

文章编号: 1674- 5566(2009) 05- 0532- 07

不同强化剂及其剂量对褶皱臂尾轮虫成活率和脂肪酸组成的影响

尹彦强¹, 黄旭雄¹, 李伟微^{1,2}, 施兆鸿³, 华雪铭¹, 杨志刚¹

(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. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062

3. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: 以小新月菱形藻强化效果为对照, 研究了 3 种油脂型强化剂(墨鱼油、精制鱼油、混合鱼油)在不同剂量(0.25 g/L、0.35 g/L 和 0.45 g/L)下强化 12 h 后褶皱臂尾轮虫的脂肪酸组成和成活率。结果表明, 不同强化剂和强化剂量下褶皱臂尾轮虫的成活率存在显著差异。用小新月菱形藻强化轮虫的成活率最高(96.82%), 随着油脂型强化剂剂量的增大, 轮虫的成活率显著下降。当强化剂量为 0.45 g/L 时, 墨鱼油型强化剂强化过程中轮虫的成活率仅为 72.54%。不同强化剂强化后轮虫的脂肪酸组成有显著差异, 强化前轮虫的 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 2.56%、0.95% 和 7.73%, PUFA 含量仅为 16.65%。小新月菱形藻强化轮虫的 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 12.27%、1.80% 和 8.61%, PUFA 含量为 26.00%。墨鱼油型强化剂强化的轮虫 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 12.73%~13.47%、1.41%~1.46% 和 17.04%~17.96%, PUFA 含量为 39.36%~40.82%。精制油型强化剂强化的轮虫 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 14.58%~17.00%、1.48%~2.78% 和 30.24%~31.93%, PUFA 含量为 55.53%~59.32%。混合鱼油型强化剂强化的轮虫 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 13.34%~14.13%、1.38%~1.42% 和 24.88%~26.60%, PUFA 含量为 48.87%~50.70%。综合考虑轮虫成活率及脂肪酸组成, 采用 0.35 g/L 精制鱼油或 0.25 g/L 混合鱼油强化银鲳仔鱼的饵料轮虫是合适的。

关键词: 褶皱臂尾轮虫; 小新月菱形藻; 强化剂; 成活率; 脂肪酸

中图分类号: S 963.1 文献标识码: A

The effects of different enrichments and dosages on survival rate and fatty acid composition of *Brachionus plicatilis*

YIN Yan-qiang¹, HUANG Xu-xiong¹, LI Weiw ei^{1,2},
SHI Zhao-hong³, HUA Xue-ming¹, YANG Zhi-gang¹

(1 Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources,
Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

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

3 East China Sea Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090)

收稿日期: 2009-04-07

基金项目: 上海市自然科学基金项目(06ZR14119); 中国水产科学研究院东海水产研究所重点实验室开放项目(66701Z2613); 上海水产大学博士启动基金(科 05216); 上海市农委重点攻关项目(沪农科攻字 2005 第 4-4 号); 上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 尹彦强(1984-), 男, 山东临河人, 硕士研究生, 从事水产动物营养与饵料研究, Email: yinyanqiang@163.com

通讯作者: 黄旭雄, Tel: 021-61900463, Email: xxhuang@shou.edu.cn

Abstract The fatty acid composition and survival rate of *Brachionus plicatilis* enriched respectively with 3 kinds of oil enrichment (cuttlefish oil refined fish oil mixed fish oil) and microalgae *Nitzschia closterium* as control were studied. The effect of each kind of enrichment were assayed at different dosages (0.25 g/L, 0.35 g/L and 0.45 g/L) after a 12 h enrichment. The results showed that there were significant differences on survival among different enrichments and dosages. The survival rate of rotifers enriched with *Nitzschia closterium* was the highest (96.82%), and the larger dosage of the oil enrichment the lower survival rate of rotifer. The lowest survival was only 72.54% when 0.45 g/L cuttlefish oil enrichment was applied. The fatty acid compositions of rotifers were also changed significantly as different enrichment fed. The contents of EPA, ARA, DHA and PUFA of the rotifer without being enriched were 2.56%, 0.95%, 7.73%, and 16.63% respectively. The contents of EPA, ARA, DHA and PUFA in the rotifer enriched with *Nitzschia closterium* were 12.27%, 1.80%, 8.61% and 26.00% respectively. The contents of EPA, ARA, DHA and PUFA in the rotifer enriched with cuttlefish oil were 12.73%–13.47%, 1.41%–1.46%, 17.04%–17.96% and 39.36%–40.82% respectively. The contents of EPA, ARA, DHA and PUFA in the rotifer enriched with refined fish oil were 14.58%–17.00%, 1.48%–2.78%, 30.24%–31.93 and 55.53%–59.32% respectively. The contents of EPA, ARA, DHA and PUFA in the rotifer enriched with mixed fish oil were 13.34%–14.13%, 1.38%–1.42%, 24.88%–26.60% and 48.87%–50.70% respectively. It is therefore suggested that rotifer enriched with 0.35 g/L refined fish oil or 0.25 g/L mixed fish oil for silver pomfret larvae should be suitable from the viewpoint of rotifer survival and fatty acid profiles.

