸含量较高, 而多不饱和脂肪酸含量较少, 这与本次实验中幼虫体内脂肪酸的组成相对应。由于藻类组分中不饱和脂肪酸的含量对幼虫的生长有很大的影响(Delaunay *et al.*, 1992), 实验中各饵料组幼虫不同的生长率很好的验证了这个观点。不饱和脂肪酸中包含多种幼虫必须脂肪酸成分, 不饱和脂肪酸成分失衡和缺失, 是造成微绿球藻组和小球藻组幼虫大量死亡的可能原因之一, 另一方面可能还与小球藻不易消化有关。因此幼虫不能获得足够的必需脂肪酸及能量, 造成内部生理活动紊乱, 进一步恶化幼虫的营养状况, 最后导致较高的死亡率。Pernet 等(2004b)在研究中表明, 花生四烯酸(AA)对扇贝的生长具有显著影响, 而本实验中 AA 含量的差异与幼虫生长速度和附着具有一定相关性, 但作用机理尚不清楚。

脂肪酸的组成比例在很大程度上也影响贝类幼虫生长。Pernet 等(2004b)通过对扇贝(*Placopecten magellanicus*)投喂含有不同比例 DHA、EPA、AA 的饵料组合, 发现单一提高 DHA 含量不会显著促进幼虫的生长, 反而有一定的抑制作用。同时与 EPA 共存时, EPA 消耗率较高, 因此可以认为 DHA 是维持细胞表面及内部膜结构的成分之一(Delaunay *et al.*, 1993; Soudant, 1998; Delaunay *et al.*, 1992)。本次实验中也发现单一投喂金藻的幼虫虽然有着较高的 DHA 含量, 但生长速度较混合投喂稍低。同时许多研究也表明, 饱和脂肪酸(SFA)对幼虫的生长也有作用。Thompson 等(1993)在牡蛎的研究中发现, 6 种 SFA 含量较高的藻类投喂后期幼虫, 其生长速度也较快, 这与 SFA 通过 氧化直接供能有关。除提供能量外, SFA 也参与包括部分 PUFA 在内长链脂肪酸合成, 作为前体并在合成过程中提供去饱和功能。随着幼虫的生长, 机体对能量的需求更大, 而 SFA 比 PUFA 能够更好的提供能量。本实验混合饵料组幼虫和稚贝生长比金藻组更

好, 这与角毛藻 SFA 含量比金藻高相一致。Nevejan 等(2003)也在研究中表明幼虫的良好生长需要 SFA 达到一定量, 同时高级甘油三脂的缺失对幼虫的影响比低含量的 EPA 和 DHA 更为严重(Delaunay *et al.*, 1992; Scott *et al.*, 1986)。

除脂肪酸外, 蛋白质和碳水化合物含量也是影响幼虫生长的一个重要因素。Powell 等(2002)在研究中表明, 不同藻类内部所含蛋白质的多寡与幼虫的生长和存活显著相关, 过多的积累蛋白质导致幼虫没有足够能力来储存脂肪酸, 使幼虫无法顺利附着变态。Erika 等(2006)在对 *Pinctada margaritifera* 的研究中表明, 碳水化合物含量与幼虫生长和存活相关, 这与碳水化合物在代谢活动中供能有关。由于本次实验并未对幼虫及初期稚贝的绝对脂肪酸含量、各藻类蛋白质和碳水化合物含量进行检测, 因此各种脂肪酸绝对含量的多少对生长的影响尚不清楚, 同时其它适宜单细胞藻类对浮游幼虫期的影响和多种脂肪酸之间的协同作用还需进一步研究。

参 考 文 献

- 王春琳, 尹 飞, 宋微微, 2007. 黑斑口虾蛄胚胎和幼体不同发育时期脂类及脂肪酸组成分析. 浙江大学学报(理学版), 34(2): 223—227
- 方富永, 黄 甫, 邓陈茂等, 2007. 企鹅珍珠贝和马氏珠母贝软体部脂肪酸组成. 水产科学, 26(7): 384—386
- 庆 宁, 林岳光, 沈 琪, 1999. 3 种海洋养殖贝类体内的脂肪酸组成. 热带海洋, 18(1): 79—82
- 劳邦盛, 盛国英, 傅家模等, 2001. 5 种贝类脂肪含量及脂肪酸组成研究. 色谱, 19(2): 137—140
- 李太武, 苏秀榕, 李 坤, 1996. 8 种常见贝类脂肪酸含量的研究. 中国海洋药物, 2: 24—26
- 季文娟, 1998. 高度不饱和脂肪酸对中国对虾亲虾的产卵和卵质的影响. 水产学报, 22(3): 240—246
- 郭志峰, 康现江, 蔺智强等, 2003. 日本沼虾卵巢发育过程中脂肪酸变化的研究. 分析化学, 31: 433—436
- Castell J D, Bell J G, Tocher D R *et al.*, 1994. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, 128: 315—333
- Delaunay F, Marty Y, Moal J *et al.*, 1993. The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. J Exp Mar Biol Ecol, 173: 163—179

