

冷冻浓缩海链藻在南美白对虾育苗中的应用

彭小伟¹, 王兆伟^{1*}, 陈伟耀² (1. 宁波浮田生物技术有限公司, 浙江宁波 315700; 2. 湛江丰联水产有限公司, 广东湛江 524200)

摘要 研究冷冻浓缩海链藻培育南美白对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 幼体效果, 为开发南美白对虾开口饵料提供参考。首先探索了冷冻浓缩海链藻单独以及和配合饲料复合在南美白对虾 Z1、Z2 阶段使用对南美白对虾变态的影响。结果表明, 使用冷冻浓缩海链藻, 南美白对虾可以完成溞状阶段到糠虾阶段的变态。进一步研究南美白对虾 Z1、Z2 阶段单独使用冷冻浓缩海链藻、冷藏普通浓缩海链藻, 以使用新鲜海链藻和虾片作为对照, 每组 2 个重复, 每个重复 3 万尾南美白对虾幼体, 在 500 L 育苗桶中饲养 7 d。结果表明, 在南美白对虾 Z1、Z2 阶段用藻, 3 种状态藻使用效果近似, 相比只使用虾片的组, 均有更高的变态成活率、更短的变态期。冷冻浓缩海链藻可以保证较高的幼体变态存活率, 便于长期保存, 可以作为南美白对虾开口饵料使用。

关键词 冷冻浓缩海链藻; 南美白对虾; 沙虫; 变态; 成活率

中图分类号 S96

文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)16-0065-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.16.018

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Application of Frozen Concentrated *Thalassiosira weissflogii* on *Litopenaeus vannamei* Seedling

PENG Xiao-wei¹, WANG Zhao-wei¹, CHEN Wei-yao² (1. Ningbo Futian Biotechnology Co., Ltd., Ningbo, Zhejiang 315700; 2. Zhanjiang Fenglian Aquatic Products Co., Ltd., Zhanjiang, Guangdong 524200)

Abstract The feeding trial was conducted to study the effects of frozen concentrated *Thalassiosira weissflogii* on the survival rate of *Litopenaeus vannamei* larvae and provide the theoretical basis for shrimp's start-feed. Firstly, the experiment explored the influence of frozen concentrated *Thalassiosira weissflogii* on metamorphosis of *Litopenaeus vannamei* in Z1 and Z2 stages with or not compound feed. The results showed that the metamorphosis of *Litopenaeus vannamei* could be completed from the mure stage to the mysis stage by using the frozen concentrated *Thalassiosira weissflogii*. The experiment further studied the effect of using frozen, cold-stored common concentrated *Thalassiosira weissflogii* on the metamorphosis of *Litopenaeus vannamei* in Z1 and Z2 stages, using fresh non-concentrated *Thalassiosira weissflogii* and shrimp feed treatment group as control. Each group had 2 replicates, and each replicate had 30 000 *Litopenaeus vannamei* larvae, which were raised in a 500 L nursery barrel for seven days. The results showed that using algae in Z1 and Z2 stages of *Litopenaeus vannamei* had higher metamorphosis survival rate than using shrimp feed only. Frozen concentrated *Thalassiosira weissflogii* could ensure high larval metamorphosis survival rate, facilitate long-term preservation, and could be used as start-feed for *Litopenaeus vannamei*.

Key words Frozen concentrated *Thalassiosira weissflogii*; *Litopenaeus vannamei*; *Sipunculus nudus*; Metamorphosis; Survival rate

微藻是一类分布广泛、营养丰富的自养生物, 通常含有 30%~40% 蛋白质、10%~20% 脂肪酸、5%~15% 碳水化合物, 富含 EPA、ARA 和 DHA 等多不饱和脂肪酸, 对幼苗发育具有重要作用, 在鱼、虾、蟹、贝等水产动物育苗中不可或缺^[1]。海链藻属于硅藻门, 含有丰富的蛋白质、维生素、脂肪酸和矿物质, 在育苗中海链藻能显著促进对虾生长发育和免疫力^[2]。

