

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20180208002

http://www.yykxjz.cn/

王晓艳, 乔洪金, 黄炳山, 王成强, 李培玉, 李宝山, 王际英. 5种海藻在刺参幼参饲料中的应用研究. 渔业科学进展, 2019, 40(3): 160-167

Wang XY, Qiao HJ, Huang BS, Wang CQ, Li PY, Li BS, Wang JY. Application research of five seaweeds in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(3): 160-167

5种海藻在刺参幼参饲料中的应用研究*

王晓艳 乔洪金 黄炳山 王成强 李培玉 李宝山 王际英^①

(山东省海洋资源与环境研究院 山东省海洋生态修复重点实验室 烟台 264006)

摘要 本研究通过分析刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参[(10.02±0.03)g]生长性能、体组成、肠道消化酶活性及非特异性免疫性能的变化,评价鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)、铜藻(*Sargassum horneri*)、海带(*Saccharina japonica*)、海带渣、石莼(*Ulva lactuca* L.)及混合藻粉在刺参幼参养殖中的应用效果,在室内循环水系统中进行了为期56d的养殖实验。结果显示,1)鼠尾藻和混合藻粉组刺参的增重率(WGR)和特定生长率(SGR)极显著高于其他各藻粉组($P<0.01$),海带渣组刺参的WGR和SGR最低,肠体比(IBR)和脏体比(VBR)均显著低于其他各组($P<0.05$),藻粉对刺参存活率(SR)影响不显著($P>0.05$);2)不同藻粉对刺参体壁水分、粗灰分、粗蛋白和粗脂肪影响不显著($P>0.05$);3)鼠尾藻和混合藻粉组肠道胰蛋白酶活性极显著高于海带、海带渣和石莼组,海带渣组最低($P<0.01$);藻粉对 α -淀粉酶和脂肪酶活性无显著影响($P>0.05$),但对刺参粪便的酸不溶性灰分具有极显著影响($P<0.01$);4)鼠尾藻组和混合藻粉组刺参肠道超氧化物歧化酶(T-SOD)、酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)活性极显著高于其他各组($P<0.01$),海带渣组丙二醛(MDA)含量极显著高于其他各组($P<0.01$)。研究表明,在本实验条件下,综合考虑刺参的生长性能及非特异性免疫性能,添加任一海藻均未达到替代鼠尾藻的饲喂效果,但多种海藻混合添加,其生长性能及非特异性免疫性能与单独添加鼠尾藻效果一致。

关键词 刺参;鼠尾藻;海藻粉;生长性能;消化酶;非特异性免疫性能

中图分类号 S963.71 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2019)03-0160-08

仿刺参(*Apostichopus japonicus*),也称为刺参,是经济效益很高的增养殖种类之一。海参作为世界八大珍品之一,以高蛋白、黏多糖丰富及不含胆固醇著称,随着其价值知识的普及,刺参逐渐进入寻常百姓餐桌。刺参需求量的增大,引起养殖产业和饲料产业的迅速扩大,而关于海参营养需求的研究尚处于摸索阶段,营养需求标准缺乏,饲料研究落后于产业的发

展。鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)和马尾藻(*Sargassum*)被认为是最优质的刺参饵料,由于过度开采已经不能满足产业发展的需要。天然海域中,刺参主要以沉积物中的单细胞藻类、原生动物、细菌、大型海藻碎屑及海泥为食,因为刺参优先选择栖息在富含大型海藻的海域,充足的大型海藻碎屑是海参的主要食物来源,所以大型海藻成为人工配合饲料的主要原料。目

* 国家海洋公益性行业科研专项(201505022-5)、烟台市重点研发计划(2017ZH066)和山东省现代农业产业技术体系-刺参创新团队建设(SDAIT-22-06)共同资助 [This work was supported by Research Project of Marine Public Welfare Industry (201505022-5), Key Research and Development Project of Yantai City (2017ZH066) and Modern Agricultural Industry Technology System of Shandong Province-Innovative Team of Sea Cucumber (SDAIT-22-06)]. 王晓艳, E-mail: wangxy1109s@126.com

