

古倩怡,周天成,李袁源,等. 不同酶制剂对卤虫体长、死亡率和干质量的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(11):148-150 .
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.11.038

不同酶制剂对卤虫体长、死亡率和干质量的影响

古倩怡¹,周天成²,李袁源¹,何 凯¹,李洪武¹,张利平³,李仕平⁴

(1. 海南大学/南海海洋资源利用国家重点实验室,海南海口 570228; 2. 中国科学院大学,北京 100049;
3. 海口科品生物科技有限公司,海南海口 570208; 4. 海南省海口市水产技术推广站,海南海口 570125)

摘要:研究不同酶制剂对卤虫体长、干质量和死亡率 3 个方面的影响。结果表明,在卤虫体长试验中,除 2.0 g/L 复合酶制剂试验组外,相较于空白组,其他浓度酶制剂试验组的卤虫体长均有较明显的增长,酶制剂试验组的促进作用明显;在干质量试验中,0.5 g/L 复合酶制剂试验组的增质量效果较其他组最优,达(15.6 ± 0.2) mg;在死亡率试验中,1.0 g/L 复合酶制剂试验组具有明显降低死亡率的作用,但葡萄糖氧化酶制剂组死亡率低于复合酶和空白组。高浓度复合酶制剂抑制了卤虫生长,并提高了死亡率,但低浓度复合酶制剂对卤虫体长和干质量的促进作用和降低死亡率效果明显。

关键词:酶制剂;卤虫;体长;干质量;死亡率

中图分类号: S188⁺.3;S963.21⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)11-0148-03

酶制剂可分为单一酶制剂和复合酶制剂,作为一种生物活性物质广泛应用于畜牧业、农业,越来越多的人发现酶制剂具有发展潜力,将其应用于水产动物养殖,取得了良好成效^[1-5]。酶制剂不仅能促进营养物质的分解和消化,还能提高饵料利用率,最重要的是酶制剂的加入能够有效改善水产动物的健康状态,可以在一定程度上降低水体中 N、P 等元素的浓度,加速排泄物中不良消化物的分解,起到净化水体的作用^[6-9]。卤虫(*Artemia salina*)是一种较为低等的甲壳类动物,主要以水中的浮游藻类和细小碎屑为食,最适温度 22 ~ 28 ℃,富含蛋白质和脂肪酸,是水产养殖产品的优质活饵料,也是许多水产养殖产品幼体理想的开口饵料,具有广阔的应用前景^[10]。在培养卤虫时加入酶制剂,虽然一定程度上提高了经济成本,但能够有效地改善卤虫生活水体的环境,提高卤虫的免疫能力,而且利用卤虫饲养的鱼类及其他水产经济作物的免疫能力和健康情况等也能够获得相应的提升,既能抑制抗生素滥用的情况,又能实现生态效益和经济效益的最优化,形成良性循环^[11-12]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

收稿日期:2017-09-27

基金项目:国家自然科学基金(编号:41566002);海南省自然科学基金(编号:20154173);海南省高等学校科学研究项目(编号:Hnky2016ZD-4);海南省重点研发计划(编号:ZDYF2016154);海南省研究生创新科研课题(编号:Hys2016-18);海南大学研究生实践创新项目;海南大学大学生创新创业训练计划(编号:201710589185)。

作者简介:古倩怡(1993—),女,广东东莞人,硕士研究生,主要从事海洋生物资源保护与开发利用研究。E-mail: guqianyi2011@163.com。

通信作者:李洪武,博士,研究员,主要从事海洋生物资源保护与开发利用研究。E-mail:13700419733@163.com。

1.1.1 葡萄糖氧化酶制剂母液的制备 称取 10.00 g 葡萄糖氧化酶制剂,溶于少量水中,全量移至 100 mL 容量瓶,稀释至标线,混匀后盛于聚乙烯瓶,得 100 g/L 葡萄糖氧化酶母液,置于冰箱冷藏备用。

