

## 中国对虾(*Penaeus chinensis*)幼体发育 各阶段脂肪酸组成的研究\*

季文娟

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘要** 通过对中国对虾幼体的五个发育阶段(卵、无节幼体、溞状幼体、糠虾和仔虾)的脂肪酸组成的测定,分析比较了幼体脂肪中11种主要脂肪酸的含量变化。在卵脂肪中占主要比例的脂肪酸为棕榈酸、棕榈油酸和EPA、油酸;在仔虾脂肪中占主要比例的脂肪酸为棕榈酸、油酸、亚油酸、EPA及DHA。从卵到仔虾整个发育过程中,幼体脂肪中的豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸的含量逐渐减少,而硬脂酸、亚油酸、亚麻酸和DHA的含量逐渐增加。讨论了这些结果对了解幼体脂肪酸营养需要的重要性及幼体饵料对幼体脂肪的脂肪酸组成的影响。

**关键词** 中国对虾, 脂肪酸, 幼体发育, 营养需求

60年代初,黄海水产研究所等单位研究成功了中国对虾(*Penaeus chinensis*)的人工育苗技术,在沿海各地推广,从而推动了我国对虾养殖业的迅速发展,1992年我国的对虾产量已居世界首位。80年代以来,国外一些学者对几种甲壳类动物(日本对虾、美国龙虾、白对虾等)进行了幼体发育期的营养需要研究<sup>[4,11]</sup>,但对于幼体发育过程中的生物化学研究国内外皆少见报道。对水产养殖动物的生物化学研究有助于我们对于基础代谢过程的了解,比较不同种之间的相似或差别,也是研究幼体在发育过程中的生物化学变化和营养需要之间可能存在的相关关系所必需的,从而能对保证幼体正常发育和成活所需食物的营养价值进行正确的评估。

本试验为中国对虾必需脂肪酸需要的研究的一部分,目的是通过对幼体发育各阶段(从卵到仔虾)脂肪酸组成的测定,分析和比较11种脂肪酸在亲虾和幼体发育各阶段的含量变化,探讨在幼体发育过程中对高度不饱和脂肪酸的营养需要。同时对常见的各种幼体饵料的脂肪酸营养价值进行了评估。为提供中国对虾幼体的必需脂肪酸营养参数及研制高效微粒饵料提供了理论依据。

收稿日期:1996-01-23。

\* 国家攀登计划B“海养生物优抗研究”项目资助课题。

## 材 料 和 方 法

### (一)材料来源

海捕亲虾为 1994 年 4 月从青岛近海捕获,在麦岛育苗实验室水泥池中暂养,待产卵后移走亲虾,卵在 18~20℃ 的条件下孵化,然后逐渐升温至 24℃。从无节幼体发育成仔虾 I、II 期,幼体各期的区分根据赵法箴的对虾幼体发育形态<sup>[2]</sup>来加以鉴别,卵及各期幼体随机取样,然后冷冻干燥,保存在 -30℃ 冰柜中,以备脂肪酸分析用。

在育苗期间,从蚤状幼体 II 期开始投喂角毛藻(*Chaetoceros gracilis*)、等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、海水小球藻(*Chlorella* sp.),从蚤状幼体 III 期至糠虾,补充投喂了部分蛋黄及人工合成微颗粒饵料(文登饲料综合加工厂生产),糠虾期投喂了部分卤虫无节幼体,转入仔虾期,投喂卤虫及微颗粒饵料。

### (二)样品的脂肪提取及甲酯化

样品的脂肪提取采用 Bligh 和 Dyer 方法<sup>[3]</sup>,用 Maeda Y. 等的改良盐酸—甲醇方法<sup>[8]</sup>将样品脂肪酸甲酯化,而后注入气相色谱仪分析脂肪酸的组成。

### (三)脂肪酸的分析

脂肪酸的分析在 HP5890 II 型气相色谱仪上进行,仪器配置 0.32mm × 25M Carbowax 毛细管柱及 FID 检测器,各种脂肪酸的定性采用与标准脂肪酸的保留时间相比较的方法,主要脂肪酸组成的相对含量用面积归一化法计算。

