

DOI: 10.11758/yykxjz.20140507

http://www.yykxjz.cn/

石莼饲料中添加非淀粉多糖酶对黄斑蓝子鱼 (*Siganus canaliculatus*)生长以及肌肉营养 成分的影响*

游翠红 李 茜 王树启 李远友

(汕头大学海洋生物研究所 广东省海洋生物技术重点实验室 汕头 515063)

摘要 为探讨酶制剂是否有助于提高黄斑蓝子鱼(*Siganus canaliculatus*)对石莼(*Ulva pertusa*)海藻饲料的消化利用率,在总蛋白水平为 32%、总脂肪水平为 8%情况下配置 6 种饲料,其中两个对照组(未添加石莼为 C1、添加 15%石莼为 C2)、4 个实验组,饲养黄斑蓝子鱼幼鱼 56 d,通过比较鱼的生长性能、消化道消化酶的活性及饲料的表观消化率等,以确定酶制剂的效果及其适宜添加量。结果显示,4 种实验饲料养殖的黄斑蓝子鱼在增重率、特定生长率、蛋白质效率等方面均优于 C2 对照组,与 C1 对照组无显著差异(T4 实验组的蛋白质效率除外)($P>0.05$)。全鱼生化成分及胃、前肠、肝脏的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性在各组之间无显著差异($P>0.05$)。实验组鱼对饲料中蛋白质的表观消化率显著高于 C2 对照组($P<0.05$)。添加石莼组鱼肌肉中除多不饱和脂肪酸 18:2n6、20:5n3、22:5n3 和必需氨基酸 Met、Tyr 含量显著降低($P<0.05$)以及 Glu 与 His 氨基酸含量显著升高($P<0.05$)外,无其他显著变化。结果表明,石莼饲料中添加非淀粉多糖酶可提高黄斑蓝子鱼的生长效果和饲料利用率,且对鱼肉品质无较大影响。

关键词 非淀粉多糖酶;黄斑蓝子鱼;海藻饲料;消化酶;表观消化率

中图分类号 S963 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2014)05-0046-09

中国是世界上第一大水产养殖国,需要消耗大量的配合饲料,对鱼粉、豆粕、小麦淀粉、玉米淀粉等常规饲料原料的需求日益增多。由于这些原料价格日益攀升,而且与人类争食,限制了水产养殖业的发展,因此越来越多的关注点放在了非常规饲料原料源的开发上,尤其是不能被人类直接利用的植物性蛋白源(Fagbenro *et al*, 2004; Fiogbe *et al*, 2004; Richter *et al*, 2003; Zhou *et al*, 2006)。近年来,人们发现,大型海藻富含海藻多糖、矿物质、维生素、游离氨基酸、脂肪酸、天然色素及未知生长因子(UGF)等营养成分

(Kumar *et al*, 2011; Hasan *et al*, 2009),可以作为水产动物配合饲料的原料加以利用,能够部分减少鱼粉、豆粕、小麦淀粉等原料的用量,降低饲料成本,且对水产动物的生长无显著影响(Hasan *et al*, 2009; Dantagnan *et al*, 2009; Walker *et al*, 2009)。但是,由于饲料中添加海藻易引起水产动物对饲料的消化率降低等原因,所以,大型海藻在配合饲料中的添加比例受到一定制约,一般不超过 10%–15% (Walker *et al*, 2009; Pereira *et al*, 2012)。

大型海藻的主要成分为碳水化合物,主要包括多

* 国家自然科学基金(41276179)、科技部国家科技支撑计划(2012BAC07B05)、广东省自然科学基金研究团队项目(S2011030005257)及汕头大学学术创新团队建设科研基金共同资助。游翠红, E-mail: chy@stu.edu.cn

通讯作者:李远友,教授, E-mail: yyli@stu.edu.cn

收稿日期:2014-02-27, 收修改稿日期:2014-04-14

糖、海藻胶、粗纤维类等非淀粉多糖(Non-Starch Polysaccharide, NSP)。这类碳水化合物难以被水产动物消化(赵素芬等, 2008), 尤其是细胞壁中的纤维素和果胶不仅难以消化, 而且还影响了动物消化酶与饲料中营养物质的接触, 进而影响了动物对饲料养分的消化和吸收, 降低了饲料利用效率(Xu *et al*, 1999; Hesselman *et al*, 1986)。但是, NSP 的抗营养作用能够被 NSP 酶消除, 常用的饲用 NSP 酶主要由纤维素酶、木聚糖酶、 β -葡聚糖酶等组成, 是高效生物酶制剂, 具有提高饲料利用率, 消除抗营养因子, 促进动物生长等作用, 目前已广泛应用于水产养殖业中(刘文斌等, 1999)。

黄斑蓝子鱼(*Siganus canaliculatus*)是我国东南沿海人工养殖为数不多的植食性海水鱼类之一。石莼(*Ulva pertusa*)是我国沿海最常见的一种大型绿藻, 它不仅资源丰富, 而且营养价值较高, 但目前尚未得到有效利用, 不仅造成资源浪费, 且其腐烂物也污染环境。石莼适合作为黄斑蓝子鱼配合饲料的原料。在配合饲料中添加 15% 石莼及不同剂量的 NSP 复合酶, 可减少 4% 的鱼粉和 11% 的小麦淀粉用量以降低成本, 并提高饲料利用率。通过评估不同饲料投喂黄斑蓝子鱼的生长性能、摄食、消化酶活性、饲料表观消化率和鱼肉营养成分等, 探讨在黄斑蓝子鱼饲料中添加石莼和酶制剂的效果以及酶制剂的适宜添加量和配比, 为研发高效、低成本的黄斑蓝子鱼海藻配合饲料提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

试验用黄斑蓝子鱼幼鱼, 捕自汕头大学南澳临海试验站附近海域, 使用自制饲料在室内水族缸(容积 600L)中驯养 21 d 后, 挑选规格基本一致(重 16 g 左右)的幼鱼开展养殖试验。养殖时间 2012 年 10–12 月, 养殖周期为 56 d。实验共分 6 组, 每组 3 个平行, 每个平行 15 尾鱼。

