

徐安乐,黎中宝,上官静波,等. 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长、非特异性免疫及消化酶活性的影响[J]. 海洋学报, 2018, 40(4): 96—105, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2018.04.009

Xu Anle, Li Zhongbao, Shangguan jingbo, et al. Effects of fermented *Enteromorpha prolifera* on growth performance, non-specific immunity and digestive enzyme activity of pearl gentian grouper[J]. Haiyang Xuebao, 2018, 40(4): 96—105, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2018.04.009

发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长、非特异性免疫及消化酶活性的影响

徐安乐^{1,2}, 黎中宝^{1,2*}, 上官静波^{1,2}, 胡晓伟^{1,2}, 黄永春^{1,2}

(1. 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省海洋渔业资源与生态环境重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: 浒苔经发酵后按添加比例(0%、1%、2%、3%、4%、5%)分别加入到珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀)基础饲料中配制成6种饲料,用以探讨发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长、肠消化酶活性及血清非特异性免疫力的影响。选用初始平均体质量为(19.16 ± 0.25) g的珍珠龙胆石斑鱼为研究材料,试验周期28 d。结果表明:发酵浒苔能显著影响石斑鱼的增重率(WGR)和特定生长率(SGR)($P < 0.05$),且随着发酵浒苔添加水平的升高呈现先升高后降低的趋势,在2%组添加量时显著高于对照组。同时,相比于对照组,各添加组饲料系数(FCR)均有下降,在2%组时显著降低($P < 0.05$)。添加发酵浒苔可以显著提高血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)、碱性磷酸酶(AKP)和酸性磷酸酶(ACP)的活性($P < 0.05$),但对溶菌酶(LZM)和酚氧化酶(PO)活性影响差异不显著($P > 0.05$)。在添加组中,淀粉酶、脂肪酶以及胰蛋白酶活性均得到了显著提高($P < 0.05$),添加水平在2%~3%时效果最好。综合发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼的作用效果可以看出,发酵浒苔可以明显促进其生长,提高非特异性免疫力及肠道中消化酶活力,建议发酵浒苔在饲料中添加量为2%左右。

关键词: 发酵浒苔; 珍珠龙胆石斑鱼; 生长; 肠道消化酶; 非特异性免疫

中图分类号: S965.334

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2018)04-0096-10

1 引言

浒苔(*Enteromorpha prolifera*)俗称苔条、青海苔等,隶属于绿藻门(Chlorophyta)绿藻纲(Chlorophyceae)、石莼目(Ulvales)石莼科(Ulvaceae)浒苔属(*Enteromorpha*)^[1],是一种能够因水体富营养化而大量繁殖的绿藻,可形成绿潮,对海洋生态环境构成严重危害^[2]。从2008年6月青岛浒苔的大规模爆发至

今,浒苔对我国乃至世界的环境均造成了很大的破坏,受到人们的重视。据统计,在2015年,仅西太平洋的黄海一带,浒苔的年产量就高达1 000万吨^[3]。浒苔具有很强的环境适应能力,而且生长迅速,在我国每年春夏季节易爆发,最适生长温度为18~23℃^[4],具有广盐性,且在低盐条件下,随着盐度的增加生长加快^[5-6],全世界均有分布。浒苔具有强固着性,可经海浪冲击滞留在潮间带的泥沙滩中或者附着

收稿日期: 2017-08-14; 修订日期: 2017-09-16。

基金项目: 厦门市科技项目(3502Z20153009); 厦门市海洋经济发展专项资金项目(14CZY045HJ19); 福建省科技计划项目(2012N0018)。

作者简介: 徐安乐(1989—),男,湖北省通山县人,博士研究生,主要从事渔业资源方向。E-mail: 921462178@qq.com

* 通信作者: 黎中宝,教授,博士生导师,主要从事海洋经济物种生态健康养殖和种群遗传学研究。E-mail: lizhongbao@jmu.edu.cn

在海洋基础设施和船体上,对沿海居民的生活和海洋设备的正常使用构成严重影响,与此同时,浒苔的爆发具有危害重、规模大以及持续时间长等特点,对海洋生态环境、沿海景观以及海洋渔业和旅游业带来严重的破坏,目前对我国已造成了严重的经济损失^[7-8]。

浒苔一方面因其泛滥成灾造成了很多负面影响,另一方面,又因其营养丰富,含多种氨基酸、蛋白质、维生素和多糖以及矿物质等而被认为是一种高蛋白低脂肪的优质海藻^[9]。在我国,浒苔资源极其丰富,仅福建沿海一带,年产量就可达10万吨以上^[10]。浒苔因其具有丰富的活性物质以及降血糖血脂,抗肿瘤抗菌和抗衰老活性、可净化环境以及可作为生物质能源等优点,现已被认知具有变废为宝的潜力而广泛应用于医学、食品、动物饲料、肥料、环境改良、能源、化妆品等方面^[11]。

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀)是以雄性鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*)为父本、雌性棕点石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*)为母本杂交而来的新品种,遗传了双亲特有的快速生长和高抗病力能力^[12],潜在商业价值巨大,在未来极有可能成为热门的商业养殖品种。目前国内外有关该种鱼的研究并不多,浒苔对其的应用研究更是鲜有报道。就浒苔而言,在水产养殖动物上,已有多方面研究证明,浒苔具有提高机体免疫、促进生长和提高消化能力的作用^[13-17]。将浒苔应用于珍珠龙胆石斑鱼上进行研究,旨在期望在为新品种珍珠龙胆石斑鱼探寻绿色环保抗病助长饲料添加剂的同时,也为浒苔资源的合理利用,变废为宝以及帮助减轻浒苔所造成环境污染等问题提供更深层的可行性解决方案。