^① 通讯作者: 王际英, 研究员, E-mail: ytwjy@126.com

收稿日期: 2018-02-08, 收修改稿日期: 2018-04-12

前已有不少研究报道,部分大型海藻用于刺参养殖取得了不错的投喂效果(Wen *et al*, 2016; 殷旭旺等, 2015; 李猛等, 2017; 唐薇等, 2014; 葛立保等, 2017; 朱建新等, 2007)。石莼(*Ulva lactuca* L.)和海带(*Saccharina japonica*)是中国北方很受欢迎且价格较低的大型海藻,含有丰富的纤维素、碳水化合物、蛋白质、各种微量元素和多糖类,目前已广泛应用于刺参养殖中。铜藻(*Sargassum horneri*)是中国暖温带海域浅海区海藻场的主要连片大型褐藻物种,植株高大,枝叶繁茂,多生长在潮下带浅海岩礁上,成片漂浮水面,堪称“海中森林”,铜藻不但含有丰富的藻胶、纤维素、半纤维素及矿物质,而且生物活性物质含量相当高,作为工业、食品原料资源具有极大的开发潜力,可惜目前还没有被广泛开发利用(郑海羽等, 2008)。海带渣为工业提胶的剩余产品,干海带加水浸泡后切碎,甲醛固色,在加热条件下,利用碳酸氢钠消化后过滤,滤液用于提取海藻酸钠,不溶性组分干燥后得到海带渣原料,所以,海带经过有效成分提取后,仍存在许多粗蛋白、粗纤维和矿物质等营养物质,用来制作刺参饵料可实现海带渣的高值化利用,这一部分资源的利用可使海带干物质的利用率高达45%左右(张俊杰等, 2010)。本研究在刺参幼参配合饲料中添加海带粉、海带渣粉、铜藻粉及石莼粉,与鼠尾藻的饲喂效果作对比研究,并探讨混合藻粉的应用效果,以期大型海藻在刺参人工配合饲料中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以鱼粉、小麦粉、海泥等为主要原料,对照组为鼠尾藻粉(D1 购自莱州市海福饲料有限公司),分别用铜藻粉(D2 采集于江苏省盐城市大丰区养殖水域;菌落总数 20840 CFU/g; 大肠杆菌 16 MPN/100 g; 沙门氏菌、副溶血弧菌、金黄色葡萄球菌、志贺氏菌均未检出)、海带粉(D3 购自青岛汇福林海洋生物科技有限公司)、海带渣(D4 购自青岛汇福林海洋生物科技有限公司)、石莼粉(D5 购自青岛海之源饲料科技有限公司)及 5 种海藻粉等比例混合(1:1:1:1:1; D6)替代鼠尾藻,配制成 6 种实验饲料,每种实验饲料包含 30% 的藻粉。将所有实验原料逐级混匀,与适量新鲜蒸馏水混合,用螺旋挤压机加工成厚度为 2 mm 的片状饲料,室温风干至水分为 5% 左右,储存于-20℃冰箱备用。饲料配方及基本营养组成见表 1,实验饲料氨基酸组成见表 2。

1.2 饲养管理

实验用刺参幼参购于山东安源水产股份有限公司,正式实验前,于实验所用循环水养殖系统中,用对照组(鼠尾藻组)饲料投喂 14 d,使刺参幼参适应养殖系统的条件及实验饲料。选取 540 头规格统一、体质健康、初始体重为(10.02±0.03) g 的刺参随机分配到 18 个玻璃钢水槽内(Φ 65 cm×80 cm),实验分为 6 组,每组 3 个平行,每个平行 30 头刺参,每个桶内放置 2 个聚乙烯波纹板筐作为刺参的遮蔽物。每天定时定量投喂 1 次(16:00),初始投喂量为刺参总湿重的 2%,观察摄食情况并及时调整投喂量。每 3 d 采用虹吸法吸出残饵及粪便,实验周期为 56 d,实验期间每天换水量为 1/3,控制水温为(18±2)℃,溶氧>6 mg/L, pH 为 7.6~8.2,盐度为 28~32, NO₂⁻-N<0.05 mg/L, NH₄⁺-N<0.05 mg/L,光照周期为自然光周期。

1.3 样品采集

实验中期开始收集刺参粪便,用镊子从每个桶内小心夹取完整粪便,用电热鼓风干燥箱 60℃烘干,用于酸不溶性灰分的测定。饲养结束后禁食 48 h,分别对每桶刺参进行计数并称总重,每桶随机选取 10 头刺参,解剖分离内脏、体壁及肠道,称重后保存于-80℃冰箱备用。另每桶随机取 3 头刺参,沿腹中线的右侧解剖(避免破坏腹肠系膜),剔除呼吸树后,取中肠 0.8 cm 左右并固定于 Bouin's 液中 24 h 后,保存于 70%酒精中,经脱水、透明、浸蜡、包埋后,进行常规石蜡连续切片,切片厚度为 7.0 μm,然后经 H.E 染色后,中性树胶封片并编号,在徕卡高清摄像系统(LEICA ICC50 HD)下观察并拍照。从-80℃冰箱中取出刺参肠道,冰浴解冻匀浆,4℃离心 20 min (2500 r/min),上清液(粗酶液)于 4℃保存,用于消化酶和免疫酶活性的测定(24 h 内测定)。

1.4 计算公式与实验方法

增重率(Weight gain rate, WGR, %),特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d),存活率(Survival rate, SR, %),肠体比(Ratio of intestine weight to body weight, IBR, %),脏体比(Ratio of viserosomatic weight to body weight, VBR, %),根据以下公式计算:

$$WGR=(W_f-W_i)\times 100/W_i;$$

$$SGR=(\ln W_f-\ln W_i)\times 100/T;$$

$$SR=(\text{存活数量}/\text{初始数量})\times 100;$$

$$IBR=(\text{肠道质量}/\text{体重})\times 100;$$

$$VBR=(\text{内脏质量}/\text{体重})\times 100$$

式中, W_i 和 W_f 分别为每个桶内刺参的平均初始

表1 饲料配方及营养组成(%)
Tab.1 Composition and nutrient levels of the experimental diets (%)

原料 Ingredients	组别 Groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
鱼粉 Fish meal	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0
海藻粉 Seaweeds	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
小麦粉 Wheat meal	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
海泥 Sea mud	36.4	36.4	36.4	36.4	36.4	36.4
大豆卵磷脂 Soy lecithin	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
破壁酵母 Wall-broken yeast	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
黄原胶 Xanthan gum	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
瓜尔豆胶 Guar gum	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
抗氧化剂 Antioxidant	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
维生素预混料 Vitamin premix ^a	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
矿物质预混料 Mineral premix ^b	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
合计 Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
营养组成(干物质) Nutrient composition (Dry Matter):						
粗蛋白 Crude protein(%)	15.26	14.46	16.64	16.83	16.23	15.90
粗脂肪 Crude lipid(%)	1.54	1.91	1.80	1.73	1.41	1.80
粗灰分 Crude ash(%)	50.03	53.06	47.99	46.32	48.14	49.21
能量 Energy (kJ/g)	11.57	10.58	12.30	12.73	12.12	11.94

