

饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期的生长性能、肌肉成分和酶活的影响

汪元, 蒋霞敏, 乐可鑫, 韩庆喜, 彭瑞冰, 梁晶晶, 王鹏帅

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 以鱼粉、豆粕和明胶为主要蛋白源配制成蛋白质水平分别为 31.5%、35.0%、38.5%、42.0%、45.5%、49.0% 的试验饲料。选取初始均重 (3.99 ± 0.08) g 的拟目乌贼(*Sepia lycidas*)540 只, 随机分成 6 组, 每组 3 个重复, 每个重复 30 只。结果表明: 拟目乌贼的生长性能指标(增重率、特定生长率、成活率)均在饲料蛋白质水平为 45.91% 时达到最佳, 除与蛋白质水平为 49.72% 时差异不显著($P > 0.05$)外, 与其他各组均有显著差异($P < 0.05$)。饲料系数随蛋白质水平的升高呈先降后升的趋势, 在饲料蛋白质水平为 45.91% 时达到最低, 显著低于除 49.72% 组外的其他各组; 蛋白质效率随着饲料中蛋白质水平的升高而显著下降($P < 0.05$)。饲料蛋白质水平对肥满度与肝体比影响不显著($P > 0.05$)。胃蛋白酶、胰蛋白酶、肠道脂肪酶和肝脏超氧化物歧化酶活性, 随饲料蛋白质水平的增加呈先升后降的趋势, 均在饲料蛋白质水平为 45.91% 时达到最高, 胃蛋白酶和胰蛋白酶活性除与蛋白质水平为 42.22% 时差异不显著($P > 0.05$)外, 与其他各组均有显著差异($P < 0.05$); 脂肪酶和肝脏超氧化物歧化酶活性与其他各组均有显著差异($P < 0.05$), 而肠道淀粉酶活性则相反。肝脏谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性随饲料蛋白质水平的增加呈先升后稳定的趋势, 均在饲料蛋白质水平为 49.72% 时达到最大, 显著高于除 45.91% 组外的其他各组($P < 0.05$); 而饲料蛋白质水平对碱性磷酸酶活性影响不显著($P > 0.05$)。乌贼肌肉粗蛋白质在饲料蛋白质水平 45.91% 时含量最高, 显著高于除 49.72% 组外的其他各组($P < 0.05$); 粗脂肪含量最低, 显著低于其他各组($P < 0.05$); 而肌肉水分和粗灰分含量不受饲料蛋白质水平的影响($P > 0.05$)。拟目乌贼生长前期(4~10 g)配合饲料适宜的蛋白质水平为 45.91%。

关键词: 拟目乌贼(*Sepia lycidas*); 蛋白质水平; 生长性能; 肌肉成分; 酶活

中图分类号: S963.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2016)03-0087-08

doi: 10.11759/hyxx20150602002

拟目乌贼(*Sepia lycidas*), 隶属软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda)、乌贼目(Sepioidea)、乌贼科(Sepiidae)、乌贼属(*Sepia*)。拟目乌贼具有生活周期较短、成熟个体大、营养价值高等特点, 目前已成为海水养殖中引人关注的品种。而近年来, 由于过度的捕捞, 导致我国乌贼资源趋于衰退, 所以开展人工养殖能有效进行资源修复, 同时可以为养殖业带来新的品种, 增加经济效益。目前关于拟目乌贼的研究主要集中在繁殖行为学^[1-3]、环境因子对幼体生长^[4-5]、摄食^[6]和胚胎发育^[7-10]的影响以及人工繁育技术^[11]等方面, 而关于拟目乌贼配合饲料方面的研究尚未见报道。

饲料蛋白质水平对水产动物机体健康水平、消化代谢水平和抗氧化能力有显著影响, 而这些影响程度可以通过机体内消化酶、肝脏酶、抗氧化酶的

活力水平反映出来^[12]。消化酶(胃蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶)是水生生物体内重要的消化指标, 能反映机体对饲料消化能力的强弱。肝脏酶(谷丙转氨酶、谷草转氨酶和碱性磷酸酶)是肝功能正常与否的重要指标, 能反映肝脏受损程度; 此外, 谷丙转氨酶和谷草转氨酶在参与氨基酸代谢的转氨过程, 对氨基酸的分解和合成有重要作用; 超氧化物歧化酶

收稿日期: 2015-06-02; 修回日期: 2015-08-18

基金项目: 国家农转化项目(2009GB2C220415); 浙江省种质种苗项目(浙海渔计 2013-82); 宁波市农业重大专项(2014C11001)

[Foundation: Agriculture Science Technology Achievement Transformation Project of China, No. 2009GB2C220415; Zhejiang Province Germplasm and Germchit Project, No. 2013-82; Ningbo Agriculture Major Project, No. 2014C11001]

作者简介: 汪元(1992-), 男, 湖北潜江人, 硕士研究生, 主要从事乌贼繁殖培养研究, Email: wyuan639@163.com; 蒋霞敏, 通信作者, 教授, Email: jiangxiamin@nbu.edu.cn

