

濃縮擬球藻作為輪蟲餌藻之評估

蘇惠美^{1*} · 王淑欣¹ · 莫瑞修² · 陳紫嫻¹

¹行政院農業委員會水產試驗所東港生技研究中心

²國立屏東科技大學熱帶農業暨國際合作系

摘 要

本研究探討戶外大量培養的擬球藻，以連續式離心機濃縮，在冰箱冷藏室儲藏後作為輪蟲餌料的效益。試管中移入濃縮藻或鮮藻，以及極小型輪蟲或小型輪蟲，當藻水澄清時，計數帶卵與未帶卵輪蟲數。從三種增殖特性：輪蟲總數、增殖率與其帶卵比例，比較冷藏期、保鮮劑、餌藻型態、光暗及輪蟲株別等因子的主效應與交感效應。結果顯示，濃縮擬球藻在冰箱冷藏 120 天，作為泰國株極小型輪蟲的餌料效益與鮮藻無差異，添加維生素 C 的效益不顯著。高濃度的藻細胞，可使極小型輪蟲的密度高達 3000 隻/ml 以上。在相同濃度下，斐濟株極小型輪蟲及 A 株小型輪蟲的增值，顯現濃縮藻優於鮮藻；但 C 株小型輪蟲的增值，卻顯現鮮藻優於濃縮藻，其他則未見顯著差異。照光下小型輪蟲的增值優於全暗，但極小型輪蟲則未見差異。極小型輪蟲三株間增殖差異不顯著，然小型輪蟲之 C 株則顯著優於其他二株。餌藻與光的交感效應，在台灣株極小型輪蟲，顯現濃縮藻與暗之組合較佳，但 C 株小型輪蟲，則以濃縮藻與光之組合較佳。綜論之，冷藏濃縮擬球藻作為二種輪蟲之餌料效益與鮮藻無差異，但輪蟲之增殖會因帶卵率、株別及種別有不同。

關鍵字：擬球藻、濃縮藻、輪蟲增殖、小型輪蟲、極小型輪蟲

前 言

藻類一方面可作為輪蟲、橈足類與豐年蝦的食物，藉由這些生物攜帶者將藻體之多元不飽和脂肪酸 (HUFA)、葉黃素 / 蝦紅素 (lutein/astaxanthin) 等色素帶入魚體；另一方面可添加於魚苗池，具有遮蔽、維持動物餌料的營養、提供藻細胞維生素等有如環境益生菌 (probiotic) 的功能 (Lavens and Sorgeloos, 1996)。因此育苗池中加入藻水，可以提高魚苗之生長與存活 (Liao *et al.*, 2001; Su *et al.*, 2008)。然而，微藻的生產不僅需有養殖設施，操作過程繁瑣且有技術面的限制 (養殖期間供應不能間斷) (Fulks and Main, 1991; 蘇, 1999, 2007)。歐洲工廠化生產海水魚苗，常有專人負責餌料生物 (包括微藻) 的生產，並與育苗

人員密切配合。利用自然光養殖微藻，可以降低生產成本，但易受天候影響，且養殖藻的生化組成也會有季節變化 (Lubzens *et al.*, 1995)。因此開發微藻濃縮與貯存技術，可在適合優質藻成長的季節大量生產並儲存，如此可減輕對鮮藻的依賴，並確保以營養豐富的輪蟲來餵養魚苗。

極小型輪蟲 (*Brachionus rotundiformis*) 及小型輪蟲 (*B. ibericus*) 為石斑魚苗開口初期及後續投餵的餌料生物 (Fukunaga *et al.*, 1990; Su, *et al.*, 1997; 土橋, 2004; 蘇, 2007; Kawabe and Kimura, 2007)。使用凍結藻或乾燥藻粉來培育輪蟲，其增殖率均低於以鮮藻為餌者 (Lubzens *et al.*, 1995; Hoff and Snell, 1997)。使用濃縮淡水綠藻 (*Chlorella*) 可高密度培養輪蟲 (Yoshimura *et al.*, 2003)，大大降低魚苗業者培養輪蟲所需的空間、時間及人力。但淡水綠藻不含高度不飽和脂肪酸，必須再經營養強化才能將輪蟲投餵魚苗，且濃縮淡水綠藻的冷藏儲存期限僅 30 天 (台灣販售商資料)。

*通訊作者 / 屏東縣東港鎮豐漁里 67 號, TEL: (08) 832-4121; FAX: (02) 832-0234; E-mail: hmsu@mail.tfrin.gov.tw

擬球藻 (*Nannochloropsis oculata*) 富含二十碳五烯酸(EPA)之高度不飽和脂肪酸(HUFA, highly unsaturated fatty acid), 因此本研究改以冷藏儲存的濃縮擬球藻養殖極小型輪蟲及小型輪蟲。本研究極小型輪蟲顯示戶外養殖的擬球藻經離心濃縮, 探討其培養成效, 以及其與鮮藻的差異。