1.2 试验饲料

新鲜石莼采自广东省南澳岛海域附近, 晒干后, 经小型粉碎机粉碎(上海渔机所生产), 过 60 目筛, 制成海藻干粉备用。在总蛋白水平为 32% 和总脂肪水平为 8% 的情况下, 以鱼粉、豆粕为蛋白源, 鱼油和豆油为脂肪源, 小麦淀粉为碳源, 按照等蛋白等脂肪原则配制 6 种配合饲料, 对照组 1(C1)为未添加石莼的

基础饲料, 对照组 2(C2)在饲料中添加 15% 的石莼干粉, 另外 4 种(T1–T4)在添加 15% 石莼干粉的饲料中再添加不同剂量的 NSP 酶(将纤维素酶、木聚糖酶和 β -葡聚糖酶按一定比例混合构成, 由于专利保护, 文中不做详细说明)。6 种饲料的具体配方及营养成分见表 1。将所有的原料混合均匀后, 加水用饲料颗粒机(上海渔业机械研究所生产)制成颗粒饲料, 自然晾干, 并置于 4℃ 冰箱中保存。

1.3 养殖管理

每天 8:00、16:00 饱食投喂两次, 投喂 1 h 后收集残饵并烘干测定质量, 养殖期间每天换水两次, 每次换水量为养殖体积的 1/3, 实验用水为沙虑海水, 每日记录水温、试验鱼摄食情况以及死亡数量等。水温为 19–22℃, 溶氧高于 6.0 mg/L, pH 为 7.0–7.5。

1.4 样品收集与生化指标的测定

1.4.1 鱼体称重和试验取样 试验开始和结束时, 用 0.01% 的苯氧基乙醇(α -phenoxyethanol)将鱼麻醉后逐条称重。试验结束时, 每缸取两尾鱼, 用于全鱼生化成分的分析, 另取鱼两尾, 冰盘上解剖取肝脏、肌肉、前肠、胃组织, 于液氮速冻后保存于 -80℃ 冰箱中, 用于测定各项生理生化指标。实验最后 7 d 投喂含 0.5% 三氧化二铬的饲料, 摄食 6 h 后采用虹吸法收集粪便, 于 -80℃ 保存。

1.4.2 生化指标测定 胃、前肠以及肝脏的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等测定方法采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒, 具体详见说明书。配合饲料及全鱼样品的水分、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分含量的测定均按照国标 GB/T 6435-1986、GB/T 6432-1994、GB/T 6433-2006、GB/T 6438-2008 提供的方法。

饲料表观消化率的测定采用外源性指标物质 Cr_2O_3 浓硝酸-过氯酸-直接比色法(Cho *et al*, 1990)。

氨基酸成分测定: 首先, 称取含蛋白 7.5–25 mg 的样品于消解罐中, 加入 10 ml 6 mol/L 的盐酸, 110℃ 条件下酸解 24 h, 酸解完成后过滤, 滤液在 80℃ 蒸干, 然后用 2 ml 上样缓冲液(Na220, Pickering Laboratories Inc., USA)溶解, 用 0.45 μm 水系尼龙膜过滤, 装入样瓶中。氨基酸含量的测定使用美国戴安公司的液相色谱仪 Ultimate 3000 采用柱后衍生方法进行测定(Xu *et al*, 2011)。

脂肪酸成分测定: 脂肪提取采用氯仿甲醇法, 脂肪酸甲酯化采用三氟化硼甲醇催化法, 脂肪酸测定采用日本岛津气相色谱仪 GC2010(Xu *et al*, 2011)。

表1 实验饲料的配方及营养组成(%干物质)
Tab. 1 The composition of the experimental diets (% dry matter)

饲料原料 Ingredients	饲料 Diet					
	C1	C2	T1	T2	T3	T4
鱼粉 ^a Fish meal ^a	30	26	26	26	26	26
豆粕 ^b Soybean meal ^b	26	26	26	26	26	26
鱼油 Fish oil	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
豆油 Soybean oil	3	3	3	3	3	3
α-淀粉 α-Starch	5	5	5	5	5	5
小麦淀粉 Wheat starch	22.4	11.4	11.4	11.4	11.4	11.4
孔石莼藻粉 ^c <i>U.pertusa</i> ^c	0	15	15	15	15	15
多维 ^d Vitamin mixture ^d	1	1	1	1	1	1
矿物质 ^e Mineral mixture ^e	1	1	1	1	1	1
纤维素 Cellulose	9	9	8.91	8.82	8.74	8.65
氯化胆碱 Choline chloride	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
维生素C Vitamin C	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
酶制剂 ^f Enzymic preparation ^f	0	0	A1	A2	A3	A4
DL_蛋氨酸 Methionine	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
营养组成(干物质百分比) Nutrient composition (% dry matter)						
干物质 Dry matter	93.36	93.72	92.40	92.37	92.57	92.19
粗蛋白 Crude protein	32.15	31.75	32.14	31.56	31.44	31.88
粗脂肪 Crude fat	8.18	8.01	8.10	8.17	8.07	8.02
粗灰分 Crude ash	9.78	14.80	15.02	14.91	15.26	14.95

注: a. 鱼粉蛋白质含量为 64.17%, 脂肪含量 11.24%; b. 豆粕蛋白质含量为 48.4%, 脂肪含量 1.03%; c. 孔石莼粗蛋白含量为 17.92%, 脂肪含量 1.12%, 灰分含量 32.66%; d. 每千克混合维生素中含有: 维生素 A 4×10⁶ 单位, 维生素 D₃ 2×10⁶ 单位, 维生素 E 60 g, 维生素 K₃ 6 g, 维生素 B₁ 7.5 g, B₂ 16 g, B₆ 12 g, B₁₂ 100 mg, 烟酸 88 g, 泛酸 36 g, 叶酸 2 g, 生物素 100 mg, 肌醇 100 g, 单磷脂 200 g; e. 每千克混合矿物质中含有: 10 g 铁; 3.2 g 锌; 3 g 镁; 52 mg 钴; 65 mg 碘; 15 mg 硒; f. 酶制剂由纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶不同比例混合而成

