

饲料中浒苔添加量以及处理方法对幼刺参生长、 消化率、消化酶和非特异性免疫酶的影响

秦 搏^{1,2}, 常 青¹, 陈四清^{1*}, 刘长琳¹, 吕云云^{1,2}, 王志军³

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 山东科合海洋高技术有限公司, 山东 威海 264513)

摘要: 采用单因素实验设计, 先配制 6 种浒苔含量(0%、5%、10%、15%、20% 和 25%) 饲料饲养初始体质量(1.44 ± 0.01)g 幼刺参 49 d, 然后根据浒苔含量实验结果配制 20% 含量、3 种方法处理的浒苔[干燥粉碎(DC)、纤维素酶酶解后干燥粉碎(DCC)和蛋白酶酶解后干燥粉碎(DCP)]饲料饲养初始体质量(4.58 ± 0.23)g 幼刺参 60 d, 以研究饲料中浒苔添加量以及处理方式对幼刺参生长、消化率、消化酶和非特异性免疫酶的影响。实验每组饲料设 3 个重复, 每个重复饲喂 35 头刺参。结果显示:(1) 浒苔对提高刺参特定生长率(SGR)、肠道淀粉酶(AMS)活性和超氧化物歧化酶(SOD)和降低饲料系数(FCR)有显著作用($P < 0.05$), 其中 20% 浒苔含量最好, 浒苔能显著降低饲料干物质表观消化率(ADCd)和粗蛋白质表观消化率(ADCp)($P < 0.05$), 对刺参摄食率(FI)、成活率(SR)、肠道胃蛋白酶(PP)活性和酸性磷酸酶(ACP)无显著性影响($P > 0.05$)。 (2) 3 种方法处理的浒苔中, DCC 和 DCP 浒苔对提高刺参 SGR、ADCd、ADCp、肠道 AMS、PP、SOD 和 ACP 活性和降低 FCR 有显著作用($P < 0.05$), 其中 DCC 浒苔最好, 3 种方法处理的浒苔对刺参 FI 和 SR 亦无显著性影响($P > 0.05$)。在本实验条件下, 幼刺参饲料中浒苔适宜含量为 20%; 纤维素酶酶解后干燥粉碎浒苔是一个理想的浒苔处理方法。

关键词: 浒苔; 刺参; 生长; 消化率; 消化酶; 非特异性免疫酶

中图分类号: S 963

文献标志码: A

刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka), 又称仿刺参, 隶属于棘皮动物门(Echinodermata)、刺参科(Stichopodidae)、仿刺参属(*Apostichopus*)。20 世纪 80 年代以来, 随着刺参人工育苗技术的突破, 刺参养殖业空前发展, 成为我国北方沿海水产养殖的新兴产业, 形成了具有北方特色的养殖产业和新的海洋经济增长点。然而, 刺参配合饲料的研究与生产滞后于产业发展需求, 成为制约刺参养殖业健康可持续发展的一个重要因素, 因此, 急需加大力度开展对刺参高效配合饲料的研究。

浒苔(*Enteromorpha prolifera*), 隶属于绿藻

门(Chlorophyta)、石莼科(Ulvaceae)、浒苔属(*Enteromorpha*), 是一种世界性的大型海藻。浒苔爆发会对沿海环境造成不利的影 响, 同时其未得到有效利用导致浒苔资源的浪费。以浒苔作为饲料, 既为消除浒苔爆发危害发挥了作用, 又可变废为宝。浒苔营养物质含量较丰富, 已有研究应用于白斑篮子鱼(*Siganus canaliculatus*)^[1]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[2]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[3]、梭鱼(*Liza haematocheila*)^[4] 和黑鲍(*Haliotis cracherodii* Leach)^[5] 等水产动物饲料上, 研究结果表明, 浒苔具有促生长、增强机体免

收稿日期:2014-12-07 修回日期:2015-01-17

资助项目:山东省科学技术发展计划(2012YD15001)

通信作者:陈四清, E-mail:chensq@ysfri.ac.cn

疫力等作用。浒苔在刺参饲料中的应用主要集中在对刺参生长性能及成活率的影响方面^[6-9],关于浒苔对刺参消化生理和非特异性免疫的研究较少。本实验通过配制不同含量和采用不同处理方法的浒苔饲料,研究其对幼刺参生长、消化和非特异性免疫的影响,确定浒苔在刺参饲料中的适宜含量以及处理方法,以期合理开发利用浒苔,为刺参高效配合饲料研制提供参考。

1 材料与方

1.1 实验材料

幼刺参购自山东科合海洋高技术有限公司;浒苔干粉购自中国海洋大学生物工程开发有限公司;饲料级纤维素酶粉状制剂,购自苏柯汉生物工程有限公司,活力为 20 000 U/g;饲料级蛋白酶液体制剂,购自诺维信(中国)生物技术有限公司,活力为 2.4 AU/mL。

1.2 基础饲料

实验以马尾藻粉、海带粉、脱胶海带粉、酵母、鱼粉、豆粕、维生素预混料和矿物质预混料为原料,配制粗蛋白质为 20.25%,粗脂肪为 0.95% 的粉状基础饲料(表 1)。

1.3 实验设计与饲料配制

浒苔含量实验采用单因素梯度水平实验设计,分别用 0、5%、10%、15%、20% 和 25% 的浒苔(干燥粉碎, dry crushing, DC) 替代基础饲料中的部分马尾藻粉和海带粉(表 2)。

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Tab.1 Composition and nutrient levels of the basal diet(DM basis) %

项目 ingredients	含量 contents
马尾藻粉 <i>Sargassum</i> meal	20.00
海带粉 kelp meal	30.00
脱胶海带粉 degummed kelp meal	34.00
酵母 yeast	8.00
鱼粉 fish meal	3.00
豆粕 soybean meal	3.00
维生素预混料 vitamin premix ¹	1.00
矿物质预混料 mineral premix ²	1.00
营养水平 nutrient levels ³	
粗蛋白质 CP	20.25
粗脂肪 EE	0.95
粗纤维 CF	18.09
灰分 ash	40.23

