

大蒜对菲律宾蛤仔早期生长发育的影响

杨 凤¹, 闫喜武¹, 张跃环¹, 梁 峻², 李可闻³, 刘建立¹, 张国范²

(1. 大连水产学院 生命科学与技术学院, 辽宁大连 116023; 2 中国科学院 海洋研究所, 山东青岛 266071;

3. 辽宁省海洋水产研究院, 辽宁大连 116023)

摘要:实验了不同大蒜汁浓度(0、2、4、8、16、32 mg/L)对菲律宾蛤仔受精卵孵化率、幼虫生长、存活、变态及稚贝生长与存活的影响,总结了室内大规模人工育苗过程中大蒜防病效果。结果表明:随着大蒜汁浓度的增加,孵化率降低;大蒜汁浓度达到 16mg/L,胚胎发育延迟;达到 32mg/L,受精卵不能孵化为正常幼虫。浮游期间,幼虫的生长受大蒜汁抑制,幼虫的存活率则随着大蒜汁浓度增加先升高后降低;幼虫的变态率随着大蒜汁浓度的增加先升高后降低,以 16mg/L 为最适浓度;变态规格随着大蒜汁浓度增加而减小。室内培育期间,稚贝生长与存活随着大蒜汁浓度的增加先升高后降低,以 8mg/L 为最适浓度;室内大规模人工育苗过程中,使用浓度为 8—10mg/L 大蒜汁可以起到较好的防病效果。

关键词:大蒜;菲律宾蛤仔;生长;存活;变态

The effect of garlic extract on early growth and development of Manila clam *Ruditapes philippinarum*

YANG Feng¹, YAN Xiwu¹, ZHANG Yuehuan¹, LIANG Jun², LI Kewen³, ZHANG Guofan²

1 Institute of Life Science and Technology, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China

2 Liaoning Ocean and Fisheries Science Research Institute, Dalian 116023, China

3 Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: This study investigated effects of various concentrations of garlic extract (0, 2, 4, 8, 16, and 32 mg/L) on hatching rate, growth and survival of larvae and juveniles, metamorphosis, and disease prevention for Manila clam *Ruditapes philippinarum*. The results showed that the hatching rate decreased with increasing concentrations of garlic extract. A garlic extract concentration of 16 mg/L resulted in delayed embryo development, and 32 mg/L resulted in hatching failure of the embryos. During the planktonic stage, larval growth was depressed by garlic extract; larval survival and metamorphosis increased and then decreased as garlic extract concentrations increased. A garlic extract concentration of 16 mg/L appeared to be optimal for larval metamorphosis and survival. The metamorphosis size decreased with increasing garlic extract concentrations. During the indoor rearing period, the growth and survival of juveniles also increased and then decreased as garlic extract concentrations increased, with 8 mg/L being the optimum concentration. Results from the present study demonstrated that garlic extract concentrations of 8—10 mg/L could prevent diseases in the hatchery.

Key Words: garlic extract; *Ruditapes philippinarum*; growth; survival; metamorphosis

大蒜(*Allium Sativum*)是百合科葱属多年生宿根草本植物。大蒜素是大蒜提取液中主要生物活性成分的总称,也可人工合成,它是一种广谱抗菌药,有消炎、降压、降血脂、抑制血小板凝集、减少冠状动脉硬化抑制体内亚硝酸合成、防癌、治癌、健胃、抗病毒、驱虫等多种功效^[1-2]。

大蒜在淡水鱼病防治上历史悠久^[3],在现代水产养殖中的应用也有报道^[4-13]。我国是菲律宾蛤仔

基金项目:国家 863 资助项目(2006AA10A410);辽宁省重大科研资助项目(990387)

收稿日期:2008-12-24; **修订日期:**2009-04-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yanxiwu2002@163.com