(SOD)是生物体内重要的抗氧化酶之一,能清除自由基、预防或修复肝损伤^[13]。

本试验通过设计 6 种不同的饲料蛋白质水平,研究饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期(平均体重 4~10 g)的生长性能、肌肉成分、消化酶活性和肝脏酶活性的影响,确定拟目乌贼生长前期配合饲料的最适蛋白质水平,为拟目乌贼专用配合饲料以及全价饲料的配制提供资料。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

以鱼粉、豆粕和食用明胶为主要蛋白源,配制蛋白质水平分别为 31.30%、34.92%、38.54%、42.22%、45.91%、49.72% 的配合饲料,粉料均过 80 目筛,多维和多矿等微量成分采用逐级扩大法进行混合,再

加入鱼油、大豆卵磷脂,最后加水搅拌混合成团状,用挤条机制成条状(长为 2~3 cm,直径为 0.5~1 cm)软颗粒饲料,直接投喂或置于-20℃冰箱中保存备用。试验饲料组成及营养水平见表 1。

1.2 试验对象及饲养管理

试验于 2014 年 6~8 月进行。拟目乌贼亲体捕自南海海域(21.11°N, 110.24°E),经自然交配产卵,在浙江舟山市水产研究所基地人工繁育。采用水泥池(3 m×4 m×1.5 m)悬浮圆形塑料筛筐(直径为 60 cm,高为 20 cm)作为培养容器,按表 1 中蛋白质水平 49.72%组饲料作为基础饲料驯化 8 d。待正常摄食后,挑选活泼、健康的拟目乌贼 540 只,平均胴长(3.34±0.22)cm,平均体重(3.99±0.08)g,随机分成 6 组,每组 3 平行,每平行放养 30 只。

表 1 试验饲料组成及营养水平(干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)

项目	饲料蛋白质水平 (%)					
	31.30	34.92	38.54	42.22	45.91	49.72
鱼粉	20.20	25.60	31.00	36.50	42.00	47.70
豆粕	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00
磷虾粉	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
糊精	25.40	20.50	15.50	10.50	5.40	0
α-淀粉	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
鱼油	5.90	5.40	5.00	4.50	4.10	3.80
大豆卵磷脂	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
明胶	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
氯化胆碱	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
磷酸二氢钙	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
维生素预混料	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
合计	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平						
干物质	92.66	93.14	92.32	92.57	93.89	92.29
粗蛋白	31.30	34.95	38.54	42.22	45.91	49.72
粗脂肪	9.48	9.44	9.60	9.56	9.61	9.73
粗灰分	7.29	7.83	8.23	8.82	9.16	9.75
总能(MJ/kg)	16.23	16.27	16.17	16.25	16.21	16.17
蛋能比(g/MJ)	19.29	21.47	23.84	25.98	28.32	30.75

注: 1) 每千克维生素预混料含有: VA 4 200 IU, VD 2 200 IU, VE 20 mg, VK 12 mg, VB₁ 10 mg, VB₂ 10 mg, VB₆ 12 mg, VB₁₂ 0.008 mg, 烟酸 30 mg, D-泛酸钙 30 mg, 叶酸 3 mg, 生物素 0.2 mg, 肌醇 60 mg; 2) 每千克矿物质预混料含有: MnSO₄·4H₂O 10 mg, CuSO₄·5H₂O 1.5 mg, 0.99% KIO₃ 0.6 mg, 1% Na₂SeO₃ 0.05 mg, NaCl 2.5 mg, KI 0.5 mg, CoCl₂·6H₂O 0.05 mg; 3) 总能为计算值, 其他营养水平均为实测值

试验期间, 每天分 4 次(8: 00、11: 00、14: 00 和 17: 30)投喂试验饲料(表 1 配方), 日投喂量按乌贼体

重的 15%。每隔 10 天测量体重和胴长, 调整投喂量。日换水 2 次, 每次换水量 80%, 定期清洗塑料筛框。

试验条件: 水温 20~23℃, 盐度 20~27, 溶氧>5 mg/L, pH 为 7.4~7.8。试验期为 30 d。

1.3 样品采集

试验结束后, 停止投喂 24 h, 统计每框乌贼数量, 每个塑料筛框随机取 8~10 只乌贼, 每只乌贼测量体重、胴长后解剖, 单独分离出各个乌贼的胃、肝脏、胰脏和肠道, 放入-80℃冰箱保存, 用于酶活测定; 剩余部分取肌肉, 放入-20℃冰箱保存, 用于肌肉成分分析。每只乌贼的胃、肝脏、胰脏、肠道和肌肉均单独采集并保存待测。

1.4 肌肉成分测定方法

水分含量采用 105℃烘干恒重法进行测定, 灰分含量采用马福炉 550℃高温灼烧法进行测定, 粗蛋白含量采用凯氏定氮法进行测定, 粗脂肪含量采用索氏抽提法进行测定。