Key words *Brachionus plicatilis*; *Nitzschia closterium*; enrichment; survival rate; fatty acid

轮虫作为银鲳等海水鱼类仔稚鱼阶段重要的生物饵料,其营养组成是否均衡直接影响仔稚鱼的生长及存活。目前,生产上以酵母为饵料培养的轮虫体内高不饱和脂肪酸(HUFA)含量往往较低^[1-2],而这些脂肪酸对于维持仔稚鱼的细胞膜正常生理功能和神经发育等都有重要作用^[3-6],必需脂肪酸缺乏会影响海水鱼苗的存活、生长及抗病抗逆能力。轮虫的总脂含量和脂肪酸组成受其食物脂肪酸组成的影响较大^[7],生产上普遍采用营养强化的方式来提高其营养价值。酵母轮虫营养强化所采用的强化剂类型主要有微藻、乳化油脂及微粒子饲料等,其强化效果与强化剂的脂肪酸组成有密切关系^[8],也与强化剂的化学形态有关^[8-10]。刘镜恪等^[10]研究表明,用天然鱼油和乙酯鱼油分别强化轮虫,再投喂黑鲷(*Sparus macrocephalus*)仔鱼,发现仔鱼对天然鱼油更容易消化吸收。已有研究表明,用乳化油脂强化轮虫的适宜强化时间为12 h左右^[8-11]。银鲳(*Pampus argenteus*)是我国重要的海产经济鱼类之一。近年来有关银鲳人工苗种培育的研究已见报道^[12],早期幼体培育的温度在20℃左右,但育苗过程中仔稚鱼的成活率较低,推测原因之一为幼体饵料中必需脂肪酸缺乏所致。小新月菱形藻因富含多不饱和脂肪酸而在水产养殖中得到广泛应用,是多种养殖生物幼体的优良饵料。本文研究了小新月菱形藻及3种不同乳化鱼油型强化剂强化轮虫的成活率和脂肪酸组成,以期为银鲳育苗中选择合适的轮虫强化方法提供初步的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用褶皱臂尾轮虫为东海水产研究所海南基地提供的土池轮虫,运抵养殖场后用酵母暂养48 h,小新月菱形藻由微藻光生物反应器所培养。3种鱼油型强化剂分别是在墨鱼油、精制鱼油、混合鱼油(普通鱼油、豆油和墨鱼油按特定比例混合)的基础上添加一定量的V_E、卵磷脂和乳化剂而制得。

1.2 试验设计

试验设4个组,分别用小新月菱形藻、墨鱼油强化剂、精制鱼油强化剂和混合鱼油强化剂进行轮虫

强化,每组鱼油型强化剂分别设立 0.25 g/L、0.35 g/L 和 0.45 g/L 3个剂量。每个处理设 3平行。轮虫强化在 30 个 20 L 的塑料桶中进行。强化起始密度均为 500 个 /mL, 小新月菱形藻强化浓度维持在 300 万个细胞 /mL 以上。轮虫强化过程中, 温度 (28 ±2) °C, 盐度 30 自然光照, 连续充气。强化前取一定量的轮虫作为空白对照。强化 12 h 收集轮虫并用蒸馏水漂洗干净后, -46 °C 冷冻干燥, 保存待用。

1.3 测定方法

轮虫强化成活率通过计数强化前后单位水体中活体轮虫的数量获得。每个样品平行测定 3 次。脂肪酸测定采用气象色谱仪法。样品经冻干粉碎后, 参照 Folch 等^[13] 方法用氯仿—甲醇浸提脂肪。提取的脂肪用苯—石油醚 (1:1) 溶液和 0.5 mol/L NaOH—甲醇溶液进行水解和甲酯化, 静置 30 min, 取上清液经离心后于 HP6890A 气相色谱仪上分析。样品测定设 2 平行。

以混合脂肪酸及单一脂肪酸标准品 (Sigma 产品) 的分析图谱为参照, 应用色谱分析软件, 根据保留时间确定脂肪酸的种类, 并用归一法计算各脂肪酸的百分含量。

1.4 统计分析

测定结果以平均值 ± 标准差表示。百分含量的数值经方差齐性转换后, 用 SPSS11.0 软件做 ANOVA 分析, 并进行 Duncan 氏多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 不同强化剂及强化剂量对轮虫成活率的影响