Note: a. The crude protein and lipid content of fish meal are 64.17% and 11.24%; b. The crude protein and lipid content of soybean meal are 48.4% and 1.03%; c. The crude protein, lipid and ash content of *U.pertusa* are about 17.92%, 1.12% and 32.66%, respectively; d. The amounts of the following vitamins in per kg of premix are: A, 4×10⁶ IU; D₃, 2×10⁶ IU; E, 60 g; K₃, 6 g; B₁, 7.5 g; B₂, 16 g; B₆, 12 g; B₁₂, 100 mg; nicotinic acid, 88 g; pantothenic acid, 36 g; folic acid, 2 g; biotin, 100 mg; inositol, 100 g; C-monophospholipid, 200 g; e. The amounts of following ingredients in per kg of premix are: iron, 10 g; zinc, 3.2 g; magnesium, 3 g; cobalt, 52 mg; iodine, 65 mg; selenium, 15 mg; f. enzymic preparation was consistent of different levels of cellulase, xylanase and β-glucanase

1.4.3 生长性能指标计算公式 试验鱼的增重率、 饵料系数、蛋白质效率、成活率等指标计算公式如下:

增重率(weight gain rate, WGR, %)

$$= \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\%$$

特定生长率(specific growth rate, SGR, %)

$$= \frac{\ln W_t - \ln W_0}{n} \times 100\%$$

饵料系数(feed conversion ratio, FCR)

$$= \frac{\text{总摄食量}}{\text{体重增加量}}$$

蛋白质效率(protein efficiency rate, PER, %)

$$= \frac{\text{体重增加量}}{\text{总摄食量} \times \text{饲料蛋白含量}} \times 100\%$$

$$\text{成活率(survival rate, SUR, \%)} = \frac{\text{末尾数}}{\text{初尾数}} \times 100\%$$

试验鱼对饲料表观消化率计算公式如下:

干物质表观消化率(ADC of dry matter)

$$= \left(1 - \frac{\text{饲料中Cr}_2\text{O}_3\%}{\text{粪便中Cr}_2\text{O}_3\%} \right) \times 100\%$$

粗蛋白、粗脂肪等营养成分表观消化率(ADC of

$$\text{nutrient}) = \left(1 - \frac{\text{饲料中Cr}_2\text{O}_3\% \times \text{粪便营养成分}\%}{\text{粪便中Cr}_2\text{O}_3\% \times \text{饲料营养成分}\%} \right) \times 100\%$$

公式中:

W_1 为结束取样时鱼的平均体重(g); W_0 为初始取样时鱼的平均体重(g); n 为试验天数; ADC 为表观消化率(apparent digestibility coefficient)。

1.5 数据分析处理

数据以同一个处理组 3 个平行缸的平均值±标准误差(Mean ± SD)表示, 各组数据用 SPSS 软件进行单因素方差分析(ANOVA)和 Tukey 多重比较法比较组间差异, 当 $P < 0.05$ 时为差异显著。

2 结果

2.1 不同饲料对黄斑蓝子鱼生长的影响

经过 56 d 的养殖试验后, 各饲料组鱼的成活率、生长性能等情况见表 2。结果显示, 成活率在各组之间无显著差异; 石莼饲料中添加不同剂量 NSP 酶后, 黄斑蓝子鱼增重率、特定生长率、蛋白质效率等均高于未添加酶制剂的 C2 对照组, 且与未添加石莼的 C1 对照组无显著差异(T4 组的蛋白质效率除外) ($P > 0.05$); 在 4 个添加酶的石莼组中, 以 T3 饲料组的生长性能

最好, 饵料系数最低, 且与 C1 对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.2 不同饲料表观消化率

黄斑蓝子鱼对不同饲料的表观消化率见表 3。石莼饲料中添加不同剂量的 NSP 酶后, 黄斑蓝子鱼对饲料中蛋白质的表观消化率升高, 显著高于未加酶的 C2 对照组 ($P < 0.05$), 其中 T3 饲料组的蛋白质表观消化率最高。石莼饲料中添加不同剂量的 NSP 酶后, 黄斑蓝子鱼对干物质的表观消化率高于未加酶的 C2 对照组, 但低于未添加石莼的 C1 对照组, 与两个对照组差异均不显著 ($P > 0.05$), 黄斑蓝子鱼对脂肪的表观消化率在各组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.3 不同饲料对黄斑蓝子鱼胃、前肠、肝脏消化酶活性的影响

不同饲料组黄斑蓝子鱼主要消化酶的活性见图 1—图 3。结果表明, 石莼饲料中添加不同剂量的 NSP 酶对黄斑蓝子鱼胃、前肠以及肝脏中的蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶没有显著影响 ($P > 0.05$)。

表 2 试验饲料投喂黄斑蓝子鱼的生长效果
Tab. 2 Growth performance of *S. canaliculatus* fed with the experimental diets

生长指标 Growth index	饲料 Diet					
	C1	C2	T1	T2	T3	T4
初体重 $IBW(g)$	16.30±0.15	16.43±0.10	16.23±0.10	16.32±0.05	16.50±0.11	16.52±0.04
末体重 $FBW(g)$	45.67±2.14 ^a	37.52±1.03 ^b	41.86±2.06 ^{ab}	42.43±0.55 ^{ab}	44.48±0.61 ^a	40.20±0.60 ^{ab}
增重率 $WGR(\%)$	180.24±14.10 ^a	128.46±7.39 ^b	158.14±14.35 ^{ab}	160.00±4.13 ^{ab}	169.52±3.22 ^{ab}	155.47±4.27 ^{ab}
特定生长率 $SGR(\%)$	1.84±0.09 ^a	1.47±0.05 ^b	1.69±0.10 ^{ab}	1.71±0.03 ^{ab}	1.77±0.02 ^a	1.67±0.03 ^{ab}
饵料系数 FCR	1.56±0.08 ^a	1.85±0.04 ^b	1.76±0.06 ^{ab}	1.74±0.04 ^{ab}	1.68±0.06 ^{ab}	1.83±0.04 ^b
蛋白质效率 $PER(\%)$	201.32±9.46 ^a	169.09±3.61 ^b	178.36±5.65 ^{ab}	180.11±4.16 ^{ab}	186.21±5.98 ^{ab}	170.97±3.48 ^b
成活率 $SUR(\%)$	97.78±2.22	91.11±2.22	95.56±2.22	95.56±4.44	97.78±2.22	93.33±3.85