1.5 酶活性测定方法

4 种消化酶(胃蛋白酶、胰蛋白酶、肠道脂肪酶、肠道淀粉酶)和 4 种肝脏酶(谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶)均采用南京建成生物技术有限公司试剂盒(A080-1、A080-2、C016、A054 和 C009-1、C010-1、A059-1、A001-1)测定, 相应操作均参照说明书进行。

1.6 数据统计与分析

计算增重率(Weight gain rate, WGR, %)、特定生长率(Specific growth ratio, SGR, %/d)、成活率(Survival rate, SR, %)、饲料系数(Feed conversion ratio, FC)、蛋白质效率(Protein efficiency ratio, PER)、肥满度(Condition factor, CF, g/cm³)及肝体比

(Hepatosomatic index, HSI, %), 计算公式如下:

增重率(WGR, %)=100×(末均重-初均重)/初重;

特定生长率(SGR, %/d)=100×(ln 终末体重-ln 初始体重)/饲养天数;

成活率(SR, %)=100×终末尾数/初始尾数;

饲料系数(FC)=投饲总量/(终末体重-初始体重);

蛋白质效率(PER, %)=100×(终末体重-初始体重)/蛋白摄入量;

肥满度(CF, g/cm³)=100×体重/体长³;

肝体比(HSI, %)=100×肝脏重/体重。

数据均以平均值±标准差(Mean±SD)表示。用 SPSS 18.0 软件对所有数据进行单因子方差分析(One-way ANOVA), 当各组间差异显著($P<0.05$)时, 进行 Duncan 多重比较。

2 结果与分析

2.1 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期生长性能的影响

由表 2 可知, 各组乌贼的末均体重、增重率、特定生长率和成活率随着饲料蛋白质水平的增加而显著上升, 均在蛋白质水平为 45.91%时达到最高值, 45.91%和 49.72%蛋白质水平组的末均体重、增重率、特定生长率和成活率均显著高于其他各组($P<0.05$)。饲料系数随饲料蛋白质水平的增加呈先降后升的趋势, 在饲料蛋白质水平为 45.91%时最低(2.57±0.27), 显著低于除 49.72%组外的其他各组。蛋白质效率随着饲料中蛋白质水平的升高呈先稳定后下降趋势, 以蛋白质水平为 31.30% 时最高(29.02±2.02)%, 蛋白质水平为 49.72%时最低(23.06±1.93)%。饲料蛋白质水平对肥满度与肝体比未产生显著影响($P>0.05$)。

表 2 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期生长性能的影响

Tab. 2 Effects of dietary protein level on growth performance of *Sepia lycidas* during early growth period

项目	饲料蛋白质水平(%)					
	31.30	34.92	38.54	42.22	45.91	49.72
初均体重(g)	4.01±0.08	4.03±0.02	3.96±0.05	3.92±0.07	3.97±0.06	4.01±0.05
末均体重(g)	6.67±0.27 ^a	6.82±0.30 ^a	7.83±0.42 ^b	8.83±0.32 ^c	9.62±0.54 ^d	9.70±0.45 ^d
增重率(%)	65.26±26.52 ^a	66.33±17.27 ^a	96.56±28.07 ^b	123.25±10.82 ^c	147.90±15.73 ^d	143.87±23.23 ^d
肥满度(g/cm ³)	3.84±0.42	3.72±0.14	3.71±0.20	3.73±0.17	3.96±0.18	3.94±0.28
肝体比(%)	4.02±0.16	3.97±0.29	4.03±0.20	3.86±0.25	3.98±0.15	4.09±0.25
特定生长率(%/d)	1.72±0.07 ^a	1.81±0.10 ^a	2.29±0.07 ^b	2.73±0.06 ^c	3.00±0.01 ^d	2.96±0.05 ^d
饲料系数	5.24±0.15 ^a	5.05±0.17 ^a	3.77±0.23 ^b	2.93±0.11 ^c	2.57±0.27 ^d	2.60±0.16 ^d
成活率(%)	44.00±3.46 ^a	45.33±5.15 ^a	58.33±2.32 ^b	67.02±2.37 ^c	73.78±2.10 ^d	73.33±2.63 ^d
蛋白质效率(%)	29.02±2.02 ^a	28.73±2.54 ^a	28.27±1.87 ^a	26.79±1.96 ^b	25.13±2.32 ^c	23.06±1.93 ^d

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

2.2 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期肌肉成分的影响

由表 3 可知, 投喂配合饲料蛋白水平为 45.91% 组, 乌贼肌肉粗蛋白质含量最高(14.86±0.17)%, 显著高于除 49.72%组外的其他各组($P<0.05$); 粗脂肪含量最低(0.12±0.01)%, 显著低于其他各组($P<0.05$); 而肌肉水分和粗灰分含量不受饲料蛋白质水平的影响($P>0.05$)。

2.3 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期消化酶活性的影响

由表 4 可知, 胃蛋白酶、胰蛋白酶和肠道脂肪酶活性随饲料蛋白质水平的增加呈先升后降的趋势, 均在蛋白质水平为 45.91%时达到最高值, 42.22%和 45.91%蛋白质水平组的胃蛋白酶、胰蛋白酶活性显著高于其他各组($P<0.05$), 45.91%蛋白质水平组的脂肪酶活性显著高于其他各组($P<0.05$)。肠道淀粉酶活性随饲料蛋白质水平的增加呈先降后升的趋势, 在饲料蛋白质水平为 45.91%时最低, 显著低于其他各