经过 12 h 强化, 不同处理的轮虫成活率存在显著差异, 用小新月菱形藻强化轮虫的成活率最高 (96.80% ± 1.40%)。在 0.25 g/L 和 0.35 g/L 的强化剂量下, 使用 3 种乳化鱼油强化剂的轮虫成活率分别在 92% 和 83% 以上, 且不同强化剂之间无显著差异。在 0.45 g/L 的强化剂量下, 混合鱼油组的轮虫强化成活率显著高于墨鱼油组和精制鱼油组。同一种强化剂随着强化剂量的加大, 轮虫的成活率呈下降趋势 (表 1)。

表 1 不同强化剂和强化剂量对褶皱臂尾轮虫强化成活率的影响

Tab 1 The effects of different enrichments and dosages on the survival rates of the rotifer *Brachionus plicatilis*

	小新月菱形藻 (300万个细胞 /mL 以上)	墨鱼油 强化剂	精制鱼油 强化剂	混合鱼油 强化剂	%
0.25 g/L	96.82 ± 1.39 ^a	93.13 ± 0.97 ^{a, xy}	91.86 ± 4.42 ^{a, y}	93.21 ± 1.00 ^{a, xy}	
0.35 g/L	/	83.02 ± 1.18 ^{b, x}	85.57 ± 3.57 ^{a, x}	87.82 ± 2.30 ^{b, x}	
0.45 g/L	/	72.54 ± 4.81 ^{c, y}	78.43 ± 2.46 ^{a, y}	87.23 ± 2.72 ^{b, x}	

注: 表中数值上标 a, b, c 字母表示同一行不同处理之间存在显著差异 ($P < 0.05$); 上标 a, b, c 字母表示同一列不同处理之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

2.2 不同强化剂对轮虫脂肪酸强化效果

轮虫经不同强化剂及不同剂量的强化后, 其体内的脂肪酸组成见表 2。对表 2 中 20.4n-6, 20.5n-3, 22.6n-3, SFA、MUFA、PUFA、HUFA、DHA/EPA、EPA/ARA、n-3/n-6 等指标的统计结果见表 3。

强化前轮虫体内含量较高的脂肪酸依次为 18c 1n-9, 16c 1, 14c 1 和 16c 0 均为低碳链的饱和或单不饱和脂肪酸, DHA 含量为 7.73% ± 0.09%, 高不饱和脂肪酸 (PUFA) 含量较低, 仅为 16.65% ± 0.11%。小新月菱形藻强化轮虫体内含量较高的脂肪酸依次为 16c 0, 16c 1, 14c 1 和 EPA, 其中 DHA 占总脂肪酸的百分含量为 8.61% ± 0.86%, 与强化前没有显著差异, 而 ARA、EPA、PUFA、HUFA 含量均显著高于强化前。

表 2 小新月菱形藻和 3 种鱼油型强化剂在不同剂量下对轮虫脂肪酸组成的强化效果

Tab 2 The fatty acids composition of the *Brachionus plicatilis* enrichedwith *N. closterium* and three fish oil enrichments %