在对虾育苗中, 微藻饵料一般以鲜藻投喂。但鲜活海藻往往由于供应不及时, 与育苗进度脱节, 很难满足育苗中对鲜活饵料的需求。冷藏浓缩藻(0~4 ℃)虽然可以部分缓解供应脱节的问题, 但其保存时间有限, 也不能彻底解决这个问题。因此, 笔者探索冷冻浓缩海链藻对南美白对虾幼体培育中变态存活率的影响, 以期冷冻浓缩海链藻在对虾育苗中的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 配合饲料中添加冷冻浓缩海链藻对虾苗幼体变态的影响 将 750 万虾卵放入 20 m³ 育苗池中孵化, 约 24 h 后用配合饲料结合宁波浮田生物技术有限公司生产的冷冻浓缩海链藻(250 mL/包, 10⁸ cells/mL, -20 ℃ 存储)经 200~250 目筛网搓洗后投喂虾苗; 每 4 h 投喂上述饵料一次, 配合饲料的量根据水体中饵料的残留和虾的摄食情况进行调整, 冷冻藻每

次投 1~2 包。当虾苗进入 Z3 阶段后, 不再投喂冷冻浓缩藻。在整个培育过程中, 2~4 h 取样一次, 镜检, 确定虾苗所处的时期和不同时期虾苗的数量。整个试验阶段水温保持 32 ℃ 左右。试验持续 6 d。

1.2 Z1、Z2 阶段仅投浓缩海链藻对虾苗幼体变态的影响

将 500 万虾卵分别放入 2 个 15 m³ 的育苗池中孵化, 约 24 h 后分别用冷冻和冷藏浓缩海链藻(10⁸ cells/mL, 存放约 7 d, 存储温度 0~4 ℃)经 200~250 目筛网搓洗后投喂虾苗, 直至虾苗进入 Z3 阶段; 进入 Z3 后饵料投喂改为配合饲料。在整个培养过程, 2~4 h 取样一次, 镜检, 确定虾苗所处的时期和不同时期虾苗的数量。整个试验阶段水温保持 32 ℃ 左右。试验持续 6 d。

上述 2 个试验是在广东湛江市东海岛志诚苗厂开展。

1.3 不同状态的海链藻对虾苗变态存活率的影响 试验在广东牧海生物技术有限公司徐闻县下洋基地开展。对照组投喂虾片(简称虾片组), 试验组分别投喂鲜活非浓缩海链藻(浓度 10 万~20 万/mL, 简称鲜活组)、冷冻浓缩海链藻(10⁸ cells/mL, 低于 -20 ℃ 存储, 简称冷冻组)和冷藏普通浓缩海链藻(2×10⁷ cells/mL, 0~4 ℃ 存储, 简称冷藏组)。每个处理组 2 个平行, 每个平行南美白对虾幼体 3 万尾, 育苗水体为 400 L, 试验周期为 6 d(144 h)。

虾卵孵化约 24 h 后开始饵料投喂试验, 此时虾幼体基本进入溞状阶段。幼体培育条件及投喂策略见表 1。其中, 浓缩藻和虾片投喂时要经 200~250 目筛网搓洗投喂。每天

作者简介 彭小伟(1980—), 男, 湖北十堰人, 工程师, 硕士, 从事藻类生理与生态研究。* 通信作者, 高级工程师, 博士, 从事生物工程研究。

收稿日期 2021-10-18

08:00 测量对虾幼体密度,并根据幼体密度调整投饵量。每天 16:00 取一定数量幼体进行镜检,并记录幼体发育变态时间及幼体数量变化。试验过程中维持温度在 32 ℃ 左右。幼体密度采用直接取样计数。

表 1 南美白对虾溞状幼体各期投喂量
Table 1 Feeding amount of daphnia larvae of *Litopenaeus vannamei* at each stage

处理 Treatment	Z1	Z2	Z3
冷冻组 Freezing group	20 mL/次,4 次/d	20 mL/次,4 次/d	使用虾片,1 g/(万尾·d)
冷藏组 Cold storage group	100 mL/次,4 次/d	100 mL/次,4 次/d	使用虾片,1 g/(万尾·d)
鲜活组 Fresh group	10~20 L/次,4 次/d	10~20 L/次,4 次/d	使用虾片,1 g/(万尾·d)
虾片组 Shrimp slices group	0.6 g/(万尾·d)	0.8 g/(万尾·d)	1.0 g/(万尾·d)

