

配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性的影响

施永海*, 张根玉, 张海明, 刘永士, 严银龙,

谢永德, 陆根海, 徐嘉波, 刘建忠

(上海市水产研究所,上海市水产技术推广站,上海 200433)

摘要: 为了解配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长、存活和几种酶活性的影响,对用配合饲料和活饵料喂养 178 d 的刀鲚幼鱼的生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶以及抗氧化酶活性进行分析与比较。结果显示,配合饲料组的最终体长、体质量、成活率、鱼体肥满度和肝指数(分别为 125.17 mm、6.27 g、65.73%、0.31 g/cm³ 和 1.4%)显著低于活饵料组(分别为 150.66 mm、12.39 g、85.59%、0.36 g/cm³ 和 1.9%),两组鱼的肠长和体长比无显著差异(分别为 25.3% 和 23.6%);两组鱼的肝脏中均未检测出蛋白酶,配合饲料组的幽门盲囊中碱性蛋白酶的活性(43.49 U/mg prot)显著低于活饵料组(86.37 U/mg prot),但两处理组鱼胃中酸性蛋白酶和肠道中碱性蛋白酶的活性均没有显著差异;配合饲料组肠道和幽门盲囊中的淀粉酶活性(分别为 196.63 和 575.93 U/g prot)显著低于活饵料组(分别为 928.91 和 1 755.90 U/g prot),但两处理组鱼肝脏和胃中的淀粉酶活性没有显著差异;两处理组鱼的肝脏和胃中均未检测出脂肪酶,配合饲料组的肠道脂肪酶活性(23.55 U/g prot)显著高于活饵料组(14.39 U/g prot),但两处理组幽门盲囊中脂肪酶活性(分别为 17.90 和 13.23 U/g prot)没有显著差异;配合饲料组的肝脏碱性磷酸酶(AKP)活性(103.44 U/g prot)显著高于活饵料组(58.20 U/g prot),而配合饲料组的肝脏草苜转氨酶(AST/GOT)活性(20.38 U/g prot)显著低于活饵料组(32.51 U/g prot);肝脏中其余被检测的 5 种酶活性(ACP、ALT/GPT、SOD、GSH-PX 和 CAT)和血清中被检测的代谢酶(ALT/GPT 和 AST/GOT)及抗氧化酶(SOD 和 GSH-PX)活性在两处理组之间均没有显著差异。研究表明,刀鲚能摄食配合饲料,配合饲料组和活饵料组的大多数消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性,没有显著性差异,但配合饲料组的刀鲚生长和成活率远低于活饵料组,建议今后研发和改进刀鲚配合饲料,逐步替代活饵料。

关键词: 刀鲚; 饵料; 生长; 存活; 酶活

中图分类号: S 963

文献标志码: A

刀鲚(*Coilia nasus*),又名长颌鲚,俗称刀鱼、毛刀鱼,属于鲱形目(Clupeiformes),鲚科(Engraulidae),鲚属(*Coilia*),为江海洄游性鱼类,主要分布于我国黄海、渤海和东海一带,凡通

海的江河均有分布,以长江下游产量最高。长江刀鲚以肉质细嫩、鲜肥、时令性强而著称,并与长江鲥鱼、河豚并称“长江三鲜”,史上长江刀鲚资源极其丰富^[1-2]。近几年来,由于过度捕捞及生

收稿日期:2014-05-18 修回日期:2014-10-26

资助项目:科技部与上海市共同推进重大任务科研专项(12DZ1909302);上海市科学技术委员会重点科技攻关项目(11391901300);上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科种字(2014)第4号];上海长江口主要经济水生动物人工繁育工程技术研究中心项目(13DZ2251800)

通信作者:施永海,E-mail:yonghais@163.com

态环境恶化等诸多因素的影响,长江刀鲚资源急剧衰退,产量呈逐年下降趋势、且个体小型化严重,刀鲚在长江中已不能形成优势种群^[1],同时长江刀鲚商品鱼的价格也在不断上升。因此,刀鲚人工繁殖技术的突破和推广,进而推进该鱼的产业化养殖生产,可以促进渔业产业结构的调整,促使渔业增效、渔民增收^[1]。

目前,有关刀鲚的繁殖技术研究还处于初级阶段^[3-6],近几年,国内许多科研院所纷纷立项开展相关技术的研究,主要集中于诸如灌江纳苗、长江沿岸拉网捕苗进行养殖实验等,偶有刀鲚池塘繁殖成功的个别报道^[1]。2011年,上海市水产研究所奉贤基地采用人工养殖刀鲚亲本进行室内人工繁育,且取得成功。目前,刀鲚的养殖方式主要为粗放型的池塘养殖,主要依靠投喂活的虾类幼体、仔虾、幼虾等^[2,5-6],但其来源非常不稳定,这限制了刀鲚的规模化养殖。因此,采用配合饲料逐步替代活饵料进行人工养殖是刀鲚产业发展的必经之路。那么刀鲚能否摄食配合饲料呢?刀鲚对配合饲料的消化能力又怎样呢?配合饲料对刀鲚的生长、成活率以及非特异性免疫能力是否有影响呢?这一系列的问题有必要弄清楚。本实验采用养殖实验和生化分析手段,对用配合饲料和活饵料喂养的刀鲚幼鱼的生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶以及抗氧化酶活性情况进行分析与比较,旨在初步了解配合饲料对刀鲚的生长性能和内在指标的影响,为人工养殖刀鲚提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用刀鲚来自上海市水产研究所奉贤苗种技术中心,为人工养殖亲本繁育的子一代鱼苗经过1年养殖后的幼鱼;实验用活饵料是半咸水菊黄东方鲀养殖池塘中采用筛绢网(60目)捞取的糠虾的仔、幼虾以及幼体等混合活饵料(水分含量为 $83.60\% \pm 0.03\%$;干重组份为粗蛋白 $67.16\% \pm 0.65\%$,粗脂肪 $7.13\% \pm 0.37\%$,粗灰分 $15.81\% \pm 0.13\%$, $n=3$);配合饲料为常兴牌幼鳖粉状配合饲料(水分含量为 $7.13 \pm 0.07\%$;干重组份为粗蛋白 $48.82\% \pm 0.28\%$,粗脂肪 $5.74\% \pm 0.27\%$,粗灰分 $13.93\% \pm 0.05\%$, $n=3$)经过兑水搅拌后手工做成缓沉性软颗粒饲料。实验用水是当地自然海水(盐度为8~10)以及当地河水(盐度为2~3),使用前

