

文章编号:1000-0615(2008)03-0417-08

大黄鱼幼鱼对饲料中的锌需要量

张佳明, 艾庆辉, 麦康森, 张璐, 张春晓, 刘付志国
(中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 山东青岛 266003)

摘要:以初始体重为 (1.78 ± 0.02) g的大黄鱼为实验对象,在室内流水系统(养殖桶规格:200 L)中进行为期8周的摄食生长实验,研究大黄鱼对饲料中锌的需要量。通过在基础饲料中添加 $ZnSO_4 \cdot H_2O$ 使饲料中锌含量分别达到 $9.68, 30.63, 48.94, 91.28, 167.49$ 和 $326.81\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。每种饲料设3个重复,每个重复放养40尾大黄鱼。实验采取饱食投喂方式,每天投喂2次(05:30和17:30),实验期间水温为 $26.5 \sim 29.5^\circ\text{C}$,盐度为 $25 \sim 28$,溶解氧含量在 $7\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。实验结果表明各饲料处理组成活率($84.2\% \sim 96.7\%$)无显著差异。随着饲料中锌含量的增加,大黄鱼的特定生长率(SGR)显著升高 [$(2.47 \sim 2.77)\% \cdot d^{-1}, P < 0.05$],且在 $91.28\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 锌饲料组达最大值($2.77\% \cdot d^{-1}$),然而,随着饲料中锌含量的进一步增加,SGR维持在一相对稳定水平,各处理组间体蛋白($14.0\% \sim 15.0\%$),体脂肪($5.4\% \sim 6.1\%$),灰分($3.7\% \sim 4.1\%$)及水分含量($76.1\% \sim 77.9\%$)均无显著差异($P > 0.05$)。饲料锌含量显著影响大黄鱼脊椎骨、全鱼和血清中锌的含量,而对肝脏锌含量无显著影响。以SGR与骨骼锌含量为评价指标,根据折线模型得出大黄鱼对饲料中锌的需要量分别为 59.6 和 $84.6\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

关键词:大黄鱼; 锌需要量; 摄食生长

中图分类号:S 963

文献标识码:A

锌是细胞内最为丰富的微量元素,是微生物、植物和动物所必需的矿物元素之一。锌分布于动物机体的所有组织中,是碳酸酐酶、胰羧肽酶、乳酸脱氢酶、谷氨酸脱氢酶和吡啶核苷酸脱氢酶等的组成成分,以及某些酶如碱性磷酸酶的激活剂。在生物体内,锌参与多种代谢过程,包括糖类、脂类、蛋白质与核酸的合成与降解;构成胰岛素并维持其功能^[1]。锌缺乏会导致动物生长缓慢、食欲减退、死亡率增高和骨骼受损,并影响生殖系统和免疫的功能^[2]。由于淡水^[3]和海水^[4]中锌的含量不能满足鱼类生长的需要,因此,饲料被认为是鱼类主要的锌源。有关虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[5]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[6]、真鲷(*Pageus bogaraveo*)^[7]、斑点叉尾*■*(*Ictalurus punctatus*)^[8]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[9]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis nilotica*)^[10]和牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[2]等对饲料中锌的需要量已有相关报道。

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)属鲈形目,石首鱼科,黄鱼属,俗称黄鱼、大黄花、大鲜,属近海暖温、集群洄游性鱼类,是我国黄海南部、东海、台湾海峡以及南海北部海水养殖的名贵经济鱼类。目前,有关大黄鱼营养生理的研究已有相关报道^[11-17],但大黄鱼对锌需求的研究却较少。本研究旨在确定大黄鱼对饲料中锌的需要量,为大黄鱼的营养生理研究和优质高效的人工配合饲料开发提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验鱼来源及驯化

大黄鱼选用当年人工孵化的同一批鱼苗。正式实验前在室内流水养殖系统中驯化15 d。以对

收稿日期:2007-03-26

资助项目:国家自然科学基金(30400335);国家“十五”攻关计划(2004BA526B-06);“十一五”国家科技支撑计划(2006BAD03B03);教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-07-0776)

