

文章编号: 1000-0615(2017)02-0271-14

DOI: 10.11964/jfc.20160410382

蛋白质和脂肪对工业培育黄颡鱼仔稚鱼生长和生理因子的影响

赵宁宁^{1,2,3}, 徐世宏^{1,3}, 李勇^{1,2,3*}, 马骏^{1,2,3},
张静^{1,2,3}, 董建军⁴

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东青岛 266071;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 中国科学院实验海洋生物学重点实验室, 海洋生态养殖技术国家地方联合工程实验室, 山东青岛 266071;

4. 武汉百瑞生物技术有限公司, 湖北武汉 433000)

摘要: 为探讨蛋白质和脂肪对工业化培育黄颡鱼仔稚鱼生长和生理因子的影响, 实验采用2×2双因素设计, 设置2个蛋白水平(48%、52%); 2个脂肪水平(9%、13%)。形成4种实验饲粮处理组, 每处理3个重复, 每重复3600尾实验鱼[平均体质量(4.6 ± 0.3)mg]。实验鱼为2日龄黄颡鱼“全雄1号”仔鱼, 以卤虫开食1 d后, 逐渐过渡为实验饲料, 过渡期为2 d, 实验进行21 d。结果显示: ①13%脂肪水平显著提高实验鱼成活率, 52%蛋白水平显著提高实验鱼增重率和饲料利用率。P52L13组成活率极显著高于P52L9组32.67%, 显著高于P48L13和P48L9组, 其增重率也分别显著高于P48L13和P48L9组40.15%和43.74%; P48L9组成活率分别显著高于P52L9组15.83%, 但增重率最低。②生理因子分析表明, 52%蛋白、13%脂肪水平分别显著提高黄颡鱼仔稚鱼机体IGF-1和T3含量, 并有提高消化酶和吸收酶活力趋势。P52L13组消化酶、吸收酶活力和生长相关激素含量均最高, 且后两类均显著提高, AKP活力分别显著高于P52L9和P48L13组37.38%和34.71%, IGF-1水平显著高于P48L9组46.2%; P48L9组消化酶和吸收酶活力均较高, 但T3及GH含量均最低, IGF-1水平显著低于其他3组25.76%~31.6%。③本研究新发现, 蛋白和脂肪水平较低时, 对仔稚鱼生长性能未有提高, 但二者组合比例(即蛋脂比)适宜时(本实验条件下为3.95~5.46), 有利于工业化培育仔稚鱼存活能力的改善。总之, 本研究初步确定, 在工业化培育条件下, P52L13组饲料为兼顾黄颡鱼仔稚鱼成活率、生长性能、消化吸收和生长相关激素水平的优良组合; P48L9组饲料为改善黄颡鱼仔稚鱼存活、消化吸收的适宜蛋脂比组合; 饲料蛋脂比对鱼类生命早期发育成活具有重要作用。

关键词: 黄颡鱼; 仔稚鱼; 主要营养素; 成活率; 生长性能; 消化吸收; 生长激素; 工业化培育

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

仔稚鱼培育是规模化养鱼业发展的主要制约因素之一, 也是成鱼健康生长的重要基础。鱼类受精卵完成胚胎发育并经脱膜孵化后进入

仔鱼期, 仔鱼营养由内源性(卵黄)到混合型(卵黄+饵料)进而变为外源性营养(饵料或饲料), 进入稚鱼期^[1]。可见, 外源营养素源的品质优劣、均

收稿日期: 2016-04-27 修回日期: 2016-07-04

资助项目: “十二五”国家科技支撑计划(2011BAD13B07); 中国科学院项目(Y12530101L); 黄颡鱼“全雄1号”工业化绿色生产技术研发应用(I20140114D)

通信作者: 李勇, E-mail: liyong@qdio.ac.cn

衡性、适口性等，对仔稚鱼培育至关重要。长期以来，仔稚鱼培育的外源营养主要依赖天然动植物饵料和人工生物活饵料。但天然饵料资源有限，营养单一，易传播疾病；人工生物饵料成本高，受季节限制^[2]。因而，开发营养品质高、组成平衡适量、适口性好等物理性状优良的仔稚鱼配合微粒饲料，以部分或全部代替生物饵料，已成为仔稚鱼培育需要解决的关键技术问题。

近年来，使用配合微粒饲料代替生物饵料或联合投喂的研究逐渐增多^[3-6]，但到目前为止，仔鱼开口初期饲喂微粒饲料仍难以达到生物饵料的效果。研究表明，仔稚鱼具有消化配合饲料的能力，但由于配合微粒饲料的营养成分、适口性、物理结构等与仔稚鱼较弱的消化能力不相适应，开口初期直接饲喂时，易出现死亡率上升、延缓早期生长发育等问题^[7]。也有研究表明，用配合微粒饲料直接开口时，虽然对仔鱼前期生长有影响，但仔鱼后期或稚鱼期还可进行补偿生长，从而使生长恢复到正常水平^[8]。目前关于仔稚鱼营养素需求和配合微粒饲料的研究主要集中在蛋白^[9-11]、脂肪和脂肪酸^[12-16]、维生素和矿物质^[17-19]等方面，但是对黄颡鱼仔稚鱼的研究仅见脂肪^[20-21]和磷脂^[22]需求量。而针对工业化培育黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)仔稚鱼营养需求量和配合微粒饲料的研究尚属空白。

黄颡鱼俗称黄腊丁、黄鳍鱼等。为广布性鱼类，主要分布于我国长江干、支流及其附属水域^[23]。其肉质鲜美、营养价值高，深受广大消费者的亲睐。近年来，我国鱼类育种学家以现代分子性控育种技术，培育出生长速率快、个体大的优良品系——黄颡鱼“全雄1号”，已在全国迅速推广，苗种年养殖量达200~300亿尾^[24]。其苗种繁育目前已进入现代工业化循环水养殖模式，故亟需研发与该养殖模式相适应的仔稚鱼专用高效低污染低成本微粒饲料新产品，以保证其仔稚鱼和成鱼的健康生长，并使该新品系优良性状的遗传潜力得以充分发挥。

本实验在工业化循环水养殖条件下，通过饲料中不同水平的蛋白质和脂肪进行组配，研究其对黄颡鱼仔稚鱼生长和生理因子的影响，初步确定其主要营养素的适宜水平及其组合，为开发工业化培育黄颡鱼仔稚鱼专用微粒饲料提供理论基础和应用参考。

1 材料与方法

1.1 实验设计

实验在工业化循环水培育条件下进行，采用 2×2 双因素设计，即2个蛋白水平为48%、52%，分别以P48、P52表示；2个脂肪水平为9%、13%，分别以L9、L13表示。共形成4个实验组，每组3个重复。实验用鱼为黄颡鱼“全雄1号”仔稚鱼，由武汉百瑞生物技术有限公司鱼苗育种基地提供，从同一生产车间养殖池的同源同批亲鱼孵化出的2日龄黄颡鱼卵黄苗中，选取活性强、健壮的卵黄苗[平均体质量(4.6±0.3)mg]，随机分入约0.48 m³的实验桶中，每桶3600尾。实验从2日龄开始，全部以卤虫开口饲喂1 d，逐渐过渡为实验饲料，过渡期为2 d，实验进行21 d。