a 维生素预混料(mg/kg 饲料): 维生素 A, 38.0; 维生素 B₁, 115.0; 维生素 B₂, 380.0; 维生素 B₁₂, 1.3; 维生素 D₃, 13.2; α -生育酚, 210.0; 烟酸, 1030.0; 泛酸, 368.0; 生物素, 10.0; 叶酸, 20.0; 抗坏血酸, 500.0; 盐酸吡哆醇, 88.0; 肌醇, 4000.0

b 矿物质预混料(mg/kg 饲料): KCl, 3020.5; KAl(SO₄)₂, 11.3; NaCl, 100.0; KI, 7.5; NaF, 4.0; ZnSO₄·7H₂O, 363.0; CuSO₄·5H₂O, 8.0; MgSO₄·7H₂O, 3568; MnSO₄·4H₂O, 65.1; Na₂SeO₃, 2.3; NaH₂PO₄·2H₂O, 25558.0; CoCl₂, 28.0; C₆H₅O₇Fe·5H₂O, 1523.0; Ca-lactate, 15978.0

a Vitamin mixture (mg/kg diet): vitamin A, 38.0; thiamine, 115.0; riboflavin, 380.0; vitamin B₁₂, 1.3; vitamin D₃, 13.2; α -tocopherol, 210.0; nicotinic acid, 1030.0; pantothenic acid, 368.0; biotin, 10.0; folic acid, 20.0; ascorbic acid, 500.0; pyridoxine hydrochloride, 88.0; inositol, 4000.0

b Mineral mixture (mg/kg diet): KCl, 3020.5; KAl(SO₄)₂, 11.3; NaCl, 100.0; KI, 7.5; NaF, 4.0; ZnSO₄·7H₂O, 363.0; CuSO₄·5H₂O, 8.0; MgSO₄·7H₂O, 3568; MnSO₄·4H₂O, 65.1; Na₂SeO₃, 2.3; NaH₂PO₄·2H₂O, 25558.0; CoCl₂, 28.0; C₆H₅O₇Fe·5H₂O, 1523.0; Ca-lactate, 15978.0

体质量和终末体质量, T 为养殖天数。

饲料及刺参体壁的水分、粗灰分、粗脂肪及粗蛋白含量分别根据 GB/T6435-2006、GB/T6433-2007、GB/T6433-2006 和 GB/T5009.5-2003 测定, 饲料能量采用氧弹燃烧法测定(PARR 6100), 酸不溶性灰分(Acid-insoluble ash)根据 GB/T23742-2009 测定; 肠道粗酶液蛋白浓度(考马斯亮蓝法)、胰蛋白酶(Trypsin)、糜蛋白酶(Chymotrypsin)、 α -淀粉酶(α -Amylase)、脂肪酶(Lipase)、总超氧化物歧化酶(Total-superoxide dismutase, T-SOD)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)、酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)活性及丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量均采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定, 测定方法均参考试剂盒说明书; 饲料氨基酸测定参照国标测定方法(GB/T 14924.10-2008), 采用全自动氨基酸测定仪(Hitachi L-8900, 日本)测定。

1.5 数据分析

所有数据采用 SPSS 18.0 进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 用 Duncan's 检验进行多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著, $P > 0.05$ 为差异不显著。统计数据以平均值 \pm 标准误(Mean \pm SE)的形式表示。

2 结果

2.1 不同藻粉对刺参生长性能、形体指标及存活率的影响

不同海藻粉对刺参的生长性能具有显著影响, 如表 3 结果显示, 混合藻粉组与对照组的刺参 WGR 和 SGR 显著高于其他各组($P < 0.01$), 铜藻组与海带组差异不显著($P > 0.05$), 但显著低于石莼组($P < 0.01$), 海带渣组最低; 海带渣组刺参的 IBR 和 VBR 均显著

表 2 实验饲料氨基酸组成(干物质基础, %)
Tab.2 Amino acids composition of experimental diets (Dry matter basis, %)

氨基酸 Amino acids	组别 Groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
精氨酸 Arg	0.77	0.78	0.90	0.89	0.90	0.82
组氨酸 His	0.26	0.27	0.27	0.28	0.28	0.27
异亮氨酸 Ile	0.45	0.47	0.56	0.58	0.57	0.51
亮氨酸 Leu	0.97	0.99	1.20	1.21	1.17	1.07
赖氨酸 Lys	0.83	0.90	0.91	0.89	0.88	0.85
蛋氨酸 Met	0.33	0.25	0.43	0.43	0.43	0.40
苯丙氨酸 Phe	0.59	0.61	0.74	0.74	0.73	0.66
苏氨酸 Thr	0.63	0.64	0.78	0.79	0.76	0.70
缬氨酸 Val	0.57	0.59	0.71	0.73	0.72	0.64
天冬氨酸 Asp	1.33	1.49	1.67	1.66	1.59	1.51
丝氨酸 Ser	0.75	0.76	0.88	0.89	0.86	0.81
甘氨酸 Gly	0.92	0.94	1.11	1.10	1.07	1.00
丙氨酸 Ala	0.86	0.91	1.07	1.06	1.04	0.96
半胱氨酸 Cys	0.19	0.18	0.24	0.25	0.23	0.22
酪氨酸 Tyr	0.41	0.37	0.41	0.40	0.38	0.40
谷氨酸 Glu	3.33	2.78	3.08	3.09	3.00	3.00
脯氨酸 Pro	0.74	0.78	0.90	0.90	0.87	0.82
总氨基酸 TAA	13.93	13.71	15.86	15.89	15.48	14.64
海藻粉营养成分 (干物质) Seaweeds nutrients (Dry Matter)						
粗蛋白 Crude protein(%)	16.08	13.18	19.53	20.86	18.25	17.60
粗脂肪 Crude fat (%)	1.24	1.26	2.02	1.98	1.42	1.62

