

# 直链藻强化的轮虫对中华绒螯蟹溞状幼体Ⅱ期与Ⅲ期生长及脂肪酸组成的影响

王庆, 唐晟凯, 杨家新

(南京师范大学生命科学学院水产研究所, 江苏 南京 210097)

**[摘要]** 用直链藻强化培养的轮虫,其 EPA 和 DHA 含量显著增加,以强化 72 h 效果最佳,其 EPA 和 DHA 含量分别为 10.36% 和 3.12%;用不同密度的强化轮虫培养中华绒螯蟹溞状幼体Ⅱ期与Ⅲ期( $Z_2$  与  $Z_3$ ),结果表明:轮虫密度为 20 ind/mL 时  $Z_2$  的变态率与存活率分别为  $60.60 \pm 2.64\%$  和  $63.20 \pm 2.48\%$ ,密度为 30 ind/mL 时  $Z_3$  的变态率与存活率分别为  $57.40 \pm 1.63\%$  和  $62.00 \pm 2.98\%$ ,均为最佳;收集该阶段溞状幼体,对其脂肪酸含量进行分析,强化轮虫培养的溞状幼体的 EPA 和 DHA 含量分别为 15.09% 和 7.24%,显著高于未经强化的酵母轮虫培养的溞状幼体( $p < 0.05$ )。

**[关键词]** 中华绒螯蟹, HUFA, EPA, DHA, 存活率, 变态率, 轮虫

**[中图分类号]** S955.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2006)01-0102-04

## Effect of Rotifer Enriched by *Melosira Granulate* on Development and Body Fatty Acids Composition of *Eriocheir sinensis* Zoeae Larvae

Wang Qing, Tang Shengkai, Yang Jiaxin

(Institute of Aquatic Products, School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract:** EPA and DHA contents of rotifer increase obviously after enrichment by *Melosira granulate*. After 72 h enrichment, EPA and DHA contents of rotifer are 10.36% and 3.12% respectively and reach the best effect. The densities of 20 ind/mL and 30 ind/mL of the enriched rotifers are most suitable for the survival and ecdysis of  $Z_2$  and  $Z_3$  respectively. When the density is 20 ind/mL, the ecdysis rate and survival rate of  $Z_2$  are  $60.60 \pm 2.64\%$  and  $63.20 \pm 2.48\%$  respectively. The ecdysis rate and survival rate of  $Z_3$  are  $57.40 \pm 1.63\%$  and  $62.00 \pm 2.98\%$  respectively at 30 ind/mL. The body fatty acids composition of *Eriocheir sinensis* zoeae larvae is evaluated. The results show that the EPA and DHA contents of zoeae larvae fed with enriched rotifer are obviously higher than those fed with unenriched rotifer. The EPA and DHA content reach 15.09% and 7.24% respectively.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*, HUFA, EPA, DHA, survival rate, ecdysis rate, rotifer

## 0 引言

微藻和轮虫是中华绒螯蟹(俗称河蟹 *Eriocheir sinensis*)溞状幼体期的重要生物饵料,所投喂的饵料适口性和营养成分显著影响河蟹幼体变态率与存活率。轮虫作为河蟹苗  $Z_2$ 、 $Z_3$  期的主要饵料,其投喂密度,营养组成对  $Z_2$ 、 $Z_3$  的生长有显著影响。对这两个因素的研究可以为生产中轮虫的正确投喂提供参考。

$\omega$ -3HUFA( $\omega$ -3)系列高度不饱和脂肪酸)特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),作为虾蟹类幼体的必需脂肪酸,在体内用于构成磷脂双层膜,同时也是幼体蜕皮激素的前体物质,对于幼体正常生长、发育和存活起重要作用<sup>[1,2]</sup>。研究表明  $\omega$ -3HUFA 能有效地促进十足目虾蟹类幼体的生长、发育

