

蛋白质与饱食度对工厂化养殖半滑舌鲷 生长与免疫的影响

王美琴¹ 李勇^{2*} 车向荣¹ 王华² 夏苏东² 孙国祥²

(¹山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

(²中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要 在封闭循环水养殖条件下, 进行5×3双因素随机设计动物试验, 即5种饲料蛋白质水平(43%、46%、49%、52%和56%; 以A—E组表示)和3种饲喂饱食度水平(100%、90%和80%; 以I、II和III水平表示), 共15个处理, 每处理3重复, 试验期108 d。探寻蛋白质营养与饱食度对工厂化养殖半滑舌鲷幼鱼(110±25 g)生长与免疫的影响。结果表明, (1)高蛋白水平与高饱食度投喂的增重效果最佳, E组增重率极显著高于其他组13.75%~50.16%, I水平比II和III水平分别极显著提高7.57%和14.08%; 中蛋白水平蛋白效率较高而死亡率最低, C组死亡率比其他组降低50%~75%; 低饱食度的饲料利用率和蛋白质效率最高, III水平比I、II水平分别显著高4.78%和5.32%。(2)中蛋白水平和高饱食度有利于提高超氧化物歧化酶(SOD)活力, C组比其他组显著提高4.2%~34.79%, I水平分别比II和III水平极显著高15.27%和25.70%; 中蛋白水平和90%饱食度有利于提高溶菌酶(LZM)活力, C组比其他组极显著提高4.61%~18.07%, II水平比I和III水平分别极显著高12.03%和4.58%; 中高蛋白水平和高饱食度有利于提高补体C3和C4活力。(3)获得工厂化养殖半滑舌鲷幼鱼最大生长的饲料蛋白质水平为56%; 最佳免疫力和蛋白效率的饲料蛋白质水平为49%~52%。

关键词 半滑舌鲷 蛋白水平 饱食度 生长性能 免疫力

中图分类号 S963.7 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)04-0027-11

Effects of protein and satiation degrees on growth and immunity of *Cynoglossus semilaevis* Günther in industrial culture

WANG Mei-qin¹ LI Yong^{2*} CHE Xiang-rong¹ WANG Hua²
XIA Su-dong² SUN Guo-xiang²

(¹ Animal Science Technology Academy, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801)

(² Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The 5×3 two-factor random animal experiment was conducted for 108 days to determine the effects of protein levels and satiation degrees on growth performance and immunity activity of juvenile *Cynoglossus semilaevis* Günther (with average initial weight of 110±25g)

国家高技术研究发展计划重点项目(2006AA100305)资助

* 通讯作者。E-mail: lyzhyhy@hotmail.com, Tel: (0532)82898724

收稿日期: 2009-03-21; 接受日期: 2009-05-16

作者简介: 王美琴(1981-), 女, 硕士, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: sxndwangmq@163.com. Tel: (0532)82898724

in the industrial culture condition with closed recirculation seawater. The trial fish were randomly allocated into 15 triplicated treatments, with five diets at protein levels of 43%, 46%, 49%, 52%, 56% (A-E groups) and three satiation degrees of feeding (100%, 90% and 80%, as I and II and III degree). The results indicated that: (1) the best weight gain were found in both the highest protein level and the highest satiation degree. Weight gain ratio in group E was significantly higher than the other groups (13.75%~50.16%), and that of degree I was significant higher than degree II and III (7.57% and 14.08%), respectively; higher protein efficiency ratio and the minimum mortality appeared in the intermediate protein level, mortality ratio of group C was lower than the others (50%~75%) the highest feed conversion ratio and protein efficiency ratio were present in the lowest satiation degree, for which degree III was higher than the others (4.78% and 5.32%), respectively. (2) the intermediate protein level and the highest satiation degree were stimulative to enhancing SOD activity, group C was significantly higher than the other groups (4.2%~34.79%) degree I was significant higher than degree II and III (15.27% and 25.70%), respectively; the intermediate protein level and 90% satiation were good for promoting LZM activity, group C was significant higher than the other groups (4.61%~18.07%), degree II was significant higher than degree I and III (12.03% and 4.58%), respectively; the intermediate and higher protein level and the highest satiation degree were stimulative to enhancing complement C3, C4 activity; (3) the protein level of feed for maximum growth of juvenile *C. semilaevis* Günther in the industrial culture condition was 56%, but for optimal immunity activity and protein efficiency ratio was 49%~52%.

KEY WORDS *Cynoglossus semilaevis* Günther Protein levels Satiation degree
Growth performance Immunity activity

营养物质不仅是鱼类正常生长发育必需的物质基础,而且在维持免疫系统功能中起重要作用(Chandra 1996; Wu *et al.* 1999)。蛋白水平过高或过低都会降低动物机体的免疫和抗病力,而蛋白质处于适宜水平时则增强机体的免疫功能(张瑞莉等 2001)。目前关于蛋白质营养水平对水产动物免疫力影响的研究非常缺乏(刘栋辉等 2004;杨严欧等 2006;谢国驹等 2007)。随着我国水产养殖集约化程度的提高,动物亚健康及病害的增多,进行蛋白质营养与免疫的研究显得尤为重要。

科学投饲是养殖管理技术的重要环节,代表着养殖水平的高低。投饲量过少,会导致鱼体营养缺乏,生长参差不齐;投饲量过多,则造成浪费与成本增加,尤其是加重了水环境污染,亚健康和病害增加,总体效益下降。关于投饲率和投饲频率对水产动物生长的研究已有报道(王吉桥等 2005;杨严欧 2007;Khan *et al.* 2004; Sheenan *et al.* 2005;Sung *et al.* 2006),但是关于投喂饱食度方面的研究尚未见报道。

