

## 缢蛭稚贝优质微藻饵料的筛选

马 斌, 周海波, 徐继林\*, 周成旭, 严小军

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 为了筛选缢蛭稚贝的合适饵料及其最优组合投喂方式, 比较了8种常见饵料微藻单种投喂和混合投喂对缢蛭稚贝生长的影响. 结果显示: 单种投喂时, 角毛藻和金藻饵料效果最佳, 云微藻和 XSWG 仅次于角毛藻和金藻, 对于规格较大的缢蛭稚贝扁藻饵料效果较佳, 而对于规格较小的缢蛭稚贝其饵料效果并不太好, 这5种微藻都可以作为缢蛭稚贝培育过程中的优良饵料选择; 微绿球藻、巴夫藻饵料效果较差, 不是缢蛭的良好饵料; 而 A5 不仅对缢蛭稚贝没有饵料效果还具有一定的毒害作用. 选择优良饵料微藻进行混合投喂, 其效果要优于单种投喂; 混合投喂时, 一些单种投喂饵料效果不佳的微藻品种可以作为优质饵料不足时的补充; 对缢蛭稚贝有毒害作用的微藻品种绝对不能作为混合投喂时的饵料选择.

**关键词:** 微藻; 缢蛭稚贝; 筛选

**中图分类号:** S968.3; Q175

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5132 (2011) 04-0005-05

由于沿海大量的围垦填海及工业污染, 滩涂贝类天然苗种资源已难以满足滩涂贝类养殖产业发展的需求, 人工培育的苗种已经成为滩涂贝类养殖苗种的主要来源. 而在人工育苗中, 海洋单细胞微藻是贝类幼体的主要饵料, 由于不同种类微藻有着不同的营养组成<sup>[1-4]</sup>, 其生存环境和生态习性也不同, 对营养的需求不尽相同<sup>[5-6]</sup>, 所以海洋微藻品种的选择和培育在育苗过程中起着举足轻重的作用. 缢蛭(*Sinonovacula constricta*, Lamarck)是我国东部沿海的重要海水养殖品种, 目前有关其育苗方式和病害防治的研究较多<sup>[7-10]</sup>, 但不同种类微藻对其生长影响研究还很少见.

笔者在室内可控条件下, 选择8种不同类型的单细胞微藻进行缢蛭稚贝的优质饵料筛选, 以期对缢蛭人工育苗生产中饵料的选择提供依据.

### 1 材料与方法

#### 1.1 微藻

微藻藻种由宁波大学海洋生物实验室藻种室

提供, 分别为角毛藻(*Chaetoceros calcitrans*)、青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica*)、球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)、微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)、绿色巴夫藻(*Pavlova viridis*)和分离自福建云霄的一种未定名绿藻“云微藻”、一种分离自浙江象山的未定名硅藻 XSWG 和一种分离自浙江象山的未定名隐藻 A5. 培养液采用“NML3号”配方(100 mg·L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>, 10 mg·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20 mg·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>, 0.25 mg·L<sup>-1</sup> MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 2.50 mg·L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 10 mg·L<sup>-1</sup> EDTA-Na<sub>2</sub>, 6 μg·L<sup>-1</sup> VB<sub>1</sub>, 0.05 μg·L<sup>-1</sup> VB<sub>12</sub>). 藻种在 2 500 mL 的锥形瓶中(20±2) 下自然光培养1周, 后转入 50 L 的白色塑料桶中, 自然光, 温度(23~27 )下再培养1周左右. 每天用CASY-TT 颗粒粒度计数分析仪(德国CASY公司)记录藻类密度, 于各微藻的指数生长后期进行投喂.

#### 1.2 稚贝

缢蛭稚贝分别取自浙江省宁波市甬盛水产种业有限公司育苗场和福建省紫泥甘文育苗场. 缢

收稿日期: 2011-04-08.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://3xb.nbu.edu.cn>

基金项目: 国家自然科学基金(31172448); 浙江省公益性项目(2010C32021); 浙江省自然科学基金(Y3100534); 宁波市农业与发展攻关项目(2010C10054).

