



野生、池塘及工厂化养殖马口鱼肌肉营养成分的比较

邱德林¹, 张木子^{1,2*}, 刘嘉欣¹, 钱云霞¹, 王日昕¹, 黎明^{1*}

(1. 宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211;

2. 贵州大学动物科学学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 为获知野生、池塘及工厂化养殖马口鱼肌肉营养成分的差异, 实验分析了野生、池塘及工厂化养殖马口鱼的形态学指标、肌肉营养成分、氨基酸含量、脂肪酸含量、理化特性及重金属含量。结果显示, 野生马口鱼肌肉中苯丙氨酸、天冬氨酸、必需氨基酸总量、非必需氨基酸总量及滴水损失显著高于池塘马口鱼。野生马口鱼脏体比、肌肉粗蛋白质、支链氨基酸/芳香族氨基酸、C16:0 及熟肉率显著低于工厂化马口鱼, 但水分、甲硫氨酸、含硫氨基酸、C18:3n6、饱和脂肪酸、铅、镉和铜的含量显著高于工厂化马口鱼。野生马口鱼肥满度、肌肉中缬氨酸、亮氨酸、苏氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、酪氨酸、精氨酸、氨基酸总量、半必需氨基酸总量、鲜味氨基酸、苦味氨基酸、呈味氨基酸、C20:0、C20:2、C22:2、C22:1n9 及 C20:5n3 的含量与工厂化马口鱼无显著差异。研究表明, 相比野生和池塘养殖, 工厂化养殖可以提高马口鱼肌肉粗蛋白质、氨基酸总量、C20:5n3 及熟肉率, 减少滴水损失、饱和脂肪酸、镉、铅及铜的含量, 是一种较优的养殖模式。

关键词: 马口鱼; 野生; 养殖; 肌肉; 营养成分

中图分类号: S 965.1

文献标志码: A

马口鱼 (*Opsariichthys bidens*) 隶属鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 马口鱼属 (*Opsariichthys*), 俗名花杈鱼、桃花鱼、山鳊等, 广泛分布于我国各河流干、支流, 是一种杂食偏肉食性淡水鱼类, 多生活在山涧溪流中, 尤其在水流较急的浅滩。其肉质肥美, 经济价值高, 由于马口鱼生长迅速, 苗种当年就可养成上市, 因此具有极高的养殖开发价值^[1]。然而, 有关马口鱼的基础研究报道较少, 随着养殖规模的不断扩大, 缺乏科学养殖指导的弊端日益凸显: 由于基础营养数据匮乏, 至今尚未见马口鱼人工专用配合饲料在售, 养殖户多采用通用淡水鱼饲料, 导致生

长缓慢、腹腔脂肪积累、绿胆综合症等问题愈来愈严重^[2]; 由于对其基本生活习性缺乏了解, 传统的池塘养殖及未经人工干预的高密度养殖, 直接导致受精卵孵化率及仔鱼成活率下降、应激严重、病害频发, 严重影响到产量和品质^[3]。

食物来源和养殖模式能够对养殖鱼类的营养品质造成极大的影响^[4]。以往研究表明, 人工养殖鱼类的营养品质优于野生鱼类, 如舌齿鳈 (*Dicentrarchus labrax*)^[5]、遮目鱼 (*Chanos chanos*)^[6]、鳎 (*Solea solea*)^[7]、大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[8] 等, 但必须符合特定养殖品种的特有生活习性。为探寻适合马口鱼的人工养殖模式, 本实验比较了野生

收稿日期: 2021-03-18 修回日期: 2021-04-24

资助项目: 浙江省重点研发计划 (2019C02049); 丽水市重点研发计划项目 (2019ZDYS13); 国家自然科学基金 (32072948); 浙江省省属高校基本科研业务费专项 (SJLY2020009); 浙江省教育厅一般科研项目 (Y201940877); 宁波市自然科学基金 (202003N412)

第一作者: 邱德林 (照片), 从事鱼类营养学研究, E-mail: 1610631031@qq.com

通信作者: 张木子, 从事鱼类营养生理学研究, E-mail: mzzhang3@gzu.edu.cn;

黎明, 从事水生动物营养生理学研究, E-mail: liming1@nbu.edu.cn



养殖、传统池塘养殖及工厂化循环水养殖马口鱼的营养差异,为马口鱼的人工养殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

野生马口鱼(10~18 g)捕自衢江浙江衢州江段,土池塘养殖(10~15 g,低密度泥质底)及工厂化养殖(10~12 g,高密度循环水)马口鱼购自浙江衢州当地养殖场(当地人工养殖马口鱼均投喂淡水鱼通用配合饲料,粗蛋白质 $\geq 38\%$,粗脂肪 $\geq 3\%$)。所挑选的实验鱼均为1龄鱼。活鱼运输到实验室后,随机各挑选5尾鱼,称重并测量,通过公式计算肥满度(CF)。再随机各挑选5尾鱼,解剖获取内脏,称重计算脏体比(VSI),随后分离肝脏,称重计算肝体比(HSI),去掉鱼皮后剥取背部肌肉,一部分用于肌肉一般营养成分和营养品质分析,另一部分经冷冻干燥后,用于肌肉氨基酸、脂肪酸及重金属含量测定。

1.2 生化分析

一般营养成分测定 肌肉样品中粗蛋白质含量测定采用凯氏定氮法(GB/T 5009.5—2010);粗脂肪含量测定采用索氏抽提法(GB/T 5009.6—2010);水分含量测定采用105℃烘干失水法(GB/T 14769—1993);粗灰分含量测定采用550℃干法灰化(GB/T 5009.4—2010)。

氨基酸组成及含量测定 冷冻干燥后的肌肉样品采用氧化酸解法进行预处理(GB/T 15399—1994),经日立L-8800型氨基酸自动分析仪测定氨基酸的组成及含量(GB/T 5009.124—2003)。