材料與方法

一、濃縮擬球藻製備

擬球藻藻種於 1986 年自日本引入後, 在本研究室保存迄今。2006 年在戶外以圓柱型鐵框內置塑膠袋養殖擬球藻, 養殖水量 130 L。利用半連續式養殖法每 3 ~ 4 天收穫部分水體, 或以批次式養殖法每 7 ~ 8 天全槽收穫。收穫時擬球藻細胞濃度為 30 ~ 60 × 1,000,000 cells/ml, 以連續式離心機 (A.M.L. Industries, Inc Lavin Centrifuge 12-413V) 濃縮 20 ~ 30 倍, 取得濃縮藻泥, 再以 KUBOTA 5800 冷凍離心機濃縮成藻膏。藻膏置於 PC 瓶, 添加維生素 C 或無添加, 儲存於冰箱冷藏室備用, 冷藏室溫度為 6.9 ± 0.5 °C (n = 36)。

二、輪蟲種原

臺灣魚塢自然滋生的輪蟲, 依其被甲形態及大小分有 3 型 (蘇等, 1994); 最近的研究 (Kotani *et al.*, 2005; Papakostas *et al.*, 2006) 則指出輪蟲有 3 種, 大型 (L) 者學名為 *B. plicatilis*、小型 (S) 為 *B. ibericus*、極小型 (SS) 為 *B. rotundiformis*。本研究使用的小型輪蟲有 3 株, 分別於 1991 及 1993 年自台灣的魚塢中分離; 極小型輪蟲也有 3 株, 包括台灣魚塢分離株 (1993 年)、泰國株 (1991 年取自日本東京大學日野教授) 及斐濟株 (1991 年取自八重山試驗場), 分離後保存至今。輪蟲的種原保存於玻璃試管/培養皿, 置於 25 °C 冷氣房, 不照光、不打氣, 以周氏扁藻、擬球藻、等鞭金藻為餌, 定期移殖。實驗前在顯微鏡下以毛細管挑出輪蟲, 先用滅菌海水清洗, 再移入養殖試管中。

三、輪蟲培養試驗

(一)濃縮藻儲存條件對泰國株極小型輪蟲增殖的影響

試驗分三次進行, 每次使用的濃縮藻為擬球藻藻膏, 分為不加維生素 C 以及添加 0.01%、0.05%、0.1%、0.2% 維生素 C 者共五組。第一次試驗的藻膏為冰箱冷藏 25 天, 第二次為再儲存 65 天 (即共儲存 90 天), 第三次為再續存達 120 天者。取 0.5 g 濃縮藻膏, 加入 50 ml 滅菌海水, 配成藻水。每次試驗的對照組 (簡稱鮮藻) 為培養 7 天的新鮮擬球藻藻水, 不經濃縮直接使用。第一次試驗時為瞭解離心所產生的影響, 增加一組為鮮藻經離心濃縮使用。藻細胞濃度以血球計數玻片計數, 每次每組的初始藻細胞濃度如 Table 1 所示, 濃縮藻組的細胞數約為鮮藻組的 10 倍。

在 15 ml 附螺蓋的試管 (13 × 100 mm) 中, 加入藻水 1 ml 及未帶卵泰國株極小型輪蟲 10 隻 (第一次), 第二次及第三次改為帶卵輪蟲 5 隻。置於 28 °C 恆溫箱, 每日照光 14 hr, 光照強度 50 ~ 60 μEm⁻²s⁻¹(PAR), 每組 5 重複。藻水變清後, 結束試驗, 第一次及第二次養殖 5 天, 第三次養殖 7 天。試驗結束時, 在顯微鏡下計數帶卵及不帶卵的輪蟲數, 計算輪蟲總數 (final rotifer) 及帶卵輪蟲比例 (rotifers carrying eggs %), 並依據 Hirayama *et al.* (1979) 採用 Birch (1948) 公式, 計算輪蟲之增殖率 r (population growth rate)。

$$r = \ln(P_t / P_0) / t$$

(P_t 結束時總輪蟲數, P₀ 初始時輪蟲數, t 養殖天數)

(二)餌藻型與光暗對三株極小型輪蟲增殖的影響

本試驗比較三株極小型輪蟲 (台灣株、泰國株、斐濟株), 在不同餌藻型 (濃縮藻、鮮藻) 與照光 (14hr 或全暗) 下之增殖。取冰箱冷藏 80 天的濃縮擬球藻藻膏, 以滅菌海水調成藻水, 使藻細胞濃度與鮮藻組相近。試管中移入 1 ml 藻水及 5 隻未帶卵輪蟲, 置於 28 °C 恆溫箱, 14hr 照光 (50-60PAR) 或全暗, 每組 6 重複。養殖 3 天及 5 天時, 各取 3 重複, 計算輪蟲總數、帶卵輪蟲比例及增殖率 r。

