



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目： 三种单胞藻粉在室内卤虫养殖中的应用
作者： 迟庆雷，高美荣，加晶，龙菲平，吴星宇，隋丽英
DOI： 10.13364/j.issn.1672-6510.20230232
收稿日期： 2023-12-12
网络首发日期： 2024-09-30
引用格式： 迟庆雷，高美荣，加晶，龙菲平，吴星宇，隋丽英. 三种单胞藻粉在室内卤虫养殖中的应用[J/OL]. 天津科技大学学报.
<https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20230232>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20230232

三种单胞藻粉在室内卤虫养殖中的应用

迟庆雷^{1,2}, 高美荣³, 加晶^{1,2}, 龙菲平^{1,2}, 吴星宇^{1,2}, 隋丽英³(1. 国投生物科技投资有限公司, 北京 100034; 2. 微藻生物能源与资源北京市重点实验室, 北京 100142;
3. 天津科技大学海洋与环境学院, 天津 300457)

摘要: 以三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*)、湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*) 和佐夫色绿藻 (*Chromochloris zofingiensis*) 干粉为研究对象, 探索合适的卤虫养殖条件, 评价饵料单胞藻对卤虫营养和相关酶活性的影响。研究结果明确了三角褐指藻和湛江等鞭金藻的最适投喂量, 且盐度 70 较盐度 30 有利于卤虫存活, 低投放密度 (0.1 L^{-1}) 卤虫存活率和生长均高于高投放密度 (0.5 L^{-1}) 组。在初始卤虫密度 0.1 L^{-1} 和盐度 70 条件下进行 40 L 水体卤虫养殖, 发现投喂佐夫色绿藻组卤虫存活率 (64.0%) 和体长 ($6.96 \pm 1.00 \text{ mm}$) 均显著高于投喂三角褐指藻和湛江等鞭金藻组卤虫。卤虫的营养组成 (以干质量计) 与饵料单胞藻的营养密切相关, 投喂佐夫色绿藻组卤虫粗脂肪含量较高 (15.9%)、粗蛋白含量较低 (50.44%), 而投喂三角褐指藻和湛江等鞭金藻的卤虫粗蛋白含量较高 (分别是 60.22% 和 60.91%)、粗脂肪含量较低 (分别是 4.39% 和 4.62%)。投喂三角褐指藻组卤虫 EPA 含量最高 (9.47 mg/g), 投喂湛江等鞭金藻组卤虫 DHA 含量最高 (0.3 mg/g)。投喂佐夫色绿藻的卤虫总抗氧化能力、总超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性高于其他组。

关键词: 单胞藻; 卤虫养殖; 高度不饱和脂肪酸

中图分类号: S963.21

文献标识码: A

Application of Three Stains of Microalgae Powder in Indoor *Artemia* Culture

CHI Qinglei^{1,2}, GAO Meirong³, JIA Jing^{1,2}, LONG Feiping^{1,2}, WU Xingyu^{1,2}, SUI Liying³

(1. SDIC Biotechnology Investment Co., Ltd., Beijing 100034, China; 2. Beijing Key Laboratory of Algae Biomass, Beijing 100142, China; 3. College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In this paper, three commercially produced microalgae powder *Phaeodactylum tricornutum*, *Isochrysis zhanjiangensis* and *Chromochloris zofingiensis* were applied to *Artemia* culture, to study the optimum culture conditions and to evaluate the nutrition quality and enzyme activity of the *Artemia* biomass. The optimal feeding level were clarified for *P. tricornutum* and *I. zhanjiangensis*. It also showed that 70 salinity resulted higher survival than that at 30 salinity, and survival rate and body length of *Artemia* with low stocking density (0.1 L^{-1}) were higher than those with high stocking density (0.5 L^{-1}). When *Artemia* were cultured at salinity 70 and stocking density 0.1 L^{-1} in 40 L volume, *C. zofingiensis* feeding resulted significantly higher *Artemia* survival rate (64.0%) and body length ($6.96 \pm 1.00 \text{ mm}$) than other two microalgae feeding. The nutritional composition of *Artemia* were relevant to those of microalgae. The crude fat content of *Artemia* fed with *C. zofingiensis* had much higher lipid content (15.9%) and lower crude protein content (50.44%) when compared to those fed with *P. tricornutum* and *I. zhanjiangensis* (4.39% and 4.62% for crude fat content, 60.22% and 60.91% for protein content, respectively). *Artemia* fed with *P. tricornutum* had the highest EPA content (9.47 mg/g), while *Artemia* fed with *I. zhanjiangensis* had the highest DHA content (0.3 mg/g) was obtained in *C. zofingiensis* feeding *Artemia*. Moreover, *C. zofingiensis* feeding also resulted the highest total antioxidant capacity, total superoxide dismutase,

收稿日期: 2023-12-12; 修回日期: 2024-05-13

基金项目: 国家外国专家人才类项目 (DL2021002001L)

作者简介: 迟庆雷 (1981—), 男, 高级工程师; 通信作者: 隋丽英, 教授, suily@tust.edu.cn

acid phosphatases and alkaline phosphatase activities of *Artemia*.