## 结 果

中国对虾幼体发育不同阶段(卵、无节幼体、蚤状幼体、糠虾、仔虾)的脂肪酸组成列于表 1。几种常见的对虾幼体饵料的脂肪酸组成列于表 2。11 种脂肪酸在中国对虾幼体发育过程中含量的变化列于图 1、图 2。图中实线部分表示幼体发育过程中各脂肪酸相对含量的变化,虚线部分表示从仔虾至亲虾的生长过程中,虾体脂肪中各脂肪酸含量变化的趋势。

从表 1 可见,中国对虾卵的脂肪酸组成中占主要比例的是棕榈酸(C16:0)、棕榈油酸(C16:1 $\omega$ 7)、油酸(C18:1 $\omega$ 9)、EPA(C20:5 $\omega$ 3)和 DHA(C22:6 $\omega$ 3),占脂肪酸总量的比例依次为 23%、19%、26%、13% 和 7%。在仔虾的脂肪酸组成中占主要比例的为棕榈酸、油酸、亚油酸(C18:2 $\omega$ 6)、EPA 和 DHA,占脂肪酸总量的比例依次为 18%、30%、11%、12% 和 9%。

从图 1、图 2 可见,中国对虾从卵到仔虾的发育过程中,幼体脂肪中的豆蔻酸(C14:0)、棕榈酸和棕榈油酸的含量逐渐减少,而硬脂酸(C18:0)、亚油酸、亚麻酸(C18:3 $\omega$ 3)和 DHA 的比例逐渐增加,但从卵孵化到无节幼体,脂肪酸组成中除了亚油酸、亚麻酸、EPA 和 DHA 的比例略有上升,其余各种脂肪酸(饱和、单不饱和)的含量比例皆下降。而从无节幼体到蚤状幼体,棕榈油酸含量减少和亚油酸含量增高,变化的幅度较大,在以后的发育阶段直至仔虾,这二种脂肪酸的含量基本维持蚤状幼体期的水平。

表1 中国对虾卵和幼体不同发育期的脂肪酸组成(%)

Table 1 Fatty acid compositions during larval development of *P. chinensis*

脂肪酸 Fatty acid	卵 Egg	无节幼体 Nauplius	溞状幼体 Protozoa	糠虾 Mysis	仔虾 Postlarvae	海捕亲虾V期肌肉 Muscle of wild broodstock	人工养殖亲虾肌肉 Muscle of cultured broodstock
C14:0	2.3	1.9	1.0	0.6	0.4	0.8	0.6
C16:0	22.7	17.1	18.6	15.5	16.6	18.0	18.4
C16:1 $\omega$ 7	18.7	17.9	4.6	6.0	3.0	12.0	8.7
C18:0	3.2	2.4	8.2	7.4	8.1	7.8	8.4
C18:1 $\omega$ 9	25.5	22.2	23.1	27.8	28.1	19.0	18.5
C18:2 $\omega$ 6	1.2	1.4	14.0	12.7	10.7	2.6	5.6
C18:3 $\omega$ 3	0.1	1.2	0.9	2.7	3.3	0.6	0.9
C20:1 $\omega$ 9	3.2	1.0	1.7	1.2	1.1	2.3	1.3
C20:4 $\omega$ 6	2.8	2.2	3.6	3.6	3.9	5.3	4.6
C20:5 $\omega$ 3	12.5	14.4	12.3	7.6	10.9	17.2	16.9
C22:6 $\omega$ 3	7.2	9.2	7.3	10.6	8.3	10.2	9.7

注:脂肪酸表示法 A:B $\omega$ C. A:碳原子数, B:双键数, C:从烷基端数第一个双键位置

\* Fatty acid expression: A:B $\omega$ C. A: Carbon numbers, B: Double bond numbers, C: The first double bond position counted from alkyl end

表2 几种常见的对虾幼体饵料及人工微颗粒饵料的脂肪源的脂肪酸组成(%)

Table 2 Fatty acid compositions of some larval feeds and dietary lipid source for *P. chinensis*