(三)餌藻型與光暗對三株小型輪蟲增殖的影響

本試驗操作方法與條件如 (二) 所述, 不同的是 3 株小型輪蟲均為台灣種, 濃縮藻儲存時間多

Table 1 Reproductive characters of SS rotifer *Brachionus rotundiformis* fed with live (L) or concentrated (P) *Nannochloropsis oculata* with various amount of preservative and of different storage period. Experiment I: rotifers at start were 10 individuals without eggs and cultured for 5 days; Experiment II: rotifers at start were 5 individuals with eggs and cultured for 5 days; Experiment III: rotifers at start were 5 individuals with eggs and cultured for 7 days

Algae	Preservative	Storage at 7°C	Algae (x 1,000,000 cells/ml)	Final rotifer	Population growth rate (r)	Rotifers carrying eggs (%)
Experiment I						
L	N	0 d	58.1	857 ± 14	0.89	2
P	N	0 d	246	2030 ± 22	1.06	1
P	N	25 d	562	2674 ± 44 ^b	1.12	20
P	0.01%Vit.C	25 d	554	2898 ± 26 ^a	1.13	22
P	0.05%Vit.C	25 d	544	2369 ± 16 ^e	1.09	44
P	0.1%Vit.C	25 d	556	2526 ± 20 ^d	1.11	33
P	0.2%Vit.C	25 d	546	2590 ± 28 ^c	1.11	21
Experiment II						
L	N	0 d	37.4	860 ± 3	1.03	3
P	N	90 d	524	2492 ± 22 ^c	1.24	23
P	0.01%Vit.C	90 d	567	2137 ± 35 ^d	1.21	17
P	0.05%Vit.C	90 d	554	2612 ± 26 ^b	1.25	11
P	0.1%Vit.C	90 d	548	2460 ± 30 ^c	1.24	15
P	0.2%Vit.C	90 d	520	2979 ± 35 ^a	1.28	20
Experiment III						
L	N	0 d	48.9	1234 ± 29	0.79	3
P	N	120 d	560	3501 ± 24 ^a	0.94	3
P	0.01%Vit.C	120 d	590	3223 ± 18 ^c	0.92	1
P	0.05%Vit.C	120 d	570	3266 ± 19 ^b	0.93	1
P	0.1%Vit.C	120 d	562	3180 ± 16 ^c	0.92	1
P	0.2%Vit.C	120 d	529	3214 ± 35 ^c	0.92	2

*The significant difference among each experiment was showed with different capital letter in the same column

20 天，即在冰箱冷藏 100 天。

四、統計分析

以複因子變方分析 (ANOVA) 及最小顯著差異測驗法 (LSD)，辨別維生素 C、餌藻型、光暗與株別，對極小型與小型輪蟲增殖的影響。

結 果

一、泰國株極小型輪蟲餵給冷藏濃縮擬球藻之增殖

濃縮擬球藻冷藏 25 天、90 天及 120 天後養殖極小型輪蟲之結果如 Table1 所示。擬球藻離心濃

縮後，可以較高濃度的藻細胞作食物來養殖極小型輪蟲，因此 10 隻未帶卵的輪蟲 (Exp. I)，經過 5 天養殖可增加至 2,030 ~ 2,898 隻，未經濃縮的鮮藻作為餌料則僅增殖至 857 隻，且帶卵輪蟲比例也較低。濃縮藻添加 0 ~ 0.2 % 維生素 C 各組的輪蟲總數、增殖率與帶卵輪蟲比例雖有差異，但與維生素 C 濃度之間未見相關性。同樣地，5 隻帶卵的輪蟲 (Exp. II)，投餵濃縮藻 5 天後也增加至 2,137 ~ 2,979 隻，而鮮藻者僅 860 隻，維生素 C 濃度的影響也未見相關性。然而初始的輪蟲均帶卵者，其增殖率較未帶卵者增加，以鮮藻為餌者增加 115% (1.03 vs 0.89)，濃縮藻為餌者增加 113% (1.28 vs 1.13)。當以濃縮藻養殖 7 天 (Exp. III)，雖然初始也為 5 隻帶卵的輪蟲，並增加至 3,180 ~ 3,501

Table 2 Results of three-way ANOVA and LSD test to see the effect of treatments (food type, light period and strain) on the reproductive characters of SS rotifer *Brachionus rotundiformis* and S rotifer *B. ibericus* cultured for 3days and 5days

Rotifer species	Food ¹	Light	Strain	Food x Light	Food x Strain	Food x Light x Strain
Reproductive characters						
<i>Brachionus rotundiformis</i>						
Final individuals						
3 days						
5 days	PN > LN*	0hr > 14hr*			**	
Population growth rate						
3 days						
5 days						
Rotifers carrying eggs						
3 days	PN > LN*					
5 days						
<i>Brachionus ibericus</i>						
Final individuals						
3 days	LN > PN*	14hr > 0hr**	C > A, B**			
5 days		14hr > 0hr*	C, A > B**			
Population growth rate						
3 days	LN > PN*	14hr > 0hr**	C > A, B*			
5 days	PN > LN**			**	**	*
Rotifers carrying eggs						
3 days						
5 days						

¹PN = concentrated algae, LN = live algae

Significant levels of $P < 0.05$ (), $P < 0.01$ (**) were indicated.