Keywords: microalgae; *Artemia* culture; highly unsaturated fatty acids

卤虫 (*Artemia*) 是经济水产动物苗种重要的生物饵料, 随着全球水产养殖产量和人工培育的水产苗种产量的持续增加, 对卤虫资源的需求量逐年增加^[1]。卤虫是小型浮游动物, 其生长和繁殖取决于环境温度、盐度和饵料丰富度。在自然界, 卤虫从初孵 I 期无节幼体 (*instar I Artemia nauplii*, 体长 400~600 μm) 发育至成虫 (*Artemia biomass*, 体长 1000~1500 μm) 最短需要 2~3 周, 成熟的雌性卤虫以卵生 (产休眠卵) 和卵胎生 (产幼体) 的方式繁殖后代^[2]。在育苗生产中, 通常使用卤虫幼体和成虫饲喂水产动物幼苗。卤虫无节幼体由去休眠卤虫卵孵化而来, 主要用于投喂鱼虾蟹的早期苗种; 而卤虫成虫大多以冷冻的形式投喂对虾亲虾、仔虾或幼鱼, 少数育苗场 (如渤海湾沿岸育苗场) 在每年的 5~10 月使用新鲜采收的卤虫成虫直接投喂。

不同种类和发育阶段的水产动物苗种对卤虫大小和营养的需求有所不同^[3-5]。采收的野生卤虫休眠卵和成虫存在营养不稳定、成虫虫体大小不均一等问题, 其生物安全性也值得考量。人工卤虫养殖可通过人为调控饵料营养、培养时间和水质条件, 获得营养、体长和生物安全等质量可控卤虫产品, 满足不同发育阶段水产苗种的需求, 对规模化养殖经济动物的活饵料供给起到保障作用。

卤虫幼体和成虫含有丰富的蛋白质、脂肪、微量元素和类胡萝卜素等^[6], 其营养组成和营养物质含量与所摄食的饵料关系密切^[2]。单胞藻中富含多糖、脂类、蛋白质、维生素、多种微量元素和类胡萝卜素^[7], 不仅是水产养殖动物幼苗生长和存活的优质生物饵料^[8], 而且在水产育苗水质调控和促进苗种免疫力提升等方面也发挥重要作用^[9]。作为水生生物食物链的初级生产者, 单胞藻也是浮游动物卤虫的优质饵料。扁藻或扁藻和绿色巴夫藻搭配养殖卤虫, 可以提高卤虫的成活率和生殖力^[10]。通过比较单一盐藻、淡水藻以及螺旋藻在卤虫养殖中的效果, 发现盐藻养殖效果最佳^[11]。本研究以湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*) (IZ)、佐夫色绿藻 (*Chromochloris zofingiensis*) (CZ) 和三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) (PT) 为研究对象, 通过评价卤虫存活和生长, 明确合适的投喂量、养殖密度和盐度, 研究三种单胞藻对卤虫主要营养组成和酶活力的影响, 为单胞藻在高密度卤虫养殖中的有效应用提供数据参考。

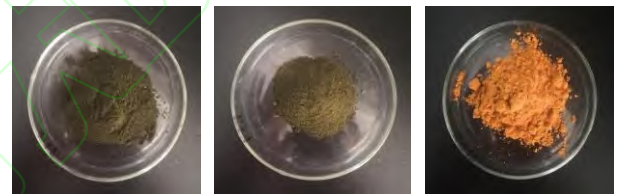
1 材料与方法

1.1 卤虫孵化与收集

采用美国大盐湖 GSL 卤虫卵 (*Artemia franciscana*)。卤虫卵孵化条件为^[5]: 28 $^{\circ}\text{C}$, 持续光照 2000 lux, 盐度 30 海水晶配制的人工海水, 从孵化容器底部进行连续充气, 卵密度为 2 g/L。孵化 24 h 后将卤虫无节幼体与未孵化的卵和卵壳分离出来, 用 300 目 (孔径 45 μm) 筛网收集, 用稀释卤水 (盐度 30 g/L) 充分冲洗, 收集过程中避免对卤虫无节幼体造成损伤。

1.2 单胞藻

采用湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*) (IZ)、佐夫色绿藻 (*Chromochloris zofingiensis*) (CZ) 和三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) (PT) 投喂卤虫, 单胞藻产品由国投生物科技投资有限公司提供 (图 1)。



a. 三角褐指藻; b. 湛江等鞭金藻; c. 佐夫色绿藻

图 1 实验用单胞藻藻粉

Fig. 1 Microalgae powder used in experiments

称取一定量的藻粉于一定体积的稀释卤水 (30) 中, 在 DM500 型显微镜 (德国 Leica 公司) 下测定藻细胞大小 (每种单胞藻分别测定 200 个藻细胞, 取平均数) 和藻细胞数量。细胞大小分别为: 三角褐指藻 8~20 μm , 湛江等鞭金藻 4~7 μm , 佐夫色绿藻 9~25 μm 。单位质量藻粉中的藻细胞数量为三角褐指藻 $1.8 \times 10^{10} \text{ g}^{-1}$; 湛江等鞭金藻 $2.6 \times 10^{10} \text{ g}^{-1}$, 佐夫色绿藻 $3.1 \times 10^9 \text{ g}^{-1}$ 。