脂肪酸 Fatty acid	海水小球藻 <i>Chlorella</i> sp.	微绿藻 <i>Nannochloris</i> <i>coccoides</i>	三角褐指藻 <i>Phaeodactylum</i> <i>tricornutum</i>	纤细角刺藻 <i>Cheatoceus</i> <i>gracilis</i>	等鞭金藻 <i>Isochrysis</i> <i>galbana</i>	卤虫无节幼体 <i>Artemia</i> larvae	轮虫 Rotifer	蛋黄 Egg yolk	鲱鱼油 Anchovy oil	豆油 Soy bean oil	人工微颗粒 饵料 MBD
C14:0	5.2	5.6	9.5	8.8	2.1	3.7	8.7	0.5	6.8	tr.	0.7
C16:0	19.7	11.1	15.0	23.3	14.8	9.0	15.6	18.1	20.7	10.6	21.7
C16:1 $\omega$ 7	30.5	25.2	27.4	34.7	9.6	30.0	18.1	9.9	7.2	0.4	3.1
C18:0	0.7	0.1	4.9	4.1	2.1	0.9	1.2	7.2	4.3	4.1	7.2
C18:1 $\omega$ 9	2.7	3.5	-	5.3	7.2	14.5	7.5	33.3	16.5	20.5	36.4
C18:2 $\omega$ 6	2.4	2.5	0.3	2.5	1.3	4.5	4.2	11.6	10.1	52.2	18.7
C18:3 $\omega$ 3	0.2	0.1	-	0.6	12.3	5.6	9.4	0.6	2.7	10.6	1.3
C20:1 $\omega$ 9	-	tr.	-	-	5.3	0.1	1.5	-	2.9	0.1	0.2
C20:4 $\omega$ 6	3.6	4.9	-	4.5	-	1.9	2.1	0.9	0.8	-	0.8
C20:5 $\omega$ 3	27.8	37.8	16.9	4.6	-	15.0	11.6	-	8.4	-	4.3
C22:6 $\omega$ 3	0.3	-	1.9	0.8	2.9	0.2	0.5	-	6.7	-	2.5
$\Sigma\omega-3$	28.3	37.9	18.8	6.0	15.2	20.8	21.5	0.6	17.8	10.6	8.1
$\Sigma\omega-6$	6.0	7.4	0.3	7.0	1.3	6.4	6.3	12.5	10.9	52.2	19.5

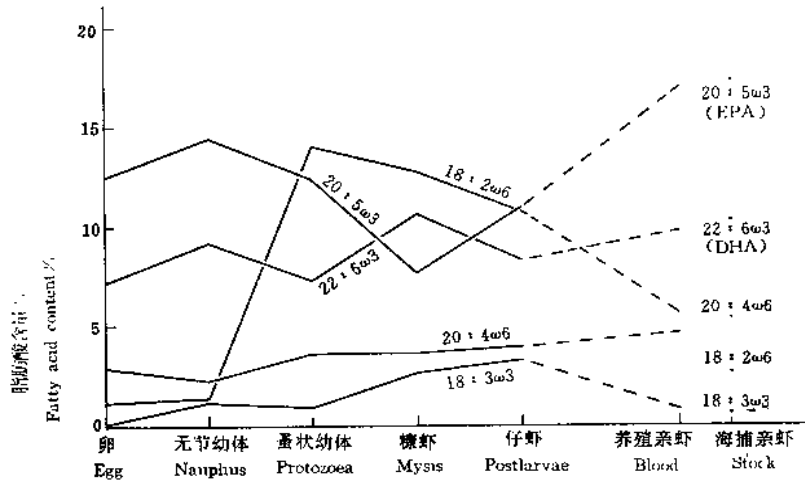


图 1 中国对虾幼体发育期 6 种脂肪酸含量的变化

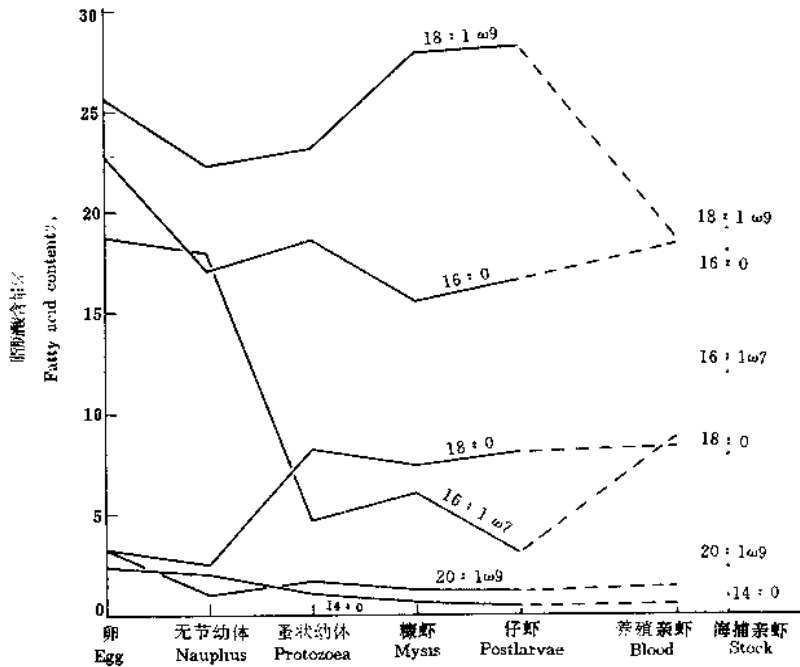
Fig.1 Variation of 6 fatty acids contents during larvae development of *P. chinensis*

