



大口黑鲈幼鱼对饲料中锌的需求量

宋博文^{1,2,3}, 杨航^{1,2,3}, 李小勤^{1,2,3}, 王璞^{1,2,3}, 何明^{1,2,3},
徐禛^{1,2,3}, 杨品贤^{1,2,3}, 冷向军^{1,2,3*}

- (1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;
2. 上海海洋大学, 农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海 201306;
3. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 为确定大口黑鲈幼鱼对饲料锌的适宜需求量, 以酪蛋白、明胶和鱼粉为主要蛋白质源, 以 $ZnSO_4 \cdot H_2O$ 为锌源制作半精制基础饲料, 分别向基础饲料中添加 0、25、50、100 和 200 mg/kg 锌, 制成 5 种含不同锌水平饲料 (24.8、48.8、78.9、126.1 和 223.6 mg/kg 干物质) (命名为 Zn-25、Zn-49、Zn-79、Zn-126 和 Zn-224), 投喂初始体质量为 (10.99 ± 0.07) g 的大口黑鲈幼鱼 8 周。结果显示, 饲料中补充 25 mg/kg 锌 (Zn-49) 显著提高了大口黑鲈增重率, 降低了饲料系数, 进一步提高锌的添加量后, 各组增重率和饲料系数趋于稳定。当饲料锌含量为 25~49 mg/kg 时, T-SOD 和 CuZn-SOD 活性增加, 锌含量达到 49 mg/kg 后, 其活性保持基本稳定, 而 AKP 活性在 Zn-79 组最高。大口黑鲈全鱼和脊椎骨中的锌含量随饲料中锌含量的增加而上升, 当饲料锌含量达到 126 mg/kg (Zn-126) 后, 全鱼和脊椎骨中的锌含量不再显著增加, 而全鱼铁、骨铁、骨锰含量和全鱼铁、锌沉积率则随饲料锌含量的增加而下降。研究表明, 在半精制饲料中补充锌可以显著改善大口黑鲈的生长和饲料利用, 提高血清免疫能力、全鱼锌和骨锌的沉积, 以增重率、饲料系数、全鱼锌和骨锌为指标, 基于折线模型确定大口黑鲈幼鱼对饲料中锌的需求量分别为 45.5、44.6、121.8 和 130.5 mg/kg 干物质。

关键词: 大口黑鲈; 锌; 生长; 饲料利用; 锌沉积

中图分类号: S 963

文献标志码: A

锌是鱼类生长必需的微量元素, 是鱼类体内多种酶的辅助因子, 在脱氢酶、肽酶、醛缩酶和磷酸酶等金属酶中起着至关重要的作用^[1]。锌参与调节许多重要的生理过程, 包括蛋白质、脂类、糖类和核酸的合成和降解^[2]。锌的缺乏会导致鱼类免疫能力下降^[3], 脂质过氧化^[4], DNA 损伤和氧化应激, 甚至死亡^[5]。在对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的研究中, 锌缺乏会导致白内障、鳍和皮肤溃烂、生长速率和组织锌浓度降低、死亡率升高^[6]。尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[7] 则表现为食欲减退, 饲料利用率低, 血清抗氧化能力降低。锌缺乏可以激活下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴, 产生糖皮质激素如皮质醇, 影响营养物质新陈代谢, 甚至引起细胞死亡^[8]。

rhynchus mykiss) 的研究中, 锌缺乏会导致白内障、鳍和皮肤溃烂、生长速率和组织锌浓度降低、死亡率升高^[6]。尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[7] 则表现为食欲减退, 饲料利用率低, 血清抗氧化能力降低。锌缺乏可以激活下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴, 产生糖皮质激素如皮质醇, 影响营养物质新陈代谢, 甚至引起细胞死亡^[8]。

收稿日期: 2020-09-07 修回日期: 2021-03-21

资助项目: 水产动物遗传育种协同创新基金 (A1-3201-19-3003)

第一作者: 宋博文 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 728675998@qq.com

通信作者: 冷向军, E-mail: xjleng@shou.edu.cn



虽然鱼类可以从水中吸收 Zn, 但在高密度人工养殖下, 水中 Zn 浓度不足以满足鱼类对锌的需求量^[9], 因此有必要在饲料中补充 Zn。目前, 已经报道了一些鱼类对锌的需求量, 比如, 军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)^[2](以蛋氨酸锌为锌源)、建鲤 (*Cyprinus carpio var. Jian*)^[10](以乳酸锌为锌源) 对锌的需求量分别为 47~54 mg/kg、48.7 mg/kg。尼罗罗非鱼^[11]、虹鳟^[12] 和黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[13] 对锌的需求量分别为 94.27、80 和 17.12~20.86 mg/kg (均以硫酸锌为锌源)。以上结果表明不同鱼类对锌的需求量存在较大差异, 且与锌源相关。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*), 又名加州鲈, 是一种生长快、养殖周期短、肉多刺少、味道鲜美、易捕捞、适温较广的名贵肉食性鱼类。近年来, 大口黑鲈养殖发展十分迅速, 2019 年全国的养殖产量已达 47.8 万 t^[14]。目前, 关于大口黑鲈营养需求的研究, 主要集中在宏量营养素方面, 如蛋白质^[15-16]、脂肪^[17-18]、氨基酸^[19] 等, 而关于微量元素需求量的研究尚未见报道。鉴于锌在营养代谢中的重要性, 考虑到生产中多为添加无机锌, 故本研究以硫酸锌为锌源, 在半精制饲料中补充不同水平的锌, 考察对大口黑鲈生长、饲料利用、锌沉积和血清相关生化指标的影响, 确定大口黑鲈对饲料中锌的需求量, 为大口黑鲈饲料的科学配制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验设计