本研究采用发酵技术,利用合理的发酵工艺处理浒苔,以期改变浒苔原有风味,提高浒苔的适口性和营养价值,进而促进珍珠龙胆石斑鱼的摄食,探求其对珍珠龙胆石斑鱼生长、消化以及免疫性能的影响,为发酵浒苔在石斑鱼饲料中的应用提供理论依据,同时也为浒苔多方面的合理利用,成为具有广阔经济价值的海藻类饲料提供参考。

2 材料与方法

2.1 试验材料

本试验所用浒苔为2015年3-4月从厦门周边各个滩涂池采集,用现场海水洗净,装入样品袋中,

带回实验室后继续用自来水冲洗干净。沥干,晾晒,放入60℃烘箱烘干,利用冷冻粉碎干燥机(山东三清不锈钢设备有限公司制造)将浒苔制成浒苔粉,过200目筛网(即粉末粒径不大于0.074 mm),将粉碎好的浒苔粉按比例加入2%的二型饲料发酵助剂(购于北京华夏康源科技有限公司,主要成分见表1)和1%的玉米粉,同时加入65%的蒸馏水,装入规格为350×450 mm,厚度为10丝的发酵袋内,密封发酵4~5 d。得到的发酵浒苔风干后密封保存备用。

珍珠龙胆石斑鱼苗购自福建省东山县祥源汇石斑鱼养殖场,经暂养驯化后,于盐度为27的海水中养殖。暂养期间投喂基础饲料,每天定时投喂2次,及时吸污并换水,换水量一般在1/4~1/2之间,视暂养池水质状况而变化换水频率,全天充气增氧,水温26~29.8℃,溶氧大于6.0 mg/L, pH为7.5~8.5,氨氮浓度小于0.3 mg/L,养殖棚内顶棚遮阳,避免直射光,白天棚内光照强度为100~500 lx,晚上无光照,持续14 d后,选择体格健壮、无病无伤、规格一致的珍珠龙胆石斑鱼,随机分配到实验缸(大小80 cm×50 cm×50 cm,实际养殖水体约为160 L)展开实验。共6组,每组3个平行共18个水族缸,每缸30尾,实验鱼平均体质量为(19.16±0.25) g,体长为(10.63±0.56) cm。

表1 发酵剂主要活性成分

Tab.1 The main active ingredient of starter

二型饲料发酵助剂	
主要活性成分	芽孢杆菌、乳酸菌、酵母菌、丝状真菌等多种功能微生物菌群

2.2 饲料处理及实验设计

试验饲料用基础饲料(购于厦门市银祥集团有限公司,原料成分及基本营养成分见表2)和发酵浒苔干粉制成。采用逐级混匀法将浒苔粉与基础饲料充分混匀(添加比例参考《饲料添加剂》^[18],取为0%、1%、2%、3%、4%、5%),经制粒机(华南理工大学科技实业总厂制造)制成粒径为2.5 mm的颗粒型饲料,并依次标记为对照组(0%)、Diet 1(1%)组、Diet 2(2%)组、Diet 3(3%)组、Diet 4(4%)组、Diet 5(5%)组;饲料投喂量按鱼体质量的3%左右投喂,可按摄食情况做相应调整;每天定时(7:00—7:30, 17:00—17:30)投喂2次,日常饲养环境管理同暂养期间类似。试验周期28 d,于2015年7—8月在祥源汇水产

养殖试验基地进行。

表 2 基础饲料组成及营养水平

Tab.2 The composition and nutrient levels of compound feeds

原料	含量/%
鱼粉	42.00
虾粉	3.00
豆粕	27.00
面粉	19.90
鱼油	2.00
豆油	2.00
卵磷脂	2.00
多维	0.30
多矿	0.50
氯化胆碱	0.30
磷酸二氢钙	1.00
营养水平干物质	91.50
粗蛋白	48.08
粗脂肪	10.13
粗灰分	12.09

2.3 样品制备

试验周期结束后,对试验鱼饥饿处理 24 h,经丁香酚麻醉后对每缸鱼称总质量,用以计算饵料系数,随后,从相应鱼缸中随机挑取 9 尾,利用尾静脉采血收集血样,放置于冰盒中转移至实验室,于 4℃ 冰箱中过夜(约 18 h),并在 4℃、3 500 r/min 条件下离心 10 min,收集上清液混合(可适当分装),做好标记,作为相应平行组血清样品,置于-80℃冰箱中保存以待检测血清中非特异性免疫相关指标;再从中随机选取 3 尾石斑鱼记录体质量、体长,分别计算所选每条鱼的肥满度求取平均值,用以代表相应平行组的肥满度数值;另取 4 尾鱼进行解剖,取出肝脏及肠组织,称取肝脏质量和对应的鱼体质量,分别计算每条鱼的肝体指数(HSI),以该 4 尾鱼的数值求平均值代表该相应平行组的 HSI 指标,剔除肠道周围脂肪,将该 4 尾鱼肠道组织放于一个冷冻管中立即投入-196℃液氮中,转移至实验室后放置于-80℃冰箱中保存,检测时取等质量混合制备匀浆液进行肠道中相关消化酶指标检测,检测结果代表相应平行组结果。

2.4 样品分析检测方法

2.4.1 生长指标分析

$$\text{增重率}(WGR, \%) = (W_t - W_0) / W_0 \times 100, \quad (1)$$

$$\text{特定生长率}(SGR, \%/d) = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100, \quad (2)$$

$$\text{饲料系数}(FCR, \%) = F / (W_t - W_0) \times 100, \quad (3)$$

$$\text{存活率}(SR, \%) = N_t / N_0 \times 100, \quad (4)$$

$$\text{肝体指数}(HSI, \%) = W_L / W_B \times 100, \quad (5)$$

$$\text{肥满度}(CF, \%) = W_t / L^3 \times 100, \quad (6)$$

式中, W_t 和 W_0 分别为鱼的终末总质量(g)(包含了死鱼质量)和初始总质量(g); t 为试验天数(d); N_t 和 N_0 分别为 t 天后和初始鱼的尾数; F 为 t 天内摄食的总饲料量(g); W_L 和 W_B 分别为肝脏湿质量(g)和鱼体湿质量(g); L 为鱼体长(cm)。

