

文章编号: 1000-0615(2001)03-0227-05

锯缘青蟹幼体饵料的营养强化

翁幼竹, 李少菁, 王桂忠

(厦门大学海洋学系, 福建 厦门 361005)

摘要:用酵母、小球藻、鱼油强化和豆油强化四种不同方式培养轮虫,再分别投喂锯缘青蟹幼体。分析测定轮虫和幼体的生化组成,结果显示,(1)不同方式培养的轮虫之间以及摄食这些轮虫的锯缘青蟹幼体之间的蛋白质含量都没有显著差异;(2)轮虫的脂类含量和脂肪酸组成与培养方式密切相关。小球藻轮虫的脂类含量最高,20:5n-3(EPA)占总脂肪酸的比例也最高,为 18.05%。鱼油轮虫则含有最多的 22:6n-3(DHA),占总脂肪酸 3.16%,脂类含量仅次于小球藻轮虫;(3)锯缘青蟹幼体的脂类含量和脂肪酸组成受相应饵料营养成分的影响。另外,幼体培育实验也发现,饵料营养成分影响幼体的存活率。结果表明,提高轮虫的 EPA 和 DHA 含量,尤其是 DHA 含量,将有利于锯缘青蟹幼体的存活和发育。

关键词:锯缘青蟹;幼体;轮虫;营养强化

中图分类号:S963.16 **文献标识码:**A

Nutritional enrichment to the diet of larval *Scylla serrata*

WENG You-zhu, LI Shao-jing, WANG Gui-zhong

(Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The rotifers (*Brachionus plicalis*) were cultivated with four different conditions, fed with yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), the algae (*Chlorella* sp.), enriched with emulsified preparation of fish oil or soybean oil, and then were fed to larval *Scylla serrata*. The biochemical composition of rotifers and larvae were examined. The results showed that: (1) There were no significant difference in protein content among rotifers cultivated by different condition and among larvae reared by these rotifers with different nutritional value; (2) The lipid content and fatty acid composition of rotifers were related to culture condition. The algae-fed rotifer (AR) contained the highest lipid content and 20:5n-3 (EPA, 18.05% of total fatty acids). The fish oil-enriched rotifer (FR) showed the highest level of 22:6n-3 (DHA, 3.16% of total fatty acids) and a lipid content second to the algae-fed rotifer; (3) The lipid content and fatty acid composition of larval *Scylla serrata* were influenced by those in corresponding rotifers. On the other hand, larvae rearing experiment showed that the nutritional composition in diets influenced the survival rate of larvae. It is suggested that elevation of the content of EPA and DHA in especial will favor the survival and growth of larval *Scylla serrata*.

Key words: *Scylla serrata*; larvae; *Brachionus plicalis*; nutritional enrichment

锯缘青蟹(*Scylla serrata*)简称青蟹,其营养丰富、肉味鲜美,为我国传统的名贵海产品,目前已成为

收稿日期:2000-06-27

资助项目:福建省科技项目(重中之重项目)资助

第一作者:翁幼竹(1968-),女,博士,副研究员,现在国家海洋局第三海洋研究所工作,主要从事海洋动物生殖内分泌学研究。Tel: 0592-2195277, E-mail: yzweng63@public.xm.fj.cn

我国东南沿海重要的养殖对象,是经济效益很高的食用蟹类。养殖生产首先要解决苗种来源,而人工育苗则是获取青蟹苗种的主要途径。根据曾朝曙和李少菁^[1]的研究及多年育苗实践表明,轮虫可作为锯缘青蟹早期幼体的良好饵料,同时还认识到充足的饵料是幼体存活和发育的保证。但是,在育苗过程中,即使在保证轮虫供应的条件下,仍出现早期幼体存活和发育不稳定的情况,其原因可能与两个因素有关,一是刚孵化幼体的活力高低,二是轮虫质量的好坏。轮虫因其大小合适、易于培养、繁殖快等优点,成为许多甲壳动物幼体和仔稚鱼的良好饵料。轮虫的营养价值与脂的质量,特别是 n-3 系列的高度不饱和脂肪酸 20:5(EPA)和 22:6(DHA)的含量密切相关。由于轮虫的营养成分与其培养条件有很大关系,因此我们采用不同的培养条件来获得具有不同营养成分的轮虫,然后投喂锯缘青蟹幼体,试图通过分析幼体及其饵料轮虫的营养组成以确定一种有利于幼体存活和发育的饵料培养方式。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