注:1. 维生素预混料为每千克饲料提供:核黄素 150 mg, 盐酸吡哆醇 200 mg, 肌醇 600 mg, 盐酸硫胺素 100 mg, VB₁₂ 0.03 mg, VK₃ 50 mg, 泛酸钙 150 mg, 尼克酸 600 mg, 叶酸 15 mg, 生物素 1.20 mg, 醋酸视黄醇 35 mg, VD₃ 12 mg, VE 120 mg, 乙氧基喹啉 150 mg; 2. 矿物质预混料为每千克饲料提供:KI 0.8 mg, CoCl₂ · 6H₂O(1%) 35 mg, CuSO₄ · 5H₂O 100 mg, FeSO₄ · 7H₂O 450 mg, MnSO₄ · H₂O 60 mg, ZnSO₄ · H₂O 250 mg, MgSO₄ · 7H₂O 4 000 mg, Na₂SeO₃(1%) 5 mg; 3. 实测值

Notes: 1. Vitamin premix provided the following per kg of diet: riboflavin 150 mg, pyridoxine hydrochloride 200 mg, inositol 600 mg, thiamin 100 mg, VB₁₂ 0.03 mg, VK₃ 50 mg, calcium pantothenate 150 mg, niacin acid 600 mg, folic acid 15 mg, biotin 1.20 mg, retinol acetate 35 mg, VD₃ 12 mg, VE 120 mg, ethoxyqui 150 mg; 2. Mineral premix provided the following per kg of diet: KI 0.8 mg, CoCl₂ · 6H₂O(1%) 35 mg, CuSO₄ · 5H₂O 100 mg, FeSO₄ · 7H₂O 450 mg, MnSO₄ · H₂O 60 mg, ZnSO₄ · H₂O 250 mg, MgSO₄ · 7H₂O 4 000 mg, Na₂SeO₃(1%) 5 mg; 3. Measured values

表 2 浒苔含量实验设计

Tab.2 Experimental design of contents of *E. prolifera* %

组别 groups	浒苔(DC) <i>E. prolifera</i> (DC)	马尾藻粉 <i>Sargassum</i> meal	海带粉 kelp meal	PI ¹	营养水平 ² nutrient levels			
					粗蛋白质 CP	粗脂肪 EE	粗纤维 CF	灰分 ash
D1	0	20.00	30.00	50.00	20.25	0.95	18.09	40.23
D2	5.00	15.00	30.00	50.00	20.18	0.95	17.94	39.31
D3	10.00	15.00	25.00	50.00	20.05	0.95	17.67	38.39
D4	15.00	10.00	25.00	50.00	19.93	0.95	17.50	37.47
D5	20.00	10.00	20.00	50.00	19.60	0.95	17.25	36.56
D6	25.00	5.00	20.00	50.00	19.45	0.95	17.09	35.64

注:1. PI 为基础饲料中除马尾藻粉和海带粉外其他成分, 占各实验组饲料 50%; 2. 实测值; 下同

Notes: 1. PI is the basis diet without *Sargassum* meal and kelp meal, and it is half of experimental diets; 2. Measured values; The same as the following

根据浒苔适宜含量实验的结果, 3 种方法处理的浒苔实验采用单因素对比实验设计, 分别用 20% 含量的 3 种方法处理浒苔[干燥粉碎(DC), 纤维素酶酶解后干燥粉碎(dry crushing

after cellulase treatment, DCC) 和蛋白酶酶解后干燥粉碎(dry crushing after protease treatment, DCP)] 替代基础饲料中部分马尾藻粉和海带粉(表 3)。

表3 3种方法处理的浒苔实验设计
Tab.3 Experimental design of three treatments of *E. prolifera* %

组成 content	组别 groups			
	A	B	C	D
浒苔(DC) <i>E. prolifera</i> (DC)	0	20.00	0	0
浒苔(DCC) <i>E. prolifera</i> (DCC)	0	0	20.00	0
浒苔(DCP) <i>E. prolifera</i> (DCP)	0	0	0	20.00
马尾藻粉 <i>Sargassum</i> meal	20.00	10.00	10.00	10.00
海带粉 kelp meal	30.00	20.00	20.00	20.00
PI	50.00	50.00	50.00	50.00
营养水平 nutrient levels ¹				
粗蛋白质 CP	20.25	19.60	19.64	19.58
粗脂肪 EE	0.95	0.96	0.96	0.97
粗纤维 CF	18.12	17.28	15.23	16.78
灰分 ash	40.23	36.56	36.56	36.54

所有饲料原料粉碎粒度均小于 150 μm , 按配方逐级添加, 小型搅拌机混合均匀, 制成粉末饲料。分别另配制含有 0.5% Cr_2O_3 指示剂的饲料用于消化实验, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.4 浒苔处理方式

浒苔先经淡水洗涤, 去除盐分和泥沙, 挤压去除水分, 挤压后浒苔含水量为 70%, 然后分别进行干燥粉碎、纤维素酶酶解后干燥粉碎和蛋白酶酶解后干燥粉碎处理。具体处理方式如下:

干燥粉碎 将挤压后的浒苔, $80\text{ }^\circ\text{C}$, 36 h 烘干后, 粉碎成粒径小于 150 μm 的干粉, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

纤维素酶酶解后干燥粉碎 参照朱建新等^[9]和王昌义^[10]的研究自制, 即按浒苔干重的 0.20% 添加纤维素酶, 充分搅拌后, $40\text{ }^\circ\text{C}$ 下, 酶解处理 2 h。 $80\text{ }^\circ\text{C}$, 36 h 烘干后, 粉碎粒径小于 150 μm 的干粉, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

蛋白酶酶解后干燥粉碎 参照朱建新等^[9]和王昌义^[10]的研究自制, 即按浒苔干重的 0.33% 添加蛋白酶, 充分搅拌后, $55\text{ }^\circ\text{C}$ 下, 酶解处理 2 h。 $80\text{ }^\circ\text{C}$, 36 h 烘干后, 粉碎成粒径小于 150 μm 的干粉, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