注: 数据为平均值±标准误差($n=3$); 同行数据中, 无相同小写字母标注者表示相互间显著差异 ($P < 0.05$)。下同

Notes: Values are Mean ± SD ($n=3$). Values in same row without a common letter are significantly different ($P < 0.05$). The same below

表 3 黄斑蓝子鱼对不同饲料的表观消化率(%)
Tab.3 The ADC of dry matter, protein and lipid among *S.canaliculatus* fed with the different diets(%)

饲料 Diet	干物质表观消化率 ADC of dry matter	蛋白表观消化率 ADC of protein	脂肪表观消化率 ADC of lipid
C1	61.94±1.30 ^a	80.38±0.63 ^b	78.58±3.84
C2	48.91±4.08 ^b	75.04±1.69 ^c	72.69±5.67
T1	51.60±3.19 ^{ab}	84.45±0.41 ^a	76.21±1.64
T2	53.62±0.96 ^{ab}	84.54±0.52 ^a	75.34±3.31
T3	55.38±2.40 ^{ab}	84.81±0.45 ^a	73.46±1.67
T4	50.65±0.81 ^{ab}	81.50±0.55 ^{ab}	73.31±1.83

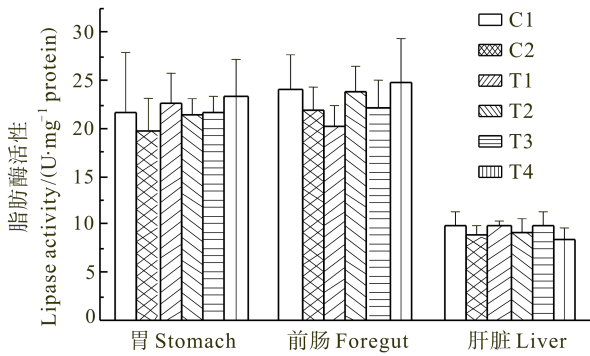


图 1 不同饲料对蓝黄斑鱼胃、前肠和肝脏脂肪酶活性的影响

Fig. 1 Effects of different diets on lipase activities in stomach, foregut and liver of *S. canaliculatus*

注：数据为平均值±标准误差(n=3)；相同组织中，柱上无字母标注表示相互间无显著差异(P>0.05)。下同

Note: Mean ± SD (n=3). In the same tissue, bars without a letter are not significantly different (P>0.05). The same below

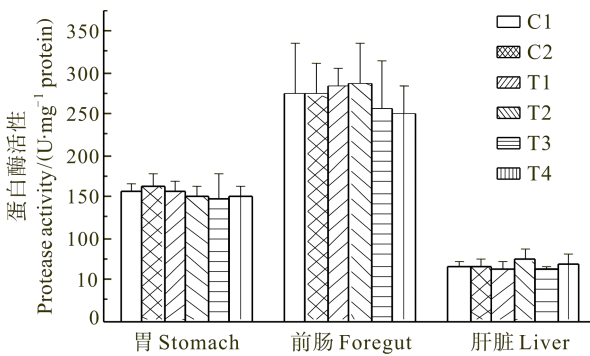


图 2 不同饲料对黄斑蓝子鱼胃、前肠和肝脏蛋白酶活性的影响

Fig. 2 Effects of different diets on protease activities in stomach, foregut and liver of *S. canaliculatus*

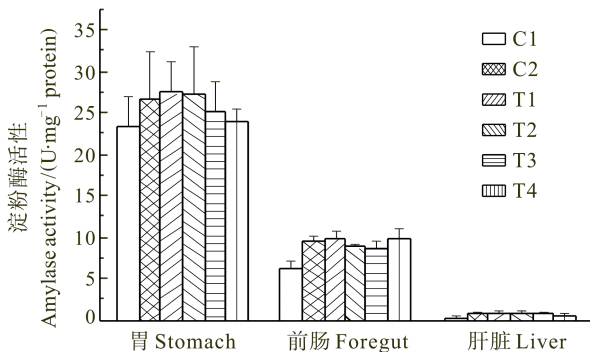


图 3 不同饲料对黄斑蓝子鱼胃、前肠和肝脏淀粉酶活性的影响

Fig. 3 Effects of different diets on amylase activities in stomach, foregut and liver of *S. canaliculatus*

2.4 不同饲料对全鱼生化成分的影响

不同饲料组黄斑蓝子鱼的全鱼生化指标见表 4。投喂不同饲料后，黄斑蓝子鱼全鱼水分、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分均没有显著性差异(P>0.05)。

表 4 不同饲料组黄斑蓝子鱼的体成分(%)

Tab. 4 Body composition of *S. canaliculatus* fed with the experimental diets(%)

饲料 Diet	水分 Moisture	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude lipid	粗灰分 Crude ash
C1	69.81±0.57	18.21±0.58	11.39±0.77	3.86±0.26
C2	69.46±0.52	19.60±0.98	10.86±0.66	4.28±0.25
T1	69.72±1.33	18.71±0.92	11.74±0.89	3.83±0.50
T2	70.28±0.94	18.37±0.61	11.31±0.97	3.69±0.24
T3	70.94±0.48	18.02±0.52	10.68±0.84	4.23±0.15
T4	70.61±1.57	18.12±0.86	11.09±0.57	4.00±0.13

