

50DE 微囊营养强化轮虫 DHA 的研究*

张利民 常建波 张秀珍 孙玉增
王际英 宫向红 宋丽辉 李烟芬
(山东省海洋水产研究所, 烟台 264000)

摘 要 应用 50DE 微囊 DHA 营养强化饵料强化轮虫试验, 结果表明: 试验 A、B 两区强化 6 小时后轮虫 DHA/FA 含量由最初的未检出上升为 1.5%、4.0%, 12 小时后达到最高峰, 分别为 7.5% 和 10.3%、而对照 C 区在 24 小时试验区间 DHA 均未检出。试验 A、B 两区轮虫怀卵率也明显高于对照 C 区, 其中 B 区在营养强化 24 小时后轮虫怀卵率高达 77%, A 区为 51.9%, 而 C 区仅为 26.7%, 尚有不正常个体。还进行了轮虫种源驯化培养试验, 并对 50DE 微囊强化的轮虫喂养牙鲆仔鱼的安全性进行了探讨。

关键词 轮虫、50DE、DHA、营养强化

轮虫(*Brechionus plicatilis*)作为苗种生产的前期生物饵料已被广泛应用, 其自身所含的营养对养殖苗种的成活率、生长速度及抗逆、抗病能力有很大影响。不同的苗种对生物饵料的营养需求不同, 例如稚鱼、稚蟹(包括河蟹)要求生物饵料中应含有较为丰富的 DHA(二十二碳六烯酸)、EPA(二十碳五烯酸)等 $n-3$ PUFA(多不饱和脂肪酸), 但由于人工培育的轮虫缺乏 $n-3$ PUFA 等营养成分, 以其作为生物饵料需进行营养强化。此前研究主要注重 EPA 的作用, 后来发现有时轮虫虽含有一定量的 EPA, 但仍可能会出现稚鱼存活率较低的现象, 随着对 DHA 营养功能与代谢研究的深入, 这一问题找到了答案, 研究结果表明: $n-3$ PUFA 中的 DHA 对稚鱼、稚蟹的营养需求起着决定性的作用^[3]。为此, 日本等国相继开发出了乳化乌贼肝油及油脂酵母等产品。近期国外又有数种新产品, 如比利时 INVE 公司的 Super Selco, 美国、挪威的粉末油脂, 日本ヒガシマル(株)的 SR.SA., ハリマ化成(株)的高 DHA 含量的纤细裸藻(DHA 占脂肪量高达 75%), ドコサ-6SE、ドコサ-EM(DHA 乙酯分别为 65%、50%)以及日化饲制(株)的 Ester-85(DHA 甲酯)等产品问世, 使稚鱼的成活率由最初的 30% 左右提高到 70% 以上, 取得了很好的营养强化效果。参考国外最新研究结果, 经几年试验研究, 研制出了 50DE 微囊 DHA 营养强化饵料, 与国外同类产品相比较, 具有分散性好、稳定性强、不粘附等特点。并通过 50DE 微囊对轮虫的营养强化及强化后的轮虫喂养牙

收稿日期: 1995-11-14。

* 本研究系省科委重点科研项目。

鲢仔鱼试验,对 50DE 微囊的营养强化效果及其安全性进行了试验研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验用营养强化饵料 50DE-M 微囊 DHA 营养强化饵料(简称 50DE 微囊):脂肪酸甲酯型,DHA/FA:50%,EPA/FA:26%;微囊直径:3-6 μ m;每毫升含微囊数目 300 亿个左右,脂溶性维生素 A、D₃、E 配合。日本乌贼肝油:甘油酯型,自身乳化;DHA/FA:24%。EPA/FA:15%。

1.1.2 轮虫 褶皱臂尾轮虫(*Brechiurus plicatilis*)。

1.1.3 仔鱼 牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)体长 5 $\pm$ 1mm。

1.2 营养强化方法

试验于 1994 年 12 月 6 日 15:40 至 7 日 15:40 进行。试验分 A、B、C 三个区,轮虫培养于 1m³ 玻璃钢水槽中,每个玻璃钢水槽中的水体为 0.5m³,水温控制在 25 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C,小球藻浓度为 415 万个细胞/ml,不间断充气。试验 A、B 两区分别加入浓度为 30mg/L 和 50mg/L 的 50DE 微囊,对照 C 区未添加,其它条件各区一致,于 0、6、12、24 小时在解剖镜下观察轮虫的密度、怀卵率、摄食、活力等情况,并用 200 目筛绢收集每个时刻的轮虫样品速冻、待测。

