

菲律宾蛤仔稚贝最适生长环境条件的响应面法分析

桑士田¹, 闫喜武^{1*}, 杨鹏¹, 杨霏¹, 梁健¹,
刘振¹, 霍忠明¹, 张国范²

(1. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁 大连 116023;

2. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为考察温度(T)、盐度(S)、pH及三者交互作用对菲律宾蛤仔稚贝期壳长生长的影响, 使用 Design-Expert 7.0 软件采用 BBD(Box-Behnken Design) 实验设计方案, 进行响应面分析, 寻找最适生长条件组合, 并构造蛤仔稚贝壳长生长模型。实验进行 30 d 对蛤仔稚贝壳长(L) 进行测量。实验条件梯度设计为温度(30 °C、25 °C、20 °C)、盐度(15、20、25)、pH[(7.00 ± 0.09)、(8.00 ± 0.09)、(9.00 ± 0.09)]。结果显示:(1) 温度在实验区间内与蛤仔稚贝壳长生长呈一定的正相关, 在 30 °C 附近达到壳长极值, 盐度在实验区间内也与壳长生长呈一定正相关, 但在接近 25 时达到壳长极值, pH 在 8~9 时出现壳长极值, 略偏碱性水体有利于蛤仔稚贝生长。(2) 温度、盐度及 pH 三者间对蛤仔稚贝生长无显著交互作用($P > 0.05$)。通过 Design-Expert 7.0 软件对数据进行二次多元回归拟合, 得到蛤仔稚贝壳长 Y 对编码自变量 A、B 和 C 的二次多元回归方程: $Y = 4.08 + 0.10A + 0.18B + 0.11C - 0.055A^2 - 0.13B^2 - 0.12C^2$ ($R^2 = 0.9774$), 软件模拟最适蛤仔稚贝生长的条件组合为[T = 29.65 °C, S = 23.35, pH = (8.46 ± 0.09)]。

关键词: 菲律宾蛤仔; 温度; 盐度; pH; 响应面法分析

中图分类号: Q 178.1; S 966.2

文献标志码: A

菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)是广温广盐贝类,对环境适应能力很强,广泛分布于世界各地沿海地区,是我国主要养殖经济贝类之一。国内外关于环境对贝类影响的研究很多,曹伏君等^[1]研究了海水盐度、温度对文蛤(*Meretrix meretrix*)稚贝生长及存活的影响,探讨了文蛤的适宜和最适生存、生长条件;林君卓等^[2]研究了文蛤幼虫期温度和盐度对文蛤种苗(稚贝)生长、存活和变态的影响;杨凤等^[3]在温度(24 ± 1) °C、盐度 30 条件下对海湾扇贝(*Argopecten irradians*)幼贝(壳长 10 ~ 15 mm)进行了 pH 的亚急性耐受试验和不同 pH 条件下氨态氮的急性毒性试验;栗志民等^[4]研究了温度和盐度对企鹅珍珠贝(*Pteria penguin*)的清滤率、滤食率和吸收率的影响;Tettelbach 等^[5]研究了温度和盐度与海

湾扇贝胚胎及幼虫生长发育的关系;Bougrier 等^[6]研究了不同温度和太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)耗氧率之间的关系。国内外关于环境对蛤仔影响的研究比较多,马绍赛等^[7]对菲律宾蛤仔死亡环境条件进行了模拟研究,初步确定了温度、底质类型和底质中的硫化物是导致菲律宾蛤仔死亡的可能因子;李霞等^[8]研究了菲律宾蛤仔幼虫的生长速度和水温的关系,指出幼虫除 9 °C 水温外,其它所有实验水温都能正常发育,生长速度与水温呈直线关系;林笔水等^[9]研究了温度和盐度对菲律宾蛤仔稚贝生长发育的影响;董波等^[10]研究了环境因子对菲律宾蛤仔摄食生理生态的影响;Kyung 等^[11]研究了不同温度对菲律宾蛤仔能量收支平衡的影响;Kim 等^[12]研究了不同盐度对菲律宾蛤仔内源性代谢节律的影响。

收稿日期:2011-11-15 修回日期:2012-05-30

资助项目:现代农业体系建设专项(CARS-48)