1.5 饲养管理

养殖实验在山东科合海洋高技术有限公司刺参养殖车间内进行。

浒苔含量实验饲养 49 d。选取 630 头平均初始体质量 (1.44 ± 0.01) g 的幼刺参, 随机分成 6 组, 每组 3 个重复, 每个重复 35 头, 饲养于 150 L 的塑料水槽中, 水槽中放置 1 个塑料筐, 筐上插入

10 个波纹板。实验水温情况见图 1, 盐度在 30.5 ~ 31.5, 溶氧在 5 mg/L 以上, pH 为 7.8 ~ 8.1, 连续充气。

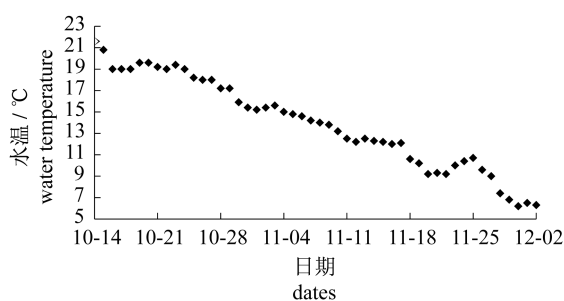


图1 浒苔含量实验水温情况
Fig.1 Water temperature variation during test of contents of *E. prolifera*

3 种方法处理浒苔实验饲养 60 d。选取 420 头平均初始体质量 (4.58 ± 0.23) g 的幼刺参, 随机分成 4 组, 每组 3 个重复, 每个重复 35 头。实验水温情况见图 2, 其他条件同上。

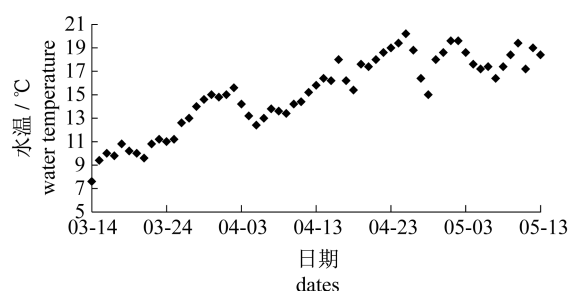


图2 3种方法处理的浒苔实验水温情况
Fig.2 Water temperature variation during test of three treatments of *E. prolifera*

每天 14:00 换水一次, 换水量为 1/2 ~ 2/3, 换水后投喂 1 次, 饲料: 湿海泥为 1:6 (湿海泥含水量 67%, 过 80 目筛, 实验基地多年生产使用该湿海泥的料泥最适比例是 1:6)。饲料初始投喂量为刺参体质量的 3%, 然后根据每天观察到的刺参摄食和排便情况, 及时调整投喂量, 并每天测定水温、溶氧、pH 和盐度等, 记录投喂量和死亡情况。

消化实验单独养殖, 除投喂时不添加海泥、直接投喂已浸泡的饲料和收集粪样, 以及两个消化实验期间水温均为 15 ~ 19 $^\circ\text{C}$ 外, 实验用刺参、分组、饲养管理及养殖条件与养殖实验一致。

1.6 样品采集与处理

样品采集 实验开始与结束时对各组刺参

进行计数、称重,称重方法参照李旭等^[11]称重方法。

实验结束时,各实验组随机选取5头刺参,取其肠道保存于液氮中,然后-80℃超低温冰箱中保存,用于消化酶和免疫酶活性的测定。

消化实验粪样收集:采用虹吸法收集包膜完整粪样。每9天每组换1批(35头)刺参,先用各组实验饲料暂养5d,暂养结束后收集粪便,连续收集4d作为一个重复,共收集3个重复。将收集的粪样55℃烘干,-20℃保存以备测定。

样品处理 刺参肠道粗酶液的制备:从-80℃冰箱中取出刺参肠道,冰浴解冻,称湿重,按重量1(g):9(mL)生理盐水后,冰浴匀浆。匀浆液于4℃离心20min(2500r/min),上清液(粗酶液)于4℃保存备用(24h内分析完)。粗酶液蛋白浓度采用南京建成生物工程有限公司蛋白定量测定试剂盒(考马斯亮蓝法)测定。

1.7 实验测定指标

生长指标计算公式如下:

特定生长率(specific growth rate,SGR,%/d)
 $= 100 \times [\ln \text{最终体质量(g)} - \ln \text{初始体质量(g)}] / \text{饲养天数(d)}$ 。

饲料系数(feed conversion ratio,FCR)=摄食量(g)/[最终体质量(g)-初始体质量(g)]。

摄食率(feed intake,FI,%)= $100 \times \text{摄食量(g)} / \{ \text{饲养天数(d)} \times [\text{最终体质量(g)} + \text{初始体质量(g)}] / 2 \}$ 。

成活率(survival rate,SR,%)= $100 \times \text{终末刺参头数} / \text{初始刺参头数}$ 。

消化率指标计算公式如下:

干物质表观消化率(apparent digestibility coefficient of dry matter,ADCd,%)= $100 \times [1 - \text{饲料中Cr}_2\text{O}_3\text{含量}(\%) / \text{粪便中Cr}_2\text{O}_3\text{含量}(\%)]$ 。

粗蛋白质表观消化率(apparent digestibility coefficient of crude protein,ADCp,%)= $100 \times \{ 1 - [\text{饲料中Cr}_2\text{O}_3\text{含量}(\%) \times \text{粪样中粗蛋白质含量}(\%)] / [\text{粪便中Cr}_2\text{O}_3\text{含量}(\%) \times \text{饲料中粗蛋白质含量}(\%)] \}$ 。

3种方法处理的浒苔干物质和粗蛋白表观消化率计算公式如下:

$$F = B + (A - B) / f \times 100$$

式中,A为实验组饲料干物质或粗蛋白表观消化

率(%);B为对照组饲料干物质或粗蛋白表观消化率(%);F为3种方法处理的浒苔干物质或粗蛋白表观消化率(%);f为3种方法处理的浒苔干物质或粗蛋白占实验组饲料干物质或粗蛋白比例(%)。