隻，因為藻細胞濃度已不足，增殖率降低為 0.79 (鮮藻) 及 0.94 (濃縮藻)，且帶卵率也僅 1 ~ 3 %；添加維生素 C 同樣地也未提高輪蟲的增殖。

二、小型及極小型輪蟲在不同株別、餌藻與光暗之增殖

三株 (台灣株、泰國株、斐濟株) 極小型輪蟲及三株台灣株小型輪蟲，以濃縮藻或鮮藻在每日照光 14 hr 或 0 hr (全暗) 下，養殖 3 天及 5 天後，三種因子 (株、餌藻、光) 及二種因子 (餌藻、光) 對輪蟲增殖的影響，以變方分析及最小顯著差異測驗法比較之結果，如 Table 2 及 Table 3 所示。二種輪蟲各株別養殖 3 天之輪蟲總數、增殖率與帶卵輪蟲比例如 Table 4 所示。

極小型輪蟲在餌藻、光之主效應達顯著水準 ($P < 0.05$) (Table 2)，台灣株、泰國株及斐濟株間則未見差異；餌藻與光有交感效應，其他因子間的交感效應則不存在。在相同濃度下，冷藏 80 天濃縮藻，在輪蟲總數及帶卵輪蟲比例，高於鮮藻；全暗之輪蟲數較照光 14 hr 多。就株別來看，極小型泰國株養殖 3 天及 5 天之增殖表現，在餌藻、光之主效應及二者交感效應均不存在，即試驗因子無顯著差異 (Tables 3 & 4)。斐濟株則在餌藻之主效應達顯著水準，冷藏 80 天濃縮藻，在輪蟲總數 (養殖 5 天) 及帶卵輪蟲比例 (養殖 3 天) 高於鮮藻 (Table 4)，光之主效應與二因子之交感效應則不存在 (Table 3)。台灣株則在輪蟲總數 (養 3 天及 5 天)，顯現二因子之交感效應 (Table 3)，濃縮藻及全暗組合，顯著高於其他 3 種組合 (Table 4)。

Table 3 Results of two-way ANOVA and LSD test to see the effect of treatments (food type and light period) on the reproductive characters of SS rotifer *Brachionus rotundiformis* and S rotifer *B. ibericus* cultured for 3days and 5days

Rotifer species	Reproductive characters	Food ¹	Light	Food x Light
<i>Brachionus rotundiformis</i>				
Fiji	Final individuals	PN > LN*(5days)		
	Rotifers carrying eggs	PN > LN**(3days)		
Taiwan	Final individuals	PN-0hr > The other*(3days; 5days)		
<i>Brachionus ibericus</i>				
A	Population growth rate	PN > LN**(5days)		The other > LN-14hr**(5days)
	Rotifers carrying eggs	0hr > 14hr*(5days)		LN-0hr > The other *(3days)
B	Population growth rate	14hr > 0hr* (3days)		
	Rotifers carrying eggs	14hr > 0hr** (3days)		
C	Final individuals	14hr > 0hr** (3days;5 days)		
	Population growth rate	14hr > 0hr**(3days)		PN-14hr > The other ** (5days)
	Rotifers carrying eggs	LN > PN*(3days)		

¹PN = concentrated algae, LN = live algae

Significant levels of $P < 0.05$ (), $P < 0.01$ (**) were indicated.

小型輪蟲在株別、餌藻、光之主效應，均達顯著水準($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) (Table 2)，餌藻與光、餌藻與株別、餌藻光與株別則有交感效應。在相同濃度下，養殖 3 天之增殖率及輪蟲總數，鮮藻高於冷藏 100 天之濃縮藻；但養殖 5 天之增殖率，濃縮藻卻高於鮮藻，且存在餌藻與光、餌藻與株別、餌藻光與株別之交感效應。在輪蟲總數及增殖率方面，照光高於全暗、C 株較 A 株及 B 株高，但無任何交感效應存在。就株別來看 (Table 3)，A 株在增殖率，濃縮藻高於鮮藻，其他組合大於鮮藻與照光組合；在帶卵輪蟲比例，黑暗高於照光 (養 5 天)，鮮藻與黑暗組合大於其他 3 種組合 (Table 4)。B 株在增殖率及帶卵輪蟲比例，照光高於全暗。C 株在輪蟲總數，照光高於全暗；在增殖率，照光高於全暗，濃縮藻與照光組合大於其他 3 種組合；在帶卵輪蟲比例，鮮藻較濃縮藻高 (Table 4)。

