

# 实验微粒饲料中廿碳五烯酸(EPA)与廿碳四烯酸(AA)的比例对牙鲆仔稚鱼生长、存活的影响

刘镜恪<sup>1</sup>, 陈晓琳<sup>1,2</sup>, 徐世宏<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

**摘要:** 制备了4种n-3系列高度不饱和脂肪酸(n-3HUFA)含量相等, 廿二碳六烯酸(DHA)含量相等, 廿碳五烯酸(EPA)含量亦相等, 廿碳五烯酸与廿碳四烯酸(AA)的比例分别为5/1, 2/1, 1/1和0.4/1的实验微粒饲料。探讨了EPA与AA的不同比例对牙鲆仔稚鱼生长、存活、体内相关成分以及对外部压力耐受性的影响。26 d的养殖试验结果表明, 当牙鲆仔稚鱼实验微粒饲料中EPA与AA的比例为2/1时, 牙鲆仔稚鱼的生长、存活达到最佳。因此, 在该试验条件下, 牙鲆仔稚鱼实验微粒饲料中EPA与AA的最佳比例为2/1。养殖试验结束后, 4组试验稚鱼体内脂肪酸的分析测定结果表明, 稚鱼体内AA的含量, 随着微粒饲料中AA含量的增高而增大。

**关键词:** 实验微粒饲料; 廿碳五烯酸(EPA); 廿碳四烯酸(AA); EPA与AA的比例; 牙鲆仔稚鱼

中图分类号: Q493 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)10-0040-04

继藻、虾、贝养殖高潮之后, 海鱼养殖高潮正在我国兴起。目前, 我国养殖的名贵海鱼, 如真鲷、黑鲷、牙鲆等, 其生产性育苗, 因在仔稚鱼阶段容易发生大量死亡, 成活率一般低于20%。尽快提高海鱼育苗的成活率, 确保优质种苗的供给, 是发展我国海鱼养殖急需解决的关键问题之一。仔稚鱼从吸收卵黄内源营养转变为摄取人工培养的浮游动物或人工微粒饲料等外源营养后, 某些营养物质的缺乏、不足是导致仔稚鱼大量死亡的一个重要原因。20世纪80到90年代, 海鱼必需脂肪酸的营养研究主要集中于饲料中n-3系列高度不饱和脂肪酸(n-3HUFA)的适宜含量及廿二碳六烯酸(DHA)和廿碳五烯酸(EPA)的最佳比例<sup>[1-6]</sup>, 忽视了脂类营养的综合性和平衡性。国外近年的研究证实, n-6系列高度不饱和脂肪酸(n-6HUFA)同n-3HUFA一样, 也是海水仔稚鱼的必需脂肪酸, 其中以廿碳四烯酸(AA, 20:4n-6)尤为重要。现在人们认识到, 考虑海水仔稚鱼的脂类营养作用不仅应考虑海水仔稚鱼对DHA、EPA和AA这3种必需脂肪酸的需要量, 这三者的比例及高度不饱和脂肪酸(HUFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)、饱和脂肪酸(STA)之间的适宜比例同样重要<sup>[7]</sup>。

类二十烷酸是一系列高活性的二十碳复合物, 在体内的各个组织中合成的数量很少, 却在各种生理功能中发挥重要作用。鱼类同哺乳动物一样, 其类二十烷酸的主要前体物是AA和EPA, 由EPA产生

的类二十烷酸的生理活性比由AA产生的类二十烷酸的生理活性弱, 并与AA产生的类二十烷酸进行竞争。因此, 体内类二十烷酸的作用就取决于AA与EPA的比例。研究表明, 海水仔稚鱼微粒饲料中DHA、EPA和AA的最佳比例因海鱼种类的不同而不同。本研究进一步以牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)仔稚鱼为对象, 探讨实验微粒饲料中EPA与AA的比例对牙鲆仔稚鱼生长、存活的影响, 为微粒饲料中各种脂肪酸的添加提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 4种实验微粒饲料的制备