通讯作者:闫喜武, E-mail: yanxiwu2002@163.com

响应面法(response surface methodology, RSM)是利用合理的试验设计,采用多元二次回归方程拟合因素与响应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优条件参数,解决多变量问题的一种统计方法^[13-14]。应用 Design-Expert 7.0 软件系统对试验数据进行统计分析,拟合曲线、建立数学模型,利用其提供的三维立体图形,观察响应曲面,进一步求得试验的最佳化^[15]。目前响应面法在食品科学、微生物科学等领域中应用较多,主要用于生产及实验条件的优化选择,彭勇胜等^[16]运用响应面法优化姬松茸多糖的提取工艺,大大简化后期姬松茸多糖的分离纯化工艺,提高了提取效率;张群林等^[17]运用响应面分析法优化了苏云金芽孢杆菌 BRC-ZQL3 菌株发酵培养基,比初始发酵培养基产孢水平提高了 60.66%;吴兰兰等^[18]用响应面法优化了龙眼核多酚提取工艺,提高了多酚提取效率。在水产动物尤其是贝类研究上,尚未见用此方法进行研究的报道。

本研究利用响应面法,研究了温度、盐度、pH 三因素及其交互作用与蛤仔稚贝生长的关系,并构建蛤仔稚贝生长模型优化蛤仔稚贝生长条件,既对蛤仔的环境适应性进行研究,也将响应面分析法运用到贝类研究中,对此方法在贝类研究中的应用进行探索,以期弄清三因素及交互作用对蛤仔稚贝生长的影响,得到蛤仔稚贝最优生长条件。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验材料为当年繁育的同一蛤仔家系二月龄群体,规格一致,使用精确度为 0.01 mm 游标卡尺随机测量 30 个个体,经统计分析得到壳长平均值为(3.33 ± 0.06) mm。

1.2 实验方法

采用 BBD(Box-Behnken Design)中心组合实验设计方案,设计三因素三水平两中心点实验,实验因素水平及响应面分析方案见表 1 和表 2。

不同温度梯度使用恒温水槽控制,盐度用天然海水(盐度 30 左右)与淡水按比例调配,pH 用 NaOH 和 HCl 调配。稚贝用 2 L 桶养殖,每个桶放稚贝 100 枚,设置 3 个平行实验组。实验期间每天换水 1 次,换水量为 100%,所换新水提前一

天配好盐度,在不同温度条件下控温,同时调整 pH,以此保证换水不会对蛤仔稚贝生长条件造成差异而影响实验结果。饵料每天投喂 2 次,为小球藻(*Chlorella vulgaris*),投饵量视各个实验组摄食情况而定,投喂前调配成适合各受试组的温度和盐度。

表 1 响应面三因素三水平实验设计

Tab. 1 The experiment design of 3 factors and 3 levels of response surface method

因素 factor	编码 code	水平 level		
		1	0	-1
温度/°C temperature	A	30	25	20
盐度 salinity	B	25	20	15
pH	C	9.00 ± 0.09	8.00 ± 0.09	7.00 ± 0.09

表 2 响应面分析方案与实验结果

Tab. 2 Experimental result and scheme of response surface method

编号 no.	因素 factor			平均壳长/mm average shell-length
	A: 温度 temperature	B: 盐度 salinity	C: pH	
1	-1	0	-1	3.74
2	1	0	1	4.09
3	-1	1	0	3.93
4	1	1	0	4.23
5	-1	-1	0	3.58
6	0	1	1	4.12
7	0	-1	-1	3.55
8	0	1	-1	3.86
9	0	0	0	4.08
10	1	0	-1	3.85
11	0	0	0	4.08
12	0	-1	1	3.77
13	0	0	0	4.08
14	-1	0	1	3.93
15	1	-1	0	3.83