1.3 轮虫驯化培养试验

分对照组、试验 1 组和 2 组。1994 年 12 月 25 日 16 时至 12 月 26 日 16 时,试验 1、2 组分别加入浓度为 50mg/L 的 50DE 微囊和日本乌贼肝油,按上述营养强化方法进行培养。以此繁育增殖的轮虫作为种源,分别于 1995 年 1 月 18 日 14 时至 20 时和 1995 年 1 月 29 日 10 时至 22 时进行重复营养强化试验,观察轮虫种源驯化情况。

1.4 牙鲆仔鱼的喂养方法

于 1995 年 2 月 1 日至 2 月 8 日进行,分对照组和试验组,每组仔鱼共 550 尾,每 275 尾培养于 20L 塑料桶中,水体 15L,水温 16 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C,不间断充气。对照组投喂日本乌贼肝油强化的轮虫,试验组投喂用加大剂量 50DE 微囊强化的轮虫,其它条件一致,每天观察仔鱼生长、存活情况。

1.5 DHA、EPA 的测定

采用 SQ-206 气相色谱仪, ϕ 3mm $\times$ 2m 脂肪酸柱,柱温 210 $^{\circ}$ C,检测器温度 280 $^{\circ}$ C,用面积归一法计算 DHA、EPA 在脂肪酸中的含量(样品处理及脂肪酸甲酯化方法从略)。

2 结果

2.1 轮虫 DHA 营养强化试验观察及检测结果

用 50DE 微囊营养强化对照试验的 A、B、C 三个区,强化过程中各时间段轮虫密度、怀卵率、活力等及 DHA、EPA 相对于 FA 的含量观察、检测结果见表 1,并作比较于图 1~4。

2.1.1 试验 A 区结果 强化前,轮虫密度为 45.0 个/ml,怀卵率为 10.7%,轮虫活力表现为摄食良好、较活跃,DHA 未检出,EPA/FA 为 5.0%;强化 6 小时后,轮虫密度减少为 34.0 个/ml,怀卵率提高为 24.9%,活力表现为摄食情况良好、活跃,DHA/FA 为 1.5%,EPA/FA 为 10.5%;强化 12 小时后,轮虫密度又上升为 42.6 个/ml,怀卵率为 52.8%,活力表现为摄食

情况很好、活跃,DHA/FA 增加为 7.5%,EPA/FA 为 21.0%;强化 24 小时后,轮虫密度大幅度上升为 67.0 个/ml,怀卵率为 51.9%,活力表现为摄食情况很好、极活跃,DHA/FA 为 5.8%,EPA/FA 为 19.2%。

表 1 轮虫 DHA 营养强化试验观察及检测结果

Table 1 Observations and results of the test on the enrichment of rotifera DHA

强化时间(h) Time of the enrichment	试 验 A 区 Test A				试 验 B 区 Test B				对 照 C 区 Contrast C			
	0	6	12	24	0	6	12	24	0	6	12	24
密度(Ind./ml) Density	45.0	34.0	42.6	67.0	29.5	18.4	31.2	36.7	42.4	48.8	58.7	69.8
怀卵率(%) Ovum - holding	10.7	24.9	52.8	51.9	15.3	38.2	55.6	77.0	12.5	39.8	42.6	26.7
摄食情况 Feeding case	良好	良好	很好	很好	良好	良好	很好	很好	良好	良好	一般	一般
活力观察 Living case	较活跃	活跃	活跃	极活跃	较活跃	活跃	活跃	极活跃	较活跃	较活跃	较活跃	较活跃
EPA/FA(%)	5.0	10.5	21.0	19.2	5.0	7.5	15.0	16.0	5.0	11.0	21.6	22.5
DHA/FA(%)	未检出	1.5	7.5	5.8	未检出	4.0	10.3	6.5	未检出	未检出	未检出	未检出