1.1.2 复合酶制剂母液的制备 称取 10.00 g 复合酶制剂,溶于少量水中,全量移至 100 mL 容量瓶,稀释至标线,混匀后盛于聚乙烯瓶,得 100 g/L 复合酶母液,置于冰箱冷藏备用。

1.1.3 藻类的培养 本试验饲养卤虫投喂的饵料为小球藻,藻类培养液为宁波 3 号培养液^[13],海水经高温消毒灭菌。

1.1.4 卤虫的培养 利用 0.005% 高锰酸钾溶液消毒孵化培养容器,再用灭菌海水冲洗浸泡,然后在孵化培养装置里加入经高温灭菌的天然海水。加入适量卤虫卵,孵化温度为 25 ℃,pH 值为 7 ~ 8,自然光照,曝气 24 h,即可得到孵化出的卤虫幼体。迅速将卤虫幼体转移至新鲜海水,投喂小球藻^[14]。

1.2 试验方法

在每组试验中,将 2 000 mL 天然海水加入 3 000 mL 烧杯,每个烧杯内投放培养的 1 日龄卤虫幼体密度为 0.2 ind./mL(即每个烧杯内有 400 头卤虫幼体)。培养温度为 25 ℃,pH 值为 7 ~ 8,自然光照,每天定时投饵,定期清理烧杯底部沉淀并换水,避免影响水质,每次试验周期为 21 d^[15]。

1.2.1 不同酶制剂对卤虫体长的影响 结合台微尺计算目微尺每格所代表的实际长度。每次换水时随机取 10 头卤虫,用鲁戈氏液染色固定后制片,在带有目微尺的光学生物显微镜(北京泰克仪器 SA 3000)下测量体长,计算各个时期卤虫体长,直至形成性成熟(21 日龄)^[16]。

1.2.2 不同酶制剂对卤虫死亡率的影响 每次换水前停止充气 30 min,待死亡卤虫尸体和碎屑沉底后将其吸出,记录死亡卤虫数量,计算卤虫的存活率^[17]。

1.2.3 不同酶制剂对卤虫干质量的影响 每次换水时随机取 10 头卤虫,用滤纸吸干并烘干,用分析天平[赛多利斯科

学仪器(北京)LA230S 型]称量其质量,计算各个时期卤虫的增质量,直至性成熟(21 日龄)^[18]。

1.3 试验时间和地点

2016 年 2 月在海南大学海洋学院二楼开展试验。

2 结果与分析

2.1 不同酶制剂对卤虫体长的影响试验

定期测量卤虫体长,直至卤虫 21 日龄,记录试验结果,根据卤虫体长测量结果绘制体长变化曲线图(图 1)。与空白组相比,加酶组卤虫受酶影响较大,体长大部分有显著增加,有 87.5% 卤虫的体长有显著提高,但 2.0 g/L 复合酶制剂组呈现出对卤虫体长的抑制作用;葡萄糖氧化酶制剂组与复合酶制剂组相比,复合酶制剂组的试验效果较好,1.0 g/L 复合酶制剂组试验效果最佳,对卤虫体长促进效果最优,0.5 g/L 复合酶制剂组试验效果次之。试验初期(7 日龄前)各组对比不明显,从试验中期(7 日龄后)开始各试验组间对比明显,试验后期(14 日龄后)各组对比显著,并且 1.0 g/L 复合酶制剂对卤虫体长的促进作用效果最为显著。