討 論

本研究結果顯示作為二種輪蟲(極小型與小型)的餌料效益，冰箱冷藏 25 ~ 120 天之濃縮擬球藻，大多數試驗結果顯現與鮮藻無差異，部分顯

現濃縮藻優於鮮藻或相反；另，高濃度的藻細胞，可使極小型輪蟲的密度高達 3,000 隻/ml 以上。

在使用方便性上考慮，濃縮藻以粉狀最佳。早期的研究顯示，大型輪蟲的增殖率，餵給噴霧乾燥擬球藻粉組僅為鮮藻組的70% (Hoff & Snell, 1997)。隨後比較以凍結乾燥藻粉或鮮藻滋養大型輪蟲，並自攝餌第1天到第43天投餵鱸魚苗，結果發現魚苗的活存與成長在二者之間並無差異 (Canavate and Fernandez-Diaz, 2001)，顯示凍結乾燥較能保存藻的營養成份，但相對也會提高成本。

濃縮微細藻的方法包括過濾 (Rossingol *et al.*, 1999)、離心 (Heasman *et al.*, 2000)、泡沫分層 (Csordas and Wang, 2004) 及凝聚 (Knuckey *et al.*, 2006)。Knuckey *et al.* (2006) 調整藻水的 pH 值並加入非離子型聚合物 (polymer LT-25)，發現多種矽藻類凝集濃縮的效率可高於 80%，但擬球藻及等鞭金藻均低於 30%；不過凝集濃縮的牟氏角毛藻餵給牡蠣及扇貝稚苗之成長，卻不如投鮮藻者。探討如何延長濃縮藻的庫藏時間，Heasman *et al.* (2000) 發現最適當的收穫方法為高速離心，而最適的貯存方法包括防腐劑、食品添加物的影響則因藻種而異；例如扁藻類 (*Tetraselmis* spp.) 及角毛藻 (*Chaetoceros calcitrans*) 經 8 週儲存，仍

Table 4 Reproductive characters of various strains of SS rotifer *Brachionus rotundiformis* and S rotifer *B. ibericus* fed with live (L) or concentrated (P) *Nannochloropsis oculata* at 14hr or 0hr light for 3days. Rotifer at start was 5 individuals without egg. Live algae were 46,500,000 cells/ml and 45,000,000 cells/ml for SS and S rotifer respectively; concentrated algae were stored at 7°C for 80 days and 100 days then diluted to the same algal density for SS and S rotifer respectively

Strain	Food	Light	Final rotifer	Population growth rate (r)	Rotifers carrying eggs (%)
<i>SS rotifer Brachionus rotundiformis</i>					
Thailand	P	14 hr	35.7 ± 18.1	0.59 ± 0.23	26 ± 10
		0 hr	32.0 ± 13.4	0.59 ± 0.14	21 ± 11
	L	14 hr	31.3 ± 14.4	0.57 ± 0.16	16 ± 3
		0 hr	20.7 ± 12.3	0.39 ± 0.25	11 ± 12
Taiwan	P	14 hr	26.7 ± 6.2 ^B	0.55 ± 0.09	20 ± 14
		0 hr	38.3 ± 6.3 ^A	0.67 ± 0.05	25 ± 10
	L	14 hr	23.3 ± 6.0 ^B	0.69 ± 0.15	14 ± 3
		0 hr	23.3 ± 6.0 ^B	0.50 ± 0.10	19 ± 4
Fiji	P	14 hr	31.0 ± 11.2	0.59 ± 0.12	29 ± 3 ^a
		0 hr	30.3 ± 5.6	0.60 ± 0.06	22 ± 4 ^a
	L	14 hr	43.0 ± 15.6	0.70 ± 0.11	16 ± 2 ^b
		0 hr	40.0 ± 6.5	0.69 ± 0.06	13 ± 5 ^b
<i>S rotifer Brachionus ibericus</i>					
A	P	14 hr	47.3 ± 4.5	0.75 ± 0.03	31 ± 1 ^B
		0 hr	19.3 ± 5.3	0.44 ± 0.09	21 ± 10 ^B
	L	14 hr	44.3 ± 21.6	0.69 ± 0.16	26 ± 5 ^B
		0 hr	39.3 ± 8.5	0.68 ± 0.07	37 ± 4 ^A
B	P	14 hr	34.3 ± 1.3	0.64 ± 0.01 ^a	37 ± 4 ^a
		0 hr	19.3 ± 9.5	0.39 ± 0.23 ^b	24 ± 5 ^b
	L	14 hr	77.0 ± 33.4	0.87 ± 0.19 ^a	37 ± 2 ^a
		0 hr	30.0 ± 18.5	0.54 ± 0.20 ^b	21 ± 8 ^b
C	P	14 hr	75.3 ± 23.0 ^a	0.88 ± 0.12 ^a	28 ± 3 ^B
		0 hr	33.7 ± 7.7 ^b	0.63 ± 0.08 ^b	27 ± 4 ^B
	L	14 hr	123.0 ± 34.3 ^a	1.06 ± 0.09 ^a	34 ± 3 ^A
		0 hr	37.0 ± 19.0 ^b	0.62 ± 0.17 ^b	36 ± 7 ^A

