

投喂频率对凡纳滨对虾生长、消化酶和免疫酶活力以及氮收支的影响

陈文霞, 申玉春, 李再亮, 叶 宁

(广东海洋大学 水产学院, 南海水产经济动物增养殖广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524025)

摘要: 为了探讨投饵对对虾的影响, 作者研究了投喂频率对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长、消化酶和免疫酶活性以及氮收支的影响。结果表明: 投喂频率对凡纳滨对虾的存活率、生长率、饲料系数、氮生长效率以及部分消化免疫酶活力有显著影响。日投喂5次实验组获得较高的存活率、增质量率和特定生长率以及较低的饲料系数。投喂频率与特定生长率间呈二次曲线关系, 投喂频率为4.45次时, 获得最大特定生长率。摄食氮、生长氮和排泄氮和排粪氮, 以日投喂频率2次为最低, 5、6次较高。高投喂频率组获得较高的消化酶和免疫酶活性。

关键词: 投喂频率; 消化酶; 免疫酶; 氮收支; 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)

中图分类号: S968.22 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)09-0049-05

对虾的生长需要不断从环境中摄取饲料, 决定对虾摄食的因素主要是自身对食物的消化吸收能力以及食物的可获得性^[1], 科学的饲料投喂策略是保证养殖对虾快速生长的重要手段。关于养殖虾类投喂策略的研究, 宋大焯^[2]研究了日本沼虾的最适投喂频率, 周歧存^[3]研究了投饵水平与凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)虾体主要成分的关系, 叶乐^[4]研究了投喂频率对凡纳滨对虾生长和水质的影响, 李健^[5]观察了投饲方法对中国对虾摄食和生长影响。但投喂频率对凡纳滨对虾酶活力及氮收支影响未见报道。作者在实验室条件下研究了投喂频率与凡纳滨对虾的生长、消化酶和免疫酶活性以及氮收支之间关系, 以确定科学的投喂策略, 减少对虾养殖过程中废弃物的排放数量, 对保护对虾养殖水域生态环境有重要的指导意义。

1 材料与方 法

1.1 实验对虾养殖

实验用凡纳滨对虾取自湛江市东海岛对虾良种场。实验对虾运到实验室后在水族箱中暂养7 d, 暂养盐度32.8~33.3, 水温(28.0±1.0) °C, 光周期14 L 10 d, DO > 5.0 mg/L。在暂养水质环境条件下, 用规格为(50×40×50) cm³的水族箱进行不同投喂频率养殖实验, 设日投喂2、3、4、5、6次5个投喂频率, 进行饱食投喂。具体投喂时间列于表1。每个实验组分别

投放湿质量(0.85±0.10)g, 体质健壮的凡纳滨对虾25尾, 设3个平行, 养殖观察5周。日换水量为总水量的1/5。用520M-01A-便携式多参数水质分析仪监测水质指标。

1.2 样品采集与分析

实验前后对实验对虾分别称质量、计数。实验期间投喂1 h后用虹吸法收集残饵和粪便, 待其沉淀后用蒸馏水冲洗2次, 除去盐分。每天收集到的残饵、粪便和蜕壳分别在65 °C烘干, 冷却后用研钵磨碎, 测定含氮量。向无虾水族箱投入一定量的饲料, 1 h后, 收集饲料, 65 °C烘干称质量, 计算饲料干物质溶失率, 校正对虾的摄食氮。

实验结束后每组取15尾对虾, 用1 mL注射器自对虾头胸甲后插入心脏取血液, 置于Eppendor 管, 5 000 rpm 离心10 min 得血清, -20 °C保存。剥离对虾的肝胰腺、胃, 分别称质量, 按比例加相应缓冲液制成10%匀浆液, 1 000~3 000 r/min 低温离心10 min, 取上清液进行消化酶、免疫酶的测定。

收稿日期: 2011-12-31; 修回日期: 2013-04-11

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(10152408801000005); 广东省科技计划资助项目(2012A020602050、2011B031100012); 广东省海洋渔业科技推广专项(A201201102、A201201C01)

作者简介: 陈文霞(1987-), 女, 湖南省郴州人, 硕士, 主要从事水域生态与健康养殖方面的研究, E-mail: xia2099@163.com; 申玉春, 通信作者, 教授, 电话: 0759-2396011, E-mail: ShenYuchun@163.com

