

蛋白质营养对工业化养殖大菱鲆生长、消化和免疫的效应

高婷婷^{1,2}, 李 勇², 张家国¹, 柳 阳², 周邦维²

(1. 上海海洋大学 水产与生命科学学院, 上海 201306; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 在封闭循环水养殖条件下, 选用体质量为 (145.08 ± 0.56) g 大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.) 幼鱼, 进行 4 种蛋白质梯度水平(41%、46%、50%、55%, 即 I、II、III、IV 组)的单因素试验 74 d, 研究蛋白质营养对工业化养殖大菱鲆生长、消化酶、免疫机能的影响。结果表明: (1) 试验鱼增质量率随日粮蛋白质含量升高而提高, 中高蛋白水平(III、IV 组)增质量率分别极显著或显著高于 I、II 组 18.46%~65.75%, III、IV 组间无显著差异; 饲料系数则相应下降, III、IV 组分别极显著低于 I 组 21.15%~27.73% ($P < 0.01$), II、III、IV 组间无显著差异; (2) 大菱鲆胃肠、肝胰脏的蛋白酶活力随蛋白水平升高而显著增强, 其中 IV 组胃蛋白酶活力分别极显著高于其他组 15.28%~31.96% ($P < 0.01$), 肝胰脏胰蛋白酶活力分别显著或极显著高于其他组 9.74%~26.29%; 胃肠淀粉酶、肝胰脏淀粉酶及脂肪酶活性受饲料蛋白水平影响不显著; (3) 随日粮蛋白含量提高, 各试组鱼成活率与主要免疫器官溶菌酶活力呈先上升后缓降的趋势, III 组最优, 其成活率高于低、高蛋白水平组 2.86%~9.34%, 但 4 组间差异不显著; 肝脏溶菌酶活力分别极显著高于 I 组 80.07% ($P < 0.01$), 显著高于 II 组 43.56% ($P < 0.05$); 头肾溶菌酶活力极显著高于 I、II 组 67.78% 和 35.76% ($P < 0.01$); 与 IV 组差异不显著; (4) 血清 ACP 及 LYZ 活力随日粮蛋白水平提高先升后降, III 组 LYZ 活力极显著高于 I 组 31.92% ($P < 0.01$), 显著高于 II 组 18.72% ($P < 0.05$); 血 MDA 随蛋白水平提高显著降低, IV 组分别极显著低于 I、II、III 组 13.26%~31.61%; 血清 SOD 活力及 C3 补体含量随日粮蛋白含量增加而提高, 但各组间差异不显著。结果表明, 日粮中、高蛋白质含量显著促进大菱鲆幼鱼的生长性能和蛋白质消化酶活力, 而中等蛋白水平更加有利于幼鱼重要免疫机能的发挥和成活率的提高。因而, 日粮中等蛋白质含量更适宜于工业化循环水养殖大菱鲆幼鱼的蛋白质营养和健康生长。

关键词: 蛋白质; 生长; 消化; 免疫; 大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.); 封闭循环水

中图分类号: S952 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2012)10-0073-08

蛋白质是鱼类需要量较大、维持其生命活动稳态并进行正常生产的物质基础, 也是合成各种酶类使免疫反应成功进行和患病后恢复健康的重要条件, 因而属于对鱼类生长、繁育、代谢、健康等至关重要的一类营养物质, 这一特点在肉食性鱼类中尤为突出。

大量研究证实, 日粮鱼粉蛋白质含量的增加能有效提高鱼类消化功能和饲料利用率, 促进其快速生长^[1-5]。在蛋白质营养对鱼类免疫功能发挥的影响方面, 前人研究较少, 就现有资料表明, 在一定范围内适度增加日粮蛋白质含量有利于降低试验鱼死亡率, 提高其血液溶菌酶、超氧化物歧化酶活力^[6]及 c-反应蛋白和补体含量^[7-8], 进而提高试验鱼的免疫机能。但是, 日粮蛋白质水平提高所带来的免疫增强效应, 将会随着蛋白质含量的进一步增加而逐渐表现得不明显, 甚至表现出一定的免疫抑制^[6-9]。近年来,

随着营养与免疫的重要性越来越受到关注, 蛋白质作为一种能够影响鱼类免疫系统发育、免疫功能发挥及鱼类对应激和疾病抵抗力的间接防疫手段, 值得深入研究。

本研究在工业化封闭循环水系统中进行, 此种养殖模式以其高效、环保、低碳、可持续等优势, 在国内外迅速发展, 将成为现代水产养殖的主要模式。而过量营养、残饵和排泄物是该系统水体污染的主要来源, 亦是导致鱼病爆发的重要隐患^[10-12], 是循环水养殖监控过程中的关键因素。工业化养殖