收稿日期: 2005-03-02。

基金项目: 江苏省水产三项更新工程项目(PJ2002-31; PJ2003-33)。

作者简介: 王庆,男,1981—,硕士研究生,主要从事水生生物学方面的学习与研究, E-mail: blueiori@yeah.net

通讯联系人: 杨家新,1963—,教授,主要从事水生生物学的教学与研究, E-mail: jiaxiny@public1.ptt.js.cn

和存活<sup>[3-7]</sup>。褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis* 以下简称轮虫)是目前河蟹人工育苗中重要的饵料资源,但其自身不能合成 EPA、DHA 等 HUFA,因此其(尤其是用面包酵母培养的轮虫)体内 EPA、DHA 含量偏低,远不能满足蟹类幼体正常生长和发育的需要。微藻的很多种类能自身合成 EPA 和 DHA 等多种 HUFA,把微藻中的脂肪酸用微藻强化过的轮虫传递给蟹类幼体,成为提供蟹类幼体 EPA、DHA 等 HUFA 的有效途径。直链藻(*Melosira granulata*)是在江苏省赣榆县海州湾天然海水中生长的优良硅藻品种,在水产育苗生产中具有适口性好,易培养等特点,深受广大育苗厂家的青睐。本文通过对直链藻强化的轮虫的脂肪酸含量的变化,强化最佳时间,不同密度的强化轮虫对 Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub> 期蟹苗生长的影响以及强化轮虫投喂后对溞状幼体脂肪酸含量影响的研究,以期对生产中合理利用直链藻强化轮虫以及轮虫的正确投喂提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 藻种的培养

直链藻是从江苏省赣榆县海州湾天然海水中分离,经纯化培养所得,使用 F/2 培养基<sup>[8]</sup>培养。

#### 1.1.2 褶皱臂尾轮虫

采自赣榆县海州湾的自然海区,经分离用面包酵母预培养。

#### 1.1.3 中华绒螯蟹溞状幼体

实验用的溞状幼体由同一批抱卵蟹孵化而来。

#### 1.1.4 酵母

奥力牌高活性干酵母,由珠海奥力酵母有限公司生产。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 轮虫的培养和强化

采用 20 L 玻璃瓶培养轮虫,强化前的轮虫先以干酵母进行预培养,投喂量为 1.0 g/d。100 万轮虫,然后在 20 L 的玻璃瓶进行营养强化,轮虫的密度为 350 ~ 450 ind/mL,直链藻的密度设计为  $3 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$  ind/mL,强化的时间分别设计为 12 h、24 h、48 h、72 h 及 7 d,设置 3 个玻璃瓶,一个玻璃瓶中的轮虫 12 h 后收获一半,24 h 后收另一半;一个玻璃瓶强化 48 h 后收获一半,72 h 后收获另一半;最后一个玻璃瓶强化 7 d 后收获。强化过程中及时检测并补充藻液,使各个强化水体中的藻细胞始终保持设计密度。

#### 1.2.2 溞状幼体的培养

用强化 72 h 的轮虫投喂溞状幼体,轮虫投喂密度分别设计为 5、10、20、30、40、50、60 ind/mL,实验分 7 组,每组再设置 4 个重复,每个处理组都使用 20 L 的玻璃瓶装 10 L 的过滤海水,每组放 Z<sub>2</sub> 或 Z<sub>3</sub> (Z<sub>3</sub> 为强化轮虫培养的同批次的 Z<sub>2</sub> 变态而来) 100 个,盐度为  $22 \pm 0.2\text{‰}$ ,温度  $20 \pm 0.2^\circ\text{C}$ ,连续充气,到第 4 天时检查每个处理组里存活的幼体数和已经变态的幼体数。每天检查轮虫的密度 2 次,及时调整到设置水平。收获 Z<sub>4</sub> 用于脂肪酸分析。另用酵母轮虫培养一批同批次的溞状幼体,收获 Z<sub>4</sub> 用于脂肪酸分析。