(*Ruditapes philippinarum*) 养殖大国, 目前世界每年 300 多万 t 的养殖产量主要来自中国大陆。但苗种严重不足和病害侵袭已成为限制我国菲律宾蛤仔养殖进一步发展的“瓶颈”。因此, 开展菲律宾蛤仔室内全人工育苗已势在必行。但室内全人工育苗是在小水体、高密度条件下进行, 易发生病害。目前国内外已报道的对菲律宾蛤仔育苗阶段危害较大的疾病有好几种^[14-15]。由于大蒜无毒副作用, 无生物富集, 是一种绿色、无残留的天然中草药。因此开展大蒜对菲律宾蛤仔早期生长发育的研究, 为育苗阶段病害防治提供了一个新的途径, 解决了无公害用药和生产有机食品的矛盾。

1 材料与方法

1.1 实验时间及地点

本试验于 2002-08—11-13 日, 2004-07-25—08-03 日在大连庄河海量水产食品有限公司育苗场和 2006 年 5 月 30 日—6 月 23 日在大连峻源海珍品有限公司进行。

1.2 实验设计与处理

(1) 2002 年实验

大蒜对菲律宾蛤仔幼虫生长及成活的影响实验在 100L 白色塑料桶中进行。设对照和 8、16、32 mg/L 大蒜汁 3 个实验梯度, 每组设 2 个重复。实验用大连 2 龄蛤仔所产幼虫, D 形幼虫密度为 5.5—6.5 个/ml, 从 D 形开始连续投喂大蒜汁, 方法是将大蒜用家用绞肉机绞碎后用 300 目筛绢过滤后使用。幼虫生长每 3d 测量 1 次, 方法是取一定量幼虫用福尔马林杀死后, 在显微镜下随机测量 20 个; 幼虫每天定量 1 次, 方法是在充气条件下, 取一定体积水样, 用福尔马林杀死后在显微镜下用昆虫培养皿全量计数。每天全量换水 1 次, 投饵 4 次, 以湛江等鞭金藻 (*Isochrysis zhanjiangensis*) 为主。实验水温 (27.0 ± 0.5) °C。

(2) 2004 年实验

孵化阶段设对照和 2、4、8、16、32 mg/L 大蒜汁 5 个试验梯度, 孵化密度为 31 个/ml。幼虫阶段除对照外, 设 2、4、8、16 mg/L 大蒜汁 4 个梯度, 每个梯度设 3 个重复, 实验用莆田 2 龄蛤仔所产幼虫, 密度 6—7 个/ml, 幼虫生长每 3 测量次, 方法是每个重复取一定量幼虫用福尔马林杀死后, 在显微镜下随机测量 30 个个体。实验水温 (26.0 ± 0.5) °C, 其它条件同 2002 年。

(3) 2006 年试验

幼虫培育阶段设置对照组和 8、16、32 mg/L 大蒜汁 4 个浓度梯度, 每个梯度设 3 个重复, 以 D 形幼虫为试验材料, 密度 6—8 个/ml。变态及稚贝生长阶段设对照和 2、4、8、16、32 mg/L 大蒜汁 5 个梯度, 每个梯度设 3 个重复, 以足面盘幼虫为试验材料, 密度 5—6 个/ml。变态率为出现次生壳稚贝数与足面盘幼虫的百分比; 变态规格为出现次生壳与初生壳交界时的幼虫大小; 稚贝生长 24d 测量 1 次, 方法是每个重复取一定量幼虫用福尔马林杀死后, 在显微镜下随机测量 30 个个体; 稚贝存活率为存活稚贝数与完成变态稚贝数的百分比。实验水温 (20.0 ± 0.5) °C, 其它条件同 2002 年。

室内大规模苗种生产过程中大蒜防病效果实验于 2003 年在 4000 m² 面积上进行, 5 月 1 日以前未使用大蒜, 以后使用大蒜进行预防。方法是, 不定期使用, 浓度为 6.0 mg/L。大蒜汁制取方法同上。