组($P<0.05$)。

2.4 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期肝脏酶活性的影响

由表 5 可知, 肝脏谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性随饲料蛋白质水平的增加呈先升后稳定的趋势, 均在饲料蛋白质水平为 49.72%时达到最大值, 显著高于除 45.91%组外的其他各组($P<0.05$); 肝脏超氧化物歧化酶活性随饲料蛋白质水平的增加呈先升后降的趋势, 在饲料蛋白质水平为 45.91%时达到最高值, 与其他各组均有显著差异($P<0.05$); 而饲料蛋白质水平对碱性磷酸酶活性影响不显著($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期生长性能的影响

目前关于乌贼配合饲料方面的研究鲜有报道, 仅见叶坤等^[14]报道了饲料蛋白质水平对曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)生长和饲料利用率的影响, 得

表 3 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期肌肉成分的影响(湿重基础)

Tab. 3 Effects of dietary protein level on muscle composition of *Sepia lycidas* during early growth period (fresh weight basis)

项目(%)	饲料蛋白质水平(%)					
	31.3	34.92	38.54	42.22	45.91	49.72
水分	73.68±1.03	73.75±0.79	74.45±0.33	74.63±0.24	74.61±0.65	74.8±0.56
粗蛋白质	14.16±0.23 ^a	14.20±0.13 ^a	14.36±0.08 ^b	14.43±0.12 ^c	14.86±0.17 ^d	14.77±0.24 ^d
粗脂肪	0.16±0.01 ^a	0.16±0.01 ^a	0.15±0.01 ^b	0.14±0.01 ^c	0.12±0.01 ^d	0.14±0.01 ^c
灰分	1.53±0.05	1.56±0.03	1.47±0.07	1.59±0.03	1.56±0.04	1.42±0.08

表 4 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期消化酶活性的影响

Tab. 4 Effects of dietary protein level on intestinal digestive enzyme activities of *Sepia lycidas* during early growth period

项目	饲料蛋白质水平(%)					
	31.30	34.92	38.54	42.22	45.91	49.72
胃蛋白酶(U/mL)	4.74±0.34 ^a	5.40±0.56 ^b	6.86±0.27 ^c	8.09±0.52 ^d	8.35±0.43 ^d	7.73±0.61 ^c
胰蛋白酶(U/mgprot)	824.86±45.25 ^a	917.3±33.14 ^b	939.41±21.22 ^b	1112.81±28.56 ^c	1135.75±23.24 ^c	1020.66±33.52 ^d
淀粉酶(U/gprot)	197.97±8.71 ^a	173.51±5.65 ^b	154.62±5.62 ^c	150.4±5.51 ^c	141.66±6.67 ^d	157.36±6.43 ^c
脂肪酶(U/gprot)	18.79±0.64 ^a	20.82±0.63 ^b	21.2±0.53 ^b	23.26±0.62 ^c	25.37±0.67 ^d	24.61±0.38 ^c

表 5 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期肝脏酶活性的影响

Tab. 5 Effects of dietary protein level on liver enzyme activities of *Sepia lycidas* during early growth period

项目	饲料蛋白质水平 (%)					
	31.30	34.92	38.54	42.22	45.91	49.72
谷丙转氨酶(U/gprot)	34.83±0.16 ^a	34.52±0.12 ^a	36.95±0.18 ^b	37.13±0.19 ^b	38.68±0.16 ^c	38.97±0.24 ^c
谷草转氨酶(U/gprot)	57.26±0.28 ^a	59.36±0.07 ^b	65.21±0.11 ^c	64.64±0.17 ^c	67.87±0.16 ^d	68.20±0.12 ^d
碱性磷酸酶(U/L)	33.81±5.53	34.64±4.27	35.16±3.62	34.13±6.14	35.38±3.70	35.25±3.54
超氧化物歧化酶(U/gprot)	76.63±3.72 ^a	79.26±0.96 ^a	90.18±0.71 ^b	91.48±0.63 ^b	107.12±0.97 ^c	97.96±2.32 ^d