第一作者: 马 斌(1974-), 男, 浙江宁波人, 实验师, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 滩涂贝类养殖. E-mail: mabin@nbu.edu.cn

\*通讯作者: 徐继林(1965-), 男, 江苏泰州人, 副研究员, 主要研究方向: 海洋生物化学. E-mail: xujilin@nbu.edu.cn

表1 分别投喂5种微藻前后(15 d)稚贝的大小(长×宽)

初始规格	扁藻 <i>Thelgolandica</i>	金藻 <i>I. galbana</i>	角毛藻 <i>C. calcitrans</i>	微绿球藻 <i>N.psisocolata</i>	巴夫藻 <i>P. viridis</i>	全混
0.59±0.16	1.68±0.43 <sup>ab</sup>	1.87±0.41 <sup>b</sup>	1.81±0.35 <sup>b</sup>	1.15±0.41 <sup>a</sup>	1.52±0.45 <sup>ab</sup>	2.21±0.49 <sup>b</sup>

注: 同一行里数值带有同一字母上标表示统计性差异不显著, 带有不同字母上标表示统计差异显著(显著性水平  $\alpha=0.05$ ), 表2和表3同。

表2 分别投喂7种微藻前后(12 d)稚贝的大小(长×宽)

初始规格	角毛藻 <i>C. calcitrans</i>	金藻 <i>I. galbana</i>	扁藻 <i>T. helgolandica</i>	巴夫藻 <i>P. viridis</i>	云微藻	XSWG	A5	全混
0.18±0.04	0.96±0.32 <sup>b</sup>	0.82±0.31 <sup>b</sup>	0.42±0.21 <sup>ab</sup>	0.39±0.19 <sup>ab</sup>	0.67±0.20 <sup>ab</sup>	0.66±0.19 <sup>ab</sup>	0.33±0.17 <sup>a</sup>	0.50±0.19 <sup>ab</sup>

蛭浮游幼虫附着后在连续充空气的水泥池中培养。培养时, 自然海水(盐度 10)经沙滤后引入池中, 池底加入经高温灭菌并经 200 目(直径 75  $\mu\text{m}$ )尼龙筛绢过滤后的干净海泥, 使池底的海泥厚度大于 1 mm。每天混合投喂足量角毛藻、扁藻和金藻(藻类细胞密度保持 80~100  $\text{cell}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ), 在 18~26  $^{\circ}\text{C}$  下培养 12~15 d 后, 取出洗净, 放入干净海水中, 不投饵饥饿 12 h, 排空胃后进行后续饵料投喂实验。

### 1.3 投喂试验

#### 1.3.1 单种投喂试验

为比较微藻对不同批次不同场培育出的稚贝饵料效果, 单种投喂实验选择 2 家育苗场稚贝分 2 批进行: 第一批对采自浙江省宁波市甬盛水产种业有限公司育苗场的稚贝, 单种投喂 5 种饵料微藻, 分别为角毛藻、青岛大扁藻、球等鞭金藻、微绿球藻和绿色巴夫藻; 第二批对采自福建省紫泥甘文育苗场的稚贝, 减掉饵料效果较差的微绿球藻, 增加了云微藻、XSWG 和 A5。为初步比较单种投喂与混合投喂的差别, 在每一实验组中增加了所有实验微藻等比例全混合实验组。投喂实验时, 28  $\text{cm}\times 15\text{ cm}\times 10\text{ cm}$  (长×宽×高)的白色塑料盆中加入盐度为 10 的沙滤海水和与水泥池中同样的海泥, 均匀洒入 1 g 湿重的稚贝, 规格见表 1 和表 2。每一实验盆中足量投喂单一种微藻(细胞密度 100~120  $\text{cell}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ , 其中, 扁藻组细胞密度控制在 15~20  $\text{cell}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ), 每 4~5 d 换新鲜水和海泥并随机取样计算成活率。取 20 粒苗测量大小(长×宽)。在 18~26  $^{\circ}\text{C}$

