

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.01018

南极大磷虾粉对褶皱臂尾轮虫生长及脂肪酸组成的影响

陆建学, 林听听, 黄艳青, 高露姣, 夏连军, 周凯, 龚洋洋

中国水产科学研究院 东海水产研究所, 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 20090

摘要: 以活性干酵母培养的褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)为对照, 并以南极大磷虾粉对轮虫进行强化, 设定轮虫培养液中南极大磷虾粉质量浓度分别为 30、50 和 70 mg/L。分别测定强化 12 h 和 18 h 时轮虫的密度、带卵率以及强化后 6 h、12 h、18 h 轮虫的脂肪酸组成与含量。结果表明, 12 h 和 18 h 时, 50 mg/L 组的轮虫密度急剧升高, 并显著高于其他 3 组, 依次表现为 50 mg/L 组>30 mg/L 组>对照组>70 mg/L 组。带卵率方面: 第 12 小时和 18 小时带卵率由高到低依次为 50 mg/L 组、30 mg/L 组、70 mg/L 组、对照组($P<0.05$)。脂肪酸方面: 6 h 时, 除了 70 mg/L 组的 ARA 与对照组、50 mg/L 组和 70 mg/L 组的 $\omega 6$ -系列多不饱和脂肪酸总量($\Sigma\omega 6$ -PUFA)与对照组没有显著差异外, 其余强化组的 ARA、EPA、DHA、 $\omega 3$ -系列多不饱和脂肪酸总量($\Sigma\omega 3$ -PUFA)和 $\Sigma\omega 6$ -PUFA 都显著高于对照组($P<0.05$); 尤其是 50 mg/L 组的 DHA 和 $\Sigma\omega 3$ -PUFA 显著高于其他两个强化组和对照组($P<0.05$), 含量几乎达到对照组的 10 倍。12 h 和 18 h 时, 所有强化组的 ARA、EPA、DHA、 $\Sigma\omega 3$ -PUFA 含量都显著高于对照组($P<0.05$), 而且 50 mg/L 组的上述脂肪酸含量都是最高的, 或者与 30 mg/L 组和 70 mg/L 组并列第一。3 个强化组的 DHA/EPA 比值、EPA/ARA 比值也显著高于对照组($P<0.05$)。结论认为, 南极大磷虾粉的强化剂量以 50 mg/L 为优, 强化时间则以 12 h 和 18 h 为宜, 南极大磷虾粉对褶皱臂尾轮虫具较好的营养强化效果。

关键词: 南极大磷虾粉; 褶皱臂尾轮虫; 生长; 脂肪酸; 强化培养

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)05-1018-09

磷虾隶属节肢动物门, 甲壳纲, 磷虾目。目前全世界共发现 85 种磷虾, 其中生活在南极海域的磷虾有 7~8 种。南极磷虾通常指的是南极大磷虾(*Euphausia superba*), 是南极地区重要的海洋生物资源, 是整个南大洋生态系统能量和物质流动的关键环节^[1]。南极大磷虾不仅生物资源量巨大, 而且因其富含蛋白质、氨基酸、脂肪酸、维生素、几丁质及矿物质和微量元素, 具有广阔的饵料开发前景^[2]。挪威、日本等国在南极磷虾的开发方面走在世界前列, 他们在基础饲料中添加一定量的南极磷虾粉(全虾粉、壳粉)投喂鲑鳟鱼类、鲷科鱼类及中、大型淡水和海水观赏鱼类, 发现南极磷虾具有很好的诱食、促生长和增体色效

果^[3-4]。因此, 南极大磷虾势必会成为今后优质饵料开发的热门之一。

轮虫幼体和成虫是水产动物苗种生产中重要的生物饵料, 在海水仔稚鱼培育、河蟹育苗及名贵观赏水族动物的养殖中广泛应用^[5-6]。近年来, 随着我国水产经济动物人工育苗的工厂化、土池化广泛开展, 大规模培育轮虫技术也不断浮现^[7]。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含量往往较低^[8], 而鱼类营养学的研究表明: $\omega 3$ -系列高度不饱和脂肪酸($\omega 3$ -HUFA)是幼体的重要营养物质, 其组成和含量直接影响到幼体的正常生长发育和存活^[9-10]。本文利用南极大磷虾粉对人工培育的褶皱臂尾轮虫(*Brachi-*

收稿日期: 2012-06-07; 修订日期: 2012-07-01.

基金项目: 农业部财政专项资助课题(2130135-探捕); 中央级公益性科研院所基本业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所, 2009M06; 2008M03).

作者简介: 陆建学(1971-), 男, 助理研究员, 主要从事生物饵料科学及水产动物苗种培育研究. E-mail: lu_jianxue@hotmail.com

通信作者: 高露姣, 博士, 研究员, 研究方向: 水产动物饲料与营养学. E-mail: gaolujiaoyxk@126.com

onus plicatilis)进行强化, 测定其生长及脂肪酸的组成与含量, 以期为提高轮虫的饵料价值提供一种新途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)由中盐制盐工程技术研究院提供休眠卵, 孵化后在东海水产研究所琼海研究中心利用安琪牌高活性干酵母扩大培养。南极大磷虾粉为山东科瑞尔公司生产经超微粉碎后超声波破碎溶解 20 min, 再经 300 目的筛绢网过滤, 制成南极大磷虾粉匀浆液, 置于 4℃ 储存备用。南极大磷虾粉脂肪酸组成与含量见表 1(本实验室测定)。