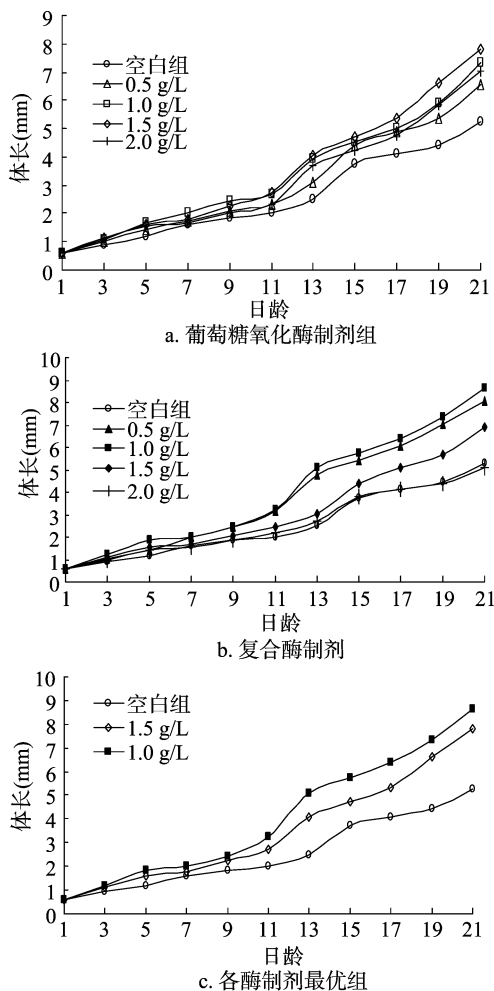


图1 不同酶制剂对卤虫体长的影响

2.2 不同酶制剂对卤虫死亡率的影响

定期吸取各组的底部碎屑与死亡卤虫尸体,记录卤虫死亡数量,计算卤虫存活率并绘制存活率曲线图(图 2)。空白组与各加酶组的死亡率走势大体相同,呈下降趋势。但各组

受影响差异程度较大,有的试验组效果显著,极大降低了卤虫死亡率;有的试验组卤虫的死亡率提高近 1/2。葡萄糖氧化酶制剂组总体表现较优,对卤虫死亡率均有不同程度的作用,复合酶制剂组虽有 2 组的死亡率远高于空白组,但另外 2 组复合酶制剂的死亡率是各试验组中最低的,且 1.0 g/L 复合酶制剂组死亡率低至 17.37%,死亡率减少近 1/3,效果显著。

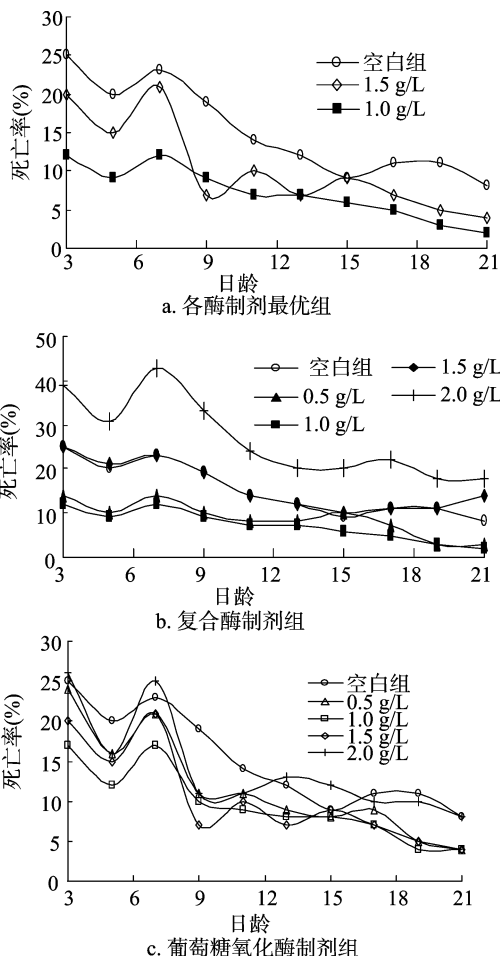


图2 不同酶制剂对卤虫死亡率的影响

2.3 不同酶制剂对卤虫干质量的影响试验

烘干后称量卤虫的干质量并记录,根据干质量结果绘制柱形图(图 3),对比空白组与各试验组的 21 日龄卤虫干质量。与空白组相比,加酶组卤虫干质量增加显著,87.5% 卤虫干质量增长显著;与空白组对比,各葡萄糖氧化酶制剂组均呈显著增长,其中 1.5 g/L 葡萄糖酶制剂组在葡萄糖氧化酶制剂组表现最优,干质量达 14.9 mg;复合酶制剂组中,1.5 g/L 复合酶制剂组表现最优,干质量达 16.9 mg,但 2.0 g/L 复合酶制剂组干质量略低于空白组。总体而言,葡萄糖氧化酶制剂组整体表现优于复合酶制剂组,但复合酶制剂组在一定浓度下提高干质量效果显著,1.0 g/L 复合酶制剂组 21 日龄卤虫质量达 16.9 mg。