1.3 不同投喂水平对卤虫生长的影响

卤虫孵化 24 h 后收集健康的卤虫无节幼体, 随机进行分组, 移取卤虫无节幼体至 1 L 实验单位水体中, 初始卤虫投放密度为 0.1 mL^{-1} 。养殖盐度为 30, 温度为 $(28 \pm 1) ^{\circ}\text{C}$, 每 2 d 换水 1 次 (换水量为 50%), 养殖 14 d。佐夫色绿藻和三角褐指藻的藻细胞大小相近, 因此在此部分选择藻细胞较大的三角褐指藻和藻细胞较小的湛江等鞭金藻进行研究。参照 Vanhaecke 等^[12]的投喂标准, 针对三角褐指藻和湛江

等鞭金藻设置 4 个投喂水平, 每个投喂水平 3 个平行, 每天分 3 次 (9:00、15:00 和 21:00) 投喂卤虫 (表 1)。养殖过程中的投喂量根据卤虫密度进行适当调整 (表 1)。

表 1 每只卤虫三角褐指藻和湛江等鞭金藻的投喂水平

Tab. 1 The feeding level of *P. tricornutum* and *I. zhanjiangensis*

时间/d	投喂水平/10 ⁴ d ⁻¹							
	三角褐指藻				湛江等鞭金藻			
	PT-1	PT-2	PT-3	PT-4	IZ-1	IZ-2	IZ-3	IZ-4
1	0.6	1.3	2.5	5.0	1.3	2.5	5.0	10.0
2	1.9	3.8	7.5	15.0	3.8	7.5	15.0	30.0
3	2.9	5.8	11.7	23.3	5.8	11.7	23.3	46.7
4	4.2	8.3	16.7	33.3	8.3	16.7	33.3	66.7
5	6.3	12.5	25.0	50.0	12.5	25.0	50.0	100.0
6	8.3	16.7	33.3	66.7	16.7	33.3	66.7	133.3
7	12.5	25.0	50.0	100.0	25.0	50.0	100.0	200.0
8	14.58	29.2	58.3	116.7	29.2	58.3	116.7	233.3
9	15.0	30.0	36.0	45.0	30.0	60.0	72.0	90.0
10	15.8	31.7	38.0	47.7	31.7	63.3	76.0	95.0
11-14	15.8	31.7	38.0	47.7	31.7	63.3	76.0	95.0
总投喂量	145.4	290.9	431.0	693.4	290.9	581.7	862.0	1385.0

1.4 卤虫密度对卤虫生长的影响

根据前期研究结果, 将卤虫幼体初始密度分别设置为 0.1 mL⁻¹ 和 0.5 mL⁻¹, 每个密度组设 3 个平行。卤虫养殖盐度 70, 温度 (28±1) °C, 充气强度根据卤虫的生长阶段由低到高适量调整。投放密度为 0.1 mL⁻¹ 组投喂量参照 1.4 中 PT-3 和 IZ-3, 投放密度为 0.5 mL⁻¹ 组投喂量为 0.1 mL⁻¹ 组的 2 倍。养殖周期 30 d, 单位水体 8 L。每天清除底部污物, 每 2 d 换水 1 次 (换水量为 50%)。每天 9:00、15:00 和 21:00 投喂卤虫。

1.5 盐度对卤虫生长的影响

卤虫养殖用水由天津长芦汉沽盐场卤水稀释而得。养殖水体盐度分别设置为天然海水盐度 (30) 和野外盐池卤虫种群出现的最低盐度 (70), 每个盐度组设 3 个平行。养殖卤虫幼体初始密度为 0.1 mL⁻¹, 充气强度根据随卤虫生长由低到高适量调整。养殖温度 (28±1) °C, 养殖周期 9 d, 单位水体 1 L, 投喂湛江等鞭金藻。每天清除底部污物, 每 2 d 换水 1 次 (换水量为 50%)。投喂量表 1 中 IZ-3, 每天 9:00、15:00 和 21:00 投喂。

1.6 三种单胞藻对卤虫生长的影响

分别用佐夫色绿藻、三角褐指藻、湛江等鞭金藻投喂卤虫, 每种饵料投喂设 3 个平行。卤虫幼体初始密度为 0.1 mL⁻¹, 盐度 70, 温度 (28±1) °C,

充气强度随卤虫生长由低到高适量调整, 养殖周期为 18 d, 单位水体 40 L。每天清除底部污物, 每 2 d 换水 1 次 (换水量为 50%)。每天 9:00、15:00、21:00 投喂卤虫, 投喂量参照表 1 中 IZ-3。

1.7 指标分析

1.7.1 存活率测定

养殖结束后, 每个养殖罐中随机取水样 100 mL, 共取样 4 次, 记录每组卤虫存活数, 计算卤虫存活率。

1.7.2 卤虫体长测定

养殖结束后, 每桶随机取 20 只卤虫, 在 SZX12 型体视显微镜 (舜宇光学科技(集团)有限公司) 下测量体长 (即从头部顶端到尾部分叉端的距离), 计算平均体长。