*The significant difference among each strains was showed with different capital letter (two factor) or small letter (one factor) in the same column

保存良好營養價，投餵二枚貝幼生的餌料效益與鮮藻一樣；但巴夫藻 (*Pavlova lutheri*)、大溪地等鞭金藻 (*Tahitian isochrysis*) 及牟氏角毛藻 (*C. muelleri*) 則很快大量流失其營養。濃縮離心時產生的離心力與剪力，對某些種類的藻細胞構造會造成傷害，因此細胞壁薄的等鞭金藻不僅不耐離心，且無法在冰箱冷藏溫度下存活，導致其濃縮藻在冰箱冷藏 1 週後，作為輪蟲餌藻的營養效益僅為鮮藻的 50%。然而細胞壁厚的擬球藻，經離

心與冰箱冷藏，藻細胞並未受到傷害，因此儲存 120 天後，其作為輪蟲餌藻的營養效益仍等同鮮藻，且仍可做為種原來培養。

Lubzens *et al.* (1995) 報導將離心後含有 30 ~ 40% 固形物的擬球藻泥，立即在 -20 °C 凍結，經過 1 年仍可使用；使用時以海水溶成藻水儲於 4°C，在 14 天內可用來生產輪蟲；雖然輪蟲的脂肪酸含量與組成沒有差異，輪蟲的增殖率僅達鮮藻之 81%；且擬球藻藻泥長期儲存會發黴，無法

利用。另，草蝦苗的活存，投餵離心濃縮凍藏的牟氏角毛藻，雖與鮮藻者一樣，其成長卻較緩慢 (D'souza *et al.*, 2000)。

Tredici *et al.* (1996) 發現離心濃縮儲存於 4 °C 之蘇西扁藻 (*T. suecica*)，其活性與濃縮密度呈負相關。濃度為 4 g/L 時，50 天後的活性未減；20 g/L 及 60 g/L 時，10 天後雖仍維持 70% 活性，但迅即衰退，於 21~24 天時完全死滅；而藻膏約 14 天就無活性。以連續式離心機濃縮的矽藻膏，不僅濃縮密度較高 (128 g/L DW)，離心力也較大；因此牡蠣苗的成長，低於餵給批次式離心機濃縮的矽藻膏 (6 g/L DW)。

本研究以連續式離心機濃縮的擬球藻膏，冰箱冷藏 10 個月時發現褐變，做為藻類新培養的種原無法養殖成功，投餵輪蟲的餌料效益也降下，但含 10% 固形物的藻泥，冰箱冷藏 2 年後仍可作為種原及輪蟲餌料，庫存時間高於 Lubzens *et al.* (1995) 的結果。觀察藻細胞，發現濃縮擬球藻的保存時間與細胞形態的完整有顯著關係，但與天然抑菌劑 (如維生素 C) 添加的濃度，沒有完全的線性關係 (未發表)，同樣地 3 次實驗中維生素 C 的添加及其濃度與未添加者相比，輪蟲的總數雖有顯著差異，但並未顯現其相關性 (Table 1)。藻細胞的品質受溫度與光照的影響，隨養殖季節而異，進而影響儲存期間。儲存期間若呈墨綠色，可做為種原來培養與作為輪蟲餌藻，若呈褐色，表示藻細胞已經腐敗，不適合使用。日本濃縮綠藻商品，在保存期限到期時，也呈現褐變而無法使用。褐變可以作為指標，但為何產生及變壞的成份仍不知道。

本研究結果顯示，3 株極小型輪蟲間在增殖上無顯著差異，但 3 株小型輪蟲間有 1 株顯著優於其他 2 株，此可能如前人研究指出的與輪蟲的種類與株別的基因型 (Lubzens *et al.*, 1989; Miracle and Serra, 1989)，以及養殖條件 (Lubzens *et al.*, 1995) 有關，需待進一步探討。有些研究 (Lubzens *et al.*, 1989; Miracle and Serra, 1989) 指出輪蟲在溫度、鹽度與食物下的增殖反應因基因型 (genotype) 而異，但有些則認為可能並不相關 (Rothaupt, 1990; Hirayama and Rumengan, 1993)。Yin and Zhao (2008) 探討溫度、鹽度、餌料及輪蟲品系，對大型輪蟲生活史各種因子 (包括族群增殖率、淨增殖率、壽命及世代時間) 的影響，