收稿日期: 2012-01-17; 修回日期: 2012-04-05

基金项目: 十二五国家科技支撑计划资助项目(201113AD13B07); 中国科学院院地合作资助项目(Y12530101L)

作者简介: 高婷婷(1984-), 女, 山东青岛, 硕士研究生, 主要从事水产动物生态营养与免疫调控研究, 电话: 13573821026, E-mail: gtt0508@163.com; 李勇, 通信作者, 电话: 0532-82898724, E-mail: liyong@qdio.ac.cn

条件下日粮蛋白质营养对养殖鱼类免疫机能的研究报道甚少,本课题组前期在对蛋白质生态营养需要量的研究中发现,日粮蛋白质水平对循环水养殖半滑舌鲷(*Cynoglossus Semilaevis* Günther)免疫力和死淘率存在一些规律性影响^[13]。

因此,在课题组前期研究的^[5,13,14,36-59]基础上,本试验以中国海水鱼养殖规模较大的大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)为对象,通过试验日粮蛋白质水平差异对生长、消化与免疫机能的影响特征,进一步查明循环水养殖条件下蛋白质营养与动物免疫和健康的关系及规律,为工业化海水鱼养殖的生态营养调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计、管理和饲料

试验鱼由山东东方海洋股份有限公司提供,试验开始前禁食 24 h,选择大小均匀(145.08 g ± 0.56 g)、健康、活力好的大菱鲆幼鱼,随机分配于 12 个 85 cm × 55 cm × 45 cm 养殖箱(4 个试验处理组,每组 3 个重复),每箱 12 尾。4 种日粮蛋白质含量水平分别为:41%、46%、50%、55%,分别以 I、II、III、IV 组表示。试验在室内封闭循环水系统中进行,日换水量占总水量的 10%,每天循环 45 次,驯养 10 d,正式试验 64 d,试验水温保持 15.5 ± 0.5,溶氧 10~11 mg/L,盐度 22 ± 1,水深 40 cm ± 2 cm,光周期 L:D=11:13,试验饲料原料混匀、超微粉碎后,经大型双螺杆挤压膨化机制成均匀的直径为 0.5 cm 的沉性膨化颗粒饲料,试验饲料配方见表 1。每天投喂 2 次(7:00, 17:00)至饱食,每次饲喂半小时后,将残饵虹吸记录剩余饲料颗粒数,乘以平均粒重从投饲量中扣除。发现死鱼及时捞出称质量,记录。试验结束前,饥饿 24 h,次日空腹称质量。

1.2 指标测定方法

1.2.1 生长性能

$$\text{增质量率} = \frac{\text{平均末质量} - \text{平均初质量}}{\text{平均初质量}} \times 100\%;$$

$$\text{特定生长率} = \frac{\ln \text{末质量} - \ln \text{初质量}}{\text{试验天数}} \times 100\%;$$

$$\text{饲料系数} = \frac{\text{摄食量}}{\text{平均末质量} - \text{平均初质量}};$$

$$\text{蛋白质效率} = \frac{\text{平均末质量} - \text{平均初质量}}{\text{摄食量} \times \text{饲料蛋白含量}};$$

$$\text{存活率} = \frac{\text{初始鱼数} - \text{死淘鱼数}}{\text{初始鱼数}} \times 100\%$$

表 1 大菱鲆试验饲料组成及主要营养成分含量

Tab. 1 Ingredients and concentrations of nutrients of experimental diets for turbot

原料	主要营养成分含量(%)			
	A	B	C	D
秘鲁鱼粉	45.00	52.00	58.00	68.25
面粉	33.44	23.06	15.06	10.75
精炼鱼油	8.00	8.00	8.00	8.00
玉米蛋白粉	5.00	7.94	9.94	5.00
大豆粕	4.56	5.00	5.00	4.00
血球蛋白粉	1.50	1.50	1.50	1.50
黏合剂	1.50	1.50	1.50	1.50
复合维生素	0.50	0.50	0.50	0.50
复合微量元素	0.50	0.50	0.50	0.50
合计	100	100	100	100
干物质	93.47	93.39	93.53	93.85
粗蛋白	40.86	46.22	49.89	55.36
总磷	1.71	1.83	1.96	2.10
粗纤维	0.3	0.4	0.4	0.4
粗脂肪	12.88	12.92	12.93	13.12
粗灰分	8.69	9.91	10.77	11.75

注:表中各营养成分均为实测值

1.2.2 消化酶活力

1.2.2.1 样品采集

生长试验结束前,饥饿 24 h,每个重复取健康试验鱼 6 条,每处理共 18 条,将所选鱼置冰盘脊髓处死,解剖,分别取小块胃肠和肝胰脏组织,清除内容物,剔出脂肪,至于冻存管中-20℃冰箱保存备用。