2 结果与分析

2.1 配合饲料中添加冷冻浓缩海链藻对虾苗幼体变态的影响

在配合饲料中加入冷冻浓缩海链藻,虾苗在 6 d 发育过

程中经过无节幼体(N,第一次投喂之前,即 0 h 之前)、Z1(0~32 h)、Z2(32~60 h)、Z3(60~116 h)和糠虾(M)3 个阶段(图 1)。

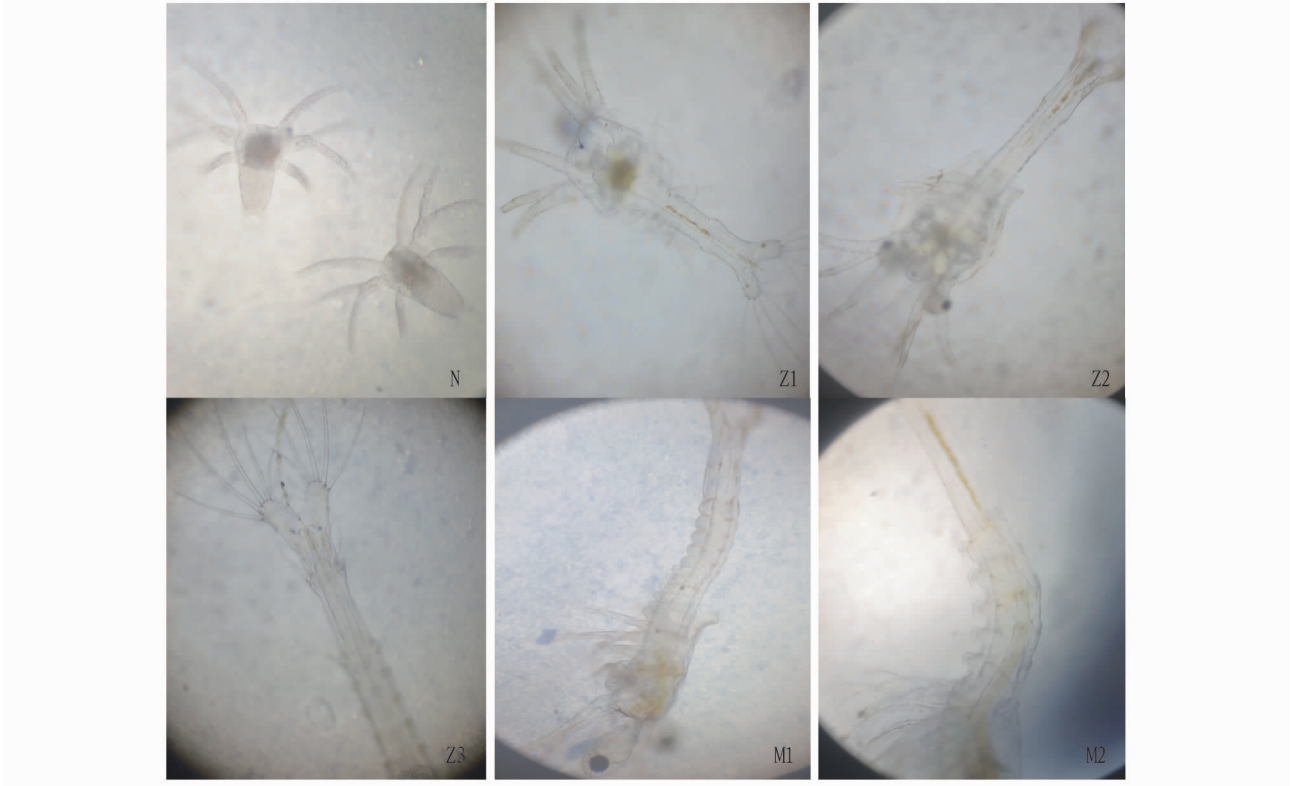


图 1 不同阶段幼体形态
Fig.1 Larval morphology at different stages

无节幼体阶段(N),头胸腹不分节,3 对附肢,靠卵黄生活;溞 1 阶段(Z1),初步形成消化系统(肠道),还没有形成复眼(有雏形);溞 2 阶段(Z2),复眼有眼柄、额剑;溞 3 阶段(Z3),尾部形成尾扇,但腹部无乳头状凸起;糠 1 阶段(M1),腹部形成乳头状凸起;糠 2 阶段(M2),乳头上形成第 2 节。