半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* Günther 是我国传统的名贵海水鱼类,具有营养丰富、口感细滑等特点,近年在我国北方集约化、规模化养殖中不断扩大。关于半滑舌鳎生物学特性(陈京华等 2005)、苗种繁育(柳学周等 2006)和仔稚鱼饲料(常青 2006)等方面已有一些研究,但目前还未见到工厂化养殖半滑舌鳎营养饲料方面的研究,其蛋白质营养与免疫的研究尚属空白。本研究创新地将蛋白营养水平与饱食度两因素结合,探寻在工厂化养殖条件下对半滑舌鳎幼鱼生长与非特异性免疫的影响,旨在确定合理的蛋白质营养与科学的饲料投喂饱食度,为高品质营养免疫型膨化饲料配制和养殖技术实践提供科学依据和指导,从而促进我国工厂化养殖半滑舌鳎的安全、健康和可持续发展。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 试验设计与动物分组

采用5×3双因素随机试验设计,蛋白质因素5个水平:43%、46%、49%、52%和56%,分别以A、B、C、D和E表示;饱食度因素3个水平:100%、90%和80%分别以I、II和III表示,共形成15个处理组:AI, BI…EIII,每处理3重复,每重复25尾鱼。饱食度I水平是确保每次摄食后稍有剩余饲料为宜;饱食度II水平是按饱食度I方法饲喂,隔9d停食1d,使月饱食度为90%;饱食度III水平是按饱食度I方法饲喂,隔4d停食1d,使月饱食度为80%。

试验鱼由天津市海发珍品实业有限公司提供。从养殖车间鱼池中挑选同批次来源,规格整齐、体格健壮的半滑舌鲷幼鱼(初始体重110±25g)125尾随机放入圆形水族桶中。

1.1.2 试验饲料设制

根据试验设计和同质优化方法,确定5种蛋白质梯度水平的试验饲料配方(表1)。饲料原料主要采用秘鲁鱼粉、小麦面粉、玉米蛋白粉、精炼鱼油、肉骨粉、复合微量元素、复合维生素和黏合剂等。原料混匀、超微粉碎后,经大型双螺杆挤压膨化机制成直径为0.25cm的沉性膨化颗粒配合饲料,随机抽取各梯度组饲料样品备分析用。

表1 半滑舌鲷试验饲料组成及主要营养成分含量

Table 1 Ingredients and concentration of nutrients of experimental diets for *Cynoglossus semilaevis* Günther

原料 Material	组别 Groups				
	A	B	C	D	E
秘鲁鱼粉 Peruvian fish meal	50	55	62	71	80
小麦面粉 Wheat flour	28	22	17	12	4
玉米蛋白粉 Corn gluten meal	8	9	7	6	5
精炼鱼油 Refined fish oil	7	7	7	7	7
肉骨粉 Meat and bone meal	3	3	3	0	0
血球蛋白粉 Corpuscle protein	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
黏合剂 Binder	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
复合维生素 Compound vitamin	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
复合微量元素 Compound microelement	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
合计 Total	100	100	100	100	100
营养水平 Nutrition levels					
干物质(%) DM	93.1	93.7	93.6	93.3	93.5
粗蛋白(%) CP	43.3	46.4	49.1	52.4	56.2
钙(%) Ca	2.33	2.43	2.7	2.82	3.17
总磷(%) TP	1.770	1.909	2.098	2.333	2.480
粗纤维(%) CF	0.3	0.4	0.4	0.4	0.5
粗脂肪(%) EE	14.5	14.6	14.6	14.8	15.1
粗灰分(%) Ash	8.5	9.1	10	10.5	11.7

注:表中各营养成分均为实测值

1.1.3 饲养管理

试验于2008年4~8月,在天津市海发珍品实业有限公司工厂化养殖半滑舌鲷车间进行,试验期108d。除采用养殖圆桶外,其他试验条件与实际养殖池相同。试验桶直径1m,高0.7m,每桶配备1个气石。试验桶与养殖车间水处理系统相连,采用封闭循环水养殖,液氧充氧,水温控制在20±2℃,溶氧(8~10)×10⁻⁶,盐度22±1,水深30±2cm。由于半滑舌鲷喜暗光,试验期间除饲养管理操作时开灯,其余时间均为暗光。

试验鱼驯养10d,然后开始投喂试验饲料,日投喂量为初始体重的1%。每天投喂3次(分别为10:00、16:00、22:00),每次饲喂后0.5h,将残饵虹吸,65℃烘干称重,从投饲量中扣除,作为试验鱼的实际采食量。根据残饵的多少及时调整投喂量。发现死亡鱼及时捞出称重、记录。试验开始和结束时,饥饿24h空腹称重。

1.2 检测指标与方法

1.2.1 生长指标

生长性能测定指标及计算公式如下:

- (1) 日均采食量(ADFI)(g/d/条) = (总投喂量 - 总残饵重) / 试验天数 / 条数;
- (2) 增重率(WGR) = (末重 - 初重) / 初重 × 100%;
- (3) 特定生长率(SGR) %/day = $100 \times (\ln \text{末重} - \ln \text{初重}) / \text{试验天数}$;
- (4) 饲料系数(FCR) = 摄食量 / (末重 - 初重);
- (5) 蛋白效率(PER) = (末重 - 初重) / (摄食量 × 蛋白含量)
- (6) 死亡率(MR) % = 死亡鱼数 / 初始鱼数 × 100;
- (7) 比肝重(HSI) = (肝重 / 体重) × 100%