2.4.2 消化酶指标测定

测定消化酶活力时,根据不同消化酶的要求,用温度 4℃、浓度为 0.7% 的生理盐水与待测样品按比例混合,用组织匀浆器在冰水浴条件下约 12 000 r/min 匀浆,分别制成相应浓度的匀浆液,之后用低温离心机 2 500 r/min,离心 10 min,取上清液待测,淀粉酶活性(AMS)、脂肪酶活性(LPS)、胰蛋白酶活性及组织总蛋白(TP)含量均由南京建成生物工程研究所提供相应试剂盒测定。

2.4.3 血清非特异性免疫指标测定

血清中总超氧化物歧化酶(T-SOD)活力测定是根据黄嘌呤氧化酶法,酶单位定义是每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个活力单位(U);溶菌酶(LZM)活力和酚氧化酶(PO)活力均采用 ELISA 检测试剂盒检测,单位为 U/mL;碱性磷酸酶(AKP)单位定义为 100 mL 血清在 37℃ 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位,酸性磷酸酶(ACP)采用微板法测定,单位为金氏单位/100 mL。ACP 微板法、T-SOD、AKP 及血清蛋白均由南京建成生物工程研究所提供相应试剂盒测定,PO 和 LZM 由上海杏宜生物有限公司提供的试剂盒测定。

2.5 数据统计与分析

试验数据均采用 SPSS22.0 数据软件进行统计学分析,用单因素方差分析,Duncan 比较,用平均值±标准差(Mean±SD)表示,取显著水平为 $P < 0.05$,数据处理采用 Origin8.5 软件完成。

3 结果

3.1 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长性能的影响

在珍珠龙胆石斑鱼基础饲料中添加 1%~5% 的发酵浒苔可以显著影响珍珠龙胆石斑鱼的增重率(WGR)、特定生长率(SGR)和饵料系数(FCR) ($P <$

0.05),而对珍珠龙胆石斑鱼的肝体指数(HSI)和饱满度(CF)以及存活率(SR)影响不显著。与对照组相比,添加1%~3%的发酵浒苔,能显著降低珍珠龙胆石斑鱼的FCR,提高WGR和SGR($P<0.05$)。FCR在添加量为2%时为各组中最低值,且与其他组存在显著性差异($P<0.05$),WGR和SGR在添加量为1%

时为各组中最大值,与此同时,对WGR和SGR指标,添加1%和2%的发酵浒苔组之间不存在显著性差异,HSI和CF在添加量为1%时达到各组最大值,但与其他组间无显著性差异($P>0.05$) (图1)。综合生长指标结果,可以看出,发酵浒苔适宜添加量为1%~2%。

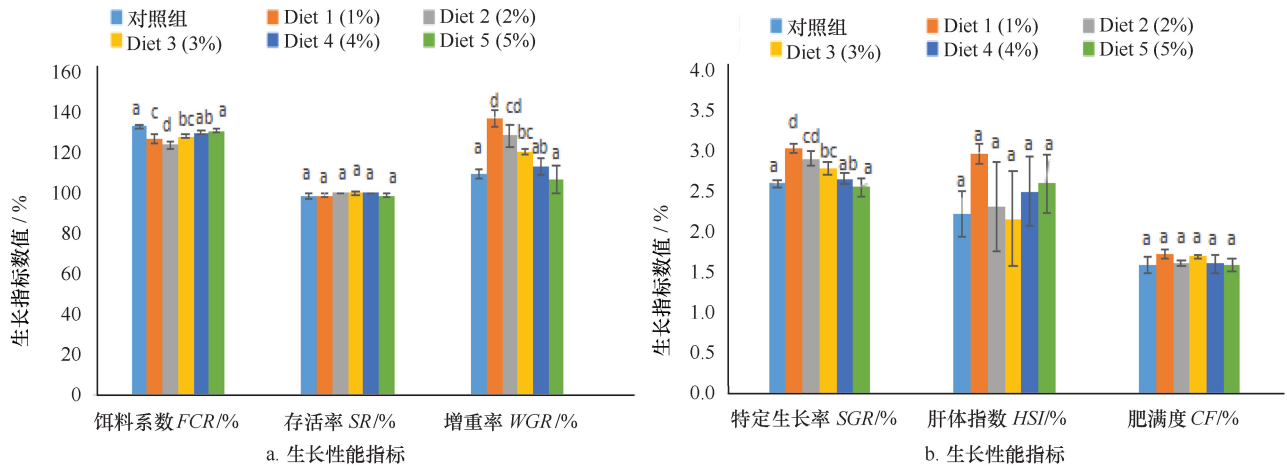


图1 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长指标的影响

Fig.1 Effect of fermented *E. proliferata* on growth performance of Pearl gentian grouper

各组相应指标上标字母不同表示差异显著($P<0.05$, $n=3$),下同。生长指标数值,因在数值量程上存在较大差异,故分做图1a和图1b

Corresponding indicators in groups with the different superscripts have significant differences ($P<0.05$, $n=3$). Indexes of growth performance were described in the diagram and divided into fig1a and fig1b because of the significant difference in the values

3.2 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼的血清非特异性免疫指标的影响

由表3可知,发酵浒苔的添加能够显著影响珍珠龙胆石斑鱼的血清中总蛋白(TP)含量、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)以及总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性($P<0.05$)。与对照组相比,当发酵浒苔添加量在3%和5%时,能显著提高石斑鱼血清总蛋白含量和ACP活性,TP含量在添加量为3%和5%的发酵浒苔组时分别显著提高了31.70%和27.31% ($P<0.05$),在3%组时达到各组最大值;ACP活性分