虾苗幼体各阶段的存活率为溞状成活率 79.7%,糖虾成活率 78.8%。无节幼体是第一次投喂 2~3 h 前的数量;溞状幼体基本上是 Z3 的数量,而糠虾的数量是糠 1 的数量,到糠 3 时可能还会下降。

这表明冷冻藻添加到配合饲料中,不会抑制虾苗的变态发育,虾可以顺利进入 Z3 和糠虾阶段。

2.2 Z1、Z2 阶段仅投喂冷冻海链藻对虾苗幼体变态的影响

虾卵放入育苗池约 24 h 时开始投喂浓缩海链藻。初始

投喂 6 袋,随后根据虾苗池中藻细胞浓度来添加浓缩藻,使池中藻细胞浓度维持在 5×10^3 cells/mL 左右。进入 Z3 阶段才开始投喂配合饲料。

表 2 反映了冷冻组、冷藏组中虾不同时期所处状态。由于两池外界条件基本一致,所以,两池中虾的状态很大程度上可能是由投喂的饵料藻所影响。同时培养的虾苗,冷冻组比冷藏组中虾苗幼体更早进入 Z3 和糠虾阶段。冷冻存储的藻比冷藏存储的藻更有利于虾苗变态。

不同处理组虾苗幼体不同阶段存活率见表 3。由表 3 可知,冷藏组溞状幼体成活率和糠虾成活率均比冷冻组低。这进一步说明冷冻浓缩海链藻可能比冷藏海链藻更适合作为对虾的开口料。

表 2 不同池中虾苗所处周期

Table 2 Period of shrimp fry in different ponds						
类型 Type	N	Z1	Z2	Z3	M	
冷冻浓缩海链藻 Frozen concentrated thalassis	-24—0	0—31	31—54	54—114	114—	
冷藏浓缩海链藻 Refrigerated concentrated thalassis	-24—0	0—31	31—82	82—126	126—	

注:0 h 是初次投入浓缩藻的时间,试验共进行了 134 h,到试验结束的 134 h,冷藏组中还有约 1/5 的虾未完全进入糠虾阶段
Note: 0 h is the first time to put concentrated algae into the experiment. The experiment was conducted for 134 h. by 134 h after the end of the experiment, about 20% of the shrimp in the cold storage group had not fully entered the shrimps stage

表 3 南美白对虾的孵化率和成活率

Table 3 Hatching rate and survival rate of Litopenaeus vannamei						
类型 Type	无节幼体 Nauplius nauplii // 万	溞状幼体 Daphnia larvae // 万	糠虾 Opossum shrimp // 万	溞状成活率 Daphnia survival rate // %	糠虾成活率 Survival rate of opossum shrimp // %	虾苗孵化率 Hatching rate of shrimp // %
冷冻浓缩海链藻 Frozen concentrated thalassis	196	191	182	97.4	92.8	39.2
冷藏浓缩海链藻 Refrigerated concentrated thalassis	209	170	156	81.3	74.6	41.8

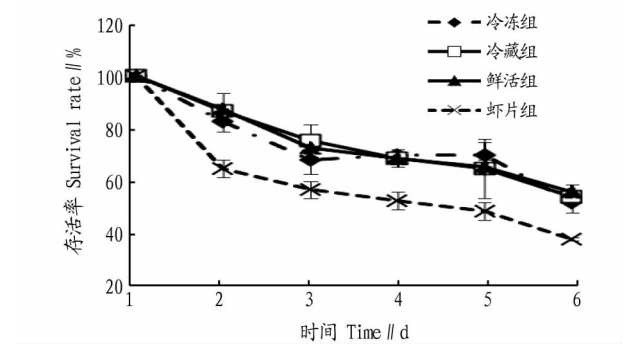


图 2 不同处理下虾苗幼体存活率

Fig.2 Survival rate of shrimp larvae under different treatments

微藻对南美白对虾幼体各期变态的影响见表 4。微藻处理组的变态时间明显比仅投喂虾片的处理组短。到第 4 天时,微藻处理组虾苗幼体基本处于 Z2 向 Z3 的过渡,而虾片组尚处于 Z1、Z2 阶段;到第 6 天,微藻组处于向糠虾过渡阶段,此时虾片组仍处于溞状阶段。