1.2.2 饲料样品检测

采用常规方法(张丽英等 2002)测定试验饲料的营养成分:干物质用 105 °C 烘干至恒重;粗蛋白用微量凯氏定氮法;粗脂肪用索氏抽提法;粗灰分用 550 °C 灼烧法;粗纤维用酸碱法;总磷用磷钼蓝分光光度法;钙采用高锰酸钾滴定法。

1.2.3 免疫指标

1.2.3.1 血液样品采集

试验结束前,饥饿 24 h,每个重复取两条鱼,尾静脉采血,肝素抗凝,4 000 r/min 离心 15 min,取上清液, -20 °C 冷冻,备测定分析超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活力、溶菌酶(Lysozyme, LZM)活力、补体 C3 和 C4 活力。采血后称重,冰盘上解剖,取其肝脏,预冷重蒸水(0~4 °C)冲洗干净,滤纸吸附水分,并称重。

1.2.3.2 指标测定方法

SOD、LZM 活力的测定采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,按说明进行。补体 C3 和 C4 测定采用伊利康生物技术有限公司生产的试剂盒,按照说明,通过半自动生化分析仪(Microlab 300)测定。各指标测定原理简述如下:

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^-),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毫升血清中 SOD 抑制率达到 50% 所对应的 SOD 量为 1 个酶活力单位。

LZM 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。

补体 C3 和 C4 活力:样品中 C3 和 C4 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。通过与同样处理的校准液比较,计算未知样品中 C3 和 C4 的活力。

1.3 统计分析

试验数据用 SPSS 15.0 统计软件的一般线性模型(GLM)进行双因素方差分析,多重比较采用 LSD 和 Duncan 氏法进行,结果用平均数 ± 标准误表示。

2 结果

2.1 生长性能结果

由表 2 双因素试验方差分析结果可见,蛋白质水平与饱食度两个因素对半滑舌鳎幼鱼各生长指标均有明显影响,而互作效应均差异不显著。

表 2 不同处理组半滑舌鲷生长性能的影响
Table 2 Effects of different treatments on growth performance of *Cynoglossus semilaevis* Günther

指标 Index	处理 Treatments		饱食度 (SD)			平均值 Means
	蛋白水平 (PL)		I	II	III	
日均采食量 (g/条/d) Average daily feed intake (ADFI)(g/fish/d)	A		1.529±0.12	1.413±0.13	1.310±0.07	1.417 ^{bc}
	B		1.533±0.14	1.419±0.15	1.315±0.06	1.422 ^b
	C		1.563±0.14	1.425±0.12	1.334±0.11	1.441 ^b
	D		1.584±0.13	1.485±0.15	1.360±0.10	1.476 ^{ab}
	E		1.701±0.10	1.575±0.13	1.452±0.10	1.576 ^a
平均值 Means		1.582 ^a	1.463 ^b	1.354 ^c		
增重率 Weight gain ratio (WGR)	A		1.336±0.03	1.290±0.12	1.208±0.08	1.278 ^h
	B		1.483±0.10	1.353±0.04	1.295±0.06	1.377 ^g
	C		1.664±0.01	1.439±0.06	1.418±0.08	1.507 ^e
	D		1.761±0.07	1.747±0.07	1.551±0.12	1.687 ^c
	E		2.062±0.16	1.890±0.03	1.807±0.11	1.919 ^a
平均值 Means		1.661 ^a	1.544 ^c	1.456 ^d		
特定生长率 Specific growth ratio (SGR)(%/day)	A		0.786±0.01	0.766±0.05	0.733±0.04	0.762 ^h
	B		0.842±0.04	0.792±0.02	0.769±0.03	0.801 ^g
	C		0.907±0.00	0.825±0.02	0.817±0.03	0.850 ^e
	D		0.940±0.02	0.935±0.02	0.867±0.04	0.914 ^c
	E		1.035±0.05	0.982±0.01	0.955±0.04	0.991 ^a
平均值 Means		0.902 ^a	0.860 ^c	0.828 ^c		
饲料系数 Feed coefficient ratio (FCR)	A		1.102±0.04	1.077±0.07	1.045±0.08	1.075 ^a
	B		0.986±0.10	0.994±0.04	0.965±0.09	0.981 ^c
	C		0.946±0.05	0.956±0.04	0.903±0.06	0.935 ^d
	D		0.877±0.03	0.815±0.04	0.802±0.08	0.832 ^f
	E		0.793±0.04	0.785±0.02	0.763±0.05	0.780 ^g
平均值 Means		0.941 ^a	0.925 ^{ab}	0.896 ^b		
蛋白效率 Protein efficiency ratio (PER)	A		2.193±0.08	2.249±0.15	2.320±0.17	2.254 ^c
	B		2.287±0.23	2.256±0.09	2.334±0.20	2.293 ^{ac}
	C		2.289±0.13	2.261±0.10	2.398±0.16	2.316 ^{ac}
	D		2.339±0.07	2.252±0.14	2.573±0.25	2.478 ^c
	E		2.354±0.12	2.376±0.07	2.448±0.15	2.392 ^{ac}
平均值 Means		2.293 ^a	2.333 ^{ab}	2.415 ^b		
死亡率 Mortality ratio (%)(MR)	A		1.33±2.31	2.67±4.62	6.67±4.62	3.56 ^a
	B		4.00±4.00	5.33±2.31	1.33±2.31	3.56 ^a
	C		1.33±2.31	1.33±2.31	0.00±0.00	0.89 ^a
	D		1.33±2.31	2.67±4.61	1.33±2.31	1.78 ^a
	E		2.67±4.62	0.00±0.00	2.67±2.31	1.78 ^a
平均值 Means		2.13 ^a	2.40 ^a	2.40 ^a		
比肝重 Hepatosomatic index (HSI)(%)	A		0.701±0.10	0.785±0.20	0.726±0.17	0.737 ^a
	B		0.668±0.14	0.594±0.08	0.697±0.08	0.653 ^b
	C		0.572±0.12	0.526±0.08	0.599±0.10	0.566 ^c
	D		0.592±0.13	0.456±0.09	0.540±0.10	0.530 ^c
	E		0.521±0.12	0.529±0.04	0.521±0.12	0.523 ^c
平均值 Means		0.611 ^a	0.578 ^a	0.617 ^a		