别显著提高了34.70%和38.17% ($P<0.05$),在5%组时达到各组中最大值。对于AKP活性,在添加量为3%、4%和5%时均较对照组有显著性提高,在5%组时达到最大,提高61.01% ($P<0.05$)。对于T-SOD活性,随着浒苔添加量的增加,其活性呈现先升高后降低再升高趋势,在添加量为4%和5%时与对照组存有显著性差异,分别提高了19.61%和18.46% ($P<0.05$)。血清中的溶菌酶(LZM)和酚氧化酶(PO)活性基本不随发酵浒苔的添加而发生显著性变化。

表3 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼血清非特异性免疫力的影响

Tab.3 Effect of fermented *E. proliferata* on serum non-specific immunity in Pearl gentian grouper

处理组	血清总蛋白 TP/mg · mL ⁻¹	碱性磷酸酶 AKP /金氏单位 · (100 mL ⁻¹)	酸性磷酸酶 ACP /金氏单位 · (100 mL ⁻¹)	总超氧化物 歧化酶 T-SOD /U · mL ⁻¹	溶菌酶 LZM /U · mL ⁻¹	酚氧化酶 PO /U · mL ⁻¹
对照组(0%)	43.72 ± 2.76 ^a	8.72 ± 0.19 ^a	7.78 ± 0.19 ^a	111.96 ± 7.89 ^{ab}	78.43 ± 8.20 ^a	54.06 ± 1.72 ^a
Diet 1(1%)	44.68 ± 2.97 ^a	10.10 ± 0.35 ^a	7.82 ± 0.56 ^a	127.89 ± 8.07 ^{bc}	78.90 ± 2.16 ^a	52.08 ± 1.82 ^a

续表 3

处理组	血清总蛋白 TP/mg · mL ⁻¹	碱性磷酸酶 AKP /金氏单位 · (100 mL ⁻¹)	酸性磷酸酶 ACP /金氏单位 · (100 mL ⁻¹)	总超氧化物 歧化酶 T-SOD /U · mL ⁻¹	溶菌酶 LZM /U · mL ⁻¹	酚氧化酶 PO /U · mL ⁻¹
Diet 2(2%)	49.05 ± 5.20 ^{ab}	10.38 ± 0.80 ^{ab}	7.59 ± 0.02 ^a	124.88 ± 12.21 ^{bc}	73.86 ± 3.73 ^a	56.85 ± 9.03 ^a
Diet 3(3%)	57.58 ± 2.79 ^c	12.12 ± 1.40 ^c	10.48 ± 0.93 ^{bc}	104.21 ± 5.83 ^a	74.04 ± 3.49 ^a	51.41 ± 6.54 ^a
Diet 4(4%)	48.94 ± 9.54 ^{ab}	11.83 ± 1.06 ^{bc}	8.87 ± 1.16 ^{ab}	133.92 ± 11.14 ^c	78.67 ± 1.78 ^a	50.87 ± 1.66 ^a
Diet 5(5%)	55.66 ± 5.08 ^c	14.04 ± 1.06 ^d	10.75 ± 1.63 ^c	132.63 ± 5.38 ^c	78.20 ± 2.07 ^a	50.24 ± 0.56 ^a

注:同列上标小写字母不同者表示差异显著($P < 0.05, n = 3$)。

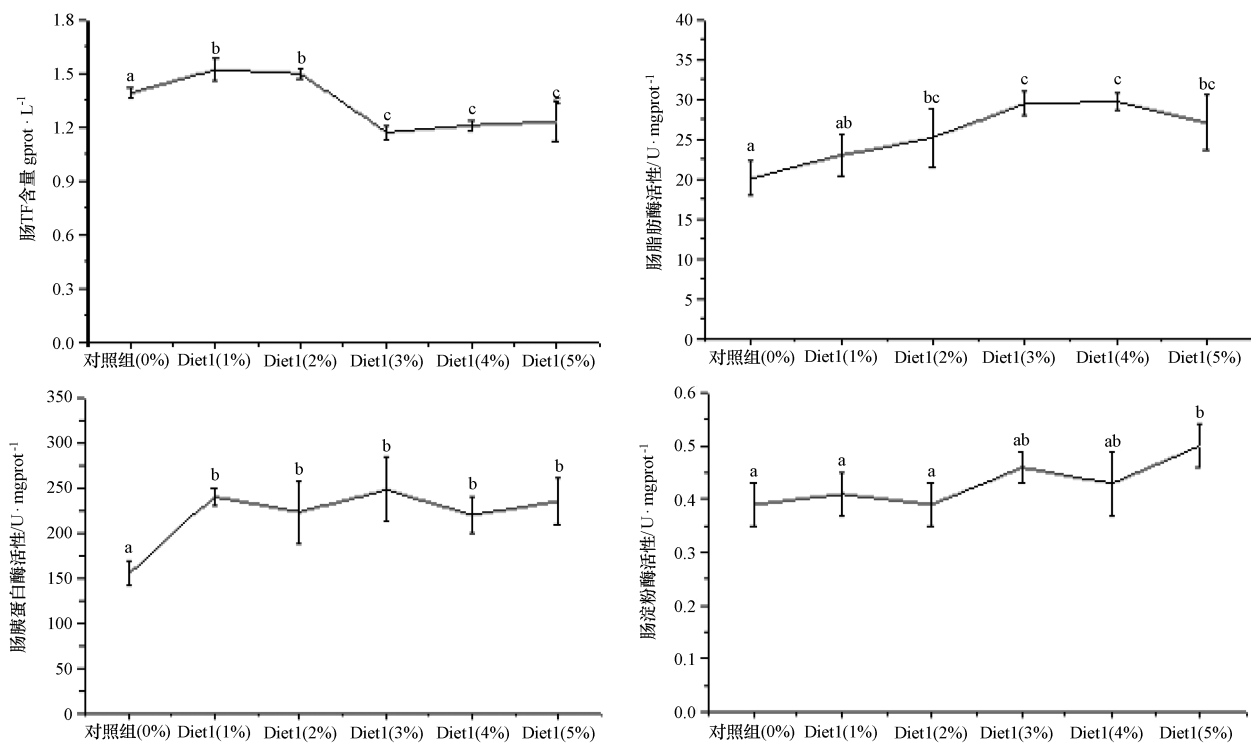


图2 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼肠道消化酶的影响

Fig.2 Effect of fermented *E. proliфера* on activities of intestinal digestive enzyme in pearl gentian grouper

