

## 封闭循环水养殖半滑舌鲷蛋白质的生态营养需要量

李勇<sup>1\*</sup>, 王美琴<sup>1</sup>, 高婷婷<sup>1,2</sup>, 王华<sup>1</sup>, 夏苏东<sup>1</sup>, 孙国祥<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 研究在封闭循环水养殖条件下, 选用半滑舌鲷幼鱼(110±25)g, 进行5×3双因素试验, 即5种饲料蛋白质水平(43%、46%、49%、52%、56%, 以A~E组表示)和3种饲喂饱食度水平(100%、90%、80%, 以I、II、III水平表示), 分为15个处理组, 每个处理3重复, 每个重复25尾鱼, 试验期108d。通过生长、水质、消化酶等指标测定, 研究蛋白质营养与饱食度对工厂化养殖半滑舌鲷生长和养殖水环境的影响。结果表明, (1) 随蛋白质水平和饱食度升高, 增重率显著提高( $P<0.01$ ), E组显著高于其它组13.75%~50.16%, I水平比II、III水平分别显著提高7.57%、14.08%; E组饲料系数显著低于其它各组6.25%~27.44% ( $P<0.05$ ), 但饱食度对饲料系数的影响没有前者对其影响显著, I与II水平差异不显著, I水平比III水平显著高5%; 鱼体氨氮、亚硝氮、总有害氮(氨氮+亚硝氮)的排泄率显著增加( $P<0.01$ ), C组(中蛋白水平)总有害氮比E、D组分别降低64.40%、54.50%, I水平分别比II、III水平极显著高17.8%、29.2%; (2) 随蛋白水平升高, 肝脏和肠道蛋白酶活力增强, E组比其它各组提高10.50%~81.23%(肝)及6.84%~48.90%(肠)。脂肪酶活力降低, E组比其它各组降低2.46%~14.36%(肝)及4.31%~20.58%(肠)。淀粉酶活力先增加后降低, 肝脏淀粉酶活力C组最高, 且比其它组高8.53%~22.27%, 肠道中B组活力最高, 比其它组高5.3%~21.93%。随饱食度升高, 肝脏和肠道中消化酶活力各组均降低, III水平蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活力比II、III水平分别降低5.23%~18.07%、6.62%~18.76%和3.91%~10.64%; (3) 通过日增氮量与日总有害氮排泄量的回归分析与模拟测算, 获得饱食度I、II、III水平的蛋白质生态营养需要量分别为48.30%、49.27%和50.67%。生态适宜性饱食度为90%。

**关键词:** 半滑舌鲷; 蛋白质; 饱食度; 生态营养需要量; 水总有害氮; 消化酶活力; 生长性能  
**中图分类号:** S 963 **文献标识码:** A

随着集约化养殖技术的应用, 水产养殖中以自污染为主的水环境污染引起的养殖动物病害已成为严重制约水产养殖业健康发展的瓶颈。因此, 从源头做起, 通过生态营养调控和科学投饲方式, 确定适宜蛋白质等营养水平, 降低水污染, 保持良好养殖环境, 对提高养殖动物免疫力、减少环境污染和病害发生、保证水产动物健康生长、最终获得安全优质水产品, 将发挥非常重要的作用<sup>[1-2]</sup>。

半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis* Günther)是我国传统名贵鱼类, 近年在我国北方沿海的工厂化养殖规模不断扩大。目前, 半滑舌鲷生物学特性、苗种繁育、仔稚鱼饲料等方面已有一些研究, 但目前很少见到有关工厂化养殖条件下半滑舌鲷幼鱼生态营养方面的研究, 饱食度等投饲方式研究亦属空白。

本研究从生态营养学<sup>[3]</sup>角度将蛋白质水平与饱食度两因素相结合, 探讨在封闭循环水工厂

收稿日期:2010-07-25 修回日期:2010-08-14

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划重点项目(2006AA100305); 国家农业科技成果转化资金项目(2008GB2C100109)

通讯作者:李勇, Tel:0532-82898724, E-mail:lyzhy678@hotmail.com

化养殖条件下对半滑舌鳎幼鱼生长性能、水生态因子和消化酶活力的影响特征,并确定半滑舌鳎幼鱼的蛋白质生态营养需要量与科学的饲料饱食度投喂方式,从而为促进我国现代封闭循环水工厂化养殖半滑舌鳎及其它海产动物的安全、健康、清洁和可持续发展提供科学参考和借鉴。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计、饲养管理和试验饲料

试验鱼由天津市海发珍品实业有限公司提供,初始体重(110 ± 25) g。采用 5 × 3 双因素随机试验设计,蛋白质因素 5 个水平:43%、46%、49%、52%、56%,分别以 A、B、C、D、E 组表示;饱食度因素 3 个水平:100%、90%、80%,分别以 I、II、III 水平表示,共形成 15 个处理,每处理 3 重复,每重复 25 尾鱼。饱食度 I 水平确保每次摄食后稍有剩余饲料为宜;饱食度 II 水平按饱食度 I 方法投喂,饲喂 9 d 停食 1 d,使月饱食度为 90%;