参考日本东京水产大学和西班牙Las Palmas大学研制的微粒饲料配方及实验室制备程序, 制备了n-3HUFA含量相等, DHA含量相等, EPA含量亦相等, EPA与AA的比例分别为5/1, 2/1, 1/1, 0.4/1的4种实验微粒饲料。4种实验微粒饲料的组成为: 特种鱼粉74%、混合油10%、复合维生素5.4%、复合

收稿日期: 2005-06-21; 修回日期: 2005-07-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371114)

作者简介: 刘镜恪(1946-), 男, 山东高密人, 研究员, 主要从事海水动物营养研究, E-mail: liujk@ms.qdio.ac.cn

矿物质 4. 5%、诱食剂 3. 0%、粘合剂 3. 1%。其中 10% 的混合油由相同含量的鱼油、不同含量的 AA 油和大豆油组成, AA 油由武汉烯王生物工程有限公司提供, 含量为 79. 64%。

具体制备程序如下: (1) 制备 5 种预混料, 分别为油的预混料、水溶性维生素预混料(不含维生素 C)、脂溶性维生素预混料、诱食剂预混料、矿物质预混料, 低温保存备用。(2) 将诱食剂预混料、矿物质预混料与特种鱼粉混合, 搅拌均匀。(3) 向(2)中所得的混合物中加入维生素 C, 搅拌均匀。(4) 向(3)中所得的混合物中加入含有抗氧喹、脂溶性维生素的油的预混料, 搅拌均匀。(5) 向(4)中所得的混合物中加入粘合剂, 制成条状饲料。(6) 将条状饲料放入温度维持在 38~ 40℃ 之间的烘箱内烘干。(7) 将烘干的条状饲料用超微粉碎机粉碎成微粒饲料。(8) 将微粒饲料过样品筛, 筛选出 150、250 和 350 μm 3 种粒度的微粒饲料。

1.2 4 组仔稚鱼的培育

同批亲鱼一次性牙鲆受精卵取自青岛市黄岛区连三岛海珍品苗种繁殖中心, 试验仔鱼分为 4 组, 每组 2 缸, 每缸加入过滤海水约 60 L, 各放置仔鱼 200 尾, 鱼缸是由玻璃钢材料制成的直径为 0. 4 m、高 0. 6 m 的圆柱体。育苗用水经室外蓄水池沉淀, 二级砂滤池过滤, 进育苗缸前再经滤袋过滤, 用遮光黑塑料布调节光照, 避免阳光直射和夜晚灯光照射。试验开始前, 另取同批仔鱼 40 尾, 测量其全长, 平均全长为 4~ 5 mm。仔鱼孵化后第 10 天开始投喂 4 种实验微粒饲料。试验开始于 2005 年 5 月 24 日, 结束于同年 6 月 18 日, 历时 26 d。试验期间, 水温为 17. 5~ 21. 5℃,

海水 pH 为 8. 2~ 8. 3, 盐度为 33, 每个缸内各放置一个气石, 连续充气, 每日每缸换水 1/2~ 4/5, 并及时清除缸底污物和缸壁残饵。为提高仔鱼的成活率, 根据国外的惯例, 每天 13: 00 和 17: 00 向仔鱼缸内各添加一次单胞藻培养的轮虫(或卤虫), 添加后缸内轮虫(或卤虫)的密度约为 2 个/mL。

1.3 活力测试

养殖试验结束后, 进行两个活力测试试验来检测稚鱼对外部压力的耐受性。

缺氧测试: 用鱼网从每个试验组中随机取出稚鱼 20 尾, 共 4 组, 分别在室温为 23℃ 的空气中暴露 20 s 后, 置于 4 个充氧的盛有 30 L 过滤海水的养殖容器中, 24 h 后计算成活率。

高盐度测试: 用鱼网从每个试验组中随机取出稚鱼 20 尾, 共 4 组, 分别置于 4 个盐度均为 46、充氧的盛有 30 L 过滤海水的养殖容器中, 24 h 后计算成活率。