1) 徐继林, 2006. 饵料微藻脂类营养对泥蚶稚贝生长的影响. 中国海洋大学硕士学位论文

- Delaunay F, Marty Y, Moal J et al, 1992. Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* (L.) larvae grown under hatchery conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 163: 209—219
- Erika Martínez-Fernández, Héctor Acosta-Salmón, Paul C Southgate, 2006. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera* L.) larvae. *Aquaculture*, 257: 491—503
- Iris E Hendriks, Luca A van Duren, Peter M J Herman, 2003. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on reproductive output and larval growth of bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 296(2): 199—213
- Koven W, Barr Y, Lutzky S et al, 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193: 107—122
- Langdon C J, Waldoch E, 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J Mar Biol Ass U K*, 61: 431—448
- Laura L Sweetman, Nancy Y Zhang, Hazel Peterson et al, 1995. Effect of linoleic acid hydroperoxide on endothelial cell calcium homeostasis and phospholipid hydrolysis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 323: 97—107
- Lisa M Milke, Monica Bricelj V, Christopher C Parrish, 2006. Comparison of early life history stages of the bay scallop, *Argopecten irradians*: Effects of microalgal diets on growth and biochemical composition. *Aquaculture*, 260: 272—289
- Maurizio Pirini, Maria P Manuzzi, Alessandra Pagliarani et al, 2007. Changes in fatty acid composition of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) fed on microalgal and wheat germ diets. *Comparative Biochemistry and Physiology (B)*, 147: 616—626
- Mourente G, Tocher D R, 1993. The effects of dietary docosa hexaenoic acid (DHA: 22:6n-3) on lipid and fatty acid composition and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture*, 112: 79—88
- Nevejan N, Iris Saez, Gonzalo Gajardo et al, 2003. Energy vs. essential fatty acids: what do scallop larvae (*Argopecten purpuratus*) need most? *Biochemistry and Molecular Biology*, 134: 599—613
- Pernet F, Tremblay R, Langdon C et al, 2004a. Effect of additions of dietary triacylglycerol microspheres on growth, survival, and settlement of mussel (*Mytilus* sp.) larvae. *Marine Biology*, 144: 693—703
- Pernet F, Tremblay R, 2004b. Effect of varying levels of dietary essential fatty acid during early ontogeny of the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 310: 73—86
- Powell Eric N, Eleanor A Bochenek, John M Klinck et al, 2002. Influence of food quality and quantity on the growth and development of *Crassostrea gigas* larvae: a modeling approach. *Aquaculture*, 210: 89—117
- Read G H L, 1981. The response of *Penaeus indicus* (Crustacea Penaeidea) to purified and compounded diet of varying fatty acid composition. *Aquaculture*, 1981, 24: 245—256
- Rico-Villa B, Jr Le Coz, Mingant C et al, 2006. Influence of phytoplankton diet mixtures on microalgae consumption, larval development and settlement of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, 256: 377—388
- Sala-Vila A, Campoy C, Castellote A I et al, 2004. Influence of dietary source of docosa hexaenoic and arachidonic acids on their incorporation into membrane phospholipids of red blood cells in term infants. *Prostaglandins*, 74: 143—148
- Scott M Gallager, Roger Mann, Glenn C Sasaki, 1986. Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture*, 56: 81—103
- Soudant P, Le Coz, Marty Y et al, 1998. Incorporation of microalgae sterols by scallop *Pecten maximus* (L) larvae. *Comp Biochem Physiol*, 119: 451—457
- Thompson P A, Guo M, Harrison P J et al, 1993. The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Mar Biol*, 117: 259—268
- Watanabe T, 1982. Lipid nutrition in fish. *Comp Biochem Physiol*, 73B: 3—15

THE RELATIONSHIP IN COMPOSITION OF ALGAE DIET AND THE FATTY ACID OF SCAPHARCA SUBCRENATA IN DIFFERENT DEVELOPMENT STAGES

GU Xiao-Ying¹, YOU Zhong-Jie^{1, 2}, SHEN Wei-Liang¹, SHI Xiang-Yuan²

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology (Ningbo University), Ministry of Education, NingBo, 315211;
2. The Ocean and Fishery Institute of Ningbo, Ningbo, 315012)

Abstract Effect of algae species on the fatty acid composition of *Scapharca subcrenata* larva was studied using GC-MS. The result show that the growth and the settlement-metamorphosis rate were influenced by different algae feed; and among diets groups, the mixed-algae group showed better growth performance than the others. The effect of algae species on the fatty acid composition is therefore, significant. Furthermore, its unsaturated fatty acid composition decline as the animal grew. DHA and EPA has direct relationship with the survival of larva, while the effect of AA & saturated fatty acid content is significant on the larva growth, and the level of ω -3 and ω -6 fatty acid can also reflect larva growth and the Metamorphosis rate.

Key words GC/MS, Fatty acid, *Scapharca subcrenata*, Larva