

·研究简报·

不同饵料培养的轮虫对假睛东方鲀仔鱼脂肪酸的影响

Effects of different dietary rotifers on body fatty acid composition in larval *Takifugu pseudomus*

龚小玲 苏锦祥

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

Gong Xiaoling Su Jinxiang

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

段晓英 姜秀凤

(中国水产科学研究院北戴河中心实验站, 北戴河 066100)

Duan Xiaoying Jiang Xiufeng

(Beidaihe Central Experiment Station, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qinhuangdao 066100)

关键词 假睛东方鲀, 仔鱼, 脂肪酸, 饵料, 轮虫

Key words *Takifugu pseudomus* (Chu), larvae, fatty acid, dietary, rotifers

假睛东方鲀(*Takifugu pseudomus*)隶属于鲀形目、鲀科、东方鲀属,其肉鲜美,是名贵的经济海水鱼类。其人工育苗在国内已获成功,但成活率均不高,主要原因是缺少适口、营养全面的饵料以及个体间的互相残杀严重等。根据近年来对海水鱼苗种生产的研究成果表明:饵料轮虫和卤虫中的脂质,尤其是脂肪酸对仔鱼的存活率和活力等影响较大,其中作为必需脂肪酸的二十二碳六稀酸(DHA)和二十碳五稀酸(EPA)含量的多少是最重要的因子^[1]。目前,国内外有关鱼类及其饵料脂肪酸方面的研究很多,包括脂肪酸的组成^[2],饵料脂肪酸的需要量^[3],脂肪酸的缺乏症^[4],脂肪酸的功能^[5],饵料脂肪酸对生长的影响^[6],脂肪酸在机体内转化^[7]等方面。本文研究饵料脂肪酸的种类组成、百分含量对假睛东方鲀仔鱼体内脂肪酸组成的影响,旨在为其人工育苗提出饵料轮虫的最佳培养方式,获得最全面的必需脂肪酸的来源,为进一步研究假睛东方鲀仔鱼在饵料脂肪酸的要求打下基础。

1 材料与方

1.1 轮虫的培养

以不同饵料培养的轮虫喂养同批初孵假睛东方鲀仔鱼,不同饵料轮虫的饲养方法:①酵母+小球藻培养,投喂前12 h以(40 ml 乌贼肝油+16 g 卵磷脂)/1000 L 溶液强化;②酵母+小球藻培养,投喂前12 h以高浓度小球藻强化;③乌贼肝油+酵母+小球藻培养;④酵母喂养的轮虫。轮虫培养温度均控制在25~30℃、盐度20、每天投入6次,每隔3~4 h 1次,隔天清洗培

养缸,自然光照,且都在6 L 透明玻璃缸、温室里进行。

1.2 仔鱼来源及饲养

假睛东方鲀初孵仔鱼来自河北省水产研究所。根据4种不同饵料轮虫,相应把同批初孵仔鱼分为1、2、3、4组培养,分别投喂4组轮虫,每组均设有2个平行组,每个培养缸均为20 cm×20 cm×15 cm 的透明玻璃缸,各放仔鱼150尾左右,调整1~4各组光线,使之相同,各缸均放在同一水浴中,微冲气,仔鱼开口第1天即投喂褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)密度10~12 ml⁻¹,饲养期间,假睛东方鲀仔鱼温控均在18.5~20℃,海水经安全系统过滤,盐度保持在30~33,每天检查死苗数、吸污、换水一半或更多,换去隔天饵料轮虫。

1.3 材料分析

仔鱼培养至12日龄,各缸仔鱼以蒸馏水冲洗2~3次后,保存在-20℃的低温冰箱中,同时以同样方法保存4组轮虫留待作气相色谱分析脂肪酸用。

脂肪酸含量以NaOH-CH₃OH溶液皂化后采用三氟化硼-乙醚催化法制得脂肪酸甲酯混合液,脂肪酸组成分析采用日立663-30型气相色谱仪,连接日立833型微处理机进行分析,并用归一化法计算脂肪酸的百分含量。

因气相色谱分析结果4组仔鱼与轮虫脂肪酸组成与标准图谱之间存在差异,4种仔鱼及轮虫脂肪酸图谱中有3种是标准种所不含有,故对样品进行了气相色谱与红外联用,并作进一步分析。分析条件:

色谱	HPSS890	FFAP-0.32 mm×30 m	MCD 红外
检测	300℃	PH 2 = 10 PSag	TCD 检测器

收稿日期:1998-12-28

进样 300 ℃ BioRad Gc-IR Ts 40

2 结果和分析

2.1 仔鱼体内脂肪酸的种类组成、百分含量

各组仔鱼脂肪酸的种类组成及相对百分含量见表 1。

用 4 种不同饵料喂养的 4 组假睛东方鲀仔鱼,其体内脂质在提取过程中,相同质量的仔鱼提取的油量存在差异;1 组含量最高为 100%,2 组是 1 组的 98%,3 组是 1 组的 40%,4 组是 1 组的 33.3%。4 组仔鱼的脂肪酸在种类组成上大致相似,且各组中的 EPA 百分含量均小于 DHA 的含量,这与“我国海产鱼类

的 EPA 较 DHA 的含量低^[3]”的观点相符。1~4 组仔鱼的 DHA、EPA、nΣ3HUFA 均呈递减趋势。因为气相色谱与红外联用的分析方法对于判断碳原子的个数较准确,但对于判断双键的位置、数目却存在着复杂的分析过程,在表 1 中 A、B、C 3 种脂肪酸在标样中不存在,但在 4 组仔鱼中却同时存在,且百分含量有着较强的一致性;A 在 4 组仔鱼中含量较少,均低于 3%;B、C 含量在各组中较高。脂肪酸 C 经气相色谱与红外联用法分析,其结果为 C23,这是很多中外涉及鱼类脂肪酸组成实验中所未曾提到的,因而值得进一步探讨。

表 1 假睛东方鲀仔鱼体内脂肪酸种类组成与相对百分含量

Table 1 Fatty acids composition of 4 groups of *Takifugu pseudonmmus* larvae

种 类 kind	1 组 group 1	2 组 group 2	3 组 group 3	4 组 group 4	%
C14	7.080±0.2	7.131±0.9	4.282±0.7	1.217±0.3	
C16	6.335±0.1	3.393±0.5	2.090±0.3	0.218±0.1	
C16:1ω8		0.977±0.2	Tr	1.161±0.3	
C18:0	1.120±0.5	1.397±0.2	0.815±0.1	0.217±0.2	
C18:1ω9	7.791±0.7	5.666±0.4	3.432±0.3	0.764±0.3	
C18:2ω6	0.534±0.1		1.241±0.2		
C18:3ω3	0.301±0.1	Tr	Tr	Tr	
C20:1ω9	Tr	Tr	Tr	Tr	
A*	1.835±0.3	2.355±0.3	0.812±0.4	0.471±0.2	
C20:4ω6	1.897±0.5	2.031±0.2	0.741±0.3	Tr	
C20:4ω3	0.821±0.2	1.310±0.1	1.026±0.3	1.067±0.2	
C20:5ω3(EPA)	2.127±0.3	4.610±0.5	1.066±0.4	Tr	
B*	20.091±1.2	24.800±1.7	7.932±1.2	4.946±0.4	
C22:4ω6	11.664±0.9	10.477±0.6	6.271±0.7	6.494±0.5	
C22:5ω3	3.071±0.5	2.753±0.4	Tr	0.468±0.2	
C22:6ω3(DHA)	11.982±0.6	7.311±0.3	3.813±0.2	2.447±0.5	
C*	20.793±1.3	22.731±1.4	6.933±0.6	12.510±0.8	
nΣ3HUFA	18.001	15.984	5.905	3.982	

注:A* C20:2ω9、C20:2ω6、C20:3ω6、C20:3ω3 中的 1 种;B* C22:0、C22:1ω11、C22:2ω9、C22:3ω3 中的 1 种;C* C23。

2.2 不同饵料脂肪酸种类组成、相对百分含量

经气相色谱分析,不同饵料脂肪酸种类组成及相对百分含量见表 2。

4 种不同方法培养的轮虫在提取脂肪酸的时候发现:相同质量的轮虫,1 组含油量最高,为 100%;2 组含脂量稍低于 1 组,为 1 组的 99.5%;4 组最低,为 1 组的 20%;3 组含脂量也较少,是 1 组的 40%。

4 组轮虫的脂肪酸在含量、种类组成上均存在着显著的差异;1、3 组饵料中含有乌贼肝油的脂肪酸种类较多,均为 16 种,2、4 组则种类较少,分别为 14、13 种。总体上 1~4 组 DHA、EPA 在含量上呈递减趋势,这与仔鱼的 DHA、EPA、nΣ3HUFA 变化趋势基本一致。

2.3 轮虫饵料脂肪酸的种类组成、百分含量

轮虫的饵料主要有酵母与小球藻,乌贼肝油与卵磷脂则主

要是作为强化剂。轮虫脂肪酸的差异是由其饵料及强化剂造成的(表 3)。

从表中可见,乌贼肝油与卵磷脂的 DHA、EPA 含量均较高,海水小球藻的 EPA 含量较 DHA 高;燕山牌酵母是专门为生产育苗中培养轮虫而特制的酵母,其 DHA、EPA 均有微量,其主要成份为 C14、C16、C16:1ω9;乌贼肝油中的脂肪酸种类最多,达 15 种,而卵磷脂、燕山牌酵母、小球藻的脂肪酸种类则较少,分别为 11、11、9 种。