2.1.2 试验 B 区结果 强化前,轮虫密度为 29.5 个/ml,怀卵率为 15.3%,轮虫活力表现为摄食良好、较活跃,DHA 未检出,EPA/FA 为 5.0%;强化 6 小时后,轮虫密度减少为 18.4 个/ml,怀卵率提高为 38.2%,活力表现为摄食情况良好、活跃,DHA/FA 为 4.0%,EPA/FA 为 7.5%;强化 12 小时后,轮虫密度上升为 31.2 个/ml,怀卵率为 55.6%,活力表现为摄食情况很好、活跃,DHA/FA 增加为 10.3%,EPA/FA 为 15.0%;强化 24 小时后,轮虫密度上升为 36.7 个/ml,怀卵率为 77.0%,活力表现为摄食情况很好、极活跃,DHA/FA 为 6.5%,EPA/FA 为 16.0%。

2.1.3 对照 C 区结果 强化前,轮虫密度为 42.4 个/ml,怀卵率为 12.5%,轮虫活力表现为摄食良好、较活跃,DHA 未检出,EPA/FA 为 5.0%;强化 6 小时后,轮虫密度为 48.8 个/ml,怀卵率为 39.8%,轮虫活力表现为摄食良好、较活跃;强化 12 小时后,轮虫密度为 58.7 个/ml,怀卵率为 42.6%,活力表现为摄食情况一般、较活跃,DHA 未检出,EPA/FA 为 21.6%;强化 24 小时后,轮虫密度为 69.8 个/ml,怀卵率为 26.7%,活力表现为摄食情况一般、较活跃,有不正常个体,DHA 未检出,EPA/FA 为 22.5%。

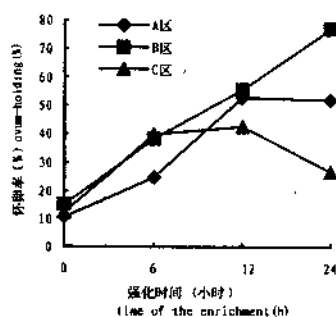


图 1 试验期间轮虫怀卵率的变化

Fig.1 Variance of ovum - holding rate during the test

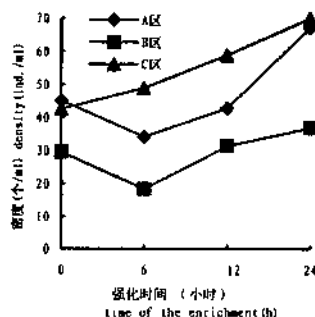


图 2 试验期间轮虫密度的变化

Fig.2 Variance of rotifera density during the test

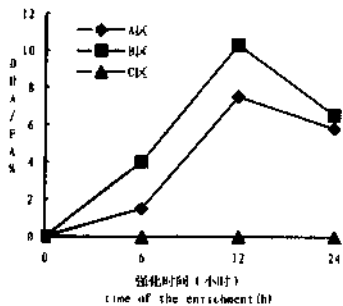


图3 试验期间轮虫 DHA/FA 的变化

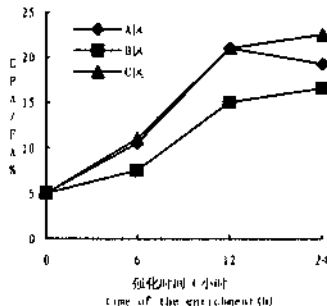


图4 试验期间轮虫 EPA/FA 的变化

Fig.3 Variance of DHA/FA of rotifera during the test Fig.4 Variance of EPA/FA of rotifera during the test

2.2 轮虫驯化试验结果

2.2.1 轮虫种源强化试验密度观察结果 轮虫种源强化试验各组密度随强化时间变化的观察结果见表2。6小时时,仅用小球藻强化的对照组,轮虫密度上升3.6%,而试验1、2组均下降,其中试验1组下降11.6%,试验2组下降16.2%;12小时时,对照组密度继续上升,试验1、2组均有小幅回升;24小时时,对照组密度上升8.6%,试验1组上升1.7%,试验2组上升4.5%。

2.2.2 第一次重复强化试验轮虫密度观察结果 第一次重复强化试验轮虫密度观察结果见表2。6小时时,各组轮虫密度均上升,其中对照组上升1.9%,试验1组上升2.6%,试验2组上升2.9%。