作者简介:张佳明(1982-),男,山西文水人,硕士研究生,从事鱼类营养生理方面研究。E-mail: zhjiaming@126.com

通讯作者:麦康森,E-mail:kmai@ouc.edu.cn, Tel: 0532-82032038

照组实验饲料(Diet 1号饲料)隔天饱食投喂,使实验鱼逐渐适应实验饲料及室内养殖环境。

1.2 实验饲料

以酪蛋白和明胶为蛋白源,鱼油和豆油为脂肪源, α -淀粉和糊精为糖源配制粗蛋白水平为44.6%,粗脂肪水平为12.6%的基础饲料(表1)。以硫酸锌($ZnSO_4 \cdot H_2O$, 37.4% Zn, 分析纯)为锌源,分别在每千克基础饲料中添加0、20、40、80、160、320 mg锌配制成6种实验饲料。经电感耦合等离子体原子发射光谱仪(Icp-Oes; Vista-Mpx, Varian)测定得出6种实验饲料实际锌含量分别为9.68, 30.63, 48.94, 91.28, 167.49和326.81 mg·kg⁻¹, 分别称为Diet 1、Diet 2、Diet 3、Diet 4、Diet 5和Diet 6号饲料。在饲料制作过程中,所有原料经粉碎过筛(246 μm)后按配比定量均匀混合,然后加入适量的水揉匀,用F(II)-26双螺杆制粒机(华南理工大学,广州)加工制成硬颗粒饲料(1.5 mm×2.0 mm, 2.5 mm×3.0 mm),60 °C烘干至饲料水分含量为10%左右,保存于-15 °C冰柜中备用。另外,每种饲料中分别取定量的样品,保存于-20 °C下待测。

1.3 实验操作程序

生长实验在室内流水养殖系统中进行。实验开始之前,停止投喂1 d,然后以丁香酚(1:10 000)对大黄鱼进行麻醉后称量(精确至0.01 g)。从中挑选出体格健壮,体重相近(1.78 ± 0.02) g的大黄鱼作为实验对象。每个喂养试验桶(200 L)放养40尾实验鱼,每种饲料设立3个重复,每天投喂2次(05:30和17:30),达到饱食状态。实验为期8周,1至4周投喂1.5 mm规格饲料,之后投喂2.5 mm规格饲料至养殖实验结束。每次投喂前1 h吸污,投喂结束收取残饵,记录摄食量,如有死鱼记录数量并称重。

海水经沉淀、砂滤进入养殖系统,水流量为1 L·min⁻¹。实验期间水温为26.5~29.5 °C,盐度为25~28,溶氧维持在7 mg·L⁻¹左右,系统中海水锌含量为 8.47×10^{-3} mg·L⁻¹。生长实验结束后,对实验鱼停食24 h,然后进行计数并称重。

1.4 样品分析

样品制备 从每个养殖桶随机取5尾鱼,以注射器自尾静脉取血,离心后分离血清并于-75 °C保存,用于血清锌含量及碱性磷酸酶(AKP)活力测定。另取5尾鱼剖取肝脏,并冷冻

干燥。然后将解剖后的鱼体放入微波炉中加热1 min分离脊椎骨。以蒸馏水冲洗后,100 °C烘干2 h。烘干后的脊椎骨样品以乙醚抽提12 h去除脂肪并再次烘干。另从各组随机抽取5尾鱼保存于-20 °C冰箱,用于常规分析。

表1 实验饲料配方及营养组成

Tab.1 Composition and nutrient contents in formulated diets

	%, dry weight
原料 ingredient	比例(%) percentage
酪蛋白 casein	37.00
明胶 gelatin	9.00
α -淀粉 α -starch	11.35
糊精 dextrin	20.00
α -纤维素 α -cellulose	5.00
豆油 soybean oil	3.00
鱼油 fish oil	7.00
矿物质混合物 ¹ mineral premix	2.50
维生素混合物 ² vitamin premix	1.50
卵磷脂 lecithin	3.00
诱食剂 ³ attractant	30.50
防霉剂 ⁴ antimold	40.10
抗氧化剂 ethoxyquin	0.05
营养组成 nutrient composition	
粗蛋白 crude protein	44.60
粗脂肪 crude lipid	12.60
锌 zinc content (mg·kg ⁻¹)	9.68

注:1. 矿物质混合物(mg·kg⁻¹饲料): 氯化钠, 2 mg; 碘化钾, 0.8 mg; 氯化钴(1%), 50 mg; 硫酸铜, 10 mg; 硫酸铁, 80 mg; 硫酸锰, 60 mg; 硫酸镁, 1200 mg; 磷酸二氢钙, 7500 mg; 氯化钠, 100 mg; α -纤维素, 15.9972 g。2. 维生素混合物(mg·kg⁻¹饲料): 硫胺素, 25 mg; 核黄素, 45 mg; 盐酸吡哆醇, 20 mg; 维生素B₁₂, 0.1 mg; 维生素K₃, 10 mg; 肌醇, 800 mg; 泛酸, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 叶酸, 20 mg; 生物素, 1.20 mg; 维生素A, 32 mg; 维生素D, 5 mg; 维生素E, 120 mg; 维生素C, 2000 mg; 胆碱, 2500 mg; α -纤维素, 9.1617 g。3. 诱食剂: 50% 二甲基- β -丙酸噻亭+50%甜菜碱。4. 防霉剂: 50%丙酸钙+50%富马酸