1.2 实验饲料

实验饲料原料组成和营养水平见表1。按照配方组成和比例，将相关原料进行一次混合，超微粉碎，再经二次混合后用双螺杆挤压膨化机(瑞士布勒机型)制成直径为3 mm的缓沉型膨化颗粒配合饲料。实验前，为适应黄颡鱼仔稚鱼口裂大小，将3 mm颗粒料破碎、过筛，分别制成0.3、0.5、0.8和1.0 mm的微粘合型微粒饲料，随机抽取各实验组饲料样品，进行有关营养成分含量分析。

1.3 饲养管理

养殖实验在武汉百瑞生物技术有限公司鱼苗育种基地的淡水鱼封闭循环水车间A区进行，实验鱼养殖在内径0.9 m、水深0.75 m的圆形桶中。养殖桶内水24 h循环，循环量为160 L/h，水温(28.0±1.0)°C，溶解氧5.0~8.0 mg/L。实验期间，每天6:30、9:30、12:30、15:30、18:30、21:00和23:00进行投喂。每次投喂时，根据每缸鱼数和采食情况及时调整投饵量，尽量使饲料在投喂后0.5~1 h被实验鱼完全采食，记录残饵和实际采食量。每天定时清理残饵及粪便，如有死鱼及时清除并计数。

1.4 样品采集和指标测定

实验结束时，称量每桶实验鱼总重量。每桶随机选取100尾鱼称重，计算出每尾鱼均重，从而得出每个重复组存活鱼数量。再从每桶中随机取40条实验鱼，置于10 mL试管中，作为全

表 1 实验饲料原料组成及主要营养水平
Tab. 1 Main ingredients and chemical composition of trial diets

成分 ingredients	组别 groups				%
	P52L13	P52L9	P48L13	P48L9	
鱼粉 fish meal ^a	27	27	23	23	
酪蛋白 casein	20	20	20	20	
大豆浓缩蛋白 soy protein concentrate	14.34	13.65	11.28	10.62	
面粉 wheat flour	10.34	14.18	17.2	21	
血浆蛋白粉 plasma protein meal ^b	6	6	6	6	
卵磷脂 lecithin	6	6	6	6	
酵母蛋白 yeast protein	5	5	5	5	
鱼油 fish oil	4.8	2.72	4.8	2.72	
玉米油 corn oil	2.4	1.36	2.4	1.36	
复合维生素 multi-vitamin ^d	0.8	0.8	0.8	0.8	
复合矿物元素 multi-mineral ^e	0.8	0.8	0.8	0.8	
粘结剂 binder ^c	2	2	1.5	1.5	
磷酸单钙 monocalcium phosphate	0.54	0.51	1.02	1	
胆碱 choline	0.2	0.2	0.2	0.2	
总计 total	100	100	100	100	
营养水平 nutrient levels^j					
粗蛋白 crude protein	52.24	51.94	47.90	48.31	
粗脂肪 crude lipid	13.22	9.10	13.44	8.85	
蛋脂比 protein lipid ratio	3.95	5.71	3.56	5.46	
钙 calcium	1.35	1.35	1.26	1.25	
总磷 total phosphorus	1.40	1.42	1.41	1.39	
盐 salt	0.93	0.95	0.86	0.85	
赖氨酸 lysine	3.99	3.97	3.67	3.65	
粗纤维 crude fiber	1.00	0.90	0.80	0.80	
灰分 ash	6.60	6.60	6.40	6.40	

注: a. 优质秘鲁鱼粉(粗蛋白65%); b. 国产优质血浆蛋白粉(粗蛋白 72%); c. 海藻酸钠

1)复合维生素为每kg饲料提供: VA 15 000 IU, VC 1000 mg, VD₃ 2500 IU, VK₃ 50 mg, VB₁ 50 mg, VB₂ 20 mg, VB₆ 30 mg, VB₁₂ 0.5 mg, VE 300 mg, 烟酸胺 260 mg, 泛酸钙 150 mg, 叶酸 20 mg, 生物素 2.5 mg, 肌醇 100 mg

2)复合矿物元素为每kg饲料提供: Cu, 8; Zn, 250; Mn, 45; Fe, 100; I, 2.4; Co, 2; Mg, 4

3)除蛋脂比外, 其余营养水平均为实测值

Notes: a. high quality Peruvian fish meal (65% crude protein); b. domestic high quality plasma protein meal (72% crude protein); c. sodium alginates

1) multi-vitamin (per kg diet): VA 15 000 IU, VC 1000 mg, VD₃ 2500 IU, VK₃ 50 mg, VB₁ 50 mg, VB₂ 20 mg, VB₆ 30 mg, VB₁₂ 0.5 mg, VE 300 mg, niacin 260 mg, calcium pantothenate 150 mg, folacin 20 mg, biotin 2.5 mg, inositol 100 mg

2) multi-mineral (mg/kg diets): Cu, 8; Zn, 250; Mn, 45; Fe, 100; I, 2.4; Co, 2; Mg, 4

3) in addition to the protein lipid ratio, the rest of the nutrient levels were measured values

鱼测定样品, 保存于-20°C待测。

成活率和生长指标测定

成活率(%)=终末存活鱼数/初始鱼数×100

日成活率(%)=每天存活鱼数/初始鱼数×100

日均采食量(mg/d·尾)=(总投喂量-总残饵量)/

实验天数/鱼数×1000

日增重(mg/d·尾)=(终末均重-初始均重)/实验天数×1000

增重率(%)=(终末体质量-初始体质量)/初始体质量×100

饲料系数=(总投喂量-总残饵量)/(终末体质量-初始体质量)

消化生理相关指标测定 使用南京建成生物工程研究所的试剂盒, 将实验鱼全鱼样品按重量(g): 体积(mL)=1:9的比例加入9倍的生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 2500 r/min, 离心10 min, 取上清液, 然后按说明书测定消化吸收相关酶活力。包括蛋白酶(protease)、脂肪酶(lipase, LPS)、淀粉酶(amylase, AMS)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)和 $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATP酶($\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATPase)。

生长生理相关指标 使用南京建成生物工程研究所的试剂盒, 按照说明书用酶联免疫吸附法测定实验鱼全鱼样品的胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T3)、生长激素(growth hormone, GH)。

1.5 实验数据统计分析

实验数据用SPSS 22.0软件进行统计, 采用双因素方差和Duncan检验法分析。结果均用平均值±标准差(mean±SD)表示。

2 结果

2.1 成活率和生长性能

成活率 脂肪水平对成活率影响极显著($P<0.01$)(表2), L13极显著高出L9 21.74%。双因素有极显著或显著互作效应($P<0.01$ 或 <0.05)(图1), 其中P52L13组极显著高出P52L9组32.67%($P<0.01$), 分别显著高出P48L13组和P48L9组22.21%和14.54%($P<0.05$)。P48L9组显著高出P52L9组15.83%($P<0.05$)。

实验期间各组实验鱼在1~5 d成活率较为稳定, 各组达90%以上(图2); 但在第6~9天出现死亡高峰, 成活率剧烈下降, 期间P52L9组和P48L13组下降最为明显。第9天以后各组曲线均趋于平缓, 下降幅度基本相同。

日均采食量 各组实验鱼的日均采食量差异不显著($P>0.05$), 但以P52L13组趋于最高, 其

次为P48L9组(表2)。

增重率 蛋白水平对增重率有极显著影响($P<0.01$), P52极显著高出P48 51.81%(表2)。双因素对其有显著或极显著影响($P<0.01$ 或 0.05), P52L9组分别极显著高出P48L13和P48L9组59.69%和63.78%, 但与P52L13组差异不显著; P52L13组显著高出P48L13和P48L9组40.15%和43.74%。

