

# 多肽菌素 S100 在海湾扇贝人工育苗生产上应用

于瑞海<sup>1\*</sup>, 王永旺<sup>1</sup>, 赵强<sup>2</sup>, 刘永胜<sup>2</sup>, 鲍源<sup>3</sup>

(中国海洋大学, 海水养殖教育部重点实验室, 山东青岛 266003; 2. 烟台市水产研究所, 烟台 364110;

3. 烟台市深海生物科技有限公司, 烟台 264100)

**摘要:** 本文研究了多肽菌素 S100 在海湾扇贝人工育苗生产中的应用; 幼虫培育、眼点幼虫附着变态、稚贝培育期投喂多肽菌素 S100 ( $5 \times 10^{-6}$  mol/L、 $10 \times 10^{-6}$  mol/L) 和未添加作为对照的生产试验, 试验结果表明: 在幼虫培育阶段投喂多肽菌素组在壳长、壳高生长上均明显快于未投喂对照组, 实验组之间差异不显著, 其中  $10 \times 10^{-6}$  mol/L 组最好; 实验组幼虫成活率较对照组差, 其中对照组与  $5 \times 10^{-6}$  mol/L 组差异不显著, 与  $10 \times 10^{-6}$  mol/L 组差异显著; 在眼点幼虫附着变态期, 实验组变态率明显高于未投喂的对照组, 其中  $5 \times 10^{-6}$  mol/L 组最好; 在稚贝培育期投喂多肽菌素 S100 能显著提高稚贝成活率和生长速度, 其中实验组之间差异不显著,  $10 \times 10^{-6}$  mol/L 组最好。在海湾扇贝人工育苗中使用多肽菌素 S100 可提高幼虫的生长速度, 眼点幼虫的附着变态率和稚贝的生长速度和成活率, 并能显著提高单位水体出苗量。

**关键词:** 多肽菌素 S100; 海湾扇贝; 幼虫培育; 附着变态; 稚贝培育; 人工育苗

中图分类号: S968.3

文献标志码: A

文章编号: 1003-6482(2020)06-072-05

DOI: 10.13984/j.cnki.cn37-1141.2020.06.009

## 引言

海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 因其生长快、养殖周期短、经济效益显著, 是我国北方扇贝养殖的主要品种之一。但其苗种的供应主要依赖于人工育苗生产, 因此, 海湾扇贝的苗种生产供应对其养殖影响很大。近年来海湾扇贝人工育苗普遍存在幼虫成活率低、附着变态率不高、出池保苗成活率低、单位水体出苗量低等现象<sup>[1]</sup>, 影响着苗种的供应。育苗过程中使用抗菌素是提高成活率的有效手段, 但抗菌素的大量使用易造成药物残留等, 为此迫切需要一种抗菌素的替代品, 既能提高幼虫生长速度和成活率, 又能减少残留。

渔药抗生素的应用有效的控制了水产养殖动物疾病的发生, 但抗生素在水产苗种生产及养殖业中的使用所产生的耐药<sup>[footnoteRef:1]</sup>及药物残留等问题引起了社会的高度关注, 人们比以往任何时候都更加渴望绿色健康水产食品。因此, 开发新型无污染、无残留、无毒副作用的产品来替代抗生素已成为国内外学者的研究热点<sup>[2]</sup>。抗菌肽是普遍存在于动植物、细菌体内的一类小分子多肽, 具有广谱抗菌活性, 对细菌、真菌、寄生虫、病毒等有着广泛的抑制作用<sup>[3]</sup>。特别是对多重耐药菌具有杀伤作用, 其抗菌机理独特, 无耐药性隐患且无残留, 已经成为抗生素较理想的替代品<sup>[4]</sup>。本试验是利用多肽菌素 S100 在海湾扇贝人工育苗生产上应用效果的比较研究, 替代以前在海湾扇贝人工育苗上使用的抗菌素, 以期多肽菌素 S100 在贝类育苗生产中的推广提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

多肽菌素 S100, 山东深海生物科技股份有限公司提供, 主要成分为抗菌肽、机体防御肽、组织修复肽、益生菌等。

基金项目: 国家海洋局海洋创新示范项目; 海洋生物抗菌肽产品的产业链协同创新及应用示范(YHCX-SW-L-201703)资助

第一作者简介: 于瑞海(1964-)男, 教授级高级工程师, 研究方向: 贝类育种研究, E-mail: yuruihai@ouc.edu.cn

收稿日期: 2019-02-24

## 1.2 实验地点

实验于 2018 年春季在山东省莱州市乐平水产科技公司育苗场进行,实验用育苗池大小为  $4\text{m} \times 5\text{m} \times 1.2\text{m}$ ,实验期间水温为  $23 \sim 24^\circ\text{C}$ ,盐度为 31。

