

脂肪和蛋白质水平对工业养殖大西洋鲑消化酶、 非特异性免疫及水质的影响

柳阳^{1,2}, 李勇^{1,2,3*}, 周邦维^{1,2,3}, 高婷婷^{1,2}, 王晓晨^{1,2,3}, 王顺奎⁴

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 海洋生态养殖技术国家地方联合工程实验室, 山东 青岛 266071;

4. 山东东方海洋科技股份有限公司, 山东 烟台 264003)

摘要:为探讨脂肪和蛋白质水平对工业化养殖大西洋鲑相关消化酶活力、免疫及对水质指标的影响,采用3×2双因素试验设计(3脂肪水平:18%、21%、24%,即F18、F21、F24;2蛋白质水平:38%、48%,即P38、P48),形成6种实验处理的膨化配合颗粒料,每处理3重复,在工业化封闭循环海水养殖(RAS)条件下,选用初重(650.0±45.50)g大西洋鲑720尾进行56d的养殖实验。结果显示:(1)F21可显著提高大西洋鲑胃、肠、肝脂肪酶活力,比低脂肪分别提高11.52%、14.63%、4.31%;P48使肠、肝胰蛋白酶活力分别提高8.23%、8.33%,且发现其活力水平远高于胃蛋白酶。(2)F18、P48可显著提高肠道AKP酶活力,F18比F21、F24分别提高18.61%、31.70%,P48比P38提高13.69%。(3)F21、F24可显著改善血清的抗氧化能力,F21比F18的SOD活力提高10.32%,同时MDA含量降低4.49%;P48有利于提高血清LZM活力及补体C3含量,P48比P38分别高9.49%、5.93%。(4)低蛋白质水平可显著降低水体中氨氮、硝酸盐的含量,P38比P48分别降低61.70%、28.36%;提高脂肪水平可降低水体氨氮含量,F21、F24比F18分别降低10.00%、8.20%。研究表明,饲料脂肪和蛋白质水平与消化吸收酶、非特异免疫、养殖水氨氮之间关系特征明显;适当提高脂肪水平有利于提高消化道脂肪酶活力,提高蛋白质水平有利于提高免疫力;低蛋白质和中高脂肪组合可有效降低大西洋鲑的氨氮排泄量。

关键词:大西洋鲑;饲料脂肪和蛋白质;消化酶;非特异性免疫;水质;封闭循环水养殖系统
中图分类号:S 963.71 **文献标志码:**A

脂肪和蛋白质是鱼类所需的重要营养素,不仅是维持机体正常生命活动,也是合成各种酶类使消化代谢、免疫等身体机能正常发挥的重要物质。原料种类、营养含量及组合效应,可影响鱼类消化道中消化酶的浓度和活力,进而影响鱼类利用营养物质的能力^[1]。因此,对鱼类消化酶的研究,既可以了解鱼类消化生理状况,也能为饲料配方设计提供理论参考。研究表明,肉食性鱼类对饲料能量和蛋白质的需求量高于其他鱼类,且对脂肪的利用能力

高于碳水化合物,饲料脂肪和蛋白质可影响鱼类的消化酶活性、代谢和免疫^[2-3]。

大西洋鲑(*Salmon salar*)隶属鲑科(Salmonoidea)、鲑属(*Salmon*)冷水肉食性鱼类,有洄游型和陆封型两种,本研究对象为洄游型大西洋鲑,原产于大西洋北部,是世界范围最重要海水养殖鱼种之一,其生长期为深海或近海半潜式网箱养殖模式,在国内外尚未有在封闭循环水养殖条件下的研究报道。

收稿日期:2013-12-13 修回日期:2014-01-09

资助项目:大西洋鲑循环清洁生产系统研发与产业化资助项目(Y12316101H);“十二五”国家科技支撑计划(201113AD13B07);中国科学院院地合作项目(Y12530101L)

通信作者:李勇,E-mail:liyong@qdio.ac.cn

国外网箱养殖模式研究表明,高脂肪饲料可显著促进大西洋鲑的生长,增加饲料蛋白含量可促进大西洋鲑生长和提高饲料利用效率,但未见脂肪和蛋白质含量对大西洋鲑的消化酶、碱性磷酸酶、免疫等指标影响的研究。本研究前期结果表明,在封闭循环水养殖条件下,大西洋鲑对脂肪的需求量较网箱养殖模式降低但对蛋白质需求量仍较高^[4]。本研究的目的是首次在该养殖模式下探讨脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑消化酶及对非特异性免疫和养殖水环境等的影响,为工业化海水养殖大西洋鲑的生态营养调控提供理论依据和应用参考。

1 材料与方法

1.1 实验设计与分组

在工业化封闭循环水养殖条件下,进行 3×2 双因素随机动物实验,即3个脂肪水平:18%、

21%、24%,分别以F18、F21、F24表示;2个蛋白质水平:38%、48%,分别以P38、P48表示,共形成6个处理,每处理3个重复。

实验用鱼由山东东方海洋烟台开发区分公司提供。采用同源同批、规格整齐、体格健壮、平均体质量为 (650.0 ± 45.50) g大西洋鲑幼鱼720尾,随机分配到封闭循环水养殖试验车间的18个养殖桶(重复)中,每3个养殖桶为一套循环系统,每一系统的3个养殖桶投喂不同的饲料,每组重复40尾鱼,各实验组鱼初始体质量经方差分析差异不显著($P > 0.05$),达到同质要求。

1.2 实验饲料

大西洋鲑实验饲料原料组成及营养成分见表1。根据实验设计要求确定包含3个脂肪水平与2个蛋白质水平的6种实验饲料,其编号为:P38F18、P38F21、P38F24、P48F18、P48F21、P48F24。按照实

表1 大西洋鲑实验配合饲料原料组成及主要营养成分含量
Tab.1 Main ingredients and chemical composition of trial diets for *S. salar*