脂肪酸组成及含量测定 冷冻干燥后的肌肉样品经脂肪甲酯化处理后用于色谱分析^[9]。采用脂肪酸标准品(Sigma公司,美国)进行定性分析,脂肪酸组成采用面积归一化法计算。色谱分析条件:气相色谱仪为Agilent 7820 AGC,色谱柱(0.32 mm \times 0.25 μ m, 100 m),柱箱温度为180℃,以8℃/min程序升温至240℃直至所有组分全部流出,进样口离子源温度230℃,载气为高纯氮气,流量30 mL/min,氢气40 mL/min,空气450 mL/min。

营养品质评价 向肌肉样品中加入10 mL 0.15 mol/L氯化钾溶液,600 \times g匀浆5 min,采用笔式酸度计(力辰科技笔式酸度计PH-100)测定pH,样品继续存放于4℃冰箱中,24 h后再次测

定pH,通过公式计算pH下降值。将肌肉切成3 cm \times 1 cm \times 1 cm小块,称重后置于充气的塑料袋中,于4℃冰箱中吊挂48 h后称重,通过公式计算滴水损失。将肌肉切成1 cm \times 1 cm \times 1 cm小块,称重后于沸水中蒸30 min,取出后晾15 min称重,通过公式计算熟肉率。

重金属含量测定 肌肉中重金属含量测定参照张艳萍等^[10]的方法,采用ICP-OES电感耦合等离子体原子发射光谱仪(瓦里安)测定。

1.3 数据分析

实验数据采用SPSS 18.0.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),结果以平均值 \pm 标准误差(mean \pm SE)表示,如果组间差异显著($P < 0.05$),则采用Tukey氏检验进行多重比较。

实验涉及的相关公式:

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %)= $W_h/W \times 100\%$

脏体比(viscerosomatic index, VSI, %)= $W_v/W \times 100\%$

肥满度(condition factor, CF, g/cm³)= $W/L^3 \times 100$

滴水损失(drip loss, %)= $(W_1 - W_2)/W_1 \times 100\%$

熟肉率(cooking rate, %)= $W_3/W_4 \times 100\%$

式中, W 为鱼体质量(g), W_h 为鱼肝脏质量(g), W_v 为鱼内脏质量(g), W_1 为鱼贮前质量(g), W_2 为鱼贮后质量(g), W_3 为蒸煮后鱼肉质量(g), W_4 为蒸煮前鱼肉质量(g), L 为鱼体长(cm)。

2 结果

2.1 不同生长条件对马口鱼形态指标的影响

野生马口鱼肥满度显著高于池塘马口鱼($P < 0.05$),但与工厂化马口鱼无显著差异($P > 0.05$)。野生马口鱼脏体比显著低于工厂化马口鱼($P < 0.05$),与池塘马口鱼无显著差异($P > 0.05$)。不同的生长条件并未对马口鱼肝体比造成显著影响($P > 0.05$) (表1)。

2.2 不同生长条件对马口鱼肌肉营养成分的影响

野生马口鱼肌肉水分含量显著高于工厂化马口鱼($P < 0.05$),但与池塘马口鱼无显著差异($P > 0.05$)。野生马口鱼肌肉粗蛋白质含量最低($P < 0.05$),而池塘马口鱼与工厂化马口鱼之间无显著差异($P > 0.05$)。不同的生长条件并未对马口鱼肌肉粗灰分和粗脂肪含量造成显著影响($P > 0.05$) (表2)。

表 1 不同生长条件对马口鱼形态指标的影响

Tab. 1 Effects of different growth conditions on morphological indices of *O. bidens*

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 肥满度/(g/cm ³) CF | 14.30±1.30 ^b | 11.18±1.43 ^a | 13.08±0.36 ^{ab} |
| 肝体比/% HSI | 2.26±0.29 | 2.89±0.25 | 2.50±0.20 |
| 脏体比/% VSI | 5.05±0.16 ^a | 5.68±0.30 ^{ab} | 5.83±0.63 ^b |

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05), 下同
Notes: in the same line, values with different lowercase superscripts mean significant difference (P<0.05), the same below

表 2 不同生长条件对马口鱼肌肉营养成分的影响

Tab. 2 Effects of different growth conditions on nutrient composition of muscle in *O. bidens* g/100 g 干物质

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|--------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 水分 moisture | 79.63±0.34 ^b | 77.90±2.08 ^{ab} | 76.31±0.47 ^a |
| 粗灰分 crude ash | 1.82±1.80 | 1.97±0.44 | 1.61±0.22 |
| 粗蛋白质 crude protein | 12.77±0.30 ^a | 15.97±1.11 ^b | 15.43±1.37 ^b |
| 粗脂肪 crude lipid | 2.38±0.14 | 2.06±0.52 | 2.40±0.09 |

2.3 不同生长条件对马口鱼肌肉氨基酸组成及含量的影响

本研究共测出 15 种氨基酸, 包括 7 种人体必需氨基酸, 2 种半必需氨基酸和 7 种非必需氨基酸。野生马口鱼肌肉中缬氨酸、亮氨酸、苏氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、酪氨酸、精氨酸、半必需氨基酸总量及氨基酸总量显著高于池塘马口鱼 (P<0.05), 但与工厂化马口鱼无显著差异 (P>0.05)。野生马口鱼肌肉甲硫氨酸含量显著高于工厂化马口鱼 (P<0.05), 但与池塘马口鱼无显著差异 (P>0.05)。野生马口鱼肌肉中苯丙氨酸、天冬氨酸、必需氨基酸总量及非必需氨基酸总量显著高于池塘马口鱼 (P<0.05), 而池塘马口鱼与工厂化马口鱼无显著差异 (P>0.05)。不同生长条件下马口鱼肌肉中丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、组氨酸、非必需氨基酸总量、必需氨基酸总量/氨基酸总量比值、半必需氨基酸总量/氨基酸总量比值及必需氨基酸总量/非必需氨基酸总量比值无显著差异 (P>0.05) (表 3)。