以酪蛋白、明胶、鱼粉、大豆浓缩蛋白、豆粕和玉米蛋白为蛋白质源, 以鱼油、豆油为脂肪源, 制作了粗蛋白质含量为 50.7%~50.8%、粗脂肪含量为 12.5%~12.6% 的半精制基础饲料(表 1)。以硫酸锌 ($ZnSO_4 \cdot H_2O$, 37.4% Zn, 分析纯) 为锌源, 在基础饲料中添加 0、25、50、100 和 200 mg/kg 锌, 配制 5 种实验饲料, 经电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP-MS, 美国赛默飞世尔科技公司) 测定, 5 种实验饲料实际锌含量 (以干物质计算) 分别为 24.8、48.8、78.8、126.1 和 223.6 mg/kg, 分别命名为 Zn-25, Zn-49, Zn-79, Zn-126, Zn-224。各主要原料经粉碎后过 60 目筛, 逐级混匀, 用单螺杆挤压机 (SLP-45, 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所) 制成直径为 2 mm

的沉性颗粒饲料 [制粒温度 (85 ± 5) °C], 饲料于通风阴凉处晾干, 置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.2 实验鱼和饲养管理

实验所用鲈鱼采购于浙江湖州鲈鱼养殖场, 养殖实验在上海海洋大学滨海基地进行。实验为期 8 周, 正式实验前先用基础饲料驯化 4 周, 养殖模式为室内网箱养殖, 取 15 个网箱 (网箱规格 1.2 m × 1.5 m × 1.2 m), 放置于 2 口室内水泥池 (5.0 m × 3.0 m × 1.2 m) 中。挑选 300 尾体质健壮、规格均匀、平均初始体质量为 (10.99 ± 0.07) g 的大口黑鲈幼鱼, 随机分组至 15 口网箱中, 每个网箱放 20 尾鱼, 实验共 5 个处理, 每个处理设 3 个重复。每天投喂饲料 2 次 (08:00、16:00), 达到饱食状态。实验期间, 每 5 d 吸污换水 1 次, 水体溶解氧 > 5 mg/L, 水温 26 ~ 30 °C, pH 7.2 ~ 7.9, 氨氮含量 < 0.2 mg/L, 亚硝酸盐含量 < 0.1 mg/L, 锌含量 < 10 µg/L。

1.3 样品采集

实验开始前, 取 10 尾鱼作为初始样本。在养殖实验结束后, 鱼禁食 24 h, 对每个网箱中的鱼尾数与体质量进行统计, 以确定增重率和饲料效率。每个网箱随机取 2 尾鱼用于全鱼常规营养成分与矿物质含量的测定。另外, 每个网箱随机取 4 尾鱼进行体长、体质量的测定。于尾部静脉处进行血液样本采集, 离心 10 min (3 000 r/min), 取血清于 -80 °C 冰箱保存, 然后对鱼进行解剖, 对其肌肉、内脏、肝脏进行称量采集, 将解剖后的鱼体放入微波炉内加热 60 s, 分离出脊椎骨, 用蒸馏水清洗干净, 105 °C 烘干, -20 °C 保存。

1.4 常规成分分析

对原料、饲料及鱼体进行常规成分测定。采用 105 °C 常压干燥法测定水分含量, 通过凯氏定氮仪 (2300 自动凯氏定氮仪, FOSS, 瑞典) 测定粗蛋白质含量, 通过氯仿—甲醇抽提法测定粗脂肪含量, 通过 550 °C 马弗炉高温灼烧法 (SXL-1008 马弗炉, 上海精宏实验设备有限公司) 测定灰分。

1.5 血清生化指标

碱性磷酸酶 (AKP) 活性测定采用对硝基苯磷酸盐法; 总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 和铜锌超

表 1 饲料组成及营养水平 (风干基础)
Tab. 1 Composition and nutrient levels of diets (air-dry basis)

项目 items	饲料 diets				
	Zn-25	Zn-49	Zn-79	Zn-126	Zn-224
原料/(g/kg) ingredients					
酪蛋白 casein	160.0	160.0	160.0	160.0	160.0
明胶 gelatin	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
鱼粉 fish meal	170.0	170.0	170.0	170.0	170.0
大豆浓缩蛋白 soybean protein concentrate	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
豆粕 soybean meal	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
糊精 dextrin	110.0	110.0	110.0	110.0	110.0
α -淀粉 α -starch	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
玉米蛋白 corn gluten meal	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
鱿鱼膏 squid paste	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
啤酒酵母 beer yeast	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
鱼油 fish oil	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
豆油 soybean oil	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
大豆磷脂 soybean phospholipid	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
多维 vitamin premix ¹⁾	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
多矿 mineral premix ²⁾	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
硫酸锌 $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0	0.07	0.14	0.29	0.58
合计 total	1 000.0	1 000.0	1 000.0	1 000.0	1 000.0
营养水平 proximate composition					
粗蛋白质/(g/kg) crude protein	507.5	508.5	508.1	507.3	507.5
粗脂肪/(g/kg) crude lipid	126.0	125.1	125.7	125.6	125.6
灰分/(g/kg) ash	70.1	70.3	70.4	70.7	70.6
水分/(g/kg) moisture	96.1	95.3	95.4	96.4	95.7
锌(干物质)/(mg/kg) Zn (dry matter)	24.8	48.8	78.8	126.1	223.6
铁(干物质)/(mg/kg) Fe (dry matter)	304.8	301.6	307.2	302.9	305.8