经过纳水河、池塘、蓄水池沉淀、筛绢网过滤(120目)。实验用容器是体积为 20 m^3 水泥养殖池,池深1.2~1.5 m,水深100~110 cm。

1.2 实验设计与日常管理

养殖实验设2个组,即配合饲料组投喂配合饲料,活饵料组投喂活体糠虾的仔、幼虾以及幼体,每组设有3个重复,每个重复为1个 20 m^3 水泥池;实验用鱼先暂养于 40 m^3 的大水泥池内,实验开始前停食24 h,然后拉网将体长80.0~100.0 mm、体质量2.0~3.0 g的规格均匀的1 800尾幼鱼随机分入各养殖池(300尾/池),幼鱼的初始养殖密度为 $15\text{ 尾}/\text{m}^3$,到实验中期进行分池,把幼鱼密度降低,根据幼鱼的存活数,分池后幼鱼实际密度为5~10尾/ m^3 。实验期间,每天投饵2次,配合饲料以表观饱食为准,活饵料以下次投喂前稍有剩余为准;每天吸底1次,每1~2周换水1次,换水 $1/2 \sim 2/3$,每1~1.5月倒池1次。实验期间,自然水温($13.0 \sim 29.5\text{ }^\circ\text{C}$),连续充气;水质指标为pH $8.15 \sim 8.45$, $\text{DO} \geq 6.5\text{ mg/L}$, $\text{TAN} \leq 0.30\text{ mg/L}$, $\text{NO}_2\text{-N} \leq 0.10\text{ mg/L}$ 。养殖实验从2012年6月10日开始至12月5日结束,历时178 d。

1.3 取样与样品制备方法

养殖实验结束后,每个重复取10尾鱼组成1个样本,用清水将实验鱼洗净,擦干体表水分,用1 mL注射器从鱼体尾静脉抽取血液, $0 \sim 4\text{ }^\circ\text{C}$ 静置24 h,然后低温离心($0 \sim 4\text{ }^\circ\text{C}$, $3\ 500\text{ r/min}$,10 min),取上清液,置于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。

解剖各样品的鱼体,取出肝脏、胃、肠道、幽门盲囊,用生理盐水冲洗并用滤纸吸干,整个操作在冰盘上进行,样品制备后置于 $-80\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存待测。酶测定前,先将冷冻样品放到 $0 \sim 4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱解冻,放入预冷的离心管中,加入9倍体积生理盐水,冰浴匀浆,低温离心($0 \sim 4\text{ }^\circ\text{C}$, $3\ 500\text{ r/min}$,10 min),取上清液即刻测定各种酶活性。

1.4 酶测定方法和定义

蛋白酶测定方法参照文献[7]的方法略做改进:酸性蛋白酶(Acid proteinase)和碱性蛋白酶(Alkaline protease)均以1%干酪素溶液作为底物。0.1 mL酶液与2 mL底物溶液混合后,于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中准确反应30 min,加入1 mL 30%三氯醋酸终止反应。反应液放入离心机中离心10 min($3\ 500\text{ r/min}$)。取1.0 mL上清液,加入5 mL Na_2CO_3 (0.4 mol/L)和0.5 mL福林酚试剂,混匀后在

37 ℃水浴中孵化 15 min,冷却后在 660 nm 波长下进行比色。以酪氨酸溶液作为标准。蛋白酶活性定义为在 37 ℃条件下,每毫克组织蛋白每分钟水解干酪素生成 1 μg 酪氨酸所需的酶量(U/mg prot)。

淀粉酶(Amylase AMS)活性测定采用碘-淀粉比色法,其活性定义:组织中每克蛋白在 37 ℃、pH 7.0 条件下与底物作用 30 min,水解 10 mg 淀粉定义为 1 个淀粉酶活力单位(U/g prot)。

脂肪酶(Lipase LPS)活性测定采用南京建成生物工程研究所的脂肪酶(LPS)测定试剂盒(A054)进行测定,其活性定义:在 37 ℃、pH 7.0 条件下,每克组织蛋白与底物反应 1 min,每消耗 1 μmol 底物为一个酶活力单位(U/g prot)。

碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase AKP)和酸性磷酸酶(Acid phosphatase ACP)活性测定采用磷酸苯二钠法进行测定。碱性磷酸酶(AKP)活性定义为每克组织蛋白在 37 ℃与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位(U/g prot)。酸性磷酸酶(ACP)活性定义为每克组织蛋白在 37 ℃与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位(U/g prot)。

谷丙转氨酶(Glutamic-pyruvic transaminase ALT/GPT)和谷草转氨酶(Glutamic oxalacetic transaminase AST/GOT)活性均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒(赖氏法)测定。每克组织蛋白或者每升血清在 37 ℃与 pH 7.4 的基质液作用 30 min,生成 1 μmol 丙酮酸为酶活力单位(U/g prot 或 U/L)。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化法(羟胺法)进行测定。SOD 活性定义为在 37 ℃条件下,每毫克组织蛋白或每毫升血清与 1 mL 反应液作用 40 min,SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U/mg prot 或 U/mL)。

谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase GSH-PX)活性的测定采用 5-二硫代硝基苯甲酸(DTNB)法,其活性在肝脏中的定义为每毫克蛋白质,每 1 分钟扣除非酶反应的作用,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol/L 为酶活力单位(U/mg prot);其活性在血清中的定义为每 1 毫升血清在 37 ℃反应 5 min,扣除非酶促反应作用,使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol/L 为酶活力单位(U/mL)。

过氧化氢酶(Catalase CAT)活性的测定采用钼酸铵法,其活性定义:在 37 ℃条件下,每毫克组织蛋白中过氧化氢酶(CAT)每秒钟分解吸光度为 0.50~0.55 的底物中的过氧化氢相对量为一个过氧化氢酶的活力单位(U/mg prot)。

组织蛋白含量的测定全部采用考马司亮兰法。淀粉酶(AMS)、脂肪酶(LPS)及非特异性免疫酶活力测定所用试剂均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,并严格按试剂盒的具体要求操作。

1.5 数据处理和统计

所有数据用 mean ± SD 表示,用 SPSS 13.0 处理,用独立样本 *t*-检验(Independent samples *t* test)进行两个处理组之间的比较^[8],以 $P < 0.05$ 为差异显著。

肥满度(condition factor, CF, g/cm³) = 体质量/(体长)³;

肝指数(hepato somatic index, HSI, %) = 100 × 肝脏重/体质量;

肠长体长比(the ratio of intestine length to body length, RIB, %) = 100 × 肠道长/体长

2 结果与分析

2.1 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长和存活的影响

刀鲚幼鱼经过 178 d 两种不同饵料的饲养,其生长和存活有显著不同:活饵料组的最终体长和体质量均显著高于配合饲料组($P < 0.05$)(表 1),特别是体质量的表现上,活饵料组是配合饲料组的 1.98 倍;活饵料组的成活率(85.59%)也显著高于配合饲料组(65.73%)($P < 0.05$)。另外,用活饵料喂养的鱼体肥满度和肝指数均显著高于配合饲料($P < 0.05$),而两处理组的肠长和体长比没有显著差异($P > 0.05$)。

2.2 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼消化器官中消化酶活性的影响

两处理组的刀鲚幼鱼肝脏中均未检测出蛋白酶,配合饲料组的幽门盲囊中碱性蛋白酶的活性显著低于活饵料组($P < 0.05$),但两处理组胃中的酸性蛋白酶和肠道中的碱性蛋白酶的活性没有显著差异($P > 0.05$)(表 2)。配合饲料组刀鲚幼鱼肠道和幽门盲囊中的淀粉酶活性均显著低于活饵料组($P < 0.05$),但两处理组肝脏和胃中的淀

粉酶活性没有显著差异($P > 0.05$) (表3)。两处理组的肝脏和胃中均未检测出脂肪酶,配合饲料组的肠道脂肪酶活性显著高于活饵料组($P < 0.05$),但两处理组的幽门盲囊中脂肪酶活性没有显著差异($P > 0.05$) (表4)。

表1 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长、成活率、肥满度、肝指数以及肠长体长比的影响

Tab.1 The effect of compound feed and live feed on the growth, survival, CF, HSI, and RIB of young fish *C. nasus* ($n = 3$)

指标 index	配合饲料组 compound feed group	活饵料组 live feed group
最终体长/mm final body length	125.17 ± 6.74 ^a	150.66 ± 5.70 ^b
最终体质量/g final body weight	6.27 ± 1.08 ^a	12.39 ± 1.31 ^b
成活率/% survival rate	65.73 ± 0.74 ^a	85.59 ± 7.73 ^b
肥满度/(g/cm ³) CF	0.31 ± 0.01 ^a	0.36 ± 0.01 ^b
肝指数/% HSI	1.4 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.2 ^b
肠长/体长/% RIB	25.3 ± 0.9 ^a	23.6 ± 0.8 ^a

注:同行中具不同小写字母的值表示差异显著($P < 0.05$),下同
Notes: Mean values within a line followed by different letters were significantly different ($P < 0.05$), the same as the following

表2 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼消化器官中蛋白酶活性的影响($n = 3, U/mg prot$)

Tab.2 The effect of compound feed and live feed on protease activity in digestive organs of young fish *C. nasus* ($n = 3, U/mg prot$)

器官 organ	配合饲料组 compound feed group	活饵料组 live feed group
肝脏 liver	ND	ND
胃 stomach	32.72 ± 1.30 ^a	31.13 ± 8.62 ^a
肠道 intestine	40.58 ± 10.14 ^a	29.12 ± 12.53 ^a
幽门盲囊 pyloric caecum	43.49 ± 16.56 ^a	86.37 ± 13.53 ^b

注:ND表示“未检出”,下同
Notes: ND is “not check out”, the same as the following

表3 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼消化器官中淀粉酶活性的影响($n = 3, U/g prot$)

Tab.3 The effect of compound feed and live feed on amylase activity in digestive organs of young fish *C. nasus* ($n = 3, U/g prot$)

器官 organ	配合饲料组 compound feed group	活饵料组 live feed group
肝脏 liver	32.31 ± 2.34 ^a	32.25 ± 2.94 ^a
胃 stomach	134.93 ± 28.37 ^a	221.08 ± 70.96 ^a
肠道 intestine	196.63 ± 80.74 ^a	928.91 ± 448.36 ^b
幽门盲囊 pyloric caecum	575.93 ± 129.94 ^a	1755.90 ± 541.61 ^b

表4 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼消化器官中脂肪酶活性的影响($n = 3, U/g prot$)

