

文章编号: 1674-5566(2010)02-0145-06

鳊(♀) × 斑鳊(♂) 杂种 F₁ 的形态特征 与微卫星分析

宓国强¹, 赵金良², 贾永义¹, 邓燕飞², 练青平¹, 王雨晨¹

(1. 浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001;

2. 上海海洋大学农业部水产种质资源与利用重点开放实验室, 上海 201306)

摘要:2006-2008年,在浙江湖州开展了鳊(*Siniperca chautsi*)与斑鳊(*Siniperca scherzeri*)的种间杂交试验,并成功获得了鳊(♀) × 斑鳊(♂)杂种 F₁。通过对杂种 F₁ 与其亲本的形态差异比较和微卫星标记分析,探讨了杂种 F₁ 的性状变异和遗传特征。结果表明:(1)7个可数性状中,杂种 F₁ 的背鳍条、腹鳍条和胸鳍条数与父母本一致,臀鳍条、鳃耙数与母本基本一致,侧线鳞、幽门盲囊数目介于父、母本之间;10个可量性状的平均杂种指数为39.08,显示杂种 F₁ 的可量性状略偏向母本;框架参数和可量性状的聚类分析、判别分析和主成份分析表明,杂种 F₁ 的体型介于父、母本之间,略倾向于母本,主要表现在躯干部和尾部的差异。(2)5对微卫星引物分析表明,杂种 F₁ 的等位基因均来源于双亲,杂交子代的遗传符合孟德尔遗传规律,属两性融合生殖,是真正意义上的杂交种。

关键词:鳊;斑鳊;种间杂交;形态特征;微卫星

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

Morphological and microsatellite analysis of *Siniperca chautsi* ♀ × *Siniperca scherzeri* ♂ hybrid with their parents

MI Guo-qiang¹, ZHAO Jin-liang², JIA Yong-yi¹, DENG Yan-fei²,
LIAN Qing-ping¹, WANG Yu-chen¹

(1. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China;

2. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Utilization, Ministry of Agriculture,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The interspecific crossing between *Siniperca chautsi* ♀ × *Siniperca scherzeri* ♂ was successfully obtained in Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries from 2006 to 2008. Comparative analysis of morphological characteristics and microsatellite markers were carried out to clarify the morphological and genetic differences between the hybrid F₁ and their parents. The results are as follows: (1) Among seven meristic characters, the branched ray of dorsal fin, pectoral fin and pelvic fin in the hybrid F₁ resemble *S. scherzeri*, the branched ray of anal fin, the number of the first gill arch in the hybrid F₁ are close to *S. chautsi*; the numbers of lateral-line scales and pyloric caeca in the hybrid F₁ are intermediate between *S. chautsi* and *S. scherzeri*. The calculated average hybrid index (HI) of ten metric traits is 39.08, which

收稿日期:2009-08-10

基金项目:浙江省科技厅重点项目(2006F12004);上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介:宓国强(1960-),男,高级工程师,主要从事水产新品种开发与育种方面的研究。E-mail:zjmgq@163.com

通讯作者:赵金良,E-mail:jlzhao@shou.edu.cn

indicates the metric traits of the hybrid F_1 are close to *S. chautsi*. Cluster analysis, discriminant analysis and principal component analysis on the meristic characters data and the truss network data indicate that the hybrid F_1 resemble *S. chautsi*. The characters from the trunk and caudal parts are the main factors in discriminating the hybrid with their parents. (2) Five pairs of microsatellite primers give clear bands in both the hybrid F_1 and their parents. Genotypes expressed in the hybrid F_1 follow the Mendelian inheritance, Thus, the hybrid F_1 are confirmed as the indeed hybrids by genetic analysis. These results will be useful for the further work on the hybridization breeding and management of the hybrids.

Key words: *Siniperca chautsi*; *Siniperca scherzeri*; interspecific crossing; morphological characteristics; microsatellite marker

杂交是水产养殖中广泛应用的育种途径之一。杂交不仅能丰富遗传结构,使不同类型亲本的优良性状得以结合,提高杂种的生长性能,而且能产生亲本所未出现过超亲代的优良性状,获得超亲代的杂种优势^[1-2],这已在鱼类人工杂交育种方面的研究和实践中取得了成功^[2-7]。鳊(*Siniperca chautsi*)和斑鳊(*Siniperca scherzeri*)同属于鲴形目鳊属鱼类,广泛分布于我国内陆水域^[8]。鳊生长速度快,以活饵为食,是目前鳊鱼养殖的主要品种,但常常因暴发性疾病给养殖生产带来巨大的经济损失,严重阻碍了鳊鱼养殖的正常发展^[9]。斑鳊生长速度较慢,网箱养殖中驯养后能摄食鱼块,并有较强的抗病力,目前,尚处于养殖初期。为此,2006-2008年,我们通过鳊(♀)×斑鳊(♂)杂交实验获得了杂种 F_1 ,生产试验表明杂种 F_1 具有双亲优良的养殖经济性状。本文主要报道了鳊、斑鳊及其杂种 F_1 的形态特征与微卫星分析,旨在为鳊鱼遗传育种与科学管理提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2007年底,选取鳊(♀)×斑鳊(♂)杂种 F_1 及其亲本各30尾作为实验鱼,体重、体长见表1,用于形态特征分析。

表1 实验鱼基本情况

Tab.1 Samples of the experimental fishes

种类	数量 (ind.)	体重 (g)	体长 (cm)
斑鳊	30	396.369 ± 111.421	25.27 ± 2.07
鳊	30	439.885 ± 109.299	23.82 ± 2.40
杂种	30	255.101 ± 59.201	20.56 ± 1.60

用于微卫星分析的材料为母本鳊2尾、父本斑鳊3尾及其杂种 F_1 11尾,新鲜组织或活体保存于低温冰箱中。

1.2 实验方法

1.2.1 形态分析

形态度量指标包括7个可数性状、10个常规可量性状和15个框架参数。可数性状直观计数,框架测定位点的选择主要参考Hockday等^[10]的方法,如图1所示。数据采集及处理,参照顾志敏等方法^[11]。

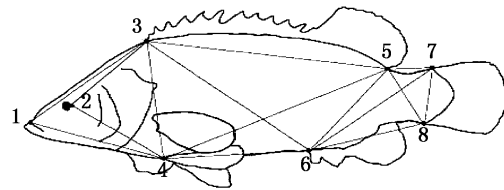


图1 框架测量图

Fig. 1 Drawing of measuring truss network

1.2.2 微卫星标记分析

采用传统酚/氯仿法抽提总DNA^[12]。

经预筛选12对微卫星引物,获得5对带型清晰、共显性的微卫星引物(表2)。引物MicroA、MicroB和MicroC参照文献[13],引物MicroD、MicroE分别参照本实验室克隆的斑鳊胃蛋白酶原C基因内含子、质子泵 β 亚基的3'非翻译区微卫星序列设计。引物由上海捷瑞生物工程技术服务有限公司合成。

PCR反应体系为: ddH₂O 20.175 μ L, 10 × buffer 2.5 μ L, 10 mmol/L dNTP 0.2 μ L, 10 μ mol/L的引物0.5 μ L, 浓度为50~100 ng基因组DNA 1 μ L, Ex Taq 0.125 μ L, 反应总体积为25 μ L。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 3 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 56~58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 30个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。各取4 μ L

PCR 反应产物经 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,银染后拍照。

表 2 微卫星引物序列、退火温度及微卫星 GenBank 序列号与重复序列
Tab. 2 Nucleotide sequences and annealing temperature of microsatellite primers, GenBank access No. and repetitive sequences of the five microsatellites

引物	序列(5'~3')	退火温度	GenBank 序列号	重复序列
MicroA	F:5'CACTCACGTTGTTCAGTTTATCAC 3' R:5'TCCCTCGTTTCAGCTTC 3'	57 °C	DQ789291	ATCT
MicroB	F:5'CCGTCCTTCTTCTCTGTGTC 3' R:5'GTTTCGGTTGTTGGAAGGTGC 3'	57 °C	DQ789277	AATC
MicroC	F:5'ACCTCTCTCTGCCTGTGCTT 3' R:5'CGCACTCAGACTGCTCACTC 3'	56 °C	DQ789296	GACA
MicroD	F:5'GGAGCCAACAACCAAGTATG 3' R:5'TGGTGGCTTACTTTTCTACTGC 3'	58 °C		GACA
MicroE	F:5'AACCCAACAGCATAGGCCAC 3' R:5'GTAGCTTCCCTCTGACACCCT 3'	60 °C		TATC

微卫星数据采用 PopGene (Version 3.2) 软件统计,并根据群体间遗传距离构建 UPGMA 树。

2 结果与分析

2.1 形态特征

鳊、斑鳊及其杂种 F₁ (鳊♀×斑鳊♂) 的形态见图 2 所示。从图 2 中可知杂种 F₁ (1) 体型匀称,背部略隆起,侧扁,体形介于父、母本之间;(2) 口大,端位,口斜裂,下颌突出于上颌;(3) 除尾鳍外的各鳍鳍棘均较强大,尾鳍圆形,与父母

本一致;(4) 体被小圆鳞,面颊下部亦被鳞,侧线完全;(5) 体色黄绿色至黄褐色,腹部黄白,介于父母本之间;(6) 头背部及鳃盖上密具黑色小斑,体侧稀疏分布有不规则的黑褐色斑点或斑块,较父本斑鳊少,且斑点形状零乱。尾鳍斑点整齐排成 5 列,与父本斑鳊相似;(7) 背鳍第 V~VII 棘的下方有 1 较宽的黑褐色横纹伸直胸鳍基部后方,且背鳍下方有两个大的黑色斑块,与母本鳊一致。

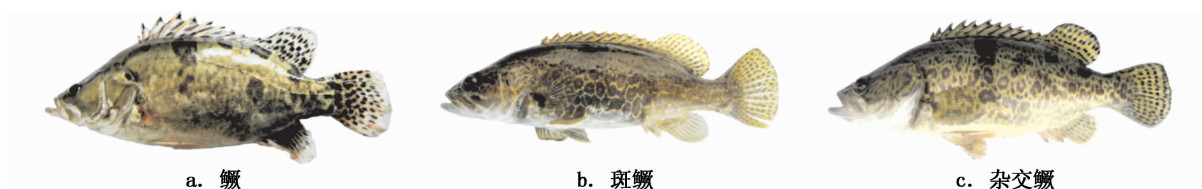


图 2 鳊、斑鳊及其杂种 F₁ (鳊♀×斑鳊♂) 的形态

Fig. 2 Morphology of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrid and their parents

2.2 可数性状

鳊、斑鳊及其杂种 F₁ 的 7 个可数性状数据比较见表 3。由表 3 中可知,在可数性状中,杂种 F₁ 的背鳍条 (XI~XII, 1, 12~14)、腹鳍条 (I, 5) 和胸鳍条 (1, 13~15) 均与父母本基本一致;杂种 F₁ 的臀鳍条 (III, 10) 与母本的臀鳍条 (III~IV, 10~11) 基本一致,而与父本的臀鳍条 (III, 9) 不一致。杂种 F₁ 的侧线鳞 (110~125), 介于父母本两者之间。杂种 F₁ 的鳃耙 (6~7) 与母本鳊 (6~7) 一致,但与父本斑鳊 (4~5) 不一致。杂种 F₁ 的幽

门盲囊数 (100~120) 介于父母本之间,且差异显著。

2.3 可量性状

鳊、斑鳊及其杂种 F₁ 的 10 个传统可量性状的平均值、杂种指数和各性状的差异显著性见表 4。由表 4 可知,杂种 F₁ 与父母本在眼间距/头长等性状无显著性差异;杂种 F₁ 与父母本在体厚/体长、尾柄高/尾柄长、体高/体长等性状差异显著;与父本在吻长/头长、体长/全长等性状差异显著,但与母本差异不显著;与母本在眼径/头长

等性状差异显著,但与父本差异不显著。其中杂种 F_1 的眼间距/头长、体长/全长、体高/体长等性状的杂种指数小于 50,偏向母本,体厚/体长杂种指数小于 0,超母本偏离;杂种 F_1 的尾柄高/尾柄

长、眼径/头长杂种指数大于 50,偏向父本,吻长/头长杂种指数大于 100,超父本偏离。综合这 10 个可量性状,其平均杂种指数为 39.08,显示杂种 F_1 的可量性状略偏向母本鳊。

表 3 鳊、斑鳊及其杂种 F_1 (鳊♀ × 斑鳊♂) 的 7 个可数性状比较
Tab. 3 Meristic characters of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrid and their parents

种类	背鳍	胸鳍	腹鳍	臀鳍	侧线鳞	鳃耙	幽门盲囊
鳊	X ~ XI, 1, 14 ~ 15	1, 12 ~ 15	I, 5	III ~ IV, 10 ~ 11	117 ~ 130	6 ~ 7	150 ~ 240
斑鳊	XII, 1, 14 ~ 15	1, 12 ~ 15	I, 5	III, 9	108 ~ 119	4 ~ 5	75 ~ 89
杂种 F_1	XI ~ XII, 1, 12 ~ 14	1, 13 ~ 15	I, 5	III, 10	110 ~ 125	6 ~ 7	100 ~ 120

表 4 鳊、斑鳊及其杂种 F_1 (鳊♀ × 斑鳊♂) 的可量性状比较
Tab. 4 Proportional values of some metric characters of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrids and their parents

指标	斑鳊			鳊			杂种 F_1			HI
	平均	范围	C. V	平均	范围	C. V	平均	范围	C. V	
IW/HL	0.26 ± 0.04	0.14 ~ 0.36	17.02	0.44 ± 0.61	0.27 ~ 3.65	137.7	0.38 ± 0.13	0.28 ~ 0.98	34.45	35.67
BW/SL	0.42 ± 0.05 ^a	0.34 ~ 0.51	10.83	0.49 ± 0.05 ^b	0.39 ~ 0.63	11.23	0.55 ± 0.19 ^c	0.40 ~ 1.28	33.75	-96.46
SnL/HL	0.20 ± 0.02 ^a	0.18 ~ 0.27	8.23	0.19 ± 0.02 ^a	0.16 ~ 0.22	8.42	0.23 ± 0.07 ^b	0.18 ~ 0.55	32.46	349.84
SL/TL	0.87 ± 0.01 ^a	0.85 ~ 0.88	1	0.87 ± 0.01 ^b	0.86 ~ 0.89	0.78	0.87 ± 0.01 ^b	0.86 ~ 0.94	1.6	11.26
CD/CL	0.63 ± 0.07 ^a	0.51 ~ 0.86	11.37	0.78 ± 0.06 ^b	0.64 ~ 0.96	7.98	0.69 ± 0.11 ^c	0.57 ~ 1.23	15.96	60.53
BD/SL	0.30 ± 0.01 ^a	0.27 ~ 0.33	4.3	0.39 ± 0.02 ^b	0.35 ~ 0.43	4.79	0.36 ± 0.02 ^c	0.31 ~ 0.39	4.94	38.78
ED/HL	0.18 ± 0.01 ^a	0.15 ~ 0.20	7.53	0.13 ± 0.01 ^b	0.09 ~ 0.15	10.31	0.16 ± 0.06 ^a	0.11 ~ 0.45	39.53	73.89
平均值	0.34 ± 0.02	0.30 ~ 0.38	5.88	0.37 ± 0.05	0.32 ~ 0.57	13.09	0.36 ± 0.04	0.32 ~ 0.50	10.17	39.08

注: C. V 为变异系数; HI 为杂种指数; IW 为眼间距; HL 为头长; BW 为体厚; SL 为体长; CD 为尾柄高; CL 为尾柄长; BD 为体高; SnL 为吻长; TL 为全长; ED 为眼径; 同一列数字的右上角字母相同表示差异不显著, 字母不同表示差异显著。

2.4 聚类分析和判别分析

对鳊、斑鳊及其杂种 F_1 的 15 个形态框架参数和可量性状的校正值进行聚类分析和判别分析。聚类分析表明, 母本鳊与父本斑鳊间的距离最大, 为 0.282, 其次是杂种 F_1 与斑鳊间的距离 (0.239), 杂种 F_1 与鳊间的距离最短 (0.226), 显示杂种 F_1 的形态偏向于母本鳊。逐步判别分析显示, 有 9 个变量用于各群体的判别, 判别准确率为 100%。

2.5 微卫星分析结果

5 对微卫星引物在鳊、斑鳊及其杂种 F_1 中都扩增出了清晰的条带, 扩增片段的大小范围为 110 ~ 353 bp, 5 个微卫星位点在父、母本和杂种 F_1 中共发现 11 个等位基因和 15 种基因型 (图 4)。MicroA 座位中母本呈现多态性, 父本杂合型, 可判别杂交子代 F_1 、 F_3 和 F_7 为 η_1 的后代, F_2 、 F_4 - F_6 、 F_8 - F_{11} 为 η_2 的后代。引物 MicroB 和 MicroC 中, 父母本均为纯合型, 而杂种 F_1 为杂合型, 父、母本条带同时出现, 是亲本与杂种 F_1 相互区别的最佳分子标记。引物 MicroD 和 MicroE

中, 母本均为纯合型, 父本均为杂合型, 其中 MicroD 位点中父母本的 3 个等位基因通过杂交在杂种 F_1 中产生与双亲不同的 2 种基因型, 也是区别亲本和杂种 F_1 的最佳分子标记。

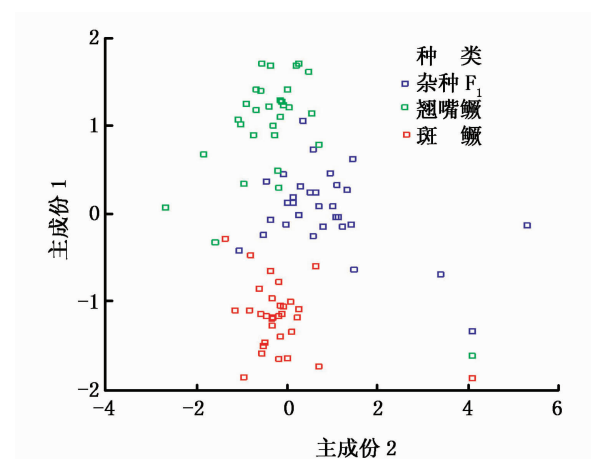


图 3 鳊、斑鳊及其杂种 F_1 (鳊♀ × 斑鳊♂) 的主成分散点图

Fig. 3 Discriminant analysis of adjusted parameter of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrid and their parents