从本地市场购买性腺饱满的亲蟹,入室内池中暂养。待抱卵后移入孵化箱,孵化溞状 I 期幼体(Z₁)后则即将幼体分池培育,分别投喂酵母轮虫、小球藻轮虫、鱼油轮虫和豆油轮虫三天,收集幼体。育苗池水温 25℃,海水盐度 27.2。轮虫先于室外分池单独培养。一池轮虫用酵母培养,为酵母轮虫(yeast-fed rotifer, YR);另一池轮虫投喂小球藻,为小球藻轮虫(algae-fed rotifer, AR)。收集部分酵母轮虫分别用鱼油乳化液和豆油乳化液营养强化 12h^[2],得到鱼油轮虫(fish oil-enriched rotifer, FR)和豆油轮虫(Soybean oil-enriched rotifer, SR)。脂乳化液是用 5mL 油脂、1g 生卵黄和 100mL 海水混合于烧杯中,置磁力搅拌器上充分混匀而成。

1.2 存活实验

用广口吸管吸取刚孵化的 Z₁ 幼体各 50 只,培养于盛有 800 mL 砂滤海水的烧杯中。实验分四组进行,分别投喂酵母轮虫、小球藻轮虫、鱼油轮虫和豆油轮虫。每个实验组均设 3 个平行组。每日换水 1/3,投喂足量轮虫(50~60 尾·mL⁻¹),并记录存活幼体数。

1.3 含量测定

称取一定量干样品(60℃烘干至恒重),将干样中脂类、蛋白质和碳水化合物分离开^[3],后用酸性重铬酸钾氧化法^[4]、加热缩脲法^[5]和苯酚-浓硫酸法^[6]分别测定脂类、蛋白质和碳水化合物含量。

1.4 脂肪酸组成分析

称取 20mg 干样于水解管中,加适量内标物(C_{19:0})和 0.5 mol·L⁻¹ KOH-CH₂OH 0.5mL,70℃水浴加热 15min,再加入 2mol·L⁻¹ HCl-CH₂OH 1mL,70℃水浴加热 30min,用 2mL 正己烷萃取脂肪酸甲酯,通 N₂ 挥干溶剂,加入 30~40μL 正己烷溶解,供毛细管气相色谱仪分析。采用标准脂肪酸甲酯样出峰的保留时间与试样组分峰的保留时间对照定性,由内标法定量。

2 结果与amp;讨论

2.1 不同摄食条件下轮虫和青蟹幼体的生化组成

不同培养条件下轮虫的蛋白质含量不存在显著差异(表 1),这与 Frolov 等^[7]的研究结果相似,提示轮虫能够调节自身的生化组成,保持其蛋白质含量相对稳定。同样,摄食这些轮虫的青蟹幼体的蛋白质含量也无明显差异,这反映了蛋白质这种天然有机成分具有较高的保守性,同时还说明轮虫蛋白质含量不是影响青蟹幼体存活发育的关键因素。

而脂类含量则与此不同,从表 1 可见,小球藻轮虫的脂类含量明显高于酵母轮虫和小球藻轮虫,鱼油轮虫的脂类含量仅次于小球藻轮虫。轮虫和青蟹幼体脂类含量存在一定的正相关性。摄食小球藻轮虫的幼体也含有最多的脂类。先期研究表明,饵料中脂类对青蟹早期幼体生长发育是十分必要的^[8],因此,从本文结果可推测,用小球藻培养和用鱼油强化两种方式培养的轮虫可能具有较高的营养价值。然而,表中还显示,虽然豆油轮虫的脂含量明显高于酵母轮虫,可是摄食相应轮虫的青蟹幼体的脂含量却相差无几,这说明不能仅从轮虫的脂含量来决定其营养价值。

轮虫的碳水化合物含量占干重的 7.75% ~ 13.24%,不同培养方式之间有显著差异。但是各组青蟹幼体的碳水化合物含量都很低 (< 4%),可能表明青蟹幼体对饵料碳水化合物的需求和利用较低。因此,饵料中碳水化合物水平对青蟹幼体存活发育的影响不大。

表 1 不同培养条件下轮虫和锯缘青蟹幼体的生化组成

Tab.1 Biochemical composition in rotifers and crab larvae reared under different condition