## 1.3 方法:

1.3.1 选取同批次产卵孵化的海湾扇贝 D 形幼虫 30 池,随机分为 3 组,每组 10 池:实验组设置为使用多肽菌素 S100  $5 \times 10^{-6}\text{mol/L}$ 、 $10 \times 10^{-6}\text{mol/L}$  浓度组各 10 池,对照组为正常添加青霉素钠  $2 \times 10^{-6}\text{mol/L}$  浓度 10 池。在 D 型幼虫选优后的第 2 天开始使用,每天换水后按照相应浓度进行使用,均匀泼洒育苗池里,幼虫开始时培育密度为 10 个/mL。

1.3.2 海湾扇贝育苗期间管理:换水、投饵及移池按海湾扇贝人工育苗常规方法<sup>[5]</sup>进行管理,每天测量 1 次幼虫大小和密度,每 3—4d 移池 1 次。

1.3.3 幼虫培育、眼点幼虫附着变态、稚贝培育期划分:幼虫培育期是指从孵化出的 D 型幼虫培育到眼点幼虫的过程;眼点幼虫附着变态是指眼点幼虫往扇贝壳附着基附着变态的过程;稚贝培育期是指附着到扇贝壳的稚贝培育到  $500\mu\text{m}$  大小出池规格的过程。

## 1.4 样品采集及计算方法

实验数据是随机取 3 组(每组测量 15 个幼虫)的平均值,幼虫培养 9d。

幼虫成活率是指培育到眼点幼虫的密度与培育开始时 D 型幼虫密度比值的百分比;

变态率是指眼点幼虫变态成稚贝的百分比;

附着时间是指投附着基开始至 90%眼点幼虫全部附着的时间。

稚贝成活率是指稚贝培育前的稚贝数量与培育至出库规格( $500\mu\text{m}$ )时稚贝数量之比;稚贝日增长率是指开始培育的稚贝壳长大小与培育至出库规格壳长大小之差除以培育天数的值。

## 1.5 统计方法

实验结果经 Excel 整理后用 SPSS 16.0 软件进行方差分析,各个实验均采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。用 LSD 进行多重比较分析各个实验组之间的显著性差异,显著水平均设为  $P < 0.05$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 多肽菌素 S100 对海湾扇贝幼虫期生长发育的影响

幼虫生长发育情况见图 1、2,成活率见图 3。

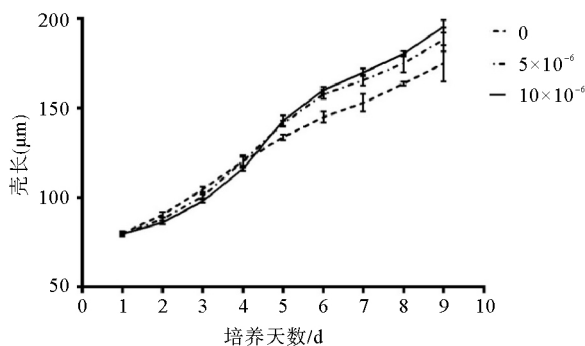


图 1 使用多肽菌素 S100 组和未使用组幼虫壳长生长情况比较

Fig.1 Comparison of larval shell length growth between the use of polypeptin S100 group and the unused group

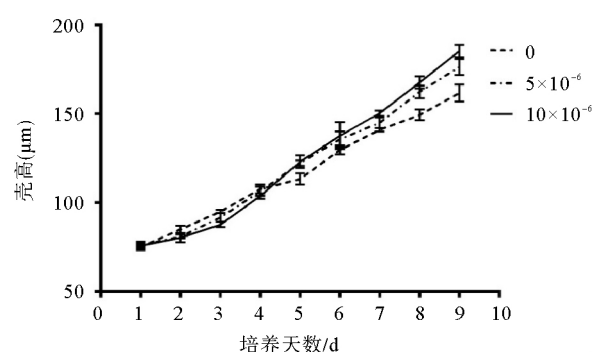


图 2 使用多肽菌素 S100 和未使用组幼虫壳高生长发育情况比较

Fig.2 Comparison of larval shell-high growth between the use of polypeptin S100 group and the unused group