图 2 中国对虾幼体发育期 5 种脂肪酸含量的变化

Fig.2 Variation of 5 fatty acids contents during larvae development of *P. chinensis*

从图 1、图 2 可见,中国对虾从仔虾到亲虾的生长过程中,虾体脂肪的脂肪酸组成的变化趋势是棕榈油酸及一些高度多不饱和脂肪酸,如花生四烯酸、EPA、DHA 的含量增高,而软脂酸(18:1 $\omega$ 9)和亚油酸的含量降低。但海捕亲虾和人工养殖亲虾虾体脂肪中脂肪酸组成的差别主要在棕榈油酸和亚油酸,海捕亲虾的棕榈油酸含量高于人工养殖的亲虾,而亚油酸含量低于人工养殖亲虾。

表 2 列出了常见的对虾幼体饵料的脂肪酸组成,脂肪酸的含量是所含脂肪中的相对百分数。从表 2 可见,一些海洋动植物饵料如藻类、卤虫无节幼体、轮虫等含有丰富的  $\omega-3$  系列的高度不饱和脂肪酸,尤其是 EPA 和 DHA。而作为人工合成幼体饵料的常用组份,如蛋黄粉、豆粉等所含脂肪中几乎不含 EPA 和 DHA,而含有丰富的油酸和亚油酸。显而易见,本试验在幼体发育过程中由于投喂了部分蛋黄和人工合成微颗粒饵料,虾体脂肪中的脂肪酸组成的变化也受到了饵料脂肪的脂肪酸组成的影响。

## 讨 论

表 1 所示结果表明,在中国对虾幼体发育过程中,脂肪酸组成的变化趋势为饱和及单不饱和脂肪酸的比例逐渐减少,而多不饱和脂肪酸的比例逐渐增大。幼体各期和亲虾肌肉的脂肪酸组成相比较,卵中所含的饱和及单不饱和脂肪酸含量总和为最高,亲虾肌肉中的高度不饱和脂肪酸的含量总和为最高。在幼体发育的早期阶段,从卵、无节幼体到溞状幼体早期,幼体不能通过摄食获得外源性的营养,卵脂肪是胚胎发育和幼体变态的唯一能量来源,从本试验的结果表 1 可见,当从卵到无节幼体,各种脂肪酸的含量比例除了亚油酸、亚麻酸、EPA 和 DHA 略有升高外,其余各种脂肪酸的含量都减少,说明在对虾幼体早期发育过程中,以消耗卵脂肪中的脂肪酸作为能量来满足胚胎发育和无节幼体的活动及变态的需要。

手岛新一等<sup>[9]</sup>对日本对虾的研究表明,在对虾的卵巢成熟期,脂肪含量逐渐增加,至 V 期为最高,产卵后降至最低。在幼体发育过程中,从卵至溞状幼体,脂肪含量逐渐降低至最低点,然后随着发育进程而升高,这是由于从溞状幼体开始摄食而从外界获取脂肪来满足需要。同时,随着幼体的发育,EPA、DHA 在极性磷脂部分的比例不断增加,而在中性三甘油酯部分比例的变化很小,证明了 EPA 和 DHA 主要存在于虾体的细胞和亚细胞结构中,是虾体组织的重要组成部分,它们的比例随虾体的生长而增加。