1.7.3 营养组成

1.7.3.1 单胞藻粉营养指标测定

参照 GB/T 6433—2006《饲料中粗脂肪的测定》, 采用索氏抽提法进行粗脂肪含量的测定。采用液相色谱法进行色素含量的测定。

1.7.3.2 卤虫营养指标测定

将收集卤虫在 -80 °C 冷冻 24 h 以上, 再进行 24 h 冷冻干燥。

精确称取冻干样品约 0.03 g, 加入 1 mg 脂肪酸内标 C20:2 (n-6)。分别加入 5 mL 甲醇与甲苯体积比为 3:2 的溶液、5 mL 新鲜配制氯乙酰与甲醇体

积比为 1 : 20 的溶液, 充分匀浆后 100 °C 煮沸 1 h 进行脂肪酸甲酯化, 用正己烷萃取脂肪酸甲酯并浓缩。用 GC-2014 型气相色谱 (日本岛津公司) 进行脂肪酸组成和含量测定^[4]。

参照 GB/T 6432—2018 《饲料中粗蛋白的测定 凯氏定氮法》进行粗蛋白含量的测定; 参照 GB/T 6433—2006 《饲料中粗脂肪的测定》的索氏抽提法进行粗脂肪含量的测定。

1.7.4 酶活力

收集卤虫, 用无菌海水冲洗 3 次去除体表附着物, -80 °C 保存。使用试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定卤虫总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (T-SOD)、酸性磷酸酶 (ACP) 和碱性磷酸酶 (AKP) 活力。

1.8 数据处理

卤虫存活率、体长、生物量和酶活力数据均以“平均值±标准差”表示。使用 SPSS 25.0 统计分析软件对以上数据进行 ANOVA 单因素分析和 Duncan's 多重比较分析 ($P < 0.05$)。采用 *t* 检验对存活率和体长数据进行差异性检验, 不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 单胞藻粉的粗蛋白、岩藻黄素、虾青素和脂肪酸含量

湛江等鞭金藻粗蛋白含量最高 (39%), 佐夫色绿藻粗蛋白含量最低 (19%); 三角褐指藻和湛江等鞭金藻含有岩藻黄素, 含量分别为 1.3% 和 1.5%, 而佐夫色绿藻中含有虾青素 (0.03%)。对脂肪酸含量而言, 三角褐指藻 EPA 含量最高 (37.53 mg/g), 湛江等边金藻 DHA 含量较高 (14.85 mg/g), 佐夫色绿藻 C16:0、C18:1 和 C18:2 含量均最高, 分别为 59.58 mg/g、210.30 mg/g 和 82.17 mg/g。

表 2 三种单胞藻粉主要营养成分及含量

Tab. 2 Main nutritional components of microalgae

		三角褐指藻	湛江等边金藻	佐夫色绿藻
粗蛋白 (%)		31	39	19
岩藻黄素 (%)		1.3	1.5	-
虾青素 (%)		-	-	0.03
脂肪酸组成及含量/(mg/g)	C14:0	11.14	31.62	0.94
	C14:1 (n-5)	0.70	1.45	0.07
	C15:0	0.41	0.73	0.25
	C15:1 (n-5)	0.88	1.08	0.60
	C16:0	15.70	17.77	59.58

C16:1 (n-7)	27.93	10.61	6.90
C17:0	0.08	0.12	1.00
C17:1 (n-7)	6.42	1.08	2.03
C18:0	0.67	0.41	18.19
C18:1 (n-9)	5.82	15.14	210.30
C18:2 (n-6)	3.45	11.85	82.17
C18:3 (n-6)	1.02	36.07	28.45
C18:3 (n-3)	1.28	21.67	2.29
C20:0	0.25	0.03	2.55
C20:1 (n-9)	0.27	9.22	8.44
C20:4 (n-6)	1.35	0.70	0.24
C20:3 (n-3)	0.32	0.13	1.32
C20:5 (n-3)	37.53	1.54	4.58
C22:0	0.10	0.43	0.59
C22:1	0.41	0.85	0.47
C23:0	1.58	0.63	1.29
C22:6 (n-3)	3.83	14.85	0.42
总脂肪酸	121.21	178.47	432.79

2.2 不同单胞藻投喂水平对卤虫存活和生长的影响

分别于养殖第 7 d 和 14 d, 测定卤虫存活率。结果表明, 第 7 d 时投喂三角褐指藻组存活率均高于投喂湛江等鞭金藻, PT-3 组 (100%) 显著高于其他各组 ($P < 0.05$); 养殖第 14 d, 投喂三角褐指藻 PT-3 (87.0±5.3%) 组存活率显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。养殖结束时, 投喂湛江等鞭金藻 IZ-4 组卤虫体长 (5.01±1.81 mm) 显著高于其他组 ($P < 0.05$)。投喂湛江等鞭金藻 IZ-3 组总生物量 (511.5±65.91 mg) 显著高于其他各组 (表 3)。总生物量与总投喂量的比值表明, PT-2 与 IZ-1 的饵料转化率最高, 且湛江等鞭金藻的饵料转化率较三角褐指藻高。综上, 确定了两种藻的最适投喂量分别为 PT-3 和 IZ-3。