1.3 数据处理

Excel 作图, SPSS11.0 对数据进行分析处理, 差异显著水平设 $P < 0.05$, 差异极显著设 $P < 0.01$ 。

2 结果

2.1 大蒜对菲律宾蛤仔孵化率的影响

2004 年试验结果表明: 随着大蒜汁浓度的增加, 胚胎发育延迟, 孵化率下降。在实验水温 (26.0 ± 0.5) °C 的条件下, 产卵后 17h 观察, 对照组及 C₂、C₄、C₈ 已变为 D 形幼虫, 而 C₁₆、C₃₂ 无 D 形幼虫出现; 到 25h, C₁₆ 才孵化为 D 形幼虫, C₃₂ 只有少量变为 D 形幼虫, 且铰合部不直, 呈现畸形。17h 和 25h 的孵化情况见图 1、图 2。统计分析表明, 在孵化 17h 后, C₁₆ 和 C₃₂ 的孵化率明显低于其它各组 ($P < 0.05$); 25h 后, 只有 C₃₂ 的孵化率与其它各组差异显著 ($P < 0.05$)。

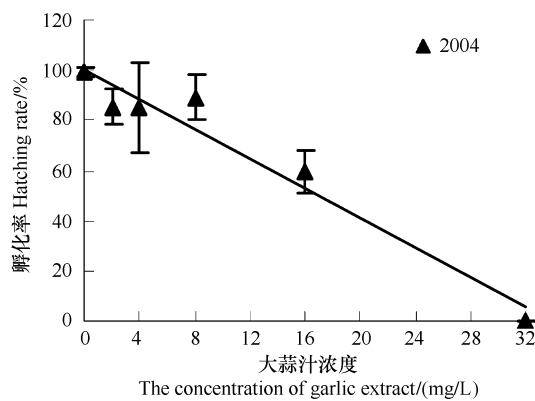


图1 大蒜对菲律宾蛤仔孵化率的影响

Fig.1 Effect of garlic extract on hatching (17h)

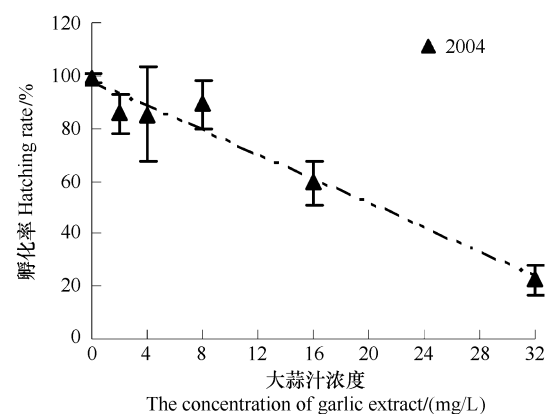


图2 大蒜对菲律宾蛤仔孵化率的影响

Fig.2 Effect of garlic extract on hatching (25h)

2.2 大蒜对菲律宾蛤仔幼虫生长、存活的影响

2004 年的实验结果表明,4 日龄以前幼虫生长随着大蒜汁浓度的增加而减慢;6 日龄时,幼虫大小随着大蒜汁浓度增加先增加后减小(图 3)。统计分析表明:1 日龄时,对照组、 C_2 、 C_4 与 C_8 、 C_{16} 之间壳长差异显著 ($P < 0.05$);4 日龄时,除 C_2 、 C_4 之间壳长差异不显著外,各浓度组之间壳长差异均显著 ($P < 0.05$);6 日龄时, C_{16} 与其它 4 个浓度组之间幼虫的壳长差异显著 ($P < 0.05$)。

幼虫的存活率随着大蒜汁浓度的增加先升高后降低;随着幼虫日龄的增加,最适存活浓度减小(图 4)。2002,2006 年,3 日龄幼虫的最适存活浓度均为 16 mg/L,存活率分别为 100%、(96.88 ± 5.32)%,与其它各组间差异显著 ($P < 0.05$);2004,2006 年,6 日龄幼虫的最适存活浓度为 8mg/L,此时存活率分别为 (91.33 ± 15.01)%、(90.25 ± 5.62)%,与 C_2 和对照组无显著差异 ($P > 0.05$),与其它各实验组差异显著 ($P < 0.05$)。