出最佳的饲料蛋白质水平为 45.9%~51.5%；罗云云等^[15]报道了曼氏无针乌贼人工配合饲料的物理性状。但在其他软体动物的相关研究表明，饲料中适宜的蛋白质水平可以促进其生长和饲料利用效率^[16-19]。本试验表明，饲料不同蛋白质水平对拟目乌贼生长前期的增重率、特定生长率和饲料系数显著影响，均以投喂饲料蛋白质水平 45.91% 组最佳，过低的饲料蛋白质水平不能满足拟目乌贼的正常生长需求，会导致拟目乌贼生长缓慢、饲料利用率下降。在蛋白质水平相对较低组(蛋白质水平小于 34.92%)中，出现部分乌贼生长畸形(胴宽变小、胴体消瘦、肉鳍不规则)的现象，这可能是因为过低的饲料蛋白质水平无法满足乌贼机体需求，摄入的蛋白质用于维持乌贼机体正常代谢的同时，用于其生长的比例则会相对减少，从而导致乌贼生长缓慢，甚至出现负增长的现象。本试验中，拟目乌贼的成活率随着饲料蛋白质水平的增加呈先升后稳定趋势，这与曼氏无针乌贼的研究结果一致^[14]。在试验过程中发现，在蛋白质水平相对较低组(小于 34.92%)中，当拟目乌贼出现生长畸形时，会表现出明显的活力下降、摄食减少的现象，出现畸形现象 3~4 d 后，乌贼开始漂浮水面、停止进食，一周后则会死亡，从而严重影响成活率。本试验中，蛋白质效率随饲料蛋白质水平的增加呈先稳定后下降的趋势，这与曼氏无针乌贼的研究结果一致^[14]，这可能是由于饲料中过高的蛋白质会用于乌贼能量消耗，从而导致蛋白质效率下降。

3.2 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期肌肉成分的影响

本试验表明，拟目乌贼肌肉粗蛋白质和粗脂肪含量受饲料蛋白质水平影响显著，而水分和灰分不受饲料蛋白质水平的影响。随着饲料蛋白质水平增加，乌贼肌肉粗蛋白含量呈上升趋势，粗脂肪含量呈先降后升的趋势。杜学星等^[20]研究表明随着饲料蛋白质水平的增加，管角螺(*Hemifusus tuba*)肌肉的粗蛋白含量逐渐上升，这和本试验结果相吻合。Peter 等^[21]认为，适宜的蛋白质水平能促进南非鲍(*Haliotis rubra*)蛋白质合成，抑制脂肪蓄积；当饲料蛋白质水平过低或过高时，都会对其脂肪代谢关键酶基因的表达造成影响，进而影响南非鲍的体脂沉积。本试验结果中，当饲料蛋白质水平达到 49.72% 时，乌贼粗脂肪含量显著升高，与前者的结果一致。因此，过低和过高的饲料蛋白质水平均会导致拟目乌贼肌肉脂肪含量的升高；而其原因可能是，在适

宜的饲料蛋白质水平条件下，具有合适的蛋能比，能够促进拟目乌贼蛋白质的合成，从而抑制体脂的蓄积；而另一方面，饲料蛋白质水平可能通过调控拟目乌贼能量代谢关键酶基因的表达，来影响其体脂的沉积。

3.3 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期消化酶活性的影响

本试验表明，拟目乌贼的胃蛋白酶、胰蛋白酶和肠道脂肪酶随饲料蛋白质水平呈先增后降的趋势，在蛋白质水平为 45.91% 时达到最高值，在胡子鲇(*Clarias fuscus*)^[22] 和刺参(*Apostichopus japonicus*)^[23] 等水产动物的研究中也有相似的变化趋势。吴永恒等^[21]研究表明，刺参的胰蛋白酶和肠道脂肪酶活性在一定范围内随着饲料蛋白质水平的增加而升高，但当超过最适蛋白质水平后，胃蛋白酶和脂肪酶活性无显著变化；Mukhopadhyay 等^[22]在胡子鲇的研究中发现，当饲料中蛋白质水平超过 50% 后，胃蛋白酶活性并不会随着饲料蛋白质水平的升高而继续增加。所以在一定范围内，饲料蛋白质水平的增加会促进乌贼体内胃蛋白酶、胰蛋白酶和肠道脂肪酶的分泌，以增强拟目乌贼的消化吸收功能，促进机体蛋白质的合成，有利于其生长^[16]，而过高的饲料蛋白质水平可能会引发负反馈调节，致使酶活下降^[24]。本试验中，当饲料蛋白质水平达到 49.72% 时，胃蛋白酶、胰蛋白酶和肠道脂肪酶活性均显著低于 45.91% 组，可以看出，在消化酶活性比较上，49.72% 已超过拟目乌贼生长前期最适宜的饲料蛋白水平。因此，过低和过高的饲料蛋白质水平都会导致拟目乌贼消化能力降低，饲料不能被充分利用的同时，其生长发育也会受到影响。肠道淀粉酶活性随着饲料蛋白质水平增加呈先降后升的趋势，在蛋白质水平为 45.91% 时达到最小值，与刺参的研究结果不一致^[22]，这可能是由于试验对象不同，淀粉酶的分泌器官存在差异，以及试验对象的食性、生理特点不同等因素有关。至于拟目乌贼消化酶活性变化的具体机制，则需要研究其消化酶基因的表达来进一步的探讨。

3.4 饲料蛋白质水平对拟目乌贼生长前期肝脏酶活性的影响

蛋白质代谢以氨基酸为核心，饲料中的蛋白质都要降解为氨基酸才能被机体利用，肝脏中的谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)参与氨基酸代谢，这两种关键酶活性的变化能反应肝功能的状况^[25]。