饲料原料 ingredient	实验组别 trial group					
	P38F18	P38F21	P38F24	P48F18	P48F21	P48F24
秘鲁鱼粉 Peruvian fish meal ^a	33.00	33.00	33.00	45.00	45.00	45.00
优质鱼油 refined fish oil ^b	10.70	13.80	16.90	9.70	12.80	15.90
大豆粕 soybean meal	11.00	11.90	12.90	8.30	9.40	10.60
玉米蛋白 corn gluten meal	5.00	5.00	5.00	10.00	10.00	10.00
肉骨粉 meat and bone meal ^c	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
面粉 flour	24.50	20.30	16.10	8.80	4.40	0.00
磷脂粉 lecithin powder	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
血浆蛋白 corpuscle protein ^d	0.00	0.00	0.00	2.00	2.00	2.00
粘合剂 binder ^e	0.90	1.00	1.10	1.30	1.40	1.50
复合维生素 compound vitamin ^f	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
复合矿物元素 compound mineral ^g	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
合计/% total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分 nutrition levels						
干物质含量/% DM	91.65	91.32	91.63	91.43	91.75	92.10
粗蛋白/% CP	38.31	38.39	38.27	48.10	47.91	48.32
钙/% Ca	1.84	1.85	1.85	2.21	2.22	2.21
总磷/% TP	1.42	1.41	1.41	1.73	1.72	1.71
粗纤维/% CF	0.80	0.85	0.90	0.80	0.85	0.90
粗脂肪/% EE	18.20	21.20	24.10	17.70	21.30	23.80
粗灰分/% Ash	8.31	8.29	8.22	9.75	9.67	9.71

注:表中数值除粗纤维外均为实测值;a:优质秘鲁鱼粉(粗蛋白65%);b:国产优质鱼油等;c:美国进口优质肉骨粉(粗蛋白50%);d:国产优质血浆蛋白粉(粗蛋白72%);e:褐藻酸钠;f:mg或IU/(kg饲料)表示,维生素A 9 500 IU、维生素D₃ 1 800 IU、维生素E 200、维生素K₃ 50、维生素B₁ 10、维生素B₂ 15、维生素B₆ 16、维生素B₁₂ 0.5、维生素C 700、烟酰胺 150、泛酸钙 90、叶酸 10、生物素 2、肌醇 500、氯化胆碱 100;g:以mg/(kg饲料)表示,氧化铜 50、硫酸锌 260、氧化锰 30、硫酸亚铁 350、碘化碘 0.25、硒酸钠 0.35、氯化钴 2、硫酸镁 800

Notes: values in the table in addition to the crude fiber were measured; a: imported Peruvian fish meal (crude protein 650 g/kg); b: domestic high quality fish oil; c: imported America meat and bone meal (crude protein 500 g/kg); d: domestic corpuscle protein (crude protein 720 g/kg); e: sodium alginate; f: additional [mg or IU if mentioned / (kg diet)], vitamin A 9 500 IU, vitamin D₃ 1 800 IU, vitamin E 200, vitamin K₃ 50, vitamin B₁ 10, vitamin B₂ 15, vitamin B₆ 16, vitamin B₁₂ 0.5, vitamin C 700, niacin 150, calcium folic acid 90, pantothenic acid 10, biotin 2, inositol 500, choline chloride 100; g: additional [mg/kg diet], copper oxide 50; zinc sulfate 260, manganese oxide 30, ferrous sulfate 350, iodine chloride 0.25, sodium selenate 0.35, cobalt chloride 2, magnesium sulfate 800

验饲料配方组成,将相关原料超微粉碎、混合,经水产饲料专用双螺杆挤压膨化机制成直径 7 mm 缓沉型颗粒配合饲料,打包后待用。同时采集各处理组实验饲料样品待测定分析。

1.3 饲养管理

动物实验于 2012 年 6 月 - 8 月进行,实验期 8 周。养殖池为直径 2 m、高 1 m、体积约 2.7 m³ 圆桶,液氧充氧。封闭循环水养殖系统条件一致:养殖密度 9.38 ~ 9.73 kg/m³,温度 16.8 ~ 18 °C、盐度 23、pH 7.2 ~ 7.5、溶解氧含量 11.4 ~ 12.7 mg/L、流速约 3 m³/h、循环率 24 次/d。每天添加新水量约为 10%。

实验开始前和结束前,实验用鱼停食 24 h 空腹称重。暂养期为 1 周,暂养期间投喂挪威 Skretting 商品饲料和试验饲料的混合料,1 周后开始全部投喂实验饲料,日投饲量约为鱼初始总体质量的 0.5%,分 3 次投喂,节点为 8:00、14:00、20:00。投喂时密切观察鱼的摄食动态,根据其摄食情况及时调整投喂量。每次投喂后约半小时,将残饵用纱布袋收集,记录残饵量,计算实际摄食量。养殖实验过程中若发现死鱼,及时捞出并称重记录。

1.4 检测指标及测定方法

组织样品采集与预处理 实验鱼停食 24 h 后,每处理组随机取 3 尾鱼,使用 50 mg/L MS-222 麻醉处死,将肠道、胃、肝脏和肌肉样品放入有标签的封口袋中置于 -40 °C 冰箱保存。

血清的制备:各处理组随机取 3 条实验用鱼,50 mg/L MS-222 麻醉后,抽取 5 mL 血液至离心管中,4.3% 肝素抗凝,标记,4 °C 静置 12 h,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液于 2.5 mL 离心管中,置于 -40 °C 保存待测。

样品前处理:将组织样品于冰袋上低温解冻,精确称取少量组织于 10 mL 匀浆管中,按重量 (g): 体积 (mL) = 1:9 加入生理盐水,2 500 r/min 冰水浴机械匀浆,将匀浆液离心,取上清待测^[5-7]。

消化酶活力测定方法:脂肪酶、蛋白酶、淀粉酶、碱性磷酸酶活力采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定,在该所生理生化试验室完成,以比活力 (U/mg prot 或 U/g prot) 表示,操作步骤按试剂盒上说明进行。