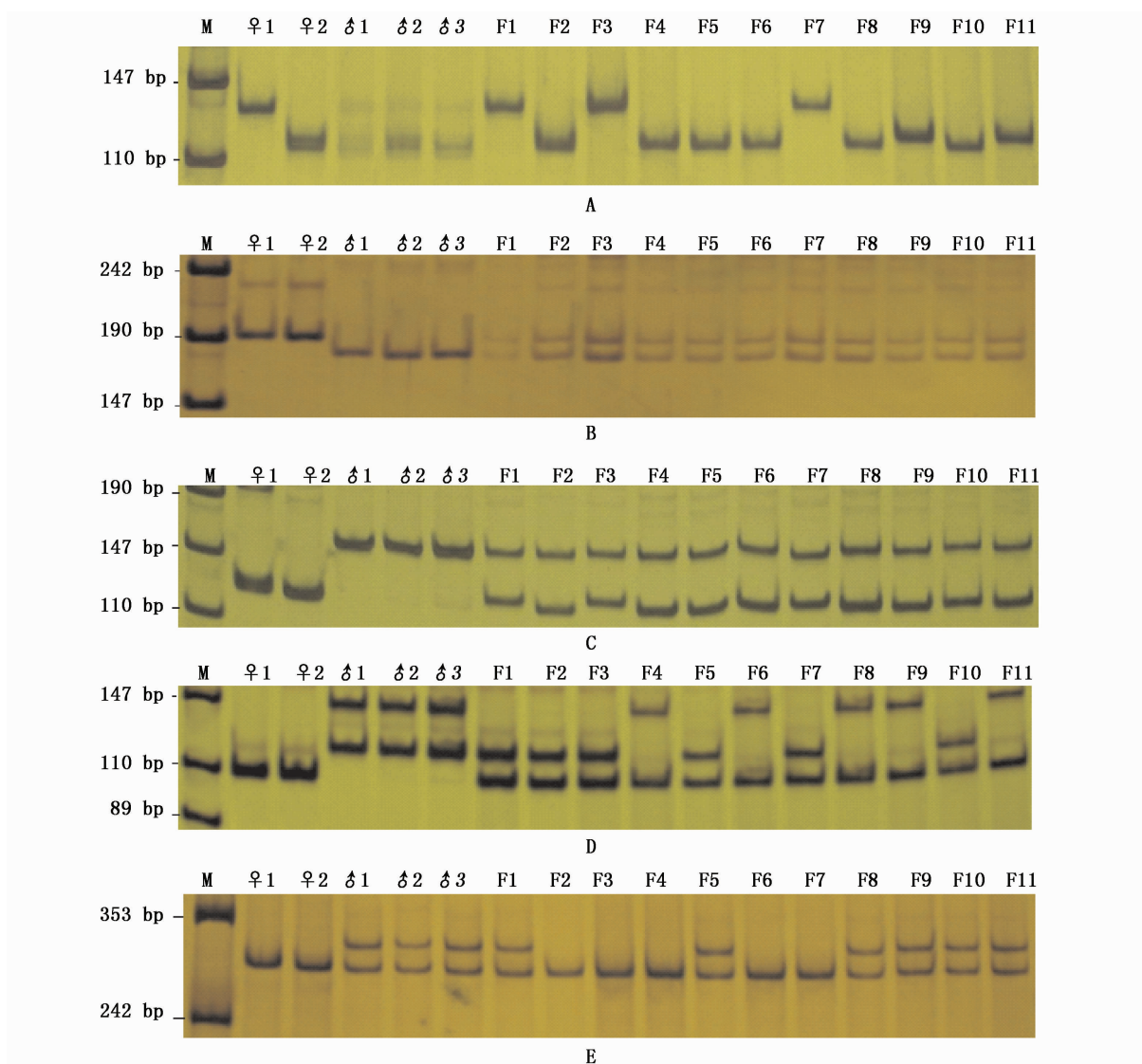


图4 鳊、斑鳊及其杂种 F₁ 5 对微卫星引物的扩增结果

Fig. 4 The electrophoresis results of five microsatellite primers of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrid and their parents A. 引物 MicroA; B. 引物 MicroB; C. 引物 MicroC; D. 引物 MicroD; E. 引物 MicroE.

鳊、斑鳊及其杂种 F₁ 间的遗传距离和遗传相似性见表 5, 杂种 F₁ 与鳊的遗传相似度最高为 0.800 0, 其次为杂种 F₁ 与斑鳊的遗传相似度为 0.748 4, 鳊与斑鳊间的遗传相似度最低为 0.252 0。

表 5 杂种 F₁ 及其亲本的遗传相似率和遗传距离

Tab.5 Genetic identity and genetic distance of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrid and their parents

	鳊	斑鳊	杂种 F ₁
鳊		0.252 0	0.800 0
斑鳊	1.378 4		0.748 4
杂种 F ₁	0.223 1	0.289 9	

注:右上为遗传相似率,左下为遗传距离。

根据三者之间的遗传距离,采用 UPGMA 法构建它们间的聚类分析图(图 5)。由图可知,杂种 F₁ 先与鳊聚为一支,再与斑鳊聚合,说明杂种 F₁ 遗传特征偏向母本鳊。

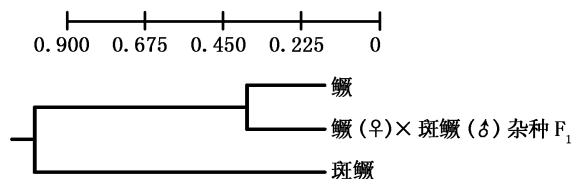


图 5 杂种 F₁ 及其亲本的 UPGMA 聚类分析图

Fig. 5 UPGMA molecular trees based on genetic distance of *S. chautsi* ♀ × *S. scherzeri* ♂ hybrid and their parents

3 讨论

3.1 鳊、斑鳊及其杂种 F_1 (鳊♀ × 斑鳊♂) 的形态特征比较

有关鱼类杂交获得的杂种 F_1 的形态变异,已有不少报道^[14-16]。杂种 F_1 的形态有偏于母本的,有明显偏父本的^[17],也有多数性状表现为双亲中间型的^[11]。本研究表明,杂种 F_1 明显趋父本性状的有背鳍条、腹鳍条和胸鳍条数等,明显趋母本性状的有臀鳍条、鳃耙数等,表现为中间型的有体形、体色、斑纹、侧线鳞和幽门盲囊数等。对杂种 F_1 及其父、母本的 25 个框架参数和可量性状的校正正值聚类分析表明,杂种 F_1 与鳊间的形态距离(0.226)较与斑鳊间的距离(0.239)小,显示杂种 F_1 形态特征略偏向于母本鳊。

3.2 杂种 F_1 为二倍体杂交种

微卫星因其分布广泛、多态性信息丰富、共显性遗传、易于检测等特点,作为一种优良的遗传标记在水产动物研究中得到了广泛的应用^[18]。本实验应用 5 对微卫星引物在鳊(♀)、斑鳊(♂)及其杂种 F_1 中均获得了良好的带型,除引物 MicroE 外均能很好地区分亲本与杂种 F_1 。基因型分析结果表明,杂交子代等位基因均来源于双亲,杂交子代中因杂交组合而获得了与父母本不一样的基因型,符合典型的孟德尔规律,故可判定鳊(♀) × 斑鳊(♂)的杂种 F_1 为二倍体杂交种。

3.3 鳊鱼杂交育种

杂交能丰富遗传结构,遗传基础不同的种或品种通过杂交产生等位基因自由组合,出现新的遗传类型,继而人们可以选择优良的个体,经培育而成新品种^[2]。本研究中,鳊(♀) × 斑鳊(♂)杂种 F_1 的体形、体色、斑纹等形态性状与父母本不一致,微卫星分析结果也表明,杂种 F_1 因杂交组合而获得了与父母本不同的基因型。杂种 F_1 的养殖性能结果发现,杂种 F_1 的生长速度介于父母本之间,抗病力比鳊强,经食物驯化能像父本斑鳊一样吃鱼块,表明杂种 F_1 中确实存在有父本遗传物质的参入,这也与微卫星分析结果相符。因此,我们认为,通过鳊与斑鳊杂交,配合人工选择,有望得到性状更好的鳊鱼新品种,为养殖业提供新的品种。当然,在育种试验和养殖

过程中也要注意防止杂交种进入江河、湖泊等天然水域,以避免给自然群体带来外源基因的污染。

参考文献:

- [1] 楼允东,李小勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用[J]. 中国水产科学,2006,13(1):151-158.
- [2] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1999.
- [3] 刘永忠,赵会宏,刘晓春,等. 赤点石斑鱼♂与斜带石斑鱼♀杂交的初步研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,2007,46(1):72-75.
- [4] 陈建酬,苏润荣. 太阳鱼人工杂交繁殖技术研究[J]. 水利渔业,2006,26(6):38-39.
- [5] 潘伟志,陈军,赵春刚,等. 杂交鳊(怀头鳊♀ × 鳊鱼♂)胚胎发育进程[J]. 东北林业大学学报,2004,32(6):66-68.
- [6] 王波,楼宝,毛国民,等. 褐牙鲈♀ × 大西洋牙鲈♂杂交育种研究[J]. 渔业现代化,2007,34(5):29-33.
- [7] 关键,柳学周,蔡文超,等. 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂)杂交子一代胚胎发育及仔稚鱼形态学观察[J]. 中国水产科学,2007,14(4):644-653.
- [8] 董聿茂,诸葛阳,黄美华,等. 淡水鱼类. 浙江动物志[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1991:185-192.
- [9] 黄志坚,何建国. 鳊鱼疾病的研究概括[J]. 水产科技情报,1999,26(6):268-271.
- [10] Hockaday S, Beddow T A, Hancock P, et al. Using tr-uss networks to estimate the biomass of *Oreochromis niloticus*, and to investigate shape characteristics[J]. Journal of Fish Biology, 2000, 57: 981-1000.
- [11] 顾志敏,贾永义,叶金云,等. 翘嘴红鲌(♀) × 团头鲂(♂)杂种 F_1 的形态特征及遗传分析[J]. 水产学报,2008,32(4):533-543.
- [12] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual [M]. 2nd. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- [13] 匡刚桥. 鳊鱼微卫星标记的开发及遗传多样性研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2007:32-33.
- [14] 楼允东,张克俭,徐庆登,等. 高邮杂交鲫及其亲本遗传性状的比较研究[J]. 遗传学报,1992,14(4):18-20.
- [15] 沈俊宝,严云勤. 柏氏鲤、镜鲤和红鲤及其杂种 F_1 主要形态学性状遗传的比较研究[J]. 遗传学报,1997,14(1):49-55.
- [16] 俞菊华,夏德全. 奥利亚罗非鱼(♀) × 鳊(♂)杂交后代的形态[J]. 水产学报,2003,27(5):431-435.
- [17] 金燮理,金红. 草鱼 × 赤眼鲮 F_1 与其亲本遗传性状的比较研究[J]. 生命科学研究,1999,(4):316-320.
- [18] 孙效文,张晓峰,赵莹莹,等. 水产生物微卫星标记技术研究进展及其应用[J]. 中国水产科学,2008,15(4):689-703.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0151 - 06

温和气单胞菌 TL97528 株丝氨酸蛋白酶基因片段 克隆与序列分析

沈锦玉, 李新华, 潘晓艺, 尹文林, 曹 铮

(浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001)

摘 要:中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 细菌性疾病主要由气单胞菌感染引起的, 通过脱脂奶平板检测及酶活性试验得出温和气单胞菌 TL97528 株分泌的胞外蛋白酶为丝氨酸蛋白酶, 而丝氨酸蛋白酶是气单胞菌的主要毒力因子。根据已发表的嗜水气单胞菌的丝氨酸蛋白酶基因序列保守区域设计引物, PCR 扩增出一长度为 809 bp 大小的特异片段, 该序列在 Genbank 上的登录号为 FJ357446。对该序列进行分析发现, 已发表的温和气单胞菌 (*Aeromonas sobria*) 丝氨酸蛋白酶基因 (GenBank 登录号为 AF253471) 同源性为 98%、与其他几株已发表的嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 丝氨酸蛋白酶基因 (GenBank 登录号分别为 AF126213、AY841795、DQ127822、CP000462、CP000644、AF159142) 同源性分别为 98%、82%、82%、82%、81%、81%、与杀鲑气单胞菌 (*Aeromonas salmonicida*) 丝氨酸蛋白酶基因 (GenBank 登录号为 X67043) 同源性为 80%。用 DNASTAR 软件分析, 与鳖源温和气单胞菌 TK961010 株的同源性为 98%, 与鱼源嗜水气单胞菌 BSK-10、TPS-30 和 J-1 株有较高的同源性, 均为 81%。同时分析了丝氨酸蛋白酶基因的进化关系, 发现中华鳖分离的气单胞菌 TL97528 株与 TK961010 株关系较近; 从鱼分离的气单胞菌 BSK-10、TPS-30 和 J-1 株聚为一簇, 亲缘关系较近。

关键词:中华鳖; 气单胞菌; 丝氨酸蛋白酶; 基因; 克隆

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Cloning and sequence analysis of serine protease gene of *Aeromonas sobria* strain TL97528 from *Trionyx sinensis*

SHEN Jin-yu, LI Xin-hua, PAN Xiao-yi, YIN Wen-lin, CAO Zheng

(Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China)

Abstract: *Aeromonas sobria* TL97528, isolated from soft-shelled turtle (*Trionyx sinensis*), is the pathogen of *Trionyx sinensis* bacterial disease. And serine protease is the major virulence factor of aeromonas. A pair of primers was designed according to the nucleotide sequences of the serine protease gene of aeromonas species reported in GenBank. Desired fragment about 809 bp was amplified from TL97528 genome by the specific primers. The PCR product was cloned into PMD 18-T vector and sequenced. The sequence has been deposited in the GenBank database (accession number FJ357446) and was compared with the corresponding regions of aeromonas strains registered in GenBank and TL961010, BSK-10, TPS-30, J-1 by DNASTAR. The nucleotide sequence of TL97528 showed 98% homology to AF253471, 98% to AF126213, 82% to AY841795, 82% to DQ127822, 82% to CP000462, 81% to CP000644, 81% to AF159142, 80%

收稿日期: 2009-02-02

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划 (2006BAD03B05)

作者简介: 沈锦玉 (1963 -), 女, 研究员, 主要从事水生动物病害方面的研究。TEL: 0572 - 2041403, E-mail: sjinyu@126.com

homology to X67043 and 98% homology to TK961010, 81% homology to BSK-10, TPS-30, J-1. Phylogenetic tree of serine protease gene sequence showed that strain TL97528 closed together with TK961010. BSK-10, TPS-30 and J-1 were clustered together.

Key words: *Trionyx sinensis*; aeromonas; serine protease; gene; cloning

中华鳖 (*Trionyx sinensis*) 是我国名特优水产养殖种类,随着养殖规模的扩大及养殖时间的增加,病害威胁日益凸现。气单胞菌已被证实为中华鳖肠道出血性败血症、穿孔病、腐皮病和红脖子红底板病等的主要病原^[1-3],其分泌的胞外产物中主要包括的外毒素和胞外蛋白酶都是重要的致病因子^[4-6]。目前,防治水生动物气单胞菌病主要使用抗生素,抗生素的残留和抗药性已严重危害人类公共卫生安全;同时由于气单胞菌血清型较多,单价灭活疫苗保护性并不好,因此,通过对不同的气单胞菌菌株蛋白酶基因序列的比较有助于发现具有共同基因序列的片段。本试验通过在气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因序列保守区域设计引物进行 PCR 扩增获得气单胞菌 TL97528 丝氨酸蛋白酶基因序列片段,并对其进行分析,以期气单胞菌快速检测或确诊、基因工程亚单位疫苗和 DNA 疫苗的开发、蛋白酶的结构和进化关系等研究提供依据。

1 材料与方 法

1.1 菌株和质粒载体

气单胞菌菌株 TL97528、TK961010、BSK-10、TPS-30 和 J-1 为本单位分离或保存;TL97528 和 TK961010 为温和气单胞菌,分离自患病的中华鳖^[1],BSK-10 和 TPS-30 为嗜水气单胞菌分离自患病的鲫和鳊^[7],J-1 株由南京农业大学分离自鲫^[5]。*E. coli* DH5 α 为浙江大学动科院动物传染病实验室保存,PMD 18-T Vector 连接试剂盒购自宝生物工程公司。

1.2 酶和其它试剂

Taq 酶、dNTP、限制性内切酶 *Pst* I 和 *EcoR* I、蛋白酶 K 和溶菌酶均购自宝生物工程公司,LB 培养基所用蛋白胨和酵母粉为 OXOID 公司产品,PCR 纯化试剂盒为上海申能博采公司产品;引物合成和产物测序委托上海申能博采公司完成。

1.3 蛋白酶活性检测

参照李焕荣等^[8]的方法,在 TSA 固体培养基

中加入 1% 的脱脂奶,划线接种待检气单胞菌菌株 TL97528、TK961010、BSK-10、TPS-30 和 J-1,30 °C 培养过夜。

1.4 蛋白酶鉴定

参照 Liu 等^[9]稍微改动:气单胞菌接种 TSB 液体培养基,30 °C 培养过夜,菌液离心取上清,截留为 10 ku 的超滤杯浓缩即为粗制蛋白酶;取一底物为 1% 酪蛋白的琼脂平板打孔,孔内分别加入 30 μ L 含有 EDTA, EGTA, PMSF, 碘乙酸, L-半胱氨酸, SDS, DTT, 2-巯基乙醇, CuCl₂, ZnCl₂, CaCl₂ 和 MgCl₂ (浓度见表 1) 的粗制蛋白酶,并设一阳性对照(只加蛋白酶)和阴性对照(TSB 液体培养基),30 °C 过夜,10% 三氯乙酸终止;分别测溶蛋白圈直径,与阳性对照作比较(两者的比值乘上 100%)即为蛋白酶相对活性。