从图 1、2 看出 D 型幼虫初期实验组和对照组生长没有差异,但从第 4 天开始出现差异,使用多肽菌素 S100 的幼虫在壳高和壳长生长明显快于对照组。在实验过程中,随着培育时间延长差异显著,实验组比对照组眼点出现早 2—3d,显示出较明显生长优势,但  $5 \times 10^{-6}$  mol/L 和  $10 \times 10^{-6}$  mol/L 浓度组之间差异不显著。

从图 3 来看,幼虫成活率未使用多肽菌素 S100 幼虫成活率高于使用组,与  $5 \times 10^{-6}$  mol/L 组差异不显著,而与  $10 \times 10^{-6}$  mol/L 差异显著。

## 2.2 多肽菌素 S100 对眼点幼虫附着时间及变态率的影响

将多肽菌素 S100 按  $5 \times 10^{-6}$  mol/L 和  $10 \times 10^{-6}$  mol/L 浓度分别加入刚投上附着基的眼点幼虫池里,每天一次,对照组为未加入,而加入  $2 \times 10^{-6}$  抗菌素池里,直到全部附着为止,测量其附着变态率和附着变态时间的长短,结果如图 4 和图 5。

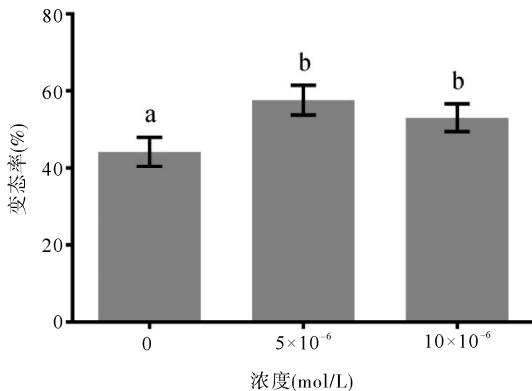


图 4 使用多肽菌素和未使用眼点幼虫变态率比较

Fig.4 Comparison of metamorphosis rates between the use of polypeptin S100 group and unused group

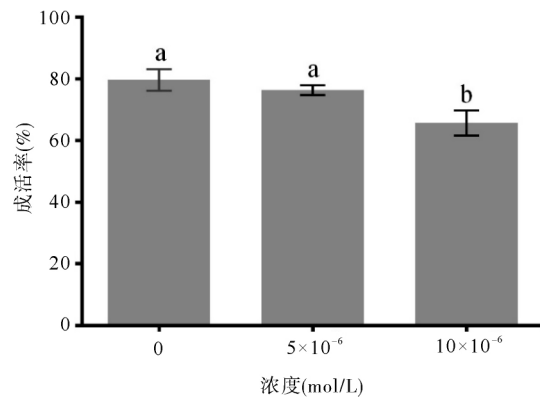


图 3 使用多肽菌素 S100 和未使用幼虫成活率比较  
Fig.3 Comparison of survival rates between the use of polypeptin S100 group and the unused group

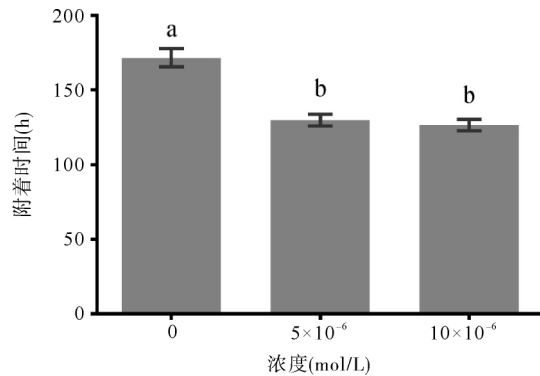


图 5 使用多肽菌素 S100 和未使用眼点幼虫变态时间比较

Fig.5 Comparison of metamorphic time between the use of polypeptin S100 group and the unused group

从图 4 和图 5 可以看出,眼点幼虫变态率投喂多肽菌素  $5 \times 10^{-6}$  组和  $10 \times 10^{-6}$  组明显高于对照组,差异显著,而  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组差异不显著。眼点幼虫到 90% 以上附着变态的时间投喂  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组比未投喂的对照组,提前 1.5—2d,即 36—48h,表明投喂多肽菌素的眼点幼虫附着变态率高,为幼虫提早出库打下坚实基础。

## 2.3 多肽菌素 S100 对附着稚贝生长发育及成活的影响

当 90% 以上眼点幼虫附着变态到培育至稚贝(平均  $350 \mu\text{m}$  以上)出库时间,称为稚贝培育阶段,一般 8—10d,此阶段稚贝生长速度和成活率关系到出苗量的高低,通过投喂多肽菌素  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组合及未投喂对照组比较,稚贝培育阶段日增长率、成活率和室内培育时间长短比较结果如图 6、图 7、图 8。