1.2.2.2 样品前处理

将每个重复中 6 条鱼的组织分别两两混合成为 3 组混合样品,即每个处理 9 组混合样,准确称量后按质量体积比加入 4 倍(胃肠组织)、9 倍(肝胰脏组织)生理盐水制成 20%(胃肠组织)、10%(肝胰脏组织)的组织匀浆,2 500 r/min 离心 10 min,取上清液 4℃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。

1.2.2.3 测定方法及原理

胃蛋白酶(胃肠组织)测定根据该酶可以水解底物最终形成一种蓝色的化合物,通过比色即可测定其活力的原理采用化学比浊法测定;胰蛋白酶(肝胰脏组织)测定是根据该酶水解底物后使其在 253 nm 处吸光值升高,通过吸光度变化可以计算其活力的原理采用紫外比色法测定;淀粉酶测定是根据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,采用碘-淀粉比色法;脂肪酶根据其水解底物使浊度降低,减低的速率与其活力有关,采用化学比浊法测定。

1.2.3 免疫机能

1.2.3.1 样品采集

生长试验结束前,饥饿 24 h,每个重复取健康试验鱼 6 条,每处理共 18 条,将所选鱼置冰盘脊髓处死,尾静脉取血,肝素抗凝,至于 5 mL 离心管中;解剖,分别取小块肝脏、脾脏、头肾和腮丝组织,纯水洗净后至于冻存管中-20℃ 冰箱保存备用。

1.2.3.2 样品前处理

血液样品至于 4℃ 过夜,自然析出血清后,4℃ 下 3 000 r/min 离心 10 min,将血清转移至新管中,-20℃ 保存待测;将每个重复中 6 条鱼的肝、脾、头肾和腮丝组织分别两两混合成为 3 组混合样品,即每个处理 9 组混合样,准确称量后按质量体积比加入 9 倍生理盐水制成 10%的组织匀浆,2 500 r/min 离心 10min,取上清液进行测定。

1.2.3.3 测定方法及原理

溶菌酶(LYZ)活力:在一定浓度的混浊菌液中,由于溶菌酶能水解细菌细胞壁上肽聚糖使细菌裂解而浓度降低,透光度增强,依据透光度变化来推测溶菌酶的活力。

超氧化物歧化酶(SOD)活力:通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),后者氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈现紫红色,用可见分光光度计测其吸光度。血清中 SOD 酶活力单位定义为每 mL 血清中 SOD 抑制率达

到 50%所对应的 SOD 量为 1 个酶活力单位。

丙二醛(MDA)含量:采用 TBA 法,即过氧化脂质降解产物中的丙二醛可与硫代巴比妥酸缩合,形成红色产物,在 532 nm 处有最大吸收峰,通过抑制浓度的标准样与空白样在此处的 OD 值计算出未知样品中 MDA 含量。

酸性磷酸酶(ACP)活力:碱性磷酸酶分解磷酸苯二钠,产生游离酚和磷酸,酚在碱性溶液中与 4-氨基安替吡啉作用经铁氰化钾氧化生成红色醌衍生物,根据红色深浅可以测定酶活力的高低。

补体 C3 含量:样品中 C3 抗原与试剂中相应的抗体在溶液中相遇,立即形成抗原-抗体复合物,并形成一定浊度。该浊度的高低在一定量抗体存在时与抗原的含量成正比。根据以标准品制备的标准曲线,计算未知样品中 C3 含量。

1.3 统计分析

实验数据(Mean $\pm$ S.E.M.)用 SPSS 16 统计软件进行单因素方差分析,当差异显著时($P < 0.05$),进行 Tukey 多重比较。

2 试验结果

2.1 生长性能

由表 2 所示,试验鱼增质量率随着日粮蛋白质水平升高而提高,其中 III、IV 两组增质量率分别极显著高于 I 组 61.19%和 65.75%($P < 0.01$),分别显著高于 II 组 18.46%和 21.81%($P < 0.05$),III、IV 两组间没有显著差异;饵料系数则呈相反规律,III、IV 两组分别极显著低于 I 组 21.15%和 27.73%($P < 0.01$),II、III、IV 3 组间没有显著差异;蛋白质效率各组没有显著差异。

表 2 不同日粮蛋白质水平组大菱鲆生长性能

Tab. 2 Effects of different feed on growth of turbot

处理($n=3$)	I	II	III	IV
增质量率(%)	21.9 $\pm$ 0.8 ^a	29.8 $\pm$ 0.4 ^c	35.3 $\pm$ 1.3 ^e	36.3 $\pm$ 1.1 ^e
特定生长率(%)	32.0 $\pm$ 1.1 ^a	42.1 $\pm$ 0.5 ^c	48.7 $\pm$ 1.5 ^e	49.9 $\pm$ 1.3 ^e
饲料系数	1.165 $\pm$ 0.109 ^c	0.941 $\pm$ 0.006 ^{ab}	0.872 $\pm$ 0.004 ^a	0.842 $\pm$ 0.012 ^a
蛋白效率	2.129 $\pm$ 0.193 ^a	2.310 $\pm$ 0.015 ^a	2.293 $\pm$ 0.010 ^a	2.161 $\pm$ 0.030 ^a
存活率(%)	88.9 $\pm$ 2.8 ^a	97.2 $\pm$ 2.8 ^a	97.2 $\pm$ 2.8 ^a	94.5 $\pm$ 2.8 ^a