Notes: 1. Mineral premix (mg or g·kg⁻¹ diet): NaF, 2 mg; KI, 0.8 mg; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (1%), 50 mg; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 10 mg; $FeSO_4 \cdot H_2O$, 80 mg; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 60 mg; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1200 mg; Ca (H_2PO_4)₂·H₂O, 7500 mg; NaCl, 100 mg; α -cellulose, 15.9972 g. 2. Vitamin premix (mg or g·kg⁻¹ diet): thiamin, 25 mg; Riboflavin 45 mg; pyridoxine HCl, 20 mg; vitamin B₁₂, 0.1 mg; vitamin K₃, 10 mg; inositol, 800 mg; pantothenic acid, 60 mg; niacin acid, 200 mg; folic acid, 20 mg; biotin, 1.20 mg; retinal acetate, 32 mg; cholecalciferol, 5 mg; α tocopherol, 120 mg; ascorbic acid, 2000 mg; choline chloride, 2500 mg; α -cellulose, 9.1617 g. 3. Attractant: 50% DMPT + 50% Betaine. 4. Mold inhibitor: 50% calcium propionic acid and 50% fumaric acid

样品分析测定方法 原料、饲料及鱼体的样品均在 105°C 烘干至恒重后求得干物质含量,然后进行生化组分分析。采用自动定氮仪(Kjeltec 2300, Sweden)测定粗蛋白含量;采用索氏抽提法,以乙醚为抽提剂测定粗脂肪含量;将样品在电炉上炭化后,在马福炉中 550 °C 灼烧 8 h 后测得样品灰分含量(AOAC, 1995)。每份样品均重复测定 2 次,若相对偏差大于 2%,则增加重复次数,采用相对偏差在 2% 以下的两个测定值的平均数为测定结果。饲料、鱼体、脊椎骨、肝脏及血清经高氯酸消化后由电感耦合等离子体原子发射光谱仪(Icp-Oes)测得其中锌的含量。

碱性磷酸酶(AKP)活力采用试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定。AKP 分解磷酸苯二钠产生游离酚和磷酸,100 mL 血清在 37 °C 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位。

1.5 计算及统计方法

$$\text{体重增重(WG)} = W_t - W_0$$

$$\text{特定生长率(SGR)} = [(\ln W_t - \ln W_0)/t] \times 100$$

$$\text{饲料转化率(FCE)} = (W_t - W_0)/I_d$$

式中, W_t (g) 为终末体重, W_0 (g) 为初始体重, t (d) 为实验时间, I_d (g) 为摄入饲料干重。

采用 SPSS 11.0 for Windows 对所得数据进行

表 2 饲料锌水平对大黄鱼生长状态参数的影响(8周)

Tab. 2 Growth performance of large yellow croaker fed different diets (8 weeks) X ± SD, n = 3

饲料编号 diets no.	饲料锌水平 (mg·kg⁻¹) dietary zinc	体重增重(g) weight gain	饲料转化率 feed conversion efficiency	特定生长率(%·d⁻¹) specific growth rate	成活率(%) survival rate
Diet 1	9.68	5.31 ± 0.10 ^c	0.77 ± 0.03	2.47 ± 0.03 ^c	84.2 ± 3.63
Diet 2	30.63	5.57 ± 0.08 ^{b,c}	0.80 ± 0.04	2.53 ± 0.02 ^{b,c}	86.7 ± 3.00
Diet 3	48.94	6.40 ± 0.14 ^{a,b}	0.82 ± 0.03	2.72 ± 0.03 ^{a,b}	95.8 ± 2.20
Diet 4	91.28	6.65 ± 0.38 ^a	0.84 ± 0.03	2.77 ± 0.08 ^a	93.3 ± 4.41
Diet 5	167.49	6.56 ± 0.20 ^{a,b}	0.83 ± 0.03	2.76 ± 0.04 ^{a,b}	94.2 ± 2.20
Diet 6	326.81	6.62 ± 0.30 ^{a,b}	0.81 ± 0.02	2.77 ± 0.06 ^a	96.7 ± 2.20

注:表中数据上标英文字母相同的同一列数值间差异不显著($P > 0.05$)

Notes: Values within the same column sharing a common superscript are not significantly different ($P > 0.05$)

各饲料组大黄鱼 FCE 随饲料锌水平的上升呈先上升后下降的趋势(表 2),但各饲料组 FCE(76.8% ~ 83.6%)无显著差异($P > 0.05$)。

2.2 饲料锌水平对大黄鱼体组成和各组织锌含量的影响

实验大黄鱼鱼体的粗蛋白含量在 14.0% ~ 15.0%、粗脂肪含量在 5.4% ~ 6.1%,灰分含量在 3.7% ~ 4.1%,水分含量在 76.1% ~ 77.9%,且各

方差分析,若差异显著,然后进行 Tukey 多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。根据 SGR 或骨骼锌(bone zinc)数据,以折线模型(broken-line model)^[18]确定锌的需要量。

2 结果

2.1 饲料锌水平对大黄鱼生长状态参数的影响

实验结果表明,各饲料组大黄鱼的成活率(84.2% ~ 96.7%)无显著差异($P > 0.05$)(表 2),但对照组和饲料锌含量为 30.63 mg·kg⁻¹(Diet 2)组成活率相对较低。