2.4 不同生长条件对马口鱼肌肉中风味氨基酸含量的影响

野生马口鱼肌肉中氨基酸总量、鲜味氨基酸、

表 3 不同生长条件对马口鱼肌肉中氨基酸组成及含量的影响 (干物质)

Tab. 3 Effects of different growth conditions on amino acid composition and content of muscle in *O. bidens* (dry matter) g/100 g

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 缬氨酸 Val ^{&} | 3.89±0.13 ^b | 3.63±0.10 ^a | 3.80±0.02 ^b |
| 亮氨酸 Leu ^{&} | 6.20±0.24 ^b | 5.78±0.12 ^a | 6.13±0.06 ^b |
| 苏氨酸 Thr ^{&} | 3.43±0.10 ^b | 3.25±0.04 ^a | 3.42±0.01 ^b |
| 赖氨酸 Lys ^{&} | 7.53±0.35 ^b | 7.04±0.18 ^a | 7.57±0.09 ^b |
| 异亮氨酸 Ile ^{&} | 3.52±0.13 ^b | 3.30±0.09 ^a | 3.52±0.01 ^b |
| 甲硫氨酸 Met ^{&} | 2.17±0.13 ^b | 2.03±0.09 ^{ab} | 1.86±0.01 ^a |
| 苯丙氨酸 Phe ^{&} | 3.32±0.13 ^b | 3.12±0.01 ^a | 3.26±0.03 ^{ab} |
| 天冬氨酸 Asp [#] | 7.88±0.35 ^b | 7.42±0.06 ^a | 7.77±0.06 ^{ab} |
| 谷氨酸 Glu [#] | 11.71±0.48 ^b | 10.97±0.07 ^a | 11.56±0.15 ^b |
| 酪氨酸 Tyr [#] | 2.81±0.09 ^b | 2.63±0.08 ^a | 2.78±0.005 ^b |
| 丝氨酸 Ser [#] | 3.05±1.11 | 2.89±0.08 | 2.97±0.04 |
| 甘氨酸 Gly [#] | 3.34±0.05 | 3.33±0.25 | 3.36±0.04 |
| 丙氨酸 Ala [#] | 4.50±0.18 | 4.30±0.08 | 4.46±0.06 |
| 精氨酸 Arg [*] | 4.61±0.14 ^b | 4.39±0.04 ^a | 4.63±0.01 ^b |
| 组氨酸 His [*] | 2.37±0.11 | 2.12±0.18 | 2.28±0.06 |
| 氨基酸总量 ΣTAA | 70.35±2.52 ^b | 66.21±0.54 ^a | 69.48±0.51 ^b |
| 必需氨基酸总量 ΣEAA | 30.07±1.22 ^b | 28.15±0.65 ^a | 29.66±0.21 ^{ab} |
| 半必需氨基酸总量 ΣHEAA | 6.99±0.03 ^b | 6.51±0.22 ^a | 6.91±0.05 ^b |
| 非必需氨基酸总量 ΣNEAA | 33.29±1.27 ^b | 31.54±0.33 ^a | 32.91±0.36 ^{ab} |
| ΣEA/ΣTAA | 0.43 | 0.42 | 0.43 |
| ΣHEAA/ΣTAA | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| ΣEAA/ΣNEAA | 0.90 | 0.89 | 0.90 |

注: &. 必需氨基酸; *. 半必需氨基酸; #. 非必需氨基酸; ΣTAA. 氨基酸总量; ΣEAA. 必需氨基酸总量; ΣHEAA. 半必需氨基酸总量; ΣNEAA. 非必需氨基酸总量
Notes: &. essential amino acid; *. semi-essential amino acid; #. nonessential amino acid; ΣTAA. total amino acid; ΣEAA. total essential amino acids; ΣHEAA. total semi-essential amino acids; ΣNEAA. total non-essential amino acids

甜味氨基酸及苦味氨基酸含量显著高于池塘马口鱼 (P<0.05), 但与工厂化马口鱼无显著差异 (P>0.05) (表 4)。

2.5 不同生长条件对马口鱼肌肉中含硫、支链及芳香族氨基酸含量的影响

野生马口鱼肌肉中含硫氨基酸含量显著高于工厂化马口鱼 (P<0.05), 但与池塘马口鱼无显著差异 (P>0.05)。野生马口鱼肌肉中支链氨基酸和芳香族氨基酸含量显著高于池塘马口鱼 (P<0.05), 但与工厂化马口鱼无显著差异 (P>0.05)。工厂化马口鱼肌肉中支链/芳香族氨基酸最高 (P<0.05) (表 5)。

表 4 不同生长条件对马口鱼肌肉中风味氨基酸含量的影响(干物质)

Tab. 4 Effects of different growth conditions on flavor amino acids content of muscle in *O. bidens* (dry matter)

| 项目 items | 野生 wild | | 池塘 pond | | 工厂化 factory | |
|--------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|
| | 含量/(g/100 g) content | 占比/% proportion | 含量/(g/100 g) content | 占比/% proportion | 含量/(g/100 g) content | 占比/% proportion |
| 氨基酸总量 Σ TAA | 70.35±2.52 ^b | 100.00±0.00 | 66.21±0.54 ^a | 100.00±0.00 | 69.48±0.51 ^b | 100.00±0.00 |
| 鲜味氨基酸 Σ FAA | 19.59±0.84 ^b | 27.84±0.19 | 18.34±0.01 ^a | 27.77±0.24 | 19.33±0.22 ^{ab} | 27.82±0.11 |
| 甜味氨基酸 Σ SAA | 14.33±0.45 | 20.37±0.09 | 13.77±0.37 | 20.81±0.72 | 14.21±0.14 | 20.45±0.05 |
| 苦味氨基酸 Σ BAA | 26.09±0.79 ^b | 37.09±0.20 | 24.37±0.64 ^a | 36.80±0.67 | 25.59±0.06 ^b | 36.83±0.18 |
| 呈味氨基酸 Σ DAA | 32.05±1.20 ^b | 45.55±0.07 | 30.41±0.30 ^a | 45.93±0.82 | 31.78±0.33 ^{ab} | 45.74±0.14 |