各组相应指标上标字母不同表示差异显著($P < 0.05, n = 3$)

Corresponding indicators in groups with the different superscripts have significant differences ($P < 0.05, n = 3$)

3.3 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼肠道消化酶活性的影响

由图2可知,经发酵浒苔饲料投喂,可以显著影响石斑鱼肠道的总蛋白含量、脂肪酶和胰蛋白酶活性($P < 0.05$)。添加1%~2%的发酵浒苔,可显著提高石斑鱼的肠道总蛋白含量,与对照组相比,分别显著提高了9.4%和7.9%($P < 0.05$),且高于其他各组。各试验组脂肪酶活性均高于对照组,在添加量为2%

~5%时与对照组存有显著性差异($P < 0.05$),而彼此组间未出现显著性差异。实验组的胰蛋白酶活性均显著高于对照组($P < 0.05$),而各实验组之间也无显著性差异,在添加量为3%时达到最大值。淀粉酶活性随着发酵浒苔添加量的增加呈现出一定程度的增强,仅在添加量为5%时与对照组存在显著性差异,其他组之间无显著性差异。综合上述指标,可以知道发酵浒苔在添加量为2%~3%时能有效提高石斑鱼

肠道消化酶活性。

4 讨论

4.1 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长性能的影响

浒苔是一种具有丰富营养成分的海洋饵料资源,可作为海水鱼、虾和贝类等水产动物的饵料配料或添加剂,其含有多种对动物机体所必需的营养物质,包括氨基酸、矿物质和维生素等,同时还含有多糖、萜类、甾体等生物活性物质,可以调节动物的代谢和生长^[19]。已有研究表明,浒苔作为饲料原料,投喂大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[14]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[15]、梭鱼(*Liza haematocheila*)^[20]、黄斑蓝子鱼(*Siganus canaliculatus*)^[21]等,均能起到促进动物机体生长的作用,浒苔也能很好地促进家禽如肉鸡^[22]、猪^[23]和肉兔^[24]等的生长。由此可知,浒苔有很好的提高动物生长性能的作用。

在本试验中,浒苔经发酵后添加到珍珠龙胆石斑鱼基础饲料中进行投喂,得出与对照组相比,在添加量为1%~3%时可以显著提高珍珠龙胆石斑鱼的WGR和SGR,同时显著降低了FCR,在添加了为2%时,FCR为各组最低,WGR和SGR均显著高于对照组,这与高瞻等^[17]研究发酵浒苔作用于花鲈(*Lateolabrax japonicus*)的结果相似,同样,杨春花和方希修^[25]也研究了发酵处理后的海藻粉作用于1日龄樱桃谷肉鸭(*Cherry Valley Ducks*),得出可以大大提高肉鸭采食量、日增重以及降低饲料系数。浒苔经发酵后,提高了机体对浒苔的利用率,发酵程序能显著改变发酵物的生物活性成分的浓度和组成^[26],浒苔中除含有多种氨基酸外,同时还含有比较多的多不饱和脂肪酸,尤其n-3系列对鱼类有重要作用的不饱和脂肪酸^[27],在发酵细菌的作用下,植物细胞壁被破坏,释放出更多的营养物质,进而对机体的代谢和生长起到促进作用,这与秦搏等^[28]研究浒苔经纤维素酶酶解后投喂幼刺参,能显著提高幼刺参的SGR、干物质表观消化率、粗蛋白质表观消化率以及降低FCR的结果相似。徐安乐等^[29]和高瞻等^[17]分别研究了浒苔粉和发酵浒苔粉作用于花鲈,相比可以得出,发酵后可以使用更低剂量而能达到相似的促生长效果,这更加说明经发酵后,浒苔作用于机体促生长的活性成分被释放出来进而更易被机体吸收利用,起到促生长效应。本试验结果还表明,除SR、HSI和CF外,浒苔对提高珍珠龙胆石斑鱼其他生长性能效应随着发酵浒苔添加量的增加呈现先升后降趋势,表明发酵浒苔

对珍珠龙胆石斑鱼生长性能的影响有饱和阈值,超量添加反而起到抑制作用,这同Yıldırım等^[13]和Yousif等^[21]研究的结果类似。在本研究中,发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼生长性能作用效果最适添加量为2%左右。

4.2 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼的血清非特异性免疫指标的影响

就鱼类而言,特异性免疫较弱,其免疫更依赖于非特异性免疫^[30]。本研究选取具有代表性的非特异性免疫酶类总超氧化物歧化酶(T-SOD)、溶菌酶(LZM)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)和酚氧化酶(PO),这些酶类在识别和消除异物、提高吞噬细胞的吞噬能力、促进机体代谢、提高机体免疫力和抗氧化能力等方面起重要作用,可以通过其变化来说明发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼免疫力的影响。本试验在基础饲料中添加不同水平的发酵浒苔进行投喂后,石斑鱼血清的免疫性能得到有效提高。已有研究表明,浒苔具有降低血脂、血糖、抗氧化作用,以及抗肿瘤活性,增强抵抗病原体的能力,提高免疫力等功效^[11]。徐安乐等^[29]采用超微粉碎浒苔作用于花鲈,得出在添加量为3%时可以显著提高花鲈血清和肝脏中的AKP活性和TP含量,显著提高了血清中的T-SOD和LZM活力。杨宁等^[31]研究了浒苔对仿刺参(*Apostichopus japonicus*)免疫力的影响,得出浒苔添加量为6%~9%时,可以显著提高仿刺参的ACP、AKP和SOD活性。由此可得,浒苔对水产动物机体可起到提高免疫作用。在本研究中,浒苔经发酵后,ACP、AKP以及T-SOD在添加量高于3%后有极大提高,且有逐渐增强趋势,极有可能是因为高剂量发酵浒苔添加量时,浒苔细胞壁被发酵细菌破坏,产生许多木质素分解酶和碳水化合物代谢酶,这些酶可以水解酚醛糖苷释放出游离的糖苷配基以提高机体抗氧化活性^[32],同时,发酵后的浒苔因细胞壁破裂,释放出更多的浒苔多糖,浒苔多糖可以显著提高机体免疫力,Wei等^[33]、韩学凤等^[34]研究均已证实了这一点,同时还有可能是浒苔中富含铁元素,被释放出来在机体形成螯合剂起到杀菌效果^[35]。对于血清中LZM和PO活性受发酵浒苔的影响不显著现象,很有可能是因为物种差异所致^[36]。