1.2 轮虫养殖和营养强化

褶皱臂尾轮虫扩大培养于 30 m³ 的水泥池中, 水温(25±0.5)℃, 盐度 28±1。培养期间每天投喂安琪牌高活性干酵母, 按 0.4 g/10⁶ inds 比例投喂, 连续充气, 少量换水。当轮虫达到实验所需数量之后采用 300 目尼龙筛绢网过滤收集, 并在洁净的海水中暂养 2 h。暂养后的轮虫分成 4 组, 每组 3 平行, 分别置于装有 800 L 海水的充气塑料缸中, 轮虫起始密度均为(550±10) ind/mL。其中一组为对照组, 继续投喂活性干酵母, 按 0.4 g/10⁶ ind 比例投喂, 另 3 组分别投喂南极大磷虾粉匀浆液至培养液中南极大磷虾粉的终质量浓度分别为 30、

50 和 70 mg/L。轮虫实验过程中, 水温(25±0.5)℃, 盐度 28±1, 连续充气, 自然光照。投喂后, 分别于第 12 和 18 小时取样, 检测其密度和带卵率, 并于第 6、12 和 18 小时收集轮虫, 用纯净水漂洗干净, 冷冻干燥后保存待测脂肪酸含量。

1.3 密度、带卵率及脂肪酸的测定

密度和带卵率测定: 取 1 mL 轮虫活体样品经碘液固定后, 利用浮游动物计数框在体视显微镜下统计轮虫密度和带卵量, 每组样品均检测 3 次。带卵率 ER(egg ratio, %)的计算公式为: ER=(NE/NF)×100, 式中, NE 为单位水体中轮虫的带卵数量; NF 为单位水体中雌体轮虫的数量^[11]。

脂肪酸含量测定采用气相色谱法。参照 Folch 等^[12]方法用氯仿-甲醇浸提脂肪, 提取的脂肪用 2%氢氧化钠和 15%三氟化硼甲醇溶液进行水解和甲酯化, 用正庚烷溶液静止分层, 取上清后使用 Agilent6890 型气相色谱仪分析。以混合脂肪酸及单一脂肪酸的甲酯标准品(SUPELCO 公司提供)做定性, 以色谱峰峰面积归一法计算出各脂肪酸相对含量。样品测定设 2 平行。

1.4 数据分析

实验数据均用平均值±标准差(Mean±SD)表示; 用 SPSS 16.0 统计软件对各参数作方差分析(ANOVA), 其中脂肪酸数据中只对花生四烯酸(C_{20:4ω6}, ARA)、EPA、DHA、DHA/EPA、EPA/ARA、Σω3-PUFA、Σω6-PUFA 和 ΣPUFA 这 8 个指标进

表 1 南极大磷虾粉的脂肪酸组成
Tab. 1 The composition of fatty acid in freeze-dried krill powder

脂肪酸 fatty acids		脂肪酸 fatty acids	
百分比 percentage		百分比 percentage	
C _{12:0}	0.21±0.02	C _{20:2}	0.21±0.05
C _{14:0}	7.12±0.87	C _{20:3ω3}	1.16±0.54
C _{14:1}	0.23±0.02	C _{20:4ω6}	0.17±0.02
C _{15:0}	0.25±0.02	C _{20:5ω3} (EPA)	23.54±2.36
C _{16:0}	13.31±1.64	C _{22:6ω3} (DHA)	16.86±2.12
C _{16:1}	5.62±0.88	C _{23:0}	0.87±0.15
C _{18:0}	0.53±0.08	饱和脂肪酸总量ΣSFA	30.49±3.54
C _{18:1ω9c}	16.59±2.14	单不饱和脂肪酸总量ΣMUFA	23.08±2.87
C _{18:2ω6c}	3.48±0.74	多不饱和脂肪酸总量ΣPUFA	46.41±4.36
C _{18:3ω6}	0.16±0.02	ω3-系列多不饱和脂肪酸总量Σω3-PUFA	42.56±4.25
C _{18:3ω3}	0.83±0.12	ω6-系列多不饱和脂肪酸总量Σω6-PUFA	3.64±0.82
C _{20:1ω9}	0.64±0.14	DHA/EPA	0.72±0.15
C _{21:0}	8.20±1.35		

行显著性分析。若有显著差异,再用 LSD 法(最小差异显著法)和 Duncan 氏法进行多重比较, $P<0.05$, 为差异显著;用 Origin 8.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 不同浓度南极大磷虾粉对轮虫密度的影响

强化 12 h 和 18 h 时, 50 mg/L 组急剧升高, 其即时密度值分别达 (718 ± 23) 和 (763 ± 24) ind/mL, 均显著高于其他 2 个浓度组和对照组 ($P<0.05$); 30 mg/L 组强化 12 h 和 18 h 即时密度值分别为 (670 ± 19) 和 (717 ± 24) ind/mL, 均显著高于对照组 ($P<0.05$); 而 70 mg/L 组 12 h 时的轮虫密度与起始密度无显著差异 ($P>0.05$), 18 h 时比起始密度有明显升高 ($P<0.05$), 其值为 (607 ± 20) ind/mL, 但显著低于此时的对照组和其他 2 个强化组 ($P<0.05$) (图 1)。

