

斜带石斑仔鱼不同饵料的营养分析 及其对生长和鱼体脂肪酸组成的影响^{*}

王 胜¹, 刘永坚¹, 田丽霞¹, 郑文晖²,
曹俊明³, 刘付永忠⁴, 杜震宇¹, 梁桂英¹, 肖伟平¹
(1. 中山大学水生经济动物研究所暨广东省繁育重点实验室, 广东 广州 510275;
2. 中山大学分子医学检验中心, 广东 广州 510089;
3. 广东省农业科学院, 广东 广州 510640;
4. 广东省大亚湾水产实验中心, 广东 惠州 516081)

摘 要: 对斜带石斑鱼 *Epinephelus coioides* 仔鱼投喂了不同的饵料(微颗粒饲料, 用海水小球藻培养的生物饵料, 用小球藻培养后用胶囊强化剂强化的生物饵料), 在 25 d 后结束取样测量体质量、体长等, 并分析了各种饵料和鱼体的脂肪酸组成。研究表明, 用海水小球藻培养的生物饵料都含有较丰富的 EPA, 但缺乏 DHA, 使仔鱼的生长、成活和鱼体 DHA 较低; 而经胶囊强化剂强化后的饵料提高了其中的 DHA 含量, 使仔鱼的生长、成活和鱼体 DHA 均有所提高。鱼体脂肪酸组成受到饵料脂肪酸组成的较大影响, 同时提示了仔鱼 DHA 不能由自身合成, DHA 对仔鱼的生产、成活具有很重要的影响。

关键词: 石斑鱼 *Epinephelus coioides* 仔鱼; 饵料; 生长; 脂肪酸

中图分类号: S963.16 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2003) S2-0210-04

斜带石斑鱼 *Epinephelus coioides* 属鲈形目 Perciformes、鲈亚目 Percoidae、鱼旨科 Serranidae、石斑鱼属 *Epinephelus*, 在海南、台湾、广东等省份俗称“青斑”, 属暖性岛礁鱼类, 广泛分布于我国东南沿海。石斑鱼作为海水养殖最名贵的经济鱼类, 具有病害少、生长快等优势, 是海水养殖业进行海洋生物高值化技术开发最理想的选择。由于对种苗需求越来越大, 而天然苗数量有限, 大部分靠进口每年花掉大量外汇, 市场需求缺口巨大; 人工育苗和成鱼养殖成为经济效益十分明显的高值化技术产业^[1-3]。

石斑鱼人工育苗饵料的开发具有重要意义, 而目前育苗的饵料主要是贝卵、轮虫、卤虫、桡足类或枝角类幼体和成虫, 辅助以肉糜和配合饲料^[1-3]。本研究对不同的饵料(微颗粒饲料, 用海水小球藻培养的生物饵料(L型、SS型褶皱臂尾轮虫 *Brachionus plicatilis*、卤虫 *Artemia* 和蒙古裸腹溞 *Moina mongolica*), 用小球藻培养后用胶囊强化剂强化的生物饵料)进行了营养分析, 并用其喂养斜带石斑鱼仔鱼后进行仔鱼生长情况和脂肪酸组成的比较, 以期对石斑鱼育苗提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 试验饵料

按照一定比例把原料酶解喷雾干燥得到粉末, 经重新粘合粉碎过筛得到各种规格大小的微颗粒饲料。实验所用的大、小褶皱臂尾轮虫、卤虫和蒙古裸腹溞来自广东省大亚湾水产实验中心, 均经过海水小球藻 *Marine Chlorella* sp. 培养(以下简称“非胶囊强化”), 部分经小球藻培养后在投喂前 16 h 用胶囊强化剂(含 DHA 50%; EHA 26%)强化(以下简称“胶囊强化”)。

1.2 试验仔鱼和饲养管理

本实验根据投喂饵料的不同分 3 个组(A: 微颗粒饲料+非强化的生物饵料; B: 非强化的生物饵料; C: 强化的生物饵料), 每个组 3 个平行。采用广东省大亚湾水产实验中心经过营养强化后自然产出的斜带石斑鱼卵(卵直径为 (0.938 ± 0.012) mm, 油球直径为 (0.206 ± 0.045) mm, 每颗卵的质量约为 0.5 mg), 经碘液消毒在微循环水中 23~24 h 即孵出, 暂养 48 h 后用密度估算法分苗入网, 每网 9 000 尾。所用天然海水经多级过滤, 盐度 34.0 ± 2.6 , 水温 $(25.3 \pm 2.5) ^\circ\text{C}$, pH 值 7.9~8.7,