表 3 不同藻粉对刺参生长性能、形体指标及存活率的影响

Tab.3 Effects of different seaweeds on the growth performance, morphological parameters and survival rate of *A. japonicus*

项目 Items	组别 Groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
初始体重 W_i (g)	10.01±0.01	10.02±0.02	10.04±0.01	10.04±0.03	10.02±0.03	10.01±0.01
末体重 W_f (g)	18.83±0.23 ^a	13.17±0.07 ^c	13.31±0.09 ^{bc}	11.19±0.11 ^d	13.72±0.07 ^b	18.92±0.16 ^a
增重率 WGR (%)	88.33±2.33 ^a	31.29±0.23 ^c	32.76±0.93 ^c	11.37±0.57 ^d	36.97±0.60 ^b	89.20±1.60 ^a
特定生长率 SGR (%/d)	1.13±0.02 ^a	0.49±0.00 ^c	0.51±0.01 ^c	0.19±0.01 ^d	0.56±0.01 ^b	1.14±0.02 ^a
肠体比 IBR (%)	3.34±0.04 ^{ab}	3.37±0.05 ^a	3.26±0.05 ^{ab}	2.37±0.09 ^c	3.16±0.03 ^b	3.39±0.05 ^a
脏体比 VBR (%)	7.84±0.38 ^a	7.12±0.37 ^a	7.44±0.35 ^a	5.77±0.27 ^b	7.49±0.15 ^a	7.75±0.34 ^a
存活率 SR (%)	91.67±1.67	88.33±1.67	88.33±1.67	83.33±0.00	95.00±5.00	88.89±1.11

注: 同一行肩标不同表示不同组间差异显著($P<0.05$), 下表同

Note: Values within the same row with different letters are significantly different ($P<0.05$), the same as below

表 4 不同海藻粉对刺参体壁组成的影响

Tab.4 Effects of different seaweeds on the body wall composition of *A. japonicus*

项目 Items	组别 Groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
水分 Moisture (%)	90.80±0.35	91.30±0.08	90.72±0.15	90.58±0.20	91.05±0.21	91.32±0.06
粗蛋白 Crude protein (%)	42.96±0.44	42.71±0.35	43.46±0.07	43.63±0.62	43.63±0.23	43.70±0.09
粗脂肪 Crude fat (%)	3.58±0.26	3.66±0.05	3.58±0.09	3.94±0.14	3.63±0.02	3.77±0.10
粗灰分 Crude ash (%)	36.23±0.04	37.30±0.24	35.92±0.29	36.73±0.16	36.22±0.43	36.44±0.51

低于其他各组($P<0.05$), 其他各组间差异不显著($P>0.05$);不同海藻粉对刺参 SR 影响不显著($P>0.05$)。

表 4 结果显示, 饲料中添加海带、海带渣、石莼及混合藻粉均能提高刺参的体壁粗蛋白含量, 但与对照组差异不显著($P>0.05$), 不同海藻粉对刺参体壁水分、粗灰分和粗脂肪影响不显著($P>0.05$)。

2.2 不同海藻粉对刺参消化酶活性的影响

鼠尾藻和混合藻粉组刺参肠道胰蛋白酶活性显著高于海带、海带渣和石莼组($P<0.05$), 铜藻组与对照组差异不显著($P>0.05$); 海带渣及石莼粉组刺参肠道的糜蛋白酶活性显著低于其他各组($P<0.05$), 其他各组间差异不显著($P>0.05$); 不同处理组 α -淀粉酶和脂肪酶活性差异不显著($P>0.05$); 铜藻组刺参粪便的酸不溶性灰分显著高于对照组($P<0.01$), 其他各组均显著低于对照组($P<0.01$)(表 5)。

2.3 不同海藻对刺参非特异性免疫性能的影响

由表 6 可见, 不同海藻对刺参非特异性免疫具有显著影响, 海带渣组刺参肠道 T-SOD 活性显著低于其他各组($P<0.01$), 混合藻粉组显著高于铜藻、海带及石莼组($P<0.01$); 海带渣组刺参肠道 MDA 含量显著高于其他各组($P<0.01$), 石莼组显著低于对照组($P<0.01$), 混合藻粉组与对照组差异不显著($P>0.05$); 不同藻粉对刺参的 ACP、AKP 活性具有显著影响($P<0.01$), 海带渣组刺参的 ACP 活性显著低于对照

表5 不同海藻粉对刺参消化酶活性的影响
Tab.5 Effects of different seaweeds on the digestive enzyme activities of *A. japonicus*

项目 Items	组别 Groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
胰蛋白酶 Trypsin (U/mg prot)	820.93±21.13 ^a	798.95±42.57 ^{ab}	714.61±27.94 ^{bc}	630.35±24.67 ^c	720.34±13.07 ^b	816.15±26.80 ^a
糜蛋白酶 Chymotrypsin (U/mg prot)	4.39±0.26 ^a	4.30±0.14 ^{ab}	3.75±0.15 ^{bc}	3.39±0.11 ^c	3.55±0.14 ^c	4.29±0.18 ^{ab}
α-淀粉酶 α-Amylase (U/mg prot)	1.13±0.03	1.24±0.06	1.07±0.06	1.09±0.07	1.07±0.06	1.24±0.07
脂肪酶 Lipase (U/g prot)	6.32±0.27	5.60±0.09	6.20±0.35	5.83±0.20	6.53±0.14	6.52±0.20
酸不溶性灰分 Acid-insoluble ash(%)	42.24±0.22 ^b	43.52±0.16 ^a	39.71±0.15 ^d	41.85±0.24 ^b	40.75±0.15 ^c	40.47±0.13 ^c

