真鲷饵料生物褶皱臂尾轮虫和眼点拟微绿藻的大量培养

刘新富　　雷霁霖　　刘忠强　　柳学周

(1 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

提要　　于1992~1994年,在中国水科院黄海水产研究所小麦岛试验基地(青岛)进行的"中日合作真鲷增殖放流项目"执行期间,对真鲷饵料生物——眼点拟微绿藻(*Nannochloropsis oculata*)和L型褶皱臂尾轮虫(*Branchionus plicatilis*)进行了大量培养。眼点拟微绿藻的平均接种密度为1 211.3×10⁴个/ml,经5~6 d的室内或室外露天培养即可达到平均为2 341.0×10⁴个/ml的收获密度;采用眼点拟微绿藻和新鲜面包酵母作为混合饵料;褶皱臂尾轮虫(L型)培养3~4 d即可由接种时平均密度148.0个/ml,增长至平均216.8个/ml的采收密度。眼点拟微绿藻和轮虫的日间增殖密度分别是12.8%和26.6%。每生产10⁸个褶皱臂尾轮虫需要消耗0.73 m³眼点拟微绿藻(密度为2 000×10⁴/ml)和790.8 g鲜面包酵母。采用此法,作者连续3 a成功地为每年百万尾以上真鲷苗种提供了足够的生物饵料。总结3 a苗种培育和生物饵料培养之间的关系,作者认为,大规模稳定生产海水鱼类苗种时,育苗与饵料生物培养(褶皱臂尾轮虫和眼点拟微绿藻)水体的合理比例应为1∶1~1.5∶3。

关键词　　饵料生物,褶皱臂尾轮虫,眼点拟微绿球藻,大量培养

过去几十年间,有关褶皱臂尾轮虫及其生物饵料大量培养的报道很多,如Theilacker等1971年,Hino等1993年,Witt等1981年,吉村研治等1992年。尤其值得一提的是吉村等1992年以2 000个/ml的密度和100%的增殖速率连续大量培养褶皱臂尾轮虫的另一种生态类型——S型褶皱臂尾轮虫。据张道南等1983年,陈世杰等1984年,王育等1980年的报道,我国自50年代末开始重视褶皱臂尾轮虫培养研究,并取得一定的进展,但大都是试验性或小水体培养。有关眼点拟微绿藻(*Nannochloropsis oculata*)和褶皱臂尾轮虫L型(以下简称褶皱臂尾轮虫)的大规模生产性培养尚未见有报道。本文系统报道了1992~1994年黄海水产研究所小麦岛基地真鲷增殖放流项目实施期间这两种生物饵料的培养结果,并探讨了眼点拟微绿藻和褶皱臂尾轮虫(L型)大规模培养的模式。

1　材料和方法

1.1　眼点拟微绿藻

1.1.1　藻种来源　眼点拟微绿藻原名眼点微绿藻(*Nannochloris oculata*),属绿藻纲(Chlorophyceae)。1981年Hibberd将其更名为眼点拟微绿藻(*Nannochloropsis oculata*),并划归新建立的真眼点藻纲(Eustigamatophyceae)。本文使用的眼点拟微绿藻是1991年从日本栽培渔业协会伯方岛事业场引进的。

1.1.2　培养设施　保种培养使用500 ml至20 000 ml玻璃瓶若干,扩大培养使用0.2、0.5和1 m³透明玻璃钢水槽若干,2.5 m³FRP水槽4个,室内方形水泥池6个(3.8 m×3.8 m×1.2 m),温室玻璃钢瓦透光率为95%。1993年开始增加使用室外圆形帆布水槽6个(Φ5 m×1.3 m),1994年培养高峰期还使用了对虾育苗车间30~60 m³水体。采用罗茨鼓风机充气,池底铺设每隔5~10 cm打一个Φ1.5 mm~2.0 mm小孔的Φ13 mmPVC管散气。采用分光光度计计数。

1.1.3　培养方法　每年保种培养至3月份开始

采用Batch培养法(一次性培养法)逐步扩大培养。培育用水为过滤全海水,添加有效氯浓度2×10⁻³~3×

* 国家八五攻关课题资助项目85-14-02-07号。
收稿日期:1999-07-06;修回日期:1999-11-18

10^{-3} mg/L 的次氯酸钠溶液曝气一夜后使用。营养盐为硫酸铵、过磷酸钙和柠檬酸铁，每立方消毒海水添加量分别为 100、15 和 0.5 g。接种后经 5～6 d 培养即全部采收，半数用于继续接种培养，半数用于褶皱臂尾轮虫的培养和强化以及真鲷苗种培育。