1.3 数据测量

对实验用蛤仔稚贝起始壳长及受试 30 d 壳长进行测量,每实验组测量 30 个个体。测量工具为精确度达 0.01 mm 的游标卡尺。

1.4 数据分析

使用 Excel 求各组平均值,采用 Design-expert 7.0 软件进行数据分析,回归拟合实验期间蛤仔稚贝生长模型曲线,并作图。

2 结果

2.1 温度、盐度及 pH 与蛤仔稚贝平均壳长关系

蛤仔稚贝受试结束时平均壳长(表 2), 温度对蛤仔稚贝生长影响(图 1)呈正相关趋势, 20~25 °C 间变化较大, 25~30 °C 间变化缓慢, 在 30 °C 时, 平均壳长达到最大值 4.127 5 mm; 盐度对蛤仔生长影响(图 2), 在 15~20 间变化较大, 且与壳长呈正相关, 20~25 间变化缓慢, 在中间处达到最大值 4.230 42 mm; pH 与蛤仔壳长平均生长(图 3), 在 (7.00 ± 0.09) 到 (8.00 ± 0.09) 间变化较大, 之后在 8~9 中间位置达到最大值 4.230 42 mm。

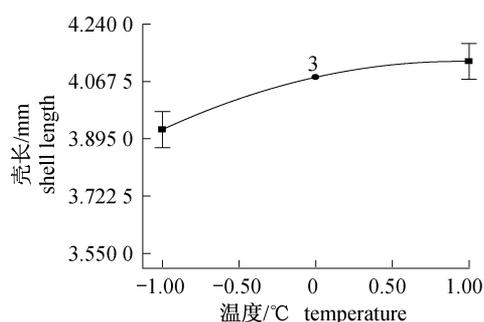


图 1 温度与蛤仔稚贝壳长关系

Fig. 1 Relationship between temperature and shell-length of *R. philippinarum*

2.2 温度、盐度及 pH 交互作用对蛤仔稚贝平均壳长的影响

利用 Design-Expert 7.0 软件对表 2 的数据进行二次多元回归拟合, 得到的二次回归方程的响应面及其等高线, 温度和盐度(图 4)、温度和 pH 间交互作用对蛤仔稚贝生长有影响(图 5), 盐度和

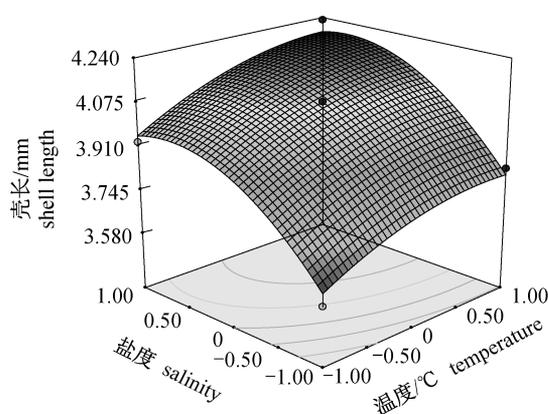


图 4 温度和盐度交互作用对蛤仔稚贝生长的影响

Fig. 4 Effect of interaction between temperature and salinity on shell-length growth of juvenile *R. philippinarum*

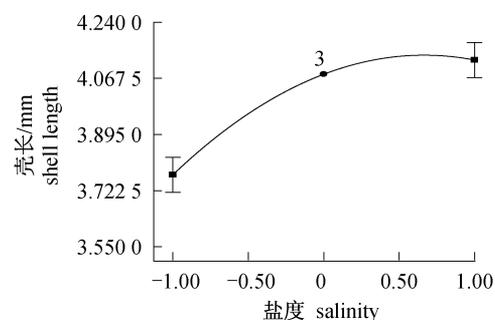


图 2 盐度与蛤仔稚贝壳长关系

Fig. 2 Relationship between salinity and shell-length of *R. philippinarum*

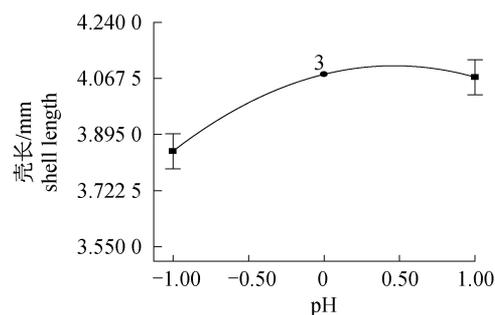
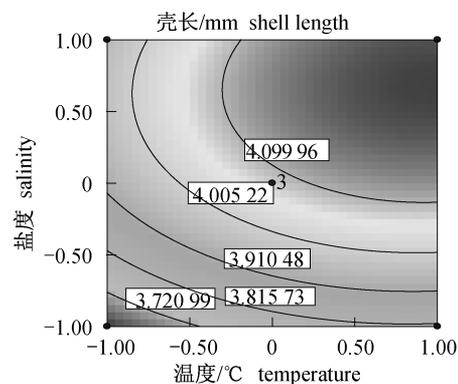