从手岛新一等对日本对虾幼体发育过程的脂肪酸变化的研究可知,日本对虾卵中占主要比例的脂肪酸为棕榈酸、棕榈油酸、油酸、EPA 和 DHA<sup>[9]</sup>。从 Ward 等对白对虾幼体的脂肪酸组成的研究可知,白对虾卵中占主要比例的脂肪酸为棕榈酸、棕榈油酸、油酸、花生四烯酸和 DHA<sup>[11]</sup>。而中国对虾卵中占主要比例的脂肪酸为棕榈酸、棕榈油酸、油酸、EPA 和 DHA。可见,中国对虾卵脂肪的脂肪酸组成与日本对虾卵脂肪的脂肪酸组成比较相似,但在幼体发育过程中,日本对虾幼体脂肪中 EPA 含量的增加幅度较大,而中国对虾幼体脂肪中的 DHA 含量的增加比例较大。白对虾幼体脂肪的脂肪酸组成中花生四烯酸的含量较高,在幼体发育过程中增加的幅度也较大。由此可见,不同种的对虾幼体脂肪的脂肪酸组成不尽相同,各有特点。中国对虾的脂肪酸组成中 EPA 和 DHA 的含量比例较高,正是中国对虾脂肪酸组成的一个特点<sup>[1]</sup>,表 1 和图 2 所示的中国对虾幼体各发育阶段的脂肪酸组成的变化中,EPA 和 DHA 的含量比例逐渐上升正是显示了这一特点。

从表 1 可见,中国对虾当从无节幼体转变为溞状幼体,其中棕榈油酸含量减少及亚油酸的含量增加有一个突跃性的变化,与日本对虾幼体发育过程中的情况相似<sup>[9]</sup>,其原因有待进一步研究。但据分析,棕榈油酸在对虾幼体发育过程中不仅被用作能量而消耗,同时也与棕榈油酸作为长链及多不饱和脂肪酸的前体有关,由于部分的转化而导致含量比例下降;另外,也和对虾此阶段开始从外界摄取食物有关,食物的脂肪酸组成对虾体的脂肪酸组成产生明显的影响。从表 2 可见所列各种常见的幼体饵料的脂肪酸组成,一些海洋动植物饵料,如

藻类、轮虫、卤虫的棕榈油酸含量较高,亚油酸含量较低,而陆生动植物及它们的产物,如蛋黄及人工合成幼体饵料中,常用的豆粉等所含脂肪中的棕榈油酸含量偏低,亚油酸含量较高,因此从蚤状幼体开始摄食,幼体的脂肪酸组成也受到饵料脂肪酸组成的影响而变化。本试验中投喂了部分蛋黄及人工合成微颗粒饵料是导致幼体的亚油酸含量偏高及棕榈油酸含量下降幅度较大的原因。

从图 1、图 2 所示的结果说明对虾从幼体到成虾,虾体脂肪中的长链多不饱和脂肪酸的含量比例增加。由于长链多不饱和脂肪酸是对虾组织中的细胞膜、磷脂的重要组成部分,因此随着虾体的生长发育,它们的比例不断地增加。人工养殖和海捕亲虾的脂肪酸组成的差别也说明了饵料脂肪酸组成的影响。从幼体到亲虾,棕榈油酸含量比例的增加以及软脂酸、亚油酸的含量比例下降提示我们,为了满足对虾生长发育的需要,除了提供充足的长链多不饱和脂肪酸,同时要有适当高含量的棕榈油酸以满足对虾生理的需要,从而促进生长,提高生产效率。从表 2 可见,一些海洋动植物是符合这些要求的优良饵料源。

从表 1、表 2 的结果及上述分析可以得出,陆生动植物脂肪中的高含量的油酸、亚油酸会导致人工育苗幼体脂肪中的油酸、亚油酸含量大大高于自然群体的含量,而海洋动植物饵料的摄食不足导致人工育苗幼体的 EPA、DHA 及棕榈油酸含量低于自然群体的含量,由此启示我们,目前在我国对虾人工育苗生产中,常用的一些海洋动植物饵料,从其脂肪酸的组成比例来看是幼体的优良饵料,具有较高的脂肪酸营养价值,能满足幼体生长变态的需要,而近年来发展起来的一些微颗粒饵料的脂肪酸组成比例不完全符合对虾本身的脂肪酸组成特点,脂肪酸营养价值较低。若单独投喂,不利于幼体的生长、发育,甚至导致死亡,因此,配方有待改进。同样,在中国对虾幼、成虾的人工配合饵料中,提供足量的海洋动植物脂肪也是满足对虾脂肪酸营养需要,保证正常生长发育所必需的。