饱食度 III 水平按饱食度 I 方法投喂,饲喂 4 d 停食 1 d,使月饱食度为 80%。试验在室内循环流水过滤水族箱(直径 1 m,高 0.7 m)中进行,采用封闭循环水系统,日补充新水量占总水量约 10%,每天 12 次水循环。驯养 10 d,试验期为 108 d,试验期间水温控制在(20 ± 2) °C,溶氧 8 ~ 10 mg/L,盐度(22 ± 1),水深(30 ± 2) cm,每天除进行必要操作时开灯,其它时间均为暗光。试验饲料配方以生态营养学原理和方法设计(表 1)。试验饲料在大型饲料厂加工,原料经混匀、超微粉碎后,在进口双螺杆挤压膨化机上制成直径为 0.25 cm 的沉性膨化颗粒饲料。日投喂量约为体重的 1%,以饱食为准。每天投喂 3 次(10:00,16:00,22:00),每次饲喂半小时后,将残饵虹吸,65 °C 烘干称重,从投喂量中扣除,并根据残饵的多少及时调整投喂量。发现死鱼及时捞出称重,记录。试验开始和结束前,饥饿 24 h,次日空腹称重。

表 1 半滑舌鳎试验饲料组成及主要营养成分含量  
Tab.1 Ingredients and nutrients in trial diets for *C. semilaevis*

原料 ingredients	组别 group				
	A	B	C	D	E
秘鲁鱼粉 Peruvian fish meal	50	55	62	71	80
小麦面粉 wheat flour	28	22	17	12	4
玉米蛋白粉 corn gluten powder	8	9	7	6	5
精炼鱼油 refined fish oil	7	7	7	7	7
美国肉骨粉 American meat and bone meal	3	3	3	0	0
血球蛋白粉 dried animal blood cells	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
粘合剂 binder	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
复合维生素 compound vitamin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
复合微量元素 compound microelement	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
合计 total	100	100	100	100	100
营养成分含量(%) nutrients					
干物质 dry matter	93.1	93.7	93.6	93.3	93.5
粗蛋白 crude protein	43.3	46.4	49.1	52.4	56.2
钙 calcium	2.33	2.43	2.70	2.82	3.17
总磷 total phosphorus	1.770	1.909	2.098	2.333	2.480
粗纤维 crude fiber	0.3	0.4	0.4	0.4	0.5
粗脂肪 crude lipid	14.5	14.6	14.6	14.8	15.1
粗灰分 crude ash	8.5	9.1	10.0	10.5	11.7

注:表中各营养成分均为实测值。

Notes:The nutrients in the table are values measured.

生长测定指标 日增重(g/d) = (末重 - 初重) / 养殖天数(108 d)

增重率(WGR, %) = (末重 - 初重) / 初重 × 100;

饲料系数(FCR) = 摄食量 / (末重 - 初重);

蛋白效率(PER) = (末重 - 初重) / (摄食量 × 饲料蛋白含量);

存活率(LR, %) = (初始鱼数 - 死鱼数) / 初

始鱼数 $\times 100$ ;

## 1.2 水有害氮测定

**水样采集** 水质指标的测定在试验的第 40~50 天连续监测 10 d。从测定前 10 天起,每天投喂 2 次,以方便正式水样的采集(结束后恢复正常投喂)。正式测定期间,每次投喂采食后先清理原有水,然后流满新水停止水循环,在 3、6 和 9 h 分别在桶中取水样,第 3 次取样结束后立刻恢复正常水循环。水样 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻,24 h 之内完成测定。同时取进水口水样作为空白。

**测定方法** 水样中的总有害氮、氨氮、亚硝氮指标的测定方法,参照国家标准(GB 17378.4-1998)<sup>[4]</sup>: $\text{NH}_4^+$ -N 用靛酚蓝分光光度法; $\text{NO}_2^-$ -N 用萘乙二胺分光光度法;总有害氮为氨氮加亚硝氮之和,其排泄率用每千克体重单位时间的排泄量来表示 $[\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{h})]$ 。

## 1.3 消化酶测试

**样品采集** 生长试验结束前,饥饿 24 h,每个重复取中等体重健康试验鱼 4 条,每处理共 12 条,将所选鱼置冰盘脊髓处死,解剖,取肝脏和肠道,清除内容物,剔出脂肪, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

**酶液的制备及测定方法** 将内脏取出,自然解冻,加入 9 倍的预冷重蒸水,冰浴中玻璃匀浆器匀浆,10 000 r/min,离心 30 min,收集上清液, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏,进行酶液蛋白含量、蛋白酶活力、淀粉酶活力、脂肪酶活力的检测,24 h 内测定结束。酶液蛋白含量用双缩脲法测定,蛋白酶活力用 0.5% 干酪素及 0.04 mol/L EDTA- $\text{Na}_2$  溶液进行测定。淀粉酶和脂肪酶活力均采用南京建成试剂盒测定。淀粉酶(AMS)测定原理:淀粉水解生成葡萄糖、麦芽糖及糊精,在底物浓度已知并且过量的情况下,加入碘液与未水解的淀粉结合生成蓝色复合物,根据蓝色的深浅可推算出水解的淀粉量,从而计算出淀粉酶的活力。脂肪酶(lipase, LPS)测定采用化学比浊法,甘油三脂和水混成乳胶束,胶束中的甘油三脂在脂肪酶作用下发生水解,使胶束分裂,散射光或浊度因而减低,减低的速率快慢代表脂肪酶活力的大小。

## 1.4 统计分析

试验数据用 SPSS 15.0 统计软件进行双因素方差分析,多重比较用 LSD、Duncan 氏法进行,结果用平均值 $\pm$ 标准误表示;回归分析采用 Advanced Grapher v 2.1 建立多项式曲线模型。

## 2 结果

### 2.1 生长性能

由表 2 双因素方差分析表明,蛋白水平与饱食度 2 个因素对半滑舌鳎幼鱼各生长指标均有明显影响。不同蛋白水平与饱食度对增重率影响显著,且随蛋白质及饱食度水平的提高而提高,E 组分别显著高于其它 4 组 50.16%、39.36%、27.34%、13.75% ( $P < 0.01$ );蛋白质水平对饲料系数影响显著,饲料系数随蛋白质水平提高而降低,E 组显著低于其它各组 27.44%、20.49%、16.58%、6.25% ( $P < 0.05$ ),但饱食度对饲料系数影响不显著;就蛋白质效率而言,蛋白质水平对其影响不显著,而不同饱食度对其的影响差异显著,且随饱食度的提高而降低,III 水平比 I 水平显著高 5.32% ( $P < 0.05$ );两因素对存活率影响均无显著差异。