表 4 南美白对虾幼体在饲养下所处的周期

类型 Type	时间 Time					
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天
冷冻浓缩海链藻 Frozen concentrated thalassis	Z1	Z1	Z1、Z2	Z2、Z3	Z3	Z3、M1
冷藏普通浓缩海链藻 Refrigerated concentrated thalassis	Z1	Z1	Z1、Z2	Z2、Z3	Z3	Z3、M1
鲜活非浓缩海链藻 Fresh non concentrated thalassis	Z1	Z1	Z1、Z2	Z2、Z3	Z3	Z3、M1
虾片 Prawn slices	Z1	Z1	Z1、Z2	Z1、Z2	Z2	Z2、Z3

在微藻处理组中,虽然各处理组对南美白对虾幼体各期

2.3 不同状态的海链藻对虾苗变态存活率的影响 随饵料培育南美白对虾时间的增加,各组南美白对虾存活率逐渐降低。6 d 后,冷冻组、冷藏组和鲜活组及虾片组南美白对虾幼体存活率分别为 (52.00±4.00)%、(54.00±2.00)%、(56.00±2.67)%、(38.00±0.67)%。其中,虾片组南美白对虾幼体存活率明显低于海链藻组,后三者之间差别不明显(图 2)。鸿兴虾苗厂(湛江徐闻前山镇)在南美白对虾幼体养殖阶段(溞状阶段),在配合饲料中添加冷藏普通浓缩海链藻 2 瓶/(池·d),相比仅使用配合饲料的池子,南美白对虾摄食率高,生长速度快,活力强,成活率提高 20% 以上。

变态和存活率影响差别不大,但各组加入的藻液体积差别较大。尤其是添加鲜活海链藻的处理组,到第 3 天虾苗计数时,加入的藻液体积几乎是原始苗池水样体积的 50%。在实际生产育苗中,过多藻液体积的添加可能对育苗带来风险,如可能引起应急反应等。

3 结论与讨论

3.1 威氏海链藻饵料营养价值分析 在水产动物育苗过程中,饵料不合适或者营养不足会影响幼体存活率和变态^[3-5]。在该试验条件下,综合幼体变态和存活率等指标表明,投喂海链藻的南美白对虾幼体存活率相对较好,能较为顺利地变态到下一期,且较直接投喂虾片的南美白对虾幼体变态时间更短。这说明试验条件下的海链藻具有足够的营养物质来促使虾苗变态发育。微藻的总脂含量和各种脂肪酸的组成比率,是其营养价值的主要指标^[6]。试验中使用的威氏海链藻,其总脂含量约为 8%,且含有 20% 的 EPA 和 5% 的 DHA^[7],符合南美白对虾生长对脂质的需求(6.0%~7.5%);而其具有的 EPA、DHA 是许多鱼类幼体、对虾幼体和双壳类幼体的必需脂肪酸,可以促进幼体的生长、发育,提高幼体的存活率^[8-10]。在对虾育苗中,角毛藻是一种常用的优质开口饵料。研究表明,威氏海链藻较角毛藻更能提高中国对虾的成活率和蜕变率,并认为该藻中有更高含量的 DHA,且大的细胞个体(7~15 μm),投喂的中国对虾可以获得更多的蛋白质和脂类营养^[11]。总之,威氏海链藻具有良好的营养价值,可以用作南美白对虾的开口饵料。该研究以威氏海链藻投喂日本对虾的幼体同样得到了较好的结果。此外,湛江丰联水产有限公司(湛江雷州覃斗镇)用冷冻浓缩海链藻投喂沙虫也得到了良好的效果:分别用冷冻海链藻和配合饲料投喂沙虫 30 d,投喂冷冻浓缩海链藻组的沙虫生物量相对投喂配

(下转第 93 页)