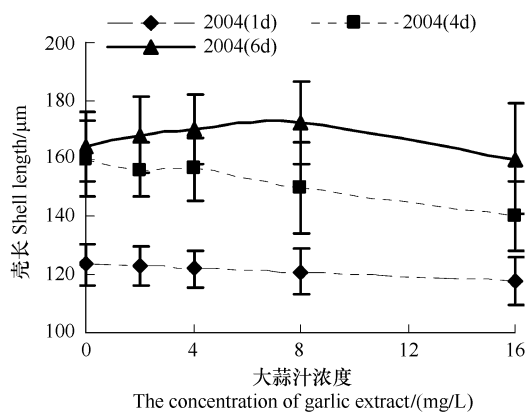


图3 大蒜对菲律宾蛤仔幼虫生长的影响

Fig.3 Effect of garlic extract on larval growth

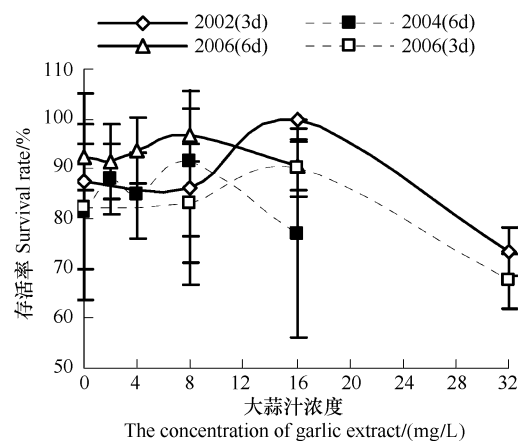


图4 大蒜对菲律宾蛤仔幼虫存活的影响

Fig.4 Effect of garlic extract on larval survival

2.3 大蒜对菲律宾蛤仔变态的影响

2006 年试验结果表明:幼虫变态率随大蒜汁浓度增大先升高后降低(图 5);变态规格随着大蒜汁浓度增加而变小(图 6)。统计分析表明:对照组的变态率及变态规格与 C_2 、 C_4 差异显著 ($P < 0.05$),其它组差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.4 大蒜对菲律宾蛤仔稚贝生长和存活的影响

2006 年试验结果表明:稚贝在大蒜汁浓度 0—8 mg/L 范围内,随着浓度增大生长速度加快;8—16 mg/L

范围内,随着浓度增大生长减慢;16—32 mg/L 范围内,浓度对生长几乎无影响(图 7)。大蒜汁浓度为 8 mg/L 时,稚贝生长最快,与 C_4 差异显著($P < 0.05$),与其它各组显著极差异($P < 0.01$)。