酶活指标测定:刺参肠道中淀粉酶(amylose,AMS)、胃蛋白酶(pepsin,PP)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)和酸性磷酸酶(acid phosphatase,ACP)活性均用南京建成生物工程有限公司相关试剂盒测定,酶活以比活力表示。

1.7 数据统计与分析

实验数据用平均值±标准差(mean±SD)表示,用Excel 2010处理分析数据和作图,SPSS 17.0统计软件进行单因子方差分析(One-way ANOVA)。若差异显著($P < 0.05$),进行Duncan氏多重比较检验。

2 结果

2.1 浒苔对幼刺参生长性能的影响

浒苔含量对幼刺参生长性能的影响 浒苔含量对幼刺参SGR有显著性影响($P < 0.05$)。D5组和D4组SGR显著高于D1组($P < 0.05$),其他各组与D1组差异不显著($P > 0.05$)。D5组FCR最低,但与其他各组差异不显著($P > 0.05$),其他各组之间无显著性差异($P > 0.05$)。浒苔含量对幼刺参FI和SR无显著性影响($P > 0.05$)(表4)。

表4 浒苔含量对幼刺参生长性能的影响

Tab.4 Effects of contents of *E. prolifera* on growth performance of juvenile *A. japonicas*

组别 groups	特定生长率/ (%/d) SGR	饲料系数 FCR	摄食率/% FI	成活率/% SR
D1	1.55 ± 0.09 ^a	2.47 ± 0.12	5.17 ± 0.23	94.29 ± 2.86
D2	1.61 ± 0.05 ^{ab}	2.43 ± 0.08	5.23 ± 0.14	95.24 ± 2.18
D3	1.65 ± 0.02 ^{ab}	2.41 ± 0.01	5.35 ± 0.12	97.14 ± 2.86
D4	1.69 ± 0.05 ^{bc}	2.38 ± 0.09	5.39 ± 0.15	95.24 ± 3.30
D5	1.79 ± 0.06 ^c	2.23 ± 0.09	5.47 ± 0.20	96.19 ± 4.36
D6	1.65 ± 0.09 ^{ab}	2.42 ± 0.08	5.16 ± 0.18	97.14 ± 2.86

注:同列数据肩标无字母或有相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Notes:In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P > 0.05$), while with different letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$). The same as the following

3种方法处理的浒苔对刺参生长性能的影响
3种方法处理的浒苔对刺参SGR和FCR呈

显著性影响($P < 0.05$)。C组的SGR最高,其次分别是D组、B组和A组。C组与其他各组差异显著($P < 0.05$),D组、B组与A组差异显著($P < 0.05$)(表5)。C组的FCR最低,与B组和D组差异不显著,与A组差异显著($P < 0.05$),A组与B组和D组无显著性差异($P > 0.05$)。3种方法处理的浒苔对刺参FI和SR无显著性影响($P > 0.05$)。

表5 3种方法处理的浒苔对幼刺参生长性能的影响
Tab.5 Effects of three treatments of *E. prolifera* on growth performance of juvenile *A. japonicas*

组别 groups	特定增长率/ (%/d) SGR	饲料系数 FCR	摄食率/% FI	成活率/% SR
A	1.60 ± 0.04 ^a	2.44 ± 0.22 ^b	5.02 ± 0.23	94.26 ± 2.86
B	1.76 ± 0.11 ^{ab}	2.18 ± 0.24 ^{ab}	5.02 ± 0.08	97.14 ± 2.86
C	2.13 ± 0.06 ^c	1.91 ± 0.03 ^a	5.12 ± 0.08	96.19 ± 4.36
D	1.88 ± 0.01 ^b	2.08 ± 0.01 ^{ab}	5.23 ± 0.15	96.19 ± 4.36

2.2 浒苔对饲料表观消化率的影响

浒苔含量对饲料表观消化率的影响 随着浒苔含量的增加,饲料中ADCd和ADCp呈显著下降趋势($P < 0.05$)。D1组ADCd和ADCp最高,显著高于D4组、D5组和D6组($P < 0.05$),与其他各组差异不显著($P > 0.05$)(表6)。

表6 浒苔含量对饲料中ADCd和ADCp的影响
Tab.6 Effects of contents of *E. prolifera* on ADCd and ADCp in diets %

组别 groups	干物质表观消化率 ADCd	粗蛋白质表观消化率 ADCp
D1	43.00 ± 0.63 ^d	50.45 ± 0.71 ^c
D2	42.41 ± 0.49 ^{cd}	49.84 ± 0.25 ^{bc}
D3	41.96 ± 0.15 ^{bcd}	49.79 ± 0.97 ^{bc}
D4	41.33 ± 1.11 ^{abc}	48.46 ± 1.05 ^{ab}
D5	40.74 ± 0.56 ^{ab}	48.33 ± 0.68 ^{ab}
D6	40.42 ± 0.78 ^a	48.21 ± 0.87 ^a

3种方法处理的浒苔对饲料表观消化率的影响 3种方法处理的浒苔对饲料中ADCd和ADCp有显著性地影响($P < 0.05$)。B组ADCd最低,A组、C组和D组显著高于B组($P < 0.05$),A组与D组之间差异不显著($P > 0.05$),A组与C组之间差异显著($P < 0.05$),C组与D组之间无显著性差异($P > 0.05$)(表7)。B组ADCp最低,显著低于其他各组($P < 0.05$),其他各组之间无显著性差异($P > 0.05$)。

表7 3种方法处理的浒苔对饲料中ADCd和ADCp的影响

Tab.7 Effects of three treatments of *E. prolifera* on ADCd and ADCp in diets %

组别 groups	干物质表观消化率 ADCd	粗蛋白质表观消化率 ADCp
A	42.64 ± 0.61 ^b	50.21 ± 0.68 ^b
B	40.74 ± 0.46 ^a	48.70 ± 1.02 ^a
C	44.59 ± 0.68 ^c	50.15 ± 0.62 ^b
D	43.51 ± 0.77 ^{bc}	50.45 ± 0.67 ^b