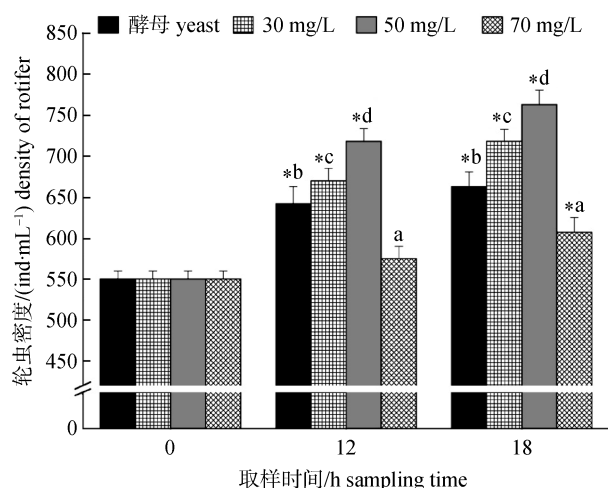


图 1 不同浓度南极大磷虾粉对轮虫密度的影响

“*”表示与起始浓度存在显著差异 ($P<0.05$). 字母 a、b、c、d 表示同一取样时间点各组之间存在显著差异 ($P<0.05$).

Fig.1 Effects of different concentrations of Antarctic krill powder on rotifer density

Values with asterisk of “*” indicate significant differences ($P<0.05$) comparison to the initial value. While values with different lower-case letters (a, b, c and d) indicate significant differences ($P<0.05$) among the four treatments within the same sampling time.

2.2 不同浓度南极大磷虾粉对轮虫带卵率的影响

强化 12 h 和 18 h 时, 50 mg/L 组的即时带卵率值显著高于其他两强化组和对照组 ($P<0.05$), 其值分别为 $(20.25\pm0.78)\%$ 和 $(21.75\pm0.71)\%$; 其次是 30 mg/L 组, 其第 12 和 18 小时的带卵率分别为

$(18.23\pm0.54)\%$ 和 $(19.23\pm0.50)\%$, 显著高于 70 mg/L 组的 $(17.35\pm0.96)\%$ 和 $(18.01\pm0.88)\%$ ($P<0.05$) 和对照组。对照组在整个取样时间段之间基本维持在一个稳定水平 (图 2)。

2.3 不同浓度南极大磷虾粉对轮虫脂肪酸含量的影响

强化组共检测到 24 种脂肪酸 (表 2), 包含 10 种 SFA, 6 种 MUFA 和 8 种 PUFA, 强化组的脂肪酸组成和含量与对照组存在着明显差异。组成方面, 对照组中未检测到 $C_{14:1}$ 、 $C_{18:3\omega3}$ 、 $C_{21:0}$ 、 $C_{22:0}$ 和 $C_{23:0}$ 这 5 种脂肪酸, 而在强化组中均检测到。比较同一组内不同取样时间点的 ARA、EPA、DHA、 $\Sigma\omega3$ -PUFA 和 $\Sigma\omega6$ -PUFA 的含量可见, 投喂酵母的对照组在 6~18 h 内, 均没有显著变化, 而 3 个浓度的强化组, 均以 12 h 或 18 h 时浓度最高, 6 h 时为最低。再比较同一取样时间点, 不同组间的脂肪酸含量, 发现 6 h 时, 除了 70 mg/mL 组的 ARA, 以及 50 mg/mL 组和 70 mg/mL 组的 $\Sigma\omega6$ -PUFA 与对照组没有显著差异外, 其余强化组的 ARA、EPA、DHA、 $\Sigma\omega3$ -PUFA 和 $\Sigma\omega6$ -PUFA 都显著高于对照组 ($P<0.05$); 尤其是 50 mg/mL 组

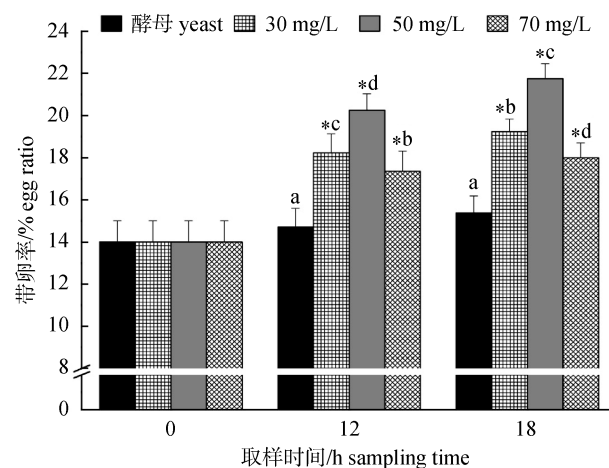


图 2 不同浓度南极大磷虾粉对轮虫带卵率的影响

“*”表示与起始浓度存在显著差异 ($P<0.05$). 字母 a、b、c、d 表示同一取样时间点各组之间存在显著差异 ($P<0.05$).

Fig.2 Effects of different concentrations of Antarctic krill powder on rotifer egg ratio

Values with asterisk of “*” indicate significant differences ($P<0.05$) comparison to the initial value. While values with different lower-case letters (a, b, c and d) indicate significant differences ($P<0.05$) among the four treatments within the same sampling time.