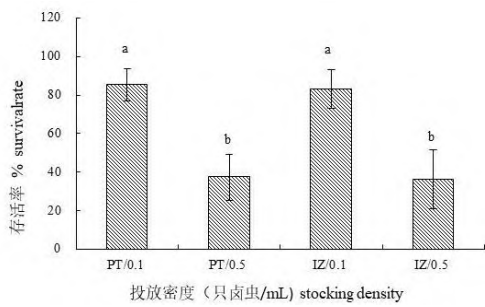
2.3 养殖密度对卤虫存活和生长的影响

投喂两种单胞藻, 低密度卤虫组 (0.1 mL⁻¹) 存活率均显著大于高密度卤虫组 (0.5 mL⁻¹) ($P < 0.05$)。相同密度情况下, 投喂两种藻组卤虫存活率没有显著性差异。而投喂湛江等鞭金藻低密度 (0.1 mL⁻¹) 组卤虫体长最大 (6.32±0.87 mm), 但与其他组没有显著性差别 (图 2)。

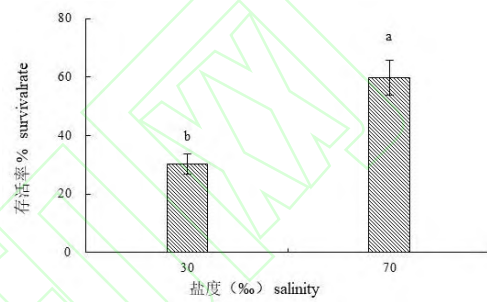
表 3 不同微藻投喂水平对卤虫存活率、体长和总生物量的影响

Tab. 3 Effects of different feeding levels on the survival percentage, body length and total biomass of *Artemia*

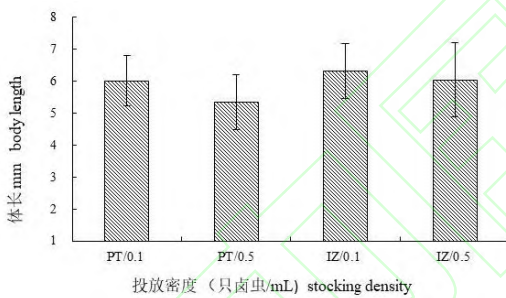
组别		存活率/%		体长/mm	总生物/mg	总生物量/总投喂量
三角褐指藻	PT-1	81.7±17.8 ^{abc}	62.0±21.1 ^{ab}	2.72±0.25 ^b	58.70±18.1 ^c	40.4
	PT-2	93.3±11.6 ^{ab}	56.0±21.7 ^{ab}	2.95±0.46 ^b	149.5±32.86 ^{bc}	51.4
	PT-3	100^a	87.0±5.3^a	2.74±0.81^b	204.5±4.68^{abc}	47.4
	PT-4	99.2±1.4 ^a	68.0±19.2 ^{ab}	2.57±0.15 ^b	256.8±33.8 ^{abc}	37.0
湛江等鞭金藻	IZ-1	74.9±3.3 ^{bc}	74.0±8.7 ^{ab}	3.35±0.47 ^{ab}	198.8±20.14 ^{abc}	68.4
	IZ-2	75.8±14.0 ^{bc}	67.3±11.9 ^{ab}	3.29±0.74 ^{ab}	387.5±47.67 ^{ab}	66.6
	IZ-3	73.3±6.3^c	47.3±4.9^b	3.75±1.89^{ab}	511.5±65.91^a	59.3
	IZ-4	49.2±2.9 ^d	45.7±30.0 ^b	5.01±1.81 ^a	444.0±292.17 ^{ab}	32.1



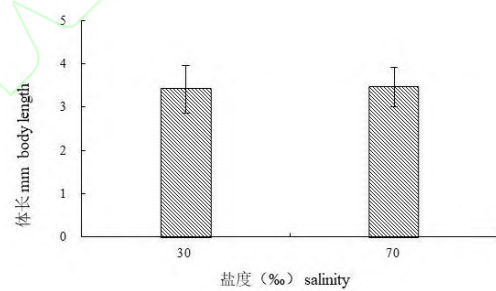
(a) 存活率



(a) 存活率



(b) 体长



(b) 体长

图 2 养殖密度对卤虫存活率和体长的影响

图 3 盐度对卤虫存活率和体长的影响

Fig. 2 Effects of stocking density on survival percentage and body length of *Artemia*

Fig. 3 Effects of salinity on the survival percentage and body length of *Artemia*

2.4 盐度对卤虫存活和生长的影响

相同投喂水平下养殖 9 d 后, 盐度 70 组存活率 (59.78%) 显著高于盐度 30 组存活率 (30.22%) (图 3) ($P < 0.05$)。盐度 30 组和盐度 70 组卤虫体长分别为 (3.42±0.55) mm 和 (3.46±0.45) mm, 无显著差异 ($P > 0.05$) (图 3)。