注: 1) 维生素预混料向饲料提供的维生素(mg or IU/kg diet)为维生素 A 10 000 IU, 维生素 D₃ 3 000 IU, 维生素 E 150 IU, 维生素 K₃ 12.17 mg, 维生素 B₁ 20 mg, 维生素 B₂ 20 mg, 维生素 B₃ 100 mg, 维生素 B₆ 22 mg, 维生素 B₁₂ 0.15 mg, 维生素 C 1 000 mg, 生物素 0.6 mg, 叶酸 8 mg, 肌醇 500 mg。2) 矿物质预混料向饲料提供的矿物元素(mg/kg diet)(不含锌)为铜 5.25, 锰 21, 铁 120, 镁 150, 碘 0.6, 硒 0.53, 钴 0.45
 Notes: 1) vitamin premix supplied vitamins for the diets(mg or IU/kg diet) are vitamin A 10 000 IU, vitamin D₃ 3 000 IU, vitamin E 150 IU, vitamin K₃ 12.17 mg, vitamin B₁ 20 mg, vitamin B₂ 20 mg, vitamin B₃ 100 mg, vitamin B₆ 22 mg, vitamin B₁₂ 0.15 mg, vitamin C 1 000 mg, biotin 0.6 mg, folic acid 8 mg, inositol 500 mg. 2) mineral premix supplied minerals for the diets (mg/kg diet) (without zinc) are Cu 5.25, Mn 21, Fe 120, Mg 150, I 0.6, Se 0.53, Co 0.45

氧化物歧化酶 (CuZn-SOD) 活性测定均采用黄嘌呤氧化酶法; 谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶

(ALT) 活性测定均采用赖氏法。试剂盒均由南京建成生物技术研究所提供。

1.6 矿物元素含量测定

全鱼、脊椎骨的矿物质元素含量测定采用电感耦合等离子体发射光谱法^[20]。称取样品 0.2 g 于微波消解内罐中, 加入 10 mL 硝酸, 加盖放置 1 h, 旋紧罐盖, 放入微波消解仪变温加热消解 8 h 35 min。冷却后取出, 缓慢打开罐盖排气, 用少量水冲洗内盖, 将消解罐放在超声水浴箱中超声脱气 5 min, 用水定容至 50 mL。将定容后的样品溶液注入电感耦合等离子体原子发射光谱仪 (ICP-MS, 美国赛默飞世尔科技公司) 测定, 以元素的特征谱线波长定性, 待测元素谱线信号强度与元素浓度呈正比进行定量分析。

1.7 计算及统计方法

成活率 (survival rate, SR, %) = $N_t/N_0 \times 100\%$

增重率 (weight gain rate, WGR, %) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$

饲料系数 (feed conversion rate, FCR) = $W_f / (W_t - W_0)$

肝体比 (hepatosomatic index, HSI, %) = $W_h / W \times 100\%$

脏体比 (viscerosomatic index, VSI, %) = $W_v / W \times 100\%$

肥满度 (condition factor, CF, g/cm^3) = $W/L^3 \times 100$

矿物质沉积率 (mineral retention rate, MR, %) = $(W_t \times W_{fm} - W_0 \times W_{0m}) / (W_f \times W_{fm}) \times 100\%$

式中, N_t 为终末尾数; N_0 为初始尾数; W_t 为终末体质量 (g); W_0 为初始体质量 (g); W_f 为摄入饲料量 (g); W_h 为鱼肝脏重 (g); W_v 为鱼内脏重 (g); W 为鱼体质量 (g); L 为鱼体长 (cm); W_{fm} 为终末全鱼矿物质含量 (mg/kg); W_{0m} 为初始全鱼矿物质含量 (mg/kg); W_{fm} 为饲料矿物质含量 (mg/kg)。

数据均以平均值±标准差 (mean±SD) 表示, 采用 SPSS 24.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 并采用 Duncan 氏多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著。采用折线模型, 对饲料锌含量与大口黑鲈增重率、饲料系数、全鱼锌和骨锌之间的关系进行回归分析。

2 结果

2.1 生长性能和形体指标

各组的成活率、肥满度、脏体比和肝体比均无显著差异 ($P > 0.05$)。大口黑鲈的增重率随着饲料锌含量的增加呈先上升后平稳的趋势, 饲料系数则呈现先下降后稳定的趋势 (表 2)。根据折线模型, 大口黑鲈对饲料中锌的适宜需求量为 45.5 mg/kg (增重率)(图 1)、44.6 mg/kg (饲料系数)(图 2)。

表 2 饲料锌水平对大口黑鲈生长的影响

Tab. 2 Effects of dietary zinc level on growth of *M. salmoides*

项目 items	饲料 diets				
	Zn-25	Zn-49	Zn-79	Zn-126	Zn-224
初始均重/g IBW	11.0±0.10	10.97±0.03	10.98±0.08	11.02±0.08	10.97±0.10
终末均重/g FBW	41.2±1.4 ^b	44.4±1.1 ^a	43.8±0.8 ^a	43.4±0.9 ^a	44.1±0.4 ^a
成活率/% SR	93.3±5.8	93.3±7.6	93.3±2.9	95.0±8.7	90.0±17.3
增重率/% WGR	274.3±12.3 ^b	303.2±9.5 ^a	297.9±7.4 ^a	294.9±8.0 ^a	300.6±3.6 ^a
饲料系数 FCR	1.15±0.03 ^b	1.03±0.02 ^a	1.07±0.04 ^a	1.05±0.05 ^a	1.04±0.02 ^a
肥满度/(g/cm^3) CF	2.1±0.1	2.0±0.2	2.0±0.2	2.0±0.2	2.1±0.2
脏体比/% VSI	7.1±0.9	8.0±2.1	7.6±1.2	7.8±0.7	8.2±1.3
肝体比/% HSI	1.5±0.5	1.6±1.3	1.7±0.9	1.8±0.6	1.9±0.9

注: 同一行上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Notes: different superscript letters in the same row indicate significant differences ($P < 0.05$), the same below

2.2 肌肉与全鱼组成

饲料中补充锌对大口黑鲈肌肉、全鱼的水分、粗蛋白、灰分和粗脂肪含量均无显著影响 ($P > 0.05$)(表 3)。

2.3 血清生化指标

随着饲料锌含量增加, 血清 ALT 活性呈上升的趋势; AST 和 CuZn-SOD、T-SOD 活性在饲料锌含量分别达到 79 和 49 mg/kg 后, 保持基本