的 DHA 和 $\Sigma\omega 3$ -PUFA, 显著高于其他两个强化组和对照组($P<0.05$), 含量几乎达到对照组的 10 倍。12 h 和 18 h 时, 所有强化组的 ARA、EPA、DHA、 $\Sigma\omega 3$ -PUFA 含量都显著高于对照组($P<0.05$), 而且 50 mg/L 组的这些脂肪酸含量都是最高的, 或者与 30 mg/L 组和或 70 mg/L 组并列第一。3 个强化组的 DHA/EPA 比值和 EPA/ARA 比值也显著高于对照组($P<0.05$)。说明, 南极磷虾粉对轮虫有脂肪酸的营养强化作用。

3 讨论

3.1 不同浓度南极大磷虾粉和不同强化时间对轮虫密度和带卵率的影响

与酵母为饵料的对照组相比, 培养液中南极大磷虾粉终质量浓度从 30 mg/L 增加到 50 mg/L 时, 轮虫的密度和带卵率显著升高, 并随着强化时间延长(12 h 到 18 h), 轮虫的密度和带卵率也有升高趋势。说明南极大磷虾粉确实含有更适合轮虫生长所需的营养, 能促进轮虫的怀卵和种群增长。但南极大磷虾粉的质量浓度达到 70 mg/L 时, 轮虫的密度和带卵率并没有延续 50 mg/L 组的上升趋势, 而是有所降低, 12 h 和 18 h 时其轮虫密度显著低于 30 mg/L 组、50 mg/L 组和对照组, 12 h 和 18 h 时的轮虫带卵率显著低于这两个强化组, 但仍高于对照组。食物资源的组成、丰度和食物成分对轮虫寿命、产卵量和繁殖速度产生重要的影响^[13]。一般认为, 饵料的质量、浓度与轮虫的摄饵率呈正相关关系, 饵料浓度过高与饵料浓度过低同样对轮虫生长繁殖有一定的抑制作用。我们认为, 过量的南极大磷虾粉的饵料浓度可能影响了水质, 从而影响了轮虫的生长空间, 同时轮虫种群出现有性生殖的可能性也较大, 导致混交雌体的形成, 最终影响轮虫的生长繁殖^[13]。张利民等^[14]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。

3.2 不同浓度南极大磷虾粉和不同强化时间对轮虫体脂肪酸的影响

脂类是海水仔稚鱼所必需的营养物质, 也是

其所需能量的主要来源, 特别是 $\omega 3$ -PUFA 中的 DHA 和 EPA, 有着维持仔稚鱼的细胞膜正常生理功能和神经发育的重要作用^[15-16], 是维持海洋鱼类正常生长和发育的必需脂肪酸^[17-18]。近年来, $\omega 6$ -PUFA 中 ARA 也日益受到人们的重视, 由 ARA 衍生的二十烷类化合物包括前列腺素、凝血恶烷以及白三烯的前体物质, 对鱼类具有广泛的生理调节作用, 如有利于调节仔鱼渗透压、免疫力和抗应激能力等^[19-20]。因此, 生物饵料中(藻类、轮虫、卤虫、枝角类、桡足类等)脂类含量的高低及组成的优劣直接决定了饵料的营养价值。

目前, 轮虫营养强化最常用的方法是用微藻强化。研究结果表明小球藻、牟氏角毛藻、球等鞭金藻、小新月菱形藻等均具有很好的强化效果^[21-22], 并且, 多种微藻混合使用的强化效果要优于单一微藻^[23]。此外, 也有研究表明, 油脂型强化剂(如精制鱼油、豆油等)^[21]和微囊强化剂(如 50 DE 等)^[24]也均能起到营养强化作用, 但由于油脂性强化剂易污染水质、微囊化处理工艺复杂且成本昂贵等, 使得后两者的强化方法不及微藻普遍和实用。南极大磷虾富含蛋白质、氨基酸、脂肪酸、维生素等营养物质, 本研究利用南极大磷虾粉对轮虫进行营养强化, 测定其生长和脂肪酸组成, 以期开发出一种简便实用、强化效果好的轮虫强化新方法。实验结果也表明, 一定浓度的南极大磷虾粉, 对轮虫有很好的营养强化作用, 不仅密度和怀卵率提高, 而且, 用南极大磷虾粉强化后, 轮虫的 Σ PUFA 显著升高, 特别是 EPA 和 DHA, 这与南极大磷虾粉自身的 EPA 和 DHA 高含量有着直接的关系, 表明轮虫能很好地利用南极大磷虾中的 EPA 和 DHA。大量研究发现利用强化剂对轮虫进行营养强化, 轮虫体内 PUFA 组成与饵料中 PUFA 组成具有正相关性^[25-26]。因此, 南极大磷虾粉中检测到的脂肪酸, 其强化后的轮虫体内一般都有, 如南极磷虾粉含有 $C_{14:1}$ 、 $C_{18:3\omega 3}$ 、 $C_{21:0}$ 和 $C_{23:0}$, 其强化后的轮虫体内也检测到 $C_{14:1}$ 、 $C_{18:3\omega 3}$ 、 $C_{21:0}$ 和 $C_{23:0}$, 但是南极磷虾粉没有检测到 $C_{22:0}$ 而强化后的轮虫体内却检测到 $C_{22:0}$, 这需要进行进一步实验验证。对照组轮虫体内

表 2 不同强化时间下南极大磷虾粉各强化组轮虫脂肪酸含量的变化
Tab.2 Effects of different concentrations of Antarctic krill powder on fatty acids content of rotifer