1.5 PCR 检测

1.5.1 细菌 DNA 提取

细菌 DNA 提取用蛋白酶 K/SDS 法^[10]进行,挑取 TL97528 单菌落接种 TSB 液体培养基,30 °C 摇床培养过夜;取 1.0 mL 菌液于 1.5 mL 离心管中,10 000 r/min 离心 5 min,弃上清;500 μ L 溶液 I 重悬浮细菌;加入溶菌酶至终浓度为 5 mg/mL,37 °C 作用 30 min;加入蛋白酶 K 至终浓度为 0.1 mg/mL 和 50 μ L 的 10% SDS,65 °C 水浴 3 h;用等体积苯酚,氯仿抽提 3 次;取上清加入 1/10 体积 3 mol/L 乙酸钠(NaAc)和 2 倍体积无水乙醇,轻摇析出 DNA,12 000 r/min 离心 5 min,弃上清,70% 乙醇洗涤 2 次,自然干燥,TE 溶解备用。

1.5.2 PCR 引物设计

从 GenBank 上读取气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因序列,DNAstar 软件分析后在 AF126213 最保守部位设计引物。上游引物 P₁: 5'-TCGGTAGCAACATCTTCCTGAG-3',下游引物 P₂: 5'-CGATTCCCGTAGAAGCTTGT-3',其中上游引物与丝氨酸蛋白酶基因 AF126213 的 890~912 bp 相同,下游引物与丝氨酸蛋白酶基因 1 679~1 698 bp 相同,预计扩增片段长度为 809 bp。

1.5.3 PCR 扩增

根据所设计引物的 T_m 值,设定 PCR 退火温度 54 °C;PCR 程序为:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 40 s,54 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 1 min,35 个循环后 72 °C 延伸 10 min。PCR 反应体系为 50 μ L,其中包括 100 pg 的模板,10 \times Buffer (不含 $MgCl_2$) 5 μ L, $MgCl_2$ (25 mmol/L) 5 μ L, 10 μ mol/L 上下游引物各 1 μ L, Taq 酶 0.5 μ L (2.5 U), Mili-Q 水补足至 50 μ L。

1.5.4 PCR 产物鉴定

用 1% 琼脂糖进行电泳,在凝胶成像仪 (Bio-Rad) 中观察,拍照,检测片段长度是否与预计长度一致。

1.6 PCR 产物克隆

上述 PCR 产物用 PCR 产物试剂盒纯化,按 PMD 18-T Vector 试剂盒说明进行连接,取 5 μ L 连接产物转化感受态细胞 *E. coli* DH5 α ,涂布含 100 μ g/mL 氨苄青霉素 (AMP) 的 LB 平板,37 °C 过夜;次日挑单菌落,碱裂解法抽取质粒。

1.7 重组质粒的鉴定

1.7.1 酶切鉴定

用限制性内切酶 *Pst* I 和 *Eco*R I 对抽取的质粒进行双酶切,酶切产物用 1% 琼脂糖电泳,并以 PCR 产物为对照。

1.7.2 PCR 鉴定

用上述合成的引物,按 1.5.3 所述方法以抽提的重组质粒为模板进行 PCR。

1.8 DNA 序列分析

重组质粒委托上海申能博采生物公司测序,所得序列在 GenBank 上与其他气单胞菌菌株丝

氨酸蛋白酶基因进行同源性比较。同样方法获得本实验室保存的另 4 株气单胞菌 TK961010、BSK-10、TPS-30 和 J-1 丝氨酸蛋白酶基因序列,用 DNASTar 比较同源性。

1.9 进化树构建及分析

将完成测序的 TL97528、TK961010、BSK-10、TPS-30 和 J-1 丝氨酸蛋白酶基因序列与已发表的 6 株嗜水气单胞菌 (GenBank 登录号分别为: AF126213、AY841795、DQ127822、CP000462、CP000644、AF159142) 及杀鲑气单胞菌 (X67043)、温和气单胞菌 (AF253471) 丝氨酸蛋白酶基因序列用 DNASTar Megalign 软件构建进化树,分析进化关系。

2 结果

2.1 蛋白酶活性检测

在培养箱过夜后,平板上单菌落周围出现明显的溶蛋白圈,说明 TL97528、TK961010、BSK-10、TPS-30 和 J-1 5 株气单胞菌均表现出较强的蛋白酶活性,细菌分泌的蛋白酶将培养基中的脱脂奶消化,使得菌落周围形成透明圈,而未长菌落的培养基部分则可见脱脂奶的乳白色。

2.2 蛋白酶鉴定

通过各种酶活抑制剂对酶活性的影响,得出丝氨酸蛋白酶抑制剂 PMSF 对该蛋白酶有明显抑制作用,而金属蛋白酶抑制剂 EDTA 和 EGTA 及半胱氨酸蛋白酶抑制剂碘乙酸对酶活影响则不是很明显 (表 1),由此初步确定菌株 TL97528 分泌的蛋白酶为丝氨酸蛋白酶。

表 1 酶活抑制剂、螯合剂及金属离子对蛋白酶活性影响

Tab.1 Effects of protease inhibitors, chelating agents and metal ions on purified ECP protease

试剂	浓度 (mmol/L)	相对活性 (%)	试剂	浓度 (mmol/L)	相对活性 (%)
EDTA	5	100	2-巯基乙醇	5	75
EGTA	5	113	$CuCl_2$	10	58
PMSF	5	54	$ZnCl_2$	10	58
碘乙酸	10	75	$CaCl_2$	10	130
L-半胱氨酸	5	120	$MgCl_2$	10	100
SDS	10	140	阳性对照		100
DTT	2.5	75	阴性对照		0

2.3 PCR 产物

以 TL97528 菌株基因组为模板,经 PCR 扩增,1% 琼脂糖凝胶电泳显示 PCR 产物大小为 800 bp 左右,与预计片段大小相符(图 1)。

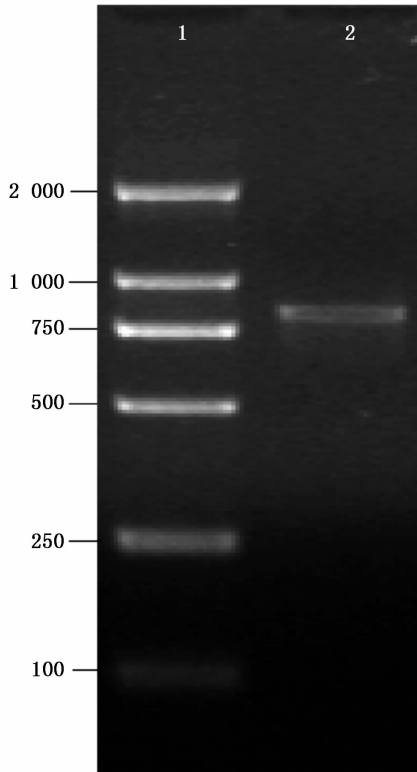


图 1 TL97528 基因组 PCR 产物
Fig. 1 PCR amplification of TL97528 serine protease gene
1. 标准分子量 DL2000; 2. PCR 产物。

2.4 重组质粒的鉴定

重组质粒经 *Pst* I 和 *Eco*R I 双酶切,出现预期的两个条带,较小的条带片段大小与以重组质粒为模板 PCR 扩增获得的产物大小相当(图 2)。说明 PCR 产物连接 T 载体 PMD 18-T 成功。

2.5 DNA 序列分析

TL97528 菌株丝氨酸蛋白酶基因片段测定的序列递交 GenBank,该序列在 Genbank 上的登录号为 FJ357446。同时进行同源性比较,结果表明 TL97528 菌株丝氨酸蛋白酶基因片段与 GenBank 上已发表的温和气单胞菌(*A. sobria*)丝氨酸蛋白酶基因(GenBank 登录号为 AF253471)同源性为 98%,与其他几株已发表的嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)丝氨酸蛋白酶基因(GenBank 登录号

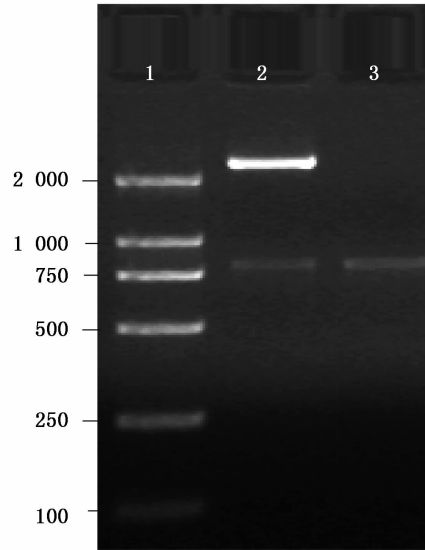


图 2 重组质粒的鉴定

Fig. 2 Identification of recombinant plasmid

1. 标准分子量 DL2000; 2. 经双酶切鉴定; 3. PCR 鉴定。

分别为 AF126213、AY841795、DQ127822、CP000462、CP000644、AF159142) 同源性分别为 98%、82%、82%、82%、81%、81%,与杀鲑气单胞菌(*A. salmonicida*)丝氨酸蛋白酶基因(GenBank 登录号为 X67043)同源性为 80%。用 DNASTAR 软件分析,与鳖源温和气单胞菌 TK961010 株的同源性为 98%,与鱼源嗜水气单胞菌菌株 BSK-10、TPS-30、J-1 株的同源性均为 81%。

2.6 系统进化关系

根据序列同源性比对结果,选取同源性高的菌株的序列构建系统进化树(图 3),发现其中分离自国内的菌株中,鳖源分离株 TL97528 株与 TK961010 株聚为一簇;从鲫、鳊等鱼源的分离株 PHP99、BSK-10、J-1 和 TPS-30 株聚为一簇;欧洲鱼源分离株 MT0004、A449 和 AG2 聚为一簇。从此系统进化树可看出,国内分离株的丝氨酸蛋白酶基因与宿主存在一定的相关性。

3 讨论

蛋白酶是气单胞菌的主要致病因子之一,与菌株毒力密切相关^[11]。气单胞菌能产生多种蛋白酶,这些蛋白酶可以克服宿主的防御机制,引起组织损伤,有助于细菌入侵,同时也为细菌增殖提供营养^[12-13]。李瑾年等^[6]研究认为气单胞菌的胞外蛋白酶和外毒素如溶血素等在致病性

方面起协同作用,蛋白酶能活化溶血素。其他的一些研究也证实了蛋白酶是气单胞菌重要致病因子,Cumberbatch 等^[14]发现,在细菌培养过程中加入丝氨酸蛋白酶抑制剂 PMSF 降低了一株 Ah

胞外产物的毒性;储卫华等^[15]用转座子 Tn916 诱变 AhJ-1 株的蛋白酶缺失株 MJ-1,发现该菌株对鲫致病力明显降低。

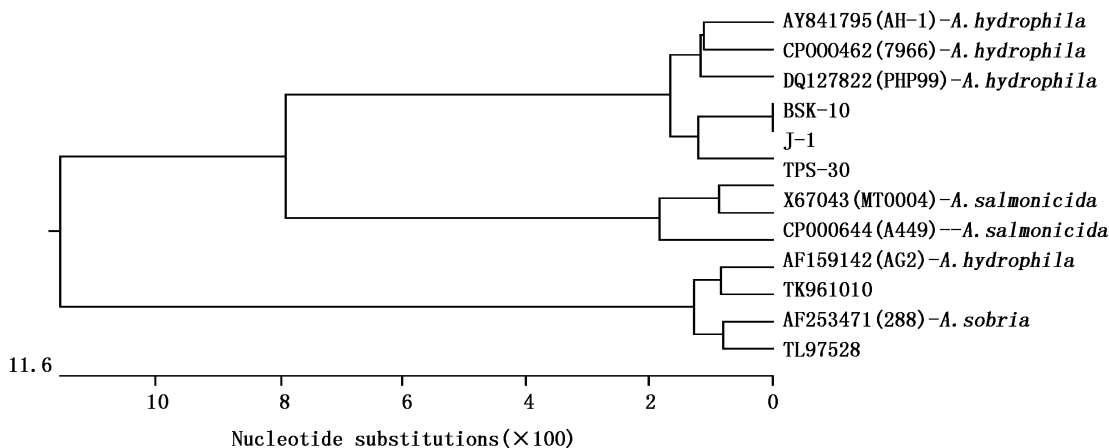


图3 气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因的进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *Aeromonas* based on serine protease genes

检测气单胞菌能否分泌胞外蛋白酶是判定该菌株有无致病性的重要依据,而气单胞菌胞外蛋白酶的分泌受到环境、营养成分及培养温度等因素影响,体外培养往往不能分泌胞外蛋白酶^[16]。因此通过 PCR 扩增细菌蛋白酶基因可以方便、准确地检测到细菌是否具有分泌胞外蛋白酶的能力。PCR 检测细菌毒力基因关键在于引物的设计^[17],本试验所用的 PCR 引物基于 GenBank 上已发表的气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因保守区域设计,不仅适用于试验菌株 TL97528,而且另一株分离自中华鳖的气单胞菌 TK961010 以及分离自鱼的气单胞菌 BSK-10、TPS-30 与 J-1 均能通过 PCR 扩增获得特异性的丝氨酸蛋白酶基因片段,扩增获得基因序列比较发现同源性相差较大,充分说明了试验所用 PCR 引物保守性较高;结合底物平板试验更说明了 PCR 检测蛋白酶基因的特异性和准确性。

通过 TL97528 与其他来源的气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因同源性比较及构建进化树发现,TL97528 与同样分离自中华鳖的气单胞菌 TK961010 株丝氨酸蛋白酶基因同源性最高,进化关系近,同样分离自鱼的气单胞菌 PHP99、BSK-10、TPS-30 与 J-1 株丝氨酸蛋白酶基因同源性也

最高,进化聚为一类,而与其他来源的气单胞菌株丝氨酸蛋白酶基因则有一定的差异,提示气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因可能跟宿主存在相关性。这可能与宿主生理条件差异、不同养殖环境有一定关系,细菌生长条件的改变导致基因的变异。因此,基于这种考虑,在寻找气单胞菌胞外丝氨酸蛋白酶基因保守区域的同时,也寻找基因变异区域,对于研究亚单位疫苗、蛋白酶的结构以及对宿主的致病机理可能更有帮助,也有利于发现更有针对性的诊断方法和治疗方法。关于气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因的报道,国内仅有储卫华等^[18]报道的嗜水气单胞菌 J-1 株丝氨酸蛋白酶基因片段,本实验研究中华鳖源和鱼源分离株的气单胞菌中克隆丝氨酸蛋白酶基因,并对不同地区和不同来源的气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因进行系统进化分析,初步得出国内分离株的气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因可能跟宿主存在相关性。由于气单胞菌丝氨酸蛋白酶基因序列资源的限制,本研究的样品量受到限制,对于不同种或不同来源的气单胞菌菌株的丝氨酸蛋白酶基因分析留待以后进一步深入研究。期望本实验的研究结果,能对气单胞菌感染水生动物的致病机理研究有所帮助。

参考文献:

- [1] 沈锦玉,尹文林,钱冬,等. 养殖鳖主要细菌性疾病病原的初步研究[J]. 浙江海洋学院学报,1999,(1):29-33.
- [2] 孙佩芳,蔡完其. 中华鳖温和气单胞菌的病原研究[J]. 淡水渔业,1998,28(4):3-5.
- [3] 杨先乐,周剑光,柯福恩,等. 中华鳖出血性肠道坏死症流行病学[J]. 中国水产科学,1998,5(2):73-78.
- [4] Albert M J, Ansaruzzaman M, Talukder K A, et al. Prevalence of enterotoxin genes in *Aeromonas* spp. isolated from children with diarrhea, healthy controls, and the Environment[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38: 3785-3790.
- [5] 崔树玉,孙启华,李景学,等. 260 株气单胞菌的表型特性与毒素原性研究[J]. 微生物学通报,1997,24(4):227-230.
- [6] 李槿年,余为一,魏梅芳. 36 株气单胞菌外毒素溶血性和致病性的测定[J]. 中国预防兽医学报,2000,22(2):130-132.
- [7] 沈锦玉,陈月英,沈智华,等. 浙江省养殖鱼类暴发性流行病病原的研究 I. 嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 分离、致病性及生理生化特性[J]. 科技通报,1993,9(6):391-401.
- [8] 李焕荣,陈怀青,陆承平,等. 嗜水气单胞菌胞外蛋白酶的检测[J]. 水生生物学报,1997,21(1):97-100.
- [9] Liu P C, Lee K K, Tuetc C C. Purification and characterization of a cysteine protease produced by pathogenic luminous *Vibrio harveyi* [J]. Current Microbiology, 1997, 35: 32-39.
- [10] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning: A laboratory Manual[M]. NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
- [11] 凌红丽,陆承平,陈怀青. 6 株嗜水气单胞菌的毒力因子及其对小白鼠的致死性[J]. 中国兽医学报,1999,19(3):255-257.
- [12] Ljungh A, Wadstrom T. Toxins of *Vibrio para-haemolyticus* and *Aeromonas hydrophila*[J]. Toxicol Toxin Rev, 1983, 1: 257-307.
- [13] Shieh H S. Protection of atlantic salmon against motile aeromonad septicaemia with *Aeromonas hydrophila* protease [J]. Microbios Lett,1987, 36: 133-138.
- [14] Cumberbatch N, Gurwith M J, Langston C, et al. Cyto-toxic enterotoxin produced by *Aeromonas hydrophila*: relationship of toxigenic isolates diarrheal disease [J]. Infect Immunon, 1979, 23: 829-837.
- [15] 储卫华,陆承平. 筛选用转座子 Tn916 诱变的具有免疫原性的嗜水气单胞菌蛋白酶缺失株[J]. 水产学报,2001,25(3):244-248.
- [16] 储卫华,陆承平. 培养条件对嗜水气单胞菌胞外蛋白酶合成与分泌的影响[J]. 南京农业大学学报,2001,24(3):65-68.
- [17] 陆承平,陈怀青. 用 PCR 检测嗜水气单胞菌毒素基因[J]. 中国动物检疫,1995,12(5):5-7.
- [18] 储卫华,陆承平. 嗜水气单胞菌 J-1 株丝氨酸蛋白酶基因克隆与序列分析[J]. 水产学报,2004,28(1):84-88.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0157 - 05

奥利亚罗非鱼 *MSTN* 基因结构 及其 SNPs 的筛选

沈丽红¹, 熊良伟², 唐永凯³, 王帅兵²

(1. 浦东新区水产技术推广站, 上海 201200;

2. 江苏畜牧兽医职业技术学院, 江苏 泰州 225300;

3. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要:通过 PCR 法从奥利亚罗非鱼 DNA 中扩增出 *MSTN* 基因。该序列全长 1 957 bp, 含有 3 个外显子, 2 个内含子。外显子 I 379 bp, 外显子 II 371 bp, 部分外显子 III 145 bp, 内含子 I 305 bp, 内含子 II 751 bp, 编码区 895 bp, 共翻译 298 个氨基酸。通过随机测序法筛选 SNPs, 获得了 6 个突变位点, 外显子 I、II 各有一个, 而内含子 II 则含有 4 个突变位点。外显子 I、II 的突变位点均导致翻译的氨基酸序列发生改变, 为错义突变。研究结果为 SNPs 位点与奥利亚罗非鱼生长性能关联分析奠定了基础。

关键词:奥利亚罗非鱼; *MSTN* 基因; SNPs

中图分类号: S 917 文献标识码: A

The gene structure and identification of single nucleotide polymorphisms of *MSTN* in *Oreochromis aureus*

SHEN Li-hong¹, XIONG Liang-wei², TANG Yong-kai³, WANG Shuai-bing²

(1. Shanghai Pudong New Area Aquatic Product Technical Advice Station, Shanghai 201200, China;

2. Jiangsu Animal Husbandry and Veterinary College, Taizhou 225300, China;

3. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: *Oreochromis aureus* *MSTN* was isolated by using PCR technique. The whole sequence length was 1 957 bp including three exons and two introns. The sequence length of exon I and II was 379 bp, 371 bp respectively, and partial exon III was 145 bp. The sequence length of Intron I and II was 305 bp and 751 bp respectively. The ORF was 895 bp encoding 298 amino acids. Six SNPs was obtained through sequencing *MSTN* from 10 randomly selected individuals in *Oreochromis aureus*. Four SNPs were found in the Intron II, however, only one SNPs was observed in the Exon I and II respectively. The mutation sites in the Exon I and II changed for amino acids indicated that they were sense mutation. The SNPs might be useful for studying *MSTN* gene association to growth trait in *Oreochromis aureus*.