Tab.4 The effect of compound feed and live feed on lipase activity in digestive organs of young fish *C. nasus* ($n = 3, U/g prot$)

器官 organ	配合饲料组 compound feed group	活饵料组 live feed group
肝脏 liver	ND	ND
胃 stomach	ND	ND
肠道 intestine	23.55 ± 2.83 ^a	14.39 ± 0.56 ^b
幽门盲囊 pyloric caecum	17.90 ± 7.04 ^a	13.23 ± 2.47 ^a

2.3 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性的影响

经过178 d不同饵料的饲养,刀鲚幼鱼肝脏非特异性免疫酶(ACP和AKP)、代谢酶(ALT/GPT和AST/GOT)以及抗氧化酶(SOD、GSH-PX和CAT)的活性表现有所不同:配合饲料组的碱性磷酸酶(AKP)活性显著高于活饵料组($P < 0.05$) (表5),是活饵料组的1.78倍,而配合饲料组的谷草转氨酶(AST/GOT)活性显著低于活饵料组($P < 0.05$);其余被检测的5种酶(ACP、ALT/GPT、SOD、GSH-PX和CAT)在两处理组之间均没有显著差异($P > 0.05$)。在刀鲚幼鱼血清的代谢酶(ALT/GPT和AST/GOT)及抗氧化酶(SOD和GSH-PX)活性表现上来看,两处理组之间均没有显著差异($P > 0.05$) (表6)。

表5 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼肝脏非特异性免疫酶、代谢酶以及抗氧化酶活性的影响($n = 3$)

Tab.5 The effect of compound feed and live feed on the activities of nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme in liver of young fish *C. nasus* ($n = 3$)

指标 indicator	配合饲料组 compound feed group	活饵料组 live feed group
碱性磷酸酶/(U/g prot) AKP	103.44 ± 14.68 ^a	58.20 ± 17.00 ^b
酸性磷酸酶/(U/g prot) ACP	91.48 ± 5.77 ^a	83.25 ± 11.20 ^a
谷丙转氨酶/(U/g prot) ALT/GPT	2.21 ± 0.67 ^a	1.37 ± 0.19 ^a
谷草转氨酶/(U/g prot) AST/GOT	20.38 ± 5.78 ^a	32.51 ± 2.25 ^b
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	9.00 ± 1.45 ^a	8.19 ± 0.59 ^a
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg prot) GSH-PX	83.84 ± 11.45 ^a	84.91 ± 13.11 ^a
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	0.53 ± 0.11 ^a	0.45 ± 0.08 ^a

表 6 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼血清代谢酶和抗氧化酶活性的影响 ($n=3$)

Tab.6 The effect of compound feed and live feed on the activities of metabolic enzyme and antioxidant enzyme in serum of young fish *C. nasus* ($n=3$)

指标 indicator	配合饲料组 compound feed group	活饵料组 live feed group
谷丙转氨酶/(U/L) ALT/GPT	37.91 ± 13.48 ^a	42.45 ± 20.95 ^a
谷草转氨酶/(U/L) AST/GOT	41.29 ± 19.74 ^a	48.88 ± 43.92 ^a
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	52.92 ± 10.36 ^a	50.26 ± 9.94 ^a
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-PX	286.21 ± 79.52 ^a	203.45 ± 20.90 ^a

3 讨论

3.1 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长和存活的影响

投喂不同饵料会对许多种鱼类的生长和存活造成明显的影响,特别是在活饵料和配合饲料之间,鱼类在活饵料喂养下的生长或者存活往往会显著高于配合饲料喂养的,例如:瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*)^[9]、点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*)^[10]、黄鳍 (*Monopterus albus*)^[11] 和西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*)^[12]。本研究结果也呈现出类似的现象,刀鲚幼鱼经过 178 d 的饲养,活饵料喂养的生长和存活都显著高于配合饲料喂养的,特别在体质量的表现上,活饵料组是配合饲料组的 1.98 倍;同时,活饵料喂养的刀鲚幼鱼的肥满度以及肝指数也均显著高于配合饲料的,这可能原因是活饵料的粗蛋白和粗脂肪含量(干重百分含量分别为 67.16% 和 7.13%)相对较高(特别是动物蛋白),同时活饵料对刀鲚幼鱼来说适口性更好,活动的饵料更有诱食效果;另外,刀鲚是一种溯河繁育、降海生长的洄游性鱼类,其营养需要更接近海水鱼类。而目前,在海水性鱼类饲料生产过程中需要添加 EPA 和 DHA 中的一种或两者均添加,否则鱼的生长速度、饲料转化率、生理功能等会受到不同程度的影响^[13]。然而,本研究用的配合饲料是淡水生活习性的幼甲鱼饲料,不仅粗脂肪含量较少(干重 5.74%),而且其脂肪酸组成及含量(特别是 $\Sigma n3PUFA$)可能不适合海水生长习性的刀鲚的营养需求;同时,该饲料虽然也有较高的粗蛋白含量(干重 48.82%),但粗蛋白中不仅有动物蛋白而且还有大量的植物蛋白。因此,建议改进配