4.3 发酵浒苔对珍珠龙胆石斑鱼肠道消化酶活性的影响

发酵会影响蛋白酶、 α -淀粉酶以及其他酶的产生而对动物机体的消化能力产生影响^[37]。许多生化

物质经发酵后发生了变化,导致营养物质和抗营养物质含量发生变化,从而影响动物机体的生物活性和消化能力^[38]。对鱼类而言,其消化酶主要由胰腺分泌后进入肠道再发挥消化作用,鱼类的消化能力可以通过检测肠道消化酶活力来反映^[39]。本试验表明,对浒苔进行发酵后投喂石斑鱼,显著提高了其肠道中脂肪酶和胰蛋白酶活性,尤其在添加量为 2%~3% 时效果最佳,对于淀粉酶活性在添加量为 5% 时与对照组存显著性差异,说明发酵浒苔可以有效提高珍珠龙胆石斑鱼消化性能。高瞻等^[17]、杨春花和方希修^[25] 研究同样证实了发酵工艺能提高机体消化性能和对发酵底物的利用率的作用。浒苔可提高动物机体胃肠消化酶活性^[29],经发酵后效果更明显,可能的原因是因为浒苔本身具有相应物质能够影响机体肠道酶和蛋白质水平的表达,对消化酶的分泌有促进诱导作用,改善机体能量代谢和养分的利用^[40-41],经发

酵处理后,这种物质浓度得到充分提高并达到饱和,因此肠道消化酶活性在添加量高于 2% 后各试验组之间基本无显著性差异。发酵过程可以改变物质的碳源,可由种类较少的多糖转换为种类较多的单糖和二糖,如乳糖、半乳糖和低聚乳糖等,可以促进动物肠道中的的益生菌生长繁殖^[28,42],浒苔经发酵后,被石斑鱼吸收利用,其肠道益生菌可能得到繁殖,进而导致肠道消化能力提升,消化酶活性增强。在本试验中,认为添加 2%~3% 的发酵浒苔可以有效提高珍珠龙胆石斑鱼肠道消化酶活性。

5 结论

本试验条件下,向珍珠龙胆石斑鱼基础饲料中添加发酵浒苔可以明显提高其生长性能、非特异性免疫力及肠道中消化酶活力,综合各指标结果,建议发酵浒苔在饲料中添加量为 2% 左右。

参考文献:

- [1] 姚东瑞. 浒苔[M]. 北京: 海洋出版社, 2011: 1-20, 106-147.
Yao Dongrui. *Enteromorpha*[M]. Beijing: China Ocean Press, 2011: 1-20, 106-147.
- [2] 李信书, 徐军田, 姚东瑞, 等. 富营养化与生长密度对绿潮藻浒苔暴发性生长机制的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(8): 1206-1212.
Li Xinshu, Xu Tuntian, Yao Dongrui, et al. Effects of nitrogen and phosphorus on the growth, photosynthesis and pigments of *Ulva prolifera*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(8): 1206-1212.
- [3] Li Yinping, Cui Jiefen, Zhang Gaoli, et al. Optimization study on the hydrogen peroxide pretreatment and production of bioethanol from seaweed *Ulva prolifera* biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 214: 144-149.
- [4] Carpenter E J, Capone D G. Nitrogen in the Marine Environment[M]. New York: Academic Press, 1983.
- [5] 高嵩, 范士亮, 韩秀荣, 等. 浒苔绿潮与南黄海近岸海域水质的关系[J]. 中国环境科学, 2014, 34(1): 213-218.
Gao Song, Fan Shiliang, Han Xiurong, et al. Relations of *Enteromorpha prolifera* blooms with temperature, salinity, dissolved oxygen and pH in the Southern Yellow Sea[J]. *China Environmental Science*, 2014, 34(1): 213-218.
- [6] Scanlan C M, Wilkinson M. The use of seaweeds in biocide toxicity testing. Part 1. The sensitivity of different stages in the life-history of *Fucus*, and of other algae, to certain biocides[J]. *Marine Environmental Research*, 1987, 21(1): 11-29.
- [7] 王春忠, 孙富林, 侯代云, 等. 基于浒苔暴发海水池塘的微生物生态特征研究[J]. 海洋学报, 2017, 39(4): 107-116.
Wang Chunzhong, Sun Fulin, Hou Daiyun, et al. Study on the microbial characteristics of seawater pond based on *Enteromorpha* bloom[J]. *Haiyang Xuebao*, 2017, 39(4): 107-116.
- [8] 黄志俊. 浒苔固体快速发酵过程研究及产品开发[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Huang Zhijun. Study on the rapid solid fermentation of *Enteromorpha prolifera* and its product development[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [9] 杨欢, 黎中宝, 李元跃, 等. 厦门海域浒苔种类鉴定及其营养成分分析[J]. 中国渔业质量与标准, 2013, 3(4): 70-75.
Yang Huan, Li Zhongbao, Li Yuanyue, et al. Species identification and nutritional composition analysis of *Enteromorpha* in Xiamen coastal waters [J]. *China Fishery Quality and Standard*, 2013, 3(4): 70-75.
- [10] 张勇, 刘鹏霞, 程祥圣. 浒苔的利用和研究进展[J]. 海洋开发与管理, 2009, 26(8): 97-100.
Zhang Yong, Liu Pengxia, Cheng Xiangsheng. Progress in the usage and researches of *Enteromorpha* [J]. *Ocean Development and Management*, 2009, 26(8): 97-100.
- [11] 单俊伟, 刘海燕, 马栋. 浒苔的研究与资源化利用进展[J]. 现代农业科技, 2016(15): 258-260.
Shan Junwei, Liu Haiyan, Ma Dong. Research and resourcefulization application progress of *Enteromorpha* [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2016(15): 258-260.
- [12] 陈超, 孔祥迪, 李炎璐, 等. 棕点石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交子代胚胎及仔稚幼鱼发育的跟踪观察[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(5): 135-144.
Chen Chao, Kong Xiangdi, Li Yanlu, et al. Embryonic and morphological development in the larva, juvenile, and young stages of *Epinephelus*