^{*} 收稿日期: 2003-07-01

基金项目: 国家 863 资源与环境技术领域海洋生物技术课资助(2001AA621110)

作者简介: 王胜(1978年生), 男, 博士研究生; 通讯联系人: 刘永坚; E-mail: ls59@zsu.edu.cn

溶氧大于 5 mg/L, 氨氮小于 0.1 mg/L, 亚硝基氮约为 0.1 mg/L, 液面光照约为 480 lx, 保持微充气和流水。放养后前 4 d 不换水, 以后保持日新鲜海水交换 50%~100%。每天排水吸底后补充浓的小球藻液使之达每 mL 50 万~80 万个。生物饵料为每天 9:00、15:00 投喂, 微颗粒料自 8:30 始每隔 1.5 h 投喂 1 次, 共 6 次。

1.3 样品采集和分析

仔鱼饲养 25 d 后取样每网 20 尾, 逐条在 20 倍生物投影仪 (profile projector V-12B) 上测体长和体高, 用减量法在高精度微量电子天平 (感量 0.1 mg) 称得总体质量以求平均体质量。水分用 105℃ 常压干燥法, 粗蛋白用微量凯氏定氮法, 粗脂肪用索氏抽提仪, 灰分用 550℃ 灼烧灰化法。采用甲醇-氯仿 (体积比为 1:2) 提取脂质, 用岛津 GC-9A 气相色谱仪测定脂肪酸的百分含量。

2 实验结果

2.1 饵料物理性状观察

微颗粒饲料投喂 30 min 后仍有超过一半漂浮在海水面, 沉降速度 10 mm·s⁻¹, 12 h 内 90% 以上不溶散, 具有良好的稳定性。在小球藻供应充足

时, 可见轮虫游泳迅速, 肠道充满食物, 大多数个体的身上都挂有 1~2 个卵; 强化后的轮虫可见肠道充满油滴样物。裸腹蚤同样可观察到肠道充满食物。

2.2 饵料常规营养成分分析比较

从表 1 可以看出微颗粒饲料的粗蛋白含量比生物饵料高, 超过了 60%, 这与越小的鱼对蛋白质需要量越高是相适应的。3 种生物饵料的蛋白含量也都超过了 50%, 其中轮虫更是达到 58.48%。与生物饵料比, 微颗粒饲料的脂肪稍高, 灰分较低。用胶囊强化剂强化的生物饵料和只用小球藻培养的生物饵料在蛋白、脂肪、灰分含量上没有较大的差异。在总脂肪含量上, 胶囊强化剂强化后的轮虫比只用小球藻培养的稍低。

2.3 仔鱼成活以及生长情况比较

本实验仔鱼由于受到水环境、遗传等各种因素的影响, 总体的成活率均不高, 其中的 C 组最高 (表 2)。在生长方面, 口径、体长、全长、肛前距、体重等指标都显示 C 组均较 A、B 组为好, 并且和其他两组有显著性的差异。C 组的个体较大, 没有出现脊椎弯曲等畸形的现象。而其他组均有个别表现为较瘦弱单薄, 个别出现鳍条短小等不正常现象。

表 1 试验饵料组成及常规营养成分

Tab. 1 The composition and approximate analysis of experiment diets %

营养组成	微颗粒饲料	非胶囊强化			胶囊强化		
		轮虫	卤虫	裸腹蚤	轮虫	卤虫	裸腹蚤
水分	7.29	86.26	85.93	92.06	86.07	83.21	91.77
蛋白	65.57	58.48	54.38	50.01	58.52	54.46	50.11
脂肪	20.50	11.29	17.27	21.60	10.91	18.99	23.20
灰份	5.81	16.78	15.51	16.17	16.85	15.61	16.29

表 2 不同饵料处理组的仔鱼生长情况¹⁾

Tab. 2 Growth of larval grouper fed with different diets (n = 60)