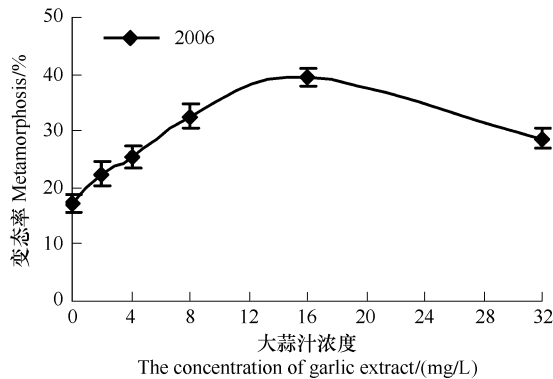


图 5 大蒜对菲律宾蛤仔变态率的影响

Fig. 5 Effect of garlic extract on metamorphosis

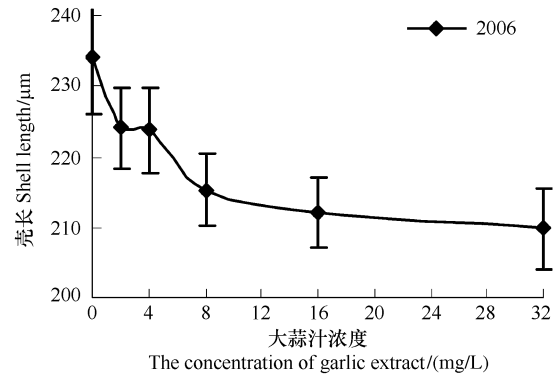


图 6 大蒜对菲律宾蛤仔变态规格的影响

Fig. 6 Effect of garlic extract on metamorphic size

稚贝存活率随着大蒜汁浓度的增大先增大,后减小(图 8)。大蒜汁浓度为 8mg/L 时,存活率最高,为 $(91.37 \pm 4.12)\%$,与 C_4 、 C_{16} 差异显著($P < 0.05$),与其它各组差异及显著($P < 0.01$)。

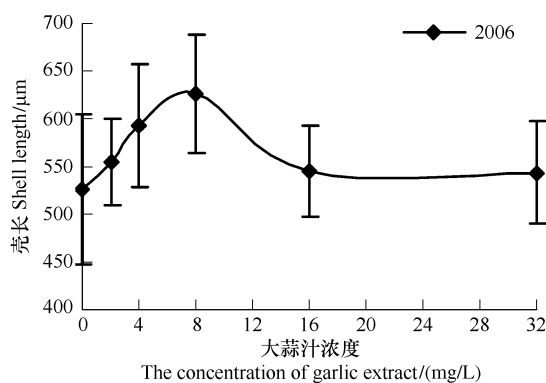


图 7 大蒜对菲律宾蛤仔稚贝生长的影响

Fig. 7 Effect of garlic extract on juvenile growth

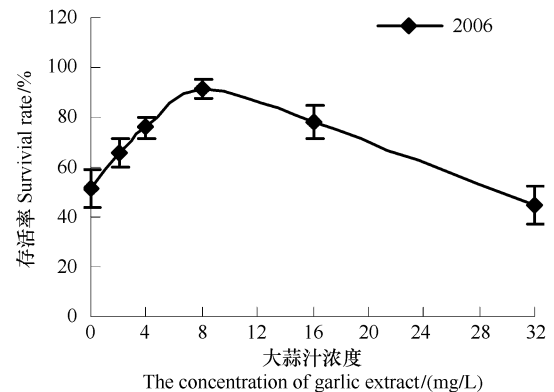


图 8 大蒜对菲律宾蛤仔稚贝存活的影响

Fig. 8 Effect of garlic extract on juvenile survival

2.5 大蒜在菲律宾蛤仔室内大规模生态育苗上的应用

由于 8 mg/L 大蒜连续使用,导致育苗水体中的大蒜汁浓度超过 8 mg/L,对幼虫生长有明显的抑制作用,所以在生产中将其浓度降到了 6 mg/L,而且不连续使用。适宜的大蒜汁浓度有效的加快了幼虫生长速度,提高了苗种存活率(表 1)。2002 年没用大蒜的幼虫生长率和存活率与使用大蒜的几乎无差异;而 2003 年没用大蒜的与使用大蒜的差异显著。2003 年 6 月初开始,足面盘幼虫在附着阶段出现大量死亡,症状是初生壳为褐色或棕色;6 月下旬以后,幼虫又出现面盘突出、消化腺颜色逐渐变浅,随后大量死亡等现象。使用大蒜后,上述症状逐渐得到控制,浮游期幼虫成活率及出苗率均得到明显提高。

3 讨论

在大蒜对菲律宾蛤仔孵化率的试验中发现,随着大蒜汁浓度的增加,孵化率降低,16mg/L 大蒜汁浓度使胚胎发育延缓,32mg/L 使卵不能孵化为正常幼虫大蒜。这与 Jarial 通过扫描电子显微镜观察伊蚊卵的胚胎发育,发现大蒜能够抑制伊蚊卵的胚胎发育的结果^[10]一致。