表 1 投喂频率和投喂时间

Tab. 1 Feeding frequency and feeding time

投喂频率 (次/d)	投喂时间					
2	6:00			18:00		
3	6:00		15:00		22:00	
4	6:00		13:00		18:00	22:00
5	6:00	11:00	14:00		18:00	22:00
6	6:00	10:00	13:00	15:00	18:00	22:00

胃蛋白酶、肝胰脏脂肪酶、肝胰脏淀粉酶、血清酸性磷酸酶(ACP)与碱性磷酸酶(AKP)和超氧化物歧化酶(SOD)活性,用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定。含氮量用凯氏定氮法测定。

1.3 数据统计

$$\text{增质量率: } W_G(\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100;$$

$$\text{成活率: } R_S(\%) = \frac{S_2}{S_1} \times 100;$$

$$\text{特定生长率: } R_{SG}(\%) = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{T} \times 100;$$

$$\text{饲料系数: } R_{FC} = \frac{F}{W_2 - W_1};$$

$$\text{氮生长效率: } P(\%) = \frac{G_N}{C_N} \times 100;$$

$$\text{氮收支方程: } C_N = G_N + U_N + F_N + E_N$$

式中: W_1 为对虾初体质量(g), W_2 为对虾终体质量(g), S_1 为对虾初尾数(尾), S_2 为对虾终尾数(尾), T 为试验天数(d), F 为摄入饲料总重量(g), C_N 为摄食氮, G_N 为生长氮, U_N 为排泄氮, F_N 为排粪氮, E_N 为蜕皮氮。

试验数据用 SPSS 13.0 for Windows 统计软件进行单因素方差分析和 Duncan 多重比较,以 $\alpha=0.05$ 作为差异显著水平,描述性统计值用平均值 \pm 标准误差(Mean \pm S.D)表示。

2 结果与分析

2.1 实验对虾存活率、增质量率、饲料系数和特定生长率

投喂频率对凡纳滨对虾增质量率、饲料系数和特定生长率有显著的影响(表 2),日投喂 2 次、3 次实验组与日投喂 4、5、6 次实验组间增质量率、饲料系数和特定生长率差异显著($P < 0.05$)。饲料系数随投喂次数的增大而减小,这在鲈鱼(*Lateolabrax*

japonicus)生长实验中也得到同样的结果^[6]。日投喂频率为 1~4 次时,对虾增质量率随着投喂频率的增加而增加^[4]。对虾简单上皮小管组成的消化腺表面积大、吸收快是对摄食习性的适应。对虾胃容量小,排空快,须频繁进食以获得足够的营养。适当增加投喂频率,进食减少胃排空时间,使之不处于饥饿状态,有利于对虾的生长。少量多次的投喂,对虾单次饲料摄入量减少,在较短时间内完成摄食,减少了饲料在水中的溶失。统计实验对虾投喂频率与特定生长率间的关系,获得二次曲线方程: $R_{SG} = -0.094x^2 + 0.836x + 2.226$ ($R^2 = 0.994$),二次曲线拐为 4.45,即投喂频率为 4.45 次时,获得最大特定生长率。因此对虾养殖生产实践中日投喂频率可选择 4~5 次。

日投喂 6 次实验组与日投喂 2、3、4、5 次实验组存活率差异显著($P < 0.05$),存活率最高值出现在日投喂频率 5 次,叶乐^[4]在全过程不换水,保持连续充气条件下,获得日投喂 2 次存活率最高,而日投喂 3 次以上实验组养殖后期水质败坏,造成对虾应急死亡,成活率下降。本实验每天换水,并及时清除残饵和粪便,当日投喂频率增至 6 次时才出现水中亚硝酸盐浓度过高,对虾死亡。

2.2 实验对虾的消化酶和免疫酶活力

日投喂 2 次实验组与日投喂 3、4、5、6 次实验组间胃蛋白酶、肝胰脏脂肪酶活力差异显著($P < 0.05$),投喂频率对肝胰脏淀粉酶活性影响不显著(表 3)。消化酶活性的高低是表征甲壳动物消化吸收能力强弱的指标,在一定程度上反映了机体对饲料的消化能力^[7]。凡纳滨对虾蛋白酶和脂肪酶活力随对虾生长而增大,而淀粉酶活性与体质量呈负相关^[8]。日投喂 2 次实验组胃蛋白酶、肝胰脏脂肪酶和肝胰脏淀粉酶活力均小于多次投喂实验组。低的投喂频率获得相对低的增质量率(表 2),直接导致消化酶浓度较低。较高投喂频率消化酶活性高,同化率高,对饲料的利用效率相应增强,对其生长起促进作用^[9]。