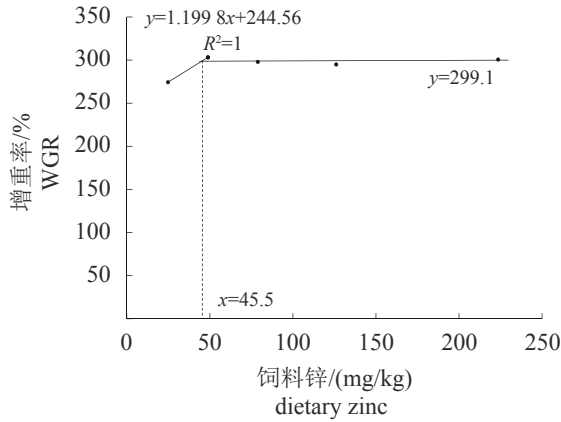


图 1 大口黑鲈增重率与饲料锌水平的关系

Fig. 1 Relationship between weight gain rate of *M. salmoides* and dietary zinc level

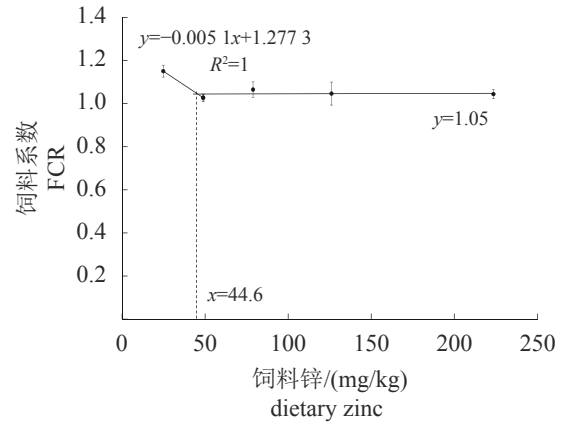


图 2 大口黑鲈饲料系数与饲料锌水平的关系

Fig. 2 Relationship between feed conversion rate of *M. salmoides* and dietary zinc level

表 3 饲料锌水平对大口黑鲈肌肉和全鱼组成的影响
Tab. 3 Effects of dietary zinc on muscle and whole body composition of *M. salmoides*

项目 item	饲料 diets				
	Zn-25	Zn-49	Zn-79	Zn-126	Zn-224
肌肉 muscle					
水分 moisture	78.2±0.4	77.9±0.3	77.7±0.2	77.9±0.3	78.0±0.3
粗蛋白质 crude protein	19.5±0.3	19.6±0.3	19.8±0.2	19.5±0.4	19.5±0.4
灰分 ash	1.25±0.03	1.29±0.03	1.32±0.03	1.37±0.10	1.43±0.20
粗脂肪 crude lipid	0.86±0.04	0.84±0.01	0.84±0.06	0.85±0.06	0.83±0.05
全鱼 whole body					
水分 moisture	72.5±0.3	72.5±0.1	72.3±0.1	72.2±0.1	72.2±0.2
粗蛋白质 crude protein	17.7±0.3	17.2±0.2	17.5±0.4	17.5±0.3	17.7±0.1
灰分 ash	3.57±0.14	3.46±0.17	3.50±0.02	3.67±0.13	3.39±0.01
粗脂肪 crude lipid	3.05±0.56	3.35±0.26	3.39±0.74	3.40±0.02	3.52±0.17

稳定; 而 AKP 活性随饲料锌含量增加而上升, 但 Zn-49组与 Zn-79、Zn-126 和 Zn-224 组间差异不显著 ($P>0.05$)(表 4)。

2.4 组织矿物元素含量

随着饲料中锌含量的增加, 大口黑鲈全鱼和脊椎骨中的锌含量上升, 当饲料锌含量达到 126 mg/kg 后 (Zn-126 组), 全鱼和脊椎骨中的锌含量不再显著增加 ($P>0.05$)。而全鱼铁、骨铁、骨锰含量、全鱼铁沉积率和锌沉积率则表现为随饲料锌含量增加而下降的规律 (表 5)。以全鱼锌和骨锌为评价指标, 基于折线模型确定的大口黑鲈幼鱼对饲料中锌的适宜需求量分别为 121.8

mg/kg (图 3) 和 130.5 mg/kg (图 4)。

3 讨论

3.1 饲料锌对大口黑鲈生长性能的影响

Ogino 等^[6]发现, 当饲料中锌含量为 1 mg/kg 时, 虹鳟生长缓慢, 死亡率高, 出现白内障、鳍与皮肤腐烂, 当锌含量在 5 mg/kg 以上后, 可防止这些缺乏症状的出现。当饲料锌含量低于 5 mg/kg 时, 尼罗罗非鱼也表现出生长缓慢, 死亡率高, 厌食等症状, 当锌含量高于 30 mg/kg 时, 存活率与增重率显著提高^[21]。但在黄颡鱼^[13](基础饲料含锌 7.6 mg/kg)、露斯塔野鲮 (*Labeo rohita*)^[22]

表 4 饲料锌水平对大口黑鲈血清生化指标的影响

Tab. 4 Effects of dietary zinc on serum bio-chemical index of *M. salmoides*

项目 item	饲料 diets				
	Zn-25	Zn-49	Zn-79	Zn-126	Zn-224
碱性磷酸酶/(U/L) AKP	5.8±0.7 ^b	6.5±0.5 ^{ab}	7.1±0.3 ^a	6.6±0.4 ^{ab}	6.4±0.2 ^{ab}
总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	77.9±1.1 ^b	82.6±3.0 ^a	80.4±1.1 ^{ab}	81.8±0.2 ^a	80.2±2.3 ^{ab}
铜锌超氧化物歧化酶/(U/mL) CuZn-SOD	63.3±1.4 ^b	72.8±2.1 ^a	67.6±3.1 ^{ab}	68.6±3.5 ^{ab}	67.8±2.9 ^{ab}
谷草转氨酶/(U/L) AST-GOT	25.0±0.9 ^b	25.0±1.7 ^b	27.8±0.9 ^a	28.8±1.3 ^a	27.3±0.7 ^a
谷丙转氨酶/(U/L) ALT-GPT	18.3±1.6 ^c	20.8±0.5 ^b	21.5±1.1 ^b	22.7±1.2 ^{ab}	23.9±1.3 ^a