2.2.3 第二次重复强化试验轮虫密度观察结果 第二次重复强化试验轮虫密度随强化时间变化的观察结果见表2。6小时时,各组轮虫密度均上升,其中对照组上升2.6%,试验1组上升3.1%,试验2组上升3.2%;12小时时,对照组密度上升7.5%,试验1组上升7.7%,试验2组上升7.1%。

表2 轮虫驯化试验密度观察结果

Table 2 Observed result of rotifera density in acclimatization

密度 (Ind./ml) Time of the enrichment 驯化试验 Acclimatization	试验1组 Test 1 group				试验2组 Test 2 group				对照组 Contrast group			
	0	6	12	24	0	6	12	24	0	6	12	24
轮虫种源强化 Enrichment of rotifera original strain	80.3	71.0	73.0	81.7	88.7	74.3	76.2	92.7	74.3	77.0	79.3	80.7
第一次重复强化 First re-enrichment	116	119			103	106			106	108		
第二次重复强化 Second re-enrichment	128	132	138		127	131	136		115	118	124	

2.3 牙鲆仔鱼的生长存活情况

牙鲆仔鱼的喂养试验及对照仔鱼的生长、存活情况见表3。试验过程中,试验组与对照组仔鱼均活泼。试验结束时,试验组仔鱼存活536尾,对照组存活538尾,两组存活率分别为97.4%和97.8%。

表 3 牙鲆仔鱼的生长存活情况

Table 3 Growth and survival conditions of flounder *P. olivaceus* larva

天数 Day	试 验 组 Test group			对 照 组 Contrast group		
	50DE 用量 (mg/L) Dosage of 50DE	存活数(尾) Amount of survival	生长情况 Growth condition	日本乌贼肝油用量 (mg/L) Dosage of liver oil from Japan	存活数(尾) Amount of survival	生长情况 Growth condition
1	100	550	活泼	30	550	活泼
2	150	550	活泼	30	550	活泼
3	200	550	活泼	30	550	活泼
4	200	548	活泼	30	549	活泼
5	200	548	活泼	30	549	活泼
6	200	539	活泼	30	541	活泼
7	200	536	活泼	30	539	活泼
8	200	536	活泼	30	538	活泼

3 讨论

3.1 50DE 微囊对轮虫的营养强化效果 比较营养强化试验结果,不难看出,浓度分别为 30mg/L 和 50mg/L 50DE 微囊营养强化饵料的试验 A 区和 B 区,轮虫的营养强化效果十分明显。A、B、C 三区开始时 DHA/FA 均未检出,强化 12 小时后 A 区该值达到了 7.5%,B 区达到了 10.3%,B 区较 A 区高出 30% 以上,这是由于 50DE 微囊添加量不一样所造成的差异。而对照 C 区则明显不同,试验 24 小时区间 DHA 均未见增加,尽管 12 小时后的 EPA/FA 含量高达 21.6%。这说明小球藻虽起到了营养强化 EPA 的作用,但不能提高和增加轮虫中 DHA 的含量,而在轮虫及稚鱼、稚蟹体内 EPA 很难转化为 DHA,因而仅用小球藻营养强化轮虫是不妥的。试验 A、B 两区 12 小时后观察,轮虫的摄食情况很好,活动范围大、活跃或极活跃,而对照 C 区,摄食情况一般、范围小、较活跃。同时试验 A、B 两区的怀卵率在 12 小时、24 小时观察明显高于对照 C 区,A、B、C 三区在 12 小时的怀卵率分别为 52.8%、55.6% 及 42.6%,在 24 小时的怀卵率分别为 51.9%、77.0%、26.7%,这表明 50DE 微囊有促进轮虫繁殖的作用。