Key words: *Oreochromis aureus*; *MSTN* gene; SNPs

收稿日期: 2009-06-11

基金项目: 基本科研业务费专项资金(2007JBFC03; 2007JBFC04); 国家科技基础条件平台(2007DKA30470_003)

作者简介: 沈丽红(1981-), 女, 助理工程师, 主要从事鱼类遗传育种方面的研究。E-mail: jianwz@sina.com

通讯作者: 唐永凯, E-mail: tangyk@ffrc.cn

肌细胞生长抑制素 (Myostatin, MSTN) 又称 GDF-8 (growth differentiation factor 8), 是近年来发现的一类重要的肌细胞生长负向调控因子, 属于转化生长因子超家族 (transforming growth factor- β superfamily, TGF β), 通过抑制分化生肌决定因子 (myogenic detendnation gene, MyoD) 家族成员转录活性来控制肌细胞的生长发育, 它的表达量与肌肉重量的变化呈负相关^[1-2]。通过基因打靶技术敲除老鼠体内 *MSTN* 基因使其不能发挥作用, 结果发现突变型老鼠的体型显著大于野生型^[3-4]。在比利时蓝牛 (Belgian Blue) 和皮尔蒙特牛 (Piedmontese) 上, *MSTN* 的突变导致蛋白活性区的移码突变, 不能形成成熟的 MSTN 蛋白, 结果出现“双肌症状” (double-muscle)^[5]。而在水产动物上, 目前已克隆出了虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*), 斑马鱼 (*Danio rerio*), 罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*), 金头鲷 (*Sparus aurata*), 鲈鱼 (*Dicentrarchus labrax*), 斑点鲶 (*Ictalurus punctatus*), 真鲷 (*Chrysophrys major*) 等鱼类的 *MSTN*^[6-11], 但有关 *MSTN* 基因结构研究则较少。

单核苷酸多态 (signal nucleotide polymorphisms, SNPs) 是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的一种 DNA 序列多态性, 是继限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP)、简单串联重复序列 (simple tandem repeat, STR) 之后的第三代分子遗传标记, 在人类遗传性疾病的病因诊断、治疗和防治方面已受到广泛的重视和强有力的支持^[12]。在动物育种方面, SNPs 作为一种分子标记辅助育种强有力的工具也得到了广泛的应用, 将 SNPs 与经济性状进行相关性分析, 寻找影响性状的主效基因或与主效基因紧密连锁的候选基因, 将其运用于后续的育种实践中^[13-14]。在畜禽上, *MSTN* 的 SNPs 普遍存在, 而且有些位点和动物经济性状存在着显著性相关^[15-16], *MSTN* 突变的动物不仅骨骼肌肌群分布广泛, 而且肉质性状优良, *MSTN* 基因已成为肉质性状的主要标记基因^[17]。而在水产动物上, 将 *MSTN* 的 SNPs 与经济性状进行相关研究还未见报道。本研究旨在通过克隆奥利亚罗非鱼的 *MSTN*, 分析其基因结构, 并寻找 SNPs, 为 SNPs 位点与奥利亚罗非鱼生长性能关联分析奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验鱼

奥利亚罗非鱼取自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心宜兴养殖基地。

1.1.2 试剂

限制性内切酶、pMD18-T 载体、胶回收试剂盒等购自宝生物工程 (大连) 有限公司; 质粒抽提试剂盒、*Taq* 酶购自上海捷瑞生物工程有限公司; 大肠杆菌 JM109 为本实验室保存。

1.1.3 仪器:

PCR 仪为 eppendorf Mastercycler personal。

1.1.4 引物:

用于实验的所有引物见表 1, 碱基位置以序列 5' 端第一个碱基为“1”计算。根据莫桑比克罗非鱼 *MSTN* 的 cDNA (GenBank: AF197193) 以及其它鱼类 *MSTN* 的 cDNA 和 DNA 序列设计引物, 分段扩增奥利亚罗非鱼 *MSTN* 序列, 共 3 个外显子, 两个内含子。其中 Forward primer1 (F1), Reverse primer1 (R1) 扩增 Exon I -Intron I 片段, Forward primer2 (F2), Reverse primer2 (R2) 扩增 Exon II 片段, Forward primer3 (F3), Reverse primer3 (R3) 扩增 Intron II 片段。所有引物均由上海捷瑞生物工程有限公司合成。

表 1 实验中使用的引物及相应的扩增产物
Tab. 1 Primers and their amplified production in the study

引物	序列	位置	产物
F1	GAGACAATGCATCTGTCTCAGATCG	1 - 25	Exon I - Intron I
R1	GCGACTGGCTTGAAACTTCTGC	746 - 767	767bp
F2	ATTTTCTTTTCCCATGTCTCCG	666 - 687	Exon II
R2	AAACGATGAACAATAGGTGGAGC	1120 - 1142	477bp
F3	CACATACGAATCCGCTCCTTGA	870 - 891	Intron II
R3	GAGGACTTTGGCTGGGACTGGA	1936 - 1957	1088bp

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取

从鱼尾静脉抽血 0.2 ~ 0.5 mL, 用经典的苯酚-氯仿法抽提 DNA, 并溶解于 TE 中, 电泳检测确定 DNA 质量, 在紫外分光光度计 (Eppendorf) 上测定 DNA 浓度, DNA 使用液浓度为 50 ng/ μ L。

1.2.2 奥利亚罗非鱼 *MSTN* 基因的分离

根据设计的引物分别扩增出奥利亚罗非鱼 *MSTN* 内含子、外显子序列。反应条件为: 94 °C 3 min, 然后 30 次循环 94 °C 1 min, 55 ~ 58 °C 1 min, 72 °C 1 ~ 2 min, 最后 72 °C 10 min, 4 °C 保存。扩增液用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳分离, 切胶回收, 连接转化, 蓝白斑挑选阳性克隆, 酶切鉴定, 送南京博亚生物有限公司测序。

1.2.3 多态位点的筛选

随机选取 10 尾奥利亚罗非鱼, 以 DNA 为模板, 用上述扩增 *MSTN* 内外显子的 3 对引物扩增, 经克隆、测序比对, 寻找 SNPs 位点。

1.2.4 序列分析和数据处理

序列拼接以及分析使用 DnaStar 软件, 序列比对使用 ClustalW 软件。

2 结果

2.1 奥利亚罗非鱼 *MSTN* 基因的分离和分析

使用引物 F1-R1、F2-R2、F3-R3 扩增奥利亚

罗非鱼 Exon I -Intron I、Exon II、Intron II, 获得 DNA 序列片段分别为 767 bp, 477 bp 和 1 088 bp, 经过拼接获得奥利亚罗非鱼 *MSTN* 基因总共 1 957 bp (GeneBank No: FJ972684), 含有 3 个外显子和 2 个内含子。Exon I 379 bp, Intron I 305 bp, Exon II 371 bp, Intron II 751 bp, 部分 Exon III 145 bp。阅读框长 895 bp, 编码 298 个氨基酸, 内含子均符合 GT-AG 原则 (图 1)。与吉富罗非鱼 (GeneBank No: FJ972683)、莫桑比克罗非鱼 *MSTN* (GeneBank No: AH006117) 序列比对显示, 阅读框核苷酸序列长度一致, 相似性分别为 99.3%、98.9%, 编码的氨基酸序列相似性分别为 99%、97.3%。

2.2 多态位点的筛选

使用不同引物对, 分别在随机选取的 10 尾奥利亚罗非鱼基因组中扩增相应片段, 克隆测序后, 使用 ClustalW 进行比对, 获得了 6 个突变位点 (图 1)。外显子 I、II 各有一个, 内含子 II 含有 4 个突变位点, 而且外显子 I、II 的 SNPs 均导致编码的氨基酸序列发生变异, 为错义突变。

```

gagacaATG CAT CTG TCT CAG ATC GTG CTG TAT CTG AGC TTG CTG ACT GCG TTG GGT CCA 60
I      M H L S Q I V L Y L S L L T A L G P 20
61 GTA GTT CTG AGT GAC CAA GAG GCG CAC CAG CAG CCT TCC GTC AGC ACC CCA GTA GAC ACG 120
21 V V L S D Q E A H Q Q P S V S T P V D T 40
121 GAT CAA TGC GCT ACC TGC GAG GTC CGG CAG CAG ATT AAA ACC ATG CGA TTA AAC GCG ATA 180
41 D Q C A T C E V R Q Q I K T M R L N A I 60
181 AAG TCT CAG ATT CTG AGC AAG CTG CGA ATG AAG GAA GCC CCC AAC ATT AGC AGA GAG ATC 240
61 K S Q I L S K L R M K E A P N I S R E I 80
241 GTG AAG CAG CTC CTG CCC AAA GCG CCG CCG CTG CAG CAG CTT CTG GAT CAG TAC GAC GTG 300
81 V K Q L L P K A P P L Q Q L L D Q Y D V 100
301 CTG GGA GAT GAC AAC AGG GAA GAA GTT CTG GAG GAC GAC GAG CAC GCA ACC ACG GAG 360
101 L G D D N R E E V L E D D D E H A T T E 120
361 ACA ATT GTA ATG ATG GCA ACT GAA C gtaagtgtgaattttcttattttttgtctctctgctgagcgcactcgaa
cgtctcaaaaataagttttacgcacgtgtagagcgcacaggagagttatttttagagagcactcagttttccaccaaggt
tttgtttaaattgtcatgtaaagattcaaacactttatgagacatggtgtttggcagagagtgcccgagtgattacgca
tgagttttacgcaatcatgcgcaaacgcgccactttatttctcagcgcacatggaattaattttctttccatgtctccgag
CT GAT TCC GCT GTC CAG GTG GAC GGG CAA CCA AAG 420
121 T I V M M A T E P D S A V Q V D G Q P K 140
421 TGC TGC TTT TTC TCA ATT ACG CAG AAG TTT CAA GCC AGT CGC GTA GTT CGA GCG CAG CTT 480
141 C C F F S I T Q K F Q A S R V V R A Q L 160
481 TGG GTG CAT CTG CGT CCA TCG GAA GAA GTG ACC ACC GTG TTC CTG CAA ATC TCC CGG CTT 540
161 W V H L R P S E E V T T V F L Q I S R L 180

```

```

541 ATA CCG GTC ACA GAC GGG AAC AGA CAC ATA CGA ATC CGC TCC TTG AAG ATC GAC GTG AAT 600
181 I P V T D G N R H I R I R S L K I D V N 200
601 GCC GGG GCC AGC TCT TGG CAA AGT ATA GAC GTC AAG CAA GTG TTG ACT GTG TGG CTG CGG 660
201 A G A S S W Q S I D V K Q V L T V W L R 220
661 CAG CCG GAG ACC AAC TGG GGC ATC GAG ATC AAC GCT TTC GAT TCG AGG GGA AAT GAC TTA 720
221 Q P E T N W G I E I N A F D S R G N D L 240
721 GCT GTG ACC TTC GCA GAG CCG GGA GAG GAG GGT CTG gtgagctcaacttttacttgaaatftaacaggga
gcttgtggttaagtttcaggtgaacgatgaacaataggtggagcttggctcatatgtgcagagcagatattgtcgcttctg
tcacaatcgtgcatatctagccatttcaaagcgcctaagttcagaaaactgftaatgcgtctctgtacagagggtgagact
ttaaactacagtgtgcagagaggcttgcaggctcagcaggcgtttaaacttctgcaatttactgctggaagaaggaattg
ggatataaaagacttttgaagctgftaatcaacacagactccatgtaggcgcacacctgcaatttgacaagcgcgccggtcc
acaataacctcaaacttattgctgattacataaaagttcacctgctccacattccttaagtattcagtggtgctgtgcaaatca
gagtaattgccggcacatacacacacagagctactatcaatgacaaacatacatcacagagctctaataatggcacccggc
actggggcaattagaataactagacagctgtggctaaccaaccatcagatgatttaatttctgcataactcaaagtttcataata
ttatcgtgccatgttgaactgactgccgtagggcagcggattaaaagatgaaaagctgaatgctgtcaccgcctcctc
ctgcaaagctgtattttcaaattggttcacacacactctctgttag CAA CCG TTC ATG GAG GTG AAG ATT 780
241 A V T F A E P G E E G L Q P F M E V K I 260
781 TCA GAG GGC CCC AGG CGT GCC CGG AGA GAC TCG GGC CTG GAC TGC GAT GAG AAC TCT CCA 840
261 S E G P R R A R R D S G L D C D E N S P 280
841 GAG TCC CGG TGC TGT CGC TAC CCA CTC ACT GTG GAC TTC GAG GAC TTT GGC TGG GAC TGG 900
281 E S R C C R Y P L T V D F E D F G W D W 300
901 A 901

```

图1 奥利亚罗非鱼 *MSTN* 基因序列Fig. 1 Genomic sequence of *MSTN* gene in *Oreochromis aureus*

注:5'调控区及内含子用小写字母表示,外显子用大写字母表示,内含子与外显子交接处用黑体和斜体表示,SNPs 位点以方框和黑体表示。

3 讨论

首次分离了奥利亚罗非鱼 *MSTN* 基因,结果表明该基因具有 3 个外显子,2 个内含子,基因结构与虹鳟^[6],斑马鱼^[7]、真鲷^[11]等一致。与吉富罗非鱼、莫桑比克罗非鱼 *MSTN* 序列比较发现,编码区核苷酸序列相似性高达 99.3%、98.9%,这表明 *MSTN* 在种间高度保守,这也与叶寒青等^[11]在真鲷中的分析结果相一致。根据这一特性,我们设计的 3 对引物可以直接从 DNA 中扩增出 *MSTN* 的编码区,而无需从 RNA 中来扩增。对于同源性较高的基因,完全可以利用同源克隆的策略来获得目的基因,既节省了研究时间又节省了研究经费。

在 SNPs 的查找中,通过测序比较得到了 6 个 SNPs,但还需要在群体中进一步验证,因为通

过随机测序获得的 SNPs 可能是假阳性,在 PCR 扩增,克隆,测序中也可导致单碱基突变。在 SNPs 的发掘中,单碱基突变出现的概率应大于 1/10(即 10 个体中有 1 个以上个体出现单碱基突变)才有可能为 SNPs 位点。然而筛选到的 6 个 SNPs,其中 4 个位于内含子内,可能由于内含子不参与功能基因的编码,所受的选择压力小,因而比外显子更容易积累较大的变异,这与凌云^[18]等在大口黑鲈 *MyoD* 上的研究结果有些相似,只在 *MyoD* 的内含子上找到了 7 个 SNPs。另外 2 个 SNPs 位于外显子上,而且均导致编码的氨基酸发生变异,至于能否引起 *MSTN* 功能的变异还有待进一步的验证,以便更好地应用于后续分子标记辅助育种上,确定成熟的分子标记辅助育种方案。

参考文献:

- [1] Oldham J M, Martyn J A K, Sharma M, *et al.* Molecular expression of myostatin and MyoD is greater in double-muscled than normal-muscled cattle fetuses [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001, 280: 1488 - 1493.
- [2] Langley B, Thomas M, Bishop A, *et al.* Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(51): 49831 - 49840.
- [3] Szabo G, Dallmann G, Muller G, *et al.* A deletion in the myostatin gene causes the compact (Cmpt) hypermuscular mutation in mice [J]. *Mamm Genome*, 1998, 9: 671 - 672.
- [4] McPherron A C, Lawler A M, Lee S J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member [J]. *Nature*, 1997, 387: 83 - 90.
- [5] Kambadur R, Sharma M, Smith T P, *et al.* Mutations in myostatin (GDF-8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle [J]. *Genome Res*, 1997, 7: 910 - 916.
- [6] Dilip K G, Scott A G, Buel D R. Identification, Characterization and Quantitative Expression Analysis of Rainbow Trout Myostatin-1a and -1b Genes [J]. *Journal of Endocrinology*, 2006, 190: 879 - 888.
- [7] Xu C, Wu G, Zohar Y, *et al.* Analysis of myostatin gene structure, expression and function in zebrafish [J]. *J Exp Biol*, 2003, 206: 4067 - 4079.
- [8] Rodgers B D, Weber G M, Sullivan C V, *et al.* Isolation and characterization of myostatin complementary deoxyribonucleic acid clones from two commercially important fish; *Oreochromis mossambicus* and *Morone chrysops* [J]. *Endocrinology*, 2001, 142(4): 1412 - 1428.
- [9] Weber T E, Small B C, Bosworth B G. Lipopolysaccharide regulates myostatin and MyoD independently of an increase in plasma cortisol in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2005, 28(1): 64 - 73.
- [10] Terova G, Bernardini G, Binelli G, *et al.* cDNA encoding sequences for myostatin and FGF6 in sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) and the effect of fasting and refeeding on their abundance levels [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 2006, 30(4): 304 - 319.
- [11] 叶寒青, 陈松林. 真鲷肌肉生长抑素 *MSTN* 基因的克隆及表达分析 [J]. *高技术通讯*, 2006, 16(7): 718 - 724.
- [12] Wang D Q, Fan J B, Siao C J, *et al.* Large-scale identification mapping and genotyping of single nucleotide polymorphisms in the human genome [J]. *Science*, 1998, 280: 1077 - 1082.
- [13] 王宝维, 魏笑笑, 贾晓晖, 等. 鲁西斗鸡 *IGF-I* 基因多态性与体型指标关系的研究 [J]. *中国家禽*, 2008, 30(12): 20 - 24.
- [14] 黄丹丽, 陈仁金, 杨章平, 等. 4 个绵羊品种 *Leptin* 基因部分片段的 SNPs 多态性与生长发育性状的相关性分析 [J]. *畜牧兽医学报*, 2008, 39(12): 1640 - 1646.
- [15] 顾志良, 张海峰, 朱大海, 等. 鸡 *myostatin* 基因单核苷酸多态性的群体遗传学分析 [J]. *遗传学报*, 2002, 29(7): 599 - 606.
- [16] 郭丹, 曹阳, 张嘉保, 等. 草原红牛 *MSTN* 基因第一外显子 SNPs 多态性分析 [J]. *现代畜牧兽医*, 2007, 11: 12 - 14.
- [17] 胡兰, 郭东新, 胡锐, 等. 大骨鸡中 *MSTN* 基因表达规律性的研究 [J]. *动物科学与动物医学*, 2003, 20(11): 42 - 44.
- [18] 于凌云, 白俊杰, 叶星, 等. 大口黑鲈 *MyoD* 基因结构和单核苷酸多态性位点的筛选 [J]. *水产学报*, 2009, 33(1): 1 - 8.

文章编号: 1674-5566(2010)02-0162-05

斑鳊卵巢发育与血清蛋白磷 含量变化关系的初步分析

杨武¹, 赵金良¹, 邓燕飞¹, 储军², 黄爱平²

(1. 上海海洋大学农业部水产种质资源与利用重点开放实验室, 上海 201306

2. 泰兴市天禄珍品水产有限公司, 江苏 泰州 225434)

摘要:斑鳊(*Siniperca scherzeri*)是近年来新开发的名贵淡水养殖鱼类之一,但规模化繁育技术尚未完全解决。为进一步了解斑鳊卵巢成熟发育的规律,利用组织切片技术观察了3月中旬-5月中旬长江斑鳊卵巢的成熟发育过程,并用生化法测定了血清蛋白磷(SPP)的含量,结果表明:这一时期,斑鳊卵母细胞正经历由Ⅲ时相(3月中旬-4月上旬)向Ⅳ时相(4月中旬-4月下旬)、Ⅴ时相(5月中旬)的渐近生长,并发现卵母细胞生长不同步的现象;与此同时,血清蛋白磷含量由0.12 mg/mL逐步上升至0.62 mg/mL。斑鳊血清蛋白磷含量的变化趋势与卵巢的成熟发育过程基本一致,并有着密切的生理相关,血清蛋白磷含量可以作为卵巢发育阶段和成熟程度判定的重要生化指标。

关键词:斑鳊;卵巢发育;血清蛋白磷含量

中图分类号: S 917 文献标识码: A

A preliminary study on the relationship between ovary development and the content changes of serum phosphoprotein of *Siniperca scherzeri*

YANG Wu¹, ZHAO Jin-liang¹, DENG Yan-fei¹, CHU Jun², HUANG Ai-ping²

(1. Key laboratory of Aquatic Genetic Resources and Utilization, Ministry of Agriculture,

Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Tianlu Precious Aquatic Products Co. Ltd., Taizhou 225434, China)

Abstract: *Siniperca scherzeri* steindachner is one kind of freshwater species which is exploited and widely cultured recently, however, propagation at large scale is still on the way. To further understand the general characteristics of ovary maturation development, ovary development stages and the content of serum phosphoprotein (SPP) of *S. scherzeri* collected from Changjiang River from mid-March to mid-May were analyzed by histological and biochemical methods, respectively. During this periods, primary oocytes of *S. scherzeri* have grown from the phase III (mid-March to early April) to phase IV (mid-April to late-April) and phase V (mid-May), insynchronism of oocytes growth was also observed. Meantime, SPP content of *S. scherzeri* increased gradually from 0.12 mg/mL to 0.62 mg/mL. These showed the change trend of SPP

收稿日期: 2009-09-20

基金项目: 江苏省农业科技攻关项目(BE2007329); 上海市教委项目(05KZ02); 上海市重点学科项目(Y1101)

作者简介: 杨武(1977-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物种质资源。E-mail: sh_yangwu@163.com

通讯作者: 赵金良, jlzhao@shou.edu.cn

content of *S. scherzeri* was consistent with ovary development progress and associated with it in physiology, thus the SPP content could be used a biochemical indicator to reflect the ovary development status and its maturation.

Key words: *Siniperca scherzeri*; ovary development; serum phosphoprotein content

斑鳊(*Siniperca scherzeri* steindachner)是国内新开发的名贵淡水养殖鱼类之一^[1]。近年来,斑鳊人工繁殖已初见报道^[2-4],但规模化繁育技术尚不成熟,实现规模化繁育首先要摸清斑鳊卵巢成熟发育规律。卵黄蛋白原积累是卵巢成熟发育的重要标志,卵黄蛋白原由肝细胞合成,经血液运输至卵巢,被卵母细胞吸收后转化为卵黄蛋白^[5-7]。血清中的蛋白结合磷主要来自于卵黄蛋白原,而卵黄蛋白原中的磷含量是相对稳定的,因此,可用血清中蛋白磷(serum phosphoprotein, SPP)的含量间接地表示卵黄蛋白原的含量^[8-9]。在开展斑鳊性腺发育周年变化的研究中,通过组织学观察集中研究了3-5月卵巢成熟发育的变化,并测定了SPP含量,探讨卵巢成熟发育与SPP含量变化间关系,为斑鳊繁殖生理学积累基础资料。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验所用野生斑鳊采自长江支流秋浦河(安徽省池州市境内),采集时间为2007年3月中旬-5月中旬,野外采样分为5次,每次间隔10或20天左右(其中,3月28日采样中雌鱼数目太少而未统计),渔获共计78尾,雄性48尾,雌性30尾。体长范围为18.5~29 cm,体重范围为153.2~239.5 g。

1.2 方 法

1.2.1 材 料 处 理

用2 mL的注射器从鱼尾柄动脉取血1~2 mL,立即放入4℃冰箱中静置2~3 h,血液完全凝聚后,3 500 r/min离心30 min,吸出上层血清,保存于-40℃备用。实验鱼进行常规生物学测量后,解剖取出卵巢,称重,用Bouin氏液固定。

1.2.2 血清蛋白磷含量的生化测定

血清蛋白磷含量用钼酸铵显色法^[10]测定,结果用每毫升血清中含蛋白磷的毫克数(mg/mL)表示。

1.2.3 组织学观察

常规石蜡切片,切片厚度5 μm, H. E染色,显微拍摄。卵巢分期主要参照Мейен的分期标准,以超过50%或居最高比例的卵母细胞时相来决定卵巢时期。

2 结 果

2.1 斑鳊卵巢的形态和组织学观察

3月中旬至4月上旬,斑鳊卵巢淡黄色,表面血管明显,卵粒轮廓清晰,卵巢体积约占腹腔的1/2~2/3。3月中旬卵巢均重(3.3±0.3) g,4月上旬增至(5.4±0.3) g。3月中旬的卵巢以Ⅲ时相卵母细胞为主,也包含有部分Ⅱ、Ⅰ时相的卵母细胞。卵母细胞多为卵圆形,直径约为140~192 μm;核直径约为48~70 μm,核位居细胞中央,核膜呈波纹状;卵质中沉积有卵黄颗粒,卵质的皮层中可见皮质泡,卵细胞外被一薄层的滤泡膜(图版-1)。4月上旬,仍以Ⅲ时相卵母细胞为主,卵母细胞体积增大,细胞直径327~447 μm,核径45~103 μm,细胞质中充满透明的卵黄泡,核仁主要分布在核内边缘,滤泡层加厚(图版-2)。

4月中、下旬,卵巢表面呈橙黄色,血管粗大,卵粒易脱落,体积充满腹腔2/3以上。4月中旬卵巢平均重(18.5±1.1) g,下旬平均重(26.4±2.3) g。这一时期以Ⅳ时相卵母细胞为主,也包含有部分Ⅲ、Ⅱ和Ⅰ时相的卵母细胞。卵母细胞体积明显增大,4月中旬的卵母细胞直径600~745 μm,核径78~108 μm,卵黄颗粒明显增多,但并未完全充满整个细胞质,皮质颗粒被挤到皮层质膜的内缘(图版-3)。4月下旬的卵母细胞直径约为722~930 μm,核径80~151 μm,卵黄颗粒聚集成小块并充满整个细胞质(图版-4)。

5月中旬,卵巢呈金黄色,体积几乎占据整个腹腔。卵巢柔软,轻压鱼体腹侧,可见有成熟的卵粒流出,卵巢均重(38.1±1.3) g。卵母细胞直径约为967~1550 μm,细胞核已移动到动物极附近,核膜消失,仅见一团核质,核仁亦不存在,卵黄颗粒聚集成块状并占据整个细胞质,卵细胞

的原生质集中散布于动物极的卵黄中,形成胚盘原基(图版-5)。此时卵巢发育达到V期。

2.2 斑鳊血清磷含量与卵巢发育的关系

3月中旬斑鳊血清蛋白磷(SPP)含量为(0.12±0.01) mg/mL,4月上旬增加至(0.16±0.01) mg/mL;4月中旬SPP含量增幅较大,达到(0.26±0.02) mg/mL,4月下旬持续升高,达到(0.38±0.02) mg/mL;5月中旬SPP的含量增幅加大,达到(0.62±0.06) mg/mL。这些表明,随着繁殖季节的临近,斑鳊SPP含量变化呈上升趋势。而伴随卵巢发育,卵巢重量不断增加,SPP含量与卵巢重的比例整体表现为下降的趋势(表1)。

表1 血清蛋白磷的含量变化与卵巢重的关系

Tab.1 Relationship between the SPP content and ovary weight of *S. scherzeri*

血清磷含量 (mg/mL)	卵巢重 (g)	血清磷/卵巢重	发育时期
0.12±0.01	3.3±0.3	0.036±0.01	Ⅲ
0.16±0.01	5.4±0.3	0.029±0.02	Ⅲ
0.26±0.02	18.5±1.1	0.014±0.05	Ⅳ
0.38±0.02	26.4±2.3	0.014±0.08	Ⅳ
0.62±0.06	38.1±1.3	0.016±0.05	V

卵巢的组织学观察表明,自3月中旬至5月中旬,斑鳊卵巢正经历由Ⅲ期→Ⅳ期→V期的快速发育变化过程。斑鳊血清蛋白磷含量的变化趋势与卵母细胞生长(卵巢成熟发育)过程有着一致性(图1)。

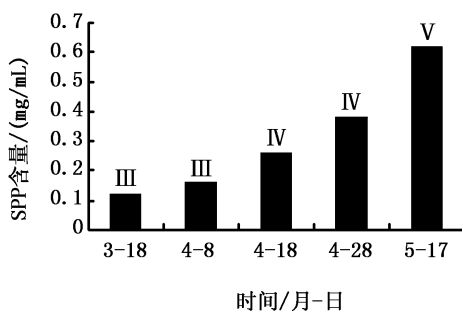


图1 3-5月斑鳊血清蛋白磷(SPP)的含量变化与卵巢成熟发育的关系

Fig. 1 Relationship between the content changes of serum phosphoprotein (SPP) and ovary maturation of *S. scherzeri* from mid-March to mid-May

3 讨论

3.1 斑鳊卵巢的分期发育特征

组织学研究表明,3-5月是斑鳊卵巢成熟发育的主要变化阶段,卵母细胞生长迅速,从Ⅲ时相进入Ⅳ时相和Ⅴ时相。Ⅲ时相卵母细胞的胞质内已出现细小卵黄颗粒,核膜皱缩,胞外有薄层滤泡膜;Ⅳ时相卵母细胞的卵黄颗粒增大、增多,出现核偏移,滤泡膜增厚;Ⅴ时相卵母细胞中卵黄颗粒融合成团块状,核移至动物极,核膜溶解,核仁消失。斑鳊卵母细胞的分期、发育特征与同属的鳊(*Siniperca chuatsi*)^[11-14]、大眼鳊(*S. kneri*)^[15]卵母细胞分期发育极为相似。

研究中还发现,在Ⅳ期卵巢中,除Ⅳ时相卵母细胞占大多数外,还存在少量Ⅲ、Ⅱ、Ⅰ时相的卵母细胞。据曾可为等^[3]调查报道,长江斑鳊有两个繁殖盛产期,分别为5月中旬到6月上旬,以及7月下旬到8月上旬。斑鳊卵巢发育过程中存在的卵母细胞生长非同步性与鳊^[12-14]、大眼鳊^[15]相似,推测斑鳊亦属于分批产卵类型。

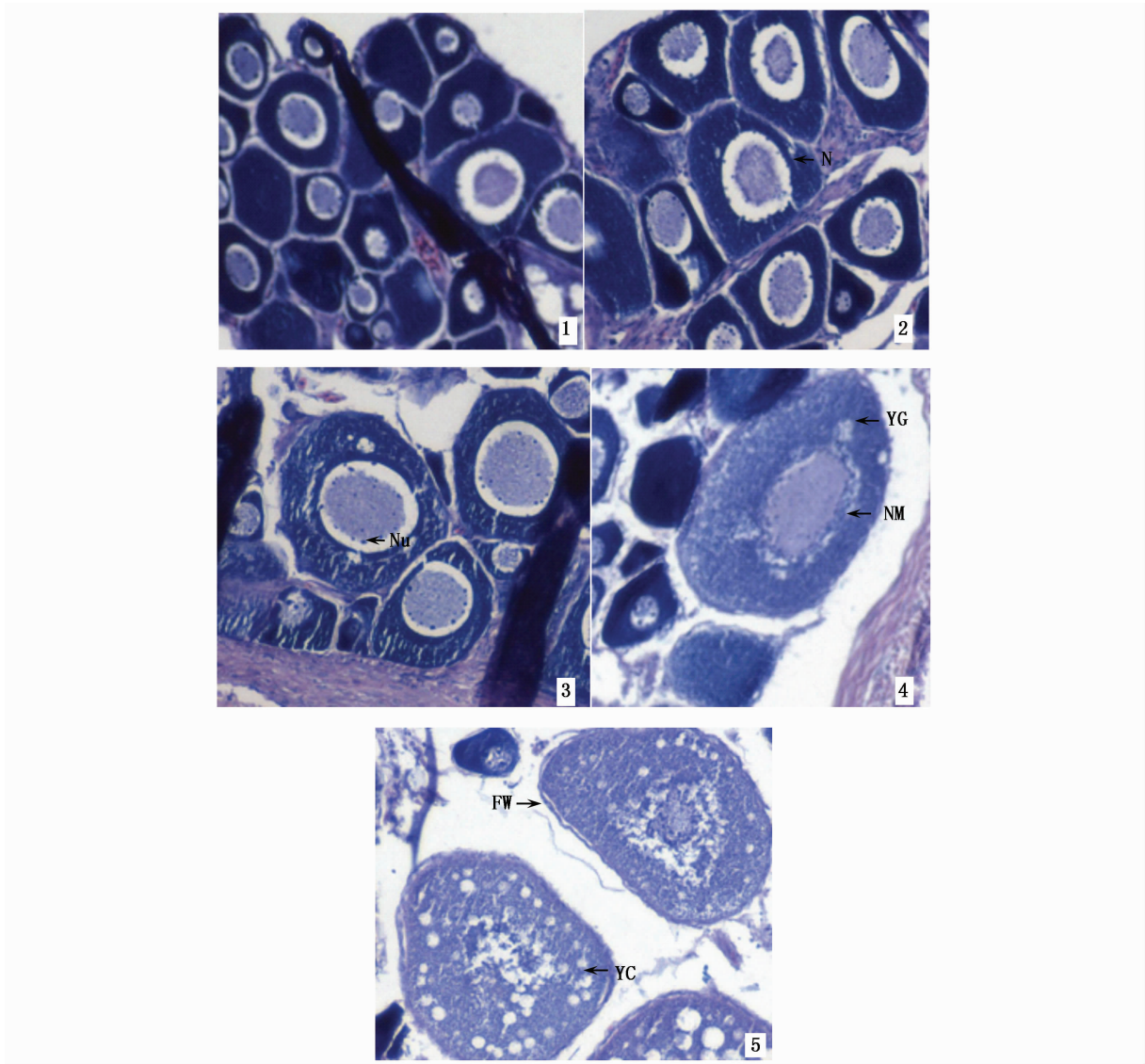
3.2 斑鳊卵巢发育与血清蛋白磷 SPP 含量变化的关系

本研究表明,斑鳊卵巢的成熟发育过程与SPP含量变化存在一致性。形态学观察和组织学结果表明,3-5月期间,卵巢正经历由Ⅲ期→Ⅳ期→Ⅴ期的成熟发育过程。与此同时,对同批样本的SPP含量测定表明,SPP含量从0.12 mg/mL(3月中旬)逐步上升到0.62 mg/mL(5月中旬),呈现递增趋势。而随着斑鳊卵巢的成熟发育,卵巢重量不断增加,SPP含量与卵巢重的比例则表现为整体下降趋势。SPP含量升高的主要原因是伴随繁殖季节的临近,在外界环境因子(光照、水温、营养等)变化的刺激下,引发卵巢分泌雌二醇促进肝细胞不断合成卵黄蛋白原,分泌进入血液中。SPP含量的持续升高间接地反映了卵母细胞大量积累卵黄的生长过程,即卵巢不断发育成熟的生理过程,两者之间有着内在的生理相关性,本研究结果与瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)产卵前SPP含量的变化趋势^[9]相一致。鉴于血清蛋白磷SPP含量的变化与卵巢的发育成熟程度密切相关,SPP含量可以作为卵巢发育阶段和成熟程度判定的重要生化指标,为生产上