表 5 饲料锌水平对大口黑鲈全鱼和脊椎骨矿物质含量的影响

Tab. 5 Effects of dietary zinc on mineral contents in whole body and vertebra of *M. salmoides*

项目 item	饲料 diets				
	Zn-25	Zn-49	Zn-79	Zn-126	Zn-224
全鱼 whole fish					
铁/(mg/kg) Fe	90.4±2.3 ^a	74.6±2.2 ^b	65.4±1.9 ^c	56.0±2.2 ^d	55.5±2.2 ^d
铁沉积率/% Fe retention	29.2±1.3 ^a	29.6±4.3 ^a	18.6±0.7 ^b	16.0±1.2 ^b	15.5±0.1 ^b
锌/(mg/kg) Zn	32.5±1.7 ^d	41.7±1.7 ^c	48.0±2.0 ^b	52.0±1.8 ^a	54.3±2.0 ^a
锌沉积率/% Zn retention	88.7±3.3 ^a	76.1±5.0 ^b	55.3±3.6 ^c	40.2±2.6 ^d	24.4±0.5 ^e
脊椎骨 vertebra					
锰/(mg/kg) Mn	75.9±1.4 ^a	71.9±1.4 ^b	65.4±2.9 ^c	59.6±2.6 ^d	59.9±0.7 ^d
铁/(mg/kg) Fe	136.9±2.7 ^a	131.1±3.6 ^b	118.2±2.8 ^c	95.3±2.6 ^d	93.8±2.1 ^d
锌/(mg/kg) Zn	66.3±1.4 ^d	71.6±1.6 ^c	78.3±2.6 ^b	81.3±2.0 ^{ab}	85.4±3.6 ^a

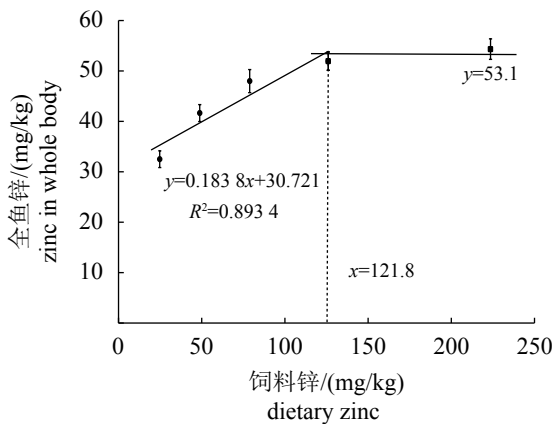


图 3 大口黑鲈全鱼锌水平与饲料锌水平的关系
Fig. 3 Relationship between zinc level in whole body of *M. salmoides* and dietary zinc level

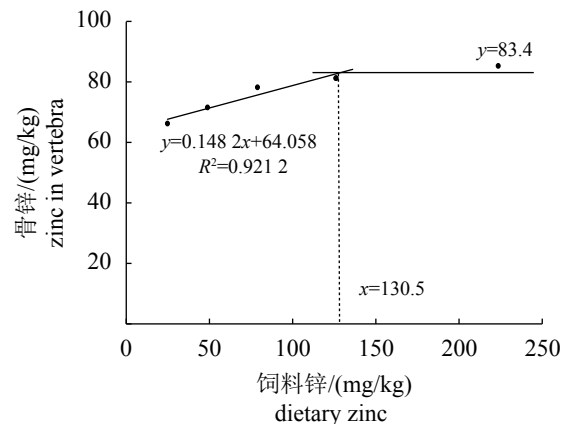


图 4 大口黑鲈骨锌水平与饲料锌水平的关系
Fig. 4 Relationship between zinc level in vertebra of *M. salmoides* and dietary zinc level

(基础饲料含锌 9.5 mg/kg)、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[23](基础饲料含锌 10.0 mg/kg) 的研究中, 对照组鱼体均无明显锌缺乏症状出现。在

本实验中, 尽管对照组(未补充锌)的鱼体生长性显著低于其他各组, 但未出现明显的锌缺乏症。可能是由于本实验基础饲料为半精制饲料,

鱼粉的用量为 170 g/kg, 使得基础饲料中锌含量达 25 mg/kg, 防止了锌缺乏症状的出现。

本研究中, 以增重率和饲料系数为指标, 基于折线模型确定的大口黑鲈幼鱼对饲料锌的适宜需求量分别为 45.5 和 44.6 mg/kg, 低于同样以硫酸锌为锌源的虹鳟 (80 mg/kg)^[12]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) (55.1 mg/kg)^[24]、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) (59.6 mg/kg)^[25]、高于黄颡鱼 (17.12~20.86 mg/kg)^[13]、西伯利亚鲟 (*Acipenser baerii*) (29.15 mg/kg)^[26]、斜带石斑鱼 (28.9 mg/kg)^[23] 和尼罗罗非鱼 (37.2 mg/kg)^[7]。锌需求量的不同, 与鱼的种类、生长阶段、锌源以及基础饲料中锌的含量和可利用性等因素有关。

3.2 饲料锌对大口黑鲈肌肉与全鱼组成的影响

锌参与调节许多重要的生理过程, 其中包括蛋白质、脂类、糖类和核酸的合成和降解^[2]。研究表明, 提高饲料锌含量可以提高黄颡鱼的体蛋白质含量, 但是体脂肪和灰分含量有所降低^[13]。在虹鳟中, 锌缺乏显著增加了鱼体水分含量, 降低了蛋白质和灰分含量^[27]。本实验中, 随着饲料中锌含量的增加, 大口黑鲈全鱼与肌肉的粗脂肪、粗蛋白质、灰分、水分均无明显差异, 与在皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*)^[28]、建鲤^[10] 上的研究结果相一致, 可能是基础饲料中的锌防止了缺乏症出现的同时, 也满足了维持体成分和肌肉成分的需要。