强化前	微藻	墨鱼油型强化剂			精制鱼油型强化剂			混合鱼油型强化剂				
		0.25g/L	0.35g/L	0.45g/L	0.25g/L	0.35g/L	0.45g/L	0.25g/L	0.35g/L	0.45g/L		
8:0	1.27±0.02	0.92±0.26	0.16±0.05	0.17±0.08	0.10±0.02	1.27±0.30	0.41±0.11	0.69±0.22	0.51±0.20	0.54±0.11	0.75±0.37	
14c 0	2.59±0.04	4.57±0.36	4.58±0.25	4.83±0.04	4.77±0.17	1.05±0.20	2.10±0.15	1.56±0.42	2.61±0.09	2.67±0.10	2.56±0.16	
14c 1	13.66±0.08	13.38±3.15	1.70±0.70	1.93±0.87	1.19±0.25	10.79±0.20	4.37±0.80	7.23±1.84	5.54±2.02	5.64±0.80	7.90±3.83	
16c 0	11.96±0.09	16.77±0.98	15.52±0.61	15.15±0.56	15.04±0.19	7.39±0.04	7.73±0.4	7.80±0.48	10.32±0.96	10.09±0.02	9.19±0.20	
16c 1	14.35±0.11	13.80±0.81	5.29±0.33	5.19±0.09	5.05±0.09	3.32±0.09	3.33±0.10	3.40±0.01	3.98±0.24	4.06±0.23	3.64±0.08	
17c 1	4.20±0.06	3.15±0.12	1.41±0.73	1.91±0.05	1.88±0.03	2.94±0.27	1.58±0.24	2.27±0.21	1.80±0.46	2.01±0.23	2.54±0.95	
18c 0	7.48±0.04	6.69±0.37	3.31±0.44	2.81±0.02	2.72±0.01	3.07±1.53	1.99±0.01	3.08±1.52	3.08±0.67	2.76±0.13	2.30±0.16	
18c In-9	17.25±0.09	6.75±0.28	11.15±0.28	28.11±24.0	28.11±22.0	0.09	7.59±0.05	8.86±0.34	8.33±1.10	9.14±0.05	9.77±0.28	8.74±0.97
18c In-7	5.46±0.03	4.32±0.25	3.37±0.18	3.25±0.29	3.01±0.10	2.78±0.49	2.43±0.01	2.77±0.49	3.08±0.21	3.01±0.06	2.52±0.05	
18c 2n-6	2.52±0.01	1.92±0.17	1.78±0.06	1.75±0.04	1.74±0.01	1.82±0.78	1.26±0.40	2.31±0.08	2.14±0.05	2.15±0.05	1.99±0.13	
18c 3n-3	1.07±0.00	1.40±0.11	1.06±0.10	0.93±0.04	0.96±0.05	1.34±0.22	1.66±0.74	1.31±0.25	1.22±0.07	1.65±0.01	1.01±0.04	
20c In-9	2.31±0.04	nd	5.34±0.69	6.18±1.40	5.80±0.24	1.78±0.35	3.33±1.08	3.08±0.53	2.14±0.38	2.00±0.09	2.32±0.14	
20c In-7	0.54±0.04	nd	2.11±0.18	1.74±1.14	1.99±0.17	nd	nd	nd	1.85±0.23	2.11±0.17	1.95±0.28	
20c 4n-6	0.95±0.01	1.80±0.14	1.46±0.02	1.41±0.01	1.45±0.01	1.69±0.42	2.78±1.02	1.48±0.12	1.42±0.06	1.41±0.05	1.38±0.09	
20c 5n-3	2.56±0.02	12.27±0.97	12.73±0.52	12.96±0.22	13.47±0.23	14.78±3.42	17.00±0.28	14.58±2.1	13.52±1.51	13.34±0.80	14.13±1.42	
22c 0	nd	nd	4.62±0.57	4.72±0.30	5.01±0.12	1.60±0.63	2.46±0.04	2.90±0.09	4.04±1.53	4.68±1.44	5.09±0.35	
22c 5n-3	nd	nd	1.15±0.06	1.10±0.03	1.14±0.01	1.86±0.16	1.91±0.09	1.79±0.07	1.56±0.11	1.49±0.07	1.55±0.14	
22c 6n-3	7.73±0.09	8.61±0.86	17.96±0.54	17.04±0.26	17.73±0.25	31.93±2.30	31.87±2.39	30.24±0.09	26.60±2.52	25.39±1.20	24.88±2.57	

注: SFA 包括 8:0、14:0、12:0、13:0、14:0、15:0、16:0、17:0、18:0、20:0、22:0; MUFA 包括 14:1、15:1、16:1、17:1、18:1n-9、18:1n-7、20:1n-9、20:1n-7、22:1; PUFA 包括 16:2、16:4n-3、18:2n-9、18:2n-6、18:3n-9、18:3n-6、18:3n-3、18:4n-6、20:2n-6、20:4n-6、20:4n-3、20:5n-3、22:2n-6、22:3n-6、22:4n-6、22:5n-3、22:6n-3; HUFA 指 20:3n 以上的 PUFA。表中数值以 M ± SD 表示, nd 表示未检出。

表 3 不同强化剂强化前后轮虫体内重要脂肪酸组成变化的统计结果

Tab 3 The statistical results of composition changes of the important fatty acids about different enrichments