注: 鲜味氨基酸为Asp和Glu; 甜味氨基酸为Thr、Ala、Gly和Ser; 苦味氨基酸为Ile、Leu、Met、Phe、Val、His和Arg; 呈味氨基酸为Asp、Arg、Glu、Gly和Ala

Notes: Σ FAA. flavor amino acid (Asp and Glu); Σ SAA. sweet amino acid (Thr, Ala, Gly and Ser); Σ BAA. bitter amino acid (Ile, Leu, Met, Phe, Val, His and Arg); Σ DAA. delicious amino acid (Asp, Arg, Glu, Gly and Ala)

表 5 不同生长条件对马口鱼肌肉中含硫、支链氨基酸和芳香族氨基酸含量的影响(干物质)

Tab. 5 Effects of different growth conditions on sulfur, branched chain and aromatic amino acids content of muscle in *O. bidens* (dry matter) %

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 含硫氨基酸 Σ SAA | 2.18±0.13 ^b | 2.03±0.10 ^{ab} | 1.86±0.01 ^a |
| 支链氨基酸 Σ BCAA | 13.61±0.51 ^b | 12.71±0.31 ^a | 13.55±0.09 ^b |
| 芳香族氨基酸 Σ AAA | 6.13±0.22 ^b | 5.75±0.10 ^a | 6.05±0.03 ^b |
| 支链/芳香族氨基酸 Σ BCAA/ Σ AAA | 2.21±0.01 ^a | 2.22±0.02 ^a | 2.24±0.01 ^b |

注: 含硫氨基酸为Met; 支链氨基酸为Val、Ile和Leu; 芳香族氨基酸为Phe和Thr

Notes: Σ SAA. sulfur-containing amino acid (Met); Σ BCAA. branched chain amino acid (Val, Ile and Leu); Σ AAA. aromatic amino acids (Phe and Thr)

2.6 不同生长条件对马口鱼肌肉中脂肪酸含量的影响

野生马口鱼肌肉中饱和脂肪酸含量最高 ($P<0.05$)。工厂化养殖马口鱼肌肉中 C16:0 和 C18:0 含量最高, 而 C18:3n6 含量最低 ($P<0.05$)。野生马口鱼肌肉中 C18:3n6 和 C20:5n3 含量显著高于池塘马口鱼, 但与工厂化马口鱼无显著差异 ($P>0.05$)。野生马口鱼肌肉中 C20:2、C22:2 和 C22:1n9 含量显著低于池塘马口鱼, 但与工厂化马口鱼无显著差异 ($P>0.05$)。不同生长条件下马口鱼肌肉中 C12:0、C13:0、C14:0、C14:1、C15:0、C16:1、C17:0、C17:1、C18:1n9、C18:2n6、C20:1n9、C18:3n3、C22:0、C20:3n6、C24:0、C20:4n6、C24:1n9、C22:5n3、C22:6n3、单不饱和脂肪酸及多不饱和脂肪酸含量无显著差异 ($P>0.05$) (表 6)。

2.7 不同生长条件对马口鱼肌肉理化特性的影响

野生马口鱼熟肉率显著最低 ($P<0.05$)。池塘养殖马口鱼滴水损失显著低于野生马口鱼, 工厂化马口鱼显著最高 ($P<0.05$)。不同生长条件下马口鱼肌肉 pH 下降值间无显著差异 ($P>0.05$) (表 7)。

2.8 不同生长条件对马口鱼肌肉中重金属含量的影响

野生马口鱼肌肉中铅含量最高, 其次是池塘马口鱼, 工厂化马口鱼最低 ($P<0.05$)。野生马口鱼肌肉中镉和铜含量显著高于工厂化马口鱼 ($P<0.05$), 与池塘马口鱼无显著差异 ($P>0.05$)。不同生长条件下马口鱼肌肉中汞含量无显著差异 ($P>0.05$) (表 8)。

3 讨论

3.1 不同生长条件下马口鱼一般营养成分分析

生存环境的差异会对水生动物造成极大的影响^[10]。野生马口鱼大多生活在山涧溪流中, 常年处于游动状态^[11-12]。在本研究中, 与野生马口鱼相比, 人工养殖的马口鱼胴体比较高。由于不再受到水流的影响, 养殖鱼类多采取“饱食寡动”的摄食策略, 食物中的脂肪更容易在腹腔中蓄积。尽管人工养殖易造成内脏脂肪积累, 但与池塘养殖模式相比, 工厂化养殖的马口鱼与野生马口鱼的肥满度无显著差异, 这与工厂化养殖高效的饲料利用有关。结果提示, 饲料利用率较高的工厂化养殖模式更适合马口鱼的人工养殖, 而探究适宜的养殖模式或许成为马口鱼规模化养殖的一个新切入点。

表 6 不同生长条件对马口鱼肌肉中脂肪酸含量的影响(干物质)

Tab. 6 Effects of different growth conditions on fatty acid content of muscle in *O. bidens* (dry matter) %