自然温度下培养 12~15 d 为一个实验周期。每一样品平行实验 3 次, 结果取均值。

#### 1.3.2 混合投喂试验

福建省紫泥甘文育苗场的稚贝进行单种投喂

实验后, 取投喂试验中饵料效果最好的角毛藻和次好的金藻, 分别与其他微藻进行两两等比例混合投喂。为了比较两两混合、单种投喂和所有微藻全混合投喂的差别, 同时对这 2 种效果最好的微藻进行等条件单种投喂以及所有微藻等比例混合微藻投喂。12 d 为一个实验周期, 其他操作与单种投喂等同。

### 1.4 数据处理

原始数据用 SPSS 11.5 统计软件处理, 同一种稚贝摄食不同微藻后的结果用相关样本 Friedman 检验, 显著性水平  $\alpha=0.05$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 单种微藻投喂后稚贝的生长情况

在第一批实验中, 不同微藻单种投喂后 15 d 的稚贝生长速度有明显差异(表 1), 等比例全混合投喂后稚贝生长速度比所有单种投喂的速度要快, 即混合微藻的营养效果好于单种微藻。角毛藻和金藻投喂后的缢蛭稚贝, 摄食迅速, 运动能力强, 生长整齐, 在所有单种微藻投喂试验组中生长速度最快, 经过 15 d 培养, 池中空壳很少, 成活率很高。微绿球藻投喂后的稚贝, 空壳较多, 成活率很低, 而且活着的稚贝很少见到腹足伸出壳外, 运动能力很弱, 生长很不整齐, 生长速度最慢。扁藻与巴夫藻的饵料效果类似, 次于角毛藻和金藻而优于微绿球藻。

在第二批试验中, 删除了第一批试验中饵料效果最差的微绿球藻, 增加了云微藻、XSWG 和 A5。结果显示, 经过 12 d 培养后不同微藻投喂后稚贝生长速度也有明显不同(表 2)。跟第一批试验类似, 角毛藻和金藻单种投喂后的稚贝生长最快;

表3 分别投喂各微藻组合前后(12 d)稚贝的大小(长×宽)

初始规格	角	金	角+金	角+扁	角+巴	角+云	角+XSWG
0.62±0.13	1.53±0.47 <sup>ab</sup>	1.66±0.45 <sup>ab</sup>	1.83±0.42 <sup>b</sup>	1.82±0.49 <sup>b</sup>	1.56±0.44 <sup>ab</sup>	1.87±0.45 <sup>b</sup>	1.72±0.41 <sup>b</sup>
初始规格	角+A5	金+扁	金+巴	金+云	金+XSWG	金+A5	全混
0.62±0.13	0.95±0.26 <sup>a</sup>	1.85±0.49 <sup>b</sup>	1.54±0.47 <sup>ab</sup>	1.81±0.49 <sup>b</sup>	1.88±0.53 <sup>b</sup>	0.97±0.28 <sup>a</sup>	1.28±0.35 <sup>ab</sup>

云微藻与 XSWG 效果比前 2 种差而优于扁藻、巴夫藻和 A5。跟第一批明显不同的是,等比例全混合的试验稚贝的饵料效果并非最佳而劣于大部分单种微藻。

## 2.2 微藻混合投喂后稚贝的生长情况

在第二批单种微藻投喂试验基础上,以福建省紫泥甘文育苗场的稚贝作为培养对象,取投喂试验中饵料效果最好的角毛藻和次好的金藻,分别与其他微藻进行两两等比例混合投喂。经过 12 d 的培养后发现(表 3),跟 A5 混合的微藻组合饵料效果最差,跟巴夫藻混合的微藻组合饵料效果跟单种投喂角毛藻和金藻的饵料效果类似,其他绝大部分两两混合微藻的投喂效果比对照的单种角毛藻和金藻的实验组都要好,全混微藻的饵料效果虽然比跟 A5 两两混合微藻的效果要好,但比绝大多数两两混合微藻的饵料效果要差,甚至比单种投喂角毛藻和金藻的饵料效果还要差。