3 讨论

饵料轮虫的脂质,尤其是脂肪酸对仔鱼的存活和活力等的影响大,其中作为必需脂肪酸的 C22:6ω3(DHA)和 C20:5ω3(EPA)含量的多少是最重要的因子;必需脂肪酸缺乏,仔鱼会表现出生长缓慢,饵料效率低,死亡率升高,肌肉含水量

表 2 4 种饵料轮虫脂肪酸种类组成和百分含量

Table 2 Fatty acids composition of 4 groups of rotifers					%
种 类 kind	1 组轮虫 group 1	2 组轮虫 group 2	3 组轮虫 group 3	4 组轮虫 group 4	
C14	2.511±0.2	3.217±0.5	2.612±0.2	0.376±0.04	
C16	10.705±1.0	10.966±0.7	4.323±0.4	3.574±0.28	
C16:1 ω 9		15.421±0.8	9.701±0.5	2.061±0.1	
C18:0	1.261±0.1	7.217±0.4	3.880±0.1	3.038±0.2	
C18:1 ω 9	12.804±1.2	5.794±0.4	6.213±0.5	0.603±0.1	
C18:2 ω 6	2.546±0.2	1.630±0.1	0.332±0.1		
C18:3 ω 3	2.317±0.1		0.704±0.1	1.942±0.14	
C20:1 ω 9	1.159±0.1				
A *	1.754±0.2		Tr		
C20:4 ω 6	3.811±0.5	1.837±0.2	0.833±0.2	0.157±0.04	
C20:4 ω 3	2.769±0.2	1.709±0.1	0.668±0.04	0.191±0.02	
C20:5 ω 3(EPA)	17.263±1.4	4.397±0.3	6.252±0.4	0.125±0.03	
B *	1.791±0.1	8.810±1.4	3.225±0.3	1.950±0.16	
C22:4 ω 6	0.874±0.3	10.821±0.6	1.744±0.1	1.613±0.1	
C22:5 ω 3	3.583±0.7	2.001±0.1	0.324±0.05	0.102±0.01	
C22:6 ω 3(DHA)	5.507±0.6	3.298±0.2	2.180±0.5	0.451±0.06	
C *	19.022±1.5	18.804±0.9	5.608±0.6	3.573±0.4	
n Σ 3HUFA	30.020	11.404	9.424	0.870	

注:A*,B*,C* 同上。The same as above.

表 3 轮虫的饵料与强化剂的脂肪酸种类组成及百分含量

Table 3 Fatty acids compositions in rotifer's diets and enrichments				
种类 kinds	乌贼肝油 cuttlefish liver oil	卵磷脂 phosphatidyl choline	燕山牌酵母 yanshan yeast	小球藻 Chlorell
C14	9.256±1.3		8.145±0.7	5.200±0.2
C16	Tr	25.523±1.3	29.548±2.3	16.101±1.7
C16:1 ω 9		0.074±0.01		22.005±2.1
C18:0		1.916±0.3	5.142±0.7	0.495±0.1
C18:1 ω 9	27.794±2.1	11.304±1.1	46.013±2.5	4.791±0.5
C18:2 ω 6	19.845±1.8	0.821±0.2		3.901±0.6
C18:3 ω 3	1.740±0.4	6.817±1.3		
C20:1 ω 9	3.817±0.7			
A *	Tr			
C20:4 ω 6	Tr	12.033±0.4		
C20:4 ω 3	2.646±0.3		0.615±0.1	6.208±0.6
C20:5 ω 3(EPA)	4.908±0.5	13.714±0.7	Tr	37.327±2.0
B *	9.302±0.9		2.618±0.3	
C22:4 ω 6	4.888±0.2	0.699±0.5	3.403±0.5	
C22:5 ω 3	Tr	2.705±0.3	Tr	
C22:6 ω 3(DHA)	3.807±0.1	2.705±0.3	Tr	3.973±0.3
C *	11.901±0.7		3.972±0.4	
n Σ 3HUFA	11.442	40.618	0.615	41.300

注:A*,B*,C* 同上。The same as above.