合饲料配方,增加动物蛋白和油脂的添加量,优化脂肪酸组成。

3.2 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼消化器官中消化酶活性的影响

刀鲚消化道消化酶分布的特点,一般认为鱼类胃中的蛋白酶主要是酸性蛋白酶,其他消化器官分泌的蛋白酶为碱性蛋白酶,活性一般以幽门盲囊中最高,肠道次之,肝脏最低^[14]。本研究也呈现这样的结果:酸性蛋白酶主要存在于刀鲚胃中,碱性蛋白酶在幽门盲囊中最高,肠道次之,肝脏中没有检测到,这与大多数鱼类的情况相似,如:红龙 (*Scleropages formosus*)^[15]、长鳍篮子鱼 (*Siganus canaliculatus*)^[16]、点篮子鱼 (*Siganus guttatus*)^[14] 等。刀鲚淀粉酶活性以幽门盲囊最高,肠道次之,胃再次之,肝脏最低,可能原因是淀粉酶一般由肝脏分泌酶原,在肠道中激活,才有酶活力^[14],这现象在篮子鱼上也有体现^[14,16]。鱼类肝脏是脂肪酶生成的主要器官,但刀鲚脂肪酶在肝脏和胃中都没有检测到,脂肪酶主要存在于肠道和幽门盲囊,可能原因是刀鲚肝脏是脂肪酶酶原生成的器官,但其活性需要肠激活酶激活才能产生活力^[14]。

鱼类摄食会引起消化酶活性的变化,食物能刺激消化酶的分泌^[17];自然生境条件下,鱼类的不同食性会有不同的消化酶分泌规律,而在人工养殖条件下,鱼类消化酶的分泌在一定程度上会受投喂的饵料而改变,所以,鱼类消化酶的活性与其摄食的饵料中营养成分的组成及含量有密切的关系^[10]。本研究中,刀鲚摄取不同饵料后,不同组织中有小部分的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性出现了显著变化,但大部分没有显著差异,原因是虽然鱼类消化酶的活性与其摄食的饵料营养组成、性质等有关,不过刀鲚是典型的肉食性鱼类,其本身的生理特点决定其消化酶只能在一定范围内对食物的诱导做出相应的变化,但不能无限制地改变,类似的现象也出现于黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 中^[18]。

鱼类蛋白酶活性与饵料中蛋白质含量密切相关^[10,17],并进而影响鱼类摄食和生长^[9]。本研究中,配合饲料组的幽门盲囊中碱性蛋白酶的活性比活饵料组的显著低,这是由于活饵料中动物蛋白质含量相对较高,刀鲚摄食了高蛋白质含量的活饵料后,高蛋白质饵料刺激了其

碱性蛋白酶的分泌,这点得到了证实,如:黄鳝^[17];同时活饵料的某些微量活性物质可能会促进鱼类蛋白酶的分泌,导致活饵料组的蛋白酶活性较高^[19]。鱼类蛋白酶活性的增加与其生长正相关^[17],这点与前面所述刀鲚摄食活饵料生长较快的结果相一致。

一般来说,鱼类淀粉酶活性与其所摄食饵料的淀粉含量呈现正相关^[9-10,19],但是,在本研究中,刀鲚幼鱼摄食含碳水化合物较高的配合饲料组肠道和幽门盲囊中的淀粉酶活性显著低于摄食含碳水化合物较低的活饵料组,这可能是活饵料糠虾体内的淀粉酶直接参与食物的消化^[10],导致摄食活饵料的刀鲚组织中淀粉酶活性较高。

鱼类脂肪酶活性和饵料中脂肪含量的关系较为复杂,有些鱼类脂肪酶活性与饵料没有明显的相关性,如:点带石斑鱼^[10]和莫桑比克罗非鱼(*Tilapia mossambica*)^[20];有些鱼类脂肪酶的活性与饵料中的脂肪呈现正相关性,如:黄鳝^[17]和瓦氏黄颡鱼^[9];而有些鱼类脂肪酶的活性与饵料中的脂肪呈现负相关性,如:真鲷(*Pagrosomus major*)^[21]。本研究,配合饲料组刀鲚幼鱼的肠道脂肪酶活性比活饵料组的显著高,其肠道中脂肪酶活性与饵料中脂肪含量呈现负相关,但两处理组幽门盲囊中脂肪酶活性没有显著差异。

另外,由于本实验结束时已是12月份,此时室内平均水温较低,刀鲚幼鱼的摄食量明显减少,从而造成幼鱼消化酶活力数据总体相对偏低。

3.3 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼非特异性免疫酶、代谢酶以及抗氧化酶活性的影响

碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)都是生物体内重要的两种代谢调控酶,它们直接参与磷酸基团的转移^[22-23],在免疫反应中发挥重要的作用^[24],是生物体内巨噬细胞溶酶体的标志酶^[25],也是非特异免疫系统中重要的水解酶^[23]:能够杀死外来入侵的病原体,并能通过修改病原表面分子来加速吞噬细胞的吞噬以及异物的降解速度^[25],所以 AKP 和 ACP 又是 2 种重要的非特异性免疫酶;同时,碱性磷酸酶与水产动物机体的生长密切相关,在鱼体营养的吸收、利用中发挥着重要的作用^[26-27]。饲料中添加壳聚糖、甘露寡糖等可以提高水产动物的 AKP 和 ACP 的活性^[28-29],同时鱼类(罗非鱼 *Oreochromis*

niloticus, 日本鳗鲡 *Anguilla japonica*)对环境应激的情况下(如亚硝酸盐、盐度等^[25,27]), AKP 和 ACP 的活性会降低。本研究中, ACP 活性在两组之间没有显著差异,配合饲料组的 AKP 活性比活饵料组的高,说明在 AKP 和 ACP 的活性上看,本实验中长江刀鲚的投喂配合饲料能达到或部分超过投喂活饵料的水平。这与王天神等^[30]研究的 3 种商品饲料对克氏原螯虾 ACP 活性影响不显著的结果相似。