3.3 饲料锌对大口黑鲈血清生化指标的影响

在生物体中, 碱性磷酸酶 (AKP) 是一种重要的代谢调控酶, 存在于高等动物几乎全部的组织中, 直接参与磷酸集团的转移和代谢, 对骨骼矿化起到重要的作用^[29], 而锌正是 AKP 的组成成分。在本实验中, 基础饲料组 (Zn-25 组) 的大口黑鲈血清 AKP 活性最低, 当饲料锌添加量为 25 mg/kg (Zn-49 组) 后, AKP 活性不再显著上升。在虹鳟^[30]、斜带石斑鱼^[31]、斑点叉尾鲟 (*Ictalurus punctatus*)^[32] 等研究中, 也观察到 AKP 活性受到饲料锌含量的影响, 分别在锌含量达到 60.0、57.4 和 20.0 mg/kg 后活性基本稳定。

超氧化物歧化酶 (SOD) 是生物体内存在的一种抗氧化金属酶, 是抗氧化酶防御体系中第一道也是最重要的一道屏障^[33-34], 目前在生物体中已发现 3 种不同的 SOD 亚型, CuZn-SOD、Mn-

SOD 和 Fe-SOD。其中, CuZn-SOD 在生物体中分布最广泛^[35]。有研究表明, 饲料中锌含量的增加, 有助于提高血清 SOD 的活性。在大菱鲆实验中, 当饲料锌含量低于 75 mg/kg 时, 血清 T-SOD 活性随锌含量增加而增加^[36]。黄颡鱼饲料的锌含量低于 38.75 mg/kg^[13]、露斯塔野鲮饲料的锌含量低于 51.42 mg/kg^[22]、建鲤饲料的锌含量低于 40.80 mg/kg^[37] 时, 也有相同的规律。本实验中, 饲料中添加 25 mg/kg 锌 (Zn-49 组) 显著提高了大口黑鲈血清 T-SOD 和 CuZn-SOD 活性, 且在该组后保持稳定, 表明在基础饲料中添加 25 mg/kg 锌已能满足鱼体正常 SOD 活性所需。

谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 是评价肝脏健康状况的一个重要指标, 当肝脏正常的情况下, 血清中的 AST、ALT 活性维持在一定含量, 当肝脏发生病变时候, 肝脏细胞受损导致大量 AST、ALT 进入血液中, 从而引起血清中 AST、ALT 活性显著增加^[38]。Lowe 等^[39] 发现, 锌进入血液后, 首先在肝脏中沉积, 肝脏是锌代谢最快的器官。本实验中, 血清中 AST、ALT 活性均随着饲料锌含量的增加而上升, 并具有与全鱼铁、骨铁、骨锰含量基本一致的变化趋势, 可能是高含量锌会增加肝脏负担, 也可能是随着锌补充量的增加, 抑制了铁、锰元素的吸收, 导致肝脏有受损的风险。在星斑川鲮 (*Platichthys stellatus*)^[40] 中, 当饲料锌含量为 411 mg/kg 时, 血清 AST、ALT 活性显著升高, 且肝脏出现充血等症状。本实验中, 大口黑鲈血清 AST、ALT 活性分别为 25.0~28.8 U/L、18.3~23.9 U/L。在尼罗罗非鱼^[7] 中, 血清 AST 正常范围为 33.5~63.7 U/L。在南方鲈 (*Silurus meridionalis*)、虹鳟中, 正常血清 ALT 分别为 42.5 U/L^[41]、29.5~30.7 U/L^[42], 肝脏肿大充血虹鳟的血清 ALT 活性上升为 137 U/L^[42]。相比之下, 本实验血清中 AST、ALT 活性在正常范围之内, 继续增加饲料中锌含量, 可能增加肝脏受损的风险, 今后有待结合肝脏组织学加以分析。

3.4 饲料锌对大口黑鲈各组织中矿物元素含量的影响

通常, 全鱼和脊椎中的矿物质含量可用于评估鱼类的矿物质营养状况^[43]。在尼罗罗非鱼, 骨锌含量随着饲料锌含量增加而增加, 在饲料锌含量达到 99.7 mg/kg 后趋于稳定^[7]。在大菱鲆、

斜带石斑鱼和露斯塔野鲮中, 当饲料锌含量达到 106.5 mg/kg^[36]、71.9 mg/kg^[31] 和 51.4 mg/kg^[22] 之后, 全鱼锌与骨锌不再显著增加。然而在一些报道中, 全鱼锌含量一直随饲料锌含量增加而增加, 如虹鳟^[30]、尼罗罗非鱼^[21], 可能是因为这些实验中设置的饲料最高锌含量较低 (分别为 107.6 mg/kg、100 mg/kg), 不能满足实验鱼锌沉积量所需。在本实验中, 全鱼锌和脊椎骨中锌也随着饲料中锌含量的增加而增加, 并在饲料锌达到 126 mg/kg 后, 其含量不再显著增加, 这个结果远高于根据 WGR 和 FCR 确定的锌需求量。当饲料中锌含量满足最大生长后, 过多的锌元素被存储在体内, 特别是脊椎骨中, 方便机体在需要锌时可以迅速获取。以全鱼锌和骨锌为评价指标, 基于折线模型确定的大口黑鲈幼鱼对饲料中锌的适宜需求量分别为 121.8 和 130.5 mg/kg。