### 2.2 水质指标

由表 3 双因素试验方差分析结果可见,蛋白质水平与饱食度对半滑舌鳎幼鱼各水质指标均有显著影响,且其互作效应差异显著。

**蛋白质水平** 养殖水中总有害氮、氨氮、亚硝氮含量均随蛋白质水平的升高呈上升趋势,与蛋白水平呈正相关。总有害氮在各蛋白组间差异显著,C 组比 E、D 组分别降低 64.4%、54.5%。氨氮在各蛋白组间差异显著,C 组比 E、D 组分别降低 70.8%、62.7%。亚硝氮在 A 与 B 组、B 与 C 组间差异不显著,其它组间差异显著;C 组比 E、D 组分别降低 41.5%、25.1%。

**饱食度** 养殖水中总有害氮、氨氮、亚硝氮的含量均随饱食度降低呈下降趋势,与饱食度呈正相关。总有害氮:I 水平分别比 II、III 水平显著高 17.8%、29.2%;II 水平比 III 水平显著高 9.7%。氨氮:I 水平分别比 II、III 水平显著高 16.9%、27.6%;II 水平比 III 水平显著高 9.1%。亚硝氮:I 水平分别比 II、III 水平显著高 20.4%、32.8%;II 水平比 III 水平显著高 10.3%。蛋白质与饱食度两个因素对水质影响的互作效应显著,说明养殖水环境的优劣受到饲料蛋白质多寡与饱食度高低的综合影响,而非某个因素水平单方面影响,从结果数据看,以低蛋白与低饱食度组合的总有害氮排泄量最低。然而,兼顾生长性能权衡,适宜的最佳组合应为中蛋白与中饱食度、或中蛋白与高饱食度。

表 2 不同处理组半滑舌鲷生长性能的影响  
Tab. 2 Effect of different treatments on growth performance of *C. semilaevis* Günther

指标 index	饱食度 satiation degrees	蛋白水平 protein levels					平均值 means
		A	B	C	D	E	
日增重(g/d) daily weight gain	I	1.388 ± 0.12	1.547 ± 0.07	1.646 ± 0.13	1.827 ± 0.13	2.139 ± 0.09	1.709 <sup>a</sup>
	II	1.315 ± 0.10	1.428 ± 0.07	1.486 ± 0.14	1.699 ± 0.14	2.009 ± 0.16	1.587 <sup>a</sup>
	III	1.253 ± 0.13	1.357 ± 0.12	1.479 ± 0.12	1.662 ± 0.08	1.901 ± 0.09	1.530 <sup>a</sup>
	平均值 means	1.319 <sup>c</sup>	1.444 <sup>d</sup>	1.537 <sup>c</sup>	1.729 <sup>b</sup>	2.016 <sup>a</sup>	
增重率 weight gain ratio	I	1.336 ± 0.03	1.483 ± 0.10	1.664 ± 0.01	1.761 ± 0.07	2.062 ± 0.16	1.661 <sup>a</sup>
	II	1.290 ± 0.12	1.353 ± 0.04	1.439 ± 0.06	1.747 ± 0.07	1.890 ± 0.03	1.544 <sup>c</sup>
	III	1.208 ± 0.08	1.295 ± 0.06	1.418 ± 0.08	1.551 ± 0.12	1.807 ± 0.11	1.456 <sup>d</sup>
	平均值 means	1.278 <sup>b</sup>	1.377 <sup>e</sup>	1.507 <sup>c</sup>	1.687 <sup>c</sup>	1.919 <sup>a</sup>	
饲料系数 feed coefficient	I	1.102 ± 0.04	0.986 ± 0.10	0.946 ± 0.05	0.877 ± 0.03	0.793 ± 0.04	0.941 <sup>a</sup>
	II	1.077 ± 0.07	0.994 ± 0.04	0.956 ± 0.04	0.815 ± 0.04	0.785 ± 0.02	0.925 <sup>ab</sup>
	III	1.045 ± 0.08	0.965 ± 0.09	0.903 ± 0.06	0.802 ± 0.08	0.763 ± 0.05	0.896 <sup>b</sup>
	平均值 means	1.075 <sup>a</sup>	0.981 <sup>c</sup>	0.935 <sup>d</sup>	0.832 <sup>f</sup>	0.780 <sup>e</sup>	
蛋白效率 protein efficiency	I	2.193 ± 0.08	2.287 ± 0.23	2.289 ± 0.13	2.339 ± 0.07	2.354 ± 0.12	2.293 <sup>a</sup>
	II	2.249 ± 0.15	2.256 ± 0.09	2.261 ± 0.10	2.252 ± 0.14	2.376 ± 0.07	2.333 <sup>ab</sup>
	III	2.320 ± 0.17	2.334 ± 0.20	2.398 ± 0.16	2.573 ± 0.25	2.448 ± 0.15	2.415 <sup>b</sup>
	平均值 means	2.254 <sup>c</sup>	2.293 <sup>ac</sup>	2.316 <sup>ac</sup>	2.478 <sup>c</sup>	2.392 <sup>ac</sup>	
存活率(%) survival rate	I	98.67 ± 2.31	96.00 ± 4.00	98.67 ± 2.31	98.67 ± 2.31	97.33 ± 4.62	97.87 <sup>a</sup>
	II	97.33 ± 4.62	94.67 ± 2.31	98.67 ± 2.31	97.33 ± 4.61	100 ± 0.00	97.60 <sup>a</sup>
	III	93.33 ± 4.62	98.67 ± 2.31	100 ± 0.00	98.67 ± 2.31	97.33 ± 2.31	97.60 <sup>a</sup>
	平均值 means	96.44 <sup>a</sup>	96.44 <sup>a</sup>	99.11 <sup>a</sup>	98.22 <sup>a</sup>	98.22 <sup>a</sup>	