2.5 不同饲料氨基酸组成

从表 5 可以看出，饲料中添加 15% 的石莼藻粉并减少 4% 的鱼粉后，饲料中氨基酸的组成发生了变化。其中必需氨基酸 Met、Tyr、Lys 低于 C1 对照组，而 His 高于 C1 对照组；非必需氨基酸 Glu、Gly、Ser 高于 C1 对照组，而 Ala 则低于 C1 对照组。

表 5 不同饲料氨基酸组成

Tab. 5 The amino acid composition of the six experimental diets

氨基酸 Amino acid(%)	饲料 Diet					
	C1	C2	T1	T2	T3	T4
天冬氨酸 Asp	9.91	9.49	9.54	9.50	9.69	9.47
苏氨酸 Thr	4.77	4.60	4.49	4.28	4.80	4.86
丝氨酸 Ser	3.46	5.68	5.89	5.99	5.94	5.59
谷氨酸 Glu	12.41	13.92	14.34	14.26	13.90	14.32
脯氨酸 Pro	0.27	0.26	0.29	0.28	0.29	0.27
甘氨酸 Gly	11.50	13.72	13.28	13.20	13.40	13.49
丙氨酸 Ala	11.29	8.94	9.21	8.81	8.40	8.49
半胱氨酸 Cys	0.33	0.47	0.42	0.47	0.49	0.46
缬氨酸 Val	4.80	4.80	4.19	5.02	4.83	4.41
蛋氨酸 Met	2.73	2.03	2.12	2.14	2.17	2.00
异亮氨酸 Iso	4.15	4.17	3.83	4.07	4.12	4.36
亮氨酸 Leu	10.02	9.84	9.78	9.44	9.60	9.92
酪氨酸 Tyr	3.30	1.97	2.32	2.34	2.33	1.98
苯丙氨酸 Phe	4.12	4.05	4.31	4.25	4.22	4.17
赖氨酸 Lys	9.03	7.61	7.38	7.12	7.18	7.29
组氨酸 His	2.65	3.42	3.46	3.61	3.59	3.62
精氨酸 Arg	5.27	5.03	5.15	5.24	5.04	5.29

2.6 不同饲料对鱼体背部肌肉氨基酸组成的影响

不同饲料对鱼体背部肌肉氨基酸组成的影响见表 6。

表 6 不同饲料投喂组黄斑蓝子鱼背部肌肉氨基酸组成
Tab. 6 The amino acid composition of muscle in *S. canaliculatus* fed with the experimental diets

氨基酸 Amino acid(%)	饲料 Diet					
	C1	C2	T1	T2	T3	T4
天冬氨酸 Asp	9.11±0.22	8.78±0.17	8.54±0.20	9.25±0.25	8.56±0.19	8.74±0.21
苏氨酸 Thr	5.08±0.12	5.24±0.19	5.16±0.23	5.12±0.06	5.37±0.06	5.35±0.16
丝氨酸 Ser	5.49±0.21	5.29±0.31	5.12±0.13	4.94±0.31	5.58±0.09	5.70±0.12
谷氨酸 Glu	12.36±0.20 ^b	14.36±0.62 ^a	14.35±0.32 ^a	14.22±0.07 ^a	14.42±0.10 ^a	14.25±0.22 ^a
脯氨酸 Pro	0.24±0.01	0.28±0.03	0.27±0.02	0.29±0.05	0.26±0.02	0.28±0.03
甘氨酸 Gly	12.22±0.05	12.15±0.42	12.09±0.13	12.40±0.19	12.57±0.12	12.63±0.20
丙氨酸 Ala	9.11±0.22	8.78±0.17	8.54±0.20	9.25±0.25	8.56±0.19	8.74±0.21
半胱氨酸 Cys	0.49±0.01	0.41±0.09	0.49±0.03	0.48±0.04	0.53±0.02	0.49±0.01
缬氨酸 Val	5.29±0.14	5.51±0.13	5.53±0.04	5.16±0.15	4.94±0.09	5.16±0.29
蛋氨酸 Met	2.85±0.16 ^a	1.70±0.01 ^b	1.44±0.29 ^b	1.73±0.17 ^b	1.72±0.08 ^b	1.55±0.13 ^b
异亮氨酸 Iso	3.56±0.12	3.68±0.21	3.88±0.04	3.62±0.17	3.46±0.23	3.58±0.17
亮氨酸 Leu	9.95±0.15	10.14±0.08	10.14±0.05	10.44±0.18	10.09±0.14	10.04±0.30
酪氨酸 Tyr	4.06±0.06 ^a	2.39±0.02 ^b	2.33±0.05 ^b	2.33±0.06 ^b	2.33±0.09 ^b	2.48±0.27 ^b
苯丙氨酸 Phe	3.90±0.05	3.98±0.06	3.86±0.10	3.86±0.10	3.72±0.10	3.84±0.10
赖氨酸 Lys	9.45±0.26	9.06±0.32	9.02±0.14	8.78±0.19	8.86±0.39	9.00±0.18
组氨酸 His	1.86±0.01 ^b	3.05±0.06 ^a	3.04±0.01 ^a	3.14±0.02 ^a	3.22±0.02 ^a	3.13±0.07 ^a
精氨酸 Arg	5.17±0.08	5.00±0.06	5.12±0.04	5.23±0.08	5.24±0.06	5.16±0.01

从表 6 可以看出,肌肉中氨基酸的变化趋势和饲料氨基酸的变化趋势基本一致,其中必需氨基酸 Met 和 Tyr 在添加石莼组中显著低于 C1 对照组($P<0.05$),而 His 显著高于 C1 对照组($P<0.05$);非必需氨基酸 Glu 在添加石莼组中显著高于 C1 对照组($P<0.05$)。

2.7 不同饲料主要脂肪酸组成

从表 7 可以看出,海藻饲料中的主要多不饱和脂肪酸(18:2n6, 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3)含量都有所下降,这主要是因为添加石莼组中鱼粉添加量减少造成的,鱼粉中含有较高的脂肪(鱼油),因此减少鱼粉的用量一定程度上降低了饲料中多不饱和脂肪酸的含量。