#### 1.2.3 微藻、轮虫及溞状幼体的收获

微藻以 4 000 r/min 离心收获,轮虫、溞状幼体分别用 200 目、125 目筛绢过滤收获,均冷冻干燥。

#### 1.2.4 脂肪酸分析

所有待检测样品送农业部油料及制品质量监督检验测试中心检测。实验用仪器为美国惠普公司 HP5890 plus 气相色谱仪, FID 检测器检测,按 Volkman 的方法将脂肪酸甲酯化,色谱条件:柱温 180℃,进样温度 220℃,检测器温度 240℃。脂肪酸标准品均为 Sigma 公司产品。

#### 1.2.5 数据的计算与处理

变态率 = 检查时已经蜕皮变态了的存活幼体数 / 实验开始放入的幼体数  $\times 100\%$

存活率 = 检查时的全部存活幼体数 / 实验开始放入的幼体数  $\times 100\%$

对变态率和存活率做生物统计学检测,以确定各组数据间差异是否明显。

## 2 结果

### 2.1 直链藻及其强化的轮虫的脂肪酸组成

从表 1 我们可以看到直链藻的 EPA、DHA 含量较高,分别为 9.62% 和 2.38%。经其强化的轮虫的脂

肪酸含量显著高于未经强化的酵母轮虫. 在其强化的各个时间段的褶皱臂尾轮虫的脂肪酸中,EPA、DHA 含量都很高,以 72 h 强化效果最好,EPA、DHA 含量分别为 10. 36% 和 3. 12%.

表 1 直链藻及其强化轮虫的脂肪酸组成/%

	直链藻	12 h 轮虫	12 h 轮虫	72 h 轮虫	7 d 轮虫	酵母轮虫
豆蔻酸	5. 47	6. 42	5. 68	7. 18	6. 13	2. 35
豆蔻烷酸	1. 38	0. 80	0. 64	1. 26	0. 94	2. 02
十五碳烷酸	1. 53	1. 26	0. 78	1. 22	1. 42	1. 16
棕榈酸	14. 52	13. 44	11. 36	15. 85	13. 57	15. 39
棕榈烯酸	20. 41	21. 92	14. 36	20. 50	18. 43	13. 83
棕榈二烯酸	1. 76	1. 35	1. 24	0. 86	1. 48	0. 35
棕榈三烯酸	3. 48	2. 63	2. 76	3. 04	2. 81	1. 24
硬脂酸	4. 19	3. 28	3. 42	4. 19	3. 76	6. 22
油酸	16. 17	18. 46	24. 21	15. 80	17. 57	30. 60
亚油酸	7. 42	7. 34	7. 77	4. 64	6. 42	7. 02
亚麻酸	3. 35	3. 76	3. 72	2. 48	3. 15	3. 96
花生酸	—	—	—	—	—	7. 93
花生烯酸	5. 94	4. 34	5. 18	5. 27	5. 64	—
花生二烯酸	—	—	—	—	—	1. 52
花生四烯酸	1. 46	0. 97	1. 86	1. 65	1. 51	2. 25
EPA	9. 62	8. 50	11. 65	10. 36	9. 46	—
DHA	2. 38	3. 38	1. 97	3. 12	3. 73	—
其他	0. 92	2. 15	3. 38	2. 58	3. 98	4. 16

2.2 不同密度的轮虫对 Z<sub>2</sub>、Z<sub>3</sub> 存活率与变态率的影响

将 Z<sub>2</sub> 放入不同密度的强化轮虫处理组中,实验结果表明:不同密度的强化轮虫对 Z<sub>2</sub> 的变态和存活影响十分明显(表 2). 当轮虫密度较低时,Z<sub>2</sub> 的变态率和存活率随着轮虫密度的升高而迅速提高,但当轮虫密度高于 20 ind/mL 时,Z<sub>2</sub> 的变态率和存活率随着轮虫密度的升高反而下降,可以认为,直链藻强化轮虫的密度为 20 ind/mL 对 Z<sub>2</sub> 的变态比较适宜.