方差分析结果(P值)The results of analysis of variance (P-value)

影响因素 Factors	日均采食量 (ADFI)	饲料系数 (FCR)	蛋白效率 (PER)	增重率 (WGR)	特定生长率 (SGR)	死亡率 (MR)	比肝重 (HSI)
饱食度(SD) ^a	0.000	0.068	0.098	0.000	0.000	0.964	0.391
蛋白水平(PL) ^b	0.049	0.000	0.030	0.000	0.000	0.280	0.000
交互 a×b (Interaction)	1.000	0.764	0.963	0.485	0.581	0.335	0.497

注:表中数据为平均值±标准误。同一行数据右上角的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),相间字母表示差异极显著(P<0.01)(下同)

2.1.1 日均采食量

蛋白质水平对日均采食量影响差异显著,饱食度影响差异极显著。随蛋白水平增加日均采食量呈持续上升特征,E组分别比A、B和C组极显著或显著提高11.22%(P<0.01)、10.83%和9.37%,且其他4水平间差异不显著。随饱食度水平升高日均采食量呈显著升高特征,I水平分别比II和III水平极显著或显著提高

8.13%和16.83% ($P < 0.01$)。

2.1.2 增重率和特定增长率

蛋白质水平与饱食度对此二指标影响差异极显著。幼鱼增重率和特定增长率均随蛋白水平升高而升高,且各组间差异显著;E组增重率分别极显著高于其他四组50.16%、39.36%、27.34%和13.75%;D组分别极显著高于A、B、C组32.00%、22.51%和11.94%。随饱食度提高增重率和特定增长率持续增加,增重率I水平分别比II和III水平极显著提高7.57%和14.08%。

2.1.3 饲料系数

蛋白水平对饲料系数影响差异极显著,饱食度影响差异不显著。饲料系数随蛋白水平升高而持续降低,且各组间差异显著;E组极显著或显著低于其他各组27.44%、20.49%、16.58%和6.25% ($P < 0.05$)。随饱食度水平的升高而升高,I水平比III水平显著高5%。

2.1.4 蛋白效率

蛋白水平对半滑舌鳎幼鱼蛋白效率影响不显著,而饱食度水平影响显著。蛋白效率随蛋白水平升高呈先升高后降低的趋势,D组达到最高,比A组极显著高9.94%。随饱食度水平的降低而升高,饱食III水平比I水平显著高5.32%。

2.1.5 死亡率

蛋白水平和饱食度对死亡率的影响差异均不显著。死亡率随蛋白水平升高先降后缓升,C组死亡率最低,均比A和B组降低75%,均比D和E组降低50%;随饱食度升高而降低,II和III水平均比I水平提高12.68%。

2.1.6 比肝重

蛋白水平对比肝重的影响差异极显著,饱食水平影响无显著差异。比肝重随蛋白水平的升高而降低,A组与C、D和E组差异极显著,与B组差异显著。随饱食度的升高,比肝重先降后升。

2.2 免疫测定结果

由表3双因素试验方差分析结果可见,饲料蛋白质水平与饱食度两因素对半滑舌鳎幼鱼溶菌酶活力(LZM)和超氧化物歧化酶(SOD)活力均有显著影响,其互作效应对溶菌酶活力影响差异极显著。蛋白水平和饱食度对补体C3和C4活力都无显著性差异。

2.2.1 SOD

饱食度与蛋白水平均对SOD活力影响差异极显著。SOD活力随蛋白质水平升高先升后降,且C组最高,比A、B、D和E组分别极显著或显著提高24.73%、34.79%、24.29%和4.2% ($P < 0.05$)。随饱食度水平升高,SOD活力升高,水平I分别比II和III水平极显著高15.27%和25.70%,水平II比III显著高9%。

2.2.2 LZM

饱食度与蛋白水平对LZM活力的影响差异极显著。随着蛋白水平升高,溶菌酶活力先升高后降低,且C组最高,分别比A、B、D和E组极显著提高18.07%、11.28%、7.59%和4.61%。溶菌酶活力随饱食度升高呈先升后降的趋势,II水平比I和III水平分别极显著高12.03%和4.58%,水平III比水平I极显著高7.13%。

2.2.3 C3

蛋白水平与饱食度对补体C3活力影响差异不显著。随蛋白水平升高缓慢升高,E组分别比A和B组显著提高5.5%和4.6%,C、D和E组间差异不显著。随饱食度水平的升高C3活力升高,I和II水平分别比III水平高2.1%和0.8%。