## 3 讨论

### 3.1 单种微藻对缢蛏稚贝的饵料效果

对不同批次不同场培育出的不同规格稚贝进行单种微藻投喂,2 批次中投喂角毛藻和金藻的稚贝生长速度均最快,说明所选择的微藻中,金藻和角毛藻均是理想的缢蛏饵料。事实上,在绝大部分贝类种类培育过程中,这 2 种藻类均显示出良好的饵料效果<sup>[13-15,17-18]</sup>。

在贝类培育过程中,隶属于绿藻纲的扁藻常被用作稚贝阶段的饵料,而且在青蛤和彩虹明樱蛤的稚贝培育中显示出良好的饵料效果,在缢蛏第一组中,其饵料效果仅次于金藻和角毛藻,但在第二组试验中,其饵料效果明显比金藻和角毛藻差,可能是因为第二组试验稚贝规格较小,而扁藻个体较大适合较大规格稚贝摄食的缘故。

巴夫藻从传统的外形特征等方面常归于金藻纲定鞭藻目,所以在实际生产中也被用来作为

生物饵料<sup>[4,14,16]</sup>,但是从实验结果看,对于缢蛏的饵料效果远比金藻差。事实上巴夫藻与普通金藻纲微藻的营养组成存在着很大的区别<sup>[11-12]</sup>,国外学者已经把以前巴夫藻所属的定鞭藻目从金藻中独立出来单独归为定鞭藻纲<sup>[3]</sup>。从第二组单种投喂培育实验可见(表 2),在所有单种投喂的 7 种微藻中,巴夫藻对缢蛏的饵料效果仅优于 A5,要比其他 5 种微藻的饵料效果都要差,所以也不是一种良好的缢蛏饵料。

由于微绿球藻相对角毛藻、扁藻、金藻等优良饵料种类而言,培养过程对环境要求很低,藻类指数生长期较长,不容易老化,维持时间较长,所以在实际生产过程中作为多数贝类育苗场在气候恶劣条件下其他微藻不足时的辅助饵料使用。但从试验结果看,对缢蛏的饵料效果非常差,到试验后期稚贝几乎停止了生长,所以在实际培育过程中尽量不要选择该微藻作为缢蛏稚贝的饵料。

云微藻是分离自福建云霄的一种未定名绿藻,大小跟微绿球藻大小相近(1.6~2.6 μm),颜色绿中偏黄,跟微绿球藻类似,自然条件下培养非常容易,已经被实际应用在鱼类、虾类养殖环境的调节中。由于其营养组成跟微绿球藻有明显差异(另文发表),对滩涂贝类的饵料效果也明显不同,对于缢蛏而言,其饵料效果仅次于金藻和角毛藻(表 2),比扁藻的饵料效果还要好,所以可以作为缢蛏的优质饵料。

XSWG 是 2010 年 5 月分离自浙江象山的一种未定名硅藻,黄褐色,显微观察大小在 4~5 μm,呈圆球形,无鞭毛。首次应用在滩涂贝类培育中。从表 2 可见,其饵料效果跟云微藻接近,仅次于角毛藻和金藻而优于扁藻和巴夫藻,可作为缢蛏稚贝的优质饵料。另一种同时分离自浙江象山的一种未定名隐藻 A5,也呈黄褐色,显微观察大小在 1 μm 左右,呈圆球形,无鞭毛。饵料效果则远差于其他微藻,在试验末期缢蛏已经停止生长并且稚

贝死亡率很高,可见该微藻不可以作为缢蛏稚贝的饵料。

### 3.2 混合微藻对缢蛏稚贝的饵料效果

由于不同微藻有着不同的营养组成<sup>[1-4]</sup>,故一种稚贝的营养需求很难仅从一种微藻中获取,混合投喂可以弥补单一微藻营养的不足<sup>[18]</sup>。在第一批单种投喂培养实验中,为了初步比较混合投喂跟单种投喂的区别,同时进行了全比例混合微藻的投喂实验,结果表明(表 1),全混微藻投喂的饵料效果在所有投喂实验中最佳,优于所有单种微藻投喂的饵料效果,说明混合投喂确实可以保证稚贝吸收更全面的营养。