2.8 不同饲料对鱼体背部肌肉主要脂肪酸组成的影响

从表 8 可以看出,饲料中添加石莼后鱼体背部肌

肉脂肪酸含量变化趋势和饲料中脂肪酸变化基本一致。添加石莼组多不饱和脂肪酸(18:2n6, 20:5n3, 22:5n3)含量显著降低,而 DHA(22:6n3)在各组却没有显著性差异。

表 7 试验饲料主要脂肪酸组成
Tab. 7 The main fatty acid composition of the six experimental diets

脂肪酸(%) Fatty acid(%)	饲料 Diet					
	C1	C2	T1	T2	T3	T4
18:2n6	28.58	23.25	23.42	20.82	22.85	22.70
18:3n6	0.20	0.20	0.19	0.18	0.18	0.20
18:3n3	4.06	3.60	3.47	3.34	3.51	3.59
20:4n6	0.46	0.36	0.37	0.36	0.36	0.37
20:5n3	6.30	5.20	4.96	5.15	5.19	5.10
22:5n3	0.65	0.56	0.67	0.55	0.56	0.59
22:6n3	6.88	5.68	5.50	5.64	5.58/	5.73

表 8 不同饲料投喂组鱼体背部肌肉主要脂肪酸组成
Tab. 8 The main fatty acid composition of muscle in *S. canaliculatus* fed with the experimental diets

脂肪酸 Fatty acid(%)	饲料 Diet					
	C1	C2	T1	T2	T3	T4
18:2n6	17.05±0.17 ^a	15.56±0.23 ^b	15.40±0.07 ^b	15.76±0.16 ^b	15.52±0.06 ^b	15.00±0.62 ^b
18:3n6	0.60±0.03	0.58±0.02	0.49±0.01	0.53±0.01	0.57±0.05	0.57±0.01
18:3n3	1.97±0.01	1.88±0.06	1.91±0.02	1.91±0.02	2.10±0.10	1.88±0.06
20:3n6	0.61±0.01	0.58±0.03	0.67±0.04	0.57±0.01	0.64±0.01	0.60±0.01
20:4n6	1.08±0.06	0.97±0.02	1.03±0.10	1.04±0.06	0.91±0.10	1.10±0.05
20:5n3	2.65±0.02 ^a	2.03±0.14 ^b	1.96±0.16 ^b	1.98±0.16 ^b	2.00±0.08 ^b	2.08±0.05 ^b
22:5n3	3.30±0.07 ^a	2.62±0.09 ^b	2.73±0.11 ^b	2.51±0.02 ^b	2.66±0.08 ^b	2.79±0.18 ^b
22:6n3	8.62±0.04	8.69±0.17	8.05±0.31	7.88±0.44	8.12±0.27	7.80±0.19

3 讨论

3.1 石莼饲料中添加 NSP 酶对黄斑蓝子鱼生长和饲料消化率的影响

一般认为,水产动物自身可以分泌淀粉酶和某些蛋白酶,而有些酶水产动物本身不能分泌,如纤维素酶、 β -葡聚糖酶和木聚糖酶等 NSP 酶(李静静,2010),因此在饲料中添加适量的 NSP 酶能够帮助鱼类更好地利用饲料。张璐等(2006, 2009)研究了 NSP 酶对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea* R.)及鲈鱼(*Lateolabrax japonicus* C.)消化酶活性的影响,结果表明,饲料中添加 NSP 酶能够增强鱼体生长性能,并且提高鱼体胃肠道淀粉酶活性。陈京华(2009)研究了 NSP 酶对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)消化酶活性以及饲料表观消化率的影响,研究表明,添加 0.2% NSP 酶能显著提高牙鲆饲料表观消化率,但淀粉酶活性没有差异。王纪亭等(2006)研究了 NSP 酶对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*)生长性能以及饲料表观消化率的影响,结果表明,添加 NSP 酶提高了鱼体生长性能以及饲料干物质和蛋白质的表观消化率。本研究结果显示,石莼饲料中加入 NSP 酶后,黄斑蓝子鱼的生长性能、饲料利用率以及蛋白质效率都有所增加,并与饲料表观消化率的结果相呼应。表观消化率的结果显示,加入石莼后黄斑蓝子鱼对饲料干物质以及蛋白质表观消化率都显著降低,而加入酶制剂后都有所上升,尤其是蛋白质的表观消化率显著上升。这表明在黄斑蓝子鱼的石莼饲料中添加 NSP 酶,可以提高黄斑蓝子鱼的生长效果和饲料利用率。但是,石莼组不论加酶与否,蛋白质效率都比鱼粉组低,这可能是氨基酸比例不一致导致的。通过对饲料氨基酸的分析可以看到,石莼组必需氨基酸 Met、Tyr、Lys 要低于鱼粉对照组,在以后的研究中可以通过添加必需氨基酸补足。另一个原因可能是石莼组饲料中的抗营养因子使得饲料表观消化率降低,鱼体增重小,从而使得蛋白质效率较低。

众所周知,影响饲料消化率的原因主要包含两个方面,一个是原料本身(原料中的营养成分和抗营养因子),另一个则是饲料的制作方法(Francis *et al*, 2001; Drew *et al*, 2007; Cheng *et al*, 2003)。在本研究中,六组饲料的制作方法一样,因此,影响黄斑蓝子鱼对饲料消化率的因素应该是海藻。海藻细胞含有大量的 NSP,如:纤维素、半纤维素、果胶类物质等不能被鱼类自身分泌的消化酶水解,是鱼类饲料中最主要的抗营养因子,NSP 常与蛋白质和无机离子等结合在一