2.2.4 C4

蛋白水平与饱食度对补体C4活力影响差异不显著。随蛋白水平升高而缓慢升高,E组比A组显著提高11.32%,B、C和D组间差异不显著。随饱食度升高略有升高的趋势,各水平间差异不显著,饱食度I水平C4活力比II和III高1.75%。

表 3 不同处理组半滑舌鲷免疫力的影响

Table 3 Effects of different treatments on immunological activity of *Cynoglossus semilaevis* Günther

指标 Index	处理 Treatments		饱食度 (SD)			平均值 Means
	蛋白水平(PL)	I	II	III		
超氧化物歧化酶 (SOD)(U/ml)	A	45.83±3.75	40.18±3.42	41.01±2.83	42.34 ^a	
	B	42.61±3.43	38.13±3.46	36.81±3.65	39.18 ^a	
	C	62.05±3.83	51.17±6.59	45.23±4.30	52.81 ^d	
	D	49.23±5.77	44.21±3.81	34.02±4.22	42.49 ^a	
	E	56.55±4.92	48.67±5.29	46.81±5.39	50.68 ^c	
平均值 Means		51.26 ^a	44.47 ^c	40.78 ^d		
溶菌酶(U/ml) (LZM)	A	122.64±2.66	121.35±2.60	114.93±3.71	119.64 ^a	
	B	126.17±3.45	125.05±3.43	129.61±3.67	126.94 ^c	
	C	132.68±4.10	148.56±4.56	142.56±4.50	141.26 ^f	
	D	114.92±4.94	148.50±4.61	130.46±5.71	131.30 ^d	
	E	118.48±4.67	145.44±5.57	141.17±2.24	135.03 ^b	
平均值 Means		122.98 ^a	137.78 ^d	131.75 ^f		
补体 C3(g/L)	A	0.238±0.01	0.236±0.01	0.234±0.01	0.236 ^b	
	B	0.240±0.01	0.238±0.01	0.236±0.01	0.238 ^b	
	C	0.245±0.01	0.243±0.01	0.242±0.01	0.244 ^{ab}	
	D	0.248±0.01	0.245±0.01	0.243±0.01	0.245 ^{ab}	
	E	0.252±0.01	0.249±0.01	0.247±0.01	0.249 ^a	
平均值 Means		0.245 ^a	0.242 ^a	0.240 ^a		
补体 C4(g/L)	A	0.054±0.01	0.053±0.01	0.053±0.01	0.053 ^b	
	B	0.056±0.01	0.054±0.01	0.054±0.01	0.054 ^{ab}	
	C	0.059±0.00	0.057±0.01	0.057±0.00	0.057 ^{ab}	
	D	0.060±0.01	0.059±0.01	0.058±0.01	0.058 ^{ab}	
	E	0.061±0.01	0.059±0.01	0.059±0.00	0.059 ^a	
平均值 Means		0.058 ^a	0.057 ^a	0.057 ^a		

方差分析结果(P值) Analysis of variance (P-value)

处理 Treatments	SOD	LZM	C3	C4
饱食度(SD) ^a	0.000	0.000	0.486	0.671
蛋白水平(PL) ^b	0.000	0.000	0.075	0.179
交互(Interaction)a×b	0.087	0.000	1.000	1.000

3 讨论

3.1 蛋白质营养和饱食度对生长性能的影响

3.1.1 蛋白质营养

Aires 等(1999)研究饲喂 60g 左右的大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 幼鱼,蛋白质含量为 56.2% 时达到最佳生长效果。蒋克勇(2005)设计了蛋白质范围 45%~54% 的 5 种饲料饲喂大菱鲆幼鱼(34.5±5.5g),随蛋白水平增加增重率和特定生长率持续增大(先急增后缓增),饲料系数减小,蛋白效率在 50% 蛋白水平时达到

最大值,结合对水环境影响,确定其蛋白质生态营养需要量为50%。张显娟等(1998)研究表明,当饲料中蛋白质含量为52.78%,脂肪含量为8.78%,碳水化合物为15.80%时,牙鲆 *Paralichthys olivaceus* (3~6 cm)增重最大,蛋白效率最高,饲料系数也最低。刘永坚等(2002)研究不同蛋白质和脂肪水平的饲料对红姑鱼 *Sciaenops ocellatus* 幼鱼(2.73g)生长的影响,结果表明,脂肪水平相同的条件下,特定生长率以高蛋白组>中蛋白组>低蛋白组,最适饲料蛋白质水平为高蛋白水平46%。

本研究结果表明,随着蛋白质水平的升高,半滑舌鲷幼鱼日均采食量、增重率、特定生长率也出现平缓而显著升高趋势,饲料系数呈现相反趋势,蛋白效率先升后降;在E组时达到最大增重、最小饲料系数。因饲料蛋白水平不同导致鱼体生长速度不同,时间愈长,差距愈大,高蛋白组增重率愈来愈高,采食量也随之增加;同时高蛋白饲料鱼粉含量高,适口性好,摄食量升高。此结果与蒋克勇(2005)、刘永坚等(2002)的研究结果相似,表明高蛋白水平能较好地促进半滑舌鲷幼鱼的生长,有助于提高饲料利用率。本试验未出现增重率随蛋白水平升高先升后降或先急增后缓增趋势(林建斌等 2008;李敬伟等 2005;Kim *et al.* 2009;胡家财等 1995)。与试验设计蛋白梯度水平偏高有关,也说明滑舌鲷幼鱼对高蛋白水平变化不敏感。