大黄鱼 SGR 随饲料锌水平的上升呈先上升后平稳的趋势(表 2),其中对照组大黄鱼 SGR 为 2.47 %·d⁻¹,低于 Diet 2 组(SGR 为 2.53 %·d⁻¹),二者之间差异不显著,而显著低于锌含量为 48.94 mg·kg⁻¹以上各组。48.94 mg·kg⁻¹(Diet 3)组与 326.81 mg·kg⁻¹(Diet 6)组间差异不显著。饲料中锌含量与大黄鱼 SGR 之间具有线性关系,根据折线模型,经线性回归分析,得出折线模型的数学表达式为:

$$Y = 2.77 - 0.0064(59.6 - X) (R^2 = 0.9896)$$

依 SGR 得到大黄鱼对饲料中锌的需要量为 59.6 mg·kg⁻¹ 饲料(图 1)。

处理组间均无显著差异($P > 0.05$)(表 3)。

鱼体脊椎骨锌含量随饲料锌水平的上升呈先上升后平稳的趋势(表 4),其中对照组大黄鱼脊椎骨锌含量为 134.50 μg·g⁻¹,与饲料锌含量为 30.63 mg·kg⁻¹(Diet 2)组(158.3 μg·g⁻¹)差异不显著,二者均显著低于饲料锌含量为 48.94 mg·kg⁻¹以上各组。48.94 mg·kg⁻¹ 组大黄鱼脊椎骨锌含量显著低于 91.28 mg·kg⁻¹(Diet 4)、167.49 mg·kg⁻¹(Diet 5)及 326.81 mg·kg⁻¹(Diet 6)组。

鱼体锌含量与脊椎骨锌含量的变化趋势相一致,对照组鱼体锌含量为 $20.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,随着饲料锌含量升高至 $48.94 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,鱼体锌含量显著升高($39.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)。饲料锌含量为 $48.94 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以上各组间鱼体锌含量无显著差异。

血清锌含量与脊椎骨、鱼体锌含量均有相同的趋势。其中对照组和 $30.63 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Diet 2)组血清锌含量显著低于其它各处理组。

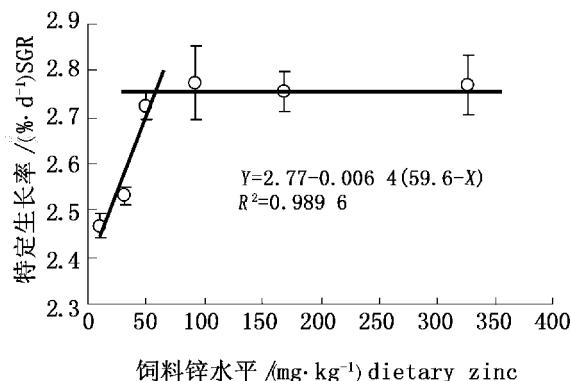


图1 大黄鱼特定生长率与饲料锌水平的关系

Fig.1 Relationship between specific growth rate and dietary zinc level in juvenile large yellow croaker

各饲料处理组间鱼体肝脏锌含量在 $153.9 \sim 191.1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,且各组间无显著差异($P > 0.05$)。

饲料中锌含量与大黄鱼脊椎骨锌含量之间也具有线性关系,根据折线模型,经线性回归分析,得出折线模型的数学表达式为:

$$Y = 301.8 - 2.34(84.6 - X) \quad (R^2 = 0.9778)$$

根据大黄鱼脊椎骨锌含量得大黄鱼对饲料中锌的需要量为 $84.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 饲料(图2)。

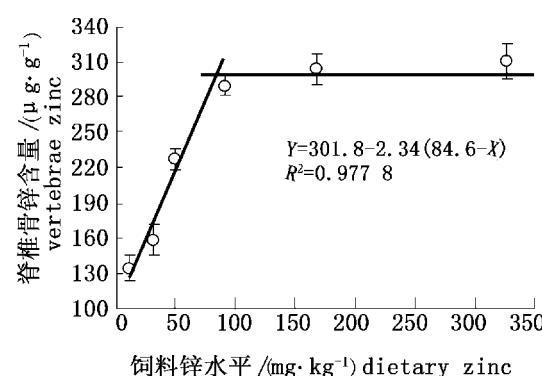


图2 大黄鱼脊椎骨锌含量与饲料锌水平的关系

Fig.2 Relationship between vertebral zinc and dietary zinc level in juvenile large yellow croaker