饲料系数 蛋白水平对饲料系数有极显著影响($P<0.01$), P52极显著低于P48 26.67%。双因素有极显著互作效应($P<0.01$), 其中P52L9组较P48L9组极显著降低46.15%, P52L13和P48L13组均较P48L9组显著降低26.92%(表2)。

2.2 消化生理相关指标

消化酶活力 单因素对实验鱼蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活力的影响均不显著($P>0.05$)。双因素仅对淀粉酶有极显著互作效应($P<0.01$), 其中P52L13和P48L9组极显著高于P52L9和P48L13组约53.70%~79.66%(表3)。

吸收酶活力 单因素对实验鱼碱性磷酸酶活力影响均不显著, 但蛋白水平对 $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATP酶活力有极显著影响($P<0.05$), P52极显著高出P48 23.74%。双因素对二者有显著或极显著互作效应($P<0.05$ 或 0.01), 其中P52L13组碱性磷酸酶活力分别极显著高出P52L9和P48L13组37.38%和34.71%, $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATP酶活力分别显著高出P48L13组和P48L9组53.20%和31.39%(表3)。

2.3 生长生理相关指标

蛋白水平对实验鱼IGF-1和T3含量有显著或极显著影响($P<0.05$ 或 0.01)(表4), P52较P48分别显著或极显著提高21.44%和14.71%; 脂肪水平对二者影响显著($P<0.05$), L13较L9分别显著提高23%和10.55%; 双因素对实验鱼IGF-1含量有显著效应($P<0.05$)(图3), 其中P52L13、P52L9和P48L13组分别显著高出P48L9组46.20%、38.39%和34.71%。各处理组对实验鱼GH含量影响均不显著($P>0.05$), 并且含量基本相同。

3 讨论

3.1 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼成活率和生长性能的影响

对成活率的影响 饲料脂肪含量不足将无法满足仔稚鱼快速生长所需的必需脂肪酸和能

表 2 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼生长性能指标的影响
Tab. 2 Effects of main nutrient element on growth of *P. fulvidraco* larvae

n=3

项目 items	蛋白水平 protein level	脂肪水平 lipid level		均值 means
		L13	L9	
成活率/% survival rate	P52	88.52±3.62 ^a	66.72±3.37 ^c	77.62±12.34 ^a
	P48	72.08±3.92 ^{bc}	77.28±2.95 ^b	74.68±4.21 ^a
	均值	80.30±9.61 ^a	72.00±6.44 ^c	
日均采食量/(mg/d·尾) average daily feed intake	P52	3.55±0.08 ^a	3.27±0.49 ^a	3.41±0.34 ^a
	P48	2.73±0.29 ^a	3.43±0.36 ^a	3.18±0.40 ^a
	均值	3.14±0.49 ^a	3.35±0.38 ^a	
末重/g final body weight	P52	0.20±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.22±0.02 ^a
	P48	0.15±0.01 ^b	0.14±0.02 ^b	0.145±0.01 ^c
	均值	0.175±0.03 ^a	0.185±0.05 ^a	
增重率/% weight gain rate	P52	4239.00±243.75 ^{ab}	4830.33±290.84 ^a	4534.67±403.17 ^a
	P48	3024.67±219.24 ^c	2949.00±226.87 ^c	2986.83±204.00 ^c
	均值	3631.83±696.59 ^a	3889.67±1056.41 ^a	
日增重/mg average daily gain	P52	9.43±0.54 ^{ab}	11.42±0.54 ^a	10.43±1.19 ^a
	P48	6.73±0.49 ^c	6.41±0.07 ^c	6.57±0.58 ^c
	均值	8.08±1.55 ^b	8.92±2.80 ^a	
饲料系数 feed coefficient rate	P52	0.38±0.03 ^b	0.28±0.00 ^c	0.33±0.05 ^c
	P48	0.38±0.06 ^b	0.52±0.06 ^a	0.45±0.09 ^a
	均值	0.38±0.04 ^a	0.40±0.14 ^a	

双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance (P-value)

指标 index	成活率 survival rate	日均采食量 average daily feed intake					饲料系数 feed coefficient rate
		蛋白 PL	脂肪 FL	末重 final body weight	增重率 weight gain rate	日增重 average daily gain	
	0.182	0.059	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002
	0.003	0.603	0.190	0.108	0.037	0.366	
	0.000	0.079	0.048	0.005	0.009	0.002	

注: 同栏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
Notes: in the same column, values with the same letter superscripts are no significant difference ($P>0.05$), while with adjacent letter are significant difference ($P<0.05$), and with interphase letter are significant difference ($P<0.01$), the same below

量^[25]; 脂肪含量过高, 其过量不饱和脂肪酸会导致仔稚鱼承受较大抗氧化压力, 最终产生大量丙二醛, 导致死亡率增加^[26]。本实验方差分析表明, L13比L9能极显著提高实验鱼成活率11.53% ($P<0.01$), 说明13%脂肪含量饲料适宜于2~22日龄黄颡鱼仔稚鱼存活。与以往学者研究脂肪含量为13.6%饲料可显著提高瓦氏黄颡鱼(*P. vachelli*)仔稚鱼成活率^[20]结果相近。本实验蛋白质水平对

实验鱼成活率的影响不显著。由此可见, 实验鱼成活率主要受饲料脂肪水平影响。分析原因可能与脂肪源(鱼油:玉米油=2:1)提供仔稚鱼必需脂肪酸有关, 特别是n-3 HUFA(如DHA、EPA和AA), 能维持仔鱼脑神经和机体生物膜的发育, 调节细胞吞噬能力和免疫相关酶活力以增强鱼体免疫力^[27], 也是构成类二十烷酸的前体^[28], 从而对维持仔稚鱼存活具有重要作用。

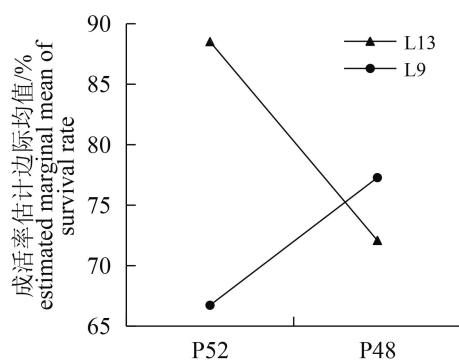


图1 蛋白和脂肪互作对成活率的影响

Fig. 1 Effects of protein and lipid interaction on survival rate

双因素对实验鱼成活率有极显著影响, P52L13组最佳, 极显著或显著高于其他组($P<0.01$ 或 0.05), 与单因素分析结果一致。可能与该组饲料营养充足, 可满足仔稚鱼生长发育需要, 或其蛋脂比(3.95)较适于实验鱼生长发育有关。这与适宜蛋脂比(或蛋能比)能显著提高罗氏沼虾^[29](*Macrobrachium rosenbergii*)仔虾和大口黑鲈^[30](*Micropterus salmoides*)幼鱼成活率、增重和饲料主要营养素(蛋白质、脂肪和能量)利用率, 也能显著提高蛋白质和脂肪沉积率等研究结果基本一致。值得关注的是, 虽然P48L9组营养偏低(低蛋白低脂肪), 但实验鱼成活率显著高于P52L9组($P<0.05$),