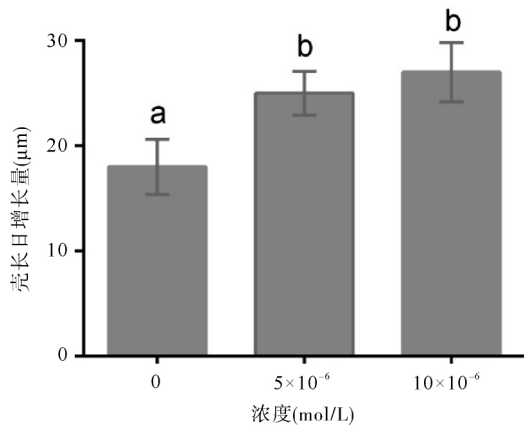


图6 使用抗菌多肽 S100 组和未使用组稚贝培育阶段壳长日增长率比较

Fig.6 Comparison of daily growth rate of shell length between the use of polypeptin S100 group and the unused group at the stage of young shellfish

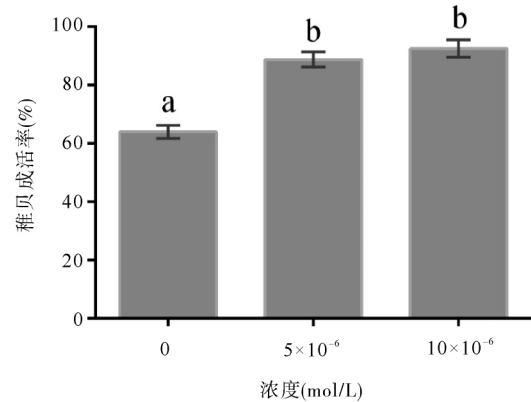


图7 使用多肽菌素 S100 组和未使用组稚贝培育期成活率比较

Fig.7 Comparison of survival rates between the use of polypeptin S100 group and the unused group at the stage of young shellfish

从图 6、7、8 可以看出,稚贝培育阶段使用多肽菌素 S100  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组比对照组的日增长速度明显快,差异显著, $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  差异不显著,其中  $10 \times 10^{-6}$  组最好;稚贝培育阶段成活率实验  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组明显高于对照组,差异显著,而  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组差异不显著, $10 \times 10^{-6}$  组最高;培育至出库天数实验  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组明显短于对照组,其中  $5 \times 10^{-6}$  和  $10 \times 10^{-6}$  组差异不显著,都在 6d 之间。

### 3 分析讨论

#### 3.1 多肽菌素 S100 在海湾扇贝幼虫培养阶段影响探讨

多肽菌素杀菌机理主要是作用于细菌的细胞膜,破坏其完整性并产生穿孔现象,造成细胞内容物溢出胞外而死亡<sup>[3]</sup>,在幼虫培养阶段使用多肽菌素 S100,在幼虫培育初期即 D 型幼虫期,壳高、壳生长效果不明显,幼虫成活率明显低于对照组,可能是 D 型幼虫初期肠道发育不完善,肠道对其适应性差,添加的多肽菌素对幼虫肠道自身菌群产生抑制作用造成成活率明显降低;当幼虫达到壳顶中期时,其肠道基本发育完全,也适应多肽菌素 S100 的作用,因此其后幼虫壳长、壳高的生长速度明显快于对照组,成活率二者之间没有显著差异。因此,对于多肽菌素 S100 使用应在壳顶中期以后(D 型幼虫培育 3—4d 后),大小在  $100 \mu\text{m}$  以上使用效果更好,这主要是多肽菌素 S100 可以改善幼虫肠道消化吸收,提高机体免疫力有关,这与抗菌多肽在凡纳滨对虾<sup>[6]</sup>和淡水鱼养殖<sup>[7,8]</sup>上应用相似。

#### 3.2 多肽菌素 S100 在眼点幼虫阶段附着变态影响探讨

在眼点幼虫附着变态阶段使用多肽菌素 S100 试验组的变态率明显提高,与未使用差异显著,说明使用其对幼虫的附着变态有利,同时能缩短附着时间,对附着变态后的管理及及时出池有利,这主要是与使用多肽菌素 S100 能提高眼点幼虫的体质及活力,以及对环境的抵抗力,因此变态率大大提高,这与其在鱼类及虾类应用效果相似。