1.4 稚鱼体内各种脂肪酸的化学分析

养殖试验结束后, 4 组稚鱼体内各种脂肪酸在总脂肪酸中的百分含量由中国海洋大学药物研究所采用气相色谱法进行分析测定。

2 结果

2.1 实验微粒饲料中 EPA 与 AA 的不同比例对牙鲆仔稚鱼生长、存活的影响

26 d 的养殖试验结束后, 有关试验结果详见表 1、图 1 和图 2。

表 1 养殖试验结束后 4 组试验稚鱼的全长及成活率

Tab. 1 Final total length and survival rate of larvae in group 1-4

| 试验组 | EPA 与 AA 的比例 | 试验缸 | 平均全长 (mm)    | 成活率 (%) | 平均成活率 (%)    |
|-----|--------------|-----|--------------|---------|--------------|
| 1   | 5/1          | 1A  | 12. 58±1. 83 | 21. 00  | 24. 75±3. 75 |
|     |              | 1B  |              | 28. 50  |              |
| 2   | 2/1          | 2A  | 14. 83±1. 96 | 40. 00  | 45. 75±5. 75 |
|     |              | 2B  |              | 51. 50  |              |
| 3   | 1/1          | 3A  | 14. 42±1. 79 | 36. 50  | 31. 75±4. 75 |
|     |              | 3B  |              | 27. 00  |              |
| 4   | 0. 4/1       | 4A  | 13. 08±1. 99 | 26. 60  | 28. 80±2. 2  |
|     |              | 4B  |              | 31. 00  |              |

注: 试验仔鱼 200 尾/缸, 初始平均全长 4~ 5 mm。

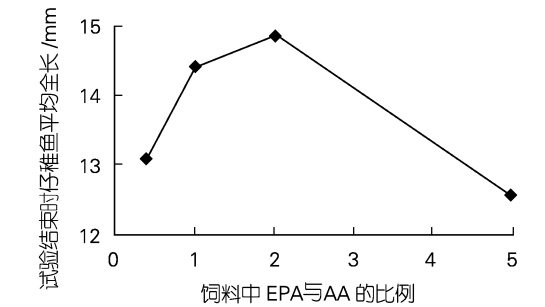


图 1 饲料中 EPA 与 AA 的不同比例对牙鲆仔稚鱼平均全长的影响  
 Fig.1 Effects of different ratios of EPA/AA in microdiets on the mean total length of Japanese flounder larvae

2.2 4 组试验稚鱼体内各种脂肪酸的化学分析

表 2 稚鱼体内各种脂肪酸在总脂肪酸中的质量分数  
 Tab.2 Contents of each fatty acid of total fatty acids in larvae

| 脂肪酸     | 质量分数  |       |       |       |
|---------|-------|-------|-------|-------|
|         | 试验组 1 | 试验组 2 | 试验组 3 | 试验组 4 |
| 14:0    | 0.94  | 1.03  | 1.01  | 1.00  |
| 16:0    | 16.83 | 15.79 | 17.84 | 14.89 |
| 16:1n-7 | 4.14  | 4.35  | 5.43  | 4.08  |
| 18:0    | 10.74 | 10.55 | 10.08 | 9.69  |
| 18:1n-9 | 33.84 | 31.13 | 29.91 | 28.10 |
| 18:2n-6 | 6.10  | 6.00  | 5.81  | 6.03  |
| 20:4n-6 | 6.39  | 7.09  | 7.15  | 7.46  |
| 20:5n-3 | 3.52  | 4.20  | 4.35  | 4.55  |
| 22:6n-3 | 1.16  | 1.47  | 1.76  | 1.02  |