免疫指标的测定方法:血清超氧化物歧化酶、溶菌酶、补体 C3 含量及丙二醛含量采用南京建

成生物工程研究所生产的试剂盒测定,在该所生理生化试验室完成,以比活力 (U/mg prot) 或浓度 (nmol/mL) 表示,操作步骤按试剂盒上说明进行。

饲料样品检测方法 饲料营养成分的测定方法:水分测定依据 GB/T 6345 - 2006 在 105 °C 烘箱中烘干至恒重,采用重量差法计算;粗蛋白质测定依据 GB/T 6432 - 94 微量凯氏定氮法;粗脂肪测定按 GB/T 6433 - 2006 索氏抽提法;粗灰分参照 GB/T 6438 - 2006 在 550 °C 马弗炉灼烧,重量差法测定;粗纤维依据 GB/T 6434 - 94 用酸碱法进行测定;钙采用 GB/T 6436 - 2002 用高锰酸钾和 EDTA 络合滴定法;总磷采用 GB/T 6437 - 2002 磷钼蓝分光光度法进行测定。

水质测定方法 水质指标的测定在养殖试验正式开始后的第 21 天、28 天连续 24 h 进行,采用连续取样法,即测定当天投喂 2 次,早上 8:00 投喂饲料前取第一次水样,之后每间隔 2 h 取水样一次,持续至 20:00 投喂饲料前取最后一次水样。测定样品中氨氮、硝氮、亚硝氮及磷酸盐含量,参照国标海水监测规范 GB 17378.4 - 2007 进行,总氨氮测定采用纳氏试剂法;亚硝酸盐氮采用萘乙二胺分光光度法;磷酸盐采用钼蓝分光光度法;硝酸盐氮测定采用紫外分光光度法。

1.5 统计分析

采用 SPSS 16.0 统计分析软件,对数据结果进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 和双因素方差分析 (Multivariate),多重比较采用 LSD 法,结果用 (mean ± SE) 表示。

2 结果

2.1 消化酶

脂肪水平对肠和肝脂肪酶及胰蛋白酶、胃蛋白酶活力均有显著性影响 ($P > 0.05$) (表 2)。胃、肠、肝脂肪酶活力随脂肪水平的提高先升高后降低,在 F21 达到最大值,其中胃脂肪酶活力在 F21 比 F18 提高 11.52% ($P > 0.05$),肠、肝脂肪酶活力在 F21 分别比 F24 显著提高 24.33%、11.57% ($P < 0.01$ 或 0.05);蛋白酶活力随脂肪水平先降低后升高,在 F21 最小,肠胰蛋白酶在 F21 分别比高、低脂肪显著降低 7.09% ($P > 0.05$)、17.00% ($P < 0.05$)

蛋白水平对各组织脂肪酶活力均无显著性影

响($P > 0.05$),且肠、肝脂肪酶活力在低蛋白组高于高蛋白。

两因素对肝脂肪酶、肠胰蛋白酶、肝胰蛋白酶有显著互作效应($P < 0.05$)。

表2 饲料脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑消化酶活力的影响
Tab.2 Effects of dietary fat and protein levels on digestive enzymes activity of *S. salar* U/mg prot

指标 index	蛋白水平 protein level(PL)	脂肪水平 fat level(FL)			平均值 means
		F18	F21	F24	
胃脂肪酶 LPS	P38	22.51 ± 2.11 ^b	25.07 ± 0.60 ^{ab}	26.94 ± 2.70 ^{ab}	24.84 ^a
	P48	27.32 ± 3.08 ^{ab}	30.51 ± 1.98 ^a	25.72 ± 3.23 ^{ab}	27.85 ^a
	平均值	24.92 ^a	27.79 ^a	26.33 ^a	
肠脂肪酶 LPS	P38	19.99 ± 1.29 ^{abc}	23.41 ± 2.04 ^a	18.48 ± 0.64 ^{bc}	20.63 ^a
	P48	18.70 ± 0.91 ^{bc}	20.94 ± 1.20 ^{abc}	17.20 ± 1.83 ^c	18.95 ^a
	平均值	19.35 ^{bc}	22.18 ^a	17.84 ^c	
肝脂肪酶 LPS	P38	20.45 ± 0.88 ^{ab}	21.35 ± 0.88 ^a	17.12 ± 1.31 ^c	19.64 ^a
	P48	17.68 ± 0.59 ^c	18.36 ± 0.97 ^{bc}	18.48 ± 1.17 ^{bc}	18.16 ^a
	平均值	19.04 ^{ab}	19.86 ^a	17.80 ^b	
胃蛋白酶 pepsin	P38	3.14 ± 0.15 ^{ab}	2.68 ± 0.05 ^{bc}	3.01 ± 0.18 ^{abc}	2.94 ^a
	P48	3.16 ± 0.24 ^a	2.86 ± 0.10 ^{abc}	2.66 ± 0.16 ^c	2.90 ^a
	平均值	3.15 ^a	2.77 ^c	2.84 ^{bc}	
肠胰蛋白酶 trypsin	P38	115.63 ± 7.72 ^c	113.22 ± 5.57 ^c	160.35 ± 8.82 ^a	129.73 ^a
	P48	130.00 ± 2.09 ^{bc}	114.98 ± 6.48 ^c	114.59 ± 4.80 ^c	119.86 ^a
	平均值	122.81 ^{ab}	114.10 ^b	137.47 ^a	
肝胰蛋白酶 trypsin	P38	109.70 ± 3.71 ^c	107.15 ± 2.39 ^c	123.14 ± 3.78 ^a	113.33 ^a
	P48	104.41 ± 1.92 ^c	106.41 ± 1.92 ^c	104.53 ± 2.38 ^c	104.98 ^c
	平均值	106.85 ^b	106.78 ^b	113.83 ^a	
胃淀粉酶 AMS	P38	0.89 ± 0.08 ^{ab}	0.82 ± 0.05 ^b	0.95 ± 0.04 ^{ab}	0.89 ^a
	P48	0.88 ± 0.05 ^{ab}	0.93 ± 0.04 ^{ab}	0.99 ± 0.05 ^a	0.93 ^a
	平均值	0.89 ^a	0.88 ^a	0.97 ^a	
肠淀粉酶 AMS	P38	0.78 ± 0.05 ^a	0.84 ± 0.11 ^a	0.79 ± 0.007 ^a	0.80 ^a
	P48	0.86 ± 0.005 ^a	0.69 ± 0.002 ^a	0.75 ± 0.003 ^a	0.76 ^a
	平均值	0.82 ^a	0.77 ^a	0.77 ^a	