幼刺参对3种方法处理浒苔的ADCd和ADCp有显著性差异($P < 0.05$)。干燥粉碎浒苔ADCd最低,为33.13%,显著低于其他2种方法处理的浒苔($P < 0.05$),其他2种方法处理的浒苔之间无显著性差异($P > 0.05$)(图3)。干燥粉碎浒苔ADCp最低,为32.48%,显著低于其他2种方法处理的浒苔($P < 0.05$),其他2种方法处理的浒苔之间差异不显著($P > 0.05$)。

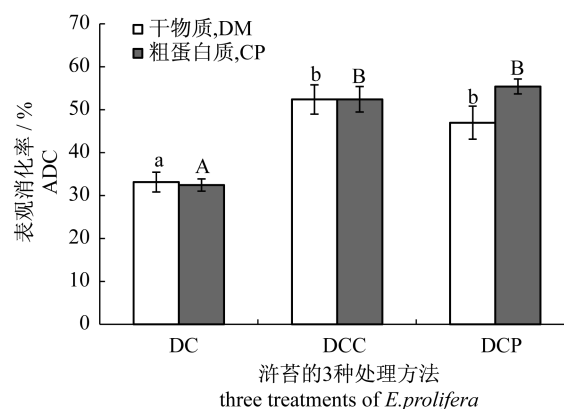


图3 幼刺参对3种方法处理浒苔的干物质和粗蛋白质表观消化率

同色柱形上不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

Fig.3 The apparent digestibility coefficient of three treatments of *E. prolifera* on ADCd and ADCp of juvenile *A. japonicas*

In the same column, values with different letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$)

2.3 浒苔对幼刺参肠道消化酶的影响

浒苔含量对幼刺参肠道消化酶的影响 浒苔含量对幼刺参肠道AMS活性有显著性的影响($P < 0.05$)。D5组和D6组与其他各组均有显著性差异($P < 0.05$),D5组和D6组之间差异不显著,D1、D2、D3和D4组之间无显著性差异。随着浒苔含量的增加,PP活性有上升的趋势,但不显著($P > 0.05$)(表8)。

表 8 浒苔含量对幼刺参肠道 AMS 和 PP 的影响
Tab.8 Effects of contents of *E. prolifera* on AMS and PP of juvenile *A. japonicas* U/mg prot

组别 groups	淀粉酶 AMS	胃蛋白酶 PP
D1	1.12 ± 0.04 ^a	1.52 ± 0.28
D2	1.11 ± 0.01 ^a	1.53 ± 0.14
D3	1.07 ± 0.04 ^a	1.62 ± 0.52
D4	1.10 ± 0.04 ^a	1.69 ± 0.08
D5	1.20 ± 0.02 ^b	1.97 ± 0.20
D6	1.20 ± 0.04 ^b	1.99 ± 0.62

3 种方法处理的浒苔对刺参肠道消化酶的影响 3 种方法处理的浒苔对幼刺参肠道 AMS 和 PP 活性有显著性的影响 ($P < 0.05$)。C 组 AMS 活性最高,显著高于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$),D 组其次,显著高于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$),A 组和 B 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$),C 组和 D 组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。D 组 PP 活性最高,其次是 C 组、B 组和 A 组,各组之间差异显著 ($P < 0.05$) (表 9)。

表 9 3 种方法处理的浒苔对幼刺参肠道 AMS 和 PP 的影响
Tab.9 Effects of three treatments of *E. prolifera* on AMS and PP of juvenile *A. japonicas* U/mg prot

组别 groups	淀粉酶 AMS	胃蛋白酶 PP
A	1.10 ± 0.03 ^a	1.56 ± 0.09 ^a
B	1.25 ± 0.02 ^a	1.96 ± 0.20 ^b
C	1.70 ± 0.20 ^b	2.45 ± 0.15 ^c
D	1.59 ± 0.07 ^b	2.80 ± 0.13 ^d

2.4 浒苔对幼刺参肠道非特异性免疫的影响

浒苔含量对幼刺参肠道非特异性免疫的影响 浒苔含量对刺参肠道 SOD 活性有显著性的影响 ($P < 0.05$)。D5 组 SOD 活性最高,显著高于其他各组 ($P < 0.05$),D2、D3、D4 和 D6 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$),与 D1 组相比差异显著 ($P < 0.05$)。浒苔含量对刺参肠道 ACP 活性无显著性影响 ($P > 0.05$) (表 10)。

3 种方法处理的浒苔对刺参肠道非特异性免疫的影响 3 种方法处理的浒苔对幼刺参肠道 SOD 和 ACP 活性有显著性影响 ($P < 0.05$)。A 组 SOD 活性最低,显著低于其他各组 ($P < 0.05$),其次是 C 组,显著低于 B 组和 D 组 ($P < 0.05$),B 组和 D 组之间无显著性差异 ($P >$

0.05)。C 组 ACP 活性最高,显著高于其他各组 ($P < 0.05$),其他各组之间差异不显著 ($P > 0.05$) (表 11)。

表 10 浒苔含量对幼刺参肠道 SOD 和 ACP 的影响
Tab.10 Effects of contents of *E. prolifera* on SOD and ACP of juvenile *A. japonicas*

组别 groups	超氧化物歧化酶/ (U/mg prot) SOD	酸性磷酸酶/ (U/g prot) ACP
D1	33.20 ± 1.82 ^a	58.49 ± 4.73
D2	42.52 ± 1.20 ^b	54.35 ± 4.05
D3	40.86 ± 1.02 ^b	56.13 ± 2.77
D4	42.81 ± 1.92 ^b	53.78 ± 4.04
D5	49.81 ± 3.59 ^c	53.68 ± 5.78
D6	43.07 ± 3.21 ^b	52.35 ± 3.95

表 11 3 种方法处理的浒苔对幼刺参肠道 SOD 和 ACP 的影响
Tab.11 Effects of three treatments of *E. prolifera* on SOD and ACP of juvenile *A. japonicas*