谷丙转氨酶(ALT/GPT)和谷草转氨酶(AST/GOT)是动物体内氨基酸代谢过程中的催化剂^[31],是蛋白质代谢过程中的 2 种关键的代谢酶^[32],其活性反映着机体对蛋白质合成和分解状况;AST/GOT 活性升高说明机体的蛋白质合成代谢升高,分解代谢降低,这有利于氮在机体中的沉积,而 ALT/GPT 活性升高,则说明机体加快尿素生成,以减少氨基酸代谢废物对机体的毒害^[31]。这 2 种转氨酶主要存在于肝组织细胞中,在正常代谢过程中,动物血清中转氨酶活性较低且相对稳定,当肝脏受损时,转氨酶就会释放到血液里,使血清转氨酶升高,所以,转氨酶活性的高低是反映肝细胞受损伤的主要敏感指标^[32]。本研究中,血清的 ALT/GPT 和 AST/GOT 的活性在配合饲料组和活饵料组之间没有差异,而且 2 种转氨酶活性在两组中均较低,说明这两种饵料喂养下的刀鲚肝脏功能良好。配合饲料组肝脏中的 AST/GOT 显著低于活饵料组,说明了配合饲料组的刀鲚蛋白质合成代谢低,分解代谢高,不利于机体的生长,这与前面所述的配合饲料组刀鲚生长慢的结果相一致。

SOD、CAT 和 GSH-PX 是生物体抗氧化防御系统的关键酶^[33]。当外源病原入侵机体时,呼吸爆发和其他免疫过程会产生大量的活性氧,这些活性氧在细胞中累积,在杀灭病原的同时对细胞也造成严重的伤害,SOD、CAT 和 GSH-PX 可以缓解活性氧自由基对机体细胞的损伤:SOD 能够清除机体内的 $\cdot O_2^-$, 让其发生歧化,生成过氧化氢(H_2O_2)和氧气(O_2),而 CAT 和 GSH-PX 两种酶可以将 SOD 的作用产物 H_2O_2 还原成水^[22-23]。本研究中,配合饲料组和活饵料组刀鲚幼鱼肝脏和血清中的 3 种抗氧化酶活性均没有显著差异,说明刀鲚幼鱼摄食配合饲料,在抗氧化酶体系上没有显著影响。

4 结论

刀鲚能摄食配合饲料,配合饲料组和活饵料组的大多数消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性,没有显著性差异,但配合饲料组的刀鲚生长和成活率远低于活饵料组,建议今后研发和改进刀鲚配合饲料,逐步替代活饵料。

实验过程中得到上海海洋大学学生税春等同学的大力协助,在此一并致谢!

参考文献:

- [1] Wei G L, Xu G C, Gu R B, *et al.* Research progress of biology and artificial culture of *Coilia nasus* [J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2012, 9 (7): 31 - 35, 41. [魏广莲, 徐钢春, 顾若波, 等. 刀鲚的生物学及人工养殖研究进展. 长江大学学报: 自然科学版, 2012, 9 (7): 31 - 35, 41.]
- [2] Tang X, Xu G C, Xu P, *et al.* A comparison of muscle nutrient composition between wild and cultured *Coilia nasus* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23 (3): 514 - 520. [唐雪, 徐钢春, 徐跑, 等. 野生与养殖刀鲚肌肉营养成分的比较分析 [J]. 动物营养学报, 2011, 23 (3): 514 - 520.]
- [3] Zhu D L. Natural propagation and embryonic development of *Coilia nasus* (Engraulidae) in Yangtze River [J]. Fisheries Science & Technology Information, 1992 (2): 49 - 51. [朱栋良. 长江刀鱼的天然繁殖与胚胎发育观察. 水产科技情报, 1992 (2): 49 - 51.]
- [4] Li Y X, Xie S G, Li Z J, *et al.* Gonad development of anadromous fish *Coilia nasus* (Engraulidae) in lower reach of Yangtze River China [J]. Fisheries Science, 2007, 73 (6): 1224 - 1230.
- [5] Wen H B, Zhang C X, Xu G C, *et al.* Development of gonads in *Coilia nasus* from the Yangtze River and Artificial Pond [J]. Chinese Journal of Zoology, 2009, 44 (4): 111 - 117. [闻海波, 张呈祥, 徐钢春, 等. 长江刀鲚与池塘人工养殖刀鲚性腺发育的初步观察. 动物学杂志, 2009, 44 (4): 111 - 117.]
- [6] Xu G C, Xu P, Gu R B, *et al.* Feeding habits and growth characteristics of pond-cultured *Coilia nasus* fingerlings [J]. Chinese Journal of Ecology, 2011, 30 (9): 2014 - 2018. [徐钢春, 徐跑, 顾若波, 等. 池养刀鲚 (*Coilia nasus*) 鱼种的摄食与生长. 生态学杂志, 2011, 30 (9): 2014 - 2018.]
- [7] Ji H, Sun H T, Tian J J, *et al.* Digestive enzyme activity during early larval development of the paddlefish *Polyodon spathula* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36 (3): 457 - 465. [吉红, 孙海涛, 田晶晶, 等. 匙吻鲟仔稚鱼消化酶发育的研究. 水生生物学报, 2012, 36 (3): 457 - 465.]
- [8] Shi Y H, Zhang G Y, Liu Y S, *et al.* Comparison of muscle nutrient composition between wild and cultured sword prawn (*Parapenaeopsis hardwickii*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37 (5): 768 - 776. [施永海, 张根玉, 刘永土, 等. 野生及养殖哈氏仿对虾肌肉营养成分的分析与比较. 水产学报, 2013, 37 (5): 768 - 776.]
- [9] Li Q, Diao X M. Growth and digestive enzyme activities of *Pelteobagrus vachelli* juvenile fed on different diets [J]. Journal of Hydroecology, 2009, 2 (1): 98 - 102. [李芹, 刁晓明. 不同饵料对瓦氏黄颡鱼稚鱼生长和消化酶活性的影响. 水生态学杂志, 2009, 2 (1): 98 - 102.]
- [10] Lu S W, Liu Z P, Yu Y. Effect of different diets on growth, nutritive composition and digestive enzyme activities of juvenile *Epinephelus malabaricus* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19 (5): 648 - 653. [逮尚尉, 刘兆普, 余燕. 不同饵料对点带石斑鱼幼鱼生长、营养成分及组织消化酶活性的影响. 上海海洋大学学报, 2010, 19 (5): 648 - 653.]
- [11] Ke Y Q, Hu W B, Chen H L, *et al.* Effects of different feeds on growth and nutrient composition in muscle of rice field eel, *Monopterus albus* [J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2010, 7 (1): 25 - 26, 31. [柯玉清, 胡武波, 陈会兰, 等. 不同饲料对黄鳝生长和肌肉营养组成的影响. 长江大学学报: 自然科学版, 2010, 7 (1): 25 - 26, 31.]
- [12] Zhang T, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of initial feeding on the growth, survival, and body biochemical composition of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20 (2): 358 - 362. [张涛, 庄平, 章龙珍, 等. 不同开口饵料对西伯利亚鲟仔鱼生长、存活和体成分的影响. 应用生态学报, 2009, 20 (2): 358 - 362.]
- [13] Zhuang P, Song C, Zhang L Z, *et al.* Effects of changing to different diets on nutritive components in the muscle of wild juvenile *Acipenser sinensis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33 (5): 998 - 1004. [庄平, 宋超, 章龙珍, 等. 转食不同饵料对野