3.2 DHA 营养强化饵料对轮虫密度的影响及驯化培养 从轮虫强化开始到强化 6 小时后的结果来看,试验 A、B 两区轮虫密度分别减少了 11 个/ml、11.1 个/ml,而对照 C 区增加 6.4 个/ml,种源强化时 50DE 微囊和日本乌贼肝油组均出现了轮虫密度下降现象。据有关资料报道,日本及比利时的营养强化饵料同样有此现象,这是因为轮虫对食饵及环境的微小变化相当敏感引起不适造成的^[4]。但 24 小时后试验各组轮虫密度较强化前都有不同程度的提高,说明轮虫可以逐渐地适应这些变化。这同使用日本协和发酵(株)的油脂酵母及比利时 INVE 公司的 Super Selco 结果是一致的^[1]。

第一次重复营养强化试验表明:50DE 微囊和日本乌贼肝油组轮虫密度均未出现下降,轮虫对突然更换饵料没有出现不适应现象,证明强化后的轮虫对强化饵料的适应能力遗传给了后代。第二次重复营养强化试验表明:试验各组 6、12 小时的轮虫密度较强化前都有不同程度的提高,均未出现对突然更换饵料不适应现象,进一步证明轮虫后代遗传了其种源对 DHA 营养强化饵料的适应能力。因此,在保种期进行种源驯化的方法,能防止其后代营养强化时密度降低的现象发生,使 DHA 营养强化饵料对轮虫的营养强化顺利进行。

3.3 50DE-M 微囊强化轮虫喂养牙鲆仔鱼的安全性 本试验强化轮虫时的 50DE-M 微囊用量是 200mg/L, 日本乌贼肝油用量是 30mg/L。试验期间两组仔鱼生长均活泼。试验结束时 50DE-M 微囊组的仔鱼存活率为 97.4%, 日本乌贼肝油组为 97.8%, 两组存活率没有明显差异。根据我们实际的测定结果甲酯强化轮虫, 被测轮虫需重新甲酯化后方能检出, 这说明甲酯已在轮虫体内转换成甘油酯。此外, 甲酯本身可直接作为养殖鱼类营养源, 对鱼的生长发育并无不良影响^[2]。本试验结果亦表明使用超出正常用量数倍即 200mg/L 50DE-M 微囊强化的轮虫喂养牙鲆仔鱼, 对仔鱼生长及活力无不良影响。在实际应用中, 50DE-M 微囊强化轮虫的用量一般是 30mg/L, 因此使用 50DE-M 微囊强化的轮虫喂养牙鲆仔鱼是安全的。

参 考 文 献

- [1] 朱礼祥, 1994。海水鱼育苗中营养强化的重要性及方法。中国水产, (8):36-37。
- [2] 桥本芳郎编, 蔡完其译, 王民生校, 1987。养鱼饲料学, 127-130。农业出版社。
- [3] 竹内俊郎, 1994。DHA 强化ワムシのマグロ仔鱼に対する营养价。日本水产学会志, 60(5):641-652。
- [4] 山中达郎, 1993。油脂酵母「协和」&アスタキサンチン含有油脂酵母。养殖, (11):106-107。

STUDIES ON ROTIFERA DHA ENRICHMENT WITH 50DE MICROENCAPSULATED PRODUCT

Zhang Limin Chang Jianbo Zhang Xiuzhen Sun Yuzeng
Wang Jiying Gong Xianghong Song Lihui Li Yanfen

(Shandong Marine Fisheries Research Institute, Yantai 264000)

ABSTRACT The results of the test on the enrichment of rotifera (*Brechionus plicatilis*) DHA with 50DE microencapsulated DHA nutritional product are reported in this paper. The test was carried out in three groups, A, B and C, and group C was the contrast. The results indicated that at the beginning of the test, DHA/FA content of rotifera in group A and B was undetected, after 6 hours' enrichment, it added up to 1.5% and 4.0% respectively, and after 12 hours it reached the maximum which was 7.5% and 10.3% respectively, however, DHA in group C could not be detected during the 24-hour test. The ovum-holding rate of rotifera in group A and B was obviously higher than that in group C, after 24 hours, the ovum-holding rate of rotifera in group B was 77% and that in group A was 51.9%, while in group C it was only 26.7% and there were still abnormal individuals. Tests on acclimatizing the original strain were conducted to make the rotifera adapt to the change of environment and diet. There is also a discussion on the security of feeding (*P. olivaceus*) larva with rotifera which was enriched with 50DE microencapsulated product in this paper.

KEY WORDS Rotifera, 50DE, DHA, Nutrition enrichment