3 讨论与结论

3.1 酶制剂中酶含量对试验效果的影响

酶具有高效性,在低浓度下能够发挥较高的催化效率,实

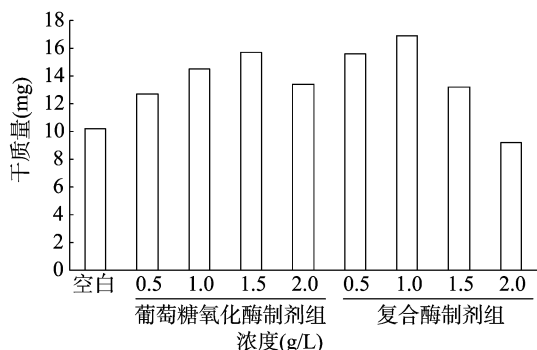


图3 不同酶制剂对卤虫干质量的影响

现能量的转化^[19]。酶制剂为粗酶,酶含量较少,制作过程中为了便于运输和储存,掺杂了许多成分如糊精等,降低了酶制剂中的有效成分——酶的含量,从而导致试验用酶制剂浓度偏高^[20-21]。研究发现,酶制剂浓度从 10 mg/L 开始,卤虫体长、干质量和死亡率等均受各组酶制剂的作用产生些许变化,为探究试验酶制剂最适浓度,在浓度的选择上也稍高。酶制剂浓度越高,成本越高,但从实际产出的角度出发,适度地提高酶制剂的浓度,才能够达到更为理想的生产效果、实现产出的最优化。

3.2 酶制剂对卤虫的作用机制

酶具有专一性,对特定的底物产生催化作用。复合酶在促进体长、干质量和降低死亡率方面,较葡萄糖氧化酶而言,表现更为理想。复合酶制剂含有蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、木聚糖酶、 β -葡聚糖酶等,葡萄糖氧化酶制剂只含有 1 种酶,即葡萄糖氧化酶。经过观察发现,孵化初期的卤虫消化道较短小,发育不够完善,其体内的消化酶较少,对小球藻的转化率较低,所以早期各组卤虫的体长和干质量并无较大差别。自中期开始至试验结束,卤虫在各浓度酶制剂作用下体长、干质量和存活率有显著差异。可能是因为卤虫从中期开始,肠道渐渐发育完全,小球藻含有大量淀粉、蛋白质和纤维素,复合酶制剂的加入补充解决了多种内源性消化酶分泌不足的问题,而复合酶制剂只能针对性地解决 1 种,从而最大程度提高营养成分的利用效率,提高复合酶制剂组卤虫的体长和干质量^[22-24]。2 种酶制剂不同程度上都具有提高卤虫的免疫力、抗病能力和存活率,实践应用和科学研究应根据相应需求选择对应的酶制剂以获得理想的效果。

参考文献:

- [1] 柴仙琦,冷向军,张民,等. 酶制剂在水产饲料中的应用及研究进展[J]. 饲料工业,2014,2(2):33-36.
- [2] Talpur A D, Ikhwannuddin M, Abdullah M D D, et al. Indigenous *Lactobacillus plantarum* as probiotic for larviculture of blue swimming crab, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758): effects on survival, digestive enzyme activities and water quality[J]. Aquaculture, 2013, 416/417(2):173-178.
- [3] 钟国防,韩斌,华雪铭,等. 暗纹东方鲀对几种蛋白质原料表观消化率及酶制剂对其消化能力的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2012,21(2):241-246.
- [4] 余丰年,王道尊,徐洪杰. 纤维素酶对团头鲂生长及饲料利用的影响[J]. 上海水产大学学报,2001,10(1):90-92.