组别 groups	超氧化物歧化酶/ (U/mg prot) SOD	酸性磷酸酶/ (U/g prot) ACP
A	34.87 ± 1.27 ^a	55.16 ± 3.76 ^a
B	50.48 ± 3.21 ^c	55.34 ± 5.10 ^a
C	39.99 ± 2.50 ^b	72.03 ± 6.28 ^b
D	47.39 ± 1.78 ^c	57.94 ± 2.80 ^a

3 讨论

3.1 浒苔含量对幼刺参生长、消化和非特异性免疫的影响

浒苔不仅含有动物所必需的氨基酸、矿物质和维生素等营养物质且营养均衡,同时还含有多糖、萜类、甾体等生物活性物质,能够调节动物机体代谢,促进生长^[12]。实验结果表明,浒苔能够促进刺参的生长,其中 20% 浒苔组的刺参生长速度最快,这与侯明华^[13]的研究结果相一致。

实验结果表明,随着浒苔含量的增加,饲料中 ADCd 和 ADCp 呈显著下降,其原因可能是浒苔膳食纤维含量较高,而刺参肠道中纤维素酶含量较低,刺参对浒苔中的纤维素并不能完全分解^[7],导致刺参对饲料的表现消化率降低。

刺参肠道消化酶活性的高低很大程度上反映了刺参肠道消化能力的强弱。实验结果表明,浒苔能够促进刺参肠道中 AMS 活性提高,PP 活性随着浒苔替代水平的增加有上升趋势。郭娜^[14]

的研究也认为浒苔中相应营养物质对刺参消化酶分泌有促进诱导作用。

SOD 是机体内抗氧化酶系的关键酶之一,能清除机体的超氧自由基,它的主要功能是清除体内产生的超氧化阴离子自由基,机体内该酶的活性高低反映了抗氧化能力的大小^[15]。ACP 是巨噬细胞溶酶体酶的重要组成部分,在体内直接参与磷酸基团的转移和代谢,作为代谢调控酶在免疫反应中发挥重要作用^[16]。实验在刺参肠道中检测到 SOD 和 ACP 的存在,浒苔能促进刺参肠道 SOD 活性的提高,其中 20% 浒苔组 SOD 活性最高,这可能是刺参消化分解浒苔,释放浒苔多糖,而浒苔多糖对 O_2^- 和 HO^- 等有显著抗氧化活性^[17],从而提高刺参肠道 SOD 活性。这与徐大伦等^[18]报道浒苔多糖能够提高华贵栉孔扇贝 (*Scallop chlamysnobilis*) 血淋巴中 SOD 活性的结果相一致。此外,浒苔含量对刺参肠道中 ACP 活性无显著性影响,这可能与浒苔被消化分解时,释放营养物质的含量未达到改变动物 ACP 活性等部分机体免疫功能的需求量^[19]有关。

3.2 3 种方法处理的浒苔对幼刺参生长、消化和非特异性免疫的影响

实验结果表明,DCC 浒苔能够显著提高刺参 SGR 和降低 FCR,这与朱建新等^[9]报道用蛋白酶处理的浒苔能提高刺参 SGR 的结果不一致,这可能与实验条件和方法有关。DCC 浒苔能够提高刺参 SGR 和降低 FCR,可能是浒苔中粗纤维被纤维素酶酶解转化为可消化糖类从而在刺参体内氧化分解为其提供能量,减少了蛋白质作为能量的消耗,使蛋白质更有效转化,进而提高刺参的生长率、降低 FCR^[20]。

酶制剂在酶解植物饲料原料的过程中,释放并转化更易于吸收的营养物质,投喂酶解后的植物饲料能够提高动物对饲料的表观消化率^[21]。实验表明,投喂含有 DCC 浒苔和 DCP 浒苔的饲料能够提高刺参对饲料的表观消化率,刺参对 DC 浒苔、DCC 浒苔和 DCP 浒苔的 ADCd 分别为 33.13%、52.40% 和 47.00%, ADCp 分别为 32.48%、52.43% 和 55.42%。这与包鹏云^[22]报道刺参对常用饲料原料的 ADCd 和 ADCp 范围分别为 30.17%~61.56% 和 39.73%~74.04% 的结果相符。DCC 浒苔和 DCP 浒苔的 ADCd 和 ADCp 显著高于 DC 浒苔,说明纤维素酶和蛋白

酶酶解浒苔均能够提高刺参对浒苔的表观消化率。

研究报道刺参消化酶活性受到 pH、温度和底物浓度等多种因素的影响^[23-24]。实验表明,DCC 浒苔和 DCP 浒苔能够显著提高刺参肠道 AMS 和 PP 活性,其中 DCP 浒苔提高 PP 活性的效果最为显著。分析可能与酶制剂酶解浒苔释放较多氨基酸等营养物质,而氨基酸^[25]等对刺参有促进肠道消化酶分泌的作用有关,同时 DCP 浒苔相比 DCC 浒苔会产生更多的氨基酸和小肽等物质,增强了刺参肠道 PP 的相应底物的浓度^[24],也相应提高了刺参肠道 PP 活性。

实验表明,3 种方法处理的浒苔均能够显著提高刺参肠道 SOD 活性,其中 DC 浒苔 SOD 活性最高,显著高于 DCC 浒苔,推测是纤维素酶作用于浒苔细胞壁,释放产生更多的浒苔多糖、纤维二糖等糖类,而高剂量的浒苔多糖对动物机体 SOD 活性有一定抑制作用^[26]。DCC 浒苔组刺参肠道 ACP 活性显著高于其他各组,这可能是 DCC 浒苔相比 DC 浒苔、DCP 浒苔产生更多的纤维二糖、半乳糖等还原性糖类,而半乳糖能提高刺参的 ACP 活性^[27]。

4 结论

在本实验条件下,幼刺参饲料中浒苔适宜含量为 20%;纤维素酶酶解后干燥粉碎浒苔是一个理想的浒苔处理方法。

参考文献:

- [1] Zhou S Q, You C H, Wang S Q, et al. Effects of dietary seaweed *Enteromorpha prolifera* on growth performance, physiological and biochemical characteristics of rabbitfish *Siganus canaliculatus* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20 (6): 1257 - 1265. [周胜强,游翠红,王树启,等. 饲料中添加浒苔对黄斑蓝子鱼生长性能与生理生化指标的影响. 中国水产科学, 2013, 20 (6): 1257 - 1265.]
- [2] Asion H, Ai Q H, Mai K S. Evaluation of *Enteromorpha prolifera* as a feed component in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* Richardson, 1846) diets [J]. Aquaculture Research, 2011, 42: 525 - 533.
- [3] Lu Q, Wang Z L, Yang N, et al. Evaluation of *Enteromorpha prolifera* on growth and non-specific

- immunity in turbot (*Scophthalmus maximus*). Proceedings of the Ninth Symposium of World's Chinese Scientists on Nutrition and Feeding of Finfish and Shellfish [C]. Xianmen: Professional Committee of Animal Nutrition and Feed, China Society of Fisheries, 2013. [卢青,王正丽,杨宁,等. 饲料中添加浒苔对大菱鲆生长和非特异性免疫力的影响. 第九届世界华人鱼虾营养学术研讨会摘要集. 厦门:中国水产学会动物营养与饲料专业委员会, 2013.]
- [4] Yan J, Zhang X, Kong X J, et al. Effects of dietary *Enteromorpha prolifera* on growth of *Liza haematocheila* [J]. Feed Research, 2012, 3: 67 - 71. [闫杰,张欣,孔晓静,等. 饵料中添加浒苔对梭鱼生长影响效果研究. 饲料研究, 2012, 3: 67 - 71.]
- [5] Li M, Zhang H H, Zhu C B, et al. Effects of different diet combinations on the growth and survival of juvenile black abalone [J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(6): 40 - 46. [李敏,张汉华,朱长波,等. 不同饵料及其组合对黑鲍幼鲍生长及存活的影响. 南方水产, 2007, 3(6): 40 - 46.]
- [6] Li X, Wang Y, Wu Z H, et al. Effect of *Enteromorpha prolifera* on growth of *Apostichopus japonicus* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(5): 1092 - 1099. [李晓,王颖,吴志宏,等. 浒苔对刺参幼参生长影响的初步研究. 中国水产科学, 2013, 20(5): 1092 - 1099.]
- [7] Liu T H, Wu Z H, Wang Y, et al. The feasibility of green alga *Enteromorpha prolifera* as juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) feed [J]. Fisheries Science, 2013, 32(10): 597 - 600. [刘天红,吴志宏,王颖,等. 浒苔作为仿刺参幼参植物饲料源的可行性研究. 水产科学, 2013, 32(10): 597 - 600.]
- [8] Guo N, Dong S L, Liu H. Effects of several diets on the growth and body composition of *Apostichopus japonicus* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2011, 32(1): 122 - 128. [郭娜,董双林,刘慧. 几种饲料原料对刺参幼参生长和体成分的影响. 渔业科学进展, 2011, 32(1): 122 - 128.]
- [9] Zhu J X, Qu K M, Li J, et al. Growth of young sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed on processed *Enteromorpha prolifera* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(5): 108 - 112. [朱建新,曲克明,李健,等. 不同处理方法对浒苔饲喂稚幼刺参效果的影响. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 108 - 111.]
- [10] Wang C Y. Application study on the predigestion of *Sargassum thunbergii* powder by zymin [D]. Yantai: Yantai University, 2012. [王昌义. 酶制剂在鼠尾藻粉预消化中的应用研究. 烟台:烟台大学, 2012.]
- [11] Li X, Zhang S Y, Chen S Q, et al. Effects of four feedstuffs on the growth, body composition and digestive physiology of *Apostichopus japonicus* [J]. Feed Industry, 2013, 34(8): 36 - 40. [李旭,章世元,陈四清,等. 四种饲料原料对刺参生长、体成分及消化生理的影响. 饲料工业, 2013, 34(8): 36 - 40.]
- [12] Zhong L Y. Studies on the serial products of enteromorpha with its activity and physiology functions [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2008. [钟礼云. 浒苔系列产品生理功能活性研究. 福州:福建医科大学, 2008.]
- [13] Hou M H. Study on the artificial feed for the juvenile sea cucumber [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011. [侯明华. 刺参幼参人工配合饲料的研究. 北京:中国农业科学院, 2011.]
- [14] Guo N. Studies on the effects of different diets on growth, digestive physiology and energy budget of *Apostichopus japonicus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011. [郭娜. 不同饲料对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 生长、消化生理和能量收支的影响. 青岛:中国海洋大学, 2011.]
- [15] Li J Y. The immunological characters and pathogenic study of cultured *Apostichopus japonicus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007. [李继业. 养殖刺参免疫学特征与病害研究. 青岛:中国海洋大学, 2007.]
- [16] Zheng P P, Wang C L, Song W W, et al. Effect of salinity stress on serum non-specific immune factors in swimming crab *Portunus trituberculatus* [J]. Fisheries Science, 2010, 29(11): 634 - 638. [郑萍萍,王春琳,宋微微,等. 盐度胁迫对三疣梭子蟹血清非特异性免疫因子的影响. 水产科学, 2010, 29(11): 634 - 638.]
- [17] Jin H L, Xu N J, Yan X J. Research progress on the bioactive compounds of seaweed *Enteromorpha* [J]. Marine Sciences, 2011, 35(4): 100 - 106. [金浩良,徐年金,严小军. 浒苔中生物活性物质的研究进展. 海洋科学, 2011, 35(4): 100 - 106.]
- [18] Xu D L, Huang X C, Ou C R, et al. Effects of polysaccharide from alga *Enteromorpha prolifera* on activities of superoxide dismutase (SOD) and lysozyme (LSZ) in haemolymph of *Scallop chlamysnobilis* [J]. Fisheries Science, 2006, 25(2): 72 - 74. [徐大伦,黄晓春,欧昌荣,等. 浒苔多糖对华贵栉孔扇贝血淋巴中 SOD 酶和溶菌酶活性的影