养殖、林下种植、林药、林木种苗等复合型生态经济,提升土地利用空间,加快生态产业发展^[11]。

2.4 生态文化体系建设潜力 青阳县历史文化源远流长。五千年前新石器时代就有先民在此生息,有文字可考历史达 2 100 余年;明朝时发源于境内的“青阳腔”被奉为天下时尚,后被誉为“京剧鼻祖”,现已列入第一批国家级非物质文化遗产名录^[12];青阳自古即为膏腴之地,有鱼米之乡、桑茶古邑之美誉,其中黄石溪茶曾荣获巴拿马国际食品博览会金奖^[13];九华折扇曾为贡品,现已有 20 余个品种,畅销于国内外市场。青阳县应进一步挖掘地域特色文化内涵,加强自然教育基地建设,增加科普教育设施;完善生态标识系统建设,设计制作青阳县国家森林城市创建 LOGO 标识,积极开展科普教育宣传活动和生态文化节事活动,提高公众对“创森”的知晓率和满意度。创新义务植树尽责形式,增强居民的生态保护意识;继续加大对古树名木的保护力度,营造在全社会形成自觉保护古树名木的良好氛围^[14]。利用各类型生态园、观光园等设置生态主题文化展示区,让森林生态文化进社区入村庄、登广场上课堂,开创人人知生态、人人重生态的生态文明建设新局面。

3 建议

青阳县的森林网络、森林健康、生态福利、生态文化体系等主要指标基本符合国家森林城市建设的评价标准要求^[15],已具备创建国家森林城市的基本条件。在森林城市创建期间,青阳县要坚持贯彻“九华圣境,灵秀青阳”的建设理念,坚持城乡一体化发展要求,继续在“广”“深”“精”上下

(上接第 67 页)

合饲料组的沙虫生物量高约 30%,且投喂冷冻浓缩海链藻组,沙虫摄食更快,活力更高。

3.2 低温冷冻长期保存海链藻的可行性 微藻的营养组成在保存和存储过程中会发生变化,由于脂肪酸是主要营养成分且容易被氧化,所以,脂肪酸尤其是多不饱和脂肪酸中的 EPA 和 DHA 变化尤其受人关注。朱葆华等^[6]在不同温度下储存等鞭金藻和绿色巴夫藻(4、-5、-22 ℃),发现其不饱和脂肪酸不随保存时间的延长发生显著变化,其多不饱和脂肪酸更是趋于稳定,保存没有减少藻细胞脂肪酸的营养价值;王培磊等^[12]研究表明,低温保存 150 d,小球藻和球等鞭金藻多不饱和脂肪酸含量变化不明显,且浓缩保存藻投喂中国对虾和轮虫的效果与普通藻无显著差异。该研究表明,用冷冻的藻泥(低于-20 ℃)或普通浓缩的藻液(0~4 ℃)代替新鲜的藻液是完全可能的。但冷藏浓缩的海链藻(0~4 ℃)投喂虾苗的效果较冷冻浓缩的效果差,推测,虽然其不饱和脂肪酸的营养价值没有降低,但由于藻细胞浓度太高,胞间营养丰富,在相对较高的温度下(0~4 ℃),细胞体内反应和胞外的微生物作用,可能产生了一些对对虾幼体发育有害的物质。藻泥在长期保存后发黑,产生刺激性气体似乎可以佐证这一点。因此,要想长期维持高浓缩海链藻的营养价值,对其采用低温冷冻的方式是可行的也是必须的。

足功夫,进一步拓展绿化空间,扩大绿化规模,提高森林资源质量,做到林业产业生态化、生态建设产业化,产业、经济、绿色同步发展,初步走出了一条“绿水青山和金山银山有机统一”的绿色生态发展之路^[16]。