%; n=3; $\bar{x} \pm SD$

脂肪酸 fatty acids	酵母 yeast			30 mg/L			50 mg/L			70 mg/L		
	6 h	12 h	18 h	6 h	12 h	18 h	6 h	12 h	18 h	6 h	12 h	18 h
C _{8:0}	0.81±0.12	0.78±0.13	0.74±0.14	0.38±0.09	0.99±0.14	0.41±0.13	0.43±0.15	0.58±0.21	0.24±0.08	0.28±0.08	0.85±0.12	0.79±0.14
C _{12:0}	0.45±0.21	0.51±0.28	0.47±0.23	0.41±0.18	0.41±0.21	0.20±0.05	0.30±0.06	0.29±0.09	0.33±0.07	0.46±0.12	0.61±0.20	0.46±0.08
C _{14:0}	3.28±0.45	3.17±0.51	3.24±0.43	3.71±0.45	4.07±0.52	2.81±0.36	4.53±1.22	4.13±1.10	5.78±1.14	5.06±0.85	5.04±0.88	4.91±0.55
C _{14:1}	—	—	—	0.17±0.09	0.16±0.08	0.13±0.02	0.37±0.09	0.31±0.09	0.36±0.09	0.12±0.03	0.20±0.04	0.21±0.03
C _{15:0}	0.49±0.18	0.47±0.20	0.56±0.25	0.99±0.25	1.53±0.31	1.35±0.52	1.80±0.44	1.66±0.52	1.62±0.36	1.69±0.25	1.51±0.24	1.55±0.34
C _{16:0}	8.71±1.12	8.61±0.98	8.62±1.23	11.28±2.14	13.28±1.25	12.71±2.11	14.08±2.38	13.88±2.69	18.94±2.44	15.75±2.30	14.96±1.01	14.28±0.71
C _{16:1}	22.06±2.69	22.13±1.58	21.08±2.33	19.01±3.12	13.93±2.31	12.86±2.64	13.18±2.31	15.80±3.01	10.38±2.14	16.84±2.58	16.08±2.47	16.90±2.50
C _{17:0}	0.63±0.12	0.59±0.13	0.59±0.14	0.81±0.23	1.10±0.24	1.09±0.31	1.50±0.26	1.51±0.41	1.76±0.35	0.73±0.31	1.10±0.33	1.06±0.24
C _{17:1}	0.90±0.23	0.89±0.24	0.83±0.20	0.97±0.34	1.33±0.32	1.64±0.68	1.21±0.30	1.08±0.24	1.79±0.34	2.27±0.24	2.09±0.47	2.41±0.55
C _{18:0}	7.64±1.78	7.50±1.47	7.38±1.54	6.93±2.30	6.48±1.58	7.02±2.34	6.54±1.21	6.92±1.14	5.79±0.87	6.50±1.14	6.51±1.28	5.95±1.02
C _{18:1n9}	43.29±5.11	42.36±5.08	41.71±5.00	32.30±4.92	29.52±4.26	27.93±3.87	23.85±4.37	22.37±3.64	22.57±3.65	27.32±3.07	25.53±3.95	24.56±3.11
C _{18:2n6}	3.62±0.91	3.48±1.01	3.65±0.88	3.87±0.63	3.53±0.97	5.07±1.04	2.91±0.66	3.11±0.71	3.57±0.74	3.29±0.94	3.13±0.76	4.51±0.75
C _{18:3n6}	0.29±0.09	0.35±0.07	0.28±0.06	0.36±0.09	0.37±0.10	0.31±0.06	0.45±0.11	0.35±0.08	0.33±0.06	0.32±0.08	0.35±0.05	0.33±0.07
C _{18:3n3}	—	—	—	0.62±0.12	0.84±0.25	0.70±0.13	0.87±0.20	0.80±0.21	1.22±0.34	0.87±0.12	1.05±0.34	1.36±0.34
C _{20:1n9}	3.97±0.56	4.05±0.52	4.02±0.52	3.10±0.47	3.18±1.03	4.19±0.87	3.38±0.71	3.65±0.66	2.60±0.54	2.90±0.57	3.04±0.75	3.24±1.01
C _{21:0}	—	—	—	0.20±0.04	0.28±0.06	0.43±0.09	0.59±0.14	0.45±0.11	1.01±0.32	0.49±0.13	0.72±0.21	0.67±0.10
C _{20:2}	0.69±0.20	0.61±0.18	0.63±0.21	0.33±0.08	0.29±0.07	0.26±0.09	0.32±0.09	0.36±0.09	0.36±0.06	0.41±0.05	0.33±0.09	0.31±0.04
C _{22:0}	—	—	—	0.43±0.12	0.40±0.11	0.61±0.21	0.29±0.09	0.34±0.08	0.32±0.06	0.33±0.03	0.29±0.09	0.45±0.04

(待续 to be continued)