1.2 褶皱臂尾轮虫

1.2.1 种的来源 本试验分别于 1991 和 1994 年两次从青岛海洋大学水产学院引进同一品系的 L 型褶皱臂尾轮虫（以下简称轮虫），背甲长 222.6～278.2 μm。

1.2.2 培养设施 培养池为室内 6 个方形水泥池（3.4 m×3.4 m×1.2 m）。1994 年生产高峰期还利用了 30～60 m^3 对虾育苗池。充气方法与眼点拟微绿藻相同。采用蒸气锅炉控温。培养时每个培育池内加投 2 块化纤垫（1 m×2 m×0.05 m），以吸附培养中产生的粪便和碎屑污物等。使用潜水泵和 260 目筛绢袋过滤浓缩收集轮虫。每池每日取样 2 ml，碘液固定后解剖镜下浮游生物框计数。

1.2.3 培养方法 采用 Batch 法（一次性培养法）培养，每年 3 月份滞后于眼点拟微绿藻半个月左右即开始扩大培养。培养用水为过滤海水和眼点拟微绿藻，添加淡水将盐度调整至 23～25，温度控制在 25 ℃左右。饵料为眼点拟微绿藻和鲜面包酵母，培养周期为 3～4d，其培养模式见图 1。

1.3 真鲷仔稚鱼培育设施

仔鱼培育池为室内 3 个方形水泥池（4 m×4 m×1.6 m），1994，1995 年生产高峰时还使用了对虾育苗车间的 50～100 m^3 水体。

1.4 统计和计算方法

为便于统计和比较，本文中所用的眼点拟微绿藻体积皆为换算成密度为 $2\,000\times10^4$ 个/ ml 时的体积，日间增殖率的计算公式为：$R=[(N_t-N_0)/N_0]\cdot t$，其中 R 为日间增殖率，N_0 为接种密度，N_t 为培养结束时的密度，t 为培养周期。日采收率的计算公式为：日采收率＝日采收量/日培养总量。褶皱臂尾轮虫卵率的计算公式为：卵率＝轮虫所携卵的总数/ 轮虫的总数。1994 年采用对虾育苗池培育眼点拟微绿藻及褶皱臂尾轮虫，因培育条件及方式差异较大，为方便分析和比较，除在图 2，3 和表 3 中包括这部分结果以外，其余统计和分析并没有包括这一部分。

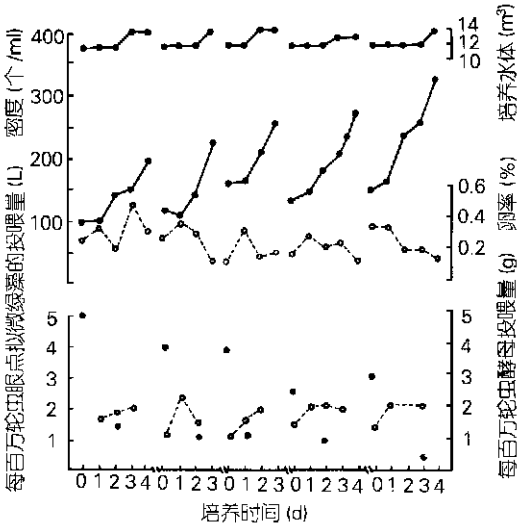

图 1 1992～1994 黄海水产研究所小麦岛基地轮虫培养模式

Fig.1 Culture model of rotifer in the Xiao Maidao station from 1992～1994

2 结果

2.1 眼点拟微绿藻培养结果

3 a 的培养结果如表 1 所示，共计培养 260 d，培养次数为 318 次，总生产量为 3 354.8 m^3，平均接种密度为 $1\,211.3\times10^4$ 个/ ml，平均收获密度为 $2\,341.0\times10^4$ 个/ ml，平均日间增殖率为 13.8%，平均日采收率为 10.6%。