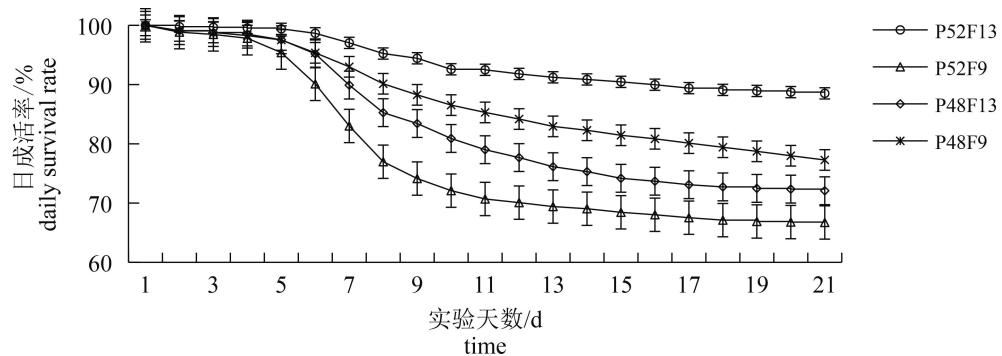


图2 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼日成活率的影响

Fig. 2 Effects of main nutrient element on daily survival rate of *P. fulvidraco* larvae

其原因可能是该组蛋脂比(5.46)较P48L13(3.56)和P52L9组(5.71)更适宜于仔稚鱼, 从而提高了蛋白和脂肪的利用率和沉积率, 有利于维持实验鱼发育存活^[29-30]。对团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)幼鱼投喂高蛋白低脂肪或低蛋白高脂肪饲料时, 其特定生长率和脂肪沉积率均出现下降^[31]。可见, 饲料蛋脂比过高或过低均不利于鱼的生长发育或成活。

仔鱼从内源性营养转化至外源性营养过程中, 出现死亡“危险期”或“临界期”的原因错综复杂, 其中不能补充适宜的开口饵料是最主要因素^[1]。胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)仔鱼在一直投喂卤虫、水蚯蚓时, 成活率达90%以上, 但其特定生长率出现先升后降趋势; 转食配合微粒饲料后死亡率升高至58.89%~82.59%^[32]。对舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[33]和塞内加尔鳎^[34](*Senegalese sole*)仔鱼的研究也有相似结果。本实验仔稚鱼开食卤虫1 d, 至2~4 d逐渐过渡至完全转食配合微粒饲料,

此间各处理组成活率均达90%以上, 但6~9 d仍然出现死亡高峰(图1)。分析原因, 虽然本实验研制的微粒饲料营养平衡, 水中悬浮性较好, 实验鱼转食死亡率不高(11.48%~33.28%), 但加工工艺造成物理性状不佳(破碎料外形不一致会影响适口性、粒面粗糙易溶失等), 仍需要改进。

对增重率和饲料系数的影响 研究表明, 蛋白水平对实验鱼增重率有极显著影响, P52极显著高于P48, 与黑头鳢^[35](*Mystus nemurus*)和舌齿鲈^[36]仔稚鱼研究结果一致。蛋白水平对饲料系数影响极显著, P52极显著低于P48, 这与其增重率高、摄食量与P48差异不显著有关。从营养学角度分析, 52%蛋白水平饲料为仔稚鱼发育生长提供优质而丰富的蛋白源(鱼粉、酪蛋白等)和氨基酸, 从而促进仔稚鱼增重并提高饲料利用率。本实验脂肪水平对增重率和饲料系数影响均不显著, 可见实验鱼生长性能主要受饲料蛋白质水平影响。

表3 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼消化吸收酶活力的影响

Tab. 3 Effects of main nutrient element on digestive enzymes activity of *P. fulvidraco* larvae

n=3

项目 items	蛋白水平 protein level	脂肪水平 lipid level		均值 means
		L13	L9	
蛋白酶/(U/mg prot) protease	P52	1.06±0.16 ^a	0.98±0.20 ^a	1.02±0.17 ^a
	P48	0.89±0.07 ^a	0.94±0.16 ^a	0.92±0.11 ^a
	均值	0.97±0.14 ^a	0.96±0.16 ^a	
脂肪酶/(U/mg prot) LPS	P52	21.13±2.11 ^a	21.02±0.42 ^a	21.07±1.36 ^a
	P48	19.75±0.48 ^a	21.10±1.90 ^a	20.42±1.45 ^a
	均值	20.44±1.56 ^a	21.06±1.23 ^a	
淀粉酶/(U/mg prot) AMS	P52	0.99±0.26 ^a	0.54±0.06 ^c	0.77±0.30 ^a
	P48	0.52±0.03 ^c	0.83±0.06 ^a	0.68±0.17 ^a
	均值	0.76±0.30 ^a	0.69±0.17 ^a	
碱性磷酸酶/(U/g prot) AKP	P52	20.53±2.06 ^a	14.96±1.58 ^c	17.74±3.46 ^a
	P48	15.24±0.65 ^c	17.46±1.78 ^b	16.35±1.70 ^a
	均值	17.88±3.20 ^a	16.21±2.03 ^a	
$\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATP酶/(U/mg prot) $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATPase	P52	22.98±2.52 ^a	19.65±0.44 ^{ab}	21.31±2.12 ^a
	P48	15.00±1.36 ^b	17.49±2.18 ^b	16.25±2.44 ^c
	均值	18.99±4.73 ^a	18.57±1.84 ^a	

双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance (P-value)

指标 index	蛋白酶 protease	脂肪酶 LPS	淀粉酶 AMS	碱性磷酸酶 AKP	$\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATP酶 $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -ATPase
蛋白 PL	0.310	0.482	0.317	0.172	0.001
脂肪 FL	0.912	0.46	0.385	0.109	0.701
蛋白*脂肪 PL*FL	0.465	0.411	0.001	0.003	0.024

双因素对实验鱼增重率和饲料系数有显著或极显著互作效应($P<0.05$ 或 0.01)，P52L9组两指标均最优，原因可能为该组实验鱼成活率最低，根据自然选择原理，存活的实验鱼对饲料和环境等因素的适应性较强，同时其高蛋白单因素的促增长效应显现，所以增重率和饲料利用率最高。P48L9组增重率和饲料利用率最低，可能与其主要营养素偏低，不能满足其增重有关。

3.2 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼消化生理相关指标的影响

对消化酶活力的影响 仔稚鱼具有在一定范围内根据饲料营养成分含量和特性调整其消化生理机能的能力，以满足其生长的营养需求^[37]。本实验中，各单因素对实验鱼蛋白酶活力的影

响不显著。双因素组合对蛋白酶活力影响也不显著，其趋势从高到低为P52L13、P52L9、P48L9和P48L13，与生长性能结果基本一致。

目前关于脂肪酶活力与饲料关系的研究较少且结论不一致。瓦氏黄颡鱼稚鱼的脂肪酶活力与饲料中脂肪含量呈正相关^[38]，而真鲷(*Pagrosomus major*)稚鱼中二者关系却呈负相关^[37]。本研究表明，脂肪单因素对实验鱼脂肪酶活力影响不显著，低脂肪组稍高。双因素组合脂肪酶影响也不显著，但以P52L13组偏高，其次为P48L9组，与成活率和生长性能结果基本一致。

单因素对实验鱼淀粉酶活力影响不显著。双因素组合对淀粉酶活力有极显著影响($P<0.01$)，P52L13组最高，其次为P48L9组。P52L13组实验鱼淀粉酶活力高，和该组偏高的蛋白酶和脂肪