斑鳊的亲鱼培育与人工繁殖提供参考。

参考文献:

- [1] 张华东,张珂. 高档经济鱼类——斑鳊人工养殖技术[J]. 江西饲料,2004,(2):41-41.
- [2] 凌继忠. 斑鳊人工繁育技术[J]. 渔业致富指南,2004,(16):33-34.
- [3] 曾可为,王青云,高银爱,等. 斑鳊的生物学和繁殖生物学的研究[J]. 内陆水产,2005,(2):39-41.
- [4] 姜景田,吕伟志,许方学. 鸭绿江斑鳊人工繁育实验[J]. 北京水产,2005,(6):37-39.
- [5] Norberg B. Atlantic halibut(*Hippoglossus hippoglossus*) vitellogenin: Induction, isolation and partial characterization[J]. Fish Physiol Biochem,1995,14:1-13.
- [6] 李红岩,孙旭彤,张士瑾. 卵黄蛋白研究及其进展[J]. 海洋科学,2002,(7):32-35.
- [7] Roubal W T, Lomax D P, Willis M L, et al. Purification and partial characterization of English sole (*Pleuronectes vetulus*) vitellogenin[J]. Comp Biochem Physiol,1997,118B:613-622.
- [8] Whitehead C, Bromage N R, Forster J R M. Seasonal changes in reproductive function of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Fish Biol,1978,12:601-608.
- [9] 王友慧,李云. 瓦氏黄颡鱼血清卵黄蛋白原与性腺发育关系的研究[J]. 饲料世界,2003,(5):47-49.
- [10] 毕富勇. 生物化学及分子生物学实验教程[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2003:93-94.
- [11] 蒋一珪. 梁子湖鳊鱼的生物学[J]. 水生生物学集刊,1959,(3):375-385.
- [12] 汪小东,严安生,黄峰. 保安湖鳊鱼卵巢的周年变化[J]. 湖泊科学,1997,9(4):343-350.
- [13] 陈红菊,岳永生. 保安湖鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)卵巢发育的组织学观察[J]. 山东农业大学学报,2002,33(3):290-296.
- [14] 林国辉,方展强. 鳊鱼卵母细胞发育的组织学和超微结构观察[J]. 华南师范大学学报:自然科学版,2007,(1):98-103.
- [15] 石大康. 大眼鳊鱼卵巢发育的组织学研究[J]. 广西水产科技,1991,(4):1-5.



图版 Plate

1. III期卵巢, $\times 10$ 倍; 2. III期卵巢, $\times 10$ 倍; 3. IV期卵巢, $\times 10$ 倍; 4. IV期卵巢, $\times 10$ 倍; 5. V期卵巢, $\times 10$ 倍; Nu. 核仁; YG. 卵黄颗粒; FW. 滤泡膜; YC. 卵黄块; N. 细胞核; NM. 核膜。

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0167 - 05

鲫鱼淋巴细胞转化 PHA 刺激剂量及 流式细胞仪检测参数探讨

王文娟, 蔡春芳, 叶元土, 施陈江, 夏燕美

(苏州大学基础医学与生物科学学院, 江苏 苏州 215123)

摘 要:从异育银鲫外周血中分离淋巴细胞,利用 RPMI-1640 培养基培养 48 h 后,采用流式细胞仪分析方法研究不同浓度的植物凝集素(phytohemagglutinin, PHA) (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 对外周血淋巴细胞转化率的影响,旨在探索异育银鲫外周血淋巴细胞体外转化最适刺激剂量。结果表明:(1)在 PHA 浓度 0 ~ 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内,随着 PHA 浓度的增加,淋巴细胞转化率也增加,呈浓度依赖的关系,但当 PHA 的浓度增加到 1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,淋巴细胞转化率明显下降。其中 PHA 浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,淋巴细胞转化率最高,显著高于低浓度组(80 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和高浓度组(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($P < 0.05$),略高于中浓度组(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$),差异不显著($P > 0.05$)。由此可见,在本试验条件下,PHA 体外刺激异育银鲫淋巴细胞转化的最适剂量为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。(2)用流式细胞仪检测细胞内 DNA 合成情况, Multicycle AV 软件进行细胞周期分析,通过 DNA 增殖指数测定淋巴细胞转化率是一种简单、可靠的方法。需要注意的是,采用流式细胞仪测定鲫鱼淋巴细胞转化率时,FS/SS 参数设置为 FS: Volts 62 - gain 100; SS: Volts 1000 - gain 500 能够获得清晰的图像。

关键词:异育银鲫;淋巴细胞转化;流式细胞仪;DNA 增殖指数

中图分类号: S 917 文献标识码: A

The studies of the optimum PHA concentration to the transformation of lymphocytes of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) and the parameter of flow cytometry on fish

WANG Wen-juan, CAI Chun-fang, YE Yuan-tu, SHI Chen-jiang, XIA Yan-mei

(College of Basic Medical Science and Biology Science, Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract: Lymphocytes were separated from peripheral blood of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*), and incubated in RPMI-1640 medium for 48 h. The effect of different concentration of PHA (0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) on the lymphocyte transformation ratio was determined by flow cytometry (FCM). The result showed: (1) When the concentration of PHA was below 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, there was a positive-correlation between the concentration of PHA and the lymphocyte transformation ratio; When the concentration of PHA was 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the lymphocyte transformation ratio reached a peak, and it was significantly higher than that of low

收稿日期: 2009-07-18

基金项目: 江苏省社会发展项目 (BS2006021, BS2007140)

作者简介: 王文娟 (1986 -), 女, 硕士研究生, 专业方向为水生生物制品安全性。E-mail: wangwenjuan1986118@163.com

通讯作者: 蔡春芳, E-mail: szcfcai@yahoo.com.cn

concentration groups (80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and high concentration groups (1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($P < 0.05$), and a little higher than that of moderate groups (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 600 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$), no significant difference ($P > 0.05$). Under our conditions of experiment, the optimum concentration of PHA was 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$. (2) Flow cytometry was applied to determine the state of intracellular DNA synthesis and cell cycle was analyzed by Multicycle AV software. The results indicated that it was a simple and reliable method to obtain the lymphocyte transformation ratio by determining the proliferation index of DNA. What calls for special attention was that only when the parameters of flow cytometry were FS: Volts 62 – gain 100; SS: Volts 1000 – gain 500, the scatter diagram was clear.

Key words: crucian carp; lymphocyte transformation; flow cytometry; DNA proliferation index

鱼类免疫学研究中,检测免疫活性细胞对不同抗原的反应性激活与增殖是评价细胞免疫功能的重要指标^[1]。淋巴细胞转化试验是淋巴细胞与特异性抗原或非特异性促分裂因子在体外共同培养时,细胞的代谢和形态发生一系列的变化,代谢旺盛,蛋白质和核酸的合成增加,细胞体积变大,进一步转化为能分裂的淋巴母细胞。由于这种转化与机体的免疫机能有关,因此,淋巴细胞转化率常被用作体外检测淋巴细胞功能、评价机体免疫机能的指标^[2]。国内外关于鱼类淋巴细胞转化最适刺激剂量的研究较少,结论也不完全一致^[3-6]。利用流式细胞仪分选技术研究人类和小鼠淋巴细胞转化已较为普遍^[7-10],而在鱼类淋巴细胞转化上未见报道。本研究通过比较异育银鲫外周血淋巴细胞对不同浓度 PHA 刺激的反应性增殖以确定最适刺激剂量,并探讨用流式细胞仪检测鲫鱼外周血淋巴细胞体外转化率的可行性,旨在建立一种可靠的鱼类淋巴细胞转化率测定方法。

1 材料与方 法

1.1 试验鱼与饲养条件

试验用异育银鲫购自江苏常州某良种场,为当年池塘养殖鱼种。经 3% 食盐消毒后,选取 90 尾大小均匀、体格健壮,约为 25 g 左右的鱼种,随机分配到 6 个 70 cm \times 80 cm \times 100 cm 的玻璃钢水族箱中,每箱放 15 尾。试验饲料由 68% 鱼粉、12% 小麦粉、8% 谷朊粉、11.5% 鱼油和 0.5% 维生素矿物质预混料组成,经小型饲料膨化机挤压制粒而成。

饲养期间,每天投喂量为鱼体重的 2.0% ~ 3.0%,分 3 次投喂,时间分别为 8:00、12:30、17:00。所有水族箱在同一半开放式循环养殖系

统中,自然光周期,以充分曝气的自来水为水源,每天换水量为总水量的 1/3。养殖水经过滤、沉淀后流回蓄水池,经过增氧、控温后由水泵抽回各水族箱。饲养期间水质条件为:水温 (25 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$, DO > 6.0 mg/L, pH 7.5 \pm 0.2, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (0.25 \pm 0.05) mg/L, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ (0.04 \pm 0.01) mg/L, 硫化物 < 0.05 mg/L, 各项指标均符合养殖水体要求。共饲养 8 周,试验时鱼体重为 70 ~ 80 g。

1.2 试剂与仪器

淋巴细胞分离液购自国药集团化学试剂有限公司;PHA 购自上海伊华医学科技有限公司;RPMI-1640 培养基为美国 GIBCO 公司产品,内含小牛血清 15%, HEPES 10 mmol/L, 青霉素 100 U/mL, 链霉素 100 U/mL, 过滤除菌;小牛血清和 RNA 酶购自上海蓝季科技发展有限公司;碘化丙啶购自 sigma 公司;流式细胞仪由美国 BECKMAN COULTER 公司制造。

1.3 外周血中淋巴细胞的分离

外周血中淋巴细胞的分离步骤^[11]如下。(1)准备有抗凝剂的试管,从鲫鱼尾动脉取血,用 pH7.2 的 Hank 氏液将抗凝血稀释 1 倍。(2)将 2 mL 淋巴细胞分离液置于 10 mL 离心管中,在液面上约 1 cm 处沿离心管壁缓缓加入上述稀释血液,使其重叠于分层液面。稀释血液与分层液的体积比例为 2:1。(3)用水平离心机以 2 000 r/min 离心 30 min。(4)小心吸取淋巴细胞层移入另一试管中。(5)加足量 5 倍以上体积 Hank 氏液小心混匀,1 500 r/min 离心 10 min,弃上清,如此重复洗涤两次。(6)向沉淀中加入 1 mL 含 15% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基重新混悬细胞。取一滴细胞悬液置血球计数板内计数,然后将细胞浓度调节至 $2 \times 10^6/\text{mL}$ 。

1.4 PHA 刺激剂量设置

吸取上述细胞悬液接种于 24 孔细胞培养板,每孔 0.5 mL,加 0.1 mL 不同浓度的 PHA 致终浓度分别为 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,于 28 $^{\circ}\text{C}$ 在 5% CO_2 中培养 48 h。

1.5 流式细胞仪分析

1.5.1 流式细胞仪参数调整

由于鱼类的淋巴细胞体积较小,样品通过激光时产生的荧光信号较弱,因此必须通过调整流式细胞仪的 FS 和 SS 的 Volts、gain 参数改变脉冲的特征,以获得清晰的图像。

1.5.2 流式细胞仪检测淋巴细胞增殖功能的应用

在调整好的试验参数条件下,用流式细胞仪检测不同浓度的 PHA 对异育银鲫外周血淋巴细胞转化的影响,评价 PHA 浓度和淋巴细胞转化率的剂量-效应关系,从而建立可靠的异育银鲫外周血淋巴细胞转化率测定方法。具体操作方法如下。

培养 48 h 后收集细胞,离心(1 500 r/min, 10 min),用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次,离心,弃上清,70% 冷乙醇(4 $^{\circ}\text{C}$)固定^[8],隔夜。离心除去乙醇,PBS 洗涤 2 次,加 10 g/L RNA 酶 0.05 mL,0.1 g/L 碘化丙啶 0.1 mL,冷暗处(4 $^{\circ}\text{C}$)染色 30 min^[12]。上机检测,Cell Quest 收集细胞 10 000 个, Multicycle AV 软件分析细胞周期。

2 结果

2.1 流式细胞仪参数设置对试验结果的影响

合理设置流式细胞仪参数对试验结果的准确可靠性相当重要。如图 1 和 2 所示,当 FS: Volts 118 - gain 2; SS: Volts 80 - gain 10 时,细胞不能够清晰地分布在散点图中,而是集中在原点附近碎片区域,无法准确分析数据。而将参数调至 FS: Volts 62 - gain 100; SS: Volts 1000 - gain 500 时,细胞能够清晰地分布在散点图中,可以进行准确的细胞周期分析。

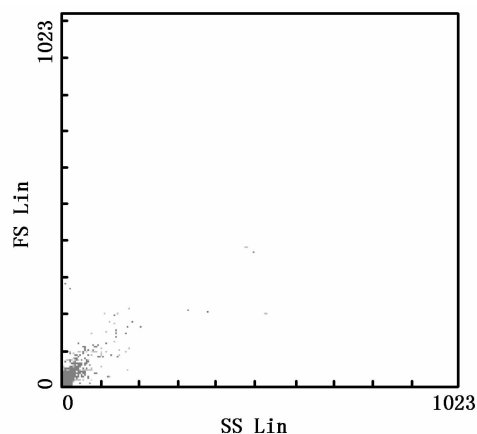


图 1 PHA 刺激淋巴细胞转化的 FS/SS 散点图
Fig. 1 FS/SS scatter diagram of lymphocyte transformation stimulated by PHA

FS: Volts 118 - gain 2; SS: Volts 80 - gain 10

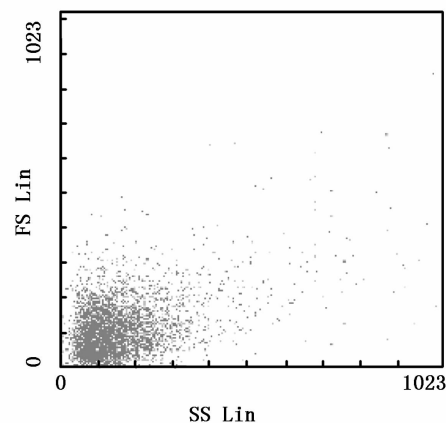


图 2 PHA 刺激淋巴细胞转化的 FS/SS 散点图
Fig. 2 FS/SS scatter diagram of lymphocyte transformation stimulated by PHA

FS: Volts 62 - gain 100; SS: Volts 1000 - gain 500

2.2 不同浓度的 PHA 对异育银鲫外周血淋巴细胞体外转化的影响

流式细胞仪的观察指标为增殖指数 (proliferation index, PI),增殖指数反映处于增殖期的细胞占全部细胞的百分数。实验结果如表 1 所示,不同的 PHA 浓度对异育银鲫外周血淋巴细胞的体外转化有不同的效应。在 PHA 浓度为 0 ~ 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的范围内,随着 PHA 浓度的增加,淋巴细胞转化率也增加,呈浓度依赖的关系,但

当 PHA 的浓度继续增加一直达到 1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 淋巴细胞转化率明显下降。其中 PHA 浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 淋巴细胞转化率最高, 显著高于低浓度组 (80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和高浓度组 (1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ($P < 0.05$), 但与中浓度组 (200

$\mu\text{g}/\text{mL}$ 、600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 差异并不显著 ($P > 0.05$)。上述结果表明, 在本试验条件下, PHA 体外刺激异育银鲫淋巴细胞转化的最适剂量为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表 1 不同浓度的 PHA 对异育银鲫外周血淋巴细胞体外转化的影响

Tab. 1 Effect of different concentrations of PHA on transformation of lymphocytes in peripheral blood from allogynogenetic crucian carp

PHA 浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	G_0G_1 (%)	S (%)	G_2M (%)	DNA 增殖指数 PI (%)
0	65.66 \pm 3.80 ^c	33.07 \pm 3.52 ^a	1.27 \pm 1.09 ^a	34.34 \pm 3.80 ^a
80	46.08 \pm 7.08 ^c	45.60 \pm 4.28 ^b	8.33 \pm 4.05 ^c	53.93 \pm 7.08 ^c
200	36.14 \pm 6.25 ^{ab}	55.33 \pm 4.61 ^{cd}	8.53 \pm 1.99 ^c	63.86 \pm 6.25 ^{de}
400	31.90 \pm 3.53 ^a	59.98 \pm 2.32 ^d	8.11 \pm 1.58 ^{bc}	68.10 \pm 3.53 ^e
600	34.63 \pm 2.70 ^a	56.12 \pm 1.71 ^{cd}	9.25 \pm 2.27 ^c	65.37 \pm 2.70 ^e
800	39.66 \pm 2.08 ^{abc}	51.92 \pm 1.12 ^c	8.42 \pm 0.96 ^c	60.34 \pm 2.08 ^{cde}
1 000	43.15 \pm 3.96 ^{bc}	50.86 \pm 2.56 ^c	5.99 \pm 1.77 ^{bc}	56.85 \pm 3.96 ^{cd}
1 200	54.30 \pm 1.01 ^d	41.28 \pm 0.60 ^b	4.43 \pm 1.24 ^{ab}	45.70 \pm 1.01 ^b