日投喂 2、3、4 次实验组与日投喂 5、6 次实验组间 ACP、AKP、SOD 活力差异显著($P < 0.05$)(表 3)。ACP、AKP、SOD 是反映对虾免疫能力的重要指标,在对虾防御体系中发挥重要作用^[10]。日投喂 5、6 次实验组获得相对较大的 ACP、AKP、SOD 活力。SOD 活力高,主要是活性氧自由基增加引起的,表明对虾免疫能力强,生长状况好。ACP、AKP 活力高,在于磷酸酶参与核酸与蛋白质合成的转磷酸基团作用,

表 2 投喂频率对凡纳滨对虾存活率、增质量率、饲料系数和特定生长率的影响

Tab. 2 Effects of feeding frequency on the growth, survival and feed utilization of *Penaeus vannamei*

投喂频率(次/d)	存活率(%)	增质量率(%)	饲料系数	特定生长率(%)
2	94.67±4.62 ^b	184.96±30.63 ^a	1.62±0.10 ^a	2.99±0.31 ^a
3	97.33±2.31 ^b	236.53±19.71 ^b	1.59±0.09 ^a	3.47±0.29 ^b
4	97.33±2.31 ^b	293.41±17.99 ^c	1.43±0.09 ^b	3.91±0.23 ^c
5	98.67±2.31 ^b	311.84±16.85 ^c	1.38±0.09 ^b	4.08±0.18 ^c
6	89.33±2.31 ^a	309.57±7.13 ^c	1.37±0.07 ^b	4.03±0.15 ^c

注: 同列数据标有不同字母表示在 0.05 水平上差异显著, 下同

表 3 投喂频率对凡纳滨对虾消化酶和免疫酶活力的影响

Tab. 3 Effects of feeding frequency on digestive enzyme activities and immune enzyme activities of *Penaeus vannamei*

投喂频率 (次/d)	胃蛋白酶 (U)	肝胰脏脂肪酶 (U/g)	肝胰脏淀粉酶 (U/mg)	ACP (U/(100·mL))	AKP (金氏单位/(100·mL))	SOD (U/mL)
2	13.31±1.02 ^a	13.22±1.36 ^a	0.28±0.07 ^a	6.47±0.43 ^a	3.42±0.18 ^a	170.86±3.95 ^a
3	15.81±1.72 ^{ab}	17.01±1.95 ^b	0.32±0.06 ^a	6.70±0.43 ^{ab}	3.55±0.16 ^a	172.87±5.30 ^a
4	17.23±1.40 ^b	18.35±2.03 ^b	0.32±0.08 ^a	7.20±0.29 ^b	3.89±0.20 ^b	177.80±4.83 ^{ab}
5	17.39±2.17 ^b	19.02±2.12 ^b	0.32±0.04 ^a	7.84±0.28 ^c	4.26±0.16 ^c	182.06±3.12 ^b
6	17.51±1.70 ^b	18.91±1.63 ^b	0.31±0.04 ^a	7.90±0.25 ^c	4.30±0.19 ^c	181.80±3.47 ^b

外界环境的胁迫导致蛋白质合成量增加, 继而引起磷酸酶活力增大^[11]。ACP、AKP 活力高, 主要是养殖水体中高浓度氨态氮使得对虾细胞坏死, 引起细胞和溶酶体破裂, 磷酸酶渗出^[12]。血清中酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性等与凡纳滨对虾生长成正相关^[13]。

2.3 实验对虾的氮收支水平

日投喂 2 次实验组与日投喂 3、4、5、6 次实验组间, 排泄氮、粪便氮和蜕皮氮差异显著($P < 0.05$), 且日投喂 2 次实验组拥有较低的排泄氮、粪便氮和其他氮(表 4)。日投喂 2、3 次实验组与日投喂 4、5、6 次实验组间, 摄食氮、生长氮和氮生长效率差异显著($P < 0.05$), 且高投喂频率实验组拥有较高的摄食氮(4.570~4.622)、生长氮(1.601~1.698)和氮生长效率(35.1%~36.7%)。对虾粪便的含氮率与对虾的个体大小无显著相关性, 且饱食状态下, 对虾的食量保持稳定, 排粪量差别不大, 所以较高投喂频率实验组