- fuscoguttatus* (♀)×*E. lanceolatus* (♂)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(5): 135—144.
- [13] Yildirim Ö, Ergün S, Yaman S, et al. Effects of two seaweeds (*Ulva lactuca* and *Enteromorpha linza*) as a feed additive in diets on growth performance, feed utilization, and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2009, 15(3): 455—460.
- [14] Asino H, Ai Qinghui, Mai Kangsen. Evaluation of *Enteromorpha prolifera* as a feed component in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson, 1846) diets[J]. *Aquaculture Research*, 2011, 42(4): 525—533.
- [15] 卢青, 杨宁, 王正丽, 等. 饲料中添加浒苔对大菱鲆生长和非特异性免疫力的影响[J]. *青岛农业大学学报:自然科学版*, 2015, 32(1): 62—66.
- Lu Qing, Yang Ning, Wang Zhengli, et al. The effects of dietary *Enteromorpha prolifera* on the growth and non-specific immunity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Journal of Qingdao Agricultural University: Natural Science*, 2015, 32(1): 62—66.
- [16] 王万骞, 陈小金, 刘洋. 超微浒苔对凡纳滨对虾消化酶活力的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2015, 6(2): 472—477.
- Wang Wanqian, Chen Xiaojin, Liu Yang. Effect of ultramicro *Enteromorpha prolifera* on activity of digestive enzymes in *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2015, 6(2): 472—477.
- [17] 高瞻, 陈强, 黎中宝, 等. 饲料添加发酵浒苔对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)生长性能、消化酶活性和免疫的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2015, 46(6): 1549—1556.
- Gao Zhan, Chen Qiang, Li Zhongbao, et al. Effect of fermentation *Enteromorpha prolifera* on growth performance, digestive enzyme activities and serum non-specific immunity of *Lateolabrax japonicus*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2015, 46(6): 1549—1556.
- [18] 黎中宝. 饲料添加剂[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2004: 253—253.
- Li Zhongbao. *Feed Additives*[M]. Xiamen: Xiamen University Press, 2004: 253—253.
- [19] 钟礼云. 浒苔系列产品生理功能活性研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2008.
- Zhong Liyun. *Studies on the serial products of Enteromorpha with its activity and physiology functions*[D]. Fuzhou: Fujian Medical University, 2008.
- [20] 闫杰, 张欣, 孔晓静, 等. 饵料中浒苔添加量对梭鱼生长影响效果研究[J]. *饲料研究*, 2012(3): 64—65, 71.
- Yan Jie, Zhang Xin, Kong Xiaojing, et al. Research for the effects of dietary with *Enteromorpha* on the growth of *Barracuda*[J]. *Feed Research*, 2012(3): 64—65, 71.
- [21] Yousif O M, Osman M F, Anawhi A R, et al. Growth response and carcass composition of rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park) fed diets supplemented with dehydrated seaweed, *Enteromorpha* sp.[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2004, 16(2): 18—26.
- [22] 孙建凤, 赵军, 张治国, 等. 饲料中不同浒苔添加水平对肉鸡生长和屠宰性能的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2010, 42(7): 33—36.
- Sun Jianfeng, Zhao Jun, Zhang Zhiguo, et al. Effect of different dietary levels of *Enteromorpha prolifera* on the growth and slaughter performance of Broiler chicken[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2010, 42(7): 33—36.
- [23] 胡静, 朱亚骏, 朱风华, 等. 浒苔对生长育肥猪消化能及养分消化率的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2015, 51(3): 29—32.
- Hu Jing, Zhu Yajun, Zhu Fenghua, et al. Effects of *Enteromorpha prolifera* on digestive energy and nutrient digestibility and in growing-finishing swine[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2015, 51(3): 29—32.
- [24] 周蔚, 徐小明, 嵇珍, 等. 浒苔用作肉兔饲料的研究[J]. *江苏农业科学*, 2001(6): 68—69.
- Zhou Wei, Xu Xiaoming, Ji Zhen, et al. Research of dietary *Enteromorpha prolifera* on the meat rabbit[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2001(6): 68—69.
- [25] 杨春花, 方希修. 海藻发酵饲料对樱桃谷肉鸭生长性能的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2012(4): 81—82.
- Yang Chunhua, Fang Xixiu. Effect of seaweed fermentation feed on growth performance of cherry valley meat duck[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2012(4): 81—82.
- [26] Rickert D A, Meyer M A, Hu J, et al. Effect of extraction pH and temperature on isoflavone and saponin partitioning and profile during soy protein isolate production[J]. *Journal of Food Science*, 2004, 69(8): C623—C631.
- [27] 李晓, 王颖, 吴志宏, 等. 浒苔对刺参幼参生长影响的初步研究[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(5): 1092—1099.
- Li Xiao, Wang Ying, Wu Zhihong, et al. Effect of *Enteromorpha prolifera* on growth of *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(5): 1092—1099.
- [28] 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[J]. *水产学报*, 2015, 39(4): 547—556.
- Qin Bo, Chang Qing, Chen Shiqing, 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)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(4): 547—556.
- [29] 徐安乐, 蒋鹏达, 黎中宝, 等. 超微粉碎浒苔(*Enteromorpha prolifera*)对花鲈生长、非特异性免疫及消化酶活性的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2015, 46(6): 1494—1501.
- Xu Anle, Jiang Pengda, Li Zhongbao, et al. Effects of *Enteromorpha prolifera* ultrafine powders on growth performance, non-specific immunity and digestive enzyme activity of *Lateolabrax japonicus*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2015, 46(6): 1494—1501.
- [30] 李莉, 李春梅. 鱼类非特异性免疫研究进展[J]. *河南农业科学*, 2012, 41(2): 26—32.