2.3 4 组试验稚鱼的活力测试

养殖试验结束后,进行了 4 组试验稚鱼的活力测试,结果列于表 3。

表 3 活力测试后稚鱼的成活率  
 Tab.3 Survival rate of larvae after the“ activity test”

| 测试类型  | 试验组 | 初始稚鱼尾数 | 结束稚鱼尾数 | 成活率(%) |
|-------|-----|--------|--------|--------|
| 缺氧测试  | 1   | 20     | 19     | 95     |
|       | 2   | 20     | 19     | 95     |
|       | 3   | 20     | 18     | 90     |
|       | 4   | 20     | 19     | 95     |
| 高盐度测试 | 1   | 20     | 17     | 85     |
|       | 2   | 20     | 15     | 75     |
|       | 3   | 20     | 15     | 75     |
|       | 4   | 20     | 16     | 80     |

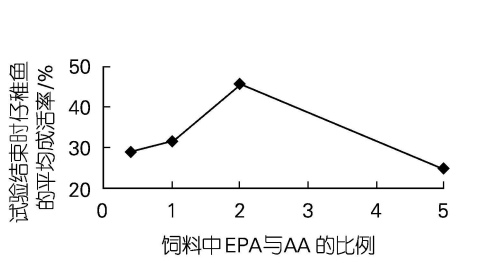


图 2 饲料中 EPA 与 AA 的不同比例对牙鲆仔稚鱼平均成活率的影响  
 Fig.2 Effects of different ratios of EPA/DHA in microdiets on the mean survival rate of Japanese flounder larvae

养殖试验结束后,采用气相色谱法对 4 组试验稚鱼体内的各种脂肪酸进行分析测定,结果列于表 2。

在表 1 中, 试验组 2( 饲料 2 中 EPA 与 AA 的比例为 2/1) 仔稚鱼的平均全长( 14. 83 mm) 和平均成活率( 45. 75%) 高于其它 3 组仔稚鱼的平均全长( 分别为 12. 59, 14. 42 和 13. 08 mm) 和平均成活率( 分别为 24. 75%, 31. 75% 和 28. 80%)。试验组 3( 饲料 3 中 EPA 与 AA 的比例为 1/1) 和试验组 4( 饲料 4 中 EPA 与 AA 的比例为 0. 4/1) 仔稚鱼的平均全长( 分别为 14. 42 和 13. 08 mm) 和平均成活率( 分别为 31. 75% 和 28. 80%) 明显高于试验组 1( 饲料 1 中 EPA 与 AA 的比例为 5/1) 仔稚鱼的平均全长( 12. 59 mm) 和平均成活率( 24. 75%)。结果表明, 当饲料中 EPA 与 AA 的比例为 2/1 时, 试验结束时仔稚鱼的平均全长和平均成活率达到最大值。

在表 2 中, 从试验组 1 到试验组 4, 试验组稚鱼体内的 AA 随着微粒饲料中 AA 的增加而增大( 分别为 6. 39%, 7. 09%, 7. 15% 和 7. 46%)。

在表 3 中, 缺氧测试和高盐度测试的结果是各个试验组中稚鱼的成活率没有明显差异, 这表明各个试验组中稚鱼对外界压力的耐受性没有明显不同。

### 3 讨论

Sargent 等<sup>[8]</sup> 研究发现欧洲尖吻鲈( *Dicentrarchus labrax* ) 仔稚鱼的饲料中 DHA 与 EPA 的最佳比例为 2/1, 并且 EPA 与 AA 的最佳比例大约为 1/1。大菱鲆( *Scophthalmus maximus* ) 仔稚鱼饲料中 DHA 与 EPA 的最佳比例大约为 2/1, 但是 EPA 与 AA 的比例是 10/1, 甚至更大一些。迄今, 大菱鲆仔稚鱼的育苗, 使用天然金枪鱼油强化活饵料, 因其 DHA, EPA 和 AA 的含量与配比适宜, 仔稚鱼在生长、成活率、色素沉着及变态等方面, 均可获得令人满意的效果, 但是, 这些试验结果并不能代表所有的海鱼。