表6 不同海藻对刺参非特异性免疫性能的影响
Tab.6 Effects of different seaweeds on the nonspecific immune performance of *A. japonicus*

项目 Items	组别 Groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
总超氧化物歧化酶 T-SOD(U/mg prot)	20.99±1.07 ^{ab}	18.81±1.00 ^b	19.14±0.82 ^b	14.96±0.60 ^c	18.37±0.12 ^b	22.65±1.30 ^a
丙二醛 MDA(nmol/mg prot)	1.44±0.04 ^b	1.36±0.07 ^{bc}	1.29±0.06 ^{bc}	2.01±0.11 ^a	1.17±0.08 ^b	1.31±0.04 ^{bc}
酸性磷酸酶 ACP(U/g prot)	134.22±6.92 ^{ab}	119.04±3.45 ^{bc}	129.21±4.45 ^{ab}	111.19±2.93 ^c	129.57±4.18 ^{ab}	138.33±8.25 ^a
碱性磷酸酶 AKP(U/g prot)	457.58±11.64 ^a	366.27±17.56 ^{bc}	418.42±14.20 ^{ab}	352.44±16.66 ^c	385.15±20.42 ^{bc}	461.99±11.38 ^a

组及混合藻粉组($P<0.01$), 其余各组与对照组差异不显著($P>0.05$); 铜藻、海带渣及石莼组肠道 AKP 活性显著低于对照组($P<0.01$), 混合藻粉组与对照组差异不显著($P>0.05$)。

2.4 不同海藻对刺参肠道组织结构的影响

图 1 为 6 组饲料投喂下刺参的中肠横切组织结构。由图 1 可见, 不同海藻对刺参肠道组织结构影响

显著, 鼠尾藻和混合藻粉组刺参肠道皱襞高度明显大于其他各组, 且皱襞面积较大, 铜藻组及海带渣组皱襞高度最小, 且皱襞面积最小, 海带组及石莼组皱襞高度居中。

3 讨论

海藻为刺参生长所必需, 饲料中添加 30%的藻粉

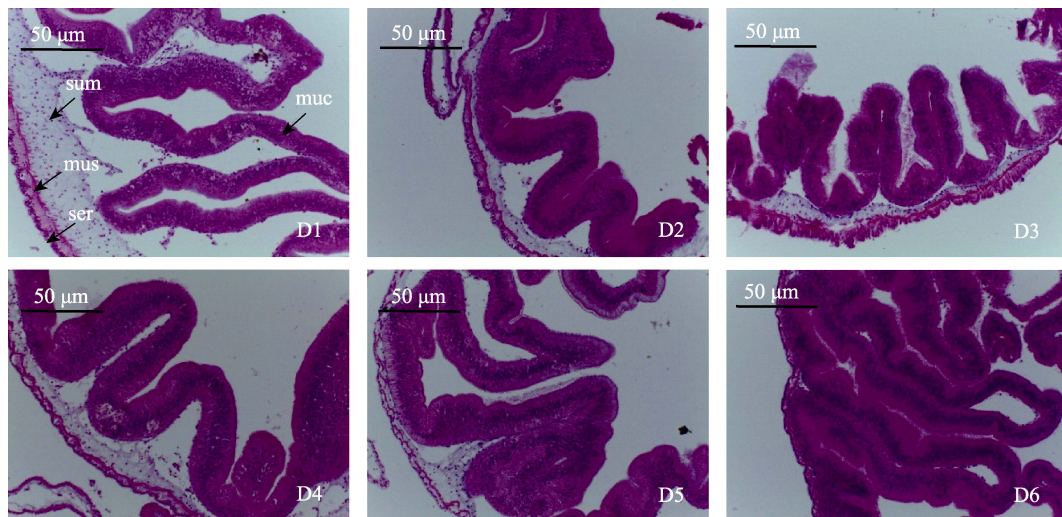


图 1 不同海藻对刺参肠道组织结构的影响

Fig.1 Effects of different seaweeds on intestinal tissue structure of *A. japonicus*

D1~D6 分别为鼠尾藻、铜藻、海带、海带渣、石莼及混合藻粉组刺参的肠道结构;

muc: 黏膜层; sum: 黏膜下层; mus: 肌肉层; ser: 浆膜层

D1~D6 were intestinal structure of *A. japonicus* in group of *S. thunbergii*, *S. horneri*, *S. japonica*, degummed kelp, *U. lactuca* L., and their mixture, respectively;