注:表中数据为平均值±标准误。同一行数据右上角的相同小写字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ),相邻小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),相间小写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )。以下表格同。

Notes: Data in the table are mean ± standard error. Means in the same line with same superscript indicates non-significant ( $P > 0.05$ ), adjacent words and non-adjacent words indicate significant ( $P < 0.05$ ) and ( $P < 0.01$ ) respectively. The same below

表 3 不同处理组对半滑舌鲷水质氮指标的影响  
Tab. 3 Effect of different treatments on water quality of *C. semilaevis*

指标 index	饱食度 satiation degrees	蛋白水平 protein levels					平均值 means
		A	B	C	D	E	
总有害氮 [mg/(kg·h)] total baneful nitrogen	I	0.289 ± 0.04	0.520 ± 0.02	0.599 ± 0.02	1.337 ± 0.02	1.895 ± 0.03	0.928 <sup>a</sup>
	II	0.253 ± 0.02	0.432 ± 0.03	0.584 ± 0.01	1.232 ± 0.02	1.438 ± 0.02	0.788 <sup>c</sup>
	III	0.233 ± 0.02	0.349 ± 0.03	0.498 ± 0.03	1.125 ± 0.03	1.387 ± 0.02	0.718 <sup>c</sup>
	平均值 means	0.258 <sup>a</sup>	0.434 <sup>c</sup>	0.560 <sup>c</sup>	1.231 <sup>e</sup>	1.573 <sup>i</sup>	
氨态氮 [mg/(kg·h)] NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	I	0.102 ± 0.03	0.327 ± 0.01	0.391 ± 0.02	1.012 ± 0.02	1.451 ± 0.00	0.657 <sup>a</sup>
	II	0.085 ± 0.02	0.245 ± 0.02	0.385 ± 0.01	0.957 ± 0.05	1.140 ± 0.02	0.562 <sup>c</sup>
	III	0.073 ± 0.03	0.168 ± 0.02	0.305 ± 0.04	0.923 ± 0.03	1.104 ± 0.03	0.515 <sup>c</sup>
	平均值 means	0.087 <sup>a</sup>	0.247 <sup>c</sup>	0.360 <sup>c</sup>	0.964 <sup>e</sup>	1.232 <sup>i</sup>	
亚硝酸态氮 [mg/(kg·h)] NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	I	0.186 ± 0.04	0.193 ± 0.01	0.208 ± 0.03	0.325 ± 0.01	0.444 ± 0.03	0.271 <sup>a</sup>
	II	0.168 ± 0.01	0.187 ± 0.01	0.199 ± 0.02	0.274 ± 0.03	0.298 ± 0.01	0.225 <sup>c</sup>
	III	0.160 ± 0.02	0.181 ± 0.01	0.193 ± 0.04	0.203 ± 0.00	0.283 ± 0.02	0.204 <sup>d</sup>
	平均值 means	0.171 <sup>a</sup>	0.187 <sup>ab</sup>	0.200 <sup>bh</sup>	0.267 <sup>d</sup>	0.342 <sup>f</sup>	

### 2.3 消化酶活力

肝脏消化酶活力 由表 4 双因素试验方差分析结果可见,蛋白质水平与饱食度 2 个因素对

半滑舌鲷幼鱼肝脏消化酶活力均有显著性影响,其互作效应对蛋白酶活力影响差异显著,对脂肪酶和淀粉酶活力差异不显著性。

表 4 不同处理组半滑舌鲷肝脏消化酶活力的影响  
Tab. 4 Effect of different treatments on liver digestive enzyme of *C. semilaevis*

指标 index	饱食度 satiation degrees	蛋白水平 protein levels					平均值 means
		A	B	C	D	E	
蛋白酶 (U/mg prot) protease	I	1.616 ± 0.15	1.788 ± 0.11	2.426 ± 0.13	2.979 ± 0.14	3.204 ± 0.13	2.402 <sup>a</sup>
	II	1.747 ± 0.14	1.867 ± 0.12	2.626 ± 0.13	3.067 ± 0.13	3.414 ± 0.14	2.544 <sup>c</sup>
	III	2.264 ± 0.12	2.348 ± 0.13	2.814 ± 0.10	3.178 ± 0.13	3.576 ± 0.14	2.836 <sup>e</sup>
	平均值 means	1.875 <sup>a</sup>	2.001 <sup>b</sup>	2.622 <sup>d</sup>	3.075 <sup>f</sup>	3.398 <sup>h</sup>	
脂肪酶 (U/g prot) lipase	I	43.17 ± 4.95	41.39 ± 4.34	39.74 ± 5.63	38.32 ± 1.74	38.06 ± 3.23	40.14 <sup>a</sup>
	II	48.81 ± 4.71	46.03 ± 5.36	45.45 ± 4.20	42.73 ± 4.77	40.72 ± 4.15	44.75 <sup>c</sup>
	III	52.38 ± 4.69	48.28 ± 4.42	47.18 ± 4.48	45.69 ± 5.06	44.84 ± 4.40	47.67 <sup>d</sup>
	平均值 means	48.12 <sup>a</sup>	45.23 <sup>ac</sup>	44.12 <sup>bcd</sup>	42.25 <sup>cef</sup>	41.21 <sup>df</sup>	
淀粉酶 (U/mg prot) amylase	I	0.215 ± 0.04	0.225 ± 0.03	0.267 ± 0.02	0.237 ± 0.03	0.229 ± 0.03	0.235 <sup>a</sup>
	II	0.250 ± 0.04	0.279 ± 0.04	0.262 ± 0.03	0.254 ± 0.03	0.233 ± 0.04	0.255 <sup>ab</sup>
	III	0.234 ± 0.03	0.270 ± 0.03	0.312 ± 0.04	0.259 ± 0.03	0.224 ± 0.02	0.260 <sup>b</sup>
	平均值 means	0.233 <sup>afg</sup>	0.258 <sup>cf</sup>	0.280 <sup>c</sup>	0.250 <sup>dfg</sup>	0.229 <sup>eg</sup>	