發現輪蟲品系僅對壽命長短有影響，對族群增殖率並無作用。但 Lubzens *et al.* (1995) 報導輪蟲的增殖率與食物攝取量，會因輪蟲種類及其養殖條件，如食物、水質與養殖系統，而有不同；投給等量的凍結藻，斐濟極小型輪蟲的增殖率高於日本小型輪蟲。本研究也顯示餵給細胞數相近的冰藏濃縮藻，極小型輪蟲的增殖率也高於小型輪蟲，藻細胞數增加 10 倍時，極小型輪蟲總數可增加 3 倍。

謝 辭

本研究為執行國科會國家型科技計畫「石斑魚無特定病原菌優質種苗之開發—石斑魚餌料生物無特定病原菌大量培育技術之研究」NSC 94-2317-B-056 -002 之部分成果，承水產試驗所東港生技中心黃俊翰先生在統計分析、張銀戀小姐及謝隆聲先生等在試驗上之協助，謹此敬致謝忱。

參考文獻

- 土橋靖史 (2004) 石斑種苗生產技術開發現狀及問題點. 養殖, 6: 16-17 (日文).
- 蘇惠美, 蘇茂森, 廖一久 (1994) 極小型輪蟲之篩選及培養條件. 水產研究, 2(1): 19-29.
- 蘇惠美 (1999) 餌料生物之培養與利用. 行政院農委會水產試驗所東港分所, 105 頁.
- 蘇惠美 (2007) 石斑魚餌料生物培養與利用. 石斑 (冉繁華編), 臺灣漁業經濟發展協會, 基隆市, 70-103.
- Birch, L. C. (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J. Anim. Ecol.*, 17: 15-26.
- Canavate, J. P. and C. Fernandez-Diaz (2001) Pilot evaluation of freeze-dried microalgae in the mass rearing of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193: 257-269.
- Csordas, A. and J. K. Wang (2004) An integrated photobioreactor and foam fractionation unit for the growth and harvest of *Chaetoceros* spp. in open systems. *Aquacult. Eng.*, 30: 15-30.
- D'souza, F., D. Lecossois, M. Heasman, J. Diemar, C. Jackson and R. Pendrey (2000) Evaluation of centrifuged microalgae concentrates as diets for *Penaeus monodon* Fabricius larvae. *Aquacult. Res.*, 31: 661-670.
- Fukunaga, K., K. Nogami, Y. Yoshida, K. Hamazaki, and K. Maruyama (1990) Recent increase of *Epinephelus akaara* fry production amount and its