续表 2 Tab.2 continued

脂肪酸 fatty acids	酵母 yeast			30 mg/L			50 mg/L			70 mg/L		
	6 h	12 h	18 h	6 h	12 h	18 h	6 h	12 h	18 h	6 h	12 h	18 h
C _{20:3} ω ₃	0.42±0.15	0.38±0.08	0.36±0.11	0.16±0.05	0.24±0.06	0.30±0.08	1.41±0.34	0.75±0.14	0.71±0.10	0.27±0.09	0.29±0.04	0.31±0.03
C _{20:4} ω ₆	0.90±0.24 ^{Aa}	0.85±0.28 ^{Aa}	0.87±0.25 ^{Aa}	1.05±0.34 ^{Ab}	1.28±0.54 ^{Ab}	1.44±0.34 ^{Bb}	1.09±0.25 ^{Ab}	1.29±0.24 ^{Ab}	1.48±0.25 ^{Bb}	0.94±0.21 ^{Aa}	1.24±0.32 ^{Bb}	1.31±0.35 ^{Bb}
C _{23:0}	—	—	—	1.69±0.43	1.65±0.63	2.04±0.64	0.92±0.24	0.82±0.21	0.93±0.34	0.99±0.18	1.35±0.30	2.07±0.42
C _{20:5} ω ₃	1.38±0.41 ^{Aa}	1.27±0.39 ^{Aa}	1.33±0.38 ^{Aa}	4.35±0.78 ^{Ab}	5.71±1.32 ^{Bb}	6.88±2.17 ^{Cc}	5.49±1.23 ^{Ac}	7.28±1.55 ^{Cd}	6.24±1.17 ^{Bc}	4.82±1.44 ^{Ab}	6.86±0.25 ^{Bc}	4.95±0.67 ^{Ab}
C _{24:1} ω ₉	0.34±0.14	0.39±0.10	0.36±0.12	0.36±0.07	0.37±0.11	0.62±0.21	0.54±0.03	0.63±0.11	0.69±0.24	0.36±0.08	0.32±0.07	0.34±0.05
C _{22:6} ω ₃	0.12±0.02 ^{Aa}	0.17±0.04 ^{Aa}	0.18±0.04 ^{Aa}	4.45±0.69 ^{Ab}	10.10±2.10 ^{Bc}	9.28±2.11 ^{Bc}	10.73±2.14 ^{Ac}	12.16±2.50 ^{Bc}	13.10±2.55 ^{Bd}	5.40±1.06 ^{Ab}	7.75±1.25 ^{Bb}	7.09±1.02 ^{Bb}
ΣSFA	22.01±2.69	21.63±1.88	21.60±1.82	26.63±3.54	30.19±3.64	28.68±5.14	30.98±3.15	30.59±4.17	36.73±3.69	32.29±2.58	32.93±3.66	32.19±3.10
ΣMUFA	70.56±5.44	69.82±4.87	68.00±5.61	55.93±6.11	48.51±5.22	47.37±6.13	42.54±4.25	43.86±5.01	38.38±4.58	49.81±3.14	47.26±4.25	47.66±5.22
DHA/EPA	0.09±0.01 ^{Aa}	0.13±0.25 ^{Ba}	0.14±0.30 ^{Ba}	1.02±0.31 ^{Ab}	1.77±0.54 ^{Bc}	1.35±0.46 ^{Ab}	1.95±0.47 ^{Bc}	1.67±0.44 ^{Ac}	2.10±0.56 ^{Bc}	1.12±0.26 ^{Ab}	1.13±0.28 ^{Ab}	1.43±0.27 ^{Bb}
Σω ₃ -PUFA	1.92±0.55 ^{Aa}	1.82±0.48 ^{Aa}	1.87±0.50 ^{Aa}	9.58±1.25 ^{Ab}	16.89±3.10 ^{Bb}	17.16±2.36 ^{Bc}	18.50±2.54 ^{Ad}	20.99±3.12 ^{Bc}	21.27±3.88 ^{Bd}	11.36±0.66 ^{Ac}	15.96±3.14 ^{Cb}	13.70±2.40 ^{Bb}
Σω ₆ -PUFA	4.82±1.30 ^{Aa}	4.68±1.25 ^{Aa}	4.80±1.34 ^{Aa}	5.28±0.88 ^{Ab}	5.18±1.23 ^{Ab}	6.82±2.14 ^{Bc}	4.45±1.31 ^{Aa}	4.75±0.98 ^{Aa}	5.39±1.11 ^{Bb}	4.55±1.08 ^{Aa}	4.71±0.88 ^{Aa}	6.15±1.15 ^{Bc}
ΣPUFA	7.43±2.10 ^{Aa}	7.11±2.36 ^{Aa}	7.30±2.31 ^{Aa}	15.19±2.51 ^{Ab}	22.37±3.73 ^{Bb}	24.25±4.44 ^{Bc}	23.27±5.41 ^{Ac}	26.09±2.65 ^{Bc}	27.02±3.69 ^{Bd}	16.32±2.34 ^{Ab}	20.99±2.14 ^{Bb}	20.16±3.20 ^{Bb}
ω ₃ /ω ₆	0.40±0.08	0.39±0.03	0.39±0.03	1.81±0.35	3.26±0.89	2.52±0.87	4.16±1.01	4.42±1.03	3.95±0.66	2.49±0.66	3.60±0.35	2.23±0.66
EPA/ARA	1.53±0.52 ^{Aa}	1.49±0.42 ^{Aa}	1.53±0.50 ^{Aa}	4.14±0.86 ^{Ab}	4.45±1.01 ^{Ab}	4.78±1.12 ^{Ac}	5.03±1.54 ^{Bc}	5.64±1.28 ^{Bc}	4.22±1.00 ^{Ab}	5.13±0.98 ^{Bc}	6.34±1.00 ^{Cd}	3.78±0.48 ^{Ab}

注: “—”表示未测到; 大写上标字母(A, B, C)不同表示同一处理组中不同取样时间之间存在显著差异($P<0.05$); 小写上标字母(a, b, c, d)不同表示同一取样时间不同处理组间存在显著差异($P<0.05$).
 Note: “—” indicates that no fatty acids was detected; values with different capitalised superscripts (A, B and C) indicate significant differences ($P<0.05$) among the different sampling times within the same treatment. Values with different lower-case superscripts (a, b, c and d) indicate significant differences ($P<0.05$) among the four treatments within the same sampling time.