生化组成 (%干重)	轮 虫				锯 缘 青 蟹 幼 体			
	酵母轮虫 (YR)	小球藻轮虫 (AR)	鱼油轮虫 (FR)	豆油轮虫 (SR)	酵幼 (YL)	藻幼 (AL)	鱼幼 (FL)	豆幼 (SL)
蛋白质	64.52 ^a ±3.15	61.15 ^a ±2.56	63.55 ^a ±3.09	63.87 ^a ±3.02	34.65 ^a ±1.29	33.44 ^a ±1.09	33.26 ^a ±1.83	34.67 ^a ±1.34
总脂	12.56 ^a ±0.80	20.69 ^b ±1.94	17.26 ^{bc} ±1.27	16.91 ^c ±1.21	12.75 ^a ±0.95	15.41 ^b ±1.26	14.76 ^b ±1.05	12.45 ^a ±0.92
碳水化合物	13.24 ^a ±1.07	7.75 ^b ±0.68	10.92 ^c ±0.83	12.21 ^{c*} ±0.96	3.26 ^a ±0.22	2.65 ^b ±0.21	3.18 ^a ±0.25	3.86 ^{ab} ±0.13

注:(1)数值以平均值±标准差表示,n=3;(2)采用“t”值检验分析数值之间的差异显著性;(3)数值上标记的字母相同,表示数值间差异不显著;数值上标记的字母不同,表示数值间差异显著;ab表示该数值与 a 和 b 的数值之间没有显著差异。

2.2 不同培养条件对轮虫脂肪酸组成的影响

用四种不同方式培养的轮虫的脂肪酸组成差异明显。由表 2 可见,酵母轮虫有很高的 18:1 比例,占脂肪酸总量的 1/3,而 20:5n-3(EPA)的比例很低,为 2.71%。相反,小球藻轮虫的 18:1 远低于酵母轮虫,而 EPA 则约是酵母轮虫的 7 倍,占总脂肪酸的 18.05%。另外,这两种方式培养的轮虫都仅有少量的 22:6n-3(DHA)。将酵母轮虫分别用鱼油和豆油强化 12h,不难看出,轮虫的脂肪酸组成随着油脂的脂肪酸组成发生相应的变化。鱼油轮虫和豆油轮虫的 14:0、16:0、16:1、18:1 和 18:2 的比例反映出两种油脂脂肪酸组成的差异。同样,经鱼油强化后,轮虫的 EPA 和 DHA 明显增加,分别从酵母轮虫中的 2.71% 和 0.60% 增至鱼油轮虫中的 9.39% 和 3.16%。由于豆油完全缺乏 EPA 和 DHA,故强化所得豆油轮虫中含量更低。

目前,n-3HUFA 特别是 EPA 和 DHA 的营养价值愈加为人们所重视。在海水仔稚鱼及甲壳动物幼体培育中,饵料轮虫的 EPA 和 DHA 含量直接影响着仔稚鱼和蚤状幼体的生长与存活^[9-11]。本文研究显示,酵母轮虫的 EPA 和 DHA 含量很低,这与其他研究者的分析结果相一致^[7,12,13]。显然,酵母轮虫低水平的 EPA 和 DHA 含量是无法满足青蟹幼体的营养需求。相反,采用小球藻培养的轮虫含有很高的 EPA,但 DHA 含量仍很低。据报道,用海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)培养轮虫,其体内 EPA、DHA 含量可达 20.5% 和 6.0%^[13]。因此,海链藻也是培养轮虫的优质藻类。

虽然采用优质单胞藻培养轮虫,可以提高轮虫的营养价值。但是,藻类培养本身就需要投入一定的场地、设施和人力,并受气候条件的影响,常使藻类生长不稳定,不能及时供给轮虫培养所需。因此,采用油脂强化提高轮虫的 EPA 和 DHA 含量,是提高轮虫作为饵料生物营养价值的另一项技术措施。这种强化方式不受培养藻类的种种限制,可以随时进行。

酵母轮虫经鱼油强化 12h,轮虫的脂肪酸组成随着鱼油脂肪酸组成而发生相应改变,说明轮虫能够有效地吸收鱼油脂肪酸,并转化为自身的营养成分。与小球藻轮虫相比,鱼油轮虫的 EPA 较低,DHA 较高,EPA/DHA 约为 3,而小球藻轮虫的 EPA/DHA 高达 36。已有研究证实,食物中合适的 EPA 与 DHA 之比才有利于动物幼体的生长发育^[9,14]。可见,通过鱼油强化,不仅可提高轮虫的 EPA 和 DHA 含量,并能调整轮虫 EPA/DHA 比值,使之更适于幼体存活和生长。

表2 不同培养条件下的轮虫和两种油脂的脂肪酸组成

Tab.2 Fatty acid composition of rotifers cultivated with different condition and two kinds of oil