表3 饲料锌水平对大黄鱼鱼体组成的影响

Tab.3 Body composition of large yellow croaker fed different diets

% , X ± SD, n = 3, wet weight

饲料编号 diets no.	饲料锌水平 (mg·kg⁻¹) dietary zinc	水分含量 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash
Diet 1	9.68	76.50 ± 0.90	14.90 ± 0.70	5.70 ± 0.10	3.90 ± 0.10
Diet 2	30.63	77.90 ± 0.20	14.70 ± 0.70	5.40 ± 0.80	3.70 ± 0.10
Diet 3	48.94	76.50 ± 0.50	14.50 ± 0.40	5.60 ± 0.20	3.80 ± 0.10
Diet 4	91.28	76.30 ± 0.20	14.90 ± 0.10	6.10 ± 0.10	4.10 ± 0.10
Diet 5	167.49	77.70 ± 0.50	14.00 ± 0.40	5.40 ± 0.10	4.0 ± 0.2
Diet 6	326.81	76.10 ± 0.90	15.00 ± 0.80	6.10 ± 0.10	4.10 ± 0.10

注:表中数据上标英文字母相同的同一列数值间差异不显著($P > 0.05$)

Notes: Values within the same column sharing a common superscript are not significantly different ($P > 0.05$)

表4 饲料锌水平对大黄鱼脊椎骨、鱼体、肝脏和血清中锌含量的影响

Tab.4 Concentrations of zinc in vertebrae, whole body, liver and serum of large yellow croaker fed different diets

X ± SD, n = 3

饲料编号 diets no.	饲料锌水平 (mg·kg⁻¹) dietary zinc	脊椎骨 (μg·g⁻¹) vertebrae	鱼体 (μg·g⁻¹) whole body	血清 (μg·mL⁻¹) serum	肝脏 (μg·g⁻¹) liver
Diet 1	9.68	134.5 ± 10.8 ^c	20.8 ± 2.0 ^c	12.1 ± 1.2 ^b	176.3 ± 23.7
Diet 2	30.63	158.3 ± 13.3 ^c	28.9 ± 0.9 ^b	13.2 ± 1.6 ^b	153.9 ± 30.8
Diet 3	48.94	227.5 ± 8.9 ^b	39.2 ± 1.2 ^a	25.7 ± 3.9 ^a	181.2 ± 16.8
Diet 4	91.28	289.9 ± 8.3 ^a	42.3 ± 1.9 ^a	24.3 ± 1.1 ^a	191.1 ± 31.7
Diet 5	167.49	304.4 ± 13.3 ^a	41.7 ± 2.3 ^a	24.6 ± 2.1 ^a	164.8 ± 20.1
Diet 6	326.81	311.1 ± 15.5 ^a	42.3 ± 1.2 ^a	26.2 ± 2.5 ^a	173.4 ± 15.9

注:表中数据上标英文字母相同的同一列数值间差异不显著($P > 0.05$)

Notes: Values within the same column sharing a common superscript are not significantly different ($P > 0.05$)

2.3 饲料锌水平对大黄鱼血清 AKP 活力的影响

血清 AKP 活力随饲料锌水平的上升呈先上升后平稳的趋势(图 3),饲料中不添加锌,AKP 活力最低,仅为每 100 mL 2.71 金氏单位。AKP 活力在饲料锌含量高于 $48.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的各组之间差异不显著($P > 0.05$)。

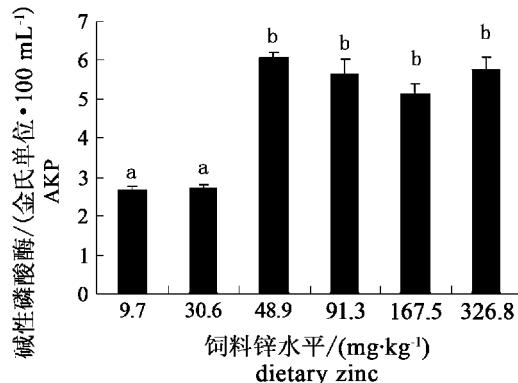


图 3 不同饲料处理下血清碱性磷酸酶(AKP)活力变化

Fig. 3 The change of serum AKP activity for different experimental diets

3 讨论

本研究通过在精制基础饲料中添加不同含量的微量元素锌饲养大黄鱼 8 周后,发现摄食缺锌饲料的大黄鱼生长缓慢、饲料转化率和成活率数值偏低。随饲料锌水平的上升,大黄鱼生长状况明显得到改善,当饲料锌含量达到或超过 $48.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,SGR 达到一平台(图 1,表 2)。同时,大黄鱼对饲料的利用率及成活率也有所升高(表 2)。这些结果表明锌是维持大黄鱼正常生长所必需的元素,同时大黄鱼能够利用无机态锌。依 SGR 得到大黄鱼对饲料中锌的需要量为 $59.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,这一结果高于在虹鳟($15 \sim 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[5]、鲤($15 \sim 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[6]、斑点叉尾**■**($5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[19]、尼罗罗非鱼($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[10]、真鲷($20 \sim 25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[7]、鲍($32 \sim 35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[20]和斑节对虾($32 \sim 34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[21]的研究中得到的数值,但低于在牙鲆($> 119.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[2]的研究中得到的数值。这可能与实验鱼的种类、饲料的组成及适口性、实验鱼的大小、投喂次数及水平、实验条件等多种因素有关。