2.2 褶皱臂尾轮虫培养结果

1992～1994 年轮虫生产结果见表 2，共计培养 225 d，总培养次数为 218 次，总生产量为 $2\,856.7\times10^8$ 个，平均接种密度为 148.0 个/ ml，平均采收密度为 216.8 个/ ml，平均日间增殖率为 26.6%，平均卵率为 25.1%，平均单位水体日生产量为 0.30×10^8/ $m^3\cdot d$，平均日采收率为 18%。每生产 10^8 个褶皱臂尾轮虫分别需要消耗眼点拟微绿藻 0.73 m^3 和鲜酵母 0.79 kg。

2.3 真鲷苗种生产结果及各培育水体的比例

1992～1994 年真鲷苗种生产结果及各水体间的比例如表 3 所示。

表 1 19921994 年小麦岛基地眼点拟微绿球藻的培养结果

Tab.1 Production of *N. oculata* in Xiao Maidao research station from 1992 to 1994

开始日期 (年.月.日)	结束日期 (年.月.日)	培养次数 (次)	接种密度 ($\times 10^4$ 个/ml)	采取密度 ($\times 10^4$ 个/ml)	总产量 (m^3)	平均日间增殖率(%)	平均日采收率(%)
1992.4.6	1992.7.3	73	1 166 (6831 932)	2 359 (1 4604 395)	736.5	12.5 (-10.131.3)	10.6
1993.3.24	1993.6.20	130	1 443 (7751 816)	2 484 (1 9833 107)	1 437.0 (6.317.5)	12.2 (-10.131.3)	11.0
1994.3.30	1994.6.14	115	1 025 (6501 517)	2 180 (1 7302 660)	1 181.8	16.8 (2.223.4)	10.2

表 2 19921994 年小麦岛实验站轮虫培养结果

Tab.2 Rotifer production in Xiao Maidao research station from 1992 to 1994

时间 (年.月.日)	培养次数 (次)	平均接种密度 (个/ml)	平均采收密度 (个/ml)	生产量 ($\times 10^8$ 个)	平均单位日生产量 ($\times 10^8$ 个/m^3·d)	日间增殖率 (%)	平均卵率 (%)	眼点拟微绿藻用量 (m^3)	酵母用量 (kg)	平均日采收率 (%)
1992.4.67.1	71	171.7 (90285)	298.5 (148426)	1 236.6	0.38 (0.170.72)	23.4 (-42.7102.3)	21.8 (1.97.02)	511.0	1 067.8	22.4
1993.4.106.20	70	114.4 (43274)	158.2 (67288)	806.1	0.24 (-0.090.47)	32.9 (-98.1500)	28.2 (58.664.7)	792.1	558.7	14.5
1994.4.116.17	77	158.0 (66.6276.7)	193.2 (93.5276)	814.0	0.28 (-0.150.61)	23.5 (-8.361.5)	25.4 (16.044.4)	790.7	632.5	17.5

表 3 19921994 年真鲷苗种产量及其与生物饵料培养水体间的比例

Tab.3 The production of red sea bream juveniles and the tank volume rate between larva, rotifer and *N. oculata* from 1992 to 1994

时间 年	规格 (mm)	尾数 ($\times 10^4$ 尾)	成活率 (%)	褶皱壁尾轮虫投喂量 ($\times 10^8$ 个)	育苗:褶皱臂尾轮虫:眼点拟微绿藻
1992	29.2 (21.636.8)	116.4	32.8 (18.165.4)	1 110.5	1∶0.7∶0.8
1993	25.3 (21.729.2)	123.4	62.5 (55.073.9)	633.0	1∶0.5∶2.0
1994	26.3 (25.427.0)	150.5	55.2 (49.065.7)	1 001.6	1∶0.6∶1.8

3 讨论

3.1 眼点拟微绿藻

眼点拟微绿藻的适应性较强, 即使以较低的密度接种也很容易培养起来。Witt 等 1981 年采用室外水泥池培养 *Nannochloris* sp., 仅仅以 200×10^4 ~ 300×10^4 个/ml 的密度接种, 2~3 d 后密度就可以翻一番,增殖率高达 26.6%~41.4%。但是接种密度和收获密度过低,除培养过程中容易发生污染和单位水体的日生产量较低外,过低的收获密度不利于轮虫

的营养强化和向育苗池中添加。冈内正典 1989 年对日本现行的眼点拟微绿藻的培养方式和结果进行了总结,大多数场家都把 $1\ 000\times10^4$ 个/ ml 和 $2\ 000\times10^4$ 个/ ml 分别作为标准接种密度和采收密度,产量的统计和比较也是以 $2\ 000\times10^4$ 为标准密度的。作者的培育方式和结果,基本上与气候条件相近的日本场家相似。