当肝细胞受到损伤时, GPT 和 GOT 会从肝细胞中释放出来, 进去血液, 使肝组织中的酶活性下降^[26]。碱性磷酸酶(AKP)是一种结合在细胞膜上的金属酶, 在重金属离子污染的水体中, AKP 的活性会发生变化^[27]; 肝脏是机体清理重金属离子最主要的器官, 当重金属离子浓度增加或影响时间延长而超出肝脏的解毒能力时, 肝脏酶活性就会受到抑制, 从而影响肝功能^[28]。超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内重要的抗氧化酶之一, 能清除自由基、预防或修复肝损伤^[13]。本试验中发现, 随着饲料蛋白质水平增加, 肝脏中 GPT 和 GOT 含量先上升后稳定, 在饲料蛋白质水平为 45.91%时达到稳定, 当蛋白质水平继续增加时, GPT 和 GOT 含量无显著变化。这可能是由于当饲料蛋白质水平过高时, 饲料中的蛋白质含量超过了乌贼的需要量, 过剩的蛋白质合成脂肪, 积累在肝脏中, 引起肝脏损伤, 导致肝脏中 GOT 和 GPT 出现外溢现象, 使得肝脏中 GPT 和 GOT 含量不再随着蛋白质水平增加而升高^[26]。由此可见, 肝脏的健康程度在一定程度上受到了饲料蛋白质水平的影响, 过高的饲料蛋白质水平可导致肝脏损伤。随着饲料蛋白质水平增加, AKP 活性无显著变化, 均处于正常水平, 这说明试验过程中, 乌贼肝脏未受到重金属离子的影响。SOD 活性随饲料蛋白质水平的增加, 呈先升后降的趋势, 在饲料蛋白质水平为 45.91%时达到最高值, 过低或过高的饲料蛋白质水平下, SOD 均显著下降, 说明饲料蛋白质水平影响了乌贼肝脏的 SOD 活性。Roche & Bog 等^[29]认为, 在外界污染条件下, 有机体会产生更多的活性氧自由基, 若抗氧化酶活性降低, 过多的活性氧自由基会对细胞或组织造成严重的破坏, SOD 活性的降低表明有机体对超氧阴离子的清除能力下降。这个结果可能预示着, 饲料蛋白质水平过低或过高, 都会降低拟目乌贼对氧化胁迫的耐受性, 更易受到氧化胁迫的威胁。

4 结论

饲料蛋白水平对拟目乌贼生长前期的生长性能、肌肉组成、消化酶活性和肝脏酶活性影响显著, 通过各项指标和生产成本方面综合得出, 生长前期拟目乌贼饲料中适宜的蛋白质水平为 45.91%。

参考文献:

[1] 文菁, 江星, 王雁, 等. 拟目乌贼繁殖行为学的初步研究[J]. 水产科学, 2012, 31(1): 22-27.

Wen Qing, Jiang Xing, Wang Yan, et al. The reproductive behavior of cuttlefish *Sepia lycidas*[J]. Fisheries Science, 2012, 31(1): 22-27.

[2] 罗江, 蒋霞敏, 唐锋, 等. 拟目乌贼精子发生和精子的超微结构[J]. 动物学杂志, 2014, 49(1): 71-82.

Luo Jiang, Jiang Xiamin, Tang Feng, et al. Ultrastructure of Spermatogenesis and Mature Spermatozoa in *Sepia lycidas*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2014, 49(1): 71-82.

[3] 罗江, 蒋霞敏, 彭瑞冰, 等. 拟目乌贼生殖系统的组织学研究[J]. 水产学报, 2014, 38(7): 946-955.

Luo Jiang, Jiang Xiamin, Peng Ruibing, et al. Histology of reproductive system in *Sepia lycidas*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(7): 946-955.

[4] 蔡文飞, 徐海洪, 陈道海, 等. 温度对拟目乌贼幼体日生长率和成活率的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2012, 34(4): 63-66.

Cai Wenfei, Xu Haihong, Chen Daohai, et al. Effects of temperature on growth rate and survival rate in cuttlefish (*Sepia lycidas*) larvae[J]. Amino Acids and Biotic Resources, 2012, 34(4): 63-66.

[5] 彭瑞冰, 蒋霞敏, 乐可鑫, 等. 盐度对拟目乌贼生长和生化成分的影响[J]. 海洋环境科学, 2014, 33(5): 719-723.

Peng Ruibing, Jiang Xiamin, Le Kexin, et al. Effect of salinity effects on growth and biochemical composition of *Sepia lycidas*[J]. Marine Environmental Science, 2014, 33(5): 719-723.

[6] 徐海洪, 蔡文飞, 周淑进, 等. 拟目乌贼幼体日摄食量及其对体重的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2012, 34(4): 67-70.

Xu Haihong, Cai Wenfei, Zhou Shujin, et al. Daily food consumption and its effect on the larvae body weight of *Sepia lycidas*[J]. Amino Acids and Biotic Resources, 2012, 34 (4): 67-70.

[7] 陈道海, 颜蓉, 文菁, 等. 盐度对拟目乌贼受精卵卵径、重量和孵化率的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(3): 8-12.