表4 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼生长相关激素的影响

Tab. 4 Effects of main nutrient element on growth related hormone of *P. fulvidraco* larvae

n=3; ng/mg prot

项目 items	蛋白水平 protein level	脂肪水平 lipid level		均值 means
		L13	L9	
IGF-1	P52	6.74±0.44 ^a	6.38±0.11 ^a	6.57±0.66 ^a
	P48	6.21±0.45 ^a	4.61±0.50 ^b	5.41±0.98 ^b
	均值	6.47±0.50 ^a	5.50±0.66 ^b	
T3	P52	329.41±17.32 ^a	276.89±18.76 ^a	303.15±32.99 ^a
	P48	270.52±19.69 ^a	264.02±17.38 ^a	264.27±16.98 ^c
	均值	299.96±36.27 ^a	270.46±17.64 ^b	
GH	P52	0.25±0.02 ^a	0.24±0.02 ^a	0.24±0.02 ^a
	P48	0.26±0.03 ^a	0.23±0.03 ^a	0.24±0.03 ^a
	均值	0.26±0.02 ^a	0.24±0.02 ^a	

双因素方差统计分析(P值) results of two-way analysis of variance (P-value)			
指标 index	IGF-1	T3	GH
蛋白 PL	0.010	0.009	0.706
脂肪 FL	0.030	0.024	0.190
蛋白*脂肪 PL*FL	0.030	0.061	0.507

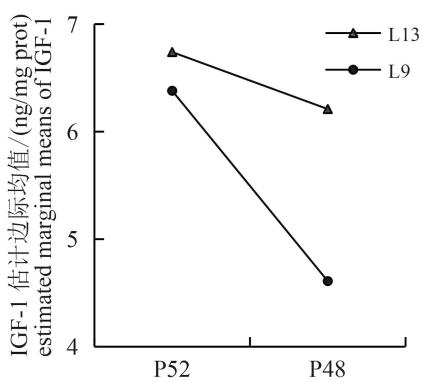


图3 蛋白和脂肪互作对IGF-1活力的影响

Fig. 3 Effects of protein and lipid interaction on IGF-1

酶活力共同促进主要营养物质消化吸收，进而改善生长发育与生长结果相符。P48L9组淀粉酶活力高，其原因一方面可能是该组饲料蛋白和脂肪含量偏低，从而实验鱼通过自身调节，提高淀粉酶活力以消解较多淀粉，补充机体能量，即补偿现象^[39]。另一方面也可能因为该组实验鱼采食量偏高，摄入淀粉或碳水化合物偏高，进而促进消化道淀粉酶合成增加和活力上升^[40]。

对吸收酶活力的影响 仔鱼消化道在不同

饲料刺激下，功能完善程度不同，在胃未形成之前，其消化营养物质的主要场所是肠道^[41]。AKP位于肠细胞的刷状缘膜上，协助肠上皮细胞吸收脂类、葡萄糖、氨基酸等营养物质，其活力反映仔稚鱼营养吸收状况，也与肠道的成熟度有关^[42]。本研究中单因素对实验鱼AKP活力的影响不显著。双因素互作对AKP有极显著效应($P<0.01$)，P52L13组活力最高，其次为P48L9组。说明两组实验鱼对饲料营养吸收较好，与其成活率和采食量较高相对应。

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP酶以镶嵌的方式锚定在生物膜上，不仅对水生动物渗透压的调节有重要作用，而且间接反映小肠黏膜对糖和蛋白质消化产物的吸收功能^[43]。本研究中蛋白水平对实验鱼 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP酶活力有极显著影响，52%蛋白水平较48%蛋白水平极显著提高了23.74%($P<0.01$)。说明52%蛋白水平能够显著提高实验鱼对蛋白质消化产物的吸收能力，与其较高的蛋白酶消化能力相一致，提高了该组的生长性能。脂肪水平对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP酶活力影响不显著，可能与该酶对脂类的吸收作用较弱有关。双因素对实验鱼 Na^+ -

K^+ -ATP酶活力影响显著($P<0.05$)，其中P52L13组实验鱼酶活力最高，P52L9组次之，P48L9组第三，与该三组实验鱼生长性能结果对应。P52L13组最高，与该组消化酶(蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶)活力变化特征一致。有研究表明，饲料高蛋白、高脂肪水平在提高豹纹鮰棘鲈(*Plectropomus leopardus*)幼鱼消化道蛋白酶与脂肪酶活力的同时，也相应提高对蛋白质与脂肪的吸收能力^[44]，本实验结果与之相符。

3.3 主要营养素对黄颡鱼仔稚鱼生长相关生理指标的影响

IGF-1主要通过生长激素与肝细胞表面的生长激素受体(GHR)结合后，由肝细胞分泌产生，能够介导生长激素直接促进细胞生长，从而作为反映鱼类生长速率的量化指标^[45]。本实验中，单因素对实验鱼机体IGF-1含量均有显著影响($P<0.05$)，与其组合饲料P52F13较高的增重率和成活率相一致。牙鲆^[46](*Paralichthys olivaceus*)、莫桑比克罗非鱼^[47](*Oreochromis mossambicus*)幼鱼血浆的IGF-1浓度变化与饲料蛋白水平呈正相关，大口黑鲈^[48]幼鱼肝脏IGF-1表达量随饲料中碳水化合物增加和脂肪含量减少而明显下降，与本实验单因素分析结果基本一致。目前，营养调控IGF-1的机制并不明确，Brameld等^[49]认为，能量主要以葡萄糖形式调控GHR基因表达，蛋白质主要以氨基酸形式调控IGF-1基因的表达。本实验双因素对实验鱼IGF-1含量有显著效应($P<0.05$)，其中P52L13组最高，P52L9组次之，P48L9组最低，与增重率结果基本相符；说明实验鱼IGF-1含量与增重率呈正相关。以往学者研究表明，IGF-1变化可作为外源蛋白质和能量摄入量的一项敏感指标^[50]，即外源蛋白质和能量摄入充足时其表达量会增加，这可能是P52L13组实验鱼机体IGF-1含量高的原因。本实验P48L9组实验鱼机体IGF-1含量最低，可能是因为偏低的IGF-1含量能够减少细胞分化和增殖，使营养物质更多地用于维持动物的存活需要^[51]，这也解释了该组成活率较高的生理原因。

T3是动物体内发挥主要效能的甲状腺激素^[52]，能够促进氨基酸吸收，提高体蛋白质合成，加快蛋白沉积，从而促进仔鱼生长^[53]。本实验表明，蛋白和脂肪水平分别对实验鱼机体T3含量有极显著或显著影响($P<0.05$ 或 0.01)，这与

其组合饲料P52L13组较高的增重率和成活率一致。湖鲟^[54](*Acipenser fulvescens*)和翘嘴红鲌^[55](*Erythroculter ilishaeformis*)幼鱼的T3水平随饲料蛋白含量增加而升高；尖吻鲈^[56](*Lates calcarifer*)幼鱼血浆T3水平随着饲料脂肪含量增加和碳水化合物减少而增加。本实验单因素结果与之相符。本实验双因素组合对T3影响不显著，但其从高到低顺序为P52L13、P52L9、P48L13、P48L9，与增重率结果相一致。原因可能是P52L13和P52L9组饲料蛋白含量较高，促进T3分泌，前者蛋白脂肪水平也较高，故T3分泌较多。P48L9组实验鱼由于饲料主要营养水平偏低，从而导致T3含量较低，与对鲤^[57](*Cyprinus carpio*)的研究结果一致。