本实验中投喂锌含量低于需要量饲料(对照组与 $30.63 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组)的大黄鱼生长受到显著抑制。已经阐明生长缓慢是人与动物锌缺乏的主要

临床症状^[22]。Chesters^[23]通过锌-基因交互作用的研究,从基因水平上确立了锌元素在生长调控上的基础地位。缺锌也导致了虹鳟^[5]、尼罗罗非鱼^[10]、斑点叉尾**■**^[24]、鲍^[19]和斑节对虾^[21]生长受阻。另一方面,饲料中锌添加过量没有对大黄鱼生长产生负面影响。通常情况下,满足最适生长需要量并不能使实验鱼达到最佳生理状态。在本实验条件下, 91.28 至 $326.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 锌含量超出最适生长需要量(而没有使实验鱼达到最佳生理状态),并没有对实验鱼产生毒性,锌含量过量在满足生长需要后对实验鱼的生长既没有起到促进作用也没有抑制作用,而是趋于稳定。有关虹鳟^[5]、鲤^[6]、斑点叉尾**■**^[19]、蓝罗非鱼^[25]、尼罗罗非鱼^[10]、鲍^[20]和斑节对虾^[21]的研究同样得到类似结果。

矿物元素的研究中,动物机体组织中矿物元素的含量是评定其需要量的重要指标^[2]。大黄鱼骨骼、鱼体和血清锌含量随饲料锌水平的上升而增大,在大黄鱼锌需求满足后趋于平稳。这一趋势与对大西洋鲑^[9]、尼罗罗非鱼^[10]和斑点叉尾**■**^[24]的研究结果相类似。因此,本研究采用骨骼^[26]、鱼体^[27]与血清^[28]中锌含量作为指标来评价饲料锌含量对大黄鱼生理状况的影响。

脊椎骨锌储存量达最大时,大黄鱼对饲料中锌的需要量为 $84.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 饲料,高于以生长为评价指标确定的需要量。这与 Marcelo 等^[29]对尼罗罗非鱼研究的报道相似。该研究发现以植物蛋白为蛋白源,使实验鱼达到最佳生长状态需要向饲料中添加 $44.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 锌,而要达到实验鱼脊椎骨锌最大累积量则需向饲料中添加 $79.51 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 锌。锌对骨骼具有重要意义,锌负责激活氨酰-tRNA 合成酶,而该酶是骨组织细胞蛋白质合成的限速酶,因此锌在骨细胞翻译水平上促进了蛋白质合成,进而有利于骨骼形成^[30]。从当前结果可看出鱼类可以少量动员脊椎骨的锌应对缺乏。骨骼锌储存量比生长更灵敏反映动物锌状态^[19,29,31]。

许多水产动物矿物元素需求的研究表明,鱼体或组织必需元素水平降低可能与该元素摄入不足有关^[5-6,24,32-34],鱼体矿物元素含量作为评价指标也得到了应用^[9-10,35]。本实验中随着饲料中锌添加量的增加,鱼体锌含量逐渐升高,在 $48.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 3)组接近最大值($39.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。

kg^{-1}),之后趋于平稳,这表明对照组和饲料锌含量 $30.63 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 2)组大黄鱼锌摄入不足。同时,也可推断全鱼锌含量可以作为评价大黄鱼锌营养状况的指标。

血清中锌大部分与白蛋白疏松结合,随血液循环以不同速率进入到各种肝外组织。尽管血清锌含量较骨骼含量可靠性差,但仍可反映鱼类锌营养状况^[9-10,36]。Julshamn 等^[37]发现投喂不同锌含量饲料(大约 $100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的大西洋鲑血清锌水平在 $15 \sim 32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,本研究中大黄鱼该指标数据与其相似。Maage 和 Julshamn^[9]的结果显示满足大西洋鲑锌需要($> 67 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),其血清锌水平达到 $20.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 并且在之后趋于平稳。据此可得出 $48.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 3)至 $326.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 6)组实验鱼锌营养状况属正常的结论。

大黄鱼肝脏锌含量维持在相对稳定水平,即使在锌摄入不足、营养状况不良时(对照组和 Diet 2 组)也不例外。肝脏和消化道锌主要以金属硫蛋白(metallothioneins)的形式存在^[29]。Henriques 和 Cozzolino^[38]的研究结果表明由于其生理上的重要性,肝脏金属硫蛋白水平总是相对稳定并且不随饲料锌源或含量不同而变化。因此,锌以及其它微量元素如钙等在肝脏的含量被认为是相对不敏感指标^[39]。这也被 Maage 等^[9]对大西洋鲑的研究所证实。该研究发现在饲养 4 周和 8 周后,大西洋鲑肝脏中锌含量均未随饲料锌增加而显著增加。