肝脏蛋白酶活力 肝脏蛋白酶活力随蛋白水平升高而升高,随饱食度水平降低而升高。A组与B组差异显著,其它各组间差异极显著。E组蛋白酶活力最强,显著地高于其它组81.23%、69.82%、29.60%、10.50%。III水平分别比I、II水平显著高18.07%、11.48%。

肝脏脂肪酶活力 肝脏脂肪酶活力与蛋白水平呈负相关,随蛋白水平升高而降低,随饱食度水平降低而升高。E组分别比其它组降低14.36%、8.89%、6.60%、2.46%。III水平分别比I、II水平显著高18.76%、6.53%。

肝脏淀粉酶活力 肝脏淀粉酶活力随蛋白水平升高呈先升高后降低趋势,随饱食度降低而升高。C组活力最高,且C组分别比其它组高20.17%、8.53%、12%、22.27%。I与III水平差异显著,III水平分别比I、II水平高10.64%、1.96%;II水平比I水平高8.51%。

肠道消化酶活力 由表5双因素试验方差分析结果可见,蛋白质水平与饱食度对半滑舌鲷幼鱼肠道蛋白酶和脂肪酶活力影响均显著性,对淀粉酶影响差异不显著,其互作效应均无显著性差异。

表 5 不同处理组半滑舌鲷肠道消化酶活力的影响  
Tab. 5 Effect of different treatments on intestine digestive enzyme of *C. semilaevis* Günther

指标 index	饱食度 satiation degrees	蛋白水平 protein levels					平均值 means
		A	B	C	D	E	
蛋白酶 (U/mg prot) protease	I	0.846 ± 0.13	1.018 ± 0.11	1.157 ± 0.13	1.253 ± 0.11	1.344 ± 0.13	1.124 <sup>a</sup>
	II	0.991 ± 0.12	1.080 ± 0.13	1.202 ± 0.10	1.349 ± 0.14	1.400 ± 0.13	1.204 <sup>bc</sup>
	III	1.030 ± 0.14	1.114 ± 0.12	1.277 ± 0.13	1.391 ± 0.14	1.521 ± 0.11	1.267 <sup>c</sup>
	平均值 means	0.955 <sup>a</sup>	1.071 <sup>b</sup>	1.212 <sup>d</sup>	1.331 <sup>c</sup>	1.422 <sup>cf</sup>	
脂肪酶 (U/g prot) lipase	I	32.07 ± 4.59	29.63 ± 3.63	27.13 ± 2.87	24.03 ± 4.23	23.57 ± 2.45	27.28 <sup>a</sup>
	II	32.37 ± 4.19	31.34 ± 3.89	30.24 ± 4.58	27.94 ± 4.72	26.91 ± 4.65	29.76 <sup>ac</sup>
	III	34.57 ± 3.30	33.56 ± 3.61	32.15 ± 4.51	30.19 ± 3.75	28.16 ± 5.04	31.73 <sup>c</sup>
	平均值 means	33.00 <sup>a</sup>	31.51 <sup>ab</sup>	29.84 <sup>ac</sup>	27.39 <sup>cef</sup>	26.21 <sup>df</sup>	
淀粉酶 (U/mg prot) amylase	I	0.126 ± 0.03	0.133 ± 0.04	0.129 ± 0.04	0.123 ± 0.03	0.110 ± 0.03	0.124 <sup>a</sup>
	II	0.133 ± 0.04	0.141 ± 0.02	0.130 ± 0.03	0.126 ± 0.04	0.112 ± 0.04	0.128 <sup>a</sup>
	III	0.138 ± 0.03	0.143 ± 0.03	0.133 ± 0.03	0.128 ± 0.03	0.121 ± 0.04	0.133 <sup>a</sup>
	平均值 means	0.132 <sup>a</sup>	0.139 <sup>a</sup>	0.130 <sup>a</sup>	0.126 <sup>a</sup>	0.114 <sup>a</sup>	

肠道蛋白酶活力 肠道蛋白酶活力随蛋白水平升高而升高,随饱食度水平降低而升高。E组蛋白酶活力最强,分别比其它组高48.90%、32.77%、17.33%、6.84%。III水平分别比I、II

水平高12.72%、5.23%。

肠道脂肪酶活力 肠道脂肪酶活力与蛋白水平呈负相关,随蛋白水平的升高而降低,随饱食度水平的降低而升高。E组分别比其它组降低

20.58%、16.82%、12.16%、4.31%。I与III水平间差异显著,III水平分别比I、II水平高16.31%、6.62%。

肠道淀粉酶活力 肠道淀粉酶活力随蛋白水平升高呈先升高后降低趋势,且各组间差异不显著,随饱食度的降低而升高。B组活力最高,分别比其它组高5.3%、6.92%、10.32%、21.93%。III水平分别比I、II水平高7.26%、3.91%。