muc: mucosa; sum: submucosa; mus: muscle; ser: serosa

能最大程度提高刺参的生长性能(Yuan *et al.*, 2006), 而鼠尾藻是公认的刺参优质饵料, 在本实验条件下, 铜藻粉、海带粉、海带渣及石莼粉对刺参的增重效果均不如鼠尾藻, 然而, 混合藻粉却达到了与鼠尾藻相同甚至更优的增重效果, 这可能是因为, 多种海藻粉混合营养更全面, 弥补了单一海藻营养不均衡的问题, 与 Gao 等(2011)对刺参的研究结果一致。铜藻的氨基酸组成与鼠尾藻相似(表 2), 但促生长效果却明显不及鼠尾藻, 可能是因为其谷氨酸含量(2.78)明显低于鼠尾藻组(3.33), 而谷氨酸是一种呈味氨基酸(刘长琳等, 2015), 能增强动物食欲, 提高摄食量。本研究中海带渣组刺参的 IBR 和 VBR 均显著低于其他各组, 可能是因为海带渣在提取褐藻酸钠过程中, 为了保证提取物的色泽而加入的甲醛等固色剂部分残留, 影响了刺参的消化功能, 而海带渣组的 SR 与其他各组差异不显著, 表明海带渣对刺参的 SR 无不利影响, 但不利于肠道的消化吸收, 郝继浦(2014)研究表明, 利用海带渣生产刺参饵料, 刺参的生长性能显著低于配合饲料组($P < 0.05$), 与本研究结果相似。

刺参食道和胃都很短, 仅起到运输和机械处理内吞食物的作用, 刺参无特化的消化腺(崔龙波等, 2000; 李旭等, 2013), 前肠和中肠有腺细胞, 能分泌消化酶, 对食物进行细胞外消化(王吉桥等, 2007), 本研究中, 刺参肠道蛋白酶活性较高, 且受不同藻类影响显著, 而脂肪酶活性较低, 表明刺参对不同藻类蛋白的吸收能力不同, 对脂肪的耐受性低(Seo *et al.*, 2011), 多项研究也证明了刺参肠道具有较高的蛋白酶活性和较低的脂肪酶活性(唐黎等, 2007; 姜令绪等, 2007; 赵斌等, 2015), 与本研究结果一致。铜藻和海带渣组刺参肠道消化酶活力较低, 证明刺参对其消化吸收能力较弱。与此一致, 本研究中铜藻及海带渣组刺参肠道皱襞高度明显低于对照组及混合藻粉组, 细胞数目明显减少, 而肠绒毛的完整性及高度是营养物质被消化吸收的基本保障, 可能是因为消化道内褐藻酸酶活力较低(唐黎等, 2007), 刺参对铜藻和海带渣的吸收能力较弱, 绒毛之间的隐窝细胞分裂速度降低, 不能及时分化迁移, 补充正常脱落的绒毛上皮(王吉桥等, 2007; 孙丽娜, 2013), 消化吸收的表面积减少, 从而影响了对营养物质的吸收。此外, 酸不溶性灰分是指示饲料消化率的有效指标(Li *et al.*, 2008), 本研究中, 海带、石莼及混合藻粉组的酸不溶性灰分均显著低于对照组, 铜藻显著高于对照组, 海带渣与对照组差异不显著, 表明刺参对海带、石莼及混合藻粉的消化吸收率较高, 对铜藻和海带渣的消化吸收率低, 可能因为较铜藻而言, 海带和石莼的质地较软, 易被刺参肠

道破坏。

T-SOD、ACP 和 AKP 是评价刺参机体免疫力的重要指标。T-SOD 是机体清除活性氧的关键防御酶, 其活性直接指示免疫系统的状态及清除自由基的能力(杨宁等, 2016; 秦搏等, 2015; 董晓亮等, 2013), MDA 是自由基作用于脂质发生过氧化的终产物, 会引起蛋白质、核酸等生物大分子交联聚合(Wakita *et al.*, 2011)。在本研究中, 海带渣组刺参的氧化产物 MDA 含量显著高于其他各组, T-SOD 活性显著低于其他各组, 表明该组刺参体内脂质过氧化反应较为严重, 机体清除自由基的能力较弱, 混合藻粉组 T-SOD 活性与对照组差异不显著, 但均显著高于其他各组, 表明多种藻粉混合饲喂刺参可以有效提高机体清除自由基的能力, 提高刺参的抗氧化性能。ACP 和 AKP 是溶酶体酶的重要组成部分(郑慧等, 2014), 同时还是刺参体内参与免疫防御活动的重要水解酶, 在刺参抵抗疾病、免疫反应及细胞损伤修复过程中具有一定的生物学意义(李继业, 2007)。在本研究中, 海带、海带渣、石莼及混合藻粉组的刺参肠道 ACP 和 AKP 活性显著高于对照组和铜藻组, 可能是因为海带和石莼中含有较多微量元素及多糖成分, 能激活免疫相关酶活性, 从而有效提高刺参的免疫性能(李丹彤等, 2014)。研究证实, 刺参大部分的免疫反应都是由阿米巴吞噬细胞介导, Canicatti(1990)在刺参 *H. polii* 阿米巴吞噬细胞中发现 ACP、AKP、 β -葡萄糖酶、氨基多肽酶、酸性蛋白酶、碱性蛋白酶和脂酶等多种溶酶体酶, 同时在包裹体中也检测到了 ACP 活性。

4 结论

通过对刺参生长性能、非特异性免疫及消化机能的研究可知, 混合藻粉具有跟鼠尾藻相似的饲喂效果, 因此建议刺参幼参养殖中多种海藻粉混合使用, 以保证刺参营养均衡。

参 考 文 献

- Canicatti C. Lysosomal enzyme pattern in *Holothuria polii* coelomocytes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1990, 56(1): 70-74
- Cui LB, Dong ZN, Lu YH. Histological and histochemical studies on the digestive system of *Apostichopus japonicus*. *Chinese Journal of Zoology*, 2000, 35(6): 2-4 [崔龙波, 董志宁, 陆瑶华. 仿刺参消化系统的组织学和组织化学研究. *动物学杂志*, 2000, 35(6): 2-4]
- Dong XL, Li CL, Zhao B, *et al.* Effects of low salinity stress on the activities of non-specific immune enzymes and antibacterial activity of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(3): 82-87 [董晓亮, 李成林,