组别	A	B	C
口径/mm	0.76±0.12 ^b	0.69±0.10 ^b	1.06±0.09 ^a
体长/mm	5.43±0.30 ^b	5.26±0.28 ^b	6.22±0.19 ^a
全长/mm	6.41±0.12 ^b	6.22±0.25 ^b	7.16±0.22 ^a
肛前距/mm	3.34±0.11 ^b	3.31±0.14 ^b	3.66±0.11 ^a
湿质量/mg	3.31	3.16	4.86

1) 数据为 60 个测量值的平均数±标准差 (湿体质量为 60 尾仔鱼总质量/60)。同行各数据后肩标字母不同表示有显著性差异 (P<0.05)

2.4 饵料以及仔鱼鱼体脂肪酸组成分析

从表 4 可以看到, 用海水小球藻培养后无论是否经过胶囊强化剂强化, 生物饵料的饱和脂肪酸含

量排序均为裸腹蚤>轮虫>卤虫, 单不饱和脂肪酸为卤虫>轮虫>裸腹蚤, 多不饱和脂肪酸为轮虫>裸腹蚤>卤虫。相对于轮虫和裸腹蚤, 卤虫有较高的油酸 (18:1)、亚油酸 (18:3n-3) 和亚麻酸 (18:2n-6)。用海水小球藻培养而未经胶囊强化剂强化的大、小褶皱臂尾轮虫、卤虫和蒙古裸腹蚤都含有较丰富的 EPA, 但严重缺乏 DHA。而经过胶囊强化剂强化后的 3 种饵料 DHA 含量均有较大幅度的提高, 其中裸腹蚤的最高 (14.6%)。胶囊强化剂强化组中, 轮虫和卤虫的 n-3PUFA 含量均比小球藻组高; 裸腹蚤的 n-3PUFA 含量稍有下降, 伴随着 EPA 的较大下降, DHA 升幅较大。用胶囊强化剂强化饵料培养出的仔鱼体内 n-3PUFA 含量最高, 尤其是 DHA 含量明显的高出其他组很多倍。

表3 微颗粒饲料、生物饵料和仔鱼鱼体脂肪酸组成
Tah 3 Fatty acid compositions of the experimental diets and larvae's whole body

项目	微颗粒料	轮虫	卤虫	裸腹溞	轮虫 en	卤虫 en	裸腹溞 en	仔鱼 A	仔鱼 B	仔鱼 C
SFA	31.5	25.0	20.9	34.7	25.0	20.9	37.6	40.1	36.1	33.1
MUFA	43.0	30.5	51.9	28.2	28.0	50.5	30.2	31.7	29.9	22.1
20:5n-3(EPA)	2.3	24.2	13.8	26.4	19.4	14.7	5.6	8.1	8.7	9.6
22:6n-3(DHA)	2.3	0.2	0.2	0.2	7.7	3.6	14.6	0.7	0.2	16.2
n-3PUFA	5.6	25.3	16.6	26.7	27.5	20.8	21.1	11.3	10.6	26.9
20:4n-6(AA)	3.5	4.4	2.4	4.0	3.8	2.3	2.1	4.2	4.4	3.4
n-6PUFA	17.3	17.0	7.8	7.2	18.9	6.9	9.5	14.0	15.0	11.8
PUFA	22.6	42.3	24.4	33.9	46.4	27.7	30.6	25.3	25.6	38.7
DHA/EPA	0.87	0.01	0.01	0.01	0.40	0.24	2.61	0.09	17.5	1.69
EPA/AA	0.66	5.50	5.75	6.60	5.11	6.39	2.67	1.93	14.9	2.82
Total FA	20.5	11.29	17.27	21.6	10.91	18.99	22.2	—	—	—
n-3/ diet	0.26	2.24	0.96	1.24	2.52	1.10	0.95	—	—	—

1) en 表示强化; tr 表示微量

3 讨论

相对于生物饵料和仔鱼全鱼组成,微颗粒饲料的脂肪含量稍高,灰分含量较低。而生物饵料的脂肪和灰分水平都与鱼体组成较为相似。本文条件下(供以海水小球藻培养和培养后用胶囊强化剂强化两种)的褶皱臂尾轮虫和蒙古裸腹溞的粗脂肪含量比国内一些文献,董圣英^[4],所报道的稍高,而与watanabe^[5]于1994年报道的较为接近,这除了可能与种属特异性的原因外,还可能与不同的培养条件有关^[4]。