#### 2.4 各饱食度处理组半滑舌鲷幼鱼生态营养需要量计算

将试验所得日增重折算为日增氮量,将总有害氮排泄率折算为每条鱼日总有害氮排泄量,并将各二者通过二次曲线回归模拟,绘出日增氮量、日有害氮排泄量与蛋白水平的关系图(图1、图2、图3),得出回归方程。根据各方程组斜率相等,

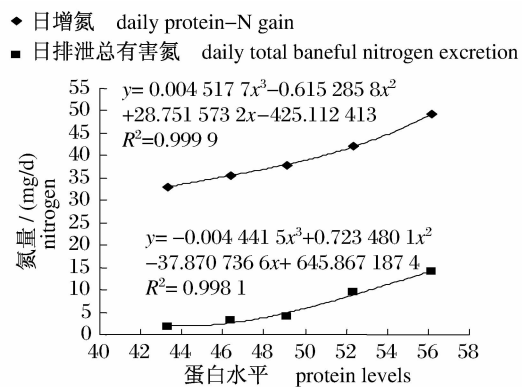


图1 100%饱食度处理组蛋白水平与半滑舌鲷日增氮和日排泄总有害氮的关系

Fig. 1 Relationship between protein levels and nitrogen in treatment I

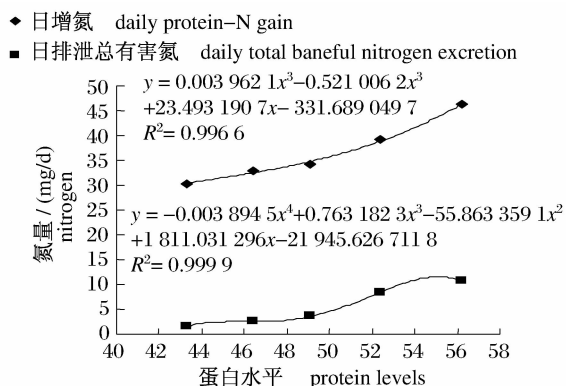


图2 90%饱食度处理组蛋白水平与半滑舌鲷日增氮和日排泄总有害氮的关系

Fig. 2 Relationship between protein levels and nitrogen in treatment II

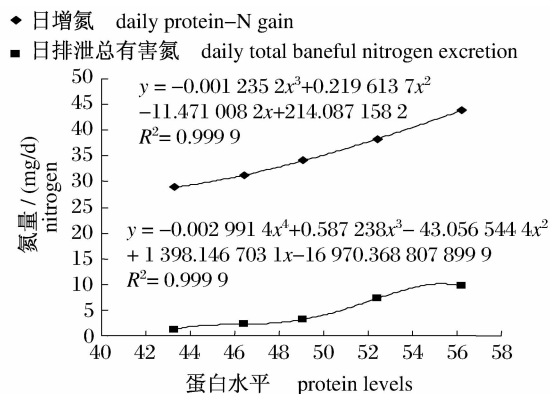


图3 80%饱食度处理组蛋白水平与半滑舌鲷日增氮和日排泄总有害氮的关系

Fig. 3 Relationship between protein levels and nitrogen in treatment III

确定各饱食度处理组半滑舌鲷日增氮与日排泄总有害氮均达到最适宜值时饲料蛋白质生态营养需要量分别为48.30%、49.27%、50.67%。

### 3 讨论

蒋克勇<sup>[5]</sup>研究指出大菱鲆幼鱼(34.5 ± 5.5) g蛋白质生态营养需要量为50%。刘永坚等<sup>[6]</sup>研究不同蛋白质和脂肪水平的饲料对红姑鱼幼鱼(2.73 g)生长的影响,结果表明,脂肪水平相同的条件下,特定生长率以高蛋白组 > 中蛋白组 > 低蛋白组,最适饲料蛋白质水平为高蛋白水平46%。本研究结果与前人的研究结果相似,随着蛋白质水平的升高,半滑舌鲷幼鱼增重率也出现平缓而显著升高趋势,饲料系数呈现相反趋势,蛋白效率先升后降。这表明高蛋白水平能较好地促进半滑舌鲷幼鱼的生长,有助于提高饲料利用率。本试验未出现增重率随蛋白水平升高先升后降或先急增后缓增趋势<sup>[7-10]</sup>,这可能与试验设计蛋白梯度水平偏高有关,也说明滑舌鲷幼鱼对高蛋白水平变化不敏感。

林祥日<sup>[11]</sup>研究指出,漠斑牙鲆幼鱼(22.00 ~ 44.00) g的特定生长率随摄食水平增加而呈增加的趋势。Cho等<sup>[12]</sup>以70%~100%投饲率对牙鲆幼鱼(17 g)生长的研究表明,增重率和特定生长率随着投饲率的增加而增加。但以上试验中饱食度处理是按照传统做法进行,笔者认为这种做法只有个体试验可做到,对于群体试验理论上可行,实际中无法做到,其结果不正确或没有代表性。本研究首次设计采用月饱食度的试验方法,合理

规避传统饱食度控制方法造成的养殖动物生长参差不齐、结果不准确的缺点,确保所有试验鱼投喂时达到饱食,通过不同隔日停食的方式真正实现了90%和80%的月饱食度水平,既节省饲料又可减少氮的月排放量,降低水质污染,促进鱼体健康生长。

动物消化酶的活性决定了对饲料中营养物质消化吸收的能力<sup>[13]</sup>进而决定其生长状况,因此对动物消化道内消化酶的研究可以协助确定动物的营养需要量。