在本实验中, 随着饲料中锌含量的增加, 全鱼铁、骨铁、骨锰的含量则表现出下降的趋势。在许多研究中也有类似的报道: 随着饲料中锌含量的增加, 尼罗罗非鱼骨骼中铁含量^[7]、露斯塔野鲮全鱼的铁含量^[22]、黄颡鱼全鱼中铁、锰含量^[13]、斜带石斑鱼骨骼中锰含量^[31] 均表现出下降的规律。这可能是因为锌和其他阳离子的理化性质相似, 这些矿物质之间通常存在竞争作用, 包括胃肠道吸收过程中的竞争性抑制^[27]。

4 总结

在本实验条件下, 在含锌为 24.8 mg/kg 的半精制饲料中补充无机锌, 可提高大口黑鲈幼鱼的生长性能、血清免疫能力与全鱼锌、骨锌的积累, 但是高添加量的锌会降低铁、锰元素的积累。以增重率、饲料系数、全鱼锌和骨锌为指标, 基于折线模型确定大口黑鲈幼鱼对饲料中锌的需求量分别为 45.5、44.6、121.8 和 130.5 mg/kg 干物质。

参考文献 (References):

- [1] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 59.
- [2] 乔永刚, 谭北平, 麦康森, 等. 军曹鱼幼鱼对饲料中锌需要量的研究[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(suppl.1): 105-110.
- [3] Song Z X, Jiang W D, Liu Y, et al. Dietary zinc deficiency reduced growth performance, intestinal immune and physical barrier functions related to NF-κB, TOR, Nrf2, JNK and MLCK signaling pathway of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 66: 497-523.
- [4] Himoto T, Nomura T, Tani J, et al. Exacerbation of insulin resistance and hepatic steatosis deriving from zinc deficiency in patients with HCV-related chronic liver disease[J]. *Biological Trace Element Research*, 2015, 163(1-2): 81-88.
- [5] Song Y, Leonard S W, Traber M G, et al. Zinc deficiency affects DNA damage, oxidative stress, antioxidant defenses, and DNA repair in rats[J]. *Journal of Nutrition*, 2009, 139(9): 1626-1631.
- [6] Ogino C, Yang G Y. Requirement of rainbow trout for dietary zinc[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1978, 44(9): 1015-1018.
- [7] Huang F, Jiang M, Wen H, et al. Dietary zinc requirement of adult Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed semi-purified diets, and effects on tissue mineral composition and antioxidant responses[J]. *Aquaculture*, 2015, 439: 53-59.
- [8] Fraker P J, King L E, Laakko T, et al. The dynamic link between the integrity of the immune system and zinc status[J]. *Journal of Nutrition*, 2000, 130(5): 1399-1406.
- [9] Watanabe T, Kiron V, Satoh S. Trace minerals in fish nutrition[J]. *Aquaculture*, 1997, 151(1-4): 185-207.
- [10] Tan L N, Feng L, Liu Y, et al. Growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary zinc[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(3): 338-345.
- [11] do Carmo e Sá M V, Pezzato L E, Lima M M B F, et al. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets[J]. *Aquaculture*, 2004, 238(1-4): 385-401.
- [12] Welker T, Barrows F, Overturf K, et al. Optimizing zinc supplementation levels of rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss*) fed practical type fishmeal- and plant- based diets[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(1): 91-108.
- [13] Luo Z, Tan X Y, Zheng J L, *et al.* Quantitative dietary zinc requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and effects on hepatic intermediary metabolism and antioxidant responses[J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1-2): 150-155.
- [14] 于秀娟, 徐乐俊, 吴反修. 中国渔业统计年鉴-2020[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 25.
Yu X J, Xu L J, Wu F X. China Fishery Statistical Yearbook-2020[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020: 25 (in Chinese).
- [15] He M, Li X Q, Poolsawat L, *et al.* Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(4): 1058-1071.
- [16] Li S L, Ding G T, Wang A, *et al.* Replacement of fishmeal by chicken plasma powder in diets for largemouth bass (*Micropterus salmoides*): Effects on growth performance, feed utilization and health status[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(6): 1431-1439.
- [17] Zhou Y L, Guo J L, Tang R J, *et al.* High dietary lipid level alters the growth, hepatic metabolism enzyme, and anti-oxidative capacity in juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(1): 125-134.
- [18] 李二超, 禹娜, 陈立侨, 等. 脂肪和L-肉碱对大口黑鲈饲料中蛋白质的节约作用[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 787-796.
Li E C, Yu N, Chen L Q, *et al.* Protein sparing effect of lipid and L-carnitine in diets for largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(3): 787-796(in Chinese).
- [19] Zhou H, Chen N, Qiu X, *et al.* Arginine requirement and effect of arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(1): 107-116.
- [20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.268-2016 食品安全国家标准 食品中多元素的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the
- People's Republic of China, China Food and Drug Administration. GB 5009.268-2016 Determination of Polyelement in Food Safety National Standard[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017 (in Chinese).
- [21] Eid A E, Ghonim S I. Dietary zinc requirement of fingerling *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture*, 1994, 119(2-3): 259-264.
- [22] Musharraf M, Khan M A. Dietary zinc requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton)[J]. *Aquaculture*, 2019, 503: 489-498.
- [23] Chen H Y, Cheng Y C, Hu L C, *et al.* Dietary zinc requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. *Aquaculture*, 2014, 432: 360-364.
- [24] Liang J J, Yang H J, Liu Y J, *et al.* Dietary zinc requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on growth and mineralization[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(4): 380-387.
- [25] 张佳明, 艾庆辉, 麦康森, 等. 大黄鱼幼鱼对饲料中的锌需要量[J]. *水产学报*, 2008, 32(3): 417-424.
Zhang J M, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Dietary zinc requirement of juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(3): 417-424(in Chinese).
- [26] Moazenzadeh K, Islami H R, Zamini A, *et al.* Dietary zinc requirement of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt 1869) juveniles, based on the growth performance and blood parameters[J]. *International Aquatic Research*, 2017, 9(1): 25-35.
- [27] Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. Availability to rainbow trout of zinc in white fish meal and of various zinc compounds[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1987, 53(4): 595-599.
- [28] Tan B P, Mai K S. Zinc methionine and zinc sulfate as sources of dietary zinc for juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino[J]. *Aquaculture*, 2001, 192(1): 67-84.
- [29] Blasco J, Puppo J, Sarasquete M C. Acid and alkaline phosphatase activities in the clam *Ruditapes philippinarum*[J]. *Marine Biology*, 1993, 115(1): 113-118.
- [30] Kucukbay Z, Yazlak H, Sahin N, *et al.* Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2006, 257(1-4): 465-469.
- [31] Huang Q C, Wang E L, Dong X H, *et al.* Investigations