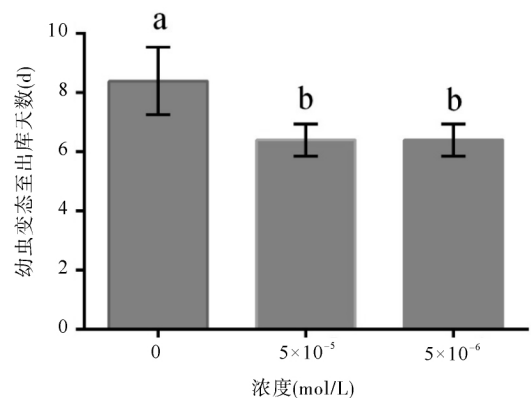


图8 使用多肽菌素 S100 组和未使用组稚贝培育至出库的天数比较

Fig.8 Comparison of the number of cultivation days between the use of polypeptin S100 group and the unused group

### 3.3 多肽菌素 S100 在稚贝培养阶段影响探讨

在稚贝培育阶段使用多肽菌素 S100 实验组与不使用在日增长率、稚贝成活率方面显著高于对照组,这对提高单位水体稚贝数量和提早出池有利,在培养天数上也比对照组短,缩短稚贝室内培育时间,有利于降低室内培育风险,降低生产成本,提早出苗还可以向社会提供大规模苗种,供养殖单位养殖,缩短养殖周期,降低生产成本。

## 4 小结

在本实验条件下,在海湾扇贝人工育苗中使用多肽菌素 S100 的与未使用的对照组有促进幼虫生长的作用,在眼点幼虫附着变态方面有提高变态率和缩短变态时间的效果,在稚贝培养阶段使用多肽菌素 S100 比未使用对照组有提高生长速度和提高稚贝成活率的作用,从而缩短室内培育时间,降低生产成本,提高单位水体出苗量的作用,综合考虑使用  $5 \times 10^{-6}$  的效果最好,可提高海湾扇贝幼虫、稚贝的生长速度和成活率,提高海湾扇贝人工育苗的出苗量。

### 参考文献

- [1] 刘锡胤,胡丽萍,等.海湾扇贝人工育苗常见问题分析及相应措施[J].广东,海洋与渔业,2016(09):64-66.
- [2] 叶文红.抗生素渔药使用情况及其替代品发展简介[J].江苏,水产养殖,2018,39(12):14-15+20.
- [3] 李冠楠,夏雪娟,等.抗菌肽的研究进展及其应用[J].北京,动物营养学报,2014,26(01):17-25.
- [4] 张家国.水产动物抗菌肽研究的最新进展[J].大连,大连水产学院学报,2009,24(S1):130-133.
- [5] 杜尚昆.海湾扇贝室内人工育苗技术[J].江苏,科学养鱼 2008(02):22-23.
- [6] 陈冰,曹俊明,等.家蝇抗菌肽对凡纳滨对虾生长性能及免疫相关指标的影响[J].北京,中国水产科学,2010,17(2):258-266.
- [7] 姜珊,王宝杰,等.饲料中添加重组抗菌肽对吉富罗非鱼生长性能及免疫力的影响[J].北京,中国水产科学,2011,18(6):1308-1314.
- [8] 王自蕊,谯仕彦,等.饲料中添加天蚕素抗菌肽对湘云鲫生长性能、非特异性免疫功能及抗病力的影响[J].北京,动物营养学报,2014,26(7):1856-1863.

## A study on application of polypeptin S100 in artificial rearing of scallop larvae

YU Ruihai, WANG Yongwang, ZHAO Qiang, LIU Yongsheng, BAO Yuan

(1.The Key Laboratory of Mariculture of Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2.Yantai Fisheries Research Institute, Yantai, Shandong 364110, China; 3.Shandong Deepwater Technology Limited Company, Yantai, Shandong 364100, China)

**Abstract:** In this study, we explored the application of polypeptide S100 in the artificial bearing of scallop larvae. The animals were divided into experimental group (fed with polypeptide) and control group (without feeding polypeptide). The results showed that at the stage of larval cultivation, the growth rate of the experimental group was significantly faster than that of the control group, but the survival rate of the larvae was lower than that of the control. At the stage of eyed-spot larvae, the rate of metamorphosis in the experiment group was significantly higher than that of the control. At the stage of juvenile culture, the growth rate and survival rate of the experimental group were significantly higher than those of the control group. Our findings indicated that the use of polypeptide S100 in artificial breeding of scallop can increase the growth rate, the rate of attachment and metamorphosis of larvae, and the growth speed and survival rate of juveniles, thus greatly increase the number of seedlings per unit water body.

**Key words:** Polypeptide S100; *Argopecten irradians*; Larvacultivation; Settlement and metamorphosis; Juvenile cultivation; Artificial breeding