- 赵斌, 等. 低盐胁迫对刺参非特异性免疫酶活性及抗菌活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(3): 82–87]
- Gao QF, Wang YS, Dong SL, *et al.* Absorption of different food sources by sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) (Echinodermata: Holothuroidea): Evidence from carbon stable isotope. *Aquaculture*, 2011, 319(1–2): 272–276
- Ge LB, Gao QF, Dong SL. Effects of different algae powders on the growth, body composition and digestive enzyme activity of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2017(1): 80–87 [葛立保, 高勤峰, 董双林. 不同藻粉对刺参生长、体成分和消化酶活性的影响. 海洋湖沼通报, 2017(1): 80–87]
- Hao JP. The research of *Apostichopus japonicus*' bait produced with kelp residue and brewers' graint. Master's Thesis of Harbin Institute of Technology, 2014, 1–56 [郝继浦. 利用海带渣和啤酒糟生产刺参饵料的研究. 哈尔滨工业大学硕士研究生学位论文, 2014, 1–56]
- Jiang LX, Yang N, Li J, *et al.* Effects of temperature and pH on the activities of digestive enzymes in *Apostichopus japonicus*. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2007, 38(5): 476–480 [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. 海洋与湖沼, 2007, 38(5): 476–480]
- Li DT, Fan YM, Chang YQ, *et al.* Effects of two lectins extracted solution from kelp *Laminaria japonica* Aresch and laver *Porphyra yezoensis* Veda on activities of immunoenzymes in body wall of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2014, 29(6): 607–612 [李丹彤, 范友敏, 常亚青, 等. 海带和条斑紫菜凝集素提取液对刺参体壁主要免疫酶活性的影响. 大连海洋大学学报, 2014, 29(6): 607–612]
- Li JY. The immunological characters and pathogenic study of cultured *Apostichopus japonicus*. Doctoral Dissertation of Ocean University of China, 2007, 1–96 [李继业. 养殖刺参免疫学特征与病害研究. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2007, 1–96]
- Li M, Liao MJ, Chang Q, *et al.* Effects of different diets containing *Enteromorpha prolifera* on growth, digestion and non-specific immunity of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(5): 122–129 [李猛, 廖梅杰, 常青, 等. 不同浒苔型饲料对幼刺参 (*Apostichopus japonicus*) 生长、消化及非特异性免疫的影响. 渔业科学进展, 2017, 38(5): 122–129]
- Li P, Webb KA, Gatlin DM. Evaluation of acid-insoluble ash as an indicator for digestibility determination with red drum, *Sciaenops ocellatus*, and hybrid striped bass, *Morone chrysops* × *M. saxatilis*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2008, 39(1): 120–125
- Li X, Zhang SY, Chen SQ, *et al.* Effects of four feedstuffs on the growth, body composition and digestive physiology of *Apostichopus japonicus*. *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]
- Liu CL, Wang YT, Qin B, *et al.* Analysis and evaluation of nutrient composition in the body wall of Penglai sea cucumber (*Apostichopus* sp.). *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(5): 111–118 [刘长琳, 王有廷, 秦搏, 等. 蓬莱玉参 (*Apostichopus* sp.) 体壁的营养成分分析及评价. 渔业科学进展, 2015, 36(5): 111–118]
- Qin B, Chang Q, Chen SQ, *et al.* 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). *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(4): 547–556 [秦搏, 常青, 陈四清, 等. 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. 水产学报, 2015, 39(4): 547–556]
- Seo JY, Lee SM. Optimum dietary protein and lipid levels for growth of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(2): 56–61
- Sun LN. Histocytological events and analysis of key genes during intestine regeneration in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). Doctoral Dissertation of University of Chinese Academy of Sciences, 2013, 1–132 [孙丽娜. 仿刺参 *Apostichopus japonicus* (Selenka) 消化道再生的组织细胞特征与关键基因分析. 中国科学院大学博士研究生学位论文, 2013, 1–132]
- Tang L, Wang JQ, Xu C, *et al.* Activities of four digestive enzymes in various developmental larvae and in alimentary canals at various sizes of *Apostichopus japonicus*. *Fisheries Science*, 2007, 26(5): 275–277 [唐黎, 王吉桥, 许重, 等. 不同发育期的幼体和不同规格刺参消化道中四种消化酶的活性. 水产科学, 2007, 26(5): 275–277]
- Tang W, Wang QJ, Zhang L, *et al.* Effects of different algae on immunity and body composition of juvenile sea cucumber. *Resource Development and Market*, 2014, 30(8): 905–907 [唐薇, 王庆吉, 张蕾, 等. 不同藻粉对刺参组织免疫性能和体壁成分的影响. 资源开发与市场, 2014, 30(8): 905–907]
- Wakita C, Honda K, Shibata T, *et al.* A method for detection of 4-hydroxy-2-nonenal adducts in proteins. *Free Radical Biology and Medicine*, 2011, 51(1): 1–4
- Wang JQ, Tang L, Xu C, *et al.* Histological observation of alimentary tract and annual changes of four digestive enzymes in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Fisheries Science*, 2007, 26(9): 481–484 [王吉桥, 唐黎, 许重, 等. 仿刺参消化道的组织学及其 4 种消化酶活力的周年变化. 水产科学, 2007, 26(9): 481–484]
- Wen B, Gao QF, Dong SL, *et al.* Effects of different feed ingredients on growth, fatty acid profiles, lipid peroxidation and aminotransferases activities of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). *Aquaculture*, 2016, 454: 176–183
- Yang N, Guo ZS, Wang ZL. Effects of dietary green laver *Enteromorpha prolifera* on growth, activity of digestive enzymes and immunity in sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fisheries Science*, 2016, 35(5): 498–503 [杨宁, 郭中帅, 王正丽. 饲料中添加浒苔对仿刺参幼参生长、消化酶活性和免疫力的影响. 水产科学, 2016, 35(5): 498–503]
- Yuan XT, Yang HS, Zhou Y, *et al.* The influence of diets containing dried bivalve feces and/or powdered algae on growth and energy distribution in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) (Echinodermata: Holothuroidea). *Aquaculture*, 2006, 256(1): 457–467
- Yin XW, Li WX, Bai HF, *et al.* Effects of different seaweed diets on growth of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2015, 30(3): 276–280 [殷旭旺, 李文香, 白海锋, 等. 不同海藻饲料对刺参幼参生长的影响. 大连海洋大学学报, 2015, 30(3): 276–280]
- Zhang JJ, Duan R, Xu K, *et al.* Status and development of dealginate residues in kelp industry. *Fisheries Science*, 2010,