图 3 pH 和蛤仔稚贝壳长关系

Fig. 3 Relationship between pH and shell-length of *R. philippinarum*

pH(图 6)的交互作用对蛤仔稚贝壳长无影响。因为等高线的形状反映交互作用的强弱和大小, 圆形表示无交互作用, 椭圆表示两个因素有交互作用。图 4、图 5 等高线呈椭圆, 表示有交互作用显著, 图 6 等高线呈近圆形, 表示无交互作用, 但交互作用在实验梯度范围内的显著性有待于方差分析检验。从各图中可以看出, A、B、C 三因素都存在极值。



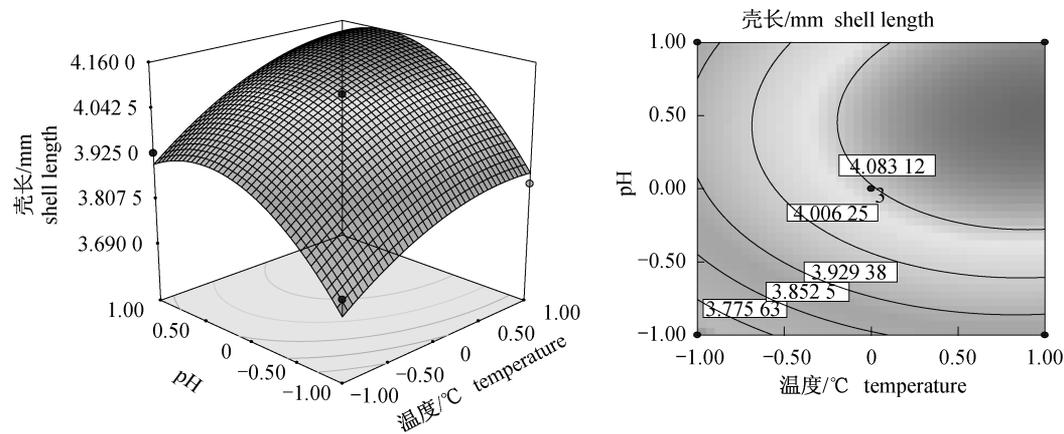


图 5 温度和 pH 交互作用对蛤仔稚贝生长的影响

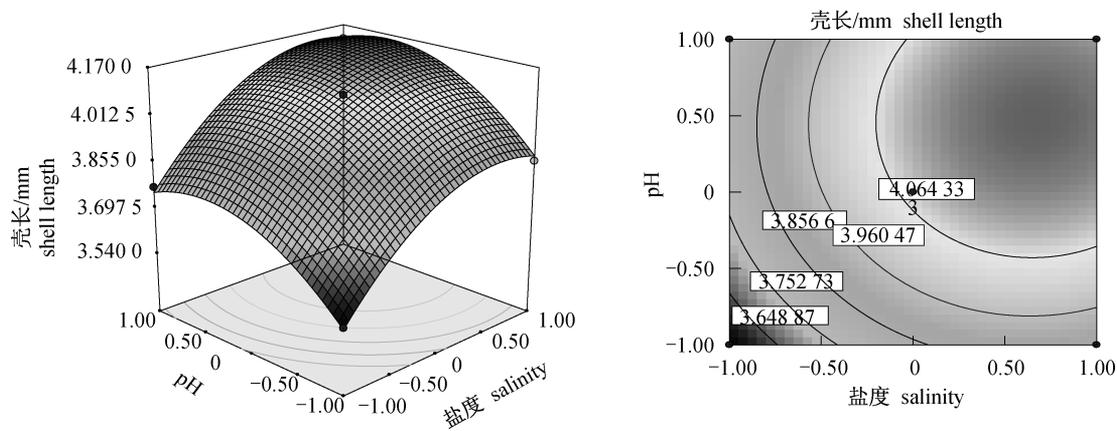
Fig. 5 Effect of interaction between temperature and pH on shell-length growth of juvenile *R. philippinarum*

图 6 盐度和 pH 交互作用对蛤仔稚贝生长的影响

Fig. 6 Effect of interaction between salinity and pH on shell-length growth of juvenile *R. philippinarum*