张鑫磊(2006)研究蛋白水平为36%~52%对半滑舌鲷幼鱼(18.49 g)生长影响结果表明,随饲料蛋白水平的升高,增重率降低、饲料系数升高和蛋白效率降低,其最适蛋白需要量为31.59%~35.33%。此结果与本研究差异甚大,也有悖于前人研究表明的海水鱼类幼鱼蛋白质需求量40%~50%(苏锦祥等 2000)。

高蛋白质水平在一定程度上有利于鱼体的生长,但其有效性还取决于蛋白质的吸收利用情况。蛋白质效率降低,即呈现出蛋白质过量的现象(钱国英 2000)。本试验蛋白D组蛋白效率达到最大值,比最大生长的蛋白E组提高3.6%,从而再次证明,海水比目鱼达到最高蛋白效率的饲料蛋白水平低于获得最大生长的蛋白水平(蒋克勇 2005)。

死亡率各组间差异不显著,随蛋白水平升高呈先降后缓升趋势,中蛋白C组死亡率最低,低蛋白水平死亡率较高,这可能是由于低蛋白质未能满足鱼体免疫活动需要造成的。鱼类的比肝重是对长期和短期营养方式都很敏感的指标(潘炯华 1983)。肝脏是鱼类中间代谢的主要器官,同时还是鱼类重要的营养储存器官,在营养变动(如营养不良或营养过剩)时,肝脏重量会发生显著的变化(殷帅文等 2002)。本试验随蛋白水平的升高,比肝重呈下降趋势,与潘庭双等(2008)的研究结果一致。说明随着蛋白水平升高,动物骨骼肌肉增重明显大于肝脏等内脏器官增重。

3.1.2 饱食度

日采食量90%和80%的饱食度在群体饲养试验和实际生产中均很难实现。因弱肉强食,当部分强鱼已过饱时,部分弱鱼还只是半饱或饥饿,最后造成生长参差不齐。本研究采用月饱食度的试验方法,确保所有试验鱼投喂时达到饱食,通过不同隔日停食达到不同月饱食度水平。这样真正实现了90%和80%的饱食度水平,既节省饲料又降低水质污染,促进鱼健康生长。

林祥日(2008)研究指出,漠斑牙鲆 *Paralichthys leyhostigma* 幼鱼(22.00~44.00g)的特定生长率随摄食水平增加而呈增加的趋势。Bradley等(2006)研究表明,随着投饲频率的增加,澳大利亚金赤鲷 *Pagrus auratus* 稚鱼的增重率和能量转化率不断增加。Sung等(2006)以70%~100%饱食投饲率对牙鲆幼鱼(17 g)生长的研究表明,增重率和特定生长率随着投饲率的增加而增加,但其饱食度处理是按照通常做法以100%饱食为基准进行,笔者认为这种做法只有个体试验可做到,对于群体试验理论上可行,实际中无法做到,其结果不正确或没有代表性。本研究结果与前人的结果类似,随着饱食度水平的升高,增重率和特定生长率也随之显著提高。说明本研究降低月饱食度的限饲方法并未产生补偿生长效应,是否由于饱食度降低程度较小或限饲方法差异所致,有待进一步研究。蛋白效率随饱食度水平的降低而升高,表明适当隔数日停食或停喂,有利于半滑舌鲷更有效地吸收利用蛋白质。

从生长性能各指标综合分析,高蛋白水平与高饱食度投喂的增重效果最佳,中蛋白质水平的蛋白效率较高而成活率最高,低饱食度的饲料利用率和蛋白效率最高。然而,高蛋白水平不仅饲料成本高,而且加大鱼体代谢负担和能量消耗,增加氨氮排泄污染水质,导致鱼体亚健康状态,从而有碍于提高蛋白效率和成活率。可见,实际中应兼顾饲料成本、生长速度、健康状态和产品售价等进行综合效益分析,从而确定饲料蛋白质的适宜水

平和月饱食度的合理水平。

3.2 蛋白营养与饱食度对免疫力的影响

3.2.1 蛋白质营养

蛋白质是动物合成各种酶类和抗体蛋白所必需的原料,因此蛋白质和机体免疫力密切相关(Wu *et al.* 1999)。溶菌酶(LZM)是鱼类防御微生物入侵最有效的因子之一,它广泛分布于鱼类的体表黏液、血清、腮和胃肠分泌物及吞噬细胞的溶酶体颗粒中以及粒细胞和单核细胞中,溶菌酶通过酶解病原体细胞壁的黏多糖将其杀死(Christopher *et al.* 2004; Tomoki 1996)。超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内一种重要的抗氧化酶,可以清除机体内多余的自由基,使自由基的产生与消除处于一个动态的平衡中,从而免除自由基对生物的危害(防允中等 1994)。

Kiron 等(1995)研究发现当虹鳟鱼 *Salmo gairdneri* 缺乏蛋白质时,溶菌酶活力降低。杨严欧等(2006)研究表明,随着饲料蛋白质水平的提高,黄颡鱼 *Pseudobagrus fulvidraco* Richardson(8.40±0.20 g)的 LZM、SOD 活力都显著提高。蔡春芳等(2001)用蛋白质水平(10%、20%、30%、40%和 50%)的饲料饲喂异育银鲫 *Carassius auratus gibelio*,结果表明,42 d 后 SOD 活力随蛋白水平的升高呈现先升后降趋势,30%组最高,10%和 50%组活力最低。目前还尚未见到有关蛋白质营养对海水比目鱼 LZM 和 SOD 活力影响的报道。