强化前	小新月菱形藻	墨鱼油型强化剂			精制鱼油型强化剂			混合鱼油型强化剂			
		0.25g/L	0.35g/L	0.45g/L	0.25g/L	0.35g/L	0.45g/L	0.25g/L	0.35g/L	0.45g/L	
20c 4n-6 (ARA) (%)	0.95 ^a	1.80 ^b	1.46 ^b	1.41 ^{ab}	1.45 ^b	1.69 ^b	2.78 ^c	1.48 ^b	1.42 ^{ab}	1.41 ^{ab}	1.38 ^{ab}
20c 5n-3 (EPA) (%)	2.56 ^a	12.27 ^b	12.73 ^{bc}	12.96 ^{bc}	13.47 ^{bc}	14.78 ^c	17.00 ^d	14.58 ^{bc}	13.52 ^{bc}	13.34 ^{bc}	14.13 ^{bc}
22c 6n-3 (DHA) (%)	7.73 ^a	8.61 ^a	17.96 ^b	17.04 ^b	17.73 ^b	31.93 ^c	31.87 ^c	30.24 ^c	26.60 ^d	25.39 ^d	24.88 ^d
DHA/EPA	3.02 ^f	0.70 ^a	1.41 ^b	1.31 ^b	1.32 ^b	2.20 ^e	2.12 ^c	1.87 ^{de}	1.97 ^d	1.90 ^c	1.76 ^c
ERA/ARA	2.70 ^a	6.82 ^b	8.70 ^d	9.20 ^{cd}	9.27 ^{cd}	8.74 ^{cd}	6.12 ^{bc}	9.87 ^d	5.95 ^d	9.46 ^d	10.27 ^d
SFA(%)	24.71 ^c	31.14 ^c	29.01 ^{de}	28.90 ^{de}	28.80 ^d	16.02 ^a	15.78 ^a	17.39 ^a	21.38 ^b	21.53 ^b	20.73 ^b
MUFA(%)	57.77 ^e	42.08 ⁱ	30.53 ^{bc}	31.57 ^f	30.27 ^{bc}	27.21 ^{bc}	24.91 ^a	27.08 ^{ab}	27.52 ^{abc}	29.19 ^c	29.61 ^{bc}
PUFA(%)	16.65 ^a	26.00 ^b	40.30 ^c	39.36 ^c	40.82 ^c	57.47 ^j	59.32 ^d	55.53 ^d	50.70 ^e	48.87 ^e	49.11 ^e
HUFA(%)	12.12 ^a	22.68 ^b	34.68 ^c	33.76 ^c	35.12 ^c	53.04 ^{ef}	55.75 ^f	50.13 ^e	44.82 ^d	43.22 ^d	43.51 ^d
n-3/n-6	3.53 ^a	5.99 ^b	5.51 ^b	5.39 ^b	5.45 ^b	8.22 ^e	8.24 ^e	7.57 ^d	6.81 ^c	6.62 ^c	6.84 ^c

注: 同一行中上标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

墨鱼油型强化剂强化的轮虫 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 12.73% ~ 13.47%、1.41% ~ 1.46% 和 17.04% ~ 17.96%，PUFA、HUFA 含量分别为 39.36% ~ 40.82%、33.76% ~ 35.12%，DHA/EPA 为 1.31 ~ 1.41，具体与强化剂的用量有关。精制油型强化剂强化的轮虫 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 14.58% ~ 17.00%、1.48% ~ 2.78% 和 30.24% ~ 31.93%，PUFA、HUFA 含量分别为 55.53% ~ 59.32%、50.12% ~ 55.75%，DHA/EPA 为 1.87 ~ 2.12。混合鱼油型强化剂强化的轮虫 EPA、ARA 和 DHA 的量分别为 13.34% ~ 14.13%、1.38% ~ 1.42% 和 24.88% ~ 26.60%，PUFA、HUFA 含量分别为 48.87% ~

50.70%、43.22%~44.82%, DHA/EPA 为 1.76~1.97%。精制鱼油组 ARA 含量显著高于强化前, 其中 0.35 g/L 组含量最高, 显著高于其他各组, 而混合鱼油组 ARA 含量与强化前没有显著差别。各强化剂组 EPA 含量显著高于强化前, 其中精制鱼油 0.35 g/L 组含量显著高于其他各组。不同油脂型强化剂强化轮虫, 其体内 DHA 含量差异显著, 含量由高到低依次为精制鱼油组、混合鱼油组、墨鱼油组, 均显著高于小新月菱形藻组和强化前。各实验组之间 PUFA、HUFA 含量均差异显著, 含量变化为精制鱼油组 > 混合鱼油组 > 墨鱼油组 > 小新月菱形藻组 > 强化前, 而同一种强化剂不同强化剂量之间没有显著差异。轮虫 DHA/EPA 和 EPA/ARA 在强化前为 3.02 和 2.70, 用精制鱼油和混合鱼油强化后的轮虫 DHA/EPA 和 EPA/ARA 在 1.76~2.20 和 5.95~10.27 之间变动。墨鱼油强化后的轮虫 DHA/EPA 和 EPA/ARA 在 1.31~1.41 和 8.20~9.27 之间变动。小新月菱形藻强化后的轮虫 DHA/EPA 和 EPA/ARA 在 0.70 和 6.82, n-3/n-6 值最高的为精制鱼油组, 其他依次为混合鱼油组、小新月菱形藻组、墨鱼油组、未强化组。同种强化剂不同剂量强化后轮虫的 n-3/n-6 值相对稳定。