注:表中上标相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),相邻字母表示差异显著($P < 0.05$),相隔字母表示差异极显著($P < 0.01$),下同

2.2 消化酶活力

2.2.1 胃肠消化酶

如表 3 所示, 日粮蛋白质水平对试验鱼胃肠淀粉酶活力没有显著影响, 但对胃蛋白酶和脂肪酶活力影响(极)显著。随日粮蛋白水平升高胃蛋白酶活力则逐渐升高, 其中 IV 组分别极显著高于其他各组 15.27%、17.90%和 31.98%($P < 0.01$), II、III 两组无显著差异, III 组显著高于 I 组 14.49%; 而胃肠脂肪酶活力逐渐降低, 其中 I 组活力显著高于 III 组

36.05%($P < 0.05$), 极显著高于 IV 组 61.39%($P < 0.01$), II、III 两组间没有显著差异。

2.2.2 肝胰脏消化酶

如表 4 所示, 试验鱼肝胰脏淀粉酶和脂肪酶活力受日粮蛋白水平影响不显著, 胰蛋白酶活力有显著差异。其中, IV 组试验鱼肝胰脏胰蛋白酶活力最高, 显著高于 III 组 9.79%($P < 0.05$), 分别极显著高于 I、II 组 36.53%和 26.35%($P < 0.01$); I、II 两组差异不显著。

表 3 不同日粮蛋白质水平组大菱鲆胃肠消化酶活力

Tab. 3 Effects of different feed on the digestive enzyme activity in stomach and intestine of turbot

处理($n=3$)	I	II	III	IV
胃蛋白酶(U/mg)	3.368 ± 0.021^a	3.770 ± 0.064^c	3.856 ± 0.104^c	4.445 ± 0.098^e
脂肪酶(U/g)	2.019 ± 0.358^c	1.877 ± 0.191^{ac}	1.484 ± 0.208^{ab}	1.251 ± 0.060^a
淀粉酶 (U/mg)	0.096 ± 0.008^a	0.095 ± 0.006^a	0.089 ± 0.007^a	0.085 ± 0.006^a

表 4 不同日粮蛋白质水平组大菱鲆肝胰脏消化酶活力

Tab. 4 Effects of different feed on the digestive enzyme activity in hepatopancreas of turbot

处理($n=3$)	I	II	III	IV
胰蛋白酶(U/mg)	1.117 ± 0.027^a	1.207 ± 0.038^a	1.389 ± 0.041^c	1.525 ± 0.027^d
脂肪酶(U/g)	3.658 ± 0.066^a	3.363 ± 0.182^a	3.320 ± 0.166^a	3.281 ± 0.177^a
淀粉酶(U/mg)	0.129 ± 0.011^a	0.130 ± 0.008^a	0.120 ± 0.006^a	0.124 ± 0.004^a

2.3 免疫机能

2.3.1 组织溶菌酶活力

如表 5 所示, 一定程度上提高日粮蛋白质含量, 试验鱼主要免疫器官组织溶菌酶活力逐渐增强, 但是日粮蛋白水平的继续增加并没有上述组织溶菌酶活力有进一步的提高, 反而有不同程度的下降。随日粮蛋白含量的提高, 各组试验鱼主要免疫器官组织溶菌酶活力呈先上升后缓降的趋势, III 组活性最高, 其中肝脏溶菌酶活力分别极显著高于 I 组 80.07%($P < 0.01$), 显著高于 II 组 43.56%($P < 0.05$); 头肾溶菌酶活力极显著高于 I、II 两组 67.78%和 35.76%($P < 0.01$); III、IV 两组差异不显著。脾脏、鳃

丝溶菌酶活力虽亦表现出上述变化规律, 但各处理组之间差异不显著。各组织溶菌酶活力变化趋势见图 1。

如表 6 所示, 各组试验鱼血清 SOD 活力及 C3 补体含量随日粮蛋白含量的增加而提高但各处理间差异不显著, 血清 MDA 含量则呈相反规律, 血清 ACP 活力及溶菌酶活力随蛋白水平的提高先升高后稍降。其中 III 组血清溶菌酶活力极显著高于 I 组 31.92%($P < 0.01$), 显著高于 II 组 18.72%($P < 0.05$), 也高于 IV 组 2.66%, 但统计差异不显著。血清 MDA 随蛋白水平的提高显著降低, IV 组分别极显著低于 I、II、III 组 31.61%、14.32%及 13.26%。