双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance(P value)								
指标 index	胃 LPS	肠 LPS	肝 LPS	胃 pepsin	肠 trypsin	肝 trypsin	胃 AMS	肠 AMS
蛋白 PL	0.143	0.154	0.059	0.653	0.172	0.001	0.276	0.459
脂肪 FL	0.511	0.010	0.047	0.010	0.036	0.027	0.177	0.630
蛋白 * 脂肪 PL * FL	0.338	0.889	0.041	0.122	0.004	0.011	0.479	0.208

2.2 碱性磷酸酶

脂肪水平对胃、肠碱性磷酸酶(AKP)活力均有极显著性影响($P < 0.01$),且酶活力随脂肪水平增加而降低(表3)。其中肠 AKP 酶活力在 F18 比 F21、F24 分别提高 13.47% ($P < 0.01$)、31.70% ($P < 0.01$),说明低脂肪促进营养物质在肠的吸收。

蛋白水平对肠 AKP 有极显著性影响($P < 0.01$),P48 比 P38 提高 13.69% ($P < 0.01$)。

两因素对肠 AKP 酶活力有显著的互作效应($P < 0.05$)。低脂肪低蛋白(F18P38)却有最大

AKP 酶活力。

2.3 免疫指标

脂肪水平对血清 SOD 活力及 MDA 含量有显著性影响($P < 0.05$)(表4)。血清 SOD 活力随脂肪水平增加而升高,F24 比 F18 极显著提高 11.93% ($P < 0.01$);MDA 含量随脂肪水平的升高有先降低后增加特征,在 F24 有最大值,比 F18、F21 分别高 16.59% ($P < 0.05$),11.36% ($P > 0.05$)。

蛋白对血清 C3 含量及肝 SOD 活力有显著性影响($P < 0.05$)。C3 含量在 P48 比 P38 显著高

5.93% ($P < 0.05$); 肝脏 SOD 活力在 P38 比 P48 两因素对血清 MDA、LZM 和 C3 交互效应显著高 4.36% ($P < 0.05$)。著 ($P < 0.05$)。

表 3 脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑不同组织碱性磷酸酶活力影响
Tab.3 Effects of fat and protein levels on related synthetic metabolism enzyme activity of *S. salar* U/g prot

指标 index	蛋白质水平 PL	脂肪水平 FL			平均值 means
		F18	F21	F24	
胃碱性磷酸酶 AKP	P38	49.12 ± 1.72 ^a	42.07 ± 1.08 ^c	38.03 ± 0.96 ^d	43.07 ^a
	P48	40.38 ± 1.40 ^{cd}	37.58 ± 1.46 ^d	37.43 ± 0.86 ^d	38.47 ^c
	平均值 means	44.75 ^a	39.83 ^c	37.73 ^c	
肠碱性磷酸酶 AKP	P38	27.69 ± 2.55 ^a	22.40 ± 1.51 ^c	16.53 ± 0.99 ^c	22.21 ^c
	P48	26.23 ± 1.48 ^{ab}	25.12 ± 1.66 ^{abc}	24.41 ± 0.64 ^{abc}	25.25 ^a
	平均值 means	26.96 ^a	23.76 ^b	20.47 ^c	
肝碱性磷酸酶 AKP	P38	9.76 ± 0.35 ^{ab}	9.41 ± 0.40 ^{ab}	9.50 ± 1.06 ^{ab}	9.56 ^a
	P48	7.65 ± 0.39 ^c	9.45 ± 0.66 ^{ab}	10.07 ± 2.09 ^a	9.06 ^a
	平均值 means	8.71 ^a	9.43 ^a	9.79 ^a	
双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance(P value)					
指标 index	胃碱性磷酸酶 AKP	肠碱性磷酸酶 AKP	肝碱性磷酸酶 AKP		
蛋白 PL	0.000	0.005	0.322		
脂肪 FL	0.000	0.000	0.210		
蛋白 * 脂肪 PL * FL	0.012	0.003	0.080		

表 4 脂肪和蛋白质水平对大西洋鲑相关免疫指标的影响
Tab.4 Effects of fat and protein levels on immunological activity of *S. salar*

指标 index	蛋白水平 PL	脂肪水平 FL			平均值 means	
		F18	F21	F24		
血清超氧化物歧化酶/ (U/mgprot)	P38	105.36 ± 4.03 ^{bc}	115.04 ± 2.06 ^a	116.84 ± 5.72 ^a	112.41 ^a	
	P48	101.12 ± 4.67 ^c	112.73 ± 2.62 ^{ab}	114.27 ± 0.51 ^a	109.38 ^a	
	平均值 means	103.24 ^c	113.89 ^a	115.56 ^a		
血清丙二醛/ (nmol/mL)	P38	32.38 ± 4.25 ^{abc}	25.90 ± 2.23 ^c	38.01 ± 2.62 ^a	32.10 ^a	
	P48	30.84 ± 1.34 ^{bc}	34.47 ± 1.60 ^{ab}	32.38 ± 2.33 ^{abc}	32.56 ^a	
	平均值 means	31.61 ^{ab}	30.19 ^b	35.20 ^a		
血清溶菌酶/ (U/mg prot)	P38	17.27 ± 1.74 ^c	24.00 ± 2.47 ^a	18.79 ± 2.72 ^{bc}	20.02 ^a	
	P48	24.55 ± 1.74 ^a	20.00 ± 1.05 ^{abc}	21.21 ± 1.97 ^{abc}	21.92 ^a	
	平均值 means	20.91 ^a	22.00 ^a	22.00 ^a		
血清补体/ (ng/L)	P38	587.07 ± 12.17 ^{abc}	502.76 ± 18.48 ^e	549.33 ± 15.52 ^{cd}	546.39 ^b	
	P48	574.61 ± 16.41 ^{abc}	617.07 ± 14.15 ^a	544.66 ± 13.86 ^{cde}	578.78 ^a	
	平均值 means	588.74 ^a	559.93 ^b	546.99 ^b		
肝超氧化物歧化酶/ (U/mg prot)	P38	343.39 ± 9.67 ^{ab}	342.85 ± 10.80 ^{ab}	360.23 ± 9.96 ^a	348.82 ^a	
	P48	337.43 ± 8.27 ^a	335.03 ± 9.56 ^a	330.31 ± 9.48 ^a	334.26 ^b	
	平均值 means	340.41 ^a	338.94 ^a	345.27 ^a		
肝溶菌酶/ (U/mg prot)	P38	1.50 ± 0.11 ^a	1.51 ± 0.18 ^a	1.67 ± 0.12 ^a	1.56 ^a	
	P48	1.50 ± 0.14 ^a	1.58 ± 0.10 ^a	1.68 ± 0.20 ^a	1.59 ^a	
	平均值 means	1.50 ^a	1.55 ^a	1.68 ^a		
双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance(P value)						
指标 index	血清 SOD	血清 MDA	血清 LZM	血清 C3	肝 SOD	肝 LZM
蛋白质 PL	0.225	0.813	0.192	0.013	0.027	0.185
脂肪 FL	0.001	0.012	0.524	0.091	0.691	0.703
蛋白 * 脂肪 PL * FL	0.941	0.016	0.011	0.000	0.236	0.859