将 Z<sub>3</sub> 放入不同密度的强化轮虫处理组中,实验结果表明不同的强化轮虫密度对 Z<sub>3</sub> 的变态和存活影响十分明显(表 3). 当轮虫密度较低时,Z<sub>3</sub> 的变态率和存活率随着轮虫密度的升高而迅速提高,但当轮虫密度高于 30 ind/mL 时,Z<sub>3</sub> 的变态率和存活率随着轮虫密度的升高反而下降,可以认为,直链藻强化轮虫的密度为 30 ind/mL 对 Z<sub>3</sub> 的变态比较适宜.

2.3 投喂直链藻强化轮虫和酵母轮虫河蟹溞状幼体的脂肪酸组成比较

从表 4 可以看出,由直链藻强化的轮虫喂养出的溞状幼体和酵母轮虫喂养出的溞状幼体相比,前者总的脂肪酸含量达到 1. 78%,EPA、DHA 含量分别达到 15. 09%、7. 24%;而后者总的脂肪酸含量只有 0. 84%,EPA、DHA 含量分别为 6. 71%、1. 38%. 总的看来,前者无论是总的脂肪酸含量还是 EPA、DHA 的含量都明显高于后者.

3 讨论

3.1 脂肪酸从直链藻到轮虫的传递

从表 1 可以看出,直链藻的 EPA、DHA 含量很高,酵母轮虫不含 EPA、DHA. 轮虫经强化后,随着时间的增加,EPA、DHA 的含量逐渐增加,说明 EPA、DHA 可以很好的从直链藻传递到轮虫. 强化 72 h 的轮虫其 EPA 含量显著高于强化 12h 的轮虫,其 DHA 含量显著高于强化 24h 的轮虫,强化 7d 后轮虫的 EPA、

表 2 不同强化轮虫密度下 Z<sub>2</sub> 的变态率,存活率/%

轮虫密度/(ind/mL)	平均变态率	平均存活率
5	8. 20 ± 0. 86	8. 40 ± 0. 93
10	38. 60 ± 1. 08	42. 20 ± 1. 02
20	60. 60 ± 2. 64	63. 20 ± 2. 48
30	42. 60 ± 2. 68	45. 20 ± 2. 96
40	30. 40 ± 2. 25	33. 40 ± 2. 44
50	11. 40 ± 1. 03	14. 40 ± 1. 54
60	5. 40 ± 0. 68	8. 60 ± 0. 51

表 3 不同强化轮虫密度下 Z<sub>3</sub> 的变态率,存活率/%

轮虫密度/(ind/mL)	平均变态率	平均存活率
5	7. 00 ± 0. 71	7. 40 ± 0. 81
10	32. 00 ± 2. 49	33. 40 ± 2. 56
20	39. 20 ± 3. 06	41. 40 ± 2. 71
30	57. 40 ± 1. 63	62. 00 ± 2. 98
40	21. 40 ± 2. 06	27. 40 ± 1. 99
50	11. 00 ± 1. 22	17. 40 ± 2. 44
60	3. 40 ± 0. 93	5. 80 ± 0. 66