表 5 不同日粮蛋白质水平组大菱鲆不同组织溶菌酶活力

Tab. 5 Effects of different feed on the tissue lysozyme activity of turbot

处理($n=3$)	I	II	III	IV
肝脏活力(U/mg)	3.4998 ± 0.1967^a	4.3898 ± 0.2520^{ab}	6.3020 ± 0.2603^{cd}	5.7340 ± 0.5396^c
脾脏活力(U/mg)	0.6326 ± 0.1147^a	0.7866 ± 0.0476^a	0.9325 ± 0.0498^a	0.9167 ± 0.1587^a
头肾活力(U/mg)	3.5058 ± 0.1137^a	4.3325 ± 0.1676^b	5.8817 ± 0.1986^e	5.7989 ± 0.3285^e
鳃丝活力(U/mg)	7.6284 ± 1.3726^a	8.3789 ± 0.6433^a	10.0543 ± 0.4171^a	9.5845 ± 0.4758^a

表 6 不同日粮蛋白质水平组大菱鲆血清免疫相关酶活力

Tab. 6 Effects of different feed on the seroenzyme activity of turbot

处理(n=3)	I	II	III	IV
lyz 活力(U/mg)	685.886 ± 2.618 ^a	762.162 ± 22.000 ^{ab}	904.805 ± 26.298 ^{cd}	881.381 ± 44.441 ^c
SOD 活力(U/mL)	70.416 ± 3.604 ^a	72.720 ± 4.210 ^a	72.936 ± 0.926 ^a	74.610 ± 0.297 ^a
MDA 含量(μ mol/L)	9.754 ± 0.064 ^a	7.786 ± 0.227 ^c	7.691 ± 0.213 ^c	6.671 ± 0.155 ^e
ACP 活力(U/100 mL)	1.627 ± 0.152 ^a	1.637 ± 0.277 ^a	1.673 ± 0.066 ^a	1.672 ± 0.041 ^a
C3 含量(ng/L)	548.387 ± 43.638 ^a	563.697 ± 24.286 ^a	591.044 ± 53.298 ^a	618.159 ± 46.057 ^a

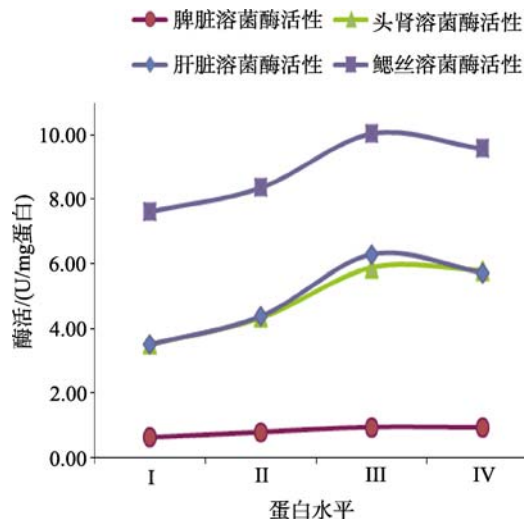


图 1 不同日粮蛋白质水平组大菱鲆主要免疫组织溶菌酶活力变化趋势

Fig. 1 Effects of different feed on the tissue lysozyme activity of turbot

3 讨论

日粮蛋白质含量直接影响鱼类生长, 增加蛋白含量对生长性能的促进作用已经证实^[15-18]。也有研究表明日粮适中蛋白质含量比过低或过高水平更有利于促进鱼的生长和提高饲料利用率^[19-20]。本课题组前期对海水鲈形目(Pleuronectiformes)鱼类的试验研究发现, 试验鱼增质量率随日粮蛋白质含量增加呈先升高后趋缓的趋势^[16, 21-22]。在本试验研究中, 随日粮蛋白质含量由 41%增至 50%, 试验鱼的增质量率和饲料系数均得到显著的改善, 而 55%组较 50%组试验鱼在生长性能指标上并没有显著变化, 此结果与本课题组前期试验研究结果规律一致。由此可见, 过高日粮蛋白质含量会对工业化养殖鱼类生长造成负面影响, 当日粮蛋白质小幅过量时, 虽没有负面影响, 但亦未有明显的促生长效果。