对虾的粪便氮量无显著差异。对虾生长主要是体内氮的积累, 对虾摄入的氮分配于生长比例高, 对蛋白质利用率高。本实验凡纳滨对虾氮生长效率为 31.6%~36.7%, 这与李松青^[14]、侯文杰^[15]分别提出的 29.63%、35.51%相近。

把摄食氮记作 100, 生长氮、排泄氮、粪便氮和蜕皮氮占摄食氮的百分数就是对虾在整个养殖期间的个体摄食氮的分配模式, 即氮收支方程。生长氮是对虾养殖生产的最终目标, 粪便氮和排泄氮是水质生态环境氮负荷重要组分。氮的生长效率是摄取氮分配给生长氮的比例, 是衡量动物对蛋白质利用的重要指标^[16]。不同日投喂频率氮收支方程如下:

$$2 \text{ 次: } 100C_N = 32.6G_N + 49.4U_N + 17.2F_N + 0.8E_N;$$

$$3 \text{ 次: } 100C_N = 31.6G_N + 50.8U_N + 16.0F_N + 1.6E_N;$$

$$4 \text{ 次: } 100C_N = 35.1G_N + 46.8U_N + 16.4F_N + 1.7E_N;$$

$$5 \text{ 次: } 100C_N = 36.2G_N + 45.5U_N + 16.3F_N + 2.0E_N;$$

$$6 \text{ 次: } 100C_N = 36.7G_N + 45.2U_N + 16.5F_N + 1.6E_N$$

表 4 投喂频率对养殖对虾氮收支的影响

Tab. 4 The N budget of feeding frequency

投喂频率(次/d)	摄食氮(g)	生长氮(g)	排泄氮(g)	排粪氮(g)	其他氮(g)	氮生长效率(%)
2	3.192±0.344 ^a	1.040±0.061 ^a	1.576±0.151 ^a	0.549±0.068 ^a	0.027±0.013 ^a	0.326 ^a
3	4.088±0.204 ^b	1.290±0.035 ^b	2.078±0.161 ^b	0.653±0.035 ^b	0.067±0.019 ^b	0.316 ^a
4	4.570±0.121 ^{bc}	1.601±0.049 ^c	2.141±0.147 ^b	0.750±0.025 ^c	0.078±0.022 ^b	0.351 ^{ab}
5	4.650±0.397 ^c	1.682±0.016 ^c	2.118±0.272 ^b	0.757±0.064 ^c	0.093±0.029 ^{bc}	0.362 ^b
6	4.622±0.214 ^c	1.698±0.053 ^c	2.089±0.132 ^b	0.760±0.036 ^c	0.075±0.036 ^b	0.367 ^b

本实验粪便氮测定采用全量收集法, 每日多次及时收集粪便, 尽量减少粪便溶失而产生的误差。排泄氮根据氮收支方程由差值法计算, 所以排泄氮的误差大小主要取决于粪便氮的误差, 实验后期出现对虾死亡, 将死亡对虾含氮量一同归于对虾的生长氮。

3 结论

研究表明, 一定范围内增加凡纳滨对虾投喂频率有利于对虾生长和饲料氮的吸收利用。一方面, 投喂频率过低, 饵料缺乏, 对虾生长缓慢、免疫功力下降, 个体间的竞争和残食引起养殖对虾有较大规格差异, 影响养殖产量^[17]。另一方面, 投喂频率过高, 不仅增加养殖成本, 而且残饵及粪便败坏水质, 恶化养殖生态环境。因此在对虾养殖生产实践中, 日投喂频率设定为 4~5 次为宜, 此时对虾生长状况良好, 获得最大特定生长率, 且对蛋白质利用率高。最高频率实验组因为残饵增多等原因导致水质恶化, 而水质本身可能会影响对虾的消化酶、免疫酶, 故今后的投喂频率研究应尽量在稳定水质的提前下进行。

参考文献:

- [1] 杜海明, 刘文奎, 张磊, 等. 投喂频率对鳊幼鱼摄食及生长的影响[J]. 淡水渔业, 2007, 6:15-18.
- [2] 宋大焯, 张余霞, 赵卫红, 等. 不同投喂频率对日本沼虾影响的初步研究[J]. 上海农业科技, 2009, 5:78-80.
- [3] 周歧存, 郑石轩, 高雷, 等. 投饵水平对凡纳滨对虾生长、饲料利用和虾体主要成分的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2003, 2:64-68.
- [4] 叶乐, 林黑着, 李卓佳, 等. 投喂频率对凡纳滨对虾生长和水质的影响[J]. 南方水产, 2005, 4:55-59.
- [5] 李健, 孙修涛, 李锋, 等. 不同投饲方法对中国对虾摄食和生长影响的试验观察[J]. 中国水产科学, 1995, 2(2):66-70.
- [6] 楼宝, 史会来, 毛国民, 等. 饲喂频率对鲈鱼生长及体生化成分的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2007, 20(4): 454-458.
- [7] 丁贤, 李卓佳, 陈永青, 等. 芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长和消化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6):580-584.
- [8] Lee P G, Smith L L, Lawrence A L. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: Relationship between enzyme activity, size and diet[J]. Aquaculture, 1984, 42:225-239.
- [9] 齐明, 申玉春, 朱春华, 等. 凡纳滨对虾不同阶段摄食人工饲料生长效率的初步研究[J]. 渔业现代化, 2010, 37(2):34-37.
- [10] 危发濠, 张新节, 陈海运, 等. 稀释海水条件下, 饲料中不同钾离子水平对凡纳滨对虾生长、消化酶及免疫力的影响[J]. 饲料工业, 2010, 31(12):19-23.
- [11] 朱毅菲. 不同浓度氨氮、不同低 pH 突变对克氏原螯虾免疫功能的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [12] 吴垠, 邢殿楼. 中国对虾暴发性流行病的血液病理研究[J]. 中国水产科学, 1998,5(3):53-57.
- [13] 朱学芝, 郑石轩, 潘庆军, 等. 芽孢杆菌对凡纳滨对虾免疫和生化指标的影响[J]. 饲料研究, 2007, 4:56-59.
- [14] 李松青. 南美白对虾的氮磷收支及养殖环境氮磷负荷的研究[D]. 广州:暨南大学, 2003.
- [15] 侯文杰, 臧维玲, 戴习林, 等. 盐度对凡纳滨对虾生长和氮磷收支的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(2): 146-150.
- [16] 吴天利, 李广丽, 师尚丽, 等. 镉胁迫对凡纳滨对虾血清中一氧化氮合成酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 热带海洋学报, 2008,6:62-65.
- [17] Qin J, Fast A W. Size and feed dependent cannibalism with juvenile snakehead *Channa striatus*. [J]. Aquaculture, 1996, 144: 313-320.

The effect of feeding frequency on growth, digestive enzymes, immune enzyme and N budget of *Litopenaeus vannamei*

CHEN Wen-xia, SHEN Yu-chun, LI Zai-liang, YE Ning

(Guangdong Ocean University, Key Laboratory of Aquaculture in South China Sea for Aquatic Economic Animal of Guangdong Higher Education Institutes, Zhanjiang, 524025, China)

Received: Dec., 31, 2011

Key words: feeding frequency; digestive enzymes; immune enzymes; nitrogen budget; *Litopenaeus vannamei*

Abstract: Effect of feeding frequency on growth characteristics, digestive enzymes, immune enzyme and nitrogen balance of *Litopenaeus vannamei* was studied. The results indicated that feeding frequency of *Litopenaeus vannamei* was significantly affected by survival rate, growth rate, feed coefficient, the nitrogen balance and part of immune enzymes activity. The groups which were fed 5 times per day had higher survival rate, weight increasing rate and specific growth rate, and lower feed coefficient. Conic relationships were found between specific growth rate and feeding frequency. The maximum specific growth rate was obtained when they were fed 4.45 times per day. Feeding nitrogen, growth nitrogen and excretion of nitrogen and fecal nitrogen, reached the lowest when 2 times per day, and higher if 5 and 6 times per day. The high feeding frequency group got higher digestive enzymes and immune enzymes activity.

(本文编辑: 谭雪静)