脂肪酸组成(%)	酵母轮虫(YR)	小球藻轮虫(AR)	鱼油轮虫(FR)	豆油轮虫(SR)	鱼油	豆油
14:0	1.63	4.59	2.90	0.58	7.56	0.09
16:0	12.36	20.76	13.65	8.71	16.98	6.89
18:0	4.61	2.45	3.65	4.02	1.36	1.80
20:0	0.23	0.47	0.71	0.66	0.55	0.86
22:0	-	-	0.40	0.36	0.12	0.43
16:1n-7	19.49	16.70	14.38	11.91	7.31	0.11
18:1n-9	33.16	5.81	24.28	33.50	11.77	38.62
20:1n-9	4.13	2.93	4.37	3.97	2.35	0.51
22:1n-11	1.00	0.44	2.25	0.95	4.39	0.19
18:2 n-6	2.37	4.26	3.22	19.71	2.24	49.85
18:3n-3	5.54	6.68	6.84	4.99	4.83	0.40
20:4n-6	3.02	6.31	1.73	0.78	1.34	-
20:5n-3	2.71	18.05	9.39	0.57	19.27	-
22:6n-3	0.60	0.50	3.16	0.13	10.60	-
ΣSFA(饱和脂肪酸)	18.83	28.27	21.31	14.33	26.57	10.07
ΣMUFA(单不饱和脂肪酸)	57.78	25.88	45.28	50.33	25.82	39.43
ΣPUFA(多不饱和脂肪酸)	14.24	35.80	24.34	26.18	38.28	50.25
Σn-3/n-6	1.64	2.39	3.92	0.28	9.69	0.01
20:5/22:6	4.52	36.10	2.97	4.38	1.82	-

注:表内数值均为两次测定值的平均值。

2.3 投喂不同轮虫的青蟹幼体脂肪酸组成

用上述四种不同方式培养的轮虫分别投喂刚孵化的青蟹幼体三天,幼体的脂肪酸组成见表3。比较表2和表3,可以看出,青蟹幼体的脂肪酸组成在一定程度上受饵料轮虫脂肪酸组成的影响,尤其是18:1和18:2。此外,幼体之间EPA的高低顺序是与轮虫中EPA的排列顺序相一致。鱼幼的DHA最高,这显然与鱼油轮虫含有明显较多的DHA有关。另一方面,从表2和表3还可见,虽然轮虫之间18:1相差很大,但幼体之间18:1的差距明显缩小。由于18:1是许多动物的主要供能脂肪酸,因此,作者认为,投喂小球藻轮虫和鱼油轮虫的青蟹幼体比投喂酵母轮虫和豆油轮虫的幼体在生长发育过程中代谢消耗的能量较少。据研究显示,蟹类幼体摄食n-3HUFA含量较高的饵料,其呼吸和基础代谢耗能减少,使摄取的能量更多地用于生长发育^[15]。

2.4 不同营养成分轮虫对幼体存活的影响

青蟹幼体摄食不同营养成分轮虫的存活率见图1。投喂鱼油轮虫的青蟹幼体的成活率最高,其次是小球藻轮虫,投喂豆油轮虫的幼体成活率最低,且两次实验结果相似。

表3 投喂不同轮虫的青蟹幼体的脂肪酸组成

Tab.3 Fatty acid composition of crab larvae reared by different rotifers

脂肪酸组成(%)	酵幼(YL)	藻幼(AL)	鱼幼(FL)	豆幼(SL)
14:0	0.73	0.62	0.63	0.54
16:0	14.90	17.14	17.33	12.66
18:0	9.39	8.79	8.76	7.37
20:0	1.34	1.25	0.25	1.03
22:0	0.96	0.91	0.30	0.75
16:1 n-7	4.39	3.99	3.18	1.59
18:1 n-9	17.65	8.95	17.12	18.17
20:1 n-9	1.37	0.71	0.78	1.42
22:1 n-11	-	-	-	-
18:2 n-6	2.32	3.68	2.36	13.45
18:3 n-3	6.20	6.97	6.69	5.11
20:4 n-6	8.75	10.91	8.15	8.11
20:5 n-3	15.24	20.80	17.85	12.90
22:6 n-3	6.98	6.82	8.94	6.67
ΣSFA	27.32	28.71	27.27	22.35
ΣMUFA	23.41	13.65	21.08	21.18
ΣPUFA	39.49	49.18	43.99	46.24
Σn-3/n-6	2.57	2.37	3.19	1.14
20:5/22:6	2.18	3.05	2.00	1.95