2.3 蛤仔稚贝生长条件拟合优化

利用 Design-Expert 7.0 软件对表 2 数据进行二次多元回归拟合,得到蛤仔稚贝壳长预测值 Y 对编码自变量 A 、 B 和 C 的二次多项回归方程:
 $Y = 4.08 + 0.10A + 0.18B + 0.11C + 0.013AB + 0.012AC + 0.010BC - 0.055A^2 - 0.13B^2 - 0.12C^2$, ($R^2 = 0.9803$, $Adj R^2 = 0.9449$, $pred R^2 = 0.6853$)。

上述回归方程的方差分析结果见表 3。模型的决定系数 0.9803,说明该模型能解释 98.03% 的变化,但模型 $pred R^2$ 与 $Adj R^2$ 相差很大,说明模型可以进一步优化。由方差分析可知,盐度和 pH 的二次项对模型有显著的影响 ($P < 0.05$),但三个因子之间交互作用不显著 ($P > 0.05$),因此将交互作用项剔除重新对模型进行回归。

重新回归后得到修正后蛤仔稚贝壳长预测值 Y 对编码自变量 A 、 B 和 C 的二次多项回归方程:

$Y = 4.08 + 0.10A + 0.18B + 0.11C - 0.055A^2 - 0.13B^2 - 0.12C^2$ ($R^2 = 0.9774$, $Adj R^2 = 0.9605$, $pred R^2 = 0.9096$)。模型的决定系数为 0.9774,说明该模型能解释 97.74% 的变化, $Adj R^2$ 和 $pred R^2$ 相差不大,说明模型拟合度良好。

修正后的回归模型的方差分析结果见表 4。

由方差分析可知,就单因子线性回归而言,温度、盐度、pH 都能够对模型产生极显著的影响 ($P < 0.01$),三个因素的二次项也能够对模型产生显著影响 ($P < 0.05$),其中盐度和 pH 的二次项对模型有极显著影响 ($P < 0.01$)。因此,可以利用此模型对蛤仔稚贝在不同多环境因素条件下的生长情况进行分析和预测。通过 Design-Expert 软件对模型进行分析,可得三个因素的最优点 (A, B, C) 的代码值为 (0.93, 0.67, 0.46),即 (29.65 °C, 23.35, 8.46 ± 0.09)。此时壳长均值可以达到最大值 4.21277 mm。

表 3 回归模型的方差分析
Tab. 3 Analysis of variance for regression model

变异来源 source	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值 F-value	P 值 P-value
模型 model	0.554 4483 33	9	0.061 605 37	27.687 806 91	0.001 0
A	0.084 05	1	0.084 05	37.775 280 9	0.001 7
B	0.248 512 5	1	0.248 512 5	111.691 011 2	0.000 1
C	0.103 512 5	1	0.103 512 5	46.522 471 91	0.001 0
AB	0.000 625	1	0.000 625	0.280 898 876	0.618 8
AC	0.000 625	1	0.000 625	0.280 898 876	0.618 8
BC	0.000 4	1	0.000 4	0.179 775 281	0.689 2
A ²	0.011 169 231	1	0.011 169 231	5.019 878 997	0.075 2
B ²	0.064 823 077	1	0.064 823 077	29.133 967 16	0.002 9
C ²	0.055 407 692	1	0.055 407 692	24.902 333 62	0.004 1
残差 residual	0.011 125	5	0.002 225		
总变异 total variation	0.565 573 333	14			

Notes: $R^2 = 0.980 3$, $Adj R^2 = 0.944 9$, $pred R^2 = 0.685 3$.

表 4 修正后回归模型的方差分析
Tab. 4 Analysis of variance for regression model modified

变异来源 source	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值 F-value	P 值 P-value
模型 model	0.552 798	6	0.092 133	57.695 85	<0.000 1
A	0.084 05	1	0.084 05	52.634 05	<0.000 1
B	0.248 513	1	0.248 513	155.624 3	<0.000 1
C	0.103 513	1	0.103 513	64.821 92	<0.000 1
A ²	0.011 169	1	0.011 169	6.994 43	0.029 5
B ²	0.064 823	1	0.064 823	40.593 71	0.000 2
C ²	0.055 408	1	0.055 408	34.697 58	0.000 4
残差 residual	0.012 775	8	0.001 597		
总变异 total variation	0.565 573	14			

Notes: $R^2 = 0.977 4$, $Adj R^2 = 0.960 5$, $pred R^2 = 0.909 6$.