2.4 水质指标结果与分析

脂肪水平对各水质指标未产生显著影响 ($P > 0.05$) (表 5), 但氨氮浓度随脂肪水平增加有降低趋势, F24、F21 分别比 F18 分别降低 10.00%、8.20% ($P > 0.05$)。

蛋白质水平对氨氮、磷酸盐、硝酸盐有显著或极显著影响 ($P < 0.01$ 或 0.05), 低蛋白可显著降低水体中氨氮、硝酸盐的含量, 氨氮、硝酸盐浓度

在 P38 比 P48 分别降低 61.70% ($P < 0.05$)、28.36% ($P < 0.01$); 磷酸盐含量则在 P38 比 P48 降低 57.61% ($P < 0.05$)。

双因素组合对水质各指标无显著互作效应 ($P > 0.05$), P48F18 有最大氨氮排泄 0.39 mg/L, 高于 P48F21 和 P48F24 组合, 说明饲料脂肪对蛋白质具有一定节约作用, 降低蛋白质作为能源物质的代谢消耗。

表 5 脂肪和蛋白水平对养殖水质指标的影响
Tab. 5 The effects of fat and protein levels on water quality index of *S. salar*

指标 index	蛋白水平 PL	脂肪水平 FL			平均值 means
		F18	F21	F24	
氨氮/(mg/L) $\text{NH}_4^+ \text{-N}$	P38	0.25 ± 0.04 ^b	0.24 ± 0.03 ^b	0.22 ± 0.03 ^b	0.24 ^c
	P48	0.39 ± 0.06 ^a	0.38 ± 0.05 ^a	0.38 ± 0.03 ^a	0.38 ^a
	平均值	0.33 ^a	0.31 ^a	0.30 ^a	
亚氮/(μg/L) $\text{NO}_2^- \text{-N}$	P38	14.00 ± 1.77 ^a	14.97 ± 0.42 ^a	15.04 ± 0.49 ^a	14.67 ^a
	P48	14.49 ± 2.47 ^a	14.36 ± 0.84 ^a	11.52 ± 2.75 ^a	13.46 ^a
	平均值	14.25 ^a	14.67 ^a	13.28 ^a	
磷酸盐/(μg/L) $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$	P38	4.16 ± 1.24 ^{ab}	3.24 ± 0.46 ^b	4.62 ± 1.67 ^{ab}	4.01 ^b
	P48	5.08 ± 1.22 ^{ab}	6.01 ± 1.22 ^{ab}	7.86 ± 1.23 ^a	6.32 ^a
	平均值	4.62 ^a	4.62 ^a	6.24 ^a	
硝酸氮/(mg/L) $\text{NO}_3^- \text{-N}$	P38	0.62 ± 0.11 ^c	0.72 ± 0.03 ^{bc}	0.66 ± 0.05 ^{bc}	0.67 ^c
	P48	0.77 ± 0.05 ^{abc}	0.84 ± 0.07 ^{ab}	0.94 ± 0.08 ^a	0.86 ^a
	平均值	0.69 ^a	0.78 ^a	0.81 ^a	

双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance(P value)

指标 index	氨氮 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$	亚氮 $\text{NO}_2^- \text{-N}$	磷酸盐 $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$	硝酸盐 $\text{NO}_3^- \text{-N}$
蛋白 PL	0.001	0.591	0.043	0.007
脂肪 FL	0.277	0.870	0.360	0.303
蛋白 * 脂肪 PL * FL	0.451	0.750	0.632	0.519

3 讨论

3.1 脂肪与蛋白水平对消化酶的影响

增加饲料脂肪含量会提高鱼类脂肪酶的活力, 反之则降低^[8]。研究表明, 高脂肪水平饲料能提高舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 肠道脂肪酶活力^[9], 但也有研究认为脂肪酶活力与饲料脂肪含量呈负相关^[10], 奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 在低脂肪水平时脂肪酶活力与脂肪含量无相关性, 但在较高脂肪水平时, 肠道脂肪酶活力下降^[11]。本研究结果表明, 大西洋鲑胃、肠、肝中脂肪酶活力均随脂肪水平增加先增加后降低, 说明在封闭循环水养殖条件下, 饲料脂肪含量从较低范围提高到较高水平, 可增加脂肪酶活力, 但含量过高则会在一定程度上抑制其活力。

脂肪含量不仅影响脂肪酶活力, 对蛋白酶和淀粉酶活力也有一定影响, 但结果并不一致^[12-14]。本实验研究结果表明, 胃蛋白酶、胰蛋白酶活力随脂肪水平增加而降低, 说明饲料低脂肪可增加消化道蛋白酶活力, 其原因可能是低脂肪时不能满足鱼类能量需要, 促进了肠道蛋白酶分泌, 促进饲料蛋白质更多消化, 增加蛋白质作为能源消耗。