本研究结果表明,半滑舌鳎幼鱼肝脏和肠道的蛋白酶活力随饲料蛋白质水平的增加而增加,脂肪酶活力与饲料蛋白含量却呈负相关。此结果与对牙鲆<sup>[14]</sup> (*Paralichthys olivaceus*)、宝石鲈<sup>[15]</sup> (*Scortum bacoo*)、翘嘴红鲌<sup>[16]</sup> (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker)、斑节对虾<sup>[17]</sup> (*Penaeus monodon*) 和罗氏沼虾<sup>[18]</sup> (*Macrobrachium rosenbergii*)的研究结果基本一致。这说明半滑舌鳎可通过提高蛋白酶的活力来提高对高蛋白饲料中蛋白质的消化吸收;当饲料蛋白水平低时,亦可通过分泌脂肪酶消化吸收脂肪等非蛋白质物质来补充能量。但鱼类饲料蛋白质对蛋白酶活力的促进作用是有限的,且有一个最适值,超过最适值消化酶的活性则降低<sup>[15]</sup>。本研究设计蛋白梯度在需要量范围以内,所以没有出现蛋白酶活力降低趋势。因此,在生态饲料研制中应考虑饲料蛋白质水平与鱼体蛋白酶特性相适应,找到鱼体消化生理需要的最适蛋白质水平,以降低水环境污染和养殖成本,提高饲料利用率。此外,本研究发现,半滑舌鳎幼鱼肝脏和肠道消化酶活力均随饱食度水平的降低而升高。表明每月中适当隔几天后停喂一天饲料,在消化生理上是有益的,有利于刺激鱼体消化道分泌消化酶,有利于营养物质的吸收利用。罗海忠等<sup>[19]</sup>对鲢 (*Miichthys miui*) 幼鱼进行周期性饥饿处理后发现,恢复投喂后,短期饥饿组(饥饿3~6 d)蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活力均明显回升且显著高于对照组,长期饥饿组(饥饿12 d)需要相对较长时间恢复到对照组水平。这一现象与鲤<sup>[20]</sup>和虎鲨<sup>[21]</sup>饥饿后投喂的淀粉酶总体呈上升趋势结果相似,也与本研究结果基本一致。然而,这方面研究文献甚少,不同饱食度对水产动物消化酶影响的研究还未见报道。结合水产动物补偿生长,其可能机制为:饥饿胁迫促

使鱼类适当增加消化酶分泌来消化自身营养积累物质以满足自身生命活动所需<sup>[22]</sup>;恢复正常喂食后,机体立刻进行高速合成作用,代谢水平迅速升高,消化酶分泌大量增加,提高对营养物质的吸收利用<sup>[23-24]</sup>。

水环境中的氨氮、亚硝氮,是影响水产动物健康生长最常见、最主要的污染因子和胁迫因素,其很大程度由饲料自污染引起。本研究结果表明,养殖水中总有害氮含量随饲料蛋白质水平升高呈明显上升趋势,随饱食度降低呈显著下降趋势。目前国内外关于半滑舌鳎蛋白质营养、饱食度与氮磷排泄关系的研究未见报道。李勇等<sup>[5,25]</sup>研究获得大菱鲆幼鱼的蛋白质生态营养需要量,并定义了“蛋白质生态营养之菱形特征”,确定了水产动物蛋白质营养、生长、水氮氮三者间的动态关系规律,在动物生态营养学方面具有重要理论价值和实践意义。本研究纳入月饱食度作为营养调控的关键因素之一,把日增重与水体有害氮浓度两指标分别换算成每条鱼的日增氮与日排有害氮,经数学回归分析模拟方法获得与蛋白质水平的定量关系,创新构建了不同饱食度半滑舌鳎幼鱼蛋白水平与沉积氮、排泄有害氮的定量动态变化关系,从生长速度、饱食度、水环境因子、消化酶等几方面综合量化确定,得到100%、90%和80%饱食度时饲料蛋白质的生态需要量分别为48.30%、49.27%、50.67%。该生态营养需要量确定方法补充和完善了“菱形特征”方法,进一步丰富了动物生态营养学的理论与实践。

感谢天津市海发珍品实业有限公司为本研究动物试验等提供条件和支持!

#### 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.
- [2] 王渊源. 鱼虾营养概论[M]. 厦门:厦门大学出版社,1993:1-18.
- [3] 李勇,王雷,蒋克勇,等. 水产动物营养的生态适宜与环保饲料[J]. 海洋科学,2004,28(3):76-78.
- [4] 国家质量技术监督局. GB/L 17378.4-1998 海洋监测规范,第4部分:海水分析[S]. 北京:中国标准出版社,1998
- [5] 蒋克勇. 基于生态适宜的大菱鲆幼鱼蛋白质营养需要量的研究[D]. 青岛:中国科学院海洋研究所,2005.