增加,体色变淡,细胞膜的渗透性改变,从而导致血红蛋白水平降低和红血细胞体积减小的症状^[3]。仔鱼在卵黄囊消失,完全转为外源营养时,需要脂质,尤其是 DHA 可加快神经系统的发育,包括视觉的灵敏度,而视觉的灵敏度又增加了仔鱼发现和摄食饵料对象的能力,从而直接促进仔鱼的生长^[7]。从本实验结果看,轮虫中脂质含量直接影响到仔鱼脂质的含量。1、2 组轮

虫含脂量高,其喂养的仔鱼含脂量亦高。n Σ 3HUFA 在 1、2、3、4 组轮虫中的含量分别为 30.020、11.404、9.424、0.870,而在相应的 4 组仔鱼中的含量则分别为 18.001、15.984、5.905、3.982,轮虫中 n Σ 3HUFA 含量的多少直接影响到仔鱼体内 n Σ 3HUFA 的含量,但轮虫体内的脂肪酸种类组成则对仔鱼体内的脂肪酸种类组成影响不大,尽管 4 组轮虫种类最多的是 1、3 组,为 16 种,

最少的是 4 组, 为 13 种, 但仔鱼脂肪酸种类均为 16 种。造成仔鱼与轮虫体内脂肪酸种类不完全一致的原因可能是饵料轮虫中不存在的脂肪酸, 在仔鱼的卵黄囊中存在, 而仔鱼从卵黄囊中获得的脂肪酸在本实验结束时还未消耗完; 亦可能是假睛东方鲀仔鱼转化脂肪酸的能力特别强, 它可以把饵料轮虫中的 1 种或几种脂肪酸转化为饵料中含有或不含有的脂肪酸, 如仔鱼体内能通过减饱和反应, 将 DHA 转化成 EPA 等^[8]。饵料脂肪酸种类组成、百分含量对仔鱼前期的脂肪酸组成影响不显著, 但对后期是否造成影响却有待进一步研究。

轮虫体内脂肪酸的组成、含量则与其饵料中的十分一致, 小球藻与酵母中的脂肪酸种类较少, 用其所喂养的 2、4 组轮虫中的脂肪酸种类亦少, 与之相反, 乌贼肝油的脂肪酸种类多达 15 种, 用其作为强化剂与饵料的 1、3 组轮虫中脂肪酸种类亦多。轮虫体内脂肪酸的含量亦直接受饵料中的脂肪酸含量所影响, 如燕山牌酵母含脂量少, 含微量 EPA、DHA, 单以它喂养的 4 组轮虫含脂量少, EPA、DHA 含量也较少。

在 1、3 组中, 乌贼肝油分别作为强化剂与饵料, 造成 1、3 组轮虫中脂肪酸种类组成相似, 但等质量的轮虫, 1 组提取的油量大高于 3 组, 甚至 2 组轮虫中的含脂量也较 3 组高出很多。这是因为轮虫体内的营养成分是极易改变的, 在鱼油强化初期 (20~30 min), $n-3$ 脂肪酸 (主要是 DHA) 的快速增加主要靠肠道积累, 以后才慢慢被吸收进组织中^[9], 因而在生产中, 用乌贼肝油作强化剂就能起到很好的改善轮虫营养成分, 提高 HUFA 含量的作用。乌贼肝油作为饵料与酵母一起投喂, 不仅没有很好地被轮虫吸收, 而且水质污染严重, 造成轮虫的活性不足, 繁

殖率低下。

参 考 文 献

- 1 竹内俊郎, 郑 锋. DHA 强化仔鱼的营养价. 日本志, 1994, 60(50): 641~652
- 2 Waljiford J, et al. High density production of rotifers (*Brachionus plicatilis*) using baker's yeast and their $n-3$ highly unsaturated fatty acid content. Nutr Abst Rev (series B), 1993, 63(8):4189
- 3 王渊源, 等. 鱼虾需要的脂肪酸、胆固醇和磷脂. 水产学报, 1991, 15(2):171~184
- 4 Takeuchi T, T Watanabe. Requirement of carp for essential fatty acid. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1997, 43:541~551
- 5 王 军. $\omega-3$ 系列脂肪酸的生理功能及从淡水鱼中提取的意义. 中国水产, 1996(9):36
- 6 Xiuwei Yang, Terry A Dick. Effects of dietary fatty acids on growth feed efficiency and liver RNA and DHA content of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). Aqua, 1993, 116:57~70
- 7 Tamaru C S, et al. Rotifers fed various diets of baker's yeast and/or *Nannochloropsis oculata* and their effect on the growth and survival of striped mullet (*Mugil cephalus*) and milkfish (*Chanos chanos*) larva. Aquac 1993, 110(3/4):361~372
- 8 Waljiford J. et al. High density production of rotifers (*Brachionus plicatilis*) using baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and their $n-3$ highly unsaturated fatty acid content. Nutr Abst Rev (series B), 1993, 63(8):4189
- 9 Yarvar O, et al. Kinetics of $n-3$ fatty acids in *Brachionus licatilis* and changes in the food supply. Hydrobiologia. 1989, 186/187:409~413