3 讨论

3.1 不同强化剂及强化剂量对轮虫强化过程中成活率的影响

温度与饵料是影响轮虫寿命和繁殖速度重要的环境因子。用椭圆小球藻培养壶状臂尾轮虫时, 当食物浓度高于 3.0×10^6 细胞/mL 或低于 1.5×10^6 细胞/mL 时, 轮虫的平均寿命显著缩短^[14]; 本实验结果表明, 不管是小新月菱形藻强化组, 还是油脂型强化剂强化组, 强化后单位水体中轮虫的数量均有不同程度的下降。小新月菱形藻强化组轮虫的强化成活率最高, 达 96.82%, 这与小新月菱形藻含有蛋白、脂肪及维生素等多种轮虫生长必需的营养物质有关。而 3 种油脂型强化剂的轮虫强化成活率显著低于小新月菱形藻强化组, 说明以油脂为主的强化饵料不足以支撑褶皱臂尾轮虫正常的生长存活。张利民等^[8]也发现利用 n-3 多价不饱和脂肪酸营养强化轮虫, 随着强化剂量的加大, 轮虫密度呈下降趋势, 并认为是由饵料转化不适应造成的。随着油脂型强化剂强化剂量的增大, 各组轮虫的成活率都呈下降趋势。推测与如下两方面因素有关: 一是氧化脂肪对轮虫的毒害作用。油脂型强化剂中 DHA、EPA 等高不饱和脂肪酸含量较高, 且处于游离状态, 这些高不饱和脂肪酸在充分曝气和较高温度下易发生自然氧化, 而氧化脂肪对养殖生物是有毒的, 会降低轮虫体质^[15~16], 用富含 PUFA 的强化剂对卤虫进行强化实验研究, 发现随着强化时间的延长, 强化剂的氧化程度增加, 卤虫的成活率明显降低^[17]。二是过高的乳化脂滴密度增加了水体的粘滞性。当水的粘滞性升高, 会降低轮虫的繁殖、运动、消化能力^[18]。豆油的粘滞性要低于鱼油及墨鱼油, 这可能就是混合鱼油组, 在相同强化剂量下成活率高于其他两组强化剂的原因。

3.2 不同强化剂及强化剂量对轮虫体脂肪酸的影响

轮虫体内的脂肪酸组成受其饵料的脂肪酸组成所影响。一般酵母培养轮虫的体内缺乏 DHA^[1~2]。本试验中, 经酵母暂养的强化前轮虫体内的 DHA 占总脂肪酸的 7.73%, 可能与其来源于土池培养有关。土池轮虫因其实所摄取的饵料的多样性, 表现在脂肪酸营养价值相对较高。小新月菱形藻富含 EPA 和 PUFA, 且含有一定量的 DHA^[19]。小新月菱形藻强化轮虫体内 EPA、HUFA 含量显著高于强化前, 而 DHA 含量与强化前没有显著差异, 说明单纯的小新月菱形藻对试验用轮虫的 DHA 组成的强化效果不明显。张利民等^[20]研究也表明仅靠微藻强化轮虫是不妥的, 应该采用乳化油和微藻联合强化, 效果会更好。各乳化油脂型强化剂组轮虫体内 HUFA 含量显著高于对照组和小新月菱形藻组, 尤其是 EPA, DHA 含量提高幅度最大, 这与各强化剂中高含量的 EPA, DHA 等 HUFA 水平有关。大量研究发现利用强化剂对轮虫进行营养强化, 轮虫体内 HUFA 组成与饵料中 HUFA 组成具有正相关性^[21~23]。提高饵料中高不饱和脂肪酸含量对于海水鱼苗种生长具有重要作用。EPA 是细胞维持细胞膜正常机能所必须的。DHA 的缺乏会导致幼体发育过程中视神经细胞的发育异常及色素沉着异常。ARA 能够增加幼体的抗应激能力。多数海水鱼类缺乏 C20 及以上的碳链延长酶和 5 及以下的去饱和酶, 不能把 18.2n-6

和 18 3n-3 等短链脂肪酸转换成 EPA、DHA 和 ARA 等高不饱和脂肪酸, 必须从饵料中获得足够的 EPA、DHA 和 ARA 等高不饱和脂肪酸^[24-26]。投喂鱼油强化轮虫及强化卤虫, 可显著提高牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 仔鱼成活率, 生长率及体脂肪酸含量^[27]。投喂富含必需脂肪酸的乳化油强化的轮虫, 遮目鱼 (*Chanos chanos*) 苗种的生长率和抗盐度变化能力增加, 死亡率和畸形率降低^[28]。Roo 等^[29]发现摄食强化轮虫的赤鲷 (*Pagrus pagrus*) 具有低的死亡率和畸形率。此外对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)^[30], 黄尾黄盖鲽 (*Linanda ferruginea*)^[21], 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*)^[31]的实验也证明提高饵料的 HUFA 含量可明显改善鱼苗培育效果。