在一定范围内, 蛋白酶活力与饲料蛋白水平呈正相关^[15-16]。本实验研究表明, 高蛋白水平可诱导肠胰蛋白酶分泌和提高其活力, 进而提高大西洋鲑对饲料蛋白质消化, 从而促进鱼体蛋白合成从而促使其生长^[4]。此外, 研究发现, 大西洋鲑的肠胰蛋白酶活力远高于胃蛋白酶活力, 可能是大西洋鲑对蛋白质的消化主要靠肠道胰蛋白酶起主要作用, 胰蛋白酶作为关键酶在大西洋鲑的

蛋白质消化过程中起到重要作用^[17]。本研究蛋白质水平对脂肪酶的影响差异不显著,但低蛋白质水平有促进脂肪酶活力升高的趋势,这与 Morais 等^[13]和林建斌等^[18]的结果类似。

3.2 脂肪和蛋白质水平对碱性磷酸酶的影响

碱性磷酸酶是一类单酯磷酸水解酶,为一种膜结合金属糖蛋白,主要存在于鱼类消化道上皮细胞的浅部和纹状缘上。一般认为在鱼体内的碱性磷酸酶参与上皮细胞的吸收和转运,可以协助肠上皮细胞吸收脂类、葡萄糖、氨基酸等,与多种营养物质吸收有关。脂肪和蛋白质水平对鱼类消化系统碱性磷酸酶影响的研究甚少。有研究表明,鲤 (*Cyprinus carpio*), 鲈 (*Perca fluviatilis*) 饲料效率、蛋白质沉积率和脂肪沉积率与肠道 AKP 酶活力显著或极显著相关^[19],提高酶解蛋白、赖氨酸等的添加量可提高幼建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) 全肠或各段 AKP 酶活力^[21]。本研究结果初步表明,低脂肪显著提高了大西洋鲑肠 AKP 酶活力,从而促进营养物质在肠道的吸收;高蛋白显著提高肠 AKP 酶活力。此结果初步揭示了饲料脂肪和蛋白质水平与大西洋鲑肠道营养吸收能力之间的关系特征。这对海水鱼类养殖的营养调控具有重要价值和意义,但作用机制有待于进一步研究。

3.3 脂肪和蛋白质水平对非特异性免疫的影响

饲料脂肪和蛋白质可影响动物免疫功能^[22-23]。关于饲料脂肪对鱼类免疫的研究目前集中在脂肪酸对细胞免疫影响方面。当饲料缺乏必需脂肪酸时,鱼类吞噬细胞能力、补体活力以及抗体水平都显著下降,而适宜含量必需脂肪酸,使鱼免疫力显著提高,但添加量超过需求量则会出现免疫抑制现象,降低成活率和抗体水平^[22-24]。增加饲料脂肪含量,可以增强 (*Oncorhynchus kisutch*) 溶菌酶和细胞呼吸爆发的活力,增加吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 血液白蛋白和球蛋白含量^[25-26]。但脂肪过高会降低免疫力,降低欧洲鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 吞噬细胞的呼吸爆发活力^[27]。本研究表明,增加饲料脂肪可提高大西洋鲑血清、肝脏的超氧化物歧化酶 (SOD) 活力,降低血清 MDA 含量,其原因可能是脂肪增加可节约饲料蛋白质免于能耗,而更多用于机体合成非特异性免疫相关的酶类,进而提高免疫能力。

蛋白质是动物合成各种酶类和蛋白抗体所必

需的原料,与机体免疫密切相关。前人研究表明,适宜的蛋白含量有助于提高鱼体的免疫力,增加蛋白质水平会显著提高黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 和虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 溶菌酶的活力。过高或过低蛋白会抑制溶菌酶、超氧化物歧化酶活力和相关补体和抗体水平^[28-29]。本研究表明,增加饲料蛋白含量可增加溶菌酶活力、血清补体含量,与前人研究结果相符合,说明在封闭循环水养殖条件下一定程度地提高饲料蛋白质含量可改善大西洋鲑的非特异免疫能力,原因可能是饲料蛋白供应量较多时,会降低脂类被自由基氧化产生 MDA 的几率,且蛋白质是鱼类合成各种酶类和抗体蛋白所必需的原料,适当提高蛋白含量有利于免疫力的提高。

3.4 脂肪和蛋白质水平对养殖水环境的影响

虽然脂肪对蛋白质节约效应已多有报道,但其对鱼类氨氮排泄率影响的研究报道较少。脂肪因素影响含氮产物的排泄率,提高饲料脂肪含量会在一定程度上降低氮排泄率^[30-31]。本研究结果与其类似,即虽然脂肪水平对水体氨氮含量无显著性影响,但水氨氮含量随饲料脂肪含量上升有降低的趋势。其原因可能是,脂肪作为能量物质,可降低饲料蛋白质作为能量物质而被机体消耗,使摄取的蛋白质用于生长而不被用于代谢供能产生较多氨氮排泄产物。其生化机制是增加饲料非蛋白可消化能,降低谷氨酰胺酶活性,进而降低氨氮排泄率^[32]。

研究表明,摄食后氨氮排泄率受饲料中蛋白质水平的影响^[33-36]。美洲鳗鲡 (*Anguilla rostrata*)、宝石石斑鱼 (*Epinephelus areolatus*)、短鳍鳗鲡 (*Anguilla australis australis*) 的氨氮排泄随饲料蛋白质水平增加而升高^[34-36]。本研究也出现类似结果,高蛋白质水平组养殖水体氨氮含量显著高于低蛋白质水平组,其可能原因是,饲料中非蛋白耗能不能满足代谢耗能需求或饲料蛋白质含量超过机体最大需要量时,蛋白质除了用于生长外,还有部分通过脱氨基作用为代谢提供能量,同时产生更多氨氮^[37]。可能的生化机制是,当饲料蛋白质含量增加,促使谷氨酰胺脱氢酶的活性增加,氨氮排泄率也随之增加。此外,研究结果表明,高蛋白比低蛋白的水体有较高的硝态氮含量,这与高蛋白组大西洋鲑排泄氨氮较高、氨氮经生物滤器硝化作用转化为硝态氮也较多有关,此与

高蛋白增加排泄氨氮结果相一致。

感谢山东东方海洋科技股份有限公司开发区分公司为本研究提供的支持!感谢“大西洋鲑循环清洁生产系统研发与产业化项目”的大力资助!