3.2 褶皱臂尾轮虫的培养

3 a 中除 1993 年外,生产高峰时每天都可稳定供应褶皱臂尾轮虫 20×10^8 以上,培养比较稳定。其中 1992 年单位水体日生产量达 0.38×10^8 个/ $m^3\cdot d$,比 1993,1994 年分别高出 58.3 %和 35.7 %。产生这种差别的主要原因是 1992 年的轮虫在保种期间即进行了长时间高密度驯化培养,而其余两年则没有进行该项工作,并且 1993 年轮虫保种期间感染了霉菌病,大量产出的卵不能孵化,增殖率很低,后虽然采用了 2×10^{-6} 亚甲基兰药浴抑制了霉菌的繁殖,但是大生产的培养结果无论从单位水体的日生产量还是日总培养量的稳定性来看,均不如 1992 和 1994 年。因此,保种期间对轮虫进行高密度驯化和确保轮虫没有染病是十分必要的。

对正常培养的 1992 年和 1994 年 148 例培养结果进行了作图和统计分析,结果如图 2、3 所示。由图 2 可见,褶皱臂尾轮虫的日间增殖率随着接种密度的增加而降低,两者存在如下负线性关系: $Y=60.276-0.222\ 4\ X$, Y 为日间增殖率, X 为接种密度($R^2=0.445\ 1$, $n=148$)。这与马久地隆幸 1989 年得出的 Batch 法培养 L 型褶皱臂尾轮虫,其接种量与增殖率间呈负线性关系的结论是一致的。

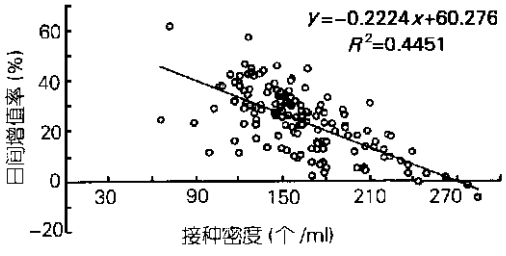

图 2 1992 和 1994 年轮虫日间增殖率和接种密度的关系

Fig.2 The relationship between the daily reproduction rate and inoculation density and of rotifer in 1992 and 1994

因褶皱臂尾轮虫的日间增殖率与接种密度存在上述负相关关系,降低接种密度可以获得较高的日间增率,却不一定能获得最大的生产量。图 3 显示了按 30 个/ ml 递增的区间平均接种密度和单位水体日生产量的关系 $Y=-0.021\ 6\ X^2+0.141\ X+0.122\ 7$, $R^2=0.967\ 1$,其中 Y 为单位水体日生产量, X 为区间平均接种密度。由图 3 可以看出,轮虫单位水体日生产量随着接种密度的增大而逐渐增大,在 120 ~ 150 个/ ml 时达到最大,为 0.40×10^8 个/($m^3\cdot d$),此后单位水体日生产量随着接种密度的增大反而逐渐减少,当接种密度达到 240 ~ 270 个/ ml 时变为零。虽然这 148 例培养中不乏采收密度达到 400 个/ ml 以上的事例,也就是说在轮虫密度达到 300 个/ ml 以后仍然可以继续增殖,但是接种时密度高于 200 个/ ml 的事例结果都不太好,原因可能与水质变化和培养水体内有益菌种的形成有关。当接种密度位于最佳的 120 ~ 150 个/ ml 时,增殖率位于 31.5 % ~ 24.9 %之间,3 ~ 4 d 即可翻一番,达到 250 ~ 300 个/ ml。据 Hino 1993 年的总结,日本各场家利用相似的方式培养褶皱臂尾轮虫时,一般接种密度为 50 ~ 200 个/ ml,培养周期 3 ~ 7 d,收获密度可达 300 ~ 350 个/ ml,与作者的结果相似。

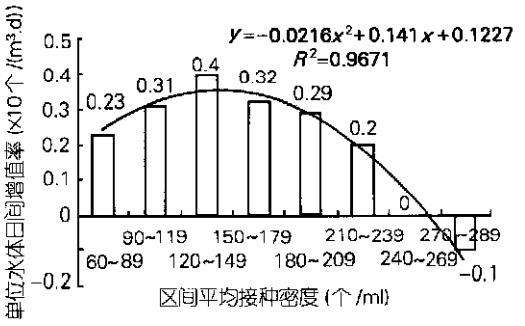

图 3 单位水体日间增殖率与区间平均接种密度的关系

Fig.3 The relationship between daily rotifer production per culture unit and sectional mean inoculation density