日粮蛋白质水平与鱼类消化酶活力存在一定关系^[21, 26-29, 22-25]。本研究中, 大菱鲆胃肠及肝胰脏蛋白

酶活力均随日粮蛋白含量的增加呈先提高后缓降趋势, 与生长性能变化规律基本符合, 即 55%组比 50%组鱼的增质量并没有显著提高, 对应的蛋白质消化酶活力还稍有降低^[26-30]。研究表明消化酶活力不仅取决于酶活性中心的性质, 且与底物和介质等有关。因此, 产生上述结果的原因可能是负反馈调节作用, 即蛋白酶活力在一定范围内受底物量增加诱导而提高, 当消化蛋白质超过鱼体需要或自身吸收代谢能力时, 通过负反馈调节使蛋白酶活力降低来减少代谢负担。此外, 试鱼胃肠较肝胰脏表现出较高的蛋白酶活力, 这一特点在一些鱼类消化酶研究中也被发现^[31-32], 表明胃肠道是大菱鲆消化蛋白质的主要场所, 肝胰脏起辅助消化作用。脂肪酶方面, 正如前人研究报道的^[24-25], 其活力随蛋白质含量的增加而降低, 即日粮蛋白质供应不足时, 鱼类通过提高脂肪酶活力、增加脂类氧化供能来减少蛋白质作为能源消耗。淀粉酶活力低, 且对日粮蛋白质含量变化不敏感, 这与肉食性大菱鲆对碳水化合物消化能力低下有关^[31, 33-36]。

鱼类免疫机能发挥主要依靠非特异性免疫途径实现, 蛋白质是动物合成各种酶类和抗体蛋白所必需的原料, 与机体免疫力密切相关^[37]。前人对多种养殖鱼类的研究表明, 鱼类非特异性免疫机能提高并不需要日粮蛋白质含量很高^[38-40]。王美琴等^[13]在研究工业化封闭循环水养殖半滑舌鲷的蛋白质营养需求时发现, 日粮中等蛋白质水平, 不仅为其生态需要量所在范围, 而且是最低死淘率所在范围, 显著提高血清溶菌酶与超氧化物歧化酶的活力, 也使 C₃、C₄ 补体含量明显增加。

本试验在课题组前期研究工作基础上, 测析了更多能够反映养殖鱼类免疫机能的指标, 旨在更全面地评价日粮蛋白质营养对试鱼免疫机能的影响, 其结果不仅与前期研究基本一致, 而且新测指标显现出更明显的规律或特征。首先, 本试验低蛋白组试鱼各项免疫指标较其他组均呈明显劣势, 其中血清

MDA 增加量极显著,表明当日粮蛋白缺乏时,会大大增加脂类被自由基氧化产生 MDA 的机率。MDA 具有细胞毒性,其大量产生无疑对鱼类健康威胁严重,此点在本试验低蛋白组较高死淘率上得以明显体现。其次,在本试验鱼的腮丝、肝脏、脾脏、头肾等组织及血清中均检测到溶菌酶,其中血清活力最高,腮丝次之,脾脏最低,表明腮作为鱼类阻止有害菌入侵的第一道屏障,溶菌酶在其中发挥了积极而重要的作用,而当有害菌侵入体内后,血液中高活力的溶菌酶在对抗或杀伤外来有害菌方面更加具有实际意义^[41-42]。再者,本研究结果显示,溶菌酶与其他测定的非特异性免疫因子相比,其活力变化对日粮蛋白含量更加敏感,且呈现一定规律,即随日粮蛋白水平提高其活力先增强后略降,具体表现在 55%蛋白组试鱼各组织及血清溶菌酶活性比 50%组有所降低,但差异不显著。日粮高蛋白水平呈现一定程度免疫抑制的可能原因,作者分析有两点:(1) 高蛋白摄入增加了鱼体代谢负担,甚至引起代谢紊乱,从而影响其免疫机能的正常发挥^[43];(2) 高蛋白日粮显著增加鱼类氮排泄和饲料氮溶失,加剧水质污染,长期氨氮胁迫导致鱼类免疫能力下降^[14,21,23-24,36-42,44]。因此,饲料中适当含量的优质蛋白能明显提高鱼类免疫力,过低或过高都会降低机体的免疫与抗病能力。

上述结果证明日粮中高蛋白水平有利于促进工业化养殖比目鱼快速生长,中蛋白水平更有利于其免疫机能的发挥。

4 小结

本试验在工业化封闭循环水养殖系统中进行,通过日粮蛋白质含量对大菱鲆生长、消化与免疫力影响特征和规律的探寻,获得以下结论:

(1) 在一定范围内提高日粮蛋白质含量,能够显著改善鱼类的生长性能、降低饲料系数,但继续增加蛋白质含量并未带来进一步促进效果,且成活率有所降低。

(2) 大菱鲆胃肠及肝胰脏蛋白酶活力随日粮蛋白水平提高而增加,脂肪酶活力变化则相反,淀粉酶活力对日粮蛋白含量变化不敏感。

(3) 大菱鲆主要组织和血清溶菌酶等免疫指标随日粮蛋白水平升高,从 41%到 50%,呈逐渐增强趋势,当超过 50%达到 55%时,表现一定程度的免疫抑制。

试验结果表明:日粮中、高蛋白质含量显著促进大菱鲆幼鱼的生长性能和蛋白质消化酶活力,而中等蛋白水平更加有利于幼鱼重要免疫机能的发挥和成活率的提高。因此日粮中等蛋白质含量更适宜于工业化循环水养殖大菱鲆幼鱼的蛋白质营养和健康生长。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 张显娟,李爱杰,薛敏.牙鲆稚鱼对蛋白质、脂肪及碳水化合物营养需求的研究[J].上海水产大学学报,1998,7:98-103.
- [3] 李爱杰,张道波,魏万权,等.牙鲆幼鱼营养需要的研究[J].浙江海洋学院学报,2001,20(9):6-10.
- [4] 陈四清,马爱军.大菱鲆幼鱼的蛋白质与能量需求[J].水产学报,2004,28(4):20-23.
- [5] 蒋克勇,李勇.大菱鲆幼鱼蛋白质的生态营养需要量研究[J].海洋科学,2005,29(9):65-70.
- [6] 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[J].饲料广角,2006,14:41-45.
- [7] 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.
- [8] Tang H G, Wu T X, Zhao Z Y, et al. Effect of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.)[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2008, 9(9): 684-690.
- [9] 蔡春芳,吴康,潘新法,等.蛋白质营养对异育银鲫生长和免疫力的影响[J].水生生物学报,2001,25(6):590-595.
- [10] 陈军,徐皓,倪琦,等.我国工厂化循环水养殖发展研究报告[J].渔业现代化,2009,36(4):1-7.
- [11] 刘鹰.欧洲循环水养殖技术综述[J].渔业现代化,2006,6:47-49.
- [12] 王华,李勇,陈康,等.工厂化养殖半滑舌鳎生长、摄食和水质的变化特征和规律[J].水生生态学杂志,2009,2(4):52-59.
- [13] 王美琴,李勇,车向荣,等.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[J].渔业科学进展,2009,30(4):27-37.

- [14] 夏苏东. 蛋白质营养对高密养殖凡纳滨虾的效应机制与生态需要量[D]. 青岛: 青岛农业大学, 2009.
- [15] 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.
- [16] 蒋克勇. 基于生态适宜的大菱鲆幼鱼蛋白质营养需要量研究[D]. 青岛: 中科院海洋研究所, 2005:18-26.
- [17] 潘庭双, 程玉冰, 侯冠军, 等. 不同蛋白水平饲料对斑点叉尾鲴生长的影响[J]. 水生动物营养, 2008, 4: 56-58.
- [18] 孙翰昌, 徐敬明. 日粮蛋白质水平对瓦氏黄颡鱼生长性能的影响[J]. 中国饲料, 2009, 16: 30-32.
- [19] 苏小凤. 饲料蛋白水平对宝石鲈生长和消化酶活性的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2003: 22-29.
- [20] Kim S S, Lee K J. Dietary protein requirement of juvenile tiger puffer (*Takifugu rubripes*)[J]. Aquaculture, 2009, 287: 219-222.
- [21] 王美琴. 蛋白质营养与饱食度对半滑舌鲷的效应机制与水生态需要[D]. 山西: 山西农业大学, 2009.
- [22] 黄峰, 严安生, 张桂蓉, 等. 不同蛋白含量饲料对南方鲇胃蛋白酶和淀粉酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2003, 27(5): 451-456.
- [23] 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影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2004, 30(5): 553-556.
- [24] 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(自然科学版), 2005, 10(4): 296-299.
- [25] 林建斌, 李金秋, 王剑锋, 等. 不同能量蛋白质比饲料对点带石斑鱼幼鱼体内消化酶活性的影响[J]. 中国饲料, 2008, 14: 33-35.
- [26] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮, 等. 草鱼、鲤、鲢、鳙和尼罗非鲫脂肪酶活性的比较研究[J]. 大连水产学院学报, 1990, 5(34): 19-24.
- [27] Kuz'mina V V. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts[J]. Aquaculture, 1996, 148: 25-37.
- [28] Vys W, Hecht T. Assays on the digestive enzymes of sharp tooth catfish *Clarias gariepinus* (Pisces: clariidae) [J]. Aquaculture, 1987, 63: 301-310.
- [29] 尾崎久雄. 鱼类消化生理[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985.
- [30] 周景样, 陈勇, 黄权, 等. 鱼类消化酶的活性及环境条件的影响[J]. 北华大学学报, 2001, 2(1): 70-73.
- [31] 付新华, 孙谧. 大菱鲆消化酶的活力[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 26-33.
- [32] 王宏田, 张培军. 牙鲆体内消化酶活性的研究[J]. 海洋与湖沼, 2002, 33(5): 472-476.
- [33] Hofer R, Uddin A N. Digestive Processes during the development of the roach, *Rutilus rutilus*[J]. Fish Biology, 1985, 26: 683-689.
- [34] Kawai S, Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. . Development of the digestive enzymes of rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage[J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1973a, 39: 819-823.
- [35] Kawai S, Ikeda S. Studies on digestive enzymes of fishes. IV. Development of the digestive enzymes of carp and black sea bream after hatching[J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1973b, 39: 877-881.
- [36] 黄耀桐. 草鱼肠道、肝胰脏蛋白酶活性初步研究[J]. 水生生物学报, 1988, 12(4): 328-333.
- [37] 瑞莉, 李术. 饲料营养与免疫[J]. 饲料博览, 2001, 4: 28-30.
- [38] Burrells C, Williams P D, Southgate P J, et al. Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins[J]. Vet Immunol Immunopathol, 1999, 72: 277-288.
- [39] Krogdahl A, Bakke M, Kellep A M, Roed K H, et al. Feeding Atlantic salmon *Salmo salar* L. soybean products: effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa [J]. Aquaculture Nutrition, 2000, 6: 77-84.
- [40] Buentello A J, Gatlin III D M. Effects of elevated dietary arginine on resistance of channel catfish to exposure to *Edwardsiella ictaluri*[J]. Journal of Aquaculture Animal Health, 2001, 13:194-201.
- [41] Lie, Evensen, Sorensen A. Study on lysozyme activity in some fish species[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1989, 6: 1-5.
- [42] Möck Peters. Lysozyme activity in rainbow trout stressed by handling, transport and water pollution[J]. Journal of Fish Biology, 1990, 37: 873-885.
- [43] 艾庆辉, 麦康森. 鱼类营养免疫研究进展[J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 425-430.
- [44] 蒋克勇. 基于生态适宜的大菱鲆幼鱼蛋白质营养需要量研究[D]. 青岛: 中科院海洋研究所, 2005: 27-35.