角毛藻、金藻跟其他微藻两两混合投喂实验表明(表 3),这 2 种单种投喂饵料效果最佳的微藻混合其他单种投喂饵料效果也比较好的微藻(如扁藻、云微藻、XSWG)后,对缢蛏稚贝的饵料效果明显要比单种投喂角毛藻和金藻都要好,并跟金藻与角毛藻两两混合后的投喂效果类似,几种组合之间没有统计性差异,说明这些藻之间存在着饵料营养互补现象;而本来饵料效果不佳的巴夫藻跟金藻、角毛藻两两混合后,则与单种投喂角毛藻和金藻的饵料效果类似,说明虽然该藻单种投喂饵料效果不佳,但在饵料效果很好的微藻不足时仍可以作为辅助微藻使用。

有一个现象值得注意:在第二批试验中,全比例混合微藻的投喂效果并不明显,只比巴夫藻、扁藻和 A5 的饵料效果好,而比其他 4 种饵料效果良好的单种微藻饵料效果要差,这与第一批试验中全混微藻投喂效果相差甚远。仔细分析第三批混合投喂的数据发现,在所有的微藻混合组分中,混入 A5 的 3 个组分(角毛藻+A5、金藻+A5 和全混),其饵料效果明显低于其他混合组分,甚至远低于角毛藻和金藻的单种投喂效果,充分说明 A5 不仅仅对缢蛏饵料效果较差,而且还具有较大的毒性作用,因为如果饵料效果不佳但不具备毒性作用的微藻象巴夫藻,跟金藻和角毛藻混合后饵料效果至少要跟金藻和角毛藻单种投喂的饵料效果类似。可见,在对缢蛏进行微藻混合投喂时,并非所有的混合投喂方式都是可行的,一定要选择单种投喂饵料效果本来就比较好的品种,绝对不能混入对生物体有毒害作用的微藻品种。

## 4 结论

通过对缢蛏稚贝投喂 8 种单细胞微藻发现:单种投喂时角毛藻和金藻饵料效果最佳,云微藻和 XSWG 仅次于角毛藻和金藻。对于规格较大的缢蛏稚贝扁藻饵料效果较佳,而对于规格较小的缢蛏稚贝其饵料效果并不太好,这 5 种微藻都可以作为缢蛏稚贝培育过程中的优良饵料选择。微绿球藻、巴夫藻饵料效果较差,不是缢蛏培育过程中的良好饵料;而 A5 不仅对缢蛏稚贝没有饵料效果还具有一定的毒害作用。选择优良饵料微藻进行混合投喂,其效果要优于单种投喂;混合投喂时,一些单种投喂饵料效果不佳的微藻品种可以作为优质饵料不足时的补充;对缢蛏稚贝有毒害作用的微藻品种绝对不能作为混合投喂时的饵料选择。