- [6] 刘永坚,刘栋辉,田丽霞,等. 饲料蛋白质和能量水平对红姑鱼生长和鱼体组成的影响[J]. 水产学报,2002,26(3):242-246.
- [7] 林建斌,李金秋,朱庆国. 不同蛋白水平和不同能量蛋白比饲料对点带石斑鱼生长的影响[J]. 上海水产大学学报,2008,17(1):88-92.
- [8] 李敬伟,李文宽,骆小年,等. 黄颡鱼幼鱼对饲料中蛋白质和能量需要量的研究[J]. 水产科学,2005,24(9):17-19.
- [9] Kim S S, Lee K J. Dietary protein requirement of juvenile tiger puffer (*Takifugu rubripes*) [J]. *Aquaculture*,2009,287:219-222.
- [10] 胡家财,周立红,洪惠馨. 青石斑鱼人工配合饵料中蛋白质适宜含量的研究[J]. 厦门水产学院学报,1995,17(2):8-12.
- [11] 林祥日. 摄食水平和温度对漠斑牙鲆生长率的影响[J]. 淡水渔业,2008,38(2):68-69.
- [12] Cho S H, Lee S M. Effect of feeding ratio on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed extruded pellets during the summer season[J]. *Aquaculture*,2006,251:78-84.
- [13] Furne M, Hidalgo M C, Lopez A, et al. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study [J]. *Aquaculture*, 2005, 250: 391-398.
- [14] 李金秋,林建斌,朱庆国,等. 不同能量蛋白比饲料对牙鲆体内消化酶活性的影响[J]. 集美大学学报,2005,10(4):296-299.
- [15] 邵庆均,苏小凤,许梓荣. 饲料蛋白水平对宝石鲈增重和胃肠道消化酶活性的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2004,30(5):553-556.
- [16] 钱曦,王桂芹,周洪琪,等. 饲料蛋白水平及豆粕替代鱼粉比例对翘嘴红鲌消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报,2007,19(2):182-187.
- [17] Sugiura, Shozo H. Effect of dietary protein and energy on growth performance of tiger shrimp *Penaeus monodon* reared in seawater [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*,1991,57:2271-2276.
- [18] 董云伟,牛翠娟,杜丽. 饲料蛋白水平对罗氏沼虾生长和消化酶活性的影响[J]. 北京师范大学学报,2001,37(1):96-99.
- [19] 罗海忠,傅荣兵,陈波,等. 舟山近海鲟鱼胚胎和早期仔鱼的发生及与盐度的关系[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版)2006,25(1):15-22.
- [20] 王燕妮,张志蓉,郑曙明. 鲤鱼补偿生长及饥饿对淀粉酶的影响[J]. 水利渔业,2001,21(5):6-7.
- [21] 郑曙明,王燕妮,聂迎霞,等. 虎鲨饥饿后的补偿生长及淀粉酶活力研究[J]. 华中农业大学学报,2003,22(10):483-487.
- [22] 龙章强,彭士明,陈立侨,等. 饥饿与再投喂对黑鲟幼鱼体质量变化、生化组成及肝脏消化酶活性的影响[J]. 中国水产科学,2008,15(4):606-614.
- [23] Hayward R S, Noltie D B, Wang N. Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates [J]. *Trans Amer Fish Soc*,1997,126:316-322.
- [24] Xie S, Zhu X, Cui Y, et al. Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition [J]. *Fish Biology*,2001,58:999-1009.
- [25] 李勇,蒋克勇,王美琴,等. 循环水养殖大菱鲆的生态营养需要与菱形特征[M] // 封闭循环水养殖——新理念·新技术·新方法. 北京:中国教育文化出版社,2009.



## Effects of eco-nutrition requirement of protein on *Cynoglossus semilaevis* Günther in industrial culture with seawater quality and digestive enzyme

LI Yong<sup>1\*</sup>, WANG Mei-qin<sup>1</sup>, GAO Ting-ting<sup>1,2</sup>, WANG Hua<sup>1</sup>, XIA Su-dong<sup>1</sup>, SUN Guo-xiang<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The experiment was conducted to determine effects of protein levels and satiation degrees on juvenile *Cynoglossus semilaevis* Günther in industrial culture conditions with closed recirculation seawater. The 5 × 3 two-factor random animal experiment lasted for 108 days, total of 1125 fish [with initial weight (110 ± 25) g] were randomly allotted into 15 treatments with triplicates, 25 fish each replicate, 5 protein levels diets (43%, 46%, 49%, 52%, 56%, with A – E), 3 satiation degrees feeding (100%, 90%, 80%, with I, II and III). Evaluated effects of different protein levels and satiation degrees on juvenile *C. semilaevis* growth performance, seawater environment factors and digestive enzyme. The primary results showed that: (1) As the protein level of feed and satiation degree increased, weight gain increased significantly ( $P < 0.01$ ), the best weight gain both in the highest protein level and the highest satiation degree. Weight gain ratio in group E was significantly higher than the other groups by 13.75% – 50.16%, that in degree I was 7.57% and 14.08% higher than degree II and III. The best feed conversion ratio appeared in the highest protein level, which was significantly higher than the other groups by 6.25% – 27.44% ( $P < 0.05$ ), but satiation degree didn't have such significant impact on FCR as protein level did; there was no significant difference between degree I and II, and I did better on FCR than III significantly ( $P < 0.05$ ). As the protein level and satiation degree increased,  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  excretion and total baneful nitrogen excretion were enhanced ( $P < 0.01$ ). The total baneful nitrogen excretion in group C was 54.5% and 64.4% lower than group D and E respectively, that in degree I was 17.8% and 29.2% higher than II and III, respectively; (2) The activity of protease enhanced, lipase reduced and amylase increased at first, then reduced with increased protein level. As satiation degree increased, digestive enzyme reduced. digestive enzyme of liver was higher than intestine; (3) The relationship between nitrogen excretion and the weight gain as the increasing dietary protein levels, partially accorded with the Rhomb character. By regression analysis, the optimum eco-nutrition requirement of protein for juvenile *C. semilaevis* seemed to be 48.30%, 49.27% and 50.67%, respectively in degree I, II and III. The optimum eco-aquatic requirement of satiation was 90%.

**Key words:** *Cynoglossus semilaevis*; protein nutrient; satiation degree; eco-nutrition requirement; water environment; digestive enzyme activity; growth performance

**Corresponding author:** LI Yong. E-mail: lyzhy678@hotmail.com