AKP 几乎存在于高等动物的各个组织中,在肠上皮、肝脏、白细胞、成骨细胞等部位尤其丰富,血清中的 AKP 主要来源于肝脏和骨骼。AKP 是生物体内的一种重要的代谢调控酶,直接参与磷酸基团的转移,参与钙磷代谢,在脊椎动物的骨化作用中起重要作用。AKP 活力被认为是反映动物体内锌状态的灵敏指标^[40]。在本研究中,饲料锌水平显著影响到血清 AKP 水平。对照组和饲料锌含量 $30.63 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 2)组的大黄鱼血清 AKP 活力显著低于饲料锌含量 $48.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 3)至 $326.81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Diet 6)组。这可能是由于锌是 AKP 的组成成分^[22],鱼体内锌的缺乏导致合成 AKP 不足。

参考文献:

- [1] 李爱杰.水产动物营养与饲料学[M].北京:中国农业出版社,1994:59.
- [2] 魏万权,李爱杰,李德尚.饲料中添加锌对牙鲆生长和生化指标的影响[J].青岛海洋大学学报,1999,29(1): 60-66.
- [3] Spry D J, Hodson P V, Wood C M. Relative contributions of dietary and waterborne zinc in the rainbow trout *Salmo gairdneri* [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1988, 45: 32-41.
- [4] Willis J N, Sunda W G. Relative contributions of food and water in the accumulation of zinc by two species of marine fish [J]. Mar Biol, 1984, 80: 273-279.
- [5] Ogino C, Yang G Y. Requirement of rainbow trout for dietary zinc [J]. Nippon Suisan Gakkaihi, 1978, 44: 1015-1018.
- [6] Ogino C, Yang G Y. Requirement of carp for dietary zinc [J]. Nippon Suisan Gakkaihi, 1979, 45: 967-969.
- [7] Gatlin D M III, O'Connell J P, Scarpa J. Dietary zinc requirement of the red drum, *Sciaenops ocellatus* [J]. Aquaculture, 1991, 92: 259-265.
- [8] National Research Council. Nutrient requirements of fish [M]. Washington, DC:National Academy Press, 1993: 114.
- [9] Maage A, Julshamn K. Assessment of zinc status in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* by measurement of whole body and tissue levels of zinc [J]. Aquaculture, 1993, 117: 179-191.
- [10] Eid A, Ghonim S I. Dietary zinc requirement of fingerling *Oreochromis niloticus* [J]. Aquaculture, 1994, 119: 259-264.
- [11] Duan Q, Mai K, Zhong H, et al. Studies on the nutrition of the large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. I. Growth response to graded levels of dietary protein and lipid [J]. Aquac Res, 2001, 32 (Suppl, 1): 46-52.
- [12] 林树根,陈文烈,钟秀容,等.大黄鱼消化道器官显微与亚显微结构[J].水产学报,2002,26(5):396-401.
- [13] 于海瑞,麦康森,段青源,等.人工育苗条件下大黄鱼仔、稚、幼鱼的摄食与生长[J].中国水产科学,2003,10(6):495-501.
- [14] Mai K S, Zhang C X, Ai Q H, et al. Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. Aquaculture, 2006, 251: 346-353.