The effect of protein on growth, digestion and immunity of Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in industrial culture

GAO Ting-ting^{1,2}, LI Yong², ZHANG Jia-guo¹, LIU Yang², ZHOU Bang-wei²

(1. College of Fishery and Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Science, Qingdao 266071, China)

Received: Jan., 17, 2012

Key words: Protein; growth; digestive enzyme; immunity; turbot(*Scophthalmus maximus* L.); recirculating aquaculture system

Abstract: Effects of dietary protein on growth, digestive enzymes and immunity activity of turbot were investigated in closed recirculation aquaculture system. Fish with a mean initial weight of (145.08±0.56) g were feed with four different feeds (41%, 46%, 50%, and 55%, with I, II, III, and IV groups) for 74 days. The results indicated: (1) Weight gain rates were increasing rapidly first and then slowly with increased dietary protein level, while food conversion rates showed a reverse pattern. The weight gains of groups III, IV were significantly higher than groups I, II by 18.46%—65.75%, while feed conversion rates were lower than group I by 21.15%—27.73% ($P < 0.01$); (2) The gastrointestinal and hepatopancreas protease activity enhanced rapidly with dietary protein level increasing. Gastrointestinal and hepatopancreas protease activities of fish in group IV were significantly higher than groups I, II, III by 15.28%—31.96% and 9.74%—26.29% respectively ($P < 0.01$). While amylase and lipase specific activities in the intestine and hepatopancreas were not influenced by dietary protein level ($P > 0.05$); (3) Along with the dietary protein from 41%—50%, fish's survival rate and major organ lysozyme vitality of turbot were increasing, but when the level went to 55% indicators decreased. The group III, its survival rate was higher than other groups' by 2.86%—9.34% but not significantly ($P > 0.05$); its lysozyme vitality in liver was higher than group I by 80.07% significantly ($P < 0.01$) and higher than group II by 43.56% ($P < 0.05$); its lysozyme vitality in head kidney was significantly higher than group I, II by 67.78% and 35.76% ($P < 0.01$) respectively; (4) Serum lysozyme and ACP activity were increasing along with the level of dietary protein at first and then decreased, fish's serum lysozyme activity in group III was significantly higher than group I by 31.92% ($P < 0.01$) and higher than group II by 18.72% ($P < 0.05$); Serum MDA content with protein levels decreased significantly, the parameters of group IV were significantly lower than group I, II, III by 13.26%—31.61%; serum SOD activity and C3 levels increased with dietary protein content, but the differences between the groups were not significant. The results showed that the medium and high dietary protein content was significantly promote the growth performance of juvenile turbot and proteinase activity, while the medium protein level was more conducive to turbot immune function and survival rate; therefore, medium dietary protein content was more suitable for industrial recirculating cultured juvenile turbot's rapid and healthy growth.

(本文编辑: 谭雪静)