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| C12:0 | 0.13±0.02 | 0.20±0.06 | 0.18±0.01 |
| C13:0 | 0.07±0.02 | 0.05±0.01 | 0.11±0.06 |
| C14:0 | 2.55±0.20 | 2.55±0.20 | 2.59±0.05 |
| C14:1 | 0.10±0.04 | 0.07±0.01 | 0.08±0.02 |
| C15:0 | 0.57±0.07 | 0.63±0.11 | 0.60±0.07 |
| C16:0 | 19.45±0.68 ^a | 21.92±0.01 ^b | 23.06±0.37 ^c |
| C16:1 | 8.55±1.03 | 9.10±0.26 | 9.34±0.71 |
| C17:0 | 0.80±0.04 | 0.77±0.02 | 0.44±0.31 |
| C17:1 | 0.18±0.13 | 0.12±0.07 | 0.20±0.16 |
| C18:0 | 5.76±0.49 ^a | 5.31±0.06 ^a | 7.10±0.94 ^b |
| C18:1n9 | 29.99±2.85 | 28.73±1.42 | 28.51±1.57 |
| C18:2n6 | 12.56±3.33 | 11.68±0.81 | 9.21±2.19 |
| C20:0 | 0.38±0.02 ^b | 0.31±0.02 ^a | 0.38±0.03 ^b |
| C18:3n6 | 0.41±0.20 ^b | 0.44±0.04 ^b | 0.16±0.03 ^a |
| C20:1n9 | 0.34±0.03 | 0.39±0.01 | 0.30±0.03 |
| C18:3n3 | 3.64±0.25 | 3.18±0.37 | 3.52±0.46 |
| C20:2 | 0.89±0.07 ^a | 1.95±0.86 ^b | 0.71±0.11 ^a |
| C22:0 | 0.18±0.04 | 0.14±0.02 | 0.13±0.04 |
| C20:3n6 | 0.49±0.20 | 0.38±0.20 | 0.39±0.02 |
| C22:1n9 | 0.04±0.01 ^a | 0.08±0.01 ^b | 0.07±0.03 ^a |
| C20:3n3 | 0.41±0.03 | 0.36±0.02 | 0.44±0.07 |
| C20:4n6 | 3.24±0.72 | 2.80±0.34 | 3.46±0.51 |
| C22:2 | 0.39±0.06 ^a | 0.74±0.23 ^b | 0.31±0.12 ^a |
| C24:0 | 0.07±0.02 | 0.06±0.008 | 0.08±0.02 |
| C20:5n3 | 2.61±0.52 ^b | 1.70±0.31 ^a | 2.96±0.38 ^b |
| C24:1n9 | 0.17±0.02 | 0.15±0.02 | 0.17±0.09 |
| C22:5n3 | 1.39±0.05 | 1.20±0.01 | 1.37±0.39 |
| C22:6n3 | 4.33±0.31 | 4.44±1.08 | 3.73±0.85 |
| 饱和脂肪酸 ΣSFA | 34.05±1.30 ^b | 29.47±1.49 ^a | 31.26±1.78 ^a |
| 单不饱和脂肪酸 ΣMUFA | 39.54±1.97 | 40.46±4.05 | 41.34±2.18 |
| 多不饱和脂肪酸 ΣPUFA | 25.24±0.48 | 29.06±2.59 | 26.18±1.94 |

注: ΣSFA. 饱和脂肪酸; ΣMUFA. 单不饱和脂肪酸; ΣPUFA. 多不饱和脂肪酸
Notes: ΣSFA. saturated fatty acid; ΣMUFA. monounsaturated fatty acids; ΣPUFA. polyunsaturated fatty acids

众所周知, 食物的营养组成是影响鱼类营养成分的重要因素之一, 尤其是水生经济养殖种类^[13]。在本研究中, 养殖马口鱼(池塘和工厂化)肌肉中粗蛋白质含量显著高于野生马口鱼, 但肌

表 7 不同生长条件对马口鱼肌肉理化特性的影响

Tab. 7 Effects of different growth conditions on physicochemical property of muscle in *O. bidens*

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| pH下降值 pH decreased value | 0.56±0.02 | 0.56±0.02 | 0.56±0.015 |
| 熟肉率/% cooking rate | 81.41±0.83 ^a | 84.84±0.61 ^b | 86.16±0.70 ^b |
| 滴水损失/% drip loss | 43.56±0.74 ^b | 41.12±0.41 ^a | 48.23±0.61 ^c |

表 8 不同生长条件对马口鱼肌肉中重金属含量的影响

Tab. 8 Effects of different growth conditions on heavy metal content of muscle in *O. bidens* mg/kg

| 项目 items | 野生 wild | 池塘 pond | 工厂化 factory |
|----------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| 铅 Pb | 0.13±0.01 ^c | 0.09±0.02 ^b | 0.07±0.01 ^a |
| 镉 Cd | 0.02±0.01 ^b | 0.02±0.01 ^{ab} | 0.01±0.01 ^a |
| 铜 Cu | 4.04±0.83 ^b | 3.76±0.78 ^b | 1.62±0.11 ^a |
| 汞 Hg | 0.78±0.22 | 0.76±0.19 | 0.73±0.05 |

肉中粗脂肪含量并未检出显著差异。目前, 市面上尚无马口鱼人工配合饲料销售, 养殖企业主要采用蛋白含量较高的淡水鱼饲料进行喂养, 尽管在一定程度上提高了养殖马口鱼肌肉中粗蛋白质的含量, 但由于基础营养数据的匮乏, 内脏脂肪积累的问题日趋严重, 开展马口鱼人工配合饲料研发十分迫切。

3.2 不同生长条件下马口鱼肌肉中氨基酸组成分析及营养品质评价

联合国粮农组织 (FAO) 将蛋白质中 EAA/NEAA 大于 0.60 界定为优质蛋白质^[14]。本研究发现, 野生、池塘和工厂化养殖马口鱼 EAA/NEAA 比值分别为 0.90、0.89 及 0.90, 表明马口鱼是一种优质的蛋白质来源。在本研究中, 野生马口鱼肌肉中 TAA(70.35%)和 EAA(30.07%)的含量显著高于池塘马口鱼 [TAA(66.21%)和 EAA(28.15%)], 与其他研究者的结论一致: 野生赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*)^[15] 肌肉中 TAA(80.62%)和 EAA(43.73%)的含量显著高于养殖赤点石斑鱼 [TAA(73.35%)和 EAA(40.41%)], 类似的结果在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[16]、鲤 (*Cyprinus carpio*)^[17] 及红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*)^[18] 中也有报道。野生鱼类肌肉中 TAA 和 EAA 含量高于养殖鱼类的原因, 与饲料营养成分的均衡性有关, 尤其是肉食性鱼类对动物蛋白有较高的需求^[19]。然而, 本研究发