- [5] 任鸣春,贾文锦,戈贤平,等. 饲料不同淀粉水平对团头鲂成鱼生长性能、消化酶活性及肌肉成分的影响[J]. 水产学报,2014,38(9):1494-1502.
- [6] 周克勇,刘长忠,黄建. 益生菌和酶制剂组合使用对鲤鱼生长性能影响的研究[J]. 淡水渔业,2000(12):37-40.
- [7] 刘文斌. 饲料酶在水产动物中的应用研究[J]. 中国饲料,2001(13):18-19.
- [8] 冯定远,黄燕华. 水产动物酶制剂特殊性与技术体系的建立[J]. 饲料工业,2011,32(8):1-4.
- [9] 王仁华,刘晓兰,王珍韩. 水产动物纤维素酶的应用研究[J]. 饲料研究,2011(12):62-64.
- [10] Serdakowski A L, Dordick J S. Enzyme activation for organic solvents made easy[J]. Trends in Biotechnology, 2008, 26(1):48-54.
- [11] Solorzano Y, Teresa V M, Lopez L M, et al. Response of newly hatched octopus *bimaculoides* fed enriched *Artemia salina*: growth performance, ontogeny of the digestive enzyme and tissue amino acid content[J]. Aquaculture, 2009, 289(1/2):84-90.
- [12] 罗国芝,姚妙兰,鲁璐,等. 利用循环水养殖固体废物进行卤虫幼体营养强化的效果研究[J]. 上海海洋大学学报,2015,24(3):350-356.
- [13] 李洪武,宋培学. 海洋浮游生物学[M]. 2版. 合肥:中国科学技术大学出版社,2015:168-171.
- [14] 潘茜,叶金云,陈建明. 不同饲料对南京丰年虫生长和生殖的影响[J]. 淡水渔业,2006(1):36-38.
- [15] 公略,孔凡洲,王云峰,等. 秦皇岛海域“褐潮”海水对卤虫、轮虫存活和摄食的影响研究[J]. 海洋科学,2015,39(4):30-36.
- [16] Hamza F, Vaidya A, Apte M, et al. Selenium nanoparticle-enriched biomass of *Yarrowia lipolytica* enhances growth and survival of *Artemia salina*[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2017, 106:48-54.
- [17] Marcoval M A, Pan J, Tang Y Z, et al. The ability of the branchiopod, *Artemia salina*, to graze upon harmful algal blooms caused by *Alexandrium fundyense*, *Aureococcus anophagefferens*, and *Cochlodinium polykrikoides* [J]. Estuarine Coastal and Shelf Science, 2013, 131(11):235-244.
- [18] Katan T, Nash G W, Rise M L, et al. A little goes long way: improved growth in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed small amounts of wild zooplankton [J]. Aquaculture, 2016, 451:271-282.
- [19] 冯定远,谭会泽,王修启,等. 饲用酶制剂作用的分子营养学机理与加酶日粮 ENIV 系统的分子生物学基础[J]. 饲料工业, 2006(24):1-6.
- [20] 禹慧明,林勇,徐有良,等. 酶制剂的特点与质量评价[J]. 中国饲料,2002(14):14-16.
- [21] 李敬,李晓洁,宫官,等. 如何评价酶制剂在饲料行业中的应用效果[J]. 饲料工业,2017,38(4):21-24.
- [22] 董黎明,汪苹,李金穗,等. 异养小球藻主要营养成分及氨基酸组成分析[J]. 食品科学,2012,33(3):232-237.
- [23] 陈勇,张慧玲. 酶制剂的促生长机理[J]. 中国饲料,1999(21):21-22.
- [24] 汪傲. 饲用酶制剂的作用机制[J]. 饲料工业,2001(11):1-3.