2.4 模型验证

以响应面分析得到的蛤仔稚贝最适生长条件,利用与以上实验相差 40 日龄且规格与以上实

验开始时一致的稚贝,做 3 组平行实验,实验时间一个月,验证实验结果。由表 5 可知,实验结果与预测相符,故响应面分析方法可靠。

表 5 实验结果验证
Tab. 5 Result of demonstration test

实验条件 experimental condition	温度/℃ temperature	盐度 salinity	pH	平均壳长/mm average shell length
响应面预测最佳条件 best predicted condition	29.65	23.35	8.46 ± 0.09	4.212 77
验证响应面预测最佳条件 best condition	30	22 ± 1	8.50 ± 0.09	4.32 ± 0.26

3 讨论

菲律宾蛤仔是广温广盐性贝类,对环境的适应能力很强。温度方面,林笔水等^[9]报道菲律宾蛤仔稚贝的适宜生长水温为 15 ~ 30 ℃,其中以

25 ℃为最好,在此温度范围内,稚贝生长迅速,同时也能忍耐低于 10 ℃和高于 35 ℃的水温。本实验温度设置为 20、25、30 ℃三个梯度水平,主要考虑此温度梯度出现在菲律宾蛤仔处于快速生长期的春夏季节,设置此温度梯度进行实验,结果更有

意义。本实验中,蛤仔稚贝生长与温度呈现正相关性,在 29.65 °C 时,壳长达到最大值,这与林笔水等^[9]的研究有所差异,笔者认为,这种差异是正常的,主要是由于本实验各受试组密度较小,换水比较勤,使蛤仔摄食量充足、排泄物受高温影响败坏水质继而影响蛤仔生长的情况比较轻,所以在更高的温度下能得到更大的生长。在一定范围内,高温对水生动物生长是有利的,主要体现在三个方面:(1) 温度可以影响水产动物的代谢率。在一定温度范围内,水产动物的代谢率随着温度的升高而升高^[19-20];(2) 温度可以影响营养物质以及能量的利用率。在适宜的温度条件下,蛋白质的利用效率,以及转化效率都明显提高;(3) 温度可以影响水产动物消化酶的活性。在合适的温度范围内,体内的消化酶活力随着温度的升高而活性增强,生长速率随之加快^[21]。本实验采用稚贝,本身就处于生长发育高峰期,适当的高温也可以提高蛤仔稚贝的代谢率、营养物质及能量的利用率,提高消化酶活性,在饵料充足的条件下,适当高温无疑为蛤仔稚贝生长提供了有利的条件。

盐度方面,据林笔水等^[9]报道,稚贝生长的适宜盐度为 14.0 ~ 33.5,最适盐度在 20.5 左右,生长的盐度上下限分别为 7.5 ~ 40。本实验最适盐度出现在 20 ~ 25,这与上述报道基本一致。但据闫喜武^[22]的报道,小规格蛤仔稚贝在养殖到 14 d 时,在盐度为 15 的条件下生长迅速,超过了其他盐度条件下稚贝的生长。造成这种差异主要因为本研究所选材料为蛤仔北方群体子二代家系,亲贝长期养殖在虾圈内(盐度 30 左右),且所用稚贝从受精卵开始一直生活在盐度 28 的海水中,得到一定的驯化。

关于 pH 对蛤仔稚贝影响的报道较少,闫喜武^[22]报道当 pH 在 7.2 ~ 8.4 范围内时,菲律宾蛤仔幼虫能够正常孵化、生长和变态,但以中性偏碱性(pH = 7.9 ~ 8.4)最佳。本研究所采用的天然海水 pH 为 8.0。研究发现,偏碱性条件下蛤仔稚贝生长明显优于中性条件,最适 pH 为 8.46,高于 8.46 时蛤仔稚贝也能正常生长,略高于已报道的蛤仔幼虫最适 pH,实验认为造成这种差异的原因主要也有两个方面:(1) 稚贝体内物质组成与幼虫期比较发生改变,从而导致对 pH 适应力的变化;(2) 由于实验水体较小,蛤仔稚贝排泄物会快速积累影响水质,这些排泄物主要呈酸性,pH 一