现,与池塘马口鱼摄食相同饲料的工厂化马口鱼,其肌肉中TAA和EAA含量与野生马口鱼无显著差异,表明马口鱼肌肉中氨基酸组成不仅受到饲料营养成分的影响,养殖条件也是关键的影响因素。在本研究中,从马口鱼肌肉中氨基酸组成来看,必需氨基酸赖氨酸含量最为丰富。通常情况下,赖氨酸参与动物体蛋白的合成,马口鱼作为一种优质蛋白源,对于长期以谷物为主食的人群来说,它可以弥补日常赖氨酸摄取的不足^[20]。呈味氨基酸(天冬氨酸、精氨酸、谷氨酸、甘氨酸和丙氨酸)的组成和含量是决定蛋白质鲜味的重要因素,尤其是谷氨酸,在呈味氨基酸中鲜味较强,通常将谷氨酸在肌肉中的含量作为鱼肉风味的重要评价指标^[21]。在本研究中,野生马口鱼肌肉中天冬氨酸、谷氨酸、精氨酸及 Σ DAA含量显著高于池塘马口鱼。与人工养殖马口鱼相比,自然水体中食物来源丰富,通过选择性摄取,野生马口鱼能够摄入呈味氨基酸种类及含量更多的食物。然而,本研究发现,采用工厂化养殖能够显著提高养殖马口鱼 Σ DAA的含量,表明通过改变养殖方式可以改善养殖鱼类的风味。支链氨基酸/芳香族氨基酸(支/芳值)是人类重要的健康指标,马口鱼肌肉中支/芳值约为2.22,非常接近人类3.0的健康标准,尤其是工厂化马口鱼肌肉中支/芳值显著高于野生及池塘马口鱼。

3.3 不同生长条件下马口鱼肌肉脂肪酸组成分析

食物中的脂质不仅为机体提供能量,也是必需脂肪酸的重要来源,受到食物脂质的影响,野生与养殖鱼类脂肪酸组成呈现出极大的差异^[22]。野生鱼类由于食物来源复杂,肌肉脂肪酸组成不稳定,而人工配合饲料脂肪源主要以鱼油为主,富含不饱和脂肪酸,鱼类是人类食物中不饱和脂肪酸的主要来源,其中最主要的是C20:4n6(AA)、C20:5n3(EPA)和C22:6n3(DHA),能够降低哺乳动物心血管疾病、糖尿病及肿瘤的发生,具有抗氧化、抗衰老的作用,并能促进脑及视神经的发育^[23]。本研究中,尽管C20:4n6和C22:6n3在不同组别中都没有显著差异,但养殖马口鱼肌肉中C20:5n3含量显著低于野生马口鱼。在以往的研究中发现,野生鱼类肌肉中不饱和脂肪酸含量高于养殖鱼类,如花鲢(*Hemibarbus maculatus*)^[24]和大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[25]等,原因是高不饱和脂肪酸是海水鱼类的必需脂肪酸,只能从食物中获取,由于

<https://www.china-fishery.cn>

鱼粉、鱼油等原料价格的持续上涨,在人工配合饲料中往往采用其他植物性原料进行替代,以至于不能满足养殖动物的需求。然而,对于马口鱼等淡水鱼类来说,由于体内具有 $\Delta 6$ 去饱和酶,能够自身合成不饱和脂肪酸^[26],故野生、池塘和工厂化养殖马口鱼肌肉中C20:4n6、C22:6n3、MUFA和PUFA含量差异不显著。

3.4 不同生长条件下马口鱼肌肉品质及重金属含量分析

有研究指出,影响肉类品质的重要因素包括①pH,下降速率与营养损失呈正相关;②滴水率,体现了肌肉保持水分的能力,决定了风味物质的保留率^[27];③熟肉率,是评价熟化损失的重要指标,蒸煮损失越大,熟肉率越低^[28]。本研究发现,养殖马口鱼熟肉率和滴水率显著高于野生马口鱼,表明采用人工养殖的方式能够改善马口鱼的肌肉品质,更利于储存和加工。

环境中的重金属被鱼类吸收后能够在体内积累,镉^[29]、铅^[30]、铜^[31]及汞^[32]等会对鱼类胚胎发育、受精卵孵化率及仔鱼成活率造成严重的负面影响,同时,通过食物链最终影响人类的健康^[33]。肌肉是鱼类主要的可食用部位,对肌肉中重金属含量进行评价具有非常重要的意义^[34]。本研究发现,养殖马口鱼肌肉中重金属含量普遍低于野生马口鱼,尤其是工厂化养殖马口鱼肌肉中铅、镉和铜的含量最低。近年来,自然水体中重金属含量逐年递增,采用人工养殖的模式能够最大程度地避免重金属在鱼体内的积累,是保障食品安全的有效途径^[35-36]。