GH是促进鱼体生长发育的主要激素，在调节蛋白质、脂肪和碳水化合物的代谢中发挥重要作用，促进鱼类生长。但GH促生长作用并非完全依赖于GH水平，还取决于GH受体数量、亲和力以及与其他因子如IGF-1的相互作用，因此GH与生长速率的关系不完全吻合^[58]。本实验中各种处理对实验鱼GH的影响均不显著，可能与饲料蛋白和脂肪水平梯度较为接近有关，也可能为GH与生长速率的关系不完全吻合所导致。

3.4 饲料蛋脂比对成活率的影响

研究表明，P52L13和P48L9组饲料蛋脂比与P52L9和P48L13组饲料相比，趋于中间水平，适宜于黄颡鱼仔稚鱼存活。但P48L9组饲料偏低的主要营养素(低蛋白低脂肪)含量不能满足鱼苗生长的高营养物质(蛋白质、氨基酸、脂肪酸、能量等)需求，故实验鱼通过自身调节，通过提高采食量以弥补，但最终增重率仍处于最低。这一现象表明，饲料蛋白和脂肪水平较低时，对黄颡鱼仔稚鱼快速生长不利，但二者比例(即蛋脂比)适宜时仍能维持实验鱼较高的存活率。这可能与适宜的蛋脂比能够提高饲料蛋白质和脂肪利用率，促进蛋白质和脂肪沉积^[28-29]有关。Darias等^[59]研究表明，循环水养殖条件下，高蛋白高脂肪组饲料(P45L15)能极显著提高虎皮鸭嘴鲶(*Pseudoplatystoma punctifer*)仔稚鱼的成活率和特定生长率($P<0.01$)，低蛋白低脂肪组(P30L10)成活率和特定生长率均为最低。该研究结果与本实验结果部分一致(高蛋白高脂肪饲料)，不一致部分(低蛋白低脂肪饲料)与营养素梯度差异较大

有关。目前尚未见有关饲料蛋脂比对黄颡鱼仔稚鱼成活率影响的报道,本研究首次发现适宜蛋脂比(本实验条件下3.95~5.46)对黄颡鱼仔稚鱼发育成活(即提高成活率)具有重要作用。P48L9组饲料提高了部分消化酶和吸收酶的活力,而对机体IGF-1等主要生长激素无改善作用。因为偏低的IGF-1含量能够减少细胞分化和增殖,使营养物质更多地用于维持动物的存活需要^[57]。也可能与适宜蛋脂比能够提高饲料蛋白质和脂肪利用率,促进蛋白质和脂肪沉积有关^[28-29],相关机理需要进一步探寻。

4 小结

生长实验表明,13%脂肪、52%蛋白水平分别显著或极显著地提高实验鱼成活率、增重率、饲料利用率($P<0.05$ 或 0.01)。P52L13组实验鱼成活率显著或极显著高于其余三组($P<0.05$ 或 0.01),增重率和饲料利用率也较高。P48L9组实验鱼成活率较高,但增重率和饲料利用率最低。P52L9和P48L13组的成活率较低,生长性能居中。说明饲料蛋脂比对鱼类早期发育成活率至关重要,而充足平衡的主要营养素(蛋白质、脂肪)可显著提高实验鱼成活率和生长性能。

生理因子分析表明,52%蛋白、13%脂肪水平分别显著提高实验鱼机体IGF-1和T3含量($P<0.05$),并有提高部分消化酶和吸收酶活力的趋势。P52L13组实验鱼的消化酶和吸收酶活力、机体IGF-1和T3水平均高于或显著高于其他组;P48L9组实验鱼的消化酶和吸收酶活力均较高,但IGF-1和T3及GH活力均最低。说明适宜营养素水平及其组合对黄颡鱼仔稚鱼消化、吸收、生长相关酶活和激素有重要调节作用,从而显著改善仔稚鱼成活率,促进生长性能提高。

本研究首次发现,蛋白和脂肪水平较低时(P48L9组),未提高仔稚鱼生长性能,但二者组合比例(蛋脂比)适宜时(本实验条件下为3.95~5.46),有利于工业化培育仔稚鱼存活能力的改善。其消化和生长生理机制为,P48L9组饲料提高了部分消化酶和吸收酶的活力,而对机体IGF-1等主要生长激素无改善作用。故饲料蛋脂比对鱼类生命早期发育成活具有重要作用。

在工业化养殖条件下,本研究初步确定P52L13组饲料是兼顾黄颡鱼仔稚鱼成活率、生长性

能、消化吸收和生长激素水平的优良营养组合;P48L9组饲料是改善黄颡鱼仔稚鱼存活、消化吸收和低成本的适宜蛋脂比组合。因此,充足且平衡的营养素组合饲料是保证仔稚鱼发育、成活、生长等的关键物质基础。

参考文献:

- [1] 般名称. 鱼类早期生活史研究与其进展[J]. 水产学报, 1991, 15(4): 348-358.
Yin M C. Advances and studies on early life history of fish[J]. Journal of Fisheries of China, 1991, 15(4): 348-358(in Chinese).
- [2] 王春芳,解绶启. 稚幼鱼的营养与饲料研究进展[J]. 水生生物学报, 2004, 28(5): 557-562.
Wang C F, Xie S Q. Advances in nutrition and feed for postlarvae and juveniles[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2004, 28(5): 557-562(in Chinese).
- [3] Abi-Ayad A, Kestemont P. Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet[J]. Aquaculture, 1994, 128(1-2): 163-176.
- [4] Watanabe T, Kiron V. Prospects in larval fish dietetics[J]. Aquaculture, 1994, 124(1-4): 223-251.
- [5] Shields R J. Larviculture of marine finfish in Europe[J]. Aquaculture, 2001, 200(1-2): 55-88.
- [6] Kanazawa A. Nutrition of marine fish larvae[J]. Journal of Applied Aquaculture, 2003, 13(1-2): 103-143.
- [7] Kanazawa A, Koshio S, Teshima S I. Growth and survival of larval red sea bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed microbound diets[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1989, 20(2): 31-37.
- [8] Cahu C, Infante J Z, Escaffre A M, et al. Preliminary results on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing with compound diet from first feeding. Comparison with carp (*Cyprinus carpio*) larvae[J]. Aquaculture, 1998, 169(1-2): 1-7.
- [9] Borba M R, Fracalossi D M, Pezzato L E. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbignyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid[J]. Aquaculture Nutrition, 2006, 12(3): 183-191.
- [10] Hamre K, Mangor-Jensen A. A multivariate approach to optimization of macronutrient composition in weaning diets for cod (*Gadus morhua*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2006, 12(1): 15-24.
- [11] Aliyu-Paiko M, Hashim R, Shu-Chien A C. Influence of