起,是限制鱼类利用植物蛋白源的制约因素之一(Francis *et al*, 2001; Lee, 2002),因此,大型海藻在饲料中的添加量一般不超过 10%–15%(Walker *et al*, 2009)。NSP 酶能够降解食糜中的 NSP,从而降低饲料粘度,提高饲料利用率,因此,在石莼饲料中添加 NSP 酶后,黄斑蓝子鱼的生长性能和饲料利用率都得到提高,其作用主要是将 NSP 降解为小分子多糖,而不是降解为可利用的单糖。研究表明,大麦日粮中添加 NSP 酶制剂后,分子量大于 500000Da 的葡聚糖组分减少,食糜粘度降低,饲料的消化率随之上升(刘强等, 1999)。但是,另一方面,加入的酶制剂过量,可能会过分地降低食糜的粘度,缩短食物在肠道中的滞留时间,导致生物体对营养成分的吸收降低(王爱民等, 2006),这可能是 T4 饲料组鱼的生长效果及饲料消化率低于其他加酶实验组的原因。

3.2 石莼饲料中添加 NSP 酶对黄斑蓝子鱼消化酶的影响

鱼类内源消化酶主要有蛋白酶、脂肪酶以及淀粉酶等,其活性受到鱼的种类、生长阶段以及生活环境等因素的影响(潘雷等, 2013)。通过对鱼类内源消化酶的研究,能更好地了解鱼类对饵料的需求,研发高效低成本的配合饲料,对开展鱼类的人工养殖具有重要的指导意义

本研究中,黄斑蓝子鱼消化道中的消化酶在各饲料投喂组之间无显著差异,说明添加外源性的 NSP 酶并不会影响黄斑蓝子鱼内源消化酶的活性,但加入石莼的 5 组鱼体中,淀粉酶都略高于不加石莼的 C1 对照组,这可能与黄斑蓝子鱼是偏植食性的杂食性海水鱼类有关(Pillans *et al*, 2004),当饲料中添加海藻后,诱导了黄斑蓝子鱼消化系统分泌更多的淀粉酶。

3.3 饲料中添加石莼对黄斑蓝子鱼营养组成的影响

本研究结果显示,饲料中添加 15%的石莼对黄斑蓝子鱼的鱼体成分无显著影响,与 Xu 等(2011)对黄斑蓝子鱼的研究结果相同,同样的结果在大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)(Asino *et al*, 2011)和红罗非鱼(*Oreochromis* sp.)(Nader *et al*, 2010)中也得到证实。但是, Azaza 等(2008)对尼罗罗非鱼(*O. niloticus* L.)的研究显示,饲料中添加不同浓度(10%–30%)的石莼后,鱼体的水分和灰分含量随着石莼添加量的增加而显著增加,蛋白和脂肪却显著下降。出现以上不同的结果,可能与试验鱼和海藻的种类不同有关。在本研究中,海藻饲料投喂组鱼背部肌肉中非必需氨基酸 Glu 显著升高。众所周知, Glu 是鲜味氨基酸,野生

鱼体摄食更多的海藻,因此 Glu 含量高,味道可能更鲜美。而必需氨基酸 Met、Tyr 在石莼组中显著降低,可能会对鱼肉品质产生影响。脂肪酸方面,海藻饲料中多不饱和脂肪酸(18:2n6, 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3)降低,这也直接影响了鱼体肌肉脂肪酸的组成。检测结果显示,石莼组鱼体背部肌肉中 18:2n6, 20:5n3, 22:5n3 显著降低,出现以上变化可能是因为加入石莼的同时减少了鱼粉添加量而导致的,鱼粉中所含氨基酸更加丰富平衡,且含有一定量的鱼油(10%左右),因而减少鱼粉添加量,导致了必需氨基酸和多不饱和脂肪酸的减少,而 DHA(22:6n3)在各组却没有显著性差异。这可能是因为黄斑蓝子鱼有高效的 $\Delta 4$ 去饱和途径,能够直接利用 EPA 合成 DHA(Li *et al*, 2010)。

综上所述,黄斑蓝子鱼配合饲料中添加 15% 的石莼对生长和饲料利用率有明显负面影响。但在石莼饲料中添加 NSP 酶后,其生长效果和饲料利用率得到明显改善。饲料中添加海藻对鱼肉的营养品质无较大影响,而风味氨基酸谷氨酸(Glu)显著增加。