- 响. 水产科学,2006,25(2):72-74.]
- [19] Sun J F, Zhao J, Qi R, *et al.* Effects of adding levels of *Enteromorpha prolifera* into a diet on immunity and serum biochemical indices of broiler chickens [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(3):682-688. [孙建凤, 赵军, 祁茹, 等. 日粮中浒苔添加水平对肉鸡免疫功能和血清生化指标的影响. 动物营养学报, 2010, 22(3):682-688.]
- [20] Xu B. Study on pre-digestive compound feed for the juvenile sea cucumber [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009. [徐彬. 刺参幼参预消化配合的研究. 北京: 中国农业科学院, 2009.]
- [21] Liu N, Zhang Q Y, Xu T S, *et al.* Effect of microbial protease hydrolyzed soybean meal on the growth performance and nutrient digestibility of broilers [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2009, 36(11):9-11. [刘宁, 张权益, 徐廷生, 等. 酶解豆粕对肉鸡生产性能和养分消化率的影响. 中国畜牧兽医, 2009, 36(11):9-11.]
- [22] Bao P Y. Studies on apparent digestibility of common feedstuffs of *Apostichopus japonicus*. Proceedings of the national symposium for mariculture [C]. Shaoxing: The Society of Mariculture, China Society of Fisheries, 2013. [包鹏云. 刺参对常用饲料原料营养物质表观消化率的研究. 2013年全国海水养殖学术研讨会论文摘要集. 绍兴: 中国水产学会海水养殖分会, 2013.]
- [23] Jiang L X, Yang N, Li J, *et al.* Effects of temperature and pH on the activities of digestive enzymes in *Apostichopus japonicus* [J]. Oceanologia Et Limologia Sinica, 2007, 38(5):477-480. [姜令绪, 杨宁, 李建, 等. 温度和 pH 对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 消化酶活力的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(5):477-480.]
- [24] Wu Y H, Wang Q Y, Feng Z F, *et al.* The effect of dietary protein on the enzymes and intestinal structure of *Apostichopus japonicus* [J]. Marine Sciences, 2010, 36(1):36-41. [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. 海洋科学, 2010, 36(1):36-41.]
- [25] Wang J Q, Zhang K, Jiang Y S, *et al.* Effects of dietary supplementation of coated amino acids as sea weed meal substitution on the growth, dietary digestibility and immune indices of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka [J]. Marine Sciences, 2010, 34(9):36-43. [王吉桥, 张坤, 姜玉声, 等. 在无藻粉饲料中添加包膜氨基酸对幼刺参生长、消化和免疫指标的影响. 海洋科学, 2010, 34(9):36-43.]
- [26] Yuan L. Study on hypoglycemic effect and mechanism of enteromorpha's polysaccharide [D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2009. [原丽. 浒苔多糖降血糖作用及其机制研究. 福州: 福建医科大学, 2009.]
- [27] Wang J Y, Song Z D, Li P Y, *et al.* Effects of dietary galactomannan oligosaccharides on growth, digestion, body wall nutritional composition and immunity of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(2):310-319. [王际英, 宋志东, 李培玉, 等. 饲料添加半乳甘露寡糖对刺参幼参生长、体壁营养组成及免疫力的影响. 中国水产科学, 2014, 21(2):310-319.]

Effects of dosage and treatments of *Enteromorpha prolifera* on growth, digestibility, digestive enzymes and non-specific immunity enzymes of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka)

QIN Bo^{1,2}, CHANG Qing¹, CHEN Siqing^{1*}, LIU Changlin¹, LV Yunyun^{1,2}, WANG Zhijun³

(1. Yellow Sea Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Fishery and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Shandong Kehe Marine High-Technology Ltd, Weihai 264513, China)

Abstract: The experiment was conducted to investigate the effects of dosage and treatments of *Enteromorpha prolifera* on growth, digestibility, digestive enzymes and non-specific immunity enzymes of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka). Juvenile sea cucumbers with the initial weight of (1.44 ± 0.01) g were fed with 6 practical diets according to a single factor design: a basal diet contained 0, 5%, 10%, 15%, 20% and 25% *E. prolifera* for 49 days firstly, and then juvenile sea cucumber with the initial weight of (4.58 ± 0.23) g were fed with 3 practical diets according to a single factor design: the diet contained 20% three treatments [dry crushing (DC), dry crushing after cellulase treatment (DCC) and dry crushing after protease treatment (DCP)] disposal (Wrong word) of *E. prolifera* for 60 days. There were 3 replicates per group with 35 sea cucumbers. The experiment results showed as follows: 1) *E. prolifera* had significant influence on enhancing specific growth rate (SGR), the amylase (AMS) and the superoxide dismutase (SOD) in gut of sea cucumber and reducing feed conversion ratio (FCR) ($P < 0.05$), and 20% *E. prolifera* were the best. The apparent digestibility coefficient of dry matter (ADCd) and apparent digestibility coefficient of crude protein (ADCp) of diets were significantly declined with the increasing level of *E. prolifera* ($P < 0.05$). The different contents of *E. prolifera* had no significance on feed intake (FI), survival rate (SR), the pepsin (PP) and acid phosphatase (ACP) in gut of sea cucumber ($P > 0.05$). 2) *E. prolifera* with DCC and DCP had significant influence on enhancing SGR, ADCd, ADCp, AMS, PP, SOD and ACP in gut of sea cucumber and reducing FCR of sea cucumbers ($P < 0.05$), and *E. prolifera* with DCC were the best. Three treatment of *E. prolifera* had no significant influence on FI and SR ($P > 0.05$). Under the conditions of this experiment, the optimal content of *E. prolifera* in the diets of juvenile sea cucumber is 20%. And *E. prolifera* with drying crush after cellulase treatment is an ideal way to deal with *E. prolifera*.

Key words: *Enteromorpha prolifera*; sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka); growth; digestibility; digestive enzymes; non-specific immunity enzyme

Corresponding author: CHEN Siqing. E-mail: chensq@ysfri.ac.cn