未检测到 $C_{14:1}$ 、 $C_{18:3\omega3}$ 、 $C_{21:0}$ 、 $C_{22:0}$ 和 $C_{23:0}$ 这 5 种脂肪酸, 与尹彦强等^[22] 报道的在墨鱼油型强化剂或精制鱼油型强化剂或混合鱼油型强化剂等强化前, 以酵母为饵料的轮虫体内缺乏 $C_{21:0}$ 、 $C_{22:0}$ 和 $C_{23:0}$ 的情况一致。吴旭干等^[7] 在比较面包酵母轮虫、土池轮虫和微绿球藻轮虫体内脂肪酸组成时, 也未检测到面包酵母轮虫体内的 $C_{14:1}$ 、 $C_{21:0}$ 和 $C_{22:0}$, 这与面包酵母中本身不含 $C_{14:1}$ 、 $C_{21:0}$ 、 $C_{22:0}$ 和 $C_{23:0}$ 脂肪酸有关^[27]。

多数海水鱼类缺乏 C_{20} 及以上的碳链延长酶, 不能把 $18:2\omega-6$ 和 $18:3\omega-3$ 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^[28]。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^[29]。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^[30]。Roo 等^[31] 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(*Scoph thalamus maximus*)^[32]、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[33] 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。

另有研究表明较高 DHA/EPA 比值、EPA/ARA 比值的饲料对海水仔稚鱼的生长、发育及其他生理调节等具有改善作用, 如当投以 DHA/EPA 比值为 3.78 的饲料时, 红拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*) 仔鱼表现出对盐度较强的抵抗力, 投以 DHA/EPA>2 的饲料时, 可以降低操作胁迫引起的死亡率^[34]。如投以 DHA/EPA>2 并且 EPA/ARA>5 的饲料时, 能够改善大菱鲆和庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*) 右眼侧的色素沉着^[35]。本研究发现, 经强化后, DHA/EPA 比值由强化前的 0.10 左右上升为 1.50 左右; EPA/ARA 比值由强化前的 1.50 左右上升为 5.00 左右, 表明强化后轮虫的脂肪酸含量与组成更能符合海水仔稚鱼的营养需求。

4 结论

综合轮虫密度和带卵率以及轮虫体的脂肪酸组成, 认为南极大磷虾粉对轮虫具较好的营养强

化效果。其中, 强化剂量以 50 mg/L 为优, 强化时间以 12 h 和 18 h 为宜。

此外, 本研究测定发现, 南极大磷虾粉含有 45.67% 氨基酸及 17.35% 的必需氨基酸(干重), 并且对轮虫有氨基酸强化作用(另文待发表)。接下来我们将比较南极大磷虾粉与其他常用轮虫强化剂的综合强化效果, 包括摄食强化后的轮虫的仔稚鱼的生长速度和存活率等情况, 综合评价强化后轮虫的饵料价值。

参考文献:

- [1] 黄艳青, 高露姣, 陆建学, 等. 饲料中添加南极大磷虾粉对点带石斑鱼幼鱼生长与肌肉营养成分的影响[J]. 海洋渔业, 2010, 32(4): 440-446.
- [2] 刘志东, 陈雪忠, 黄洪亮, 等. 南极磷虾粉的营养成分分析及评价[J]. 中国海洋药物杂志, 2012, 31(2): 43-48.
- [3] Moren M, Suontama J, Hemre G I, et al. Element concentrations in meals from krill and amphipods, - Possible alternative protein sources in complete diets for farmed fish [J]. Aquaculture, 2006, 261(1): 174-181.
- [4] Yoshitomi B, Aoki M, Oshima S, et al. Evaluation of krill (*Euphausia superba*) meal as a partial replacement for fish meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets [J]. Aquaculture, 2006, 261(1): 440-446.
- [5] 田宝军, 李英文, 丁茜, 等. 重要生物饵料轮虫与卤虫在营养价值、营养强化等方面的比较[J]. 齐鲁渔业, 2009, 26(2): 52-54.
- [6] Cavalin F G, Weirich C R. Larval performance of aquacultured Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) fed rotifers (*Brachionus plicatilis*) enriched with selected commercial diets [J]. Aquaculture, 2009, 292(1-2): 67-73.
- [7] 吴旭干, 成永旭, 贺诗水, 等. 褶皱臂尾轮虫土池低盐度培育及其脂肪酸营养评价[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(4): 59-65.
- [8] Lubzens E, Tandler A, Minkoff G. Rotifers as food in aquaculture[J]. Hydrobiologia, 1989, 186/187: 387-400.
- [9] 刘镜阁, 雷霖霖, 宫怀孔. 海水仔稚鱼对脂类的需求[J]. 齐鲁渔业, 1996, 13(1): 19-21.
- [10] Ibeas C, Cejas J, Gómez T, et al. Influence of dietary n-3 HUFA levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth and tissue fatty acid composition [J]. Aquaculture, 1996, 142(3-4): 221-235.
- [11] Kostopoulou V, Vadstein O. Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, B. 'Nevada' and B. 'Cayman' under different food concentrations [J]. Aquaculture, 2007,