- Li Li, Li Chunmei. Research progress on non-specific immune of fish[J]. Journal of Henan Agricultural Science, 2012, 41(2): 26–32.
- [31] 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[J]. 水产科学, 2016, 35(5): 498–503.
Yang Ning, Guo Zhongshuai, Wang Zhengli. Effect of dietary green laver *Enteromorpha prolifera* on growth, activity of digestive enzymes and immunity in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. Fisheries Science, 2016, 35(5): 498–503.
- [32] Ajila C M, Brar S K, Verma M, et al. Solid-state fermentation of apple pomace using *Phanerocheate chrysosporium*—Liberation and extraction of phenolic antioxidants[J]. Food Chemistry, 2011, 126(3): 1071–1080.
- [33] Wei Jianteng, Wang Shuxian, Liu Ge, et al. Polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* enhance the immunity of normal mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 64: 1–5.
- [34] 韩学风, 张志标, 林伯坤, 等. 浒苔多糖研究进展[J]. 汕头大学学报:自然科学版, 2014, 29(3): 46–50, 59.
Han Xuefeng, Zhang Zhibiao, Lin Bokun, et al. The study of *Enteromorpha* polysaccharides[J]. Journal of Shantou University: Natural Science, 2014, 29(3): 46–50, 59.
- [35] Umemura M, Kim J H, Aoyama H, et al. The iron chelating agent, deferoxamine detoxifies Fe(Salen)-induced cytotoxicity[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2017, 134(4): 203–210.
- [36] Campa-Córdova A I, Hernández-Saavedra N Y, Ascencio F. Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002, 133(4): 557–565.
- [37] Hur S J, Lee S Y, Kim Y C, et al. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods[J]. Food Chemistry, 2014, 160: 346–356.
- [38] Zhang Zuofa, Lv Guoying, Pan Huijuan, et al. Production of powerful antioxidant supplements via solid-state fermentation of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) by *Cordyceps militaris* [J]. Food Technology and Biotechnology, 2012, 50(1): 32–39.
- [39] Cahu C, Rønnestad I, Grangier V, et al. Expression and activities of pancreatic enzymes in developing sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in relation to intact and hydrolyzed dietary protein involvement of cholecystokinin [J]. Aquaculture, 2004, 238(1/4): 295–308.
- [40] 郭娜. 不同饲料对刺参(*Apostichopus japonicus*)生长、消化生理和能量收支的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Guo Na. Studies on the effects of different diets on growth, digestive physiology and energy budget of *Apostichopus japonicus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.
- [41] 朱新产, 王宝维, 张庭荣. 海藻多糖对肉鸡生长性能影响的研究[J]. 动物营养学报, 2002, 14(4): 54–58.
Zhu Xinchan, Wang Baowei, Zhang Tingrong. Studies on effect of *A. nodosum* polysaccharides on growth of broilers [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2002, 14(4): 54–58.
- [42] 辛跃强. 低聚半乳糖对肠道益生菌作用机理的研究[D]. 济南: 齐鲁工业大学, 2015.
Xin Yueqiang. Research on the mechanism of GOS applied to intestinal probiotics [D]. Ji'nan: Qilu University of Technology, 2015.

Effects of fermented *Enteromorpha prolifera* on growth performance, non-specific immunity and digestive enzyme activity of pearl gentian grouper

Xu Anle^{1, 2}, Li Zhongbao^{1, 2}, Shanguan Jingbo^{1, 2}, Hu Xiaowei^{1, 2}, Huang Yongchun^{1, 2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Marine Fishery Resources and Eco-environment, Xiamen 361021, China)

Abstract: To evaluate the effect of fermentation *Enteromorpha prolifera* on growth performance, digestive enzyme activities and serum non-specific immunity, 6 diets adding 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% fermentation *E. prolifera* were respectively fed to pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) (19.16 ± 0.25) g for 28 d. The results showed that with the increasing of fermentation *E. prolifera* level, the weight gain ratio (WGR) and the specific growth ratio (SGR) in each group showed a trend of first rising then falling, while the feed conversion ratio (FCR) was on the contrary. The WGR, SGR and FCR showed significantly better than the control group at the content of 2% ($P < 0.05$). Adding fermentation *E. prolifera* enhanced the activities of serum total Superoxide dismutase (T-SOD), Alkaline phosphatase (AKP) and acid phosphatase (ACP) significantly ($P < 0.05$), but no significant differences were found in the activities of Lysozyme (LZM) and Polyphenol Oxidase

(PO) between trials ($P>0.05$). With the addition of fermentation *E. proliferans*, the activity of amylase, lipase and trypsin were significantly increased ($P<0.05$), and the best level is 2%–3%. In conclusion, fermentation *E. proliferans* can obviously promote the growth performance, improved the activity of non-specific immunity enzyme in the serum and digestion enzyme in the gut, it is recommended the amount adding is about 2%.

Key words: fermented *Enteromorpha proliferans*; pearl gentian grouper; growth; digestive enzyme activity; non-specific immunity