- [15] Mai K S, Wan J L, Ai Q H, et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Aquaculture, 2006, 253: 564 – 572.
- [16] Ai Q H, Mai K S, Tan B P, et al. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. [J]. Aquaculture, 2006, 260: 255 – 263.
- [17] Ai Q H, Mai K S, Tan B P, et al. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. [J]. Aquaculture, 2006, 261: 327 – 336.
- [18] Robbins K R, Norton H W, Baker D H, Estimation of nutrient requirements from growth data[J]. Nutr, 1979, 109: 1710 – 1714.
- [19] Gatlin D M III, Wilson R P. Dietary zinc requirement of fingerling channel catfish[J]. Nutr, 1983, 113: 630 – 635.
- [20] Tan B P, Mai K S. Zinc methionine and zinc sulfate as sources of dietary zinc for juvenile abalone, *Haliotis discus hawaii* Ino[J]. Aquaculture, 2001, 192: 67 – 84.
- [21] Shiao S Y, Jiang L C. Dietary zinc requirements of grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on immune responses[J]. Aquaculture, 2006, 254, 476 – 482.
- [22] Hambridge K M, Casey C E, Krebs N S. Zinc[M]// Mertz W, ed. Trace element in human and animal nutrition (Vol 2, 5th edn). Academic Press, San Diego, 1986:1 – 137.
- [23] Chesters J K. Trace element-gene interaction with particular reference to zinc [J]. Proc Nutr Soc, 1991, 50: 123 – 129.
- [24] Paripatananont T, Lovell R T. Chelated zinc reduces the dietary zinc requirement of channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. Aquaculture, 1995, 133: 73 – 82.
- [25] McClain W R. Dietary zinc requirement of *Oreochromis aureus* and effects of dietary calcium and phytate on zinc bioavailability [J]. World Aquacult Soc, 1988, 19: 103 – 108.
- [26] Huber A M, Gershoff S N. Effects of dietary zinc and calcium on the retention and distribution of zinc in rats fed semipurified diets[J]. Nutr, 1970, 103: 1175 – 118.
- [27] Wekell J C, Shearer K D, Gauglitz E J Jr. Zinc supplementation of trout diets: tissue indicators of body zinc status [J]. Prog Fish Cult, 1986, 48: 205 – 212.
- [28] Tuner W E, Carter R J, Bailey G G, et al. Serum zinc and copper levels in the National Health and Nutrition Examination Survey [J]. Clin Chem, 1978, 24: 1028 – 1029.
- [29] Marcelo Vinicius do Carmo Sa, Luiz Edvaldo Pezzato, Margarida Maria Barros Ferreira Lima, et al. Optimum Zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets [J]. Aquaculture, 2004, 238: 385 – 401.
- [30] Eberle J, Schindmayer S, Erben R G, et al. Skeletal effects of zinc deficiency in growing rats [J]. Trace Elem Med Biol, 1999, 13: 21 – 26.
- [31] Forbes R M, Parker H M, Erdman J W Jr. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability on rats [J]. Nutr, 1984, 114: 1421 – 1425.
- [32] Lovell R T. Dietary phosphorus requirements of channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. Trans Am Fish Soc, 1978, 107: 617 – 621.
- [33] Gatlin D M III, Robinson E H, Poe E E, et al. Magnesium requirement of channel catfish [J]. Nutr, 1982, 112: 1197 – 1202.
- [34] Wilson R P, Robinson E H, Gatlin D M III, et al. Dietary phosphorus requirement of channel catfish [J]. Nutr, 1982, 112: 1197 – 1202.
- [35] Shearer K D. Changes in elemental compositions of rainbow trout associated with growth and reproduction [J]. J Can J Fish Aquat Sci, 1984, 41: 1592 – 1600.
- [36] Magge A. Trace elements in Atlantic salmon (*Salmo salar*) nutrition[D]. PhD Thesis, University of Bergen, Norway, 1994.
- [37] Julshamn K, Sandnes K, et al. Effects of dietary selenium supplementation on growth, blood chemistry and trace elements levels in serum and liver of adult Atlantic salmon (*Salmon salar*) [J]. Fisk Dir Skr Ser Ernring, 1990, 3(2): 47 – 58.
- [38] Henriques G S, Cozzolino S M F. Determination of metallothionein levels in tissues of young rats fed zinc-enriched diets[J]. Rev Nutr, 2001, 13: 163 – 169.
- [39] Spinelli J, Houle C R, Wekell J C. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium[J]. Aquaculture, 1983, 30: 71 – 83.
- [40] Swinkels J W, Kornegay E T, Zhou W, et al. Effectiveness of a zinc amino acid chelate and ZnSO₄ in restoring serum and soft tissue zinc concentration when fed to zinc-depleted pigs [J]. Anim Sci, 1996, 74: 2420 – 2430.

Dietary zinc requirement of juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*

ZHANG Jia-ming, AI Qing-hui, MAI Kang-sen, ZHANG Lu, ZHANG Chun-xiao, LIUFU Zhi-guo
(Key Laboratory of Mariculture, Certificated by Education Ministry of China, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A growth experiment was conducted to determine the dietary zinc requirement for juvenile large yellow croaker [initial average weight (1.78 ± 0.02) g]. Six semi-purified diets were formulated to contain 9.68, 30.63, 48.94, 91.28, 167.49 and 326.81 mg zinc per kg diet, supplied as $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Each diet was randomly assigned to triplicate groups of fish in flow-through system, and each tank was stocked with 40 juvenile fish. Fish were fed twice daily (05:30 and 17:30) to apparent satiation for 8 weeks. The water temperature fluctuated from 26.5 to 29.5 °C, salinity from 25 to 28 and dissolved oxygen was approximately $7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ during the experimental period. No significant differences in survival were found among dietary treatments. Specific growth rate (SGR) significantly increased with increasing dietary zinc from 9.7 to 48.9 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of diet ($P < 0.05$), and then leveled off. Zinc content in the vertebrae, whole body and serum was significantly affected by dietary zinc level ($P < 0.05$). No significant difference was observed in body protein (14.0% – 15.0%), lipid (5.4% – 6.1%), ash (3.7% – 4.1%) and moisture (76.1% – 77.9%) among dietary treatment ($P > 0.05$). Broken-line analysis showed that the optimum dietary zinc requirement for large yellow croaker juveniles, using SGR and vertebrae zinc saturation as response criteria, was 59.6 and 84.6 mg zinc per kg diet, respectively.

Key words: *Pseudosciaena crocea*; zinc requirement; feeding and nutrition