金沢昭夫用同位素示踪法揭示了对虾属本身缺乏合成  $\omega-3$  和  $\omega-6$  系列长链高度不饱和脂肪酸的能力,必需从饵料中摄取来满足其需要<sup>[5,6]</sup>。因此从本试验的结果及分析亦可得出,EPA 和 DHA 的含量是评估中国对虾幼体饵料脂肪酸营养价值的重要指标。从金沢昭夫和手岛新一对日本对虾幼体的脂类营养的研究还表明,磷脂<sup>[7,10]</sup>和固醇<sup>[4]</sup>也是幼体成活、变态和生长所必需的。

随着我国对虾养殖业的不断发展,研究幼体的营养需要,发展优良的人工合成幼体饵料是提高虾苗质量及产量的一个重要途径。从本试验的研究分析了解到,富含 EPA、DHA 的海洋动植物脂肪源对中国对虾幼体的发育具有优良的脂肪酸营养价值,为人工合成饵料的脂肪酸模式提供了理论依据,也为进一步研究中国对虾幼体的脂类营养需要奠定了基础。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 季文娟,徐学良,1992. 中国对虾卵巢发育过程中脂肪酸组成的分析及比较研究. 海洋水产研究, (13):7~12.
- [ 2 ] 赵法箴,1965. 对虾幼体发育形态. 海洋水产研究资料,73~109. 农业出版社.
- [ 3 ] Bligh E. G. and Dyer W. J., 1959, A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37:911~917.
- [ 4 ] Jones D. A., Kanazawa A. and Ono K., 1979, Studies on the nutritional requirements of the larval stages of *Penaeus japonicus* using microencapsulated diets. Marine Biology, 54:261~267.
- [ 5 ] Kanazawa A. and Teshima S., 1977, Biosynthesis of Fatty acids from acetate in the prawn, *Penaeus japonicus*. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ. 26:49~53.

- [ 6 ] Kanazawa A., Teshima S. and Tokiwa S., 1979. Biosynthesis of Fatty acids from palmitic acid in the prawn, *Penaeus japonicus*. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 28:17~20.
- [ 7 ] Kanazawa A., Teshima S. and Sakamoto M., 1985. Effects of dietary lipids, Fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. Aquaculture, 50:39~49.
- [ 8 ] Maeda Y. et al. 1987, Sample analysis method for fatty acid in food samples. J. Food Hygiene Soc. Jap., 28(5):384~389.
- [ 9 ] Teshima S. and Kanazawa A., 1982. Variation in lipid compositions during the larval development of the prawn (*Penaeus japonicus*). Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 31:205~212.
- [10] Teshima S., Kanazawa A. and Kakuta Y., 1986. Growth, survival and body lipid composition of the prawn larvae receiving several dietary phospholipids. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ., 35(1):17~27.
- [11] Ward G.D., Middleditch B.S., Missler S.R. and Lawrence A.L., 1979. Fatty acid changes during larval development of *Penaeus setiferus*. Proc. World Maricul. Soc., 10:464~471.

## FATTY ACID CHANGES DURING LARVAL DEVELOPMENT OF *PENAEUS CHINENSIS*

Ji Wenjuan

(Yellow Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** The fatty acid compositions for five stages of development (egg, nauplius, protozoa, mysis, and one - to - two day postlarvae) of the shrimp *Penaeus chinensis* were determined. Of eleven fatty acids identified, the four major fatty acids in the egg were 16:0, 16:1 $\omega$ 7, 18:1 $\omega$ 9, 20:5 $\omega$ 3, and the five major fatty acids in the one - to - two day postlarvae were 16:0, 18:1 $\omega$ 9, 18:2 $\omega$ 6, 20:5 $\omega$ 3, 22:6 $\omega$ 3 respectively.

There were decreases in the amount of C14:0, C16:0 and C16:1 $\omega$ 7 from egg to postlarvae. and increases in that of C18:0, C18:2 $\omega$ 6, C18:3 $\omega$ 3 and C22:6 $\omega$ 3 from egg to postlarvae stages of development. The significance of these results to understand shrimp larval nutrition is discussed.

**KEYWORDS** *Penaeus chinensis*, Fatty acid, Larval development, Nutritional requirement