2.5 三种单胞藻对卤虫存活、生长和营养组成的影响

2.5.1 卤虫的存活和生长

养殖 18 d 后, 投喂佐夫色绿藻组卤虫存活率 (64.0%) 显著高于其他两组, 投喂三角褐指藻组卤虫存活率最低 (20.0%) ($P < 0.05$) (图 4)。投喂佐夫色绿藻卤虫体长 (6.96±1.00 mm) 显著高于其余两组。投喂三角褐指藻组卤虫体长 (6.35±0.93 mm) 与投喂湛江等鞭金藻组卤虫体长 (6.19±1.30 mm) 两者没有显著性差异 ($P > 0.05$)。

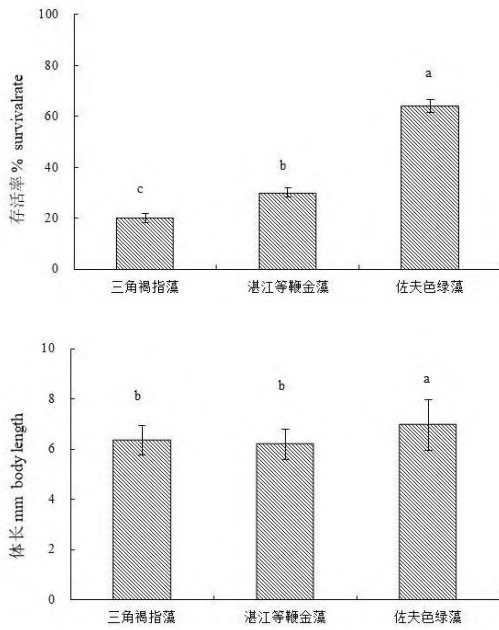


图 4 不同微藻对卤虫存活率(上)和体长(下)的影响
Fig. 4 Effects of different microalgae on survival percentage (up) and body length (down) of *Artemia*

2.5.2 卤虫营养组成

培养 18 d 后, 投喂三角褐指藻和湛江等鞭金藻的卤虫粗蛋白含量分别是 60.22% 和 60.91%, 投喂佐夫色绿藻组卤虫蛋白质含量偏低 (50.44%)。投喂佐夫色绿藻组卤虫粗脂肪含量最高 (15.9%), 湛江等鞭金藻和三角褐指藻卤虫的粗脂肪含量分别为 4.62% 和 4.39%。投喂三角褐指藻卤虫 EPA 含量最高 (9.47 mg/g), 投喂湛江等鞭金藻卤虫 DHA 含量最高 (0.3 mg/g); 投喂佐夫色绿藻卤虫 EPA 含量 (1.16 mg/g) 和投喂三角褐指藻组卤虫 DHA 含量 (0.16 mg/g) 最低。投喂佐夫色绿藻卤虫 C18:1 n-9、C18:2 n-6 以及总脂肪酸含量最高, 为 116.10、24.69、190.97 mg/g (表 4)。

表 4 不同微藻投喂卤虫的粗蛋白和粗脂肪含量、脂肪酸组成及含量

Tab. 4 Crude protein content, crude fat content and fatty acid profile of *Artemia* fed different microalgae

	三角褐指藻组	湛江等鞭金藻组	佐夫色绿藻组	
粗蛋白含量 (%)	60.22	60.91	50.44	
粗脂肪含量 (%)	4.39	4.62	15.9	
脂肪酸组成及含量 (mg/g)	C14:0	1.46	1.73	0.89
	C14:1 (n-5)	0.71	0.72	0.53
	C15:0	0.30	0.34	1.12
	C15:1 (n-5)	0.13	0.17	0.26

C16:0	8.42	5.81	17.86
C16:1 (n-7)	9.27	2.77	7.02
C17:0	0.57	1.15	0.59
C17:1 (n-7)	0.59	0.37	0.37
C18:0	4.84	3.88	6.98
C18:1 (n-9)	13.82	11.14	116.10
C18:1 (n-7)	9.88	8.06	-
C18:2 (n-6)	2.78	3.28	24.69
C18:3 (n-6)	0.93	4.71	6.82
C18:3 (n-3)	0.50	1.27	0.40
C20:0	0.41	0.07	0.58
C20:1 (n-9)	0.48	0.25	4.61
C21:0	0.19	0.29	0.14
C20:4 (n-6)	1.08	1.35	0.38
C20:3 (n-3)	0.19	0.58	0.04
C20:5 (n-3) (EPA)	9.47	2.68	1.16
C22:1	0.50	0.17	0.26
C22:6 (n-3) (DHA)	0.16	0.30	0.17
总脂肪酸	66.68	51.09	190.97

2.5.3 酶活力测定

培养 18 d 后, 不同微藻投喂卤虫的 T-AOC、T-SOD、ACP 和 AKP 活力有所不同, 其中投喂佐夫色绿藻卤虫除 AKP 活性与投喂湛江等鞭金藻没有显著性差异外, 其余 T-AOC、T-SOD 和 ACP 活性 (5.79 U.mg⁻¹ prot、48.50 U.mg⁻¹ prot、0.21 U.mg⁻¹ prot) 均显著高于其他组 (P<0.05) (表 5)。

表 5 不同微藻投喂卤虫的抗氧化能力和免疫酶活性
Table 5 Effects of different microalgae on T-AOC, T-SOD, ACP and AKP activity of *Artemia*