定程度是降低的,而偏碱性的水体可能会起到缓解水质恶化的作用,从而有利于蛤仔稚贝生长,但未见有学者报道这一现象,偏碱性水体有利于蛤仔稚贝生长可能与其所生活的滩涂环境有关,滩涂 pH 比较高。毛蚶(*Scapharca subcrenata*)稚贝生存的适宜 pH 范围为 7.5 ~ 8.5,pH 为 8.0 时生长及存活最好^[23];墨西哥湾扇贝在 pH 为 7 ~ 8 时,稚贝存活率最高,生长最好^[24]。由于生物对环境的耐受能力与生物的不同发育阶段、生物长期生存的环境、实验条件及受试时间等因素有关,所以不同生物,不同受试时间下得到的结果不好相互比较。

本研究采用响应面分析方法,根据 Box-Behnken 中心组合设计原理设计了三因素三水平实验,用 Design-Expert 7.0 软件处理实验数据,通过二次多元回归拟合,构建了蛤仔稚贝壳长生长模型,得到蛤仔稚贝壳长 Y 对编码自变量 A 、 B 和 C 的二次多元回归方程: $Y = 4.08 + 0.10A + 0.18B + 0.11C - 0.055A^2 - 0.13B^2 - 0.12C^2$ ($R^2 = 0.9774$),软件模拟最适蛤仔稚贝生长的条件组合为($T = 29.65$ °C, $S = 23.35$, $pH = 8.46 \pm 0.09$),在验证实验中,采用软件模拟出来的最优条件组合,得到了与预期相近的结果,证明了所构建的壳长生长模型是可靠的。

响应面法是一种实验条件寻优的方法,通过对过程的回归拟合和响应曲面、等高线的绘制,可方便地求出相应于各因素水平的响应值^[25]。运用此方法可以连续对实验的各个水平进行分析,对未进行测试的点进行模拟分析,这样就大大缩减了实验工作量,但是响应面法也有其局限性,其实验前提是设计的实验点应包括最佳的实验条件,如果实验点选取不当,使用这种方法不能得到很好的优化结果。动物生长是由很多条件共同决定的,这就限制了响应面法在动物研究中的应用。笔者认为,在弄清因素对动物生长影响的基本规律后,采用此方法,发挥其优化实验条件的功能优势,可以更加深入地了解环境条件对动物生长的影响,提高动物生产效率,但实验时应注意严格控制非目标因素,使非实验目标因素最大程度地保持一致。

参考文献:

- [1] 曹伏君,刘志刚,罗正杰.海水盐度、温度对文蛤稚贝生长及存活的影响[J].应用生态学报,2009,20

- (10):2545-2550.
- [2] 林君卓,许振祖. 温度和盐度对文蛤幼体生长发育的影响[J]. 福建水产,1997(1):27-33.
- [3] 杨凤,高悦勉,苏延明. 海湾扇贝幼贝对 pH 和氨态氮的耐受性研究[J]. 大连水产学院学报,1999,14(3):13-18.
- [4] 粟志民,刘志刚,邓海东. 温度和盐度对企鹅珍珠贝清滤率、滤食率和吸收率的影响[J]. 水产学报,2011,35(1):96-103.
- [5] Tettelbach S T, Rhodes E W. Combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of Northern Bay scallop, *Argopecten irradians* [J]. Marine Biology,1981,63(3):249-256.
- [6] Bougrier S, Geairon P, Deslous-Paoli J M, et al. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg) [J]. Aquaculture,1995,134:143-154.
- [7] 马绍赛,陈聚法,陈碧鹃. 菲律宾蛤仔死亡环境条件效应模拟试验[J]. 海洋水产研究,1997,18(2):9-12.
- [8] 李霞,赵匠. 菲律宾蛤仔幼虫的生长速度和水温的关系[J]. 吉林林学院学报,1997,13(4):227-229.
- [9] 林笔水,吴天明,黄炳章. 温度和盐度对菲律宾蛤仔稚贝生长及发育的影响[J]. 水产学报,1983,7(1):15-22.
- [10] 董波,薛钦昭,李军. 环境因子对菲律宾蛤仔摄食生理生态的影响[J]. 海洋与湖沼,2000,31(6):636-642.
- [11] Kyung N H, Soon W L, Soon Y W. The effect of temperature on the energy budget of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* [J]. Aquaculture International,2008(2):143-152.
- [12] Kim W S, Huh H T, Huh S H, et al. Effects of salinity on endogenous rhythm of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia: Veneridae) [J]. Marine Biology,2001,138(1):157-162.
- [13] Giovinni M. Response surface methodology and product optimization[J]. Food Technology,1982,37(9):41-45.
- [14] 杨文雄,高炎祥. 响应面法及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂,2005,2(2):68-71
- [15] 陶有俊, Daniel Tao, 赵跃民, 等. 采用 Design-Expert 设计进行优化 Falcon 分选试验[J]. 中国矿业大学学报,2005,34(3):343-348.
- [16] 彭勇胜,王江之,黄程. 响应面法优化姬松茸多糖的提取工艺[J]. 现代食品科技,2011,27(9):1119-1122
- [17] 张群林,张志国,余洁. 响应面分析法优化苏云金芽孢杆菌 BRC-ZQL3 菌株发酵培养基[J]. 福建师范大学学报:自然科学版,2011,27(5):85-90.
- [18] 吴兰兰,汤凤霞,何传波. 响应面法优化龙眼核多酚提取工艺的研究[J]. 集美大学学报:自然科学版,2009,15(5):22-26.
- [19] 崔奕波,陈少莲,王少梅. 温度对草鱼能量收支的影响[J]. 海洋与湖沼,1995,26(2):169-174.
- [20] Claireanx G, Lagardere P. Influence of temperature oxygen and salinity on the metabolism of the European seabass [J]. Journal of Sea Research,1999,42:157-168.
- [21] 刘红,汲长海,施正峰,等. 温度对条纹石鲷蛋白消化酶活性影响的初步研究[J]. 水产科技情报,1998,25(3):103-107.
- [22] 闫喜武. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术与品种选育[D]. 青岛:中国科学院海洋研究所,2005.
- [23] 方军,闫茂仓,张炯明,等. pH 和氨氮对毛蚶稚贝生长与存活影响的初步研究[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2008,27(3):281-285.
- [24] 尤仲杰,陆彤霞,马斌,等. 几种环境因子对墨西哥湾扇贝幼虫和稚贝生长与存活的影响[J]. 热带海洋学报,2002,22(3):22-29.
- [25] 季宏飞,许杨,李燕萍,等. 采用响应面法优化红曲霉固态发酵产红曲色素培养条件的研究[J]. 食品科技,2008,27(8):9-13.

Response surface methodology for optimization of growth condition in juvenile *Ruditapes philippinarum*

SANG Shi-tian¹, YAN Xi-wu^{1*}, YANG Peng¹, YANG Fei¹, LIANG Jian¹,
LIU Zhen¹, HUO Zhong-ming¹, ZHANG Guo-fan²

(1. Engineering and Technology Research Centre of Shellfish Breeding in Liaoning Province,
College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: In this paper, the optimum temperature, salinity and pH for juvenile growth of *Ruditapes philippinarum* were determined through the response surface methodology (RSM). The multivariate non-linear model was applied to study the interactions and optimization of the growth parameters for *R. philippinarum* which were explored by experiments. The results showed that: (1) there were significantly positive correlations between growth of shell length and temperature and salinity within the range of experiment design. The relationship between growth of shell length and temperature and salinity and the growth of shell-length verged to positive correlation, and the calm grew better between pH 8 and 9; (2) there were no significant interactions between temperature, salinity and pH for the growth of juveniles. The multivariate non-linear model is as follows: $Y = 4.08 + 0.10A + 0.18B + 0.11C - 0.055A^2 - 0.13B^2 - 0.12C^2$ ($R^2 = 0.9774$), the optimum conditions for germination are as follows: temperature 29.65 °C and salinity 23.35‰ and pH = 8.46 ± 0.09. The experimental results indicated that the proposed model is reasonably accurate and can be used for describing and predicting the growth features of *R. philippinarum* in different environmental factors.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; temperature; salinity; pH; response surface methodology

Corresponding author: YAN Xi-wu. E-mail: yanxiwu2002@163.com