DHA 含量与强化 72 h 的轮虫并无显著差异,可见,用直链藻强化轮虫,3 d 即可获得很好的效果,所以直链藻用作轮虫的营养强化是合理并且可行的。

3.2 不同密度的强化轮虫对溞状幼体生长的影响

由于在实际生产中, $Z_2 \sim Z_3$  (即  $Z_2$  变态阶段)以及  $Z_3 \sim Z_4$  (即  $Z_3$  变态阶段)这两个阶段幼体主要摄食轮虫,因此本实验重点对这两个阶段的轮虫投喂最佳密度进行了探究.实验结果表明,投喂不同密度的轮虫对溞状幼体变态率与存活率的影响显著 ( $p < 0.05$ ).在投喂密度较低时, $Z_2$  与  $Z_3$  的变态率和存活率都随着轮虫密度的增加而提高,但轮虫密度达到某一值后,如果继续加大投喂密度,反而会使变态率和存活率下降.这说明溞状幼体的摄食情况与轮虫的密度有很大关系.这反映出溞状幼体的摄食是一种比较被动的行为.水体中轮虫的密度过小,溞状幼体与其相遇的可能性就小,那么就不能获得足够的食物供其存活和发育.所以提高轮虫密度可提高幼体获食机率,从而提高其变态率和存活率.但当水体中的轮虫能够满足溞状幼体的需要,此时若再多加轮虫,一来会造成资源浪费,二来过多的轮虫会与幼体争夺生存空间,并且轮虫新陈代谢产生废物影响水质,对幼体的存活与变态有不良影响.因此轮虫过少和过多对幼体的生长都不利,本实验中,最佳的投喂密度对于  $Z_2$  来说是 20 ind/mL,对于  $Z_3$  来说是 30 ind/mL.

3.3 脂肪酸从强化轮虫到溞状幼体的传递

从表 4 可以看出,由直链藻强化的轮虫喂养出的溞状幼体和由酵母轮虫喂养出的溞状幼体相比,前者总的脂肪酸含量达到 1.78%,EPA、DHA 含量分别达到 15.09%、7.24%;而后者总的脂肪酸含量只有 0.84%,EPA、DHA 含量分别为 6.71%、1.38%.强化轮虫喂养出的溞状幼体的 EPA、DHA 的含量显著超过酵母轮虫喂养出的溞状幼体.可见脂肪酸可以从轮虫有效的传递到溞状幼体.

表 4 投喂直链藻强化轮虫和酵母轮虫河蟹溞状幼体的脂肪酸组成比较/%

脂肪酸	直链藻溞状幼体	酵母溞状幼体(对照)
豆蔻酸	1.22	1.04
豆蔻烷酸	1.14	0.77
十五碳烷酸	0.68	0.58
棕榈酸	13.24	14.32
棕榈烯酸	9.66	2.74
棕榈二烯酸	1.08	0.86
硬脂酸	7.16	5.13
油酸	19.80	14.33
亚油酸	4.04	24.38
亚麻酸	8.56	4.67
花生酸	2.27	15.28
花生烯酸	0.98	1.25
花生二烯酸	1.14	1.33
花生四烯酸	4.31	4.01
EPA	15.09	6.71
DHA	7.24	1.38
其他	2.39	1.22
脂肪酸总含量(占所测样品%)	1.78	0.84

[参考文献]

[1] Sargent J, McEvoy L, Estevez A, et al. Lipid nutrition of marine fish during early development; current status and future directions[J]. Aquaculture, 1999, 179:217—229.

[2] 陈立侨,周忠良. 中华绒螯蟹的摄食与营养生理研究[J]. 上海水产大学学报,1998,7(增刊):24—31.

[3] 江洪波,陈立侨,周忠良,等. 不同饵料对中华绒螯蟹幼体发育和存活的影响[J]. 水产学报,2000,24(5):442—447.

[4] 王渊源,蒋绍霞,陈桥. 长毛对虾对不饱和脂肪酸需求量的初步研究[J]. 水产学报,1997,21(4):380—385.

[5] 高淳仁,梁亚全,刘庆慧,等. 饲料中不饱和脂肪酸对斑节对虾幼虾存活、蜕皮和生长的影响[J]. 中国水产科学,1997,4(1):75—79.

[6] 成永旭,严生良,王武,等. 饲料中磷脂和多不饱和脂肪酸对中华绒螯蟹大眼幼体育成仔蟹的成活率和生长的影响[J]. 水产学报,1998,22(1):9—15.

[7] 陈立侨,江洪波,杨家新,等.  $\omega$ -3HUFA 对中华绒螯蟹幼体存活率及体脂肪酸组成的影响[J]. 水产学报,2000,24(5):448—452.

[8] 陈明耀. 生物饵料培养[M]. 北京:中国农业出版社,1995.

[责任编辑:孙德泉]