- on zinc bioavailability of different sources and dietary zinc requirement in juvenile grouper *Epinephelus coioides*[J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49(8): 2763-2773.
- [32] Gatlin D M, Wilson R P. Dietary zinc requirement of fingerling channel catfish[J]. *Journal of Nutrition*, 1983, 113(3): 630-635.
- [33] Dorval J, Leblond V S, Hontela A. Oxidative stress and loss of cortisol secretion in adrenocortical cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed in vitro to endosulfan, an organochlorine pesticide[J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 63(3): 229-241.
- [34] Taylor C G, Bettger W J, Bray T M. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats[J]. *Journal of Nutrition*, 1988, 118(5): 613-621.
- [35] Zelko I N, Mariani T J, Folz R J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD₁), Mn-SOD (SOD₂), and EC-SOD (SOD₃) gene structures, evolution, and expression[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2002, 33(3): 337-349.
- [36] Ma R, Hou H P, Mai K S, *et al.* Comparative study on the bioavailability of chelated or inorganic zinc in diets containing tricalcium phosphate and phytate to turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 420-421: 187-192.
- [37] Feng L, Tan L N, Liu Y, *et al.* Influence of dietary zinc on lipid peroxidation, protein oxidation and antioxidant defence of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(4): e875-e882.
- [38] Feng W Y, Qiao J, Jiang J F, *et al.* Development of alanine aminotransferase reactor based on polymer@Fe₃O₄ nanoparticles for enzyme inhibitors screening by chiral ligand exchange capillary electrophoresis[J]. *Talanta*, 2018, 182: 600-605.
- [39] Lowe N M, Bremner I, Jackson M J. Plasma ⁶⁵Zn kinetics in the rat[J]. *British Journal of Nutrition*, 1991, 65(3): 445-455.
- [40] 崔立娇. 星斑川鲷 (*Platichthys stellatus*) 幼鱼对锌的营养需求研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- Cui L J. Studies on dietary zinc requirements of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011 (in Chinese).
- [41] 赵海涛, 张其中, 赵海鹏, 等. 南方鲷幼鱼和成鱼血液指标的比较[J]. *动物学杂志*, 2006, 41(1): 94-99.
- Zhao H T, Zhang Q Z, Zhao H P, *et al.* Comparative study on hematological indices in larval and adult southern catfish[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2006, 41(1): 94-99(in Chinese).
- [42] 张桂兰. 虹鳟鱼血液学指标的测定[J]. *鲑鳟渔业*, 1991, 4(2): 80-84.
- Zhang G L. The measurements of haematology index of rainbow trout[J]. *Salmon Fishery*, 1991, 4(2): 80-84(in Chinese).
- [43] Nie J Q, Dong X H, Tan B P, *et al.* Effects of dietary manganese sources and levels on growth performance, relative manganese bioavailability, antioxidant activities and tissue mineral content of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* L)[J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(5): 1402-1412.

Dietary zinc requirement of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

SONG Bowen^{1,2,3}, YANG Hang^{1,2,3}, LI Xiaoqin^{1,2,3}, WANG Pu^{1,2,3}, HE Ming^{1,2,3},
XU Zhen^{1,2,3}, YANG Pinxian^{1,2,3}, LENG Xiangjun^{1,2,3*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

2. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition (CREEFN) of the
Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

3. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract: To determine the dietary zinc requirement of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*), casein, gelatin and fish meal were used as the main protein sources and $ZnSO_4 \cdot H_2O$ as zinc source to produce a semi-purified diet. Then, zinc was added into the basal diet at levels of 0, 25, 50, 100 and 200 mg/kg, to obtain five diets containing zinc of 24.8, 48.8, 78.9, 126.1 and 223.6 mg/kg dry matter, respectively. Largemouth bass with initial body mass of (10.99 ± 0.07) g were fed one of the five diets for 8 weeks. The results showed that the supplementation of 25 mg/kg Zn significantly increased the weight gain rate (WGR), and reduced feed coefficient ratio (FCR) of largemouth bass, which tended to stabilize when higher levels of Zn were added. When dietary Zn reached 25-49 mg/kg, the serum activity of CuZn-SOD and T-SOD remained stable, while Zn-79 group showed the highest AKP activity. The zinc content in whole fish and vertebrae increased with the increasing dietary Zn, and showed no significant increase when dietary Zn content was higher than 126 mg/kg (Zn-126 group). The iron content in whole body, iron and manganese contents in vertebra, and the retention of iron and zinc in whole body decreased with the increasing dietary Zn. In conclusion, the supplementation of Zn in diet improved the weight gain and feed utilization, promoted serum immunity and Zn deposit in whole body and vertebra. Based on the WGR, FCR, whole body zinc and vertebra zinc, the broken-line analysis indicated that the dietary requirement of Zn was 45.5, 44.6, 121.8 and 130.5 mg/kg dry matter, respectively.

Key words: *Micropterus salmoides*; zinc; growth; feed utilization; zinc deposit

Corresponding author: LENG Xiangjun. E-mail: xjleng@shou.edu.cn

Funding project: Collaborative Innovation Fund for Animal Genetics and Breeding in Aquaculture (A1-3201-19-3003)