参 考 文 献

- 王纪亭, 吴淑勤, 石存斌, 等. 非淀粉多糖酶对奥尼罗非鱼生产性能和饲料消化率的影响. 中国畜牧杂志, 2006, 42(3): 37-40
- 王爱民, 刘文斌. 外源酶对异育银鲫鱼种生长及表观消化率的影响研究. 饲料工业, 2006, 27(2): 26-29
- 刘文斌, 周岩民. 饵料中添加酶制剂对异育银鲫消化和增重的影响. 南京农业大学学报, 1999, 22(3): 57-60
- 刘强, 冯学琴. 非淀粉多糖酶制剂的研究与应用进展. 动物营养学报, 1999, 11(2): 6-11
- 李静静. 饲用酶制剂在渔业中的应用探讨. 湖南饲料, 2010, (3): 15-17
- 张璐, 麦康森, 艾庆辉, 等. 植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和消化酶活性的影响. 水生生物学报, 2009, 33(1): 82-88
- 张璐, 麦康森, 艾庆辉, 等. 饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶对大黄鱼生长和消化酶活性的影响. 中国海洋大学学报, 2006, 36(6): 923-928
- 陈京华. 非淀粉多糖酶对牙鲆消化酶活性和饲料消化率的影响. 中国农学通报, 2009, 25(13): 268-272
- 赵素芬, 孙会强, 王丹, 等. 湛江海区 8 种常见海藻营养成分分析. 广东海洋大学学报, 2008, 28(6): 30-34
- 潘雷, 房慧, 张少春, 等. 大泷六线鱼仔、稚、幼鱼期消化酶活力的变化. 渔业科学进展, 2013, 33(2): 54-60
- Asino H, Ai QH, Mai KS. Evaluation of *Enteromorpha prolifera* as a feed component in large yellow croaker diets. Aquaculture Research, 2011, 42(4): 525-533
- Azaza MS, Mensi F, Ksouri J. Growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with diets containing graded levels of green algae ulva meal (*Ulva rigida*) reared in geothermal waters of southern Tunisia. J Appl Ichthyol, 2008, 24(2): 202-207
- Cheng ZJ, Hardy RW. Effects of extrusion processing of feed ingredients on apparent digestibility coefficients of nutrients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Nutrition, 2003, 9(2): 77-83
- Cho CY, Kaushik SJ. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilisation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). World Review of Nutrition and Dietetics, 1990, 61: 132-172
- Dantagnan P, Hernández A, Borquez A. Inclusion of macroalgae meal (*Macrocystis pyrifera*) as feed ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect on flesh fatty acid composition. Aquaculture Research, 2009, 41(1): 87-94
- Drew MD, Borgeson TL, Thiessen DL. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. Animal Feed Science and Technology, 2007, 138: 118-136
- Fagbenro OA. Soybean meal replacement by roquette (*Eruca sativa* Miller) seed meal as protein feed stuff in diets for African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), fingerlings. Aquaculture Research, 2004, 35: 917-923
- Fiogbe ED, Micha JC, Van Hove C. Use of a natural aquatic fern, *Azolla microphylla*, as a main component in food for the omnivorous-phytoplanktonophageous tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). J Appl Ichthyol, 2004, 20(6): 517-520
- Francis G, Makkar HPS, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture, 2001, 199(3-4): 197-227
- Hasan MR, Chakrabarti R. Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 2009, 531: 1-123
- Hesselman K, Aman R. The effect of β -glucan on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low or high viscosity. Animal Feed Sci Technol, 1986, 45: 65-69
- Kumar M, Kumari P, Trivedi N. Minerals, PUFAs and antioxidant properties of some tropical seaweeds from Saurashtra coast of India. J Appl Phycol, 2011, 23(5): 797-810
- Lee SM. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebaste schlegeli*). Aquaculture, 2002, 207(1-2): 79-95
- Li YY, Monroig O, Zhang L, *et al*. Vertebrate fatty acyl desaturase with $\Delta 4$ activity. Proc Natl Acad Sci, 2010, 107(39): 16840-16845
- Nader D, El-tawil. Effects of green seaweeds (*Ulva* sp.) as feed supplements in Red Tilapia (*Oreochromis* sp.) diet on growth performance, feed utilization and body composition. Journal of the Arabian Aquaculture Society, 2010, 5(2): 179-194
- Pereira R, Luisa MPV, Isabel SP, *et al*. Apparent nutrient digestibility of seaweeds by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Algal Research, 2012, 1(1): 77-82
- Pillans RD, Franklin CE, Tebbetfs IR. Food choice in *Siganus*

- fuscus*: influence of macrophyte nutrient content and availability. *J Fish Biol*, 2004, 64(2): 297–309
- Richter N, Siddhuraju P, Becker K. Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera*) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 2003, 217(1–4): 599–611
- Walker AB, Fournier HR, Neffus CD, *et al.* Partial replacement of fish meal with laver *Porphyra* spp. in diets for Atlantic cod. *Animal Journal Aquaculture*, 2009, 71(1): 39–45
- Xu SD, Zhang L, Wu QY, *et al.* Evaluation of dried seaweed *Gracilaria lemaneiformis* as an ingredient in diets for teleost fish *Siganus canaliculatus*. *Aquaculture International*, 2011, 19(5): 1007–1018
- Xu ZR, Sun JY, Li WF. The antinutritive factor of barley and its mechanism of anti-nutritive activity. *Barley Science*, 1999, 1: 1–4
- Zhou Y, Yang HS, Hu HY, *et al.* Bioremediation potential of the macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta) integrated into feed fish culture in coastal waters of north China. *Aquaculture*, 2006, 252(2–4): 264–276

(编辑 刘丛力)

Effects of Non-Starch Polysaccharide Enzymes in Diets with Seaweed *Ulva pertusa* on Growth, Dietary Apparent Digestibility and Flesh Nutrition Composition of *Siganus canaliculatus*

YOU Cuihong, LI Xi, WANG Shuqi, LI Yuanyou

(*Marine Biology Institute & Guangdong Provincial Key Laboratory of Marine Biotechnology, Shantou University, Shantou, Guangdong 515063*)

Abstract In order to evaluate the effects of non-starch polysaccharide (NSP) enzymes in the seaweed *Ulva pertusa*-containing diets on the feed utilization of *Siganus canaliculatus*, we prepared six isonitrogenous and isolipid compound diets with 32% crude protein and 8% lipid. Diets without seaweed were used as control diet 1 (C1); diets that contained 15% seaweed powder were used as control diet 2 (C2); four other diets that contained 15% seaweed powder together with different levels of non-starch polysaccharide enzyme were used as experimental diets (T1–T4). *S. canaliculatus* juveniles were fed with these six diets for 8 weeks. We then compared their growth performance, the activities of digestive enzymes, and the apparent digestibility of nutrients, in order to determine the effects NSP and its optimal amount in the diet. The results showed that the weight gain rate, specific growth rate and protein efficiency rate in Groups T1–T4 were higher than those in Group C2, but displayed no significant difference from Group C1 (except for the protein efficiency in Group T4) ($P>0.05$). All six groups showed no significant differences in the body biochemical composition and activities of digestive enzymes in stomach, foregut and liver that included protease, amylase and lipase ($P>0.05$). The apparent digestibility coefficient of protein and the digestibility of dry matter in Groups T1–T4 were significantly higher than those in Group C2 ($P<0.05$). The whole body composition was similar between the seaweed groups and the control group. In terms of the amino acid and fatty acid composition in the dorsal muscles, seaweed groups showed no significant differences from the control, except that the levels of ALA, EPA, DPA, Tyr and Met in flesh were reduced in the seaweed groups, and the level of His was increased. These results indicated that the addition of NSP enzyme in seaweed-containing diets could improve the growth performance and feed utilization efficiency, and seaweeds in diet have little impact on the nutrition composition in the flesh.

Key words Non-starch polysaccharide enzyme; *Siganus canaliculatus*; Seaweed diet; Digestive enzyme; Apparent digestibility coefficient