Chen Daohai, Yan Rong, Wen Jing, et al. Effect on diameter, weight and hatchability of fertilized egg of cuttlefish(*Sepia lycidas*) by different salinity water environment[J]. Amino Acids and Biotic Resources, 2013, 35(3): 8-12.

[8] 陈道海, 郭永平, 文菁, 等. 不同盐度下拟目乌贼胚胎发育过程研究[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(5): 1282-1287.

Chen Daohai, Guo Yongping, Wen Jing, et al. Salinity impact on embryonic development of cuttlefish *Sepia lycidas*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(5): 1282-1287.

[9] 蒋霞敏, 彭瑞冰, 罗江, 等. 温度对拟目乌贼胚胎发育及幼体的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(5): 1453-1460.

Jiang Xiamin, Peng Ruibing, Luo Jiang, et al. Effects of

- temperature on the embryonic development and larval growth of *Sepia lycidas*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(5): 1453-1460.
- [10] 彭瑞冰, 蒋霞敏, 于曙光, 等. 几种生态因子对拟目乌贼胚胎发育的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(20): 6560-6568.
Peng Ruibing, Jiang Xiamin, Yu Shuguang, et al. Effect of several ecological factors on embryonic development of *Sepia lycidas*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(20): 6560-6568.
- [11] 唐锋, 蒋霞敏, 罗江, 等. 拟目乌贼受精卵孵化及室内附卵基附卵效果的研究[J]. 生物学杂志, 2013, 30(6): 54-58.
Tang Feng, Jiang Xiamin, Luo Jiang, et al. The study of the optimal ambient environment on egg hatching and the effect of different spawning substrates on adhesion to newly spawned eggs of *Sepia lycidas*[J]. Journal of Biology, 2013, 30(6): 54-58.
- [12] Lall S P, Dumas A. Nutritional requirements of cultured fish: Formulating nutritionally adequate feeds[J]. Feed and Feeding Practices in Aquaculture, 2015: 53-109.
- [13] 王君明, 崔瑛, 王峥涛, 等. 超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 265-269.
Wang Junming, Cui Ying, Wang Zhengtao, et al. Research progress of superoxide dismutase involved in liver injury[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(7): 265-269.
- [14] 叶坤, 王秋荣, 席峰, 等. 饲料蛋白质水平对曼氏无针乌贼生长性能和饲料利用率的影响[J]. 集美大学学报, 2012, 17(4): 247-252.
Ye Kun, Wang Qiurong, Xi Feng, et al. Effects of the dietary protein levels on the growth and feed utilization of *Sepiella maindroni*[J]. Journal of Jimei University, 2012, 17(4): 247-252.
- [15] 罗云云, 林利民, 王秋荣, 等. 曼氏无针乌贼人工配合饲料物理性状的研究[J]. 集美大学学报, 2013, 18(1): 14-17.
Luo Yunyun, Lin Limin, Wang Qiurong, et al. Physical properties of artificial diets for juvenile *Sepiella maindroni*[J]. Journal of Jimei University, 2013, 18(1): 14-17.
- [16] Yang S D, Liou C H, Liu F G. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*)[J]. Aquaculture, 2002, 213(1/2/3/4): 363-372.
- [17] Coutinho F, Peres H, Guerreiro I, et al. Dietary protein requirement of sharpsnout sea bream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) juveniles[J]. Aquaculture, 2012, 356/357: 391-397.
- [18] 许贻斌, 柯才焕, 王德祥, 等. 方斑东风螺对饲料蛋白质需要量的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45: 216-220.
Xu Yibin, Ke Caihuan, Wang Dexiang, et al. Studies on protein requirement of *Babylonia areolata* link[J]. Journal of Xiamen University, 2006, 45: 216-220.
- [19] 罗俊标, 骆明飞, 李勇. 配合饲料中不同蛋白含量对方斑东风螺稚螺生长和体组成的影响[J]. 水产养殖, 2014, 35(1): 11-16.
Luo Junbiao, Luo Mingfei, Li Yong. The effect of diet protein levels on growth performance and body composition of *Babylonia areolata*[J]. Journal of Aquaculture, 2014, 35(1): 11-16.
- [20] 杜学星, 蒋霞敏, 姜小敏. 管角螺幼螺配合饲料中蛋白质适宜含量的研究[J]. 生物学杂志, 2013, 30(3): 54-58.
Du Xuexing, Jiang Xiamin, Jiang Xiaomin. Study on the appropriate protein content in compound feed of *Hemifusus tuba* larvae[J]. Journal of Biology, 2013, 30(3): 54-58.
- [21] Peter J B, Thomas H. Effect of dietary protein and energy level on growth and body composition of South African abalone, *Haliotis midae*[J]. Aquaculture, 1997, 156: 195-210.
- [22] Mukhopadhyay P K, Dehadrai P V, Banerjee S K. Studies on intestinal protease: Isolation, purification and effect of dietary proteins on alkaline protease activity of the air-breathing fish, *Clarias batrachus* (Linn)[J]. Hydrobiologia, 1978, 57(1): 11-15.
- [23] 吴永恒, 王秋月, 冯政夫, 等. 饲料粗蛋白含量对刺参消化酶及消化道结构的影响[J]. 海洋科学, 2012(1): 36-41.
Wu Yongheng, Wang Qiuyue, Feng Zhengfu, et al. Effect of crude protein content on feed digestion and digestive enzymes and structure of *Apostichopus japonicus*[J]. Marine Science, 2012(1): 36-41.
- [24] Matthew S B, James O H. Growth and feed utilisation of juvenile greenlip abalone(*Haliotis laevis*) in response to water temperatures and increasing dietary protein levels[J]. Aquaculture, 2015, 436: 13-20.
- [25] Malbrou C, Trausch G, Devos P, et al. Hepatic accumulation and effects of microcystin-LR on juvenile gold fish *Carassius auratus* L[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 2003, 135: 39-48.
- [26] Hilmy A M, Shabana M B, Daabeas A Y. Effects of cadmium toxicity upon the in vivo and in vitro activity of protein and five enzymes in blood serum and tissue homogenates of *Mugil cephalus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 1985, 81: 145-153.
- [27] Asgerisson B, Hartemink R, Chlebowsky J F. Alkaline phosphatase from Atlantic cod (*Gadus morhua*) Kinetic and structural properties which indicate adaptation to low temperatures[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1995, 110(B): 315-329.
- [28] 舒琥, 黄家惠, 李海燕, 等. 汞对罗非鱼血细胞和肝脏碱性磷酸酶活性的影响[J]. 广东农业科学, 2011, 13: 114-118.
Su Hu, Huang Jiahui, Li Haiyan, et al. Effects of mercury on blood cells and alkaline phosphatase activity in liver of *Tilapia niloticus*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2011, 13: 114-118.