饵料中 DHA/EPA 及 EPA/ARA 的值对改善海水仔稚鱼的生长、存活也是十分重要的。轮虫体内 DHA/EPA 比例的提高也有利于大菱鲆仔鱼正常的色素沉着^[32]。本实验中, 不同强化剂组 DHA/EPA 比例维持在 1.31~2.20, Rodríguez 等^[33-34]研究表明, 轮虫体内 DHA 的含量高于 EPA 可提高金鲷仔鱼的生长速度和成活率。采用 n-3HUFA 含量相同, 但 DHA 与 EPA 比例不同的 4 种乳化油强化轮虫活饵料培育 17 日龄的金头鲷, 4 种强化轮虫体内 DHA 与 EPA 的比例分别为 0.3/1, 0.6/1, 1.2/1 和 1.4/1, 2 周后的试验结果表明, 随着轮虫体内 DHA 比例的提高, 仔鱼的生长速度也随之加快^[35]。大菱鲆仔鱼早期发育中 DHA/EPA/ARA 的最佳比例为 1.8/1.0/0.12^[36], 鲈鱼仔稚鱼的饲料中 DHA/EPA 的最佳比例大约为 2/1, 并且 EPA/ARA 的最佳配比大约为 1/1^[37]。黑线鳕幼体饵料的最佳 DHA/EPA/ARA 的比例的比例为 10/1/1^[38]。表明不同的海水鱼幼体及同种海水鱼的不同发育阶段幼体对饵料中的高不饱和脂肪酸的需求是不同的。施兆鸿等^[39]对养殖银鲳不同生长阶段体内脂肪酸的组成做了分析, 发现养殖银鲳体内 HUFA 含量在 15.99%~21.45%, DHA/EPA 为 1.01~2.48, EPA/ARA 为 2.48~6.20。本实验研究发现 0.35 g/L 精制鱼油强化的轮虫体内 HUFA 最高, 为 55.75%, 其 DHA/EPA 为 2.12, EPA/ARA 为 6.12, 0.25 g/L 混合鱼油强化的轮虫体内 HUFA 为 44.82%, 其 DHA/EPA 为 1.97, EPA/ARA 为 5.95。从高不饱和脂肪酸的比例看, 上述两种强化条件下获得的轮虫脂肪酸组成符合银鲳仔稚鱼脂肪酸组成, 理论上是最好的。加之该强化条件下轮虫强化成活率较高, 因此可以考虑采用 0.35 g/L 精制鱼油或 0.25 g/L 混合鱼油强化银鲳仔稚鱼的饵料轮虫。至于混合鱼油剂量低于 0.25 g/L 强化效果及强化轮虫的应用效果仍有待于通过进一步试验进行评估。

参考文献:

- [1] Lubzens E, Tandler A, Minkoff G. Rotifers as food in aquaculture [J]. Hydrobiologia, 1989, 186/187: 387~400.
- [2] Watanabe T, Kitajima C, Fujita S. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish—a review [J]. Aquaculture, 1983, 34: 115~143.
- [3] Watanabe T. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish [J]. World Aquaculture Society, 1993, 24: 152~161.
- [4] Jose R, Rainuzzo K, Jell I, et al. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review [J]. Aquaculture, 1997, 155: 103~115.
- [5] Sargent J R, McEvoy L A, Bell J G. Requirement presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds [J]. Aquaculture, 1997, 155: 117~127.
- [6] 钱开霞, 陆开宏. 高度不饱和脂肪酸 (HUFA) 对海水仔鱼营养的影响 [J]. 浙江海洋学院学报 (自然科学版), 1999, 18(4): 344~347.
- [7] Ranuzzo JR, Olsen Y, Rosenlund G. The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis*) [J]. Aquaculture, 1989, 79: 157~161.
- [8] 张利民, 常建波, 张秀珍, 等. n-3 多不饱和脂肪酸营养强化轮虫技术研究 [J]. 水产学报, 1997, 21(4): 415~421.
- [9] Watanabe T. Projects in larval fish dietetics [J]. Aquaculture, 1994, 124: 223~251.
- [10] 刘镜怡, 雷霖. 活饵料中 n-3 高度不饱和脂肪酸对黑鲷仔稚鱼生长和存活的影响 [J]. 海洋水产研究, 1998, 19(2): 14~18.
- [11] 徐同成, 朱艺峰. 轮虫营养强化技术研究进展 [J]. 水产科学, 2005, 24(6): 42~45.
- [12] 施兆鸿, 王建钢, 高露姣, 等. 银鲳繁殖生物学及人工繁育技术的研究进展 [J]. 海洋渔业, 2005, 27(3): 246~250.
- [13] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226: 497~509.