由表 3 可见,真鲷苗种培育结果及育苗各阶段培育水体间的比例为:1992 ~ 1994 年每万尾真鲷稚鱼所需的轮虫数量分别是 9.45×10^8、5.13×10^8 和 6.66×10^8 个。据伏见彻 1983 年报道,日本每生产 1 尾真鲷苗种需要耗费 L 型轮虫 155 ~ 270 mg,换算成以数量

的形式表示即为 3.5×10^8 ~ 6.1×10^8 个/10^4 尾(L 型褶皱臂尾轮虫平均湿重为 4.44 mg), 比本文的用量稍低。当然因苗种培育成活率及饲育方式的不同, 苗种培育时所消耗轮虫的量会有所差别, 例如低成活率和早期大的换水量, 都可以引起褶皱臂尾轮虫消费量增大。Tsajigodo 1993 年根据日本海水鱼类苗种培育设施的现状, 提出海水鱼类苗种培育各水体间在满足苗种培育: 轮虫: 微藻 =1∶ 1∶ 2.5 的比例时苗种培育才会较为稳定。由表 3 可知, 3 年间的生物饵料眼点拟微绿藻和褶皱臂尾轮虫的培养水体比例远远小于这个标准。虽然如此, 作者还是连续 3 年稳定地为每年生产 100×10^4 尾以上真鲷苗种提供了充足稳定的生物饵料, 但是如果生物饵料的培养水体相对于苗种培育的水体比例过小, 则对生物饵料培养效率和稳定性要求较高, 考虑到国内海水鱼类苗种生产的实际情况和生物饵料培养技术水平, 作者认为目前我国海水鱼类苗种培育中, 苗种培育、轮虫和微藻的培养水体比例应控制在 1∶ 1 ~ 1.5∶ 3 左右, 有条件的话尽可能增大微藻的培养水体, 以稳定育苗技术。

参考文献(略)

MASS CULTURE OF *Nannochloropsis oculata* AND THE ROTIFER *Branchionus plicatilis* AS LIVING DIETS FOR RED SEA BREAM

LIU Xin-fu[1] LEI Ji-lin[1] LIU Zhong-qiang[1] LIU Xue-zhou[1] Matsumoto Jun[2] Imura Daisuke[2]

([1] *Yellow Sea Fishery Research Institute, Qingdao 266071*)

([2] *Japanese Fishery Cooperation Foundation, Tokyo*)

Received: Jul. 6, 1999

Key Words: *Nannochloropsis oculata*, *Branchionus plicatilis*, Living diets, Mass culture

Abstract

This paper reported the result of mass culture of *Nannochloropsis oculata* and the rotifer *Branchionus plicatilis* (L type) as living diets for red sea bream larva with batch culture method during 1992 to 1994 in Xiao Maidao Station of Yellow Sea Fishery Research Institute in Qingdao, P.R. China. The batch culture results of *N. oculata* and the rotifer as living diets for over one million red sea bream seedlings are reported: The mean inoculation density of *N. oculata* is 1.211×10^7 cells/ml and the mean harvesting density 2.341×10^7 cells/ml can be reached after an indoor or out-door cultivation period of 5 to 6 days. An mean inoculum of 148.0 inds./ml rotifers yielded mean harvesting density of 216.8 inds./ml after 3 to 4 days cultivation with *N. oculata* and bread yeast as mixed diet. The mean daily reproduction rates of the *N. oculata* and the rotifers were 12.8% and 26.6% respectively. To produce 1.0×10^8 individuals of rotifers needs to consume 0.73 m^3 (2.0×10^7 cells/ml) of *N. oculata* and 790.8 g wet weight of bread yeast. Employing this culture method, we have successfully supplied enough *N. oculata* and rotifers for the reproduction of over one million red sea bream seedlinds in consecutively three years from 1992 to 1994. In order to synchronize the stable production of the living diets and the red sea bream seedlings, the rational rate of culture volumes of red sea bream seedlings, rotifers and the *N. oculata* is should be 1∶ 1.0-1.5∶ 3.

(本文编辑:刘珊珊)