- problems at the Tamano Branch Station of the Japan Sea-Farming Association. Saibai Giken, 19: 33-40 (in Japanese).
- Fulks, W. and K. L. Main (1991) Rotifer and Microalgae Culture Systems. Proceedings of a U.S. – Asia Workshop. The Oceanic Institute, Hawaii, 364 pp.
- Heasman, M., J. Diemar, W. O'connor, T. Sushames and L. Foulkes (2000) Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve mollusks – a summary. *Aquacult. Res.*, 31: 637-659.
- Hirayama, K., K. Takagi and H. Kimura (1979) Nutritional effect of eight species of marine phytoplankton on population growth of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 45: 11-16.
- Hirayama, K. and I. F. M. Rumengan (1993) The fecundity patterns of S and L type rotifers of *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia*, 255/256: 153-157.
- Hoff, F. H. and T. W. Snell (1997) Plankton Culture Manual. Fourth Edition. Florida Aqua Farms, Inc. San Antonio Florida, pp. 142.
- Kawabe, K. and J. Kimura (2007) Larval production of blacktip grouper, *Epinephelus fasciatus*, initially fed with smaller rotifers filtered through a fine mesh net. *Saibai Giken*, 35(1): 11-21 (in Japanese).
- Knuckey, R. M., M. R. Brown, R. Robert and D. M. F. Frampton (2006) Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquacult. Eng.*, 35: 300-313.
- Kotani, T., A. Hagiwara, T. W. Snell and M. Serra (2005) Euryhaline *Brachionus* strains (Rotifera) from tropical habitats: morphology and allozyme patterns. *Hydrobiologia*, 546: 161-167.
- Lavens, P. and P. Sorgeloos (1996) Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technique Paper, No. 361, 295 pp.
- Liao, I C., H. M. Su and E. M. Chang (2001) Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture*, 200: 1-31.
- Lubzens, E., A. Tandler and G. Minkhoff (1989) Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia*, 446/447: 337-353.
- Lubzens, E., O. Gibson, O. Zmora and A. Sukenik (1995) Potential advantages of frozen algae *Nannochloropsis* sp. for rotifer *Brachionus plicatilis* culture. *Aquaculture*, 133: 295-309.
- Miracle, M. R. and M. Serra (1989) Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 186/187: 81-102.
- Papakostas, S., S. Doods, A. Triantafyllidis, D. Deloof, I. Kappas, K. Dierckens, T. De Wolf, P. Bossier, O. Vadstein, S. Kui, P. Sorgeloos and T. J. Abatzopoulos (2006) Evaluation of DNA methodologies in identifying *Brachionus* species used in European hatcheries. *Aquaculture*, 255: 557-564.
- Rossignol, N., L. Vandanjon, P. Jaouen, and F. Quemeneur (1999) Membrane technology for the continuous separation microalgae/culture medium: compared performances of cross-flow microfiltration and ultrafiltration. *Aquacult. Eng.*, 20: 191–208.
- Rothaupt, K. O. (1990) Difference in particle size-dependent feeding efficiencies of closely related rotifer species. *Limnol. Oceanogr.*, 35: 16-23.
- Su, H. M., M. S. Su and I C. Liao (1997) Preliminary results of providing various combinations of live foods to grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Hydrobiology*, 358: 301-304.
- Su, H. M., M. S. Su., K. F. Tseng and I C. Liao (2008) Chapter 2: Development of Techniques for Enhancing Seed Production of *Epinephelus coioides* in Taiwan. *In The Aquaculture of Groupers* (I C. Liao and E. M. Leano eds.), Asian Fisheries Society, World Aquaculture Society, The Fisheries Society of Taiwan and National Taiwan Ocean University, 29-48.
- Tredici, M., E. Montaini, G. Chini Zitelli, S. Carobbi (1996) Centro di Studio die Microorganismi Autotrofi (Florence). *In European Commission Final Report, AIR1-CT92-(0286)MANTA. – Microalgae Biomass from Photobioreactors as Food for Fish, Shellfish Larvae, MANTA, European Commission, 138 pp.*
- Yin, X. W. and W. Zhao (2008) Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O. F. Muller (Rotifera) in relation to temperature, salinity and food algae. *Aquat. Ecol.*, 42: 165-176.
- Yoshimura, K., K. Tanaka and T. Yoshimatsu (2003) A novel culture system for the ultra-high-density production of the rotifer, *Brachionus rotundiformis* – a preliminary report. *Aquaculture*, 227: 165-172.

Evaluation of Concentrated *Nannochloropsis* as Rotifer's Food

Huei-Meei Su^{1*}, Sui-Sin Wang¹, Javier Garcia² and Tzyy-Ing Chen¹

¹Tungkang Biotechnology Research Center, Fisheries Research Institute

²Department of Tropical Agriculture and International Cooperation,
National Pingtung University of Science and Technology

ABSTRACT

This study aims to find the bio-availability of *Nannochloropsis oculata*, which has been cultured outdoor, concentrated by the centrifuge and stored in the refrigerator, as food for rotifer. Rotifer cultured in the test tube fed with the concentrated or fresh *Nannochloropsis*. The reproductive characters including final individuals, population growth rate and percentage of rotifers carrying eggs were measured when the feeding water became clear. Each single factor, such as, storage period, preservative, algae type, light, and rotifer strain, and their interaction on the reproductive characters of rotifer were compared. The results showed no significant difference between the fresh and 120-day-stored concentrated algae as food for Thailand strain SS rotifer *Brachionus rotundiformis*. Vitamin C addition as preservative also showed no significant improvement. However, a higher rotifer density, 3000 individuals/ml observed from feeding the concentrated algae at high density. At the same algal density, Fiji strain SS rotifer and A strain S rotifer *Brachionus ibericus* reproduced better feeding with the concentrated algae than the fresh algae, while C strain S rotifer showed a reversed result. No significant difference has been observed in other rotifers tested. It is also observed that S rotifer reproduced better under light than dark, while SS rotifer showed no significant difference between light & dark treatments. Among the S rotifers, C strain performed the best reproduction, while the tested 3 SS rotifer strains showed no difference in reproduction. The best combination for the reproduction performance of Taiwan strain SS rotifer was feeding the concentrated algae under dark, while it was feeding concentrated algae under light for C strain S rotifer. In conclusion, there was no significant difference between feeding the fresh and concentrated *Nannochloropsis* in both SS and S rotifer, but the reproduction of rotifer varied with according to their status of carrying eggs, strains and species.

Key words: *Nannochloropsis oculata*, concentrated algae, rotifer reproduction, *Brachionus ibericus*, *Brachionus rotundiformis*

*Correspondence: 67, Fongyu St., Tungkang, Pingtung 92845, Taiwan. TEL: (08) 832-4121; FAX: (08) 832-0234; E-mail: hmsu@mail.tfrin.gov.tw