注: 数值为平均值 \pm 标准差 (mean \pm S. D, $n = 3$); 同一列中具不同上标字母者表示差异显著 ($P < 0.05$); $PI = (S + G_2M) / (G_0G_1 + S + G_2M)$ 。

3 讨论

淋巴细胞体外转化试验是研究鱼体免疫能力及药物或毒物对鱼免疫力影响的重要手段。目前, 广泛应用 PHA 在体外刺激淋巴细胞进行淋巴细胞转化试验, 因此获得体外转化最佳条件是非常有意义的。在外周血淋巴细胞体外转化中, PHA 质量浓度、培养温度、小牛血清浓度是影响体外细胞转化的重要因素。除此之外, 其它因素如 pH、培养时间、培养细胞的起始浓度等也都会影响培养细胞的转化情况, 值得进一步深入研究。国内外学者对鱼类免疫细胞体外培养条件的研究中, 最适温度和小牛血清浓度基本一致, 分别为 28 ~ 30 $^{\circ}\text{C}$ 、10% ~ 15%, 但对于 PHA 最适剂量的研究, 不同学者的研究差距较大, Yamamoto 等^[3] 培养肾脏细胞采用的 PHA 最终质量浓度为 60 mg/L ; 唐玫等^[4] 研究草鱼头肾淋巴细胞体外转化的最适 PHA 浓度为 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 李亚南等^[5] 在研究不同质量浓度 PHA 刺激草鱼外周血淋巴细胞体外转化时, 认为最适剂量为 500 mg/L , 而邵健忠等^[6] 结果显示, 质量浓度为 100 mg/L 的 PHA 对草鱼白细胞有较高的毒性, 能使细胞在短时间内死亡。而本试验结果表明, 当 PHA 浓度为 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 异育银鲫外周血淋巴细胞转化率最高。这可能与不同种类、年龄的鱼

以及不同来源的淋巴细胞对 PHA 的敏感性不同或与不同厂家生产的 PHA 质量、纯度不同有关, 具体原因还有待于进一步研究。

测定淋巴细胞转化的常用方法主要有: 形态学方法、 $^3\text{H-TdR}$ 掺入法和 MTT 比色法等。形态学方法虽然简单, 但细胞涂片和镜检等均可引起误差, 结果受主观差异性影响较大; $^3\text{H-TdR}$ 掺入法可通过检测激活细胞的 DNA 复制情况反映细胞增殖指数, 但方法复杂、费时费力, 且有放射性污染等缺点^[13]; MTT 比色法是一种用颜色反应来检测增殖后的活细胞数量, 间接反映整体细胞增殖情况, 结果受细胞数目影响较大^[14]。利用流式细胞仪细胞分选技术可以通过检测细胞内 DNA 合成情况, 分析处于不同周期的细胞比例, 以反映细胞对非特异性刺激物的反应性增殖。流式细胞术检测细胞周期的经典方法是碘化丙啶染色法, 它是通过检测细胞内 DNA 含量的不同来检测细胞周期。Multicycle AV 软件是专门用于流式细胞术中细胞周期分析的软件。它通过对 DNA 含量直方图进行曲线拟合, 能快速计算出各种细胞的 DNA 含量、细胞周期各时相细胞所占的比例等。用流式细胞仪检测细胞内 DNA 合成情况并进行细胞周期分析, 通过 DNA 增殖指数即增殖期的细胞占全部细胞的百分数测定淋巴细胞转化率是近几年才开始使用的新方法, 它通过对一定数量的细胞进行测量分

析,所得到的数据信息量大,偏差小,而且操作简单。高山红等^[12]用流式细胞术法与³H-TdR 掺入法研究大鼠主动脉平滑肌细胞增殖,结果表明二者在观察细胞增殖的作用上有极为显著相关关系。这两种试验指标在用于研究细胞增殖作用时可以相互替代。李学义等^[7]用流式细胞仪测定人外周血 T 淋巴细胞增殖也表明流式细胞术测定细胞增殖具有快速、简便、客观和定量准确的优点,所得结果比较可靠、重复性好。它不仅可替代放射性同位素法用于体内外细胞的标记,对增殖细胞进行定性、定量检测,而且用免疫荧光抗体双标记法可分析不同类型细胞的增殖数量。而应用流式细胞术检测鱼类淋巴细胞转化率的相关研究未见报道,本研究结果也表明采用流式细胞仪对异育银鲫外周血淋巴细胞转化率的测定具有操作简便、客观、结果重复性好的特点,可在鱼类免疫指标测定以及免疫机制的研究中推广应用。然而,需要注意的是,由于鱼类的淋巴细胞体积较小,样品通过激光束时产生的荧光信号较弱,荧光检测器光电倍增管(PMT)产生的电压脉冲较小以至于细胞不能清晰地分散在坐标图中,此时需要反复调节流式细胞仪的参数,使细胞清晰地分散在坐标图中。本试验结果表明采用流式细胞仪测定鱼类淋巴细胞转化率时合适的参数设置为 FS: Volts 62 - gain 100; SS: Volts 1000 - gain 500。

参考文献:

- [1] Maino V C, Suni M A, Ruitenber J J, *et al.* Rapid flow cyto-metric method for measuring lymphocyte subset activation[J]. *Cytometry*, 1995, 20: 127.
- [2] 肖克宇. 水产动物免疫与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [3] Yamamoto K, Ojima Y. A PHA-culture method for cells from the renal tissue of teleosts[J]. *Jpn J Glnet*, 1973, 48(3): 235 - 238.
- [4] 唐攻, 马广智. 草鱼头肾淋巴细胞体外转化培养影响因素的研究[J]. *华南师范大学学报*, 2001, (4): 5 - 8.
- [5] 李亚南, 陈全震, 邵健忠, 等. 草鱼外周血淋巴细胞体外转化诸因素的研究[J]. *海洋与湖沼*, 1996, 27(4): 380 - 385.
- [6] 邵健忠, 项黎新. PHA 体外诱导草鱼白细胞产生 γ -干扰素的研究[J]. *海洋与湖沼*, 2001, 32(2): 117.
- [7] 李学义, 朱平, 樊春梅, 等. 流式细胞术检测淋巴细胞增殖方法的建立[J]. *中国免疫学杂志*, 2003(19): 43 - 46.
- [8] 臧宁, 曾耀英, 黄秀艳, 等. 桑色素对小鼠 T 淋巴细胞体外活化、增殖和细胞周期的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007, 23(3): 197 - 200.
- [9] 许文彬, 卢宏松, 徐丽慧, 等. 棉酚对小鼠淋巴细胞体外增殖和凋亡作用的影响[J]. *现代免疫学*, 2009, 29(2): 111 - 116.
- [10] 俞瑜, 曾耀英, 刘良, 等. 杨梅素对淋巴细胞活化及增殖的影响[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(1): 63 - 66.
- [11] 陈全震, 李亚南, 邵健忠, 等. 鱼类外周血淋巴细胞的分离技术[J]. *中国水产科学*, 1999, 6(4): 10 - 12.
- [12] 高山红, 王怀良, 王守英. 流式细胞术法与³H-TdR 掺入法观察细胞增殖的相关性研究[J]. *中国医科大学学报*, 2005, 34(1): 10 - 11.
- [13] 王敏, 张林杰, 何金生, 等. 流式细胞术检测 CFSE 标记人 T 细胞亚群增殖反应[J]. *免疫学杂志*, 2005, 21(5): 423 - 426.
- [14] 巴图德力根, 孔英, 高志红, 等. MTT 法与流式细胞术检测肺炎合剂促进 T 淋巴细胞转化的实验研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2002, 18(4): 249 - 251.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0172 - 06

舟山鲩鱼群体遗传多样性的 AFLP 研究

彭志兰¹, 柳敏海¹, 傅荣兵¹, 罗海忠¹, 夏枫峰², 徐志进³

- (1. 浙江省舟山市水产研究所, 浙江 舟山 316000;
2. 浙江省舟山市海洋勘测设计院, 浙江 舟山 316000;
3. 浙江省舟山市水产技术推广站, 浙江 舟山 316000)

摘要:利用 AFLP 分子标记技术对舟山近海海域野生亲代和人工繁育子一代(F_1)的 2 个鲩鱼(*Miichthys miiuy*)群体遗传多样性进行分析研究。结果表明:8 对选择性引物在 2 个群体 60 个个体中,共扩增出 505 条清晰条带,其中多态片段为 369 条,总的多态位点比例为 73.07%。亲代和 F_1 2 个群体的多态位点数、多态位点比率、Nei's 遗传多样性指数和 Shannon 信息多样性指数分别为 367、349、72.51%、68.86%、0.422 2、0.413 9。两群体内遗传相似系数亲代为 0.987 6,子代为 0.971 5。鲩鱼亲代群体的 Nei's 遗传多样性指数、遗传相似度和 Shannon 信息多样性指数比子代群体的都要高。群体间的遗传相似系数和遗传距离分别为 0.979 6、0.020 6;基因分化系数 G_{st} 为 0.022 3,群体间无显著遗传分化;经分子方差(AMOVA)分析,结果表明 97.78% 的遗传变异来源于群体内个体间,群体间无显著遗传变异。

关键词:鲩鱼;舟山;遗传多样性;AFLP

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Comparative studies on the molecular genetic diversities between the Zhoushan wild *Miichthys miiuy* and their early filial generation by AFLP markers

PENG Zhi-lan¹, LIU Min-hai¹, FU Rong-bin¹, LUO Hai-zhong¹, XIA Feng-feng², XU Zhi-jin³

- (1. Fisheries Institute of Zhoushan, Zhoushan 316000, China;
2. Zhoushan Marine Survey and Design Institute, Zhoushan 316000, China;
3. Zhoushan Fishery Technical Extension Station, Zhoushan 316000, China)

Abstract: Genetic diversity of a wild population and an artificial breeding population of *Miichthys miiuy* was investigated with amplified fragment length polymorphism (AFLP). The wild population was caught with cast net in the East China Sea near Zhoushan, and the cultured population was artificial breeding offspring of the wild population which was the first filial generation (F_1). Eight *EcoR* I and *Mse* I primers combination produced 505 clear bands, of which 369 bands were polymorphic loci. The overall proportion of polymorphic loci was 73.07%. The two groups of parental and offspring generation's polymorphic loci, percentage of polymorphic loci, Nei genetic diversity index and Shannon information diversity index were 367, 349,

收稿日期: 2009-10-13

基金项目: 国家星火计划(2008GA70005); 浙江省重大农业科技攻关项目(2008C12082)

作者简介: 彭志兰(1980-), 女, 工程师, 硕士, 主要从事水产动物繁育与病害防治方面的研究。E-mail: zhilanpeng520@163.com

通讯作者: 罗海忠, E-mail: haizhongluo@163.com

72.51%, 68.86%, 0.422 2, 0.413 9 respectively. The coefficients of genetic similarity of the parental and the offspring generation were 0.987 6, and 0.971 5. *Miichthys miiuy* parent's population, Nei index of genetic diversity, genetic similarity and the Shannon information diversity index were higher than those of the offspring population. The genetic similarity coefficient and genetic distances between two populations were 0.979 6, and 0.020 6. G_{st} coefficient of gene differentiation was 0.022 3. There was no significant genetic differentiation between two populations. The analysis of molecular variance (AMOVA) results showed 97.78% of the genetic variation among individuals within groups. There was no significant genetic variation between two populations.

Key words: *Miichthys miiuy*; Zhoushan; genetic diversities; amplified fragment length polymorphism

鲩鱼 (*Miichthys miiuy*) 属鲈形目 (Perciformes)、石首鱼科 (Sciaenidae)、鲩鱼属 (*Miichthys*), 在我国沿海均有分布, 但以东、黄海较多^[1]。其肉味鲜美, 营养丰富, 深受国内外消费者的喜爱, 尤其鳔俗称“鱼肚”, 为高级滋补品, 具有较高的食用和药用价值。有关鲩鱼的研究主要集中在胚胎及仔稚鱼发育、人工育苗和养殖等方面^[2-4]。迄今未见在鲩鱼群体遗传学方面的研究报道。由于其生长快、自然抗逆性强、市场潜力大等优点, 近年来其人工繁殖与养殖在我国南方沿海正蓬勃发展, 有望成为深水网箱养殖的优良品种^[5]。因此必须弄清野生鲩鱼群体的遗传多样性和种质资源状况, 从而促进鲩鱼的资源保护和人工养殖的可持续发展。

AFLP 作为一种新型的分子标记技术, 由于不受组织和器官种类、发育阶段、生境条件等诸多因素的影响, 在海洋生物中被广泛应用于遗传多样性分析、基因定位、种质鉴定和遗传连锁图谱的构建及仔稚鱼鉴定等方面的研究^[6-22], 迄今。国内已有关于真鲷 (*Pagrosomus major*)、大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*)、褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*)、紫红笛鲷 (*Lutianus argentimaculatus*) 和黄姑鱼 (*Nibea albiflora* Richardson) 等几种海水鱼类遗传多样性的研究报道^[6-7, 10-11, 13, 19, 23]。本研究利用 AFLP 技术对舟山黑鲩及其早繁 F_1 代群体的遗传多样性进行分析, 旨在为鲩鱼的苗种繁育和人工养殖提供遗传学基础资料。

1 材料与方 法

1.1 材 料

野生鲩鱼群体样品分别于 2006 年 4 月捕捞于舟山近海海域, 体重 0.55 ~ 1.50 kg, 活体运输

至舟山市水产研究所的养殖基地——浙江华兴海水苗种有限公司, 作为亲本进行养殖, 经过人工早繁育苗 (早繁鲩鱼是指将鲩鱼繁殖季节提前至春、夏季进行产卵培育所得到的鲩鱼苗种) 获得 F_1 代。剪取 30 条野生鲩鱼亲本尾鳍固定于 95% 的酒精中, 随机取 2 月龄仔鱼 30 尾去头和内脏, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存。

1.2 基因组 DNA 的提取

DNA 提取参照《分子克隆手册实验指南》(第三版)^[24]。分别取亲鱼尾鳍, 2 月龄仔鱼 (去头和内脏) 50 ~ 80 mg, 充分剪碎后, 采用裂解液, 蛋白酶 K 和苯酚/氯仿/异戊醇法抽提。溶于 TE buffer, 最后用 0.8% 琼脂糖电泳检测和 DNA/RNA 定量仪 (GeneQuant Pro 型 DNA/RNA 定量仪, Amersham Biosciences 公司) 进行 DNA 定量。无菌超纯水稀释到 100 ng/ μL , $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.3 AFLP 分析

AFLP 分析参照 Vos^[25] 和 Li^[26] 的方法进行, 并做相应的修改。

1.3.1 基因组 DNA 的双酶切和接头连接

取 100 ng 基因组 DNA, 用 *EcoR* I 和 *Mse* I 进行双酶切, 酶切片段与 *EcoR* I 和 *Mse* I 接头连接。*EcoR* I 和 *Mse* I 接头序列见表 1。酶切反应体系位采用 *EcoR* I/*Mse* I 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 酶切模板 3 h, 酶切反应体系为 40 μL , 包括: *EcoR* I (10 U/ μL) 0.4 μL , *Mse* I (20 U/ μL) 0.2 μL , *EcoR* I buffer 5 μL , 10 \times BSA 0.5 μL , 其余用超纯水补齐。16 $^{\circ}\text{C}$ 过夜连接。

1.3.2 限制性片段的扩增

酶切-连接产物用超纯水经 1:5 比例稀释后, 采用 3' 末端带 1 个选择性碱基的引物扩增限制性片段 (引物序列见表 1)。PCR 反应体系为

25 μL , 包括: 5 $\mu\text{mol/L}$ *EcoR* I 预扩增引物 2.0 μL ; 50 $\mu\text{mol/L}$ *Mse* I 预扩增引物 2.0 μL ; 10 \times PCR 缓冲液 2.5 μL ; 2 mmol/L dNTPs 2.5 μL ; Taq

DNA 聚合酶 (promego) 1.0 U; 酶切 - 连接产物 5.0 μL ; 25 mmol/L Mg^{2+} 1.5 μL , 其余用超纯水补齐。

表 1 *EcoR* I 和 *Mse* I 接头、预扩增与选择性扩增引物序列

Tab. 1 The *EcoR* I and *Mse* I sequence of adapter, preamplification primer and selective primer

<i>EcoR</i> I 引物	序列	<i>Mse</i> I 引物	序列
<i>EcoR</i> I 接头	F 5' CTCGTAGACTGCGTACC'3 R 5' AATTGGTACGCAGTCTAC'3	<i>Mse</i> I 接头	F 5' GACGATGAGTCCTGAG'3 R 5' TACTCAGGACTCAT'3
E-A	5-GACTGCGTACC AATTC A-3	M-C	5-GATGAGTCCTGAGTAA C-3
E-AAG	5-GACTGCGTACCAATTCAAG-3	M-CAT	5-GATGAGTCCTGAGTAA CAT-3
E-AGG	5-GACTGCGTACCAATTCAGG-3	M-CTT	5-GATGAGTCCTGAG TAA CTT-3
E-AGC	5-GACTGCGTACCAATTCAGC-3	M-CCA	5-GATGAGTCCTGAG TAA CCA-3
E-AAC	5-GACTGCGTACCAATTCAAC-3	M-ACG	5-GATGAGTCCTGAG TAA CAG-3

PCR 预扩增反应程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 8 min。预扩增产物 1:10 稀释后, 用于选择性扩增。选择性扩增引物 3' 端带有 3 个选择性碱基, 引物序列见表 1, 选取 16 种引物组合进行引物筛, PCR 反应体系为 25 μL , 包括: 10 pmol/L *EcoR* I 和 *Mse* I 引物各 2.0 μL ; 10 \times PCR 缓冲液 2.5 μL ; 2 mmol/L dNTPs 2.5 μL ; Taq DNA 聚合酶 (promego) 1.0 U; 预扩增产物 1.0 μL ; 25 mmol/L Mg^{2+} 1.5 μL , 其余用超纯水补齐。