[29] Roche H, Bog G. Fish blood parameters as potential tool for identification of stress caused by environmental

factors and chemical intoxication[J]. Marine environmental research, 1996, 41: 27-33.

Effects of dietary protein level on growth, muscle composition, and enzyme activity of *Sepia lycidas* during early growth period

WANG Yuan, JIANG Xia-min, LE Ke-xin, HAN Qin-xi, PENG Rui-bing, LIANG Jing-jing, WANG Peng-shuai

(School of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Jun. 2, 2015

Key words: *Sepia lycidas*; protein level; growth; muscle composition; enzyme activities

Abstract: In this study, we determined the effects of the dietary protein level on the growth rate, muscle composition, and activities of digestive and liver enzymes of *Sepia lycidas* during the early growth period of the lifecycle. Six experimental diets were formulated, including fishmeal, soybean meal, and gelatine as protein sources, at various protein levels (31.5%, 35.0%, 38.5%, 42.0%, 45.5%, and 49.0%). Totally 540 *Sepia lycidas* with an average body weight of 3.99 ± 0.08 g were randomly assigned into these six dietary groups; this produced groups containing thirty fish with three replicates, providing a total of ninety fish per group. It was found that at the 45.91% protein level, *Sepia lycidas* achieved the optimum growth rate. At this protein level, the weight gain rate, special gain rate, and survival rate showed significant difference from all other protein groups ($P < 0.05$), with the exception of the 49.72% group ($P > 0.05$). Along with the increase of the dietary protein level, the feed conversion ratio initially decreased and then increased, with the lowest value found at the 45.91% protein level, which is significantly lower than those of the other groups ($P < 0.05$), with the exception of the 49.72% group ($P > 0.05$). The protein efficiency ratio significantly decreased as the dietary protein level increased ($P < 0.05$). The condition factor and hepatosomatic index in muscles were not affected by the dietary protein level ($P > 0.05$). As the protein level was increased up to 45.91%, the activities of protease, trypsin, lipase, and hepatic superoxide dismutase (SOD) increased and were significantly higher than those of other groups ($P < 0.05$). Lipase and SOD continued to increase and showed the maximum activity at the 49.72% ($P > 0.05$) protein level. Meanwhile, the intestinal amylase activity showed the opposite trend. Levels of hepatic glutamate pyruvate transaminase and glutamic oxaloacetic transaminase initially increased before reaching a plateau, with the highest values being observed at the 49.72% dietary protein level, which was significantly higher than those of other groups ($P < 0.05$), with the exception of values at the 45.91% dietary protein level ($P > 0.05$). The alkaline phosphatase activity was not found to be affected by the dietary protein level ($P > 0.05$). *Sepia lycidas* achieved the highest crude protein content at the 45.91% dietary protein level, which was significantly higher than those at other levels ($P < 0.05$), with the exception of the 45.91% level ($P > 0.05$). Juvenile *Sepia lycidas* had the lowest crude lipid content in muscles. The dietary protein levels had no significant effect on the moisture and ash content in muscles ($P > 0.05$). Results indicated that the 45.91% dietary protein level was sufficient to satisfy the growth requirements of *Sepia lycidas* during the early growth period.

(本文编辑: 康亦兼)