参考文献

- [1] 百度百科.莲峰云海[EB/OL].[2021-07-25].<http://baike.baidu.com/view/9451242.html>.
- [2] 青阳县林业局.青阳县全国森林旅游示范县申报书[R].2016.
- [3] 刘扬品,楚春晖,熊嘉武,等.茂名市国家森林城市建设现状分析探讨[J].中南林业调查规划,2018,37(3):17-22,62.
- [4] 安徽省林业调查规划院.青阳县森林资源调查报告[R].2014.
- [5] 青阳县林业局.青阳县 2020 年森林资源年报[R].2020.
- [6] 青阳县融媒体中心.青阳县住建工作综述:城市建设硕果累累 幸福指数节节攀升[EB/OL].[2021-12-30].<http://xw.qq.com/cmsid/20211230A0BKXK00>.
- [7] 青阳县林业局.青阳县林业保护发展“十四五”规划[R].2021.
- [8] 曹旭烽.青阳县九华黄精产业发展现状与对策[J].安徽林业科技,2019,45(3):62-63.
- [9] 青阳县人民政府网.青阳县 2020 年国民经济和社会发展统计公报[EB/OL].[2021-07-12].<https://www.aqhq.gov.cn/OpennessContent/show/1094157.html>.
- [10] 黄静,王浩,庞博.优化绿地景观格局促进城市生物多样性保护的实践:以武安市为例[J].金陵科技学院学报,2010,26(3):13-18.
- [11] 吴协保,程鹏,宁小斌,等.陵水黎族自治县国家森林城市创建资源禀赋特色及发展潜力探讨[J].中南林业调查规划,2019,38(4):30-34.
- [12] 百度百科.青阳县[EB/OL].[2021-07-12].<https://baike.baidu.com/item/青阳县>.
- [13] 房芳.青阳县茶产业发展现状及对策[J].安徽农学通报,2017,23(9):20-21.
- [14] 蒋建斌,董建国,朱杰旦,等.慈溪市古树名木资源现状与保护对策[J].浙江林业科技,2012,32(3):58-61.
- [15] 国家市场监督管理总局.中国国家标准化管理委员会.国家森林城市评价指标:GB/T 37342—2019[S].北京:中国标准出版社,2019.
- [16] 詹翔.丽水市政府产业基金运作研究[D].南昌:江西财经大学,2019.

总之,将海链藻产品制成高浓缩的状态,而后冷冻低温存储,可以较好地保存海链藻的影响价值,缓解海链藻生产与育苗环节的脱节。冷冻海链藻可以替代新鲜海链藻用作对虾及其他一些海产动物的良好饵料。

参考文献

- [1] 陈标,雷小婷,卓瑞群,等.两种微藻对凡纳滨对虾幼体成活率的影响[J].生态科学,2017,36(6):78-82.
- [2] 常杰,牛化欣.微藻生物分子的营养生理功能应用研究进展[J].饲料研究,2016(1):11-14,24.
- [3] 史会来,楼宝,毛国民,等.不同饵料对舟山牙鲆仔稚鱼生长发育及存活的影响[J].上海水产大学学报,2008,17(6):680-683.
- [4] 赵春暖,任利群,于涛,等.饵料强化剂对牙鲆苗种繁育期存活及生长的影响[J].安徽农业科学,2021,49(10):89-91,118.
- [5] 李宏,李松,王仁泉,等.不同开口饵料对多鳞白甲鱼仔鱼成活率及生长的影响[J].安徽农业科学,2020,48(7):107-109.
- [6] 朱葆华.饵料用金藻(Golden Algae Used as Food in Aquaculture)低温保存技术的研究[D].青岛:青岛海洋大学,2002.
- [7] 陈文笔,徐继林,周成旭,等.基于脂质组成的滩涂贝类优质饵料微藻筛选和应用[J].生物学杂志,2017,34(2):16-20.
- [8] 陈立侨,江洪波,周忠良,等.ω-3HUFA 对中华绒螯蟹幼体存活率及体脂肪酸组成的影响[J].水产学报,2000,24(5):448-452.
- [9] 梁燕茹,李文权.小球藻饵料的研究进展[J].福建农业学报,2005,20(S1):70-74.
- [10] 林武杰,吴云辉.海洋微藻多不饱和脂肪酸研究进展[J].福建水产,2013,35(1):78-82.
- [11] KIATMETHA P,SIANGDANG W,BUNNAG B,et al.Enhancement of survival and metamorphosis rates of *Penaeus monodon* larvae by feeding with the diatom *Thalassiosira weissflogii*[J].Aquaculture international,2011,19(4):599-609.
- [12] 王培磊,官庆礼,麦康森,等.两种海洋单胞藻浓缩与保存效果的研究[J].海洋湖沼通报,2001(4):12-19.