表 1 使用大蒜生产效果比较

Table 1 The comparison of function on garlic extract

时间 Time		批次 Batches	水温/℃ Temperature	浮游期生长率 Browth rate/(μm /d)	浮游期存活率 Survival rate/%	D 形幼虫到稚贝 的存活率 Survival rate/%
2002	A	1	26—27	11.15 × 10.35a	37.30	—
	B	3	26—27	11.11 × 10.57	39.04	—
2003	A	4	21—24	9.79 × 9.18	41.58	2.67
	B	5	25—27	10.88 × 9.62	44.66	14.12

A: 没用大蒜, B: 用大蒜

在 2002 年实验中,不同的大蒜汁浓度对 2 日龄幼虫壳长影响差异不显著,而 2004 年对 1 日龄幼虫壳长影响就已明显表现出来。从 2002,2004,2006 年这 3a 来看,幼虫存活的最适大蒜汁浓度均随幼虫日龄的增加而减小,从 16mg/L 降低到 8mg/L,造成这种现象的原因主要有两点:①2004 年所用幼虫来自于莆田群体,且孵化阶段就经过大蒜汁处理,孵化应该是比幼虫期更敏感的阶段,在此基础上孵化出的幼虫对大蒜的敏感程度会有所降低;②2002,2006 年所用的幼虫均来自大连群体,经过在大蒜汁中一段时间的驯化,随着幼虫日龄的增加其最适浓度有所降低,可能是由于随着幼虫的生长发育,幼虫个体不断增大,个体的抗应激反应能力增强,故会对大蒜汁的敏感程度降低。总体上看,两个群体的幼虫对大蒜汁的耐受程度与反应差异很小,尚未构成群体差异对实验结果的影响。

在 2004 年的实验中,对照组 6 日龄幼虫的壳长小于 4 日龄幼虫,而且在所有实验组中是最小的,这是由于对照组在 6 日龄时大部分已出足下潜,只有小部分未达附着规格的在浮游,测得的壳长偏小,不能因此得出对照组生长慢于实验组的结论。而且,6 日龄幼虫的壳长在 8mg/L 大蒜汁浓度下最大,原因可能是由于大蒜抑制幼虫生长,导致幼虫延迟变态,当对照组的幼虫大部分已经附着的情况下,实验组幼虫大部分仍然处于浮游状态,此时取样的幼虫个体较大所致。

过高的大蒜汁浓度对幼虫、稚贝生长的影响,主要是抑制幼虫摄食,根据显微镜下观察,投大蒜后,幼虫摄食明显减弱(胃和消化盲囊颜色变淡),但换水后,很快就会恢复。由于 16mg/L 大蒜汁浓度对幼虫生长有严重影响,所以在使用时要降低剂量,或者不连续使用。根据作者在生产中的使用效果,8—10mg/L 大蒜连续使用对幼虫、稚贝生长和成活影响不大;若间断性使用,剂量还可提高,如每天换水 2 次,第 1 次可使用 10mg/L 剂量,第 2 次换水后不再使用。总之,作用时间越短,剂量可以越高。此外,低温季节使用频率可降低,如可 2—3d 使用 1 次。

大蒜除具有杀菌等多种生理作用外,本身还含有蛋白质、脂肪、维生素和微量元素等多种营养成分。本试验中大蒜绞碎再经 300 目筛绢网过滤后,在投饵之前投喂大蒜汁,1.5—3.0h 后镜检,发现对照组幼虫消化腺无饵料,而投喂组幼虫消化腺中含有部分内含物,这无疑是一些适合幼体或稚贝的颗粒被摄食,这样会使实验个体的营养更加平衡,抗病力增强。Shalaby AM 等将大蒜和氯霉素添加饵料中,观察其对尼罗罗非鱼生长,存活和生理参数的影响。结果表明:药饵有效的提高了鱼体的免疫力,存活率提升,30g/kg 大蒜和氯霉素效果最好。Sasmal D 等发现大蒜素具有抑制养殖水体中的假单胞菌的作用,能显著的改善鱼体肠道中的菌群分布,能提高鱼体的抗病力、提高食物转化率。本实验结果与他们的研究结果相吻合。值得注意的是:大蒜的有效成分不稳定,遇热遇碱均会影响效果,因此绞碎后应尽快使用。