- dietary lipid/protein ratio on survival, growth, body indices and digestive lipase activity in snakehead (*Channa striatus*, Bloch 1793) fry reared in recirculating water system[J]. Aquaculture Nutrition, 2010, 16(5): 466-474.
- [12] Buchet V, Infante J L Z, Cahu C L. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae[J]. Aquaculture, 2000, 184(3-4): 339-347.
- [13] Hamza N, Mhetli M, Ben Khemis I, et al. Effect of dietary phospholipid levels on performance, enzyme activities and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae[J]. Aquaculture, 2008, 275(1-4): 274-282.
- [14] Copeman L A, Parrish C C, Brown J A, et al. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment[J]. Aquaculture, 2002, 210(1-4): 285-304.
- [15] Furuita H, Konishi K, Takeuchi T. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Aquaculture, 1999, 170(1): 56-69.
- [16] Bransden M P, Battaglene S C, Morehead D T, et al. Effect of dietary 22: 6n-3 on growth, survival and tissue fatty acid profile of striped trumpeter (*Lutjanus lineata*) larvae fed enriched *Artemia*[J]. Aquaculture, 2005, 243(1-4): 331-344.
- [17] Hernandez L H H, Teshima S I, Ishikawa M, et al. Dietary vitamin A requirements of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Aquaculture Nutrition, 2005, 11(1): 3-9.
- [18] Darias M J, Mazurais D, Koumoundouos G, et al. Dietary vitamin D₃ affects digestive system ontogenesis and ossification in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758)[J]. Aquaculture, 2010, 298(3-4): 300-307.
- [19] Nguyen V T, Satoh S, Haga Y, et al. Effect of zinc and manganese supplementation in *Artemia* on growth and vertebral deformity in red sea bream (*Pagrus major*) larvae[J]. Aquaculture, 2008, 285(1-4): 184-192.
- [20] Zheng K K, Zhu X M, Han D, et al. Effects of dietary lipid levels on growth, survival and lipid metabolism during early ontogeny of *Pelteobagrus vachellii* larvae[J]. Aquaculture, 2010, 299(1-4): 121-127.
- [21] Brinkmeyer R L, Holt G J. Response of red drum larvae to graded levels of menhaden oil in semipurified microparticulate diets[J]. The Progressive Fish-Culturist, 1995, 57(1): 30-36.
- [22] 赵娜. 饲料中不同磷脂水平对黄颡鱼仔稚鱼生长发育的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
Zhao N. Effect of phospholipids levels in feeds on growth and development of *Pelteobagrus fulvidraco* larvae[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006(in Chinese).
- [23] 湖北省水生生物研究所鱼类研究室. 长江鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 1976:170-171.
Fish Research Laboratory of Hubei Institute of Hydrobiology. Yangtze River Fish[M]. Beijing: Science Press, 1976:170-171(in Chinese).
- [24] 唐德文, 范红深, 段春生, 等. 黄颡鱼"全雄1号"与黄颡鱼饲养效果对比分析[J]. 淡水渔业, 2014, 44(1): 102-105.
Tang D W, Fan H S, Duan C S, et al. Contrast research on cultivating of "All-male No. 1" and ordinary *Pseudobagrus fulvidraco*[J]. Freshwater Fisheries, 2014, 44(1): 102-105(in Chinese).
- [25] Rainuzzo J R, Reitan K I, Olsen Y. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review[J]. Aquaculture, 1997, 155(1-4): 103-115.
- [26] Baker R T M, Davies S J. Modulation of tissue α-tocopherol in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), fed oxidized oils, and the compensatory effect of supplemental dietary vitamin E[J]. Aquaculture Nutrition, 1997, 3(2): 91-97.
- [27] Bell J G, McEvoy LA, Estevez A, et al. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae[J]. Aquaculture, 2003, 227(1-4): 211-220.
- [28] Mourente G, Rodriguez A, Tocher D R, et al. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22: 6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding[J]. Aquaculture, 1993, 112(1): 79-98.
- [29] Goda A M A S. Effect of dietary protein and lipid levels and protein-energy ratio on growth indices, feed

- utilization and body composition of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1879) post larvae[J]. Aquaculture Research, 2008, 39(8):891-901.
- [30] 陈乃松, 肖温温, 梁勤朗, 等. 饲料中脂肪与蛋白质比对大口黑鲈生长、体组成和非特异性免疫的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(8): 1270-1280.
- Chen N S, Xiao W W, Liang Q L, et al. Effects of dietary lipid to protein ratios on growth performance, body composition and non-specific immunity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(8): 1270-1280(in Chinese).
- [31] 姚林杰, 叶元土, 蔡春芳, 等. 团头鲂两个生长阶段适宜蛋白/脂肪比的需要量[J]. 水产学报, 2014, 38(6): 861-868.
- Yao L J, Ye Y T, Cai C F, et al. Research on the optimal protein to lipid (energy) ratio of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) in two growth stages[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(6): 861-868(in Chinese).
- [32] 易建华. 不同开口饵料对胭脂鱼仔稚鱼成活率的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2014.
- Yi J H. Effects of initial feeding on rate of survival of larval and juvenile Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*[D]. Chongqing: Southwest University, 2014(in Chinese).
- [33] Suzer C, Firat K, Saka S, et al. Effects of early weaning on growth and digestive enzyme activity in larvae of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)[J]. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2007, 59(2): 81-90.
- [34] Engrola S, Conceição L E C, Dias L, et al. Improving weaning strategies for Senegalese sole: effects of body weight and digestive capacity[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(7): 696-707.
- [35] Eguia R V, Kamarudin M S, Santiago C B. Growth and survival of river catfish *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes) larvae fed isocaloric diets with different protein levels during weaning[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2000, 16(3): 104-109.
- [36] Péres A, Cahu C L, Infante J L Z, et al. Amylase and trypsin responses to intake of dietary carbohydrate and protein depend on the developmental stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1996, 15(3): 237-242.
- [37] 王重刚, 陈品健, 顾勇, 等. 不同饵料对真鲷稚鱼消化酶活性的影响[J]. 海洋学报, 1998, 20(4): 103-106.
- Wang C G, Chen P J, Gu Y, et al. Effect of different diets on digestive enzymes activity of *Pagrosomus major* juvenile[J]. Acta Oceanologica Sinica, 1998, 20(4): 103-106(in Chinese).
- [38] 李芹, 刁晓明. 不同饵料对瓦氏黄颡鱼稚鱼生长和消化酶活性的影响[J]. 水生态学杂志, 2009, 2(1): 98-102.
- Li Q, Diao X M. Growth and digestive enzyme activities of *Pelteobagrus vachelli* Juvenile fed on different diets[J]. Journal of Hydroecology, 2009, 2(1): 98-102(in Chinese).
- [39] 王燕妮, 张志蓉, 郑曙明. 鲤鱼的补偿生长及饥饿对淀粉酶的影响[J]. 水利渔业, 2001, 21(5): 6-7.
- Wang Y N, Zhang Z R, Zheng S M. Compensation growth of the common carp *Cyprinus carpio*[J]. Reservoir Fisheries, 2001, 21(5): 6-7(in Chinese).
- [40] Cahu C L, Infante J L Z. Early weaning of seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1994, 109(2): 213-222.
- [41] Ferraris R P, Tan J D, De La Cruz M C. Development of the digestive tract of milkfish, *Chanos chanos*(Forsskal): histology and histochemistry[J]. Aquaculture, 1987, 61(3-4): 241-257.
- [42] Ribeiro L, Zambonino-Infante J L, Cahu C, et al. Digestive enzymes profile of *Solea senegalensis* post larvae fed *Artemia* and a compound diet[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2002, 27(1-2): 61-69.
- [43] Klein S, Cohn S M, Alpers D H. Alimentary tract in nutrition[M]//Shils M E, Shike M, Ross A C, et al. Modern Nutrition in Health and Disease. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006: 1132-1139.
- [44] 周邦维, 李勇, 高婷婷, 等. 主要营养素源对工业化养殖豹纹鮰棘鲈生长、体色和消化吸收的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(5): 1387-1401.
- Zhou B W, Li Y, Gao T T, et al. Effects of main nutrient element and source on growth, body color, digestion and absorption of *Plectropomus leopardus* in industrialized culture[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(5): 1387-1401(in Chinese).
- [45] Cruz E M V, Brown C L. Influence of the photoperiod on growth rate and insulin-like growth factor-I gene