4 结论

综上所述,相比野生环境及传统池塘养殖,工厂化循环养殖可以提高马口鱼肌肉粗蛋白质、氨基酸总量、C20:5n3及熟肉率,减少滴水损失、饱和脂肪酸、镉和铜的含量,同时还可以提高马口鱼的产量,减少对环境的污染,保障食品安全,是一种健康可持续发展的养殖模式。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Zhang M Z, Wang S D, Gan L, et al. Effects of fishmeal replacement with eight protein sources on growth per-
- 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- formance, blood biochemistry and stress resistance in *Opsariichthys bidens*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(6): 2529-2540.
- [2] Sui X Y, Yan Y Z, Chen Y F. Age, growth, and reproduction of *Opsariichthys bidens* (Cyprinidae) from the Qingyi river at Huangshan mountain, China[J]. *Zoological Studies*, 2012, 51(4): 476-483.
- [3] Jiang H Y, Tang D J, Zhu J Q, *et al.* Molecular cloning, characterisation and expression analysis of the vitellogenin genes vtgA₁ and vtgC during ovarian development in Chinese hook snout carp *Opsariichthys bidens*[J]. *Reproduction Fertility and Development*, 2021, 33(7): 455-465.
- [4] 车轩, 刘晃, 吴娟, 等. 我国主要水产养殖模式能耗调查研究[J]. *渔业现代化*, 2010, 37(2): 9-13.
Che X, Liu H, Wu J, *et al.* Investigation into energy consumption of aquaculture in China[J]. *Fishery Modernization*, 2010, 37(2): 9-13 (in Chinese).
- [5] Fuentes A, Fernández-Segovia I, Serra J A, *et al.* Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality[J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(4): 1514-1518.
- [6] Mwakalapa E B, Simukoko C K, Mmochi A J, *et al.* Heavy metals in farmed and wild milkfish (*Chanos chanos*) and wild mullet (*Mugil cephalus*) along the coasts of Tanzania and associated health risk for humans and fish[J]. *Chemosphere*, 2019, 224: 176-186.
- [7] Parma L, Badiani A, Bonaldo A, *et al.* Farmed and wild common sole (*Solea solea* L.): comparative assessment of morphometric parameters, processing yields, selected nutritional traits and sensory profile[J]. *Aquaculture*, 2019, 502: 63-71.
- [8] Johnston I A, Li X J, Vieira V L A, *et al.* Muscle and flesh quality traits in wild and farmed Atlantic salmon[J]. *Aquaculture*, 2006, 256(1-4): 323-336.
- [9] Folch J, Lees M, Stanley G H S. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 226(1): 497-509.
- [10] 张艳萍, 刘连利, 王莉丽. 电感耦合等离子体发射光谱(ICP-OES)法同时测定水果中Ca、Fe、Zn等元素含量[J]. *化学试剂*, 2010, 32(2): 144-146,192.
Zhang Y P, Liu L L, Wang L L. Detection of elements in fruits using ICP-OES method[J]. *Chemical Reagents*, 2010, 32(2): 144-146,192 (in Chinese).
- [11] Petitjean Q, Jean S, Côte J, *et al.* Direct and indirect effects of multiple environmental stressors on fish health in human-altered rivers[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 742: 140657.
- [12] Li, G Y, Wang, X Z, Zhao, Y H, *et al.* Speciation and Phylogeography of *Opsariichthys bidens* (Pisces: Cypriniformes: Cyprinidae) in China: analysis of the cytochrome b gene of mtDNA from diverse populations[J]. *Zoological Studies*, 2009, 48(4): 569-583.
- [13] Xie R T, Amenyogbe E, Chen G, *et al.* Effects of feed fat level on growth performance, body composition and serum biochemical indices of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*×*Epinephelus polyphekadion*)[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735813.
- [14] Yamamoto, T, Sugita, T, Furuita, H. Essential amino acid supplementation to fish meal-based diets with low protein to energy ratios improves the protein utilization in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Aquaculture*, 2005, 246(1-4): 379-391.
- [15] 陈学豪, 林利民, 洪惠馨. 野生与饲养赤点石斑鱼肌肉营养成分的比较研究[J]. 厦门水产学院学报, 1994, 16(1): 1-5.
Chen X H, Lin L M, Hong H X. The Comparative study on the nutritious composition in the muscle of wild and cultured *Epinephelus akaara*[J]. *Journal of Xiamen Fisheries College*, 1994, 16(1): 1-5 (in Chinese).
- [16] 程汉良, 蒋飞, 彭永兴, 等. 野生与养殖草鱼肌肉营养成分比较分析[J]. *食品科学*, 2013, 34(13): 266-270.
Cheng H L, Jiang F, Peng Y X, *et al.* Comparison of nutrient composition of muscles of wild and farmed grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Food Science*, 2013, 34(13): 266-270 (in Chinese).
- [17] 过正乾, 蒋飞, 许祥, 等. 野生和养殖鲤鱼肌肉营养成分的比较研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(31): 15292-15294,15296.
Guo Z Q, Jiang F, Xu X, *et al.* Comparison and analysis of nutrient component in muscles between wild and farmed *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(31): 15292-15294,15296 (in Chinese).
- [18] 于久翔, 高小强, 韩岑, 等. 野生和养殖红鳍东方鲀营养品质的比较分析[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(9): 2987-2997.