从本实验的轮虫挂卵情况和肠道食物的充塞度可知,小球藻培养的轮虫和胶囊强化剂强化的轮虫均具有较好的强化效果。Yngvar 等^[9]指出轮虫在被鱼油强化了20—30 min 时 n-3HUFA 主要靠肠道积累后被吸收入组织中;而裸腹溞则利用肠道为载体短期积累脂肪酸,少量源于油粒在体表的附着。王吉桥^[7]也认为强化活饵料的实质是利用活饵料身体携带、消化道充塞和体内合成与转化等方式来提供必需脂肪酸。本实验同样观察到油滴样物在轮虫、裸腹溞肠道内的存在,同时三种生物饵料的DHA含量在胶囊强化剂强化组中均比非胶囊强化剂强化组高出许多,尤其是裸腹溞特高的事实也可作一侧证。

生物的脂肪酸组成在很大程度上取决于生物本身的吸收和合成能力^[4]。裸腹溞和卤虫的幼体等其他甲壳类合成EPA的能力远高于轮虫^[8]。Watanabe 等^[8]的研究结果表明,海水小球藻的脂肪中含有较丰富的EPA,占总脂的24.8%~31.8%,但缺乏DHA。本实验用海水小球藻强化而未经胶囊强化剂强化的轮虫和裸腹溞的EPA含量很高,但DHA含量都很低,几乎检测不出来,这与Watanabe^[9]的研

究结果是一致的。近年Furuita^[10]研究表明,作为EFA,DHA的作用优于EPA,而EPA在鱼体内几乎不能转变为DHA;因此小球藻组微量的DHA含量会造成仔鱼体内的DHA含量低下,从而导致鱼体出现发育不正常现象。在海水鱼细胞膜的磷脂中含有大量的DHA和EPA,仔鱼饵料中缺乏DHA将导致神经和视觉的发育不良^[11]。Watanabe^[12]发现用缺乏DHA的轮虫投喂真鲷稚鱼会导致鱼体脊椎侧突。

亚油酸(18:2n-6)、花生四烯酸(20:4n-6)等n-6系列HUFA,十八碳三烯酸(18:3n-3)、二十碳五烯酸(EPA,20:5n-3)及二十二碳六烯酸(22:6n-3)等n-3系列HUFA是海水仔稚鱼的必需脂肪酸,因其不能自身合成,只能从外界饵料中摄取得到^[13]。Kanazawa 等(1989)对电鳗和鲷、Takeuchi 等(1990)对真鲷、Watanabe 等(1993)对鲷、Rodriguez 等(1997)对金头鲷等的研究均证实,DHA能够较好地促进仔稚鱼生长并提高其成活率。Gapasin 等^[14]用DHA强化的卤虫喂遮目鱼仔鱼的成活率高、畸形率低。本实验中非胶囊强化剂强化组的鱼体DHA含量低,成活率低,生长也远比不上强化组,这就更好地证明了饵料中充足的DHA能够较好的促进仔鱼生长并提高成活率;饵料中DHA、EPA含量与鱼体内的DHA、EPA含量有一定的正相关对应关系,同时说明了EPA、DHA是石斑鱼仔鱼的必需脂肪酸,需要从外界摄取,且受到饵料脂肪酸组成的较大影响。国外研究指出^[9],n-3、n-6系列HUFA的数量和种类直接影响着海水仔稚鱼的生长和存活率,其中由于大部分海水鱼体内缺乏C₂₀延长酶和Δ⁵去饱和酶^[15],而不能把短链脂肪酸延长和去饱和生成二十二碳六烯酸(DHA)和二十碳五烯酸(EPA),使得二者变得尤为重要。对此,Sargent^[16]曾总结指出,即使EPA能转化为DHA,饵料中高含量的亚麻酸(18:3n-3)竞争性

地抑制 EPA 向 DHA 的转变, 而仔鱼生长期对 DHA 含量有较高的要求, 这就使得在饲料中强化 DHA 变得十分必要。因此在生物饵料投喂给石斑鱼仔鱼前应当进行营养的强化, 尤其是使用 DHA 含量较高的强化剂是很有必要的。

参考文献:

- [1] LUO I CH, SU H M, CHANG E Y. Techniques in finfish larviculture in Taiwan [J] . Aquac, 2001, 200: 1—33.
- [2] PLANAS M, CUNHA I. Larviculture of marine fish: problems and perspectives [J] . Aquac, 1999(177): 171—190.
- [3] DURAY M N, ESTUDILLO C B, ALPASAN L G. Larval rearing of the grouper *Epinephelus stillus* under laboratory conditions [J] . Aquac, 1997, 44: 63—76.
- [4] 童圣英, 姜宏, 陈炜. 不同培养条件下蒙古裸腹鲈脂肪酸组成比较 [J] . 中国水产科学, 1998, 5(3): 58—63.
- [5] WATANABE T, KIVON V. Prospects in larval fish dietetics [J] . Aquac, 1994, 124: 223—251.
- [6] YNGVAR O. et al. Kinetics of n-3 fatty acids in *Brachionus plicatilis* an changes in food supply [J] . Hydrobiologia. 1989, 186/187: 409—413.
- [7] 王吉桥, 张欣, 刘革利. 海水鱼类必需脂肪酸营养与需要的研究进展 [J] . 水产科学, 2001, 20(5): 39—43.
- [8] WATANABE T, KITAJIMA C, FUJITA S. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review [J] . Aquac, 1983, 34: 115—143.
- [9] REITAN K L, RAINUZZO J R, Olsen Y. Influence of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae [J] . Aquac Int, 1994, 2: 33—48.
- [10] FURUITA H, TAKEUCHI T, UEMATES K. Effects of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on growth, survival and brain development of larval *Japanese flounder* (*paralichthys olivaceus*) [J] . Aquac, 1998, 161: 269—279.
- [11] TOCHER G R, HARVIE D G. Fatty acid composition of the major phosphoglycerides from fish neural tissues: (n-3) and (n-6) polyunsaturated fatty acid in rainbow trout and cod brains and retinas [J] . Fish Physiol Biochem, 1998, 5: 229—239.
- [12] WATANABE T. Lipid nutrition in fish [J] . Comp Biochem Physiol, 1982, 73B: 3—15.
- [13] BORLONGAN I G. The essential fatty acid requirement of milkfish [J] . Fish Physiol Biochem, 1992, (9): 401—407.
- [14] GAPASIN R S J, DURAY M N. Effect of DHA-enriched live food on growth survival and incidence of opercular deformities in milkfish [J] . Aquac, 2001, 193: 49—63.
- [15] CASTELL J D, BELL J G, TOCHER D R, et al. Effects of purified diets on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J] . Aquac, 1994, 128: 315—333.
- [16] SARGENT J R, BELL G. Recent development in the essential fatty acid nutrition of fish [J] . Aquac, 1999, 177: 191—199.

Nutritional Analysis of Different Diets and Effect of Diets on Growth and Fatty Acid Composition in Larval Grouper *Epinephelus coioides*

WANG Sheng¹, LIU Yongjian¹, TIAN Lixia¹, ZHEN Wenhui²,

Cao Junming³, LIUFU Yongzhong³, DU Zhenyu¹, LIANG Guiying¹, XIAOI Weiping¹

(1. Institute of Aquatic Economic Animal and Key Lab of GD for Improved Variety Reproduction of

Aquatic Economic Animals, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Center of Molecular Inspection of Medicine, Sun Yat sen University, Guangzhou 510089, China;

3. Guangdong Academy of Agriculture Sciences, Guangzhou 510640, China;

4. Guangdong Daya Bay Fishery Development Center, Huizhou 516081, China)

Abstract: From hatching to post hatched day 25, larval groupers were fed with different diets, including microdiet and the biodiets strengthened with marine *Chlorella* sp. or nutritional capsule fortifier. After that, they were sampled for measuring the weight, length of body and analysis of fatty acid of the whole body. The result showed that the biodiets cultured with *Chlorella* sp. were affluent in EPA but poor in DHA, which depressed the growth, survival and the DHA content of the larvae; whereas, the biodiets strengthened with nutritional capsule fortifier were increased in DHA content and improved those. It were also suggested that DHA could not be synthesized by the larvae grouper but it made an important role in its growth and survival.

Key words: larval *Epinephelus coioides*; diet; nutritional analysis; growth; fatty acid