	三角褐指藻组	湛江等鞭金藻组	佐夫色绿藻组
T-AOC/ U.mg ⁻¹	3.86±0.21 ^c	4.38±0.15 ^b	5.73±0.19 ^a
T-SOD/ U.mg ⁻¹	36.38±0.69 ^c	38.40±0.26 ^b	48.47±0.15 ^a
ACP/ U.mg ⁻¹	0.16±0.01 ^b	0.15±0.01 ^b	0.21±0.01 ^a
AKP/ U.mg ⁻¹	0.13±0.01 ^b	0.18±0.01 ^a	0.19±0.01 ^a

3 讨论

单胞藻富含蛋白质、脂肪、天然色素和多糖等多种营养物质和活性成分^[9]。海水育苗中通常使用的饵料单胞藻主要包括海水小球藻 (*Chlorella*)、微拟球藻 (*Nannochloropsis*)、等鞭金藻 (*Isochrysis*)、

三角褐指藻 (*P. tricornutum*)、角毛藻 (*Chaetoceros*) 和骨条藻 (*Skeletonema*) 等,其细胞大小和营养成分有较大差异^[7],而饵料单胞藻对卤虫生长和营养组成影响亦有不同^[13-15]。本研究中投喂三角褐指藻和湛江等鞭金藻在 PT-3 和 IZ-3 水平下卤虫存活率最高。以卤虫总生物量获得为首要因素考虑,投喂湛江等鞭金藻组 IZ-3 水平的效果最佳。

卤虫可耐受较为宽泛的盐度范围 (20~250),但由于竞争者和捕食者的存在,在自然界卤虫一般在盐度 70~180 形成优势种群^[16]。本研究比较了海水平均盐度 (30) 和自然环境条件下卤虫种群耐受的最低盐度 (70) 下的生长和存活,发现低盐度下卤虫的存活率显著较低,这与低盐度条件下卤虫需要消耗能量进行渗透压调节,以及水体中复杂的微生物环境有关。

较大水体养殖结果表明,投喂佐夫色绿藻卤虫的存活率和体长显著高于投喂三角褐指藻和湛江等鞭金藻的卤虫,一方面说明佐夫色绿藻的营养更容易被卤虫消化和吸收,从而有利于卤虫的生长,另一方面其较宽泛的粒径范围 (9~25 μm) 可能更适合不同发育阶段卤虫的滤食,因为饵料颗粒大小与滤食效率有关^[17]。

多数海洋单胞藻具有从多不饱和脂肪酸合成高不饱和脂肪酸的途径^[18-19],因此藻细胞中 EPA 和 DHA 较高。佐夫色绿藻通过异养发酵的方式培养可大量积累虾青素和脂质^[20]。本研究中经过 18 d 的培养,投喂三角褐指藻和湛江等鞭金藻的卤虫粗蛋白含量 (60.22% 和 60.91%) 高于佐夫色绿藻组卤虫 (50.44%),而投喂佐夫色绿藻组卤虫粗脂肪含量 (15.9%) 则远高于湛江等鞭金藻组和三角褐指藻组卤虫 (4.62% 和 4.39%),这与佐夫色绿藻本身较低的蛋白质含量 (19%) 和较高的总脂肪酸含量 (432.79 mg/g) 有关。同时,投喂三角褐指藻组卤虫较高的 EPA 含量 (9.47 mg/g),投喂湛江等鞭金藻组卤虫较高的 DHA 含量 (0.3 mg/g),投喂佐夫色绿藻组卤虫 C18:1 含量最高 (116.10 mg/g),这与三角褐指藻本身较高的 EPA 含量 (37.53 mg/g),球等鞭金藻较高的 DHA 含量 (14.58 mg/g) 和佐夫色绿藻较高的 C18:1 (210.30 mg/g) 有关。

研究^[13]表明,小球藻投喂卤虫,可显著提升卤虫 T-SOD 和过氧化氢酶活性。本研究中投喂佐夫色绿藻的卤虫 T-AOC 和 T-SOD 最高 (分别为 5.79 U/mg 和 48.50 U/mg),投喂三角褐指藻组最低 (分别为 3.8 U/mg 和 36.44 U/mg),表明投喂饵料单胞藻对卤虫的抗氧化能力影响。本研究中的佐夫色绿藻含

虾青素 (0.03%),虾青素具有很强的抗氧化活性^[21-22]。酸性磷酸酶是溶酶体的标志性酶,与其他酶类构成吞噬细胞杀菌的物质基础;碱性磷酸酶是细胞膜的标志酶,与其他水解酶类构成卤虫重要的解毒体系,达到机体防御功能^[23]。邹广众等^[24]认为免疫酶活力的强弱与卤虫机体免疫有直接相关性,可作为衡量卤虫免疫功能大小的指标。本研究结果表明,投喂佐夫色绿藻组卤虫免疫酶活性 (ACP 和 AKP) 最高 (0.21 U/mg 和 0.19 U/mg)。因此卤虫养殖过程中选择合适的饵料,可以显著提高酶活性,有效减少机体氧化损伤,从而更好地保护其免受损伤或侵害。更为重要的是,作为生物饵料,卤虫营养以及抗氧化和免疫活性也与水产动物的营养和健康密切相关。