本研究以牙鲆仔稚鱼为研究对象, 进一步探讨了微粒饲料中 EPA 与 AA 的不同比例对仔稚鱼生长、存活的影响。26 d 的养殖试验结果表明: 在该试验条件下, 当牙鲆仔稚鱼实验微粒饲料中 EPA 与 AA 的比例为 2/1 时, 牙鲆仔稚鱼的生长和存活达到最佳。因此, 在该试验条件下, 牙鲆仔稚鱼微粒饲料中 EPA 与 AA 的最佳比例为 2/1。养殖试验结束后, 对牙鲆稚鱼活力测试的结果表明, 实验微粒饲料

中 EPA 与 AA 的不同比例没有明显影响牙鲆仔稚鱼对外界压力的耐受性。养殖试验结束后, 4 组试验稚鱼体内脂肪酸的分析测定结果表明, 稚鱼体内的 AA, 随着微粒饲料中 AA 的增加而增大。本研究采用微粒饲料法, 探明了 EPA 与 AA 的不同比例对牙鲆仔稚鱼生长、存活、体内相关成分及对外界压力耐受性的影响, 为微粒饲料中各种脂肪酸的添加提供科学依据。并为我国海鱼微粒饲料的研制、生产, 奠定相关的科学基础, 提供重要的理论依据。

### 参考文献:

- [1] Brinkmeyer R L, Holt G J. Highly unsaturated fatty acids in diets for red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae [J]. *Aquaculture*, 1998, 161: 253– 268.
- [2] Castell J D, Bell J G, Tocher D R, *et al.* Effects of purified docosahexaenoic acid on survival, growth and fatty acid composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Aquaculture*, 1994, 128: 315– 333.
- [3] Dhert Ph, Lavens P, Sorgeloos P. A simple test for quality evaluation of culture fry of marine fish [J]. *Med Fac Landbouww Univ Gent*, 1993, 57 (4b): 2 135– 2 142.
- [4] Izquierdo M S, Watanabe T, Takeuchi T, *et al.* Requirement of larval red seabream *Pagrus major* for essential fatty acids [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1989, 55(5): 859– 867.
- [5] Koven W M, Tandler A, Kissil G W, *et al.* The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larvae [J]. *Aquaculture*, 1990, 91: 131– 141.
- [6] Salhi M, Izquierdo M S, Hernandez-Cruz C M, *et al.* Effect of lipid and n-3HUFA levels in microdiets on growth, survival and fatty acid composition of larval gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. *Aquaculture*, 1994, 124: 275– 282.
- [7] 王吉桥, 张欣, 刘革利. 海水鱼类必需脂肪酸的营养与需要的研究进展 [J]. *水产科学*, 2001, 20(5): 39– 43.
- [8] Sargent J R, Bell G, McEvoy L, *et al.* Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish [J]. *Aquaculture*, 1999, 177: 191– 199.

(下转第 53 页)

# Effects of different EPA/ AA ratios in experimental microdiets on growth and survival of Japanese flounder larvae

LIU Jing-ke<sup>1</sup>, CHEN Xiao-lin<sup>1,2</sup>, XU Shi-hong<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Received:** Jun., 21, 2005

**Key words:** experimental microdiets; EPA; AA; EPA/AA; Japanese flounder larvae

**Abstract:** A feeding experiment was conducted to investigate the effects of different ratios of EPA/ AA in experimental microdiets on the growth, survival, body composition and tolerance to different stresses of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae. Four kinds of experimental microdiets at four ratios of EPA/ AA (5/1, 2/1, 1/1 and 0.4/1), with the same contents of n-3HUFA, DHA and EPA, were prepared. The results of 26-day feeding experiment indicated that the growth and survival of Japanese flounder larvae were optimal when the ratio of EPA/ AA in experimental microdiet was 2/1. After the experiment, we analyzed fatty acids in bodies of larvae. The results showed that the content of AA in bodies of larvae increased with that in microdiets.

(本文编辑: 刘珊珊)