- 29(10): 620–623 [张俊杰, 段蕊, 许可, 等. 海带工业中海带渣应用的研究及展望. 水产科学, 2010, 29(10): 620–623]
- Zhao B, Hu W, Li CL, *et al.* The effects of low salinity on the growth and activities of digestive enzymes in sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(1): 91–96 [赵斌, 胡炜, 李成林, 等. 低盐环境对3种规格刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参生长与消化酶活力的影响. 渔业科学进展, 2015, 36(1): 91–96]
- Zheng H, Li B, Rong XJ, *et al.* Effects of salinity and dissolved oxygen variation on the non-specific immune response of *Apostichopus japonicus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(1): 118–124 [郑慧, 李彬, 荣小军, 等. 盐度和溶解氧对刺参非特异性免疫酶活性的影响. 渔业科学进展, 2014, 35(1): 118–124]
- Zheng HY, Rao DZ, Chen GF, *et al.* Consideration on protective exploitation of *Sargassum horneri* (Turn.) Ag resource around Nanji Islands. *Modern Fisheries Information*, 2008, 23(10): 25–26 [郑海羽, 饶道专, 陈高峰, 等. 保护性开发南麂列岛铜藻 *Sargassum horneri*(Turn.)Ag. 资源的思考. 现代渔业信息, 2008, 23(10): 25–26]
- Zhu JX, Liu H, Leng KL, *et al.* Studies on the effects of some common diets on the growth of *Apostichopus japonicus*. *Marine Fisheries Research*, 2007, 28(5): 48–53 [朱建新, 刘慧, 冷凯良, 等. 几种常用饵料对稚幼参生长影响的初步研究. 海洋水产研究, 2007, 28(5): 48–53]

(编辑 陈辉)

Application Research of Five Seaweeds in Juvenile Sea Cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)

WANG Xiaoyan, QIAO Hongjin, HUANG Bingshan,
WANG Chengqiang, LI Peiyu, LI Baoshan, WANG Jiying^①

(Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Shandong Key
Laboratory of Marine Ecological Restoration, Yantai 264006)

Abstract In order to evaluate the application of *Sargassum thunbergii*, *Sargassum horneri*, *Saccharina japonica*, degummed kelp, *Ulva lactuca* L., and their mixture in juvenile sea cucumbers [(10.02±0.03) g], an 8-week-long experiment was conducted in a circulating water system. Growth performance, body composition, intestinal digestive enzyme activities, and nonspecific immune performance were analyzed. Results showed that the weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of sea cucumbers fed *S. thunbergii* and the seaweed mixture were significantly higher than those of other groups ($P<0.01$), and were the lowest in sea cucumbers fed degummed kelp. Sea cucumbers fed degummed kelp had significantly lower ratio of intestine weight to body weight (IBR) and ratio of viserosomatic weight to body weight (VBR) than those of the other groups ($P<0.05$). Different seaweed did not significantly affect survival rate ($P>0.05$). Body wall moisture, crude ash, crude protein, and the crude fat of sea cucumbers were not significantly affected by the seaweeds ($P>0.05$). The intestinal trypsin activities in sea cucumbers fed *S. thunbergii*, and the seaweed mixture were significantly higher than those in the kelp, degummed kelp, and *Ulva* groups, and were the lowest for degummed kelp ($P<0.01$). The different seaweeds had no significant effect on alpha amylase and lipase activity ($P>0.05$), but significant effects were observed in the hydrochloric acid-insoluble ash of fecal matter ($P<0.01$). Intestinal total-superoxide dismutase (T-SOD), acid phosphatase (ACP), and alkaline phosphatase (AKP) activities in the sea cucumbers fed *S. thunbergii* and seaweed mixture were significantly higher than those in the other groups ($P<0.01$). Intestinal malondialdehyde (MDA) content in sea cucumbers fed degummed kelp was significantly higher than that in the other groups ($P<0.01$). In conclusion, a comprehensive consideration of growth performance and nonspecific immune performance indicated that the four seaweeds individually cannot achieve the feeding effect of replacing dietary *S. thunbergii*; however, using mixed seaweeds can achieve an effect similar to *S. thunbergii* under these experimental conditions.

Key words *Apostichopus japonicus*; *Sargassum thunbergii*; Seaweed; Growth performance; Digestive enzyme; Nonspecific immune performance

① Corresponding author: WANG Jiying, E-mail: ytwjy@126.com