注:表内数值均为两次测定值的平均值。

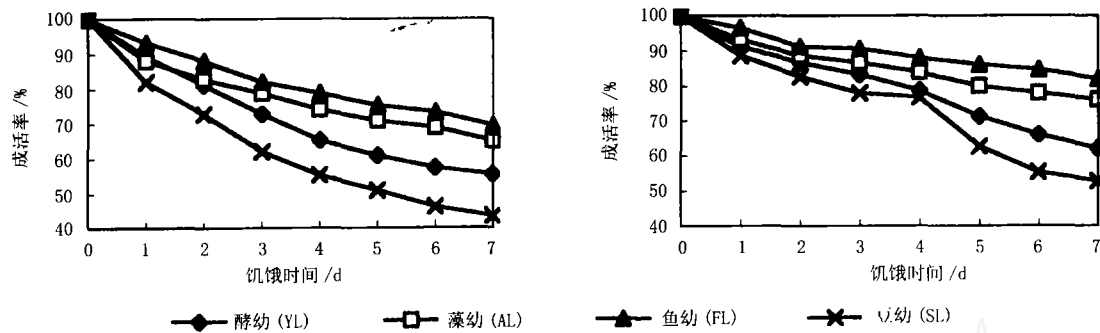


图 1 摄食不同营养成分轮虫的锯缘青蟹幼体的成活率

Fig. 1 The survival rate of larval *Scylla serrate* fed by rotifers with different nutrition

众所周知, EPA 和 DHA 是动物体内具有重要生理功能的必需脂肪酸, 青蟹幼体通过摄食轮虫而获得这些自身无法合成的必需脂肪酸, 从而提高了成活率。因此, 通过合理调整轮虫的脂肪酸组成, 提高轮虫 n-3 系列的高度不饱和脂肪酸(n-3HUFA)的含量, 对于改善轮虫作为饵料生物的营养价值是必要且可行的。投喂鱼油轮虫的幼体比投喂小球藻轮虫的幼体有较高的成活率, 可能表明青蟹幼体自身的 DHA 含量不足以满足其生长发育的需要, 必须从饵料中摄取, 因此提高轮虫的 EPA 和 DHA 含量, 尤其是 DHA 含量, 将有利于锯缘青蟹幼体的存活和发育。

样品收集过程得到黄辉洋、叶海辉、郭东晖等同志的帮助, 谨此致谢。

参考文献:

- [1] 曾朝曙, 李少菁. 锯缘青蟹幼体实验生态研究 I. 饵料对幼体存活与发育的影响[A]. 甲壳动物学论文集(第三辑)[C]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992. 85-94.
- [2] Watanabe T, Ohta M, Kitajima C, et al. Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia* for fish larvae by feeding them on ω 3 highly unsaturated fatty acids[J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1982, 48(12):1775-1782.
- [3] Holland D L, Gabbott P A. A micro-analytical scheme for the determination of protein, carbohydrate, lipid and RNA levels in marine invertebrate larvae[J]. *J Mar Biol Ass*, 1971, 51(3):659-668.
- [4] Parsons T R, Maita Y, Lalli C M. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis[M]. Pergamon Press, 1984.
- [5] 蒋传葵等. 工具酶的活力测定[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982. 155.
- [6] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987. 6-7.
- [7] Frolov A V, Pankov S L, Geradze K N, et al. Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*[J]. *Aquac*, 1991, 97:181-202.
- [8] 成永旭, 李少菁, 王桂忠. 锯缘青蟹幼体肝胰腺细胞结构变化与其营养状况的关系 I. 溞状幼体 I 期的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1998, 37(4):576-581.
- [9] 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 sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding[J]. *Aquac*, 1993, 112(1):79-98.
- [10] Rodriguez C, Perez J A, Lorenzo A, et al. n-3HUFA requirement of larval gilthead seabream *Sparus aurata* when using high levels of eicosapentaenoic acid[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1994, 107A(4):693-698.
- [11] Levine D M, Sulkin S D. Nutritional significance of long-chain polyunsaturated fatty acids to the zoeal development of the brachyuran crab, *Eurypanopeus depressus* (Smith)[J]. *J Exp Mar Ecol*, 1984, 81(3):211-223.
- [12] Ben-Amotz A, Fishler R, Schneller A. Chemical composition of dietary species of marine unicellular algae and rotifers with emphasis on fatty acids[J]. *Mar Biol*, 1987, 95(1):31-36.
- [13] Whyte J N C, Nagata W D. Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast or phytoplankton[J]. *Aquac*, 1990, 89(4):263-272.
- [14] Reitan K I. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae[J]. *Aquac Int*, 1994, 2:33-48.
- [15] Pletl J J, McConaughy J R. The physiological and bioenergetic responses of blue crab larvae to diet and seasonality[J]. *Bull Mar Sci*, 1990, 146(1):248-249.