参考文献:

- [1] Debnath D, Pal A K, Sahu N P, *et al.* Digestive enzymes and metabolic profile of *Labeo rohita* fingerlings fed diets with different crude protein levels[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2007, 146(1):107-114.
- [2] Lin H, Arnold C R. The growth response of red fish (*Sciaenops ocellatus*) to prepared diets[R]. *Annual of World Mariculture Society and Meeting*, 1983.
- [3] Espea M, Sveier H, Høggøy I, *et al.* Nutrient absorption and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish protein concentrate [J]. *Aquaculture*, 1999, 174, (1-2):119-137.
- [4] Liu Y, Li Y, Gao T T. The effects of dietary protein and fat on growth and flesh quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L.) in the recirculating aquaculture system [J]. *Marine Sciences*, 2013, 37(6):47-59. [柳阳, 李勇, 高婷婷. 脂肪和蛋白质营养对封闭循环水养殖大西洋鲑生长和肌肉品质的效应. *海洋科学*, 2013, 37(6):47-59.]
- [5] Wang M Q, Li Y, Che X R. Effects of protein and satiation degrees on growth and immunity of *Cynoglossus semilaevis* Günther in industrial culture [J]. *Marine Fisheries Research*, 2009, 30(4):27-37. [王美琴, 李勇, 车向荣. 蛋白质与饱食度对工厂化养殖半滑舌鳎生长与免疫的影响. *渔业科学进展*, 2009, 30(4):27-37.]
- [6] Li Y, Sun G X, Liu Y, *et al.* Effects of temperature on feed intake, growth and digestive enzyme activity of turbot *Scophthatmus maximus* L. in high stocking density of closed recirculation aquaculture system [J]. *Marine Fisheries Research*, 2011, 32(6):17-24. [李勇, 孙国祥, 柳阳等. 温度对高密度循环海水养殖大菱鲆摄食、生长及消化酶的影响. *渔业科学进展*, 2011, 32(6):17-24.]
- [7] Gao T T, Li Y, Zhang J G, *et al.* The effect of protein on growth, digestion and immunity of Turbot (*Scophthatmus maximus* L.) in industrial culture [J]. *Marine Sciences*, 2012, 36(10):73-80. [高婷婷, 李勇, 张家国, 等. 蛋白质营养对工业化养殖大菱鲆生长、消化和免疫的效应. *海洋科学*, 2012, 36(10):73-80.]
- [8] Nilsson E P, Garfinkel A S, Schotz M C. Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism [J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1980, 49:667-693.
- [9] Zambonino I J L, Cahu C L. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development [J]. *The Journal of Nutrition*, 1999, 129(6):1195-1200.
- [10] Wang C G, Chen P J, Gu Y. Effect of different diets on digestive enzymes activity of *Pagrosomus major* juvenile [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 1998, 20(4):103-106. [王重刚, 陈品健, 顾勇. 不同饵料对真鲷稚鱼消化酶活性的影响. *海洋学报*, 1998, 20(4):103-106.]
- [11] Li J S, Li J L, Wu T T. Effects of feed composition and environmental temperature on activities of digestive enzyme of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, 11(6):585-588. [黎军胜, 李建林, 吴婷婷. 饲料成分与环境温度对奥尼罗非鱼消化酶活性的影响. *中国水产科学*, 2004, 11(6):585-588.]
- [12] Song W X, Shao Q J. Research progress of the Atlantic salmon nutritional needs [J]. *China Feed*, 2008(12):29-31. [宋文新, 邵庆均. 大西洋鲑营养需要的研究进展. *中国饲料*, 2008(12):29-31.]
- [13] Morais S, Bell J G, Robertson D A, *et al.* Protein/lipid ratios in extruded diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): effects on growth, feed utilization, muscle composition and liver histology [J]. *Aquaculture*, 2001, 203(1-2):101-119.
- [14] Buchet V, Zambonino I J L, Cahu C L. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum *Sciaenops ocellatus* larvae [J]. *Aquaculture*, 2000, 184(3-4):339-347.
- [15] Shao Q J, Su X F, Xu Z R, *et al.* Effect of dietary protein levels on growth performance and body composition of *Jade perch* *scortum barcoo* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(4):367-373. [邵庆均, 苏小凤, 许梓荣, 等. 饲料蛋白水平对宝石鲈生长和体组成影响研究. *水生生物学报*, 2004, 28(4):367-373.]
- [16] Li J Q, Lin J B, Zhu Q G, *et al.* Effects of different energy-protein ratio in the diet on the activities of digestive enzymes for flounder (*Paralichthys*