- 生中华鲟幼鱼肌肉营养成分的影响. 水生生物学报, 2009, 33(5): 998 - 1004.]
- [14] Luo J G, Zhang L Z, Zhuang P, *et al.* Effects of salinity on digestive enzyme activity in *Siganus guttatus* [J]. Marine Fisheries, 2011, 33(1): 33 - 38. [罗集光, 章龙珍, 庄平, 等. 盐度对点篮子鱼消化酶活性的影响. 海洋渔业, 2011, 33(1): 33 - 38.]
- [15] Natalia Y, Hashim R, Ali A, *et al.* Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae) [J]. Aquaculture, 2004, 223(1 - 4): 305 - 320.
- [16] Yang J H, Zhang L Z, Zhuang P, *et al.* The digestive tube index and the activity distribution of three kinds of digestive enzymes in the digestive organs of cultured *Siganus canaliculatus* [J]. Marine Sciences, 2009, 33(7): 43 - 50. [杨金海, 章龙珍, 庄平, 等. 人工养殖长鳍篮子鱼消化道指数及3种消化酶活性分布. 海洋科学, 2009, 33(7): 43 - 50.]
- [17] Yang D Q, Yan A S, Chen F, *et al.* Effects of different diets on activities of digestive enzymes of *Monopterus albus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(6): 558 - 563. [杨代勤, 严安生, 陈芳, 等. 不同饲料对黄鳝消化酶活性的影响 [J]. 水产学报, 2003, 27(6): 558 - 563.]
- [18] Qiao H, Huang C, Wang Z, *et al.* An investigation on the variation of digestive enzyme activities induced by different feedstuff in *Pseudobagrus fulvidraco* [J]. Freshwater Fisheries, 2007, 37(1): 58 - 61. [乔慧, 黄成, 王喆, 等. 不同饲料对黄颡鱼消化酶活性的影响. 淡水渔业, 2007, 37(1): 58 - 61.]
- [19] Le Ruyet J P, Alexandre J C, Thébaud L, *et al.* Marine fish larvae feeding: Formulated diets or live pery? [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1993, 24(2): 211 - 224.
- [20] Nagase G. Contribution to the physiology of digestion in *Tilapia mossambica* (Peters): Digestive enzymes and the effects of diets on their activity [J]. Journal of Comparative Physiology, 1964, 49(3): 270 - 284.
- [21] Wang Z G, Chen P J, Gu Y, *et al.* 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, 等. 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.]
- [22] Jiang J K, Wang J Y, Zhang L M, *et al.* Effects of dietary chitosan on growth performance, body composition and non-specific immunity of juvenile *Oncorhynchus mykiss* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(4): 729 - 734. [蒋锦坤, 王际英, 张利民, 等. 壳聚糖对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 幼鱼生长性能、体组成及非特异性免疫的影响. 海洋与湖沼, 2012, 43(4): 729 - 734.]
- [23] Ding J Q, Liu P, Li J, *et al.* Comparison of nonspecific immunity and the activities of antioxidant enzymes in different populations of *Charybdis japonica* [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 275 - 280. [丁金强, 刘萍, 李健, 等. 不同地理群体日本鳎非特异性免疫及抗氧化酶活力的比较. 水产学报, 2013, 37(2): 275 - 280.]
- [24] Muta T, Iwanaga S. The role of hemolymph coagulation in innate immunity [J]. Current Opinion in Immunology, 1996, 8(1): 41 - 47.
- [25] Chen J Z, Zang X L, Meng S L, *et al.* Effect of nitrite nitrogen stress on the activities of nonspecific immune enzymes in serum of tilapia (*GIFT Oreochromis niloticus*) [J]. Ecology and Environment Sciences, 2012, 21(5): 897 - 901. [陈家长, 臧学磊, 孟顺龙, 等. 亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼 (*GIFT Oreochromis niloticus*) 血清非特异性免疫酶活性的影响. 生态环境学报, 2012, 21(5): 897 - 901.]
- [26] Zhan F F, Zhao X P. Effects of Cadmium on ACP and AKP in *Carassias auratus* [J], Sichuan Journal of Zoology, 2007, 26(3): 641 - 643. [詹付凤, 赵欣平. 重金属镉对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响. 四川动物, 2007, 26(3): 641 - 643.]
- [27] Hu L H, Yan M C, Zheng J H, *et al.* Effects of salinity on growth and nonspecific immune enzyme activities of *Anguilla japonica* [J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 2011, 30(4): 528 - 532. [胡利华, 闫茂仓, 郑金和, 等. 盐度对日本鳗鲡生长及非特异性免疫酶活性的影响. 台湾海峡, 2011, 30(4): 528 - 532.]
- [28] Tong C, Cao Z J, Yang L, *et al.* Effects of dietary chitosan on growth and non-specific immunity of freshwater spadefish (*Colossoma brachypomum*) [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(2): 219 - 225. [童春, 曹振杰, 杨玲, 等. 壳聚糖对淡水白鲳生长和非特异性免疫功能的影响. 上海海洋大学学报, 2010, 19(2): 219 - 225.]
- [29] Liu A J, Leng X J, Li X Q, *et al.* Effect of mannan oligosaccharides on growth performance, intestinal structure and nonspecific immunity of tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. Journal of