- 273(4): 449–458.
- [12] Folch J, Lees M, Sloane Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. J Biol Chem, 1957, 226: 497–509.
- [13] 成永旭. 生物饵料培养学: 第 2 版 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 121–136.
- [14] 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.
- [15] Rainuzzo J R, Reitan K I, Olsen Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review[J]. Aquaculture, 1997, 155(1–4): 103–115.
- [16] 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(1–4): 117–127.
- [17] Castell J D, Bell J G, Tocher D R, et al. Effects of purified diets containing different combinations of arachidonic and docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Aquaculture, 1994, 128(3–4): 315–333.
- [18] Koven W M, Tandler A, Kissil G W, et al. The importance of n-3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval *Sparus aurata* and their effect on survival, lipid composition and size distribution[J]. Aquaculture, 1992, 104(1–2): 91–104.
- [19] Tocher D R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish[J]. Rev Fish Sci, 2003, 11(2): 107–184.
- [20] Van Anholt R D, Koven W M, Lutzky S, et al. Dietary supplementation with arachidonic acid alters the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae [J]. Aquaculture, 2004, 238(1–4): 369–383.
- [21] 李磊, 朱小明, 方芳, 等. 几种单胞藻对褶皱臂尾轮虫的营养强化研究[J]. 水产科学, 2012, 31(2): 68–72.
- [22] 尹彦强, 黄旭雄, 李伟微, 等. 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[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(5): 24–30.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 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 yellow tail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment [J]. Aquaculture, 2002, 210(1–4): 285–304.
- [26] 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]. Aqu Intern, 1994(2): 19–32.
- [27] 龚小玲, 苏锦祥, 段晓英, 等. 不同饵料培养的轮虫对假睛东方鲀鱼脂肪酸的影响[J]. 中国水产科学, 1999, 6(3): 119–122.
- [28] Mourente 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(1): 79–98.
- [29] 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.
- [30] Gapasin R S J, Bomboe R, Lavens P, et al. Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milk fish (*Chanos chanos*) larval performance[J]. Aquaculture, 1998, 162(3–4): 269–286.
- [31] Roo 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(1–2): 84–93.
- [32] 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(1–4): 323–331.
- [33] 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.
- [34] Brinkmeyer R L, Holt G J. Highly unsaturated fatty acids in diets for red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae[J]. Aquaculture, 1998, 161(1–4): 253–268.
- [35] Bell J G, McEvoy L A, Estevez A, et al. Optimizing lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae[J]. Aquaculture, 2003, 227(1–4): 211–220.

Effects of Antarctic krill (*Euphausia superba*) powder on growth and fatty acids composition of rotifer *Brachionus plicatilis*

LU Jianxue, LIN Tingting, HUANG Yanqing, GAO Lujiao, XIA Lianjun, ZHOU Kai, Gong Yangyang

East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China

Abstract: Rotifer *Brachionus plicatilis* was fed with dry yeast (control) and different Antarctic krill powder dosages (30 mg/L, 50 mg/L and 70 mg/L). The effect of Antarctic krill powder enrichment were assayed through its individual density and egg ratio at feeding time of 12 h and 18 h, and fatty acid content at feeding time of 6 h, 12 h and 18 h, respectively. The results showed that: at 12 h and 18 h, individual density in 50 mg/L group dramatically increased and was significantly higher than other three groups ($P<0.05$), followed by 30 mg/L group, control group and 70 mg/L group, successively. Egg canying ratio also varied among dietary treatments at 12 h and 18 h, and in group of 50 mg/L which was the highest, followed by 30 mg/L and 70 mg/L, successively, and control group was the lowest ($P<0.05$). In terms of fatty acids at 6 h, the ARA, EPA, DHA, $\sum\omega 3$ -PUFA and $\sum\omega 6$ -PUFA contents in the groups fed with Antarctic krill powder were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$), except for $\sum\omega 6$ -PUFA in 50 mg/L group, and ARA, $\sum\omega 6$ -PUFA in 70 mg/L group. The highest contents of DHA and $\sum\omega 3$ -PUFA were found in 50 mg/L group with a level of 10 times higher than that of the control group at 6 h. At 12 h and 18 h, the amount of ARA, EPA, DHA and $\sum\omega 3$ -PUFA were significantly higher than that of the control group ($P<0.05$), and the highest amount of these fatty acids were observed in 50 mg/L group. Also, DHA/EPA and EPA/ARA were significantly great for treatment groups compared with control group ($P<0.05$). Generally, the 50 mg/L group had a better effect for increasing fatty acid content compared to the other three doses, and the suitable duration for increase fatty acid content was 12–18 h. In conclusion, Antarctic krill powder has a good effect on strengthening the nutritional composition in rotifer *B. plicatilis*.

Key words: Antarctic krill powder; rotifer; growth; fatty acids; enriched culture

Corresponding author: GAO Lujiao. E-mail: gaolujiaoyxk@126.com