- olivaceus) [J]. The Editorial Board of Jimei University; Natural Science, 2005, 10(4): 296 - 299. [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. 集美大学学报: 自然科学版, 2005, 10(4): 296 - 299.]
- [17] Rungruangsak T K, Sundby A. Protease activities, plasma free amino acids and insulin at different ages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin isozymes [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2000, 22(4): 337 - 347.
- [18] Lin J B, Li J Q, hu Q G. Effects of different protein levels and different energy-protein ratios in the diet on growth of juvenile grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2008, 17(1): 88 - 92. [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. 上海水产大学学报, 2008, 17(1): 88 - 92.]
- [19] Villanueva J, Vanacore R, Goicoechea O, et al. Intestinal alkaline phosphatase of the fish cyprinus carpio: regional distribution and membrane association [J]. Journal of Experimental Zoology, 1997, 279(4): 347 - 355.
- [20] Cuvier P A, Kestemont S. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis* [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2001, 24(4): 279 - 285.
- [21] Lall S P. Nutrition and health of fish [M]. Avances en nutrición acuícola V. memorias del V simposium internacional de nutrición acuícola, 2000: 19 - 22.
- [22] Montero D, Kalinowski T, Obach A, et al. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health [J]. Aquaculture, 2003, 225(1-4): 353 - 370.
- [23] Cuvier-Péres A, Kestemont P. Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca luviatilis* [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2001, 24(4): 363 - 379.
- [24] Waagbø R, Sandnes K, Lie Ø, et al. Health aspects of dietary lipid sources and vitamin E in Atlantic salmon (*Salmo salar*): I. Erythrocyte total lipid fatty acid composition, haematology and humoral immune response [J]. Fiskeridirektoratets Skrifter Serie Ernaering, 1993, 46(6): 47 - 62.
- [25] Lin H, Romsos D R, Tack P I, et al. Influence of dietary lipid on lipogenic enzyme activities in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. Journal of Nutrition, 1977, 107(5): 846 - 854.
- [26] Wang A M, Han G M. Effects of dietary lipid levels on growth performance, nutrient digestibility and blood biochemical indices of gift tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(1): 80 - 87. [王爱民, 韩光明. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生产性能、营养物质消化及血液生化指标的影响. 水生生物学报, 2011, 35(1): 80 - 87.]
- [27] Bagnia M, Romanob N, Finoia M G, et al. Short and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2005, 25(11): 25 - 40.
- [28] Yang Y O, Zhou L. The effect of protein level in feed to *Pseudobagrus fulvidraco* Richardson growth, ATP enzyme activity and immunity [J]. Feed Landscape, 2006(14): 41 - 42, 45. [杨严鸥, 周黎. 饲料蛋白质水平对黄颡鱼生长、ATP 酶活性和免疫力的影响. 饲料广角, 2006, 14: 41 - 45.]
- [29] Kiron V, Watanabe T, Fukuda H, et al. Protein nutrition and defense mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1995, 111(3): 351 - 359.
- [30] Santinha P J M, Medale F, Corraze G, et al. Effects of the dietary protein: lipid ratio on growth and nutrient utilization in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. Aquaculture Nutrition, 1999, 5(3): 147 - 156.
- [31] Neila S, Sumagays C. Nitrogen and phosphorus digestibility and excretion of different-sized of nulkfish [J]. Aquaculture Research, 2003, 34(5): 407 - 418.
- [32] McGoogan B B, Gatlin D M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus* I. Effects of dietary protein and energy levels [J]. Aquaculture, 1999, 178(3-4): 333 - 348.
- [33] Guroy D, Sahin I, Guroy B, et al. Effect of dietary protein level on growth performance and nitrogen excretion of the Yellow tall cichlid, *Pseudotropheus acei* [J]. Israeli Journal of Aquaculture Bamigdeh, 2012, 64: 1 - 6.
- [34] Gallagher M L. Oxygen consumption ammonia excretion of the American eel *Anguilla rostrata* fed diets with varying protein energy ratios and protein levels [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1987, 18(2): 107 - 112.

- [35] Leung K M Y, Chu J C W, Wu R S S. Effects of body weight, temperature and ration size on ammonia excretion by the areolated grouper (*Epinephelus areolatus*) and mangrove snapper (*Lutjanus argentimaculatus*) [J]. Aquaculture, 1999, 170(3-4): 215-227.
- [36] Engin K, Cater C G. Ammonia and urea excretion rates of juvenile Australian short-finned eel (*Anguilla australis australis*) as influenced by dietary protein level [J]. Aquaculture, 2001, 194(1-2): 123-136.
- [37] Beamish F W H, Thomas E. Effects of dietary protein and lipid on nitrogen losses in rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. Aquaculture, 1984, 41(4): 359-371.

Digestive enzyme activities, non-specific immunities and water quality in recirculation aquaculture systems of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets varying in fat and protein levels

LIU Yang^{1,2}, LI Yong^{1,2,3*}, ZHOU Bangwei^{1,2,3}, GAO Tingting^{1,2},
WANG Xiaochen^{1,2,3}, WANG Shunkui⁴

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

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. National & Local Joint Engineering Laboratory for Ecological Mariculture, Qingdao 266071, China;

4. Shandong Oriental Ocean Sci-Tech Co., Ltd, Yantai 264003, China)

Abstract: The 3 × 2 two factors random animal experiment was conducted for 56 days to evaluate the effects of dietary fat and protein on digestive enzymes activities in alimentary canal and liver, nonspecific immunity of Atlantic salmon and the water environment reared at recirculation aquaculture systems (RAS). The trial fish (initial weight 650 ± 45.5 g) were randomly allocated into 6 triplicated treatments and fed six kinds of diets in a factorial design containing three fat levels (18%, 21%, 24%, labeled as F18, F21, F24) and two protein levels (38%, 48%, labeled as P38, P48). Results show that: (1) the stomachal, intestinal and hepatic lipase activities in medium fat level were significantly higher than that in low fat level by 11.52% ($P > 0.05$), 14.63% ($P < 0.05$), 4.31% ($P > 0.05$) respectively; trypsin showed much higher activity than pepsin in gut and liver, and activities of trypsin in gut and liver were enhanced at high protein level by 8.23% ($P > 0.05$) and 8.39% ($P < 0.05$); (2) diet low fat and high protein levels could be good to promote the intestinal canal AKP activity of Atlantic salmon, intestinal AKP activity was significantly improved at low fat level by 18.61%, 31.70% ($P < 0.05$) than that at high and medium fat levels respectively, and was also enhanced by high protein level by 13.69% ($P < 0.01$). (3) Atlantic salmon had a highest serum SOD activity at medium fat level and a lowest MDA activity at high fat level; high protein level was beneficial to increase the serum LZM activity and C3 concentration by 9.49% ($P > 0.05$) and 5.93% ($P < 0.05$). (4) diet low protein level can significantly reduce the content of ammonia nitrogen and nitrate in water by 61.70% ($P < 0.05$) and 28.36% ($P < 0.01$), diet high fat level could reduce water ammonia nitrogen content by 10.00% ($P > 0.05$) and 8.20% ($P > 0.05$) than medium and high level. This research revealed that appropriately increasing diet fat level could benefit the lipase activity, increasing diet protein level could benefit immunity, and the combination of low protein and high fat could effectively reduce the ammonia nitrogen excretion of Atlantic salmon.

Key words: *Salmon salar*; dietary fat and protein; digestive enzyme; non-specific immunities; water quality; recirculation aquaculture system

Corresponding author: LI Yong. E-mail: liyong@qdio.ac.cn