References:

- [1] Yao L C. Development prospect of garlic (*Allium sativum*). China Pharmaceuticals, 2002, 11(6): 78-79.
- [2] Huang Q Y. Aquatic Animal Disease. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1993.
- [3] Tian R B, Ceng S Q. Development research of garlic (*Allium sativum*). Feed Review, 2002, 3: 6-8.
- [4] Lin Y B, Jin X M. Application of garlicin (*Allitridum*) in aquaculture. Guangdong Feed, 1997, 5: 34.
- [5] Tang X R, Li J X. Application of allithiamine in shrimp feed. Feed Industry, 1997, 18(12): 39-40.

- [6] Ding Y C, Kong L J. Application of garlicin (*Allitridum*) and its prospect in aquaculture. Fisheries Economy Research, 2000, 4: 24-36.
- [7] Yu Z C. Application prospect of garlic and garlicin (*Allitridum*) in aquaculture. Shangdong Fisheries, 2002, 19(9): 25.
- [8] Xiang N, Liu C Z, Zhou X H. Effects of garlicin (*Allitridum*) on growth of *Colossoma brachypomun*. Fishies Science and Technology Information. 2002, 29(5): 222-225.
- [9] Roth M, Richards R H, Sommerville C. Current practices in the chemotherapeutic control of sea lice infestations in aquaculture: A review. Journal of Fish Disease, 1993, 16(1): 1-26.
- [10] Jarial M. Toxic Effect of Garlic Extracts on the Eggs of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): A Scanning Electron Microscopic Study. Journal of Medical Entomology. 2001, 38(3): 446-450.
- [11] Buchmann K, Jensen P B, Kruse K D. Effects of Sodium Percarbonate and Garlic Extract on *Ichthyophthirius multifiliis* Theronts and Tomocysts: In Vitro Experiments. North American Journal of Aquaculture, 2003, 65(1): 21-24.
- [12] Sasmal D, Babu C S, Abraham T J. Effect of garlic (*Allium sativum*) extract on the growth and disease resistance of *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). Indian Journal of Fisheries, 2005, 52(2): 207-214.
- [13] Shalaby A M, Khattab Y A, Abdel Rahman A M. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Venomous Animals and Toxins Including, 2006, 12(2): 172-201.
- [14] Nicolas J L, Ansquer D, Cochard J C. Isolation and characterization of a pathogenic bacterium specific to Manila clam *Tapes philippinarum* larvae. Diseases of Aquatic Organisms, 1992, 14(2): 153-159.
- [15] Renault T, Lipart C, Arzul I. A herpes-like virus infecting *Crassostrea gigas* and *Ruditapes philippinarum* larvae in France. Journal of Fish Diseases, 2001, 24(6): 369-376.

参考文献:

- [1] 姚连初. 大蒜的开发利用研究概况. 中国药业, 2002, 11(6): 78-79.
- [2] 黄琪琰. 水产动物疾病学. 上海: 上海科技出版社, 1993.
- [3] 田允波, 曾书琴. 大蒜的研究与应用. 饲料博览, 2002, 3: 6-8.
- [4] 林亦斌, 金晓茗. 大蒜素在水产养殖中的应用. 广东饲料, 1997, 5: 34.
- [5] 唐雪蓉, 李敬欣. 蒜硫胺在对虾饲料中的应用. 饲料工业, 1997, 18(12): 39-40.
- [6] 丁原春, 孔令杰. 大蒜素在水产养殖中的应用现状及前景. 渔业经济研究, 2000, 4: 24-36.
- [7] 于忠诚. 大蒜及大蒜素在水产养殖中的应用现状及前景. 齐鲁渔业, 2002, 19(9): 25.
- [8] 向泉, 刘长忠, 周兴华. 大蒜素对淡水白鲢生长影响的研究. 水产科技情报, 2002, 29(5): 222-225.