- expression in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. Journal of Fish Biology, 2009, 75(1): 130-141.
- [46] Zheng K, Liang M, Yao H, et al. Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-1 levels of Japanese flounder(*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(3): 297-303.
- [47] Xiong Y Y, Huang J F, Li X X, et al. Deep sequencing of the tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver transcriptome response to dietary protein to starch ratio[J]. Aquaculture, 2014, 433: 299-306.
- [48] 靳利娜. 饲料中精氨酸水平和糖脂比对大口黑鲈生长相关的激素mRNA表达的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2011.
- Jin L N. Effects of dietary arginine level and carbohydrate-to-lipid ratio on mRNA expression of growth-related hormones in largemouth bass[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011(in Chinese).
- [49] Brameld J M, Atkinson J L, Saunders J C, et al. Effects of growth hormone administration and dietary protein intake on insulin-like growth factor I and growth hormone receptor mRNA expression in porcine liver, skeletal muscle, and adipose tissue[J]. Journal of Animal Science, 1996, 74(8): 1832-1841.
- [50] Dyer A R, Barlow C G, Bransden M P, et al. Correlation of plasma IGF-I concentrations and growth rate in aquacultured finfish: a tool for assessing the potential of new diets[J]. Aquaculture, 2004, 236(1-4): 583-592.
- [51] Sato A, Liu J P, Funder J W. Aldosterone rapidly represses protein kinase C activity in neonatal rat cardiomyocytes *in vitro*[J]. Endocrinology, 1997, 138(8): 3410-3416.
- [52] Darling D S, Dickhoff W W, Gorbman A. Comparison of thyroid hormone binding to hepatic nuclei of the rat and a teleost(*Oncorhynchus kisutch*)[J]. Endocrinology, 1982, 111(6): 1936-1943.
- [53] Brown J G, Bates P C, Holliday M A, et al. Thyroid hormones and muscle protein turnover. The effect of thyroid-hormone deficiency and replacement in thyroidectomized and hypophysectomized rats[J]. Biochemical Journal, 1981, 194(3): 771-782.
- [54] Plohman J C, Dick T A, Eales J G. Thyroid of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*: II . Deiodination properties, distribution, and effects of diet, growth, and a T₃ challenge[J]. General and Comparative Endocrinology, 2002, 125(1): 56-66.
- [55] 王桂芹, 周洪琪, 陈建明, 等. 饲料蛋白对翘嘴鮊生长和内分泌激素的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(4): 544-550.
- Wang G Q, Zhou H Q, Chen J M, et al. Effect of dietary protein on growth and hormone of *Culter alburnus* juveniles[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(4): 544-550(in Chinese).
- [56] Nankervis L, Matthews S, Appleford P. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient retention and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*[J]. Aquaculture, 2000, 191(4): 323-335.
- [57] DePedro N, Delgado M J, Gancedo B, et al. Changes in glucose, glycogen, thyroid activity and hypothalamic catecholamines in tench by starvation and refeeding[J]. Journal of Comparative Physiology B, 2003, 173(6): 475-481.
- [58] 邓利, 张为民, 林浩然, 等. 黑鲷生长激素及其受体的季节变化[J]. 水产学报, 2001, 25(3): 203-208.
- Deng L, Zhang W M, Lin H R, et al. Seasonal variations of serum growth hormone levels and growth hormone receptors in *Sparus macrocephalus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(3): 203-208(in Chinese).
- [59] Darias M J, Castro-Ruiz D, Estivals G, et al. Influence of dietary protein and lipid levels on growth performance and the incidence of cannibalism in *Pseudoplatystoma punctifer* (Castelnau, 1855) larvae and early juveniles[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2015, 31(S4): 74-82.

Effects of protein and lipid on growth and physiological factors of *Pelteobagrus fulvidraco* larvae in industrialized culture

ZHAO Ningning^{1,2,3}, XU Shihong^{1,3}, LI Yong^{1,2,3*}, MA Jun^{1,2,3},
ZHANG Jing^{1,2,3}, DONG Jianjun⁴

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3. National & Local Joint Engineering Laboratory for Ecological Mariculture,

Key Laboratory of Experimental Marine Biology of CAS, Qingdao 266071, China;

4. Wuhan Bairui Biotechnology Co. Ltd., Wuhan 433000, China)

Abstract: This experiment aimed to investigate the effects of protein and lipid levels on growth and physiological factors of *Pelteobagrus fulvidraco* larvae in recirculating aquaculture system (RAS). A random 2×2 two-factors animal experiment including two different protein levels (48%, 52%, P48, P52) and two lipid levels(9%, 13%L9, L13) was used to formulate 4 trial diets. Each treatment had 3 replicates and 3600 individuals per replicate. The trial fish was *P. Fulvidraco* larvae at 2 day after hatching that was fed *Artemia naupliias* initial feeding for 1 day, and gradually transformed to trial diets. The conversion period of feed was 2 days. The research was conducted for 21 days. The results showed as follows. ① High protein and lipid level of diets significantly improved the survival rate(SR), weight gain rate (WGR) and feed conversion rate of *P. Fulvidraco* larvae with the univariate analysis. The double factors analysis indicated that P52L13 diet significantly increased the SR of trial fish compared with P52L9, P48L13 and P48L9 diet, and exceeded by 32.67%, 22.21% and 14.54%, respectively. The WGR of trial fish in P52L13 diet increased by 40.15% and 43.74% compared with P48L13 and P48L9 diet. P48L9 diet improved the SR by 15.83% and 7.21% compared with P52L9 and P48L13 diet, but the WGR was the lowest. ② The physiological factors results showed that the single factor (high protein and lipid level of diets) significantly improved IGF-1 and T3 levels of trial fish, and had a tendency to raise enzyme activity of digestion and absorption. Double factors analysis showed that the enzyme activity of digestion and absorption, IGF-1 and T3 levels of trial fish in P52L13 diet were higher than others. The activity of lipase, amylase and AKP of the trial fish in P48L9 diet were higher than P52L9 and P48L13, but the Na⁺-K⁺-ATPase activity, IGF-1, T3 and GH levels were the lowest. ③ The new discovery of this study was that the trial fish with P48L9 diet had higher SR, feed intake, enzyme activity of digestion and absorption than P52L9 and P48L13, but the lowest WGR, growth related hormone level than others. It indicated that the lower protein and lipid level had an negative effect on trial fish growth, but benefited the survival ability when the protein to lipid ratio was appropriate . In conclusion, the change and interaction of dietary main nutrient elements affected growth and physiological factors of *P. Fulvidraco* larvae. This research shows that the P52L13 diet is the excellent combination giving consideration to SR, growth, digestion and absorption ability, growth related hormone level of *P. Fulvidraco* larvae in RAS. The P48L9 dietary combination with appropriate protein to lipid ratio can enhance the survival, digestion and absorption ability of *P. Fulvidraco* larvae. Therefore, the appropriate protein to lipid ratio has important significance for the survival and development of fish in the early stage.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; larvae; main nutrient element; survival rate; growth; digestion and absorption; growth related hormone level; recirculating aquaculture system

Corresponding author: LI Yong. E-mail: liyong@qdio.ac.cn

Funding projects: National Key Technology R&D Program of China(2011BAD13B07); Project of the Chinese Academy of Sciences(Y12530101L); Green Industrial Production Technology and Application of “All-Male No.1” *Pseudobagrus fulvidraco*(I20140114D)