本试验结果特征与蔡春芳等(2001)研究结果相似,LZM 和 SOD 活力随蛋白水平的升高均先升后降,中蛋白水平效果优良。表明饲料中适宜蛋白质水平对半滑舌鳎免疫力具有明显改善作用,而过高蛋白质水平不利于增强免疫活力。可能的作用机制是过高的蛋白质含量使鱼体内蛋白质代谢负担加重、增加不必要的能耗,氨氮排泄升高,导致水体污染加大,从而不利于免疫力的发挥。

补体是存在于人和动物血清中的一组不耐热的具有酶活性的糖蛋白。补体系统是动物非特异性免疫中极为重要的组成部分之一,在正常情况下,以无活性的酶前体(酶原)形式存在,当受到激活后,补体各成分便按一定顺序呈现连锁酶促反应,参与机体的防御功能和机体的自稳状态(周显青等 2003)。补体是机体抵抗微生物感染的重要成分,由存在于体液的多种具有酶活力的球蛋白组成,C3 和 C4 是补体系统中的主要成分,可以经过经典或旁路途径激活,是激活吞噬作用的主要因子,也可以作为调理素促进吞噬作用(Tort *et al.* 2004)。

张勇等(2008)研究表明,低蛋白水平下的补体浓度显著低于中高蛋白水平,可能是由于机体缺乏蛋白质,导致补体合成受影响,高蛋白水平相比中蛋白水平对补体活力有提高趋势但差异不显著。Tang 等(2008)对大黄鱼 *Pseudosciaena crocea* 的试验研究表明,当饲料中添加 5%、10%和 15%的鱼肉蛋白水解物(FPH)时,血清补体 C3 活力随 FPH 添加量的升高而升高,添加 10%时,补体 C4 活力最高。

目前尚未见到关于蛋白营养水平对比目鱼血清补体活力影响的报道。本试验结果与张勇等(2008)和 Tang 等(2008)报道有相似方面,补体 C3 和 C4 活力随蛋白水平升高而缓慢升高,其原因可能是由于本研究设计蛋白梯度水平偏高,半滑舌鳎幼鱼补体 C3 和 C4 对高蛋白水平变化不敏感。

3.2.2 饱食度

关于投饲率、投饲频率以及饱食度对动物的非特异性免疫方面的研究目前尚未见到。本试验结果表明,SOD 活力、补体 C3 和 C4 活力随饱食度水平升高而升高。饱食度水平低的鱼体,可能一方面由于日停食次数增加,影响了免疫物质合成时对营养素的持续需要;另一方面恢复摄食后需要较多能量、蛋白质等营养用来修补停食时机体所受的损伤或内存消耗,导致其生长缓慢,免疫力低下。随着饱食度的增加,鱼体摄食机会明显增大,营养物质可满足机体的连续需要,生长就加快,免疫抗病能力也得以加强。而 LZM 活力先升后降,原因可能是蛋白水平与饱食度之间的互作效应造成的,其原因或机制还需进一步研究。

从各免疫指标分析结果看出,中等蛋白质水平和 100%饱食度有利于提高 SOD 活力;中等蛋白质水平和 90%饱食度有利于提高 LZM 活力;中高蛋白质水平和 100%饱食度有利于提高补体 C3 和 C4 活力。中等蛋白质水平提高 SOD 和 LZM 活力,增强机体免疫力,与生长试验结果中 C 组(中等蛋白质水平)死亡率最低的结果相符合。

4 小结

本研究在工厂化封闭循环水养殖条件下,通过蛋白质营养和饱食度对半滑舌鳎幼鱼生长性能与免疫力影响特征和规律的探寻,获得以下主要结果:

(1)高蛋白水平与高饱食度投喂的增重效果最佳,中蛋白水平的蛋白效率较高而成活率最高,低饱食度的饲料利用率和蛋白效率最高。

(2)中蛋白水平和高饱食度有利于提高 SOD 活力;中蛋白水平和 90% 饱食度有利于提高 LZM 活力;中高蛋白水平和高饱食度有利于提高补体 C3 和 C4 活力。