- Zhejiang University: Agriculture & Life Sciences, 2009, 35(3): 329 - 336. [刘爱君,冷向军,李小勤,等. 甘露寡糖对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 生长、肠道结构和非特异性免疫的影响. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2009, 35(3): 329 - 336.]
- [30] Wang T S, Zhou X, Zhao C Y, *et al.* Effect of three kinds of feed on growth, immune enzyme, amino acid content and digestive enzymes activity of *Procambarus clarkii* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(6): 1011 - 1016. [王天神, 周鑫, 赵朝阳, 等. 3 种饲料对克氏原螯虾生长、免疫酶、氨基酸含量及消化酶活性的影响. 上海海洋大学学报, 2012, 21(6): 1011 - 1016.]
- [31] Xiang X, Zhou X H, Chen J, *et al.* Effect of dietary replacement of fish meal protein with soybean meal protein on the growth, body composition and hematology indices of *Schizothorax prenanti* [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(5): 723 - 731. [向泉, 周兴华, 陈建, 等. 饲料中豆粕蛋白替代鱼粉蛋白对齐口裂腹鱼幼鱼生长性能、体成分及血液生化指标的影响. 水产学报, 2012, 36(5): 723 - 731.]
- [32] Wen Y H, Cao J M, Huang Y H, *et al.* Effects of fish meal replacement by maggot meal on growth performance, body composition and plasma biochemical indexes of juvenile yellow catfish (*Peltobagrus fulvidraco*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(1): 171 - 181. [文远红, 曹俊明, 黄燕华, 等. 蝇蛆粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、体组成和血浆生化指标的影响. 动物营养学报, 2013, 25(1): 171 - 181.]
- [33] Parihar M S, Tarangini J, Taruna H, *et al.* Response of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and reduced glutathione antioxidant defenses in gills of the freshwater catfish (*Heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature [J]. Journal of Thermal Biology, 1997, 22(3): 151 - 156.

Effects of compound feed and live feed on the growth, survival, and the activities of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme of young fish *Coilia nasus*

SHI Yonghai*, ZHANG Genyu, ZHANG Haiming, LIU Yongshi, YAN Yinlong,
XIE Yongde, LU Genhai, XU Jiabo, LIU Jianzhong

(Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433, China)

Abstract: Through the investigation and analysis of the growth, survival rate, and the activities of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme of young fish *Coilia nasus*, which were fed with compound feed and live feed for 178 days, the effects of compound feed and live feed on growth, survival, and some enzyme activities of young fish *C. nasus* were studied. The results show that the final body length, final body weight, survival rate, condition factor, and hepato somatic index of compound feed group (125.17 mm, 6.27 g, 65.73%, 0.31 g/cm³, and 1.4%, respectively) were significantly lower than those of live feed group (150.66 mm, 12.39 g, 85.59%, 0.36 g/cm³, and 1.9%, respectively), while there was no significant difference between the two groups in the ratio of intestine length to body length (25.3% and 23.6%, respectively); No protease was detected in livers of two groups, pyloric caecum alkaline protease activity of compound feed group (43.49 U/mg prot) was significantly lower than those of live feed group (86.37 U/mg prot), while there was no significant difference between the two groups in activities of stomach acid protease and intestine alkaline protease; Amylase activities in intestine and pyloric caecum of compound feed group (196.63 and 575.93 U/g prot, respectively) were significantly lower than that of live feed group (928.91 and 1 755.90 U/g prot, respectively), while there was no significant difference between the two groups in amylase activities in liver and stomach; No lipase was detected in livers and stomachs from compound feed group and live feed group, intestine lipase activity of compound feed group (23.55 U/g prot) was significantly higher than that of live feed group (14.39 U/g prot), while there was no significant difference between the two groups in lipase activity of pyloric caecum (17.90 and 13.23 U/g prot, respectively); Alkaline phosphatase (AKP) activity in liver of compound feed group (103.44 U/g prot) was significantly higher than that of live feed group (58.20 U/g prot), while glutamic oxalacetic transaminase (AST/GOT) in liver of compound feed group (20.38 U/g prot) was significantly lower than that of live feed group (32.51 U/g prot). In addition, there was no significant difference between the two groups in activities of acid phosphatase (ACP), glutamic-pyruvic transaminase (ALT/GPT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-PX), and catalase (CAT) in liver, and activities of glutamic-pyruvic transaminase (ALT/GPT), glutamic oxalacetic transaminase (AST/GOT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GSH-PX) in serum. The results suggest that *C. nasus* could ingest the compound feed, there was no significant difference between compound feed group and live feed group in most of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme activities, while the growth and survival rates of compound feed group were significantly lower than those of live feed group. Therefore, in order to gradually replace live feed, optimized compound feed formula and improved compound feed that are suitable for *C. nasus* are recommended.

Key words: *Coilia nasus*; feed; growth; survival; enzyme activity

Corresponding author: SHI Yonghai. E-mail: yonghais@163.com