4 结 论

单胞藻是卤虫的优质饵料,单胞藻粉具有纯度高和储存使用方便的优势。本文确定了三角褐指藻和湛江等鞭金藻藻粉的最适投喂量,以及养殖的最佳初始卤虫投放密度为 0.1 L⁻¹ 和盐度 70。卤虫营养组成与饵料单胞藻粉的营养密切相关。可根据养殖目标选择单胞藻粉的种类。本研究为饵料单胞藻在高密度人工卤虫养殖中的应用提供了参考。

参考文献:

- [1] SORGELOOS P, DHERT P, CANDREVA P. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp. in marine fish larviculture[J]. *Aquaculture*, 2001, 200(1/2): 147-159.
- [2] LAVENS P, SORGELOOS P. (Eds.), *Manual on the production and use of live food for aquaculture*[M]. Rome: FAO Fisheries Technical Paper, 1996: 101-154.
- [3] BARROS H P, VALENTI W C. Ingestion rates of *Artemia* nauplii for different larval stages of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2003, 217(1-4): 223-233.
- [4] 刘晓翠, 邓洪刚, 于学权, 等. 不同产地卤虫幼体对云龙石斑鱼幼苗生长和抗胁迫能力的影响[J]. *天津科技大学学报*, 2022, 37(2): 18-23.
- [5] 邢明威, 邓洪刚, 高美荣, 等. 不同产地卤虫幼体对凡纳滨对虾仔虾生长、肌肉组分和抗胁迫能力的影响[J]. *中国水产科学*, 2022, 29(1): 70-78.
- [6] LAVENS P, SORGELOOS P. The history present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2000, 181(3-4): 397-403.

- [7] BECKER E W. Microalgae for human and animal nutrition[J]. Handbook of microalgal culture: applied phycolgy and biotechnology, 2013: 461-503.
- [8] CARBONI S, VIGNIER J, CHIANTORE M, et al. Effects of dietary microalgae on growth, survival and fatty acid composition of sea urchin *Paracentrotus lividus* throughout larval development[J]. Aquaculture, 2012, 324: 250-258.
- [9] CHEN F, LENG Y, LU Q, et al. The application of microalgae biomass and bio-products as aquafeed for aquaculture[J]. Algal research, 2021, 60: 102541.
- [10] 赵素芬, 阮俊锋, 向志勇. 3种海藻单一或混合投喂对卤虫的饵料效果研究[J]. 海洋湖沼通报, 2007, 29(2): 123-128.
- [11] 孙存祯, 李青, 刘修业, 等. 几种藻对卤虫养殖效果的比较研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 1995, 28(1): 102-104.
- [12] VANHAECKE P, PERSOONE G. Report on an intercalibration exercise on a short-term standard toxicity test with *Artemia nauplii*[J]. National institute of health and medical research, 1981, 106: 359-376.
- [13] 张登沥, 刘其根. 饵料对卤虫生长和生殖的影响[J]. 上海水产大学学报, 2000, 9(2): 93-96.
- [14] 张跃群, 陈爱华, 张雨. 微藻营养强化对卤虫生长和营养成分的影响[J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(8): 77-84.
- [15] 马婷, 权可心, 张紫嫣, 等. 不同环境因子对渤海湾卤虫生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产科技情报, 2020, 47(6): 337-345.
- [16] 舒甦, 薛毓才, 黄旭雄. 不同温度盐度下饵料对卤虫生长及体内类胡萝卜素积累的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(1): 86-98.
- [17] MAKRIDIS P and VADSTEIN O. Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three developmental stages[J]. Journal of plankton research, 1999, 21(11): 2191-2201.
- [18] SHI T, YU A, LI M, et al. Identification of a novel C22-Δ4-producing docosahexaenoic acid (DHA) specific polyunsaturated fatty acid desaturase gene from *Isochrysis galbana* and its expression in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Biotechnology letters, 2012, 34(12): 2265-2274.
- [19] GLADYSHEV M I, KHARITONOV A Y, POPOVA O N, et al. Quantitative estimation of dragonfly role in transfer of essential polyunsaturated fatty acids from aquatic to terrestrial ecosystems[J]. Doklady biochemistry and biophysics, 2011, 438(1): 141-143.
- [20] 何健泽, 陈俊辉, 姜雪亚, 等. 佐夫色绿藻高产虾青素的诱导条件及发酵工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(5): 52-62.
- [21] CHEN Z Q, XIAO J, LIU H, et al. Astaxanthin attenuates oxidative stress and immune impairment in *D*-galactose-induced aging rats by activating Nrf2/Keap1 pathway and suppressing NF-κB pathway[J]. Food and function, 2020, 11(9): 8099-8111.
- [22] DAI M Q, LI C J, YANG Z, et al. The astaxanthin aggregation pattern greatly influences its antioxidant activity: a comparative study in Caco-2 Cells[J]. Antioxidants, 2020, 9(2): 1-13.
- [23] CHENG T C. Specificity and the role of lysosomal hydrolases in molluscan inflammation[J]. International journal of tissue reactions, 1986, 8(6): 439-445.
- [24] 邹广众, 陈军, 张传永, 等. 卤虫发育过程中几种免疫相关水解酶的测定[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(4): 1888-1889.