(3)获得工厂化养殖半滑舌鳎幼鱼最大生长的饲料蛋白质水平为 56%;有利于提高免疫抗病力和蛋白效率的饲料蛋白质营养水平为 49%~52%。

参 考 文 献

- 王吉桥,王凯,王声全,巴桂香. 2005. 不同投饲率对黄颡鱼幼鱼生长和存活的影响. 水产学杂志, 18(2): 1~5
- 刘栋辉,何建国,刘永坚,郑轩,田丽霞. 2004. 极低盐度下饲料蛋白质量分数对凡纳对虾生长表现和免疫状况的影响. 中山大学学报(自然科学版), 11(44): 217~223
- 刘永坚,刘栋辉,田丽霞,冯健,梁桂英,杜震宇. 2002. 饲料蛋白质和能量水平对红姑鱼生长和鱼体组成的影响. 水产学报, 26(3): 242~246
- 李敬伟,李文宽,骆小年,闫有利,王吉桥,王文辉. 2005. 黄颡鱼幼鱼对饲料中蛋白质和能量需要量的研究. 水产科学, 24(9): 17~19
- 苏锦祥主编. 2000. 鱼类学与海水鱼类养殖. 第2版. 北京: 中国农业大学出版社, 361
- 防允中,李文杰主编. 1994. 自由基与酶. 北京: 科学出版社, 67~69
- 张瑞莉,张世宏,李术. 2001. 饲料营养与免疫. 饲料博览, 4: 28~30
- 张丽英主编. 2002. 饲料分析及饲料质量检测技术. 北京: 中国农业大学出版社, 46~76, 131~138
- 张显娟,李爱杰,薛敏. 1998. 牙鲆幼鱼对蛋白质、脂肪及碳水化合物营养需求的研究. 李爱杰文集, 338~344
- 张鑫磊. 2006. 半滑舌鳎胚胎发育及幼鱼营养需要的研究. 见: 中国海洋大学硕士学位论文
- 张勇,董岩,朱宇旌,付丽. 2008. 不同蛋白质水平饲料对生长育肥猪生长性能、免疫机能及臀中肌中 u-calpain 表达量的影响. 中国饲料, 23: 18~20
- 林建斌,李金秋,朱庆国. 2008. 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, 17(1): 88~92
- 林祥日. 2008. 摄食水平和温度对漠斑牙鲆生长率的影响. 淡水渔业, 38(2): 68~69
- 杨严欧,周黎. 2006. 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, 14: 41~45
- 杨严欧. 2003. 饲料质量和摄食水平对不同食性鱼类生长和活动的的影响. 见: 华中农业大学博士研究生学位论文
- 陈京华,赵波. 2005. 半滑舌鳎的生物学特性及养殖技术. 水产科技情报, 32(3): 105~109
- 周显青,朱翠娟,孙儒泳. 2003. 维生素 C 和酸应激对中华鳖幼鳖血清补体 C3 和 C4 含量的影响. 动物学报, 49(6): 769~774
- 柳学周,庄志猛,马爱军,陈四清. 2006. 半滑舌鳎苗种生产技术的开发研究. 海洋水产研究, 27(2): 17~24
- 胡家财,周立红,洪惠馨. 1995. 青石斑鱼人工配合饲料中蛋白质适宜含量的研究. 厦门水产学院学报, 17(2): 8~12
- 钱国英. 2000. 饵料中不同蛋白质、纤维素、脂肪水平对加州鲈鱼生长的影响. 动物营养学报, 12(2): 48~52
- 殷帅文,林学群,陈洁辉. 2002. 谈谈鱼类的比肝重及其意义. 科学养鱼, 9: 54
- 常青. 2006. 半滑舌鳎仔稚鱼营养生理与开口饲料的开发研究. 见: 中国海洋大学博士学位论文
- 谢国骅,蔡永祥,徐维娜,边文冀,刘文斌. 2007. 饲料蛋白水平对日本沼虾生长、消化酶和免疫酶的影响. 江苏农业学报, 23(6): 612~617
- 蔡春芳,吴康,潘新法,王永玲,宋学宏. 2001. 蛋白质营养对异育银鲫生长和免疫力的影响. 水生生物学报, 6(25): 590~595
- 潘炯华. 1983. 几种罗非鱼的含肉率及鱼肉、血液的生化分析. 淡水渔业, 13(6): 23~28
- 潘庭双,程玉冰,侯冠军,施培松,曹永红. 2008. 不同蛋白水平饲料对斑点叉尾鲷生长的影响. 饲料研究, 4: 56~58
- Aires O. T., Antonio L. C., and Paula, C. 1999. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. Aquaculture, 179: 195~201
- Chandra, R. K. 1996. Nutrition immunity and infection: From basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. Proceeding National Academic Society, 93: 14 304~14 307
- Christopher, J. B., Lena, G. 2001. The acute phase response and innate immunity of fish. Developmental and Comparative Immunology, 25: 725~743
- Kiron, V., Fukuda, H., Tskeuchi, T. et al. 1995. Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Comp Biochem Physiol, 111A: 361~367

- Khan, M. A., Ahmed, I., and Abidi, S. F. 2004. Effect of ration size on growth, conversion efficiency and body composition of fingerling mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition*, 10:47~53
- Sheenan, H., Yaniv, H. 2005. Effects of different feeding levels during day and/or night on growth and brush-border enzyme activity in juvenile *Lates calcarifer* reared in freshwater re-circulating tanks. *Aquaculture*, 248: 325~335
- Sung, H., and Lee, S. M. 2006. Effect of feeding ratio on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed extruded pellets during the summer season. *Aquaculture*, 251:78~84
- Kim, S. S., and Lee, K. J. 2009. Dietary protein requirement of juvenile tiger puffer (*Takifugu rubripes*). *Aquaculture*, 287:219~222.
- Shuenn-Der Yang, C. H. L. 2002. Effect of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 213:363~372
- Tang H. G., and Wu, T. X. 2008. Effect of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) *Journal of Zhejiang University science B*, 9(9): 684~690
- Tort, L., Balasch, J. C., and MacKenzie, S. 2004. Fish health challenge after stress. *Indicators of Immunocompetence Contributions to Science*, 2(4):443~454
- Tomoki, Y. 1996. The nonspecific immune system: Humoral defense. *The Fish Immune System: Organism, pathogen and environment* (Eds Iwama G, Nakanishi, T). USA, Academic Press: 105~157
- Wu, G., Flynn, N. E., and Flynn, S. P. 1999. Dietary protein or arginine deficiency impairs constitutive and inducible nitric oxide synthesis by young rats. *Nutrition*, 129:1 347~1 354
- Yang, S. D., Liou, C. H., and Liu, F. G. 2002. Effect of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 213:363~372