- [14] 席贻龙, 黄祥飞. 食物种类和浓度对壶状臂尾轮虫实验种群动态的影响 [J]. 水生生物学报, 1999, 23: 227– 234.
- [15] Dhert P, Lavens P, Duray M, et al. Improved larval survival at metamorphosis of Asian seabass (*Lates calcarifer*) using ω-3HUFA-enriched livefood [J]. Aquaculture, 1990, 128: 315– 333.
- [16] Stettiniup J G, Attramadal Y. The influence of different rotifer and *Artemia* enrichment diets on growth, survival and pigmentation in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae [J]. World Aquaculture Society 23: 307– 316.
- [17] McEvoy L A, Navarro J C, Bell J G, et al. Autoxidation of oil emulsions during the *Artemia* enrichment process [J]. Aquaculture, 1995, 134: 101– 112.
- [18] Hagiwara A, Yamamoto N, Bekm de Araujo A. Effect of water viscosity on the population growth of the rotifer *Brachionus plicatus* Müller [J]. Hydrobiologia, 1998, 387/388: 489– 494.
- [19] 蒋霞敏, 郑亦周. 14种微藻总脂含量和脂肪酸组成研究 [J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 243– 247.
- [20] 张利民, 常建波, 张秀珍, 等. 50DE微囊营养强化轮虫 DHA 的研究 [J]. 中国水产科学, 1997, 4(5): 44– 49.
- [21] Copeman L A, Parrish C C, Brown J A, et al. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment [J]. Aquaculture, 2002, 210: 285– 304.
- [22] Watanabe T, Tamaya T, Oka A, et al. Improvement of dietary value of live foods for fish larvae by feeding them on ω3 highly unsaturated fatty acids and fat soluble vitamins [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1983, 49(3): 471– 479.
- [23] Rainuzzo J R, Reitan K I, Olsen Y. Effect of short and long term lipid enrichment on total lipids, lipid class and fatty acid composition in rotifers [J]. Aquaculture International, 1994, 2: 19– 32.
- [24] Moretta G, Rodriguez A, Tocher D R, et al. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding [J]. Aquaculture, 1993, 112: 79– 98.
- [25] Witt U, Quanta G, Kuhlmann M D. Survival and growth of turbot larva *Scophthalmus maximus* L., reared on different food organisms with special regard to long-chain polyunsaturated fatty acids [J]. Aquacultural Engineering, 1984, 8: 177– 190.
- [26] Ostrowski A C, Divakaran S. The amino acid and fatty acid compositions of selected tissues of the dolphin fish (*Coryphaena hippurus*) and their nutritional implications [J]. Aquaculture, 1989, 80: 285– 299.
- [27] 邱小琼, 周洪琪, 曾庆华, 等. 营养强化的轮虫、卤虫对牙鲆仔鱼的成活、生长及体脂肪酸组成的影响 [J]. 水产科学, 2004, 23(2): 4– 8.
- [28] Gapasin R S J, Banbeo R, Lavens P, et al. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance [J]. Aquaculture, 1998, 162: 269– 286.
- [29] Roof F J, Hernández-Cruz C M, Socorro J A, et al. Effect of DHA content in rotifers on the occurrence of skeletal deformities in red porgy *Pagrus pagrus* (Linnaeus 1758) [J]. Aquaculture, 2009, (287): 84– 93.
- [30] Robin J H. Use of borage oil in rotifer production and *Artemia* enrichment effect on growth and survival of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae [J]. Aquaculture, 1998, 161: 323– 331.
- [31] 郑智莺, 苏跃中, 游岚, 等. 轮虫的营养强化对大黄鱼生长及成活率影响的试验 [J]. 台湾海峡, 1996, 15(Sup): 6– 10.
- [32] Reitan K I, Rainuzzo J R, Oie G, et al. Nutritional effects of algal addition in first feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae [J]. Aquaculture, 1993, 118: 257– 275.
- [33] Rodríguez C, Pérez J A, Lorenzo A, et al. n-3HUFA requirement of larval gilthead seabream *Sparus aurata* when using high level of eicosapentaenoic acid [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1994, 107A: 693– 698.
- [34] Rodríguez C, Pérez J A, Izquierdo M S, et al. The effect of n-3HUFA proportions in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval culture [J]. Aquaculture, 1994, 124: 284.
- [35] Rodríguez C, Pérez J A, Díaz M, et al. Influence of the EPA: DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development [J]. Aquaculture, 1997, 150: 77– 89.
- [36] Sargent J, McEvoy L, Estevez A, et al. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions [J]. Aquaculture, 1999, 179(1– 4): 217– 229.
- [37] Sargent J, Bell G, McEvoy L, et al. Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish [J]. Aquaculture, 1999, 177(1– 4): 191– 199.
- [38] Castell J, Blair T, Neil S, et al. The effect of different HUFA enrichment emulsions on the nutritional value of rotifers (*Brachionus plicatus*) fed to larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) [J]. Aquaculture International, 2003, 11: 109– 117.
- [39] 施兆鸿, 黄旭雄, 李伟微, 等. 养殖银鲳幼鱼体脂含量及脂肪酸组成的变化 [J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(4): 435– 439.