### 参考文献:

- [1] 李荷芳,周汉秋.海洋微藻脂肪酸组成的比较研究[J].海洋与湖沼,1999,30(1):34-40.
- [2] Volkman J K. Sterols in microorganisms[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 60(5):495-506.
- [3] Volkman J K, Barrett S M, Blackburn S I, et al. Microalgal biomarkers: A review of recent research developments[J]. Org Geochem, 1998, 29(5/7):1163-1179.
- [4] Ponis E, Probert I, Véron B, et al. Nutritional value of six Pavlovophyceae for *Crassostrea gigas* and *Pecten maximus* larvae[J]. Aquaculture, 2006, 254(1/4):544-553.
- [5] Napolitano G E, Ackman R G, Silva-Serra M A. Incorporation of dietary sterols by the sea scallop *Placopecten magellanicus* Gmelin fed on microalgae[J]. Mar Biol, 1993, 117(5):647-654.
- [6] Bachok Z, Mfilinge P L, Tsuchiya M. The diet of the mud clam *Geloina coaxans* (Mollusca, Bivalvia) as indicated by fatty acid markers in a subtropical mangrove forest of Okinawa, Japan[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2003, 292(2):187-197.
- [7] 周友富,林依列,杨吉方.缢蛏工厂化全人工育苗技术[J].中国水产,2003(1):55-56.
- [8] 安贤惠,李联泰.缢蛏研究现状及发展前景[J].科学养鱼,2005(1):4-5.
- [9] 陈为尧,杨文真.虾池养殖缢蛏病害防治技术初探[J].科学养鱼,2005(10):57.
- [10] 王兴强,曹梅,阎斌伦,等.缢蛏致病性气单胞菌的分离鉴定及毒力研究[J].海洋环境科学,2010(5):671-674.

- [11] 章炜, 徐继林, 严小军, 等. 利用脂肪酸组成对 26 种(株)海洋微藻聚类分析研究[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2006, 19(4):445-450.
- [12] 徐继林, 严小军, 周成旭, 等. 甾醇在海洋微藻中的分布研究[J]. 海洋学报, 2007, 29(6):93-100.
- [13] Langdon C J, Robinson A M. Aquaculture potential of the Suminoe oyster (*Crassostrea ariakensis* Fugita 1913)[J]. Aquaculture, 1996, 144(4):321-338.
- [14] Ponis E, Robert R, Parisi G. Nutritional value of fresh and concentrated algal diets for larval and juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. Aquaculture, 2003, 221(1/4): 491-505.
- [15] Nascimento I A. Growth of the larvae of *Crassostrea gigas* Thunberg, fed with different algal species at high cell concentrations[J]. ICES Journal of Marine Science, 1980, 39(2):134-139.
- [16] O'Connor W A, Heasman M P. Diet and feeding regimens for larval doughboy scallops, *Mimachlamys asperrima*[J]. Aquaculture, 1997, 158(3/4):289-303.
- [17] 朱雨瑞, 徐继林, 严小军. 5 种微藻对 4 种滩涂贝类稚贝生长的影响[J]. 海洋学研究, 2010(9):60-65.
- [18] Liu W, Pearce C M, Alabi A O, et al. Effects of microalgal diets on the growth and survival of larvae and post-larvae of the basket cockle, *Clinocardium nuttallii*[J]. Aquaculture, 2009, 293:248-254.

## Screening of High-quality Feed Microalgae in Cultivation of Juvenile Intertidal Shellfish, *Sinonovacula constricta*

MA Bing, ZHOU Hai-bo, XU Ji-lin\*, ZHOU Cheng-xu, YAN Xiao-jun

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** In order to select the appropriate feed and optimum combinational feeding methods of juvenile shellfish, *Sinonovacula constricta*, the feeding effects of eight common microalgae are compared in this study. The best feeding effects are found in *Chaetoceros calcitrans* and *Isochrysis galbana*, followed by YW0980 and XSWG, through feeding with single microalgae. The feeding result of *Platymonas helgolandica* on juvenile *Sinonovacula* with larger size is more effective than those with smaller size. All of the five feed microalgae above can be used as good choices during the cultivation of juvenile *Sinonovacula*. Poor results are identified in *Pavlova viridis* and *Nannochloropsis oculata*, which are found to be the inappropriate feed for juvenile *Sinonovacula*. However, not only little feed effect but also some toxic effect is noted in the microalgae named A5. Relative to those feeding with single microalgae the better effects are achieved in mixed feeding with high-quality microalgae. The experimental results of feeding with the mixed microalgae show that the poor-quality feed microalgae can be used as the supplementary when high-quality feed microalgae is short of supply. Feeding microalgae with toxic substance can not be used as natural food during the mixed feeding cultivation.

**Key words:** microalgae; juvenile *Sinonovacula*; screening

(责任编辑 史小丽)