- Yu J X, Gao X Q, Han C, *et al.* Comparative analysis on nutritional quality between wild and cultured *Takifugu rubripes*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(9): 2987-2997 (in Chinese).
- [19] 杨培民, 赵晓临, 夏大明, 等. 野生与人工养殖鸭绿江斑鳅肌肉营养成分及品质评价[J]. *水生态学杂志*, 2010, 3(1): 142-146.
Yang P M, Zhao X L, Xia D M, *et al.* Comparative evaluation of nutritive components and quality in the muscle of wild and cultured *Siniperca scheszeri*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2010, 3(1): 142-146 (in Chinese).
- [20] 张伟国, 徐建中. *L*-赖氨酸合成代谢中NADPH代谢的研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2012, 31(10): 1009-1017.
Zhang W G, Xu J Z. Research progress on NADPH metabolism in constructive metabolism of *L*-lysine[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2012, 31(10): 1009-1017 (in Chinese).
- [21] Park J N, Watanabe T, Endoh K I, *et al.* Taste-active components in a Vietnamese fish sauce[J]. *Fisheries Science*, 2002, 68(4): 913-920.
- [22] Jobling M, Bendiksen E A. Dietary lipids and temperature interact to influence tissue fatty acid compositions of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr[J]. *Aquaculture Research*, 2003, 34(15): 1423-1441.
- [23] 郭玉华, 李钰金. 水产品中EPA和DHA的研究进展[J]. *肉类研究*, 2011, 25(1): 82-86.
Guo Y H, Li Y J. Research progress of EPA and DHA from aquatic[J]. *Meat Research*, 2011, 25(1): 82-86 (in Chinese).
- [24] 陈建明, 叶金云, 沈斌乾, 等. 野生和池塘养殖花鲢肌肉营养组成的比较分析[J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16(1): 87-91.
Chen J M, Ye J Y, Shen B Q, *et al.* A comparative analysis of muscle chemical composition of wild and pond-farmed *Hemibarbus maculatus* (Bleeker)[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2007, 16(1): 87-91 (in Chinese).
- [25] 林利民, 王秋荣, 王志勇, 等. 不同家系大黄鱼肌肉营养成分的比较[J]. *中国水产科学*, 2006, 13(2): 286-291.
Lin L M, Wang Q R, Wang Z Y, *et al.* Comparison of biochemical compositions of muscle among three stocks and wild-caught large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(2): 286-291 (in Chinese).
- [26] Rivera-Pérez C, Valenzuela-Quiñonez F, Caraveo-Patiño J. Comparative and functional analysis of desaturase FADS1 ($\Delta 5$) and FADS2 ($\Delta 6$) orthologues of marine organisms[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part D: Genomics and Proteomics*, 2020, 35: 100704.
- [27] 况文明, 唐仁军, 薛洋, 等. 池塘两种养殖方式下草鱼的营养差异[J]. *水产学报*, 2020, 44(12): 2028-2036.
Kuang W M, Tang R J, Xue Y, *et al.* Preliminary evaluation of nutritional differences of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) under two pond culture models[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(12): 2028-2036 (in Chinese).
- [28] 程辉辉, 谢从新, 李大鹏, 等. 种青养鱼模式下的草鱼肌肉营养成分和品质特性[J]. *水产学报*, 2016, 40(7): 1050-1059.
Cheng H H, Xie C X, Li D P, *et al.* The study of muscular nutritional components and fish quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in ecological model of cultivating grass carp with grass[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(7): 1050-1059 (in Chinese).
- [29] Ramesh M. Studies on the impact of heavy metal cadmium on certain enzymes in a freshwater teleost fish, *Cyprinus carpio*[J]. *Toxicology Letters*, 2006, 164(S1): S157.
- [30] Liu H S, Fu S L, Zhang S S, *et al.* Lead induces structural damage, microbiota dysbiosis and cell apoptosis in the intestine of juvenile bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*)[J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735573.
- [31] Silva-Aciaras F, Moraga D, Riquelme C. Effect of copper on the immunomodulatory activities of haemocytes in juveniles of the abalone *Haliotis rufescens* cultivated under hatchery conditions[J]. *Aquaculture*, 2013, 410-411: 72-78.
- [32] Zhang Y, Zhang P J, Yu P, *et al.* Mercury exposure induces the release of neutrophil extracellular traps and apoptosis in carp neutrophils[J]. *Aquaculture*, 2021, 533: 736103.
- [33] Sfakianakis D G, Renieri E, Kentouri M, *et al.* Effect of heavy metals on fish larvae deformities: a review[J]. *Environmental Research*, 2015, 137: 246-255.
- [34] Younis E M, Abdel-Warith A W A, Al-Asgah N A, *et al.* Nutritional value and bioaccumulation of heavy metals in muscle tissues of five commercially important marine

- fish species from the red sea[J]. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021, 28(3): 1860-1866.
- [35] 陈丽辉. 中国与主要国际组织、发达国家水产品中重金属限量比对分析研究[J]. *渔业研究*, 2020, 42(4): 394-403.
- Chen L H. Comparative analysis of the limited quantity of heavy metals in aquatic products of China with major international organizations and developed countries[J]. *Journal of Fisheries Research*, 2020, 42(4): 394-403 (in Chinese).
- [36] Mandour A, El-Sayed M K, El-Gamal A A, *et al.* Temporal distribution of trace metals pollution load index in the Nile delta coastal surface sediments[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2021, 167: 112290.

Comparison of nutritional ingredients of muscle in *Opsariichthys bidens* under wild, pond and factory farming conditions

QIU Delin¹, ZHANG Muzi^{1,2*}, LIU Jiaxin¹, QIAN Yunxia¹, WANG Rixin¹, LI Ming^{1*}

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to understand the differences of nutritional ingredients of muscle in *Opsariichthys bidens* under wild, pond and factory farming conditions, a comparative study was conducted on morphological indices, nutrient composition, amino acid content, fatty acid content, physicochemical property, heavy metal content of muscle. The results indicated that the muscle phenylalanine, aspartic acid, total essential amino acid, total non-essential amino acid and drip loss of *O. bidens* in wild were significantly higher than those in pond; the visceral body ratio, muscle crude protein, branched chain amino acid/aromatic amino acids, C16:0 and cooking rate were significantly lower than those in factory, but the moisture, methionine, sulfur-containing amino acids, C18:3n6, saturated fatty acid, lead, cadmium and copper were higher; no significant difference was found in the condition factor, muscle valine, leucine, threonine, lysine, isoleucine, glutamate, tyrosine, arginine, total amino acids, total semi-essential amino acids, flavor amino acid, bitter amino acid, delicious amino acid, C20:0, C20:2, C22:2, C22:1n9 and C20:5n3 of *O. bidens* between wild and factory. The results showed that compared with the wild and pond, the factory farming can increase the muscle crude protein, total amino acid, C20:5n3, cooking rate, and reduce drip loss, saturated fatty acid, cadmium, lead and copper, which is a better culture mode of *O. bidens*.

Key words: *Opsariichthys bidens*; wild; culture; muscle; nutritional ingredient

Corresponding authors: ZHANG Muzi. E-mail: mzzhang3@gzu.edu.cn;

LI Ming. E-mail: liming1@nbu.edu.cn

Funding projects: Key Research and Development Program of Zhejiang Province (2019C02049); Key Research and Development Program of Lishui (2019ZDYS13); National Natural Science Foundation of China (32072948); Fundamental Research Funds for the Provincial Universities of Zhejiang (SJLY2020009); General Scientific Research Program of Education Department in Zhejiang Province (Y201940877); Natural Science Foundation of Ningbo City (202003N412)