PCR 选择性扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 然后每个循环复性温度降低 0.7 $^{\circ}\text{C}$, 经 13 个循环后, 退火温度降至 56 $^{\circ}\text{C}$, 再进行 30 个循环的扩增, 条件为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s。

1.3.3 凝胶电泳

选择性扩增产物通过 6% 的聚丙烯酰胺变性胶 (含 7.5 mol/L 尿素) 在 0.5 \times TBE 缓冲液中电泳分离, 75 W, 预电泳 0.5 h, 上样后电泳 2 h。电泳结束后进行银染, 然后拍照和分析。

1.4 数据分析

首先将电泳图谱中扩增条带的有无转化为 0, 1 原始数据矩阵, 依据原始数据矩阵统计总位点数、多态位点数, 计算显性基因型频率、Shannon 多样性指数。

多态片段比例 (%) = (多态片段数量/检出片段总数) \times 100。

个体间的遗传差异度或群体间的遗传距离 = 1 - 相似系数。相似系数按 Lynch 的公式^[26] 计算:

$$S_{ij} = 2N_{ij} / (N_i + N_j) \quad (1)$$

式中: S_{ij} 为相似系数, N_{ij} 为个体 i 与 j 共有片段的数量, N_i, N_j 分别为个体 i 与 j 各自具有片段的数量。

Nei's 遗传多样性指数 $h = 1 - \sum P_i^2$, P_i 为单个位点上的等位基因频率。

利用 Popgen 1.32 计算 Nei's 遗传多样性指数, Shannon 多样性指数, 基因分化系数 G_{st} 用 Mega 3.0 软件构建 UPGMA 系统树。

2 结果

2.1 基因组 DNA 的酶切、预扩增和选择性扩增结果

基因组 DNA 酶切后经预扩增引物初次扩增, 扩增产物的小片段较少, 大片段较多。预扩增产物再经选择性扩增, 其产物是 100 ~ 800 bp 之间的弥散带 (图 1)。

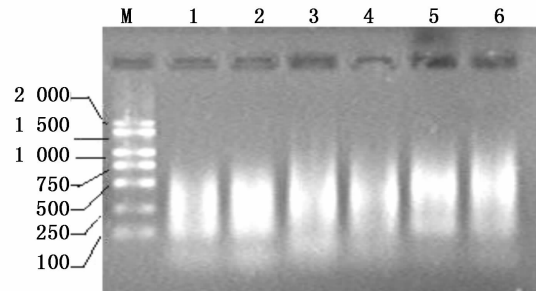


图 1 引物 E_1M_1 , E_1M_2 , E_2M_1 选择性扩增产物
Fig. 1 The PCR product of primer E_1M_1 , E_1M_2 , E_2M_1
1-2, 3-4, 5-6 分别为引物
 E_2M_1 , E_1M_2 , E_1M_1 选择性扩增产物。

实验所用选择性扩增引物系从 16 对引物组合中筛选出了 8 对结果稳定、多态性丰富的引物,编号及选择性碱基为 E_1M_1 (E + AAG, M + CAT), E_1M_2 (E + AAG, M + CTT), E_2M_1 (E + AGG, M + CAT), E_2M_2 (E + AGG, M + CTT), E_3M_1 (E + AGC, M + CAT), E_3M_2 (E + AGC, M + CTT), E_4M_1 (E + AAC, M + CAT), E_4M_2 (E + AAC, M + CTT)。图 1 为引物 E_1M_1 , E_1M_2 , E_2M_1 选择性扩增产物。所有引物的选择范围都在 100 ~ 800 bp 之间。

2.2 AFLP 多态标记检测结果

利用筛选出的 8 对选择性引物,在两个群体共 60 个个体中共产生 505 条清晰条带,不清晰的计。其中多态片段为 369 条,总的多态位点比例为 73.07% (表 2)。在亲代和子代两群体中分别扩增出 367 个和 349 个多态位点,平均多态位

点比例分别为 72.51% 和 68.86%。不同引物的扩增结果间存在差异,产生的扩增条带从 48 到 86 不等,扩增出的多态条带范围为 34 ~ 76 条,多态检出率范围为 61.18% ~ 88.37%。

2.3 亲代与子代鲩鱼群体的遗传多样性比较

鲩鱼亲代群体的 Nei's 遗传多样性指数和 Shannon 信息多样性指数比子代群体的都要高 (表 3),两群体内遗传相似系数亲代为 0.987 6,子代为 0.971 5,亲代遗传相似度要比子代群体的稍高。群体间的遗传相似系数和遗传距离分别为 0.979 6、0.020 6; 基因分化系数 G_{st} 为 0.022 3,群体间无显著遗传分化;经分子方差分析 (AMOVA) 结果表明 97.78% 的遗传变异来源于群体内个体间 (表 4),表明群体间无显著遗传变异。

表 2 8 对不同引物的扩增结果

Tab.2 The results detected by the eight pairs of primers combination

引物组合	总扩增位点数	总的多态位点数	总的多态位点比例	多态位点数		多态位点比例	
				P_1	F_1	P_1	F_1
E_1M_1	86	76	88.37%	75	68	87.21%	79.07%
E_1M_2	85	52	61.18%	52	50	61.18%	58.82%
E_2M_1	65	46	70.77%	46	45	70.77%	69.23%
E_2M_2	60	42	70.00%	41	40	68.33%	66.67%
E_3M_1	57	41	71.93%	41	39	71.93%	68.42%
E_3M_2	53	42	79.25%	42	40	79.25%	75.47%
E_4M_1	51	36	70.59%	36	35	70.59%	68.63%
E_4M_2	48	34	70.83%	34	32	70.83%	64.59%
合计	505	369	73.07%	367	349	72.51%	68.86%

表 3 鲩鱼群体的遗传学参数

Tab.3 Parameters of genetic diversity for two populations of *Müchthys müuy*

遗传多样性参数	群体内		群体间
	亲代群体	子代群体	
Nei's 遗传多样性指数	0.290 9	0.286 2	
Shannon 信息指数	0.422 2	0.413 9	
群体遗传相似系数	0.987 6	0.971 5	0.979 6
群体遗传距离	0.012 4	0.028 5	0.020 6
基因分化系数 (G_{st})			0.022 3

表 4 鲩鱼群体的 AMOVA 分析数据

Tab.4 Data derived from AMOVA of *Müchthys müuy*

变异来源	自由度 df	变异组分	所占比例
群体间	1	0.732	2.22
群体内	58	32.308	97.78
总计	59	33.040	100.00

2.4 亲代与子代鳊鱼群体的聚类分析

利用 MEGA3.0 软件构建了鳊鱼 60 个个体的 UPGMA 系统树,1~30 个体为野生亲本,31~60 个体为 F_1 代(图 2),2 个群体没有出现明显的遗传分化。

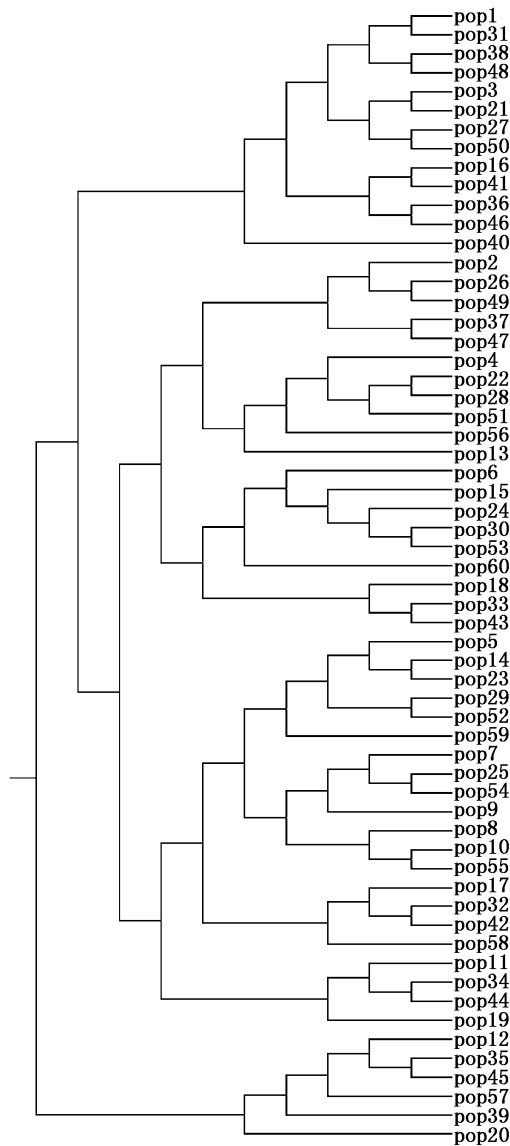


图 2 鳊鱼 60 个个体的 UPGMA 系统树
Fig 2 UPGMA dendrogram of 60 individuals
of *Miichthys miuy*
1~30 个体为野生亲本,31~60 个体为 F_1 代

3 讨论

AFLP 技术在水产动物遗传多样性分析中已有广泛应用,生物群体的遗传多样性是评价生物资源状况的一个重要依据,它是物种适应多变的

环境,维持长期生存和进化的遗传基础。平均多态位点比率和平均杂合度是衡量生物群体遗传多样性高低的参数^[27]。本文利用 AFLP 技术,8 对选择性引物在鳊鱼 60 个个体中共扩增出 505 条清晰条带,其中多态片段为 369 条,总的多态位点比例为 73.07%,通过比较鳊鱼群体的扩增多态位点数、平均多态位点比率、遗传相似系数、香农信息等指标发现,野生亲本群体要高于 F_1 群体。此结果很好地说明:在世代繁殖过程中,其遗传多样性呈逐渐降低的趋势。从统计结果来看差异不显著,处于同一水平。

和已知鱼类 AFLP 数据比较发现,鳊鱼群体的多态位点比例仅低于呼玛河哲罗鱼(84.43%)^[27],高于岱衢族大黄鱼(55.8%)^[13]以及青岛和厦门黄姑鱼(分别为 51.7%,51.99%)^[19]。说明鳊鱼的遗传多样性比较丰富。 F_1 群体一些位点的丢失和减少,说明 F_1 群体的遗传多样性会略低于亲本群体。 F_1 群体的遗传基础来自于亲本群体,因而 2 个群体遗传多样性没有明显的差异,处于同一水平上。 F_1 群体在人工繁殖过程中由于亲本数量的限制,遗传漂变的结果会导致一些稀有位点和多态位点的丢失,隐性纯合位点数的增加,使其遗传多样性有所降低,因此在以后的养殖过程中有必要加大选育亲本的数量并对选育群体的遗传多样性情况予以适当检测,以减少或避免人工选育和累代人工繁殖造成的近交和隐性基因的纯合。但对于鱼类这种高繁殖力和死亡率的生物类群来说,随着世代繁衍,难免会出现近交衰退的现象。

从群体间的遗传相似系数(0.979 6)、遗传距离(0.020 6);基因分化系数 G_{st} (0.022 3)来看,群体间无显著遗传分化;分子方差分析(97.78%)表明 2 群体的遗传变异主要来源于群体内个体间,群体间无显著遗传变异。但 F_1 群体内个体间的遗传距离比野生亲本群体大,说明 F_1 群体在遗传结构上有所变化,随着世代间隔将会出现遗传分化的趋势。

参考文献:

- [1] 朱元鼎,张春霖,成庆泰,等. 东海鱼类志[M]. 北京:科学出版社,1963:308.
- [2] 罗海忠,傅荣兵,陈波,等. 舟山近海鳊鱼胚胎和早期仔鱼的发生及与盐度的关系[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2006,25(1):15-22.

- [3] 李多云,郑忠明,竺俊全,等. 鲷鱼亲鱼培育及其人工繁殖的研究[J]. 水产科学, 2005,24(1): 32-34.
- [4] 孙庆海,陈诗凯. 鲷鱼规模化繁育技术研究[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版, 2003, 22(3): 273-276.
- [5] 楼宝. 鲷鱼渔业生物学和人工繁养技术[J]. 渔业现代化, 2004, (6):11-13.
- [6] 王志勇,王艺磊,林利民,等. 利用 AFLP 指纹技术研究中国沿海真鲷群体的遗传变异和趋异[J]. 水产学报,2001, 25(4):289-293.
- [7] 王志勇,王艺磊,林利民,等. 福建官井洋大黄鱼 AFLP 指纹多态性的研究[J]. 中国水产科学,2002,9(3):1913-202.
- [8] 潘洁,包振民,赵洋,等. 栉孔扇贝不同地理群体的遗传多样性分析[J]. 高技术通讯,2002,12(12):78-82.
- [9] Coimbra M R M, Kobayashi K, Koretsugu S, et al. A genetic map of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture*, 2003,220:203-218.
- [10] 张俊彬,黄良民. 紫红笛鲷遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 热带海洋学报,2004,23(5):50-55.
- [11] 张全启,徐晓斐,齐洁,等. 牙鲆野生群体与养殖群体的遗传多样性分析[J]. 中国海洋大学学报,2004,34(5):816-820.
- [12] 张雯,刘晓,张国范. 利用 AFLP 技术研究海湾扇贝不同养殖群体的遗传结构及其分化[J]. 高技术通讯,2005,15(4):84-88.
- [13] 刘必谦,董闻琦,王亚军,等. 岱衢族大黄鱼种质的 AFLP 分析[J]. 水生物学学报,2005,29(4):413-416.
- [14] 王志勇,柯才焕,王艺磊,等. 从 AFLP 指纹和标记基因序列看我国养殖的四种鲍的亲缘关系[J]. 高技术通讯,2005,15(12):93-98.
- [15] 陈省平,包振民,潘洁,等. 4 种养殖扇贝的群体遗传多样性及特异性 AFLP 标记研究[J]. 海洋学报,2005,27(2):160-164.
- [16] 王伟继,高焕,孔杰,等. 利用 AFLP 技术分析中国明对虾的韩国南海种群和养殖群体的遗传差异[J]. 高技术通讯,2005,15(9):81-86.
- [17] 岳志芹,王伟继,孔杰,等. 用 AFLP 方法分析中国对虾抗病选育群体的遗传变异[J]. 水产学报,2005,29(1):13-19.
- [18] Liu Y, Chen S, Li B, et al. Analysis of genetic variation in selected stocks of hatchery flounder, *Paralichthys olivaceus*, using AFLP markers [J]. *Biochemical systematics and ecology*, 2005,33:993-1005.
- [19] 韩志强,高天翔,王志勇,等. 黄姑鱼群体遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 水产学报,2006,30(5):641-646.
- [20] Wan J F, Bao Z M, Zhang Q Q, et al. Comparative Studies on the Molecular Genetic Diversities among *Haliotis discus hannai*, *H. discus discus* and Their Hybrid [J]. *High Technology Letters*, 2004,10(3):93-96.
- [21] 王伟继,孔杰,董世瑞,等. 中国明对虾 AFLP 分子标记遗传连锁图谱的构建[J]. 动物学报. 2006,52(3):575-584.
- [22] Voram R A, McGowan C, Stout J A, et al. A genetic linkage map for Arctic char (*Salvelinus alpinus*): evidence for higher recombination rates and segregation distortion in hybrid versus pure strain mapping parents [J]. *Genome*, 2004,47(4):304-315.
- [23] 张俊彬,黄良民,陈真然. AFLP 技术在笛鲷的仔鱼鉴定及其分类学上的研究[J]. 海洋学报,2005,27(2):165-171.
- [24] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 3 版,黄培堂等,译. 北京:科学出版社,2002:45.
- [25] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting [J]. *Nucleic Acids Res*, 1995,23:4407-4414.
- [26] Li Y T, Byrne K, Miggiano E, et al. Genetic mapping of kuruma prawn *Penaeus japonicus* using AFLP markers [J]. *Aquaculture*, 2003,219:143.
- [27] 匡友谊,佟广香,尹家胜,等. 呼玛河哲罗鱼遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 中国水产科学,2007,14(4):615-621.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0178 - 06

哲罗鲑(♀) × 细鳞鲑(♂)的人工 育苗技术初步研究

徐革锋¹, 尹家胜¹, 刘洋¹, 李永发¹, 杜佳², 牟振波¹

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 东北农业大学动物科技学院水产养殖系, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:通过性激素药物诱导和人工繁育技术对哲罗鲑(*Hucho taimen*)(HH)(♀)与细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)(BB)(♂)进行了远缘杂交。研究表明:哲罗鲑(♀) × 细鳞鲑(♂)杂交种(HB)的人工繁育效果与双亲对照组(HH 和 BB)不存在显著性差异($P > 0.05$),且 HB 的孵化率和仔鱼上浮率均高于 HH 和 BB;选择水蚤和水丝蚓对 HB 鱼苗进行开口,采用全价饲料粉与水丝蚓的混合团进行过渡,再选用全价人工颗粒饲料进行驯化,驯化结果显示:BB 最易于开口、驯化和摄食颗粒饲料,其次是 HB,最难于驯化的是 HH;HH、HB 和 BB 经过 6 周的培育,其全长与体质量均呈正增长趋势变化,HB 的体质量增长较 HH 和 BB 分别快 25%、70%。HB 的体长、体质量与周龄的最佳方程分别为 $Y = 0.022x^2 + 0.52x + 7.30$ ($R^2 = 0.9874$) 和 $Y = 2.8171e^{0.2541x}$ ($R^2 = 0.9877$),体长与体质量的最佳方程为 $Y = -0.0024x^3 + 0.051x^2 + 0.42x + 7.4$ ($R^2 = 0.9875$),HB 的日增重为 (0.30 ± 0.13) g,分别高于 HH 和 BB。

关键词:哲罗鲑;细鳞鲑;远缘杂交种;人工育苗;生长性能

中图分类号: S 961.2 文献标识码: A

A preliminary study on technique of artificial reproduction between *Hucho taimen*(♀) and *Brachymystax lenok*(♂)

XU Ge-feng¹, YIN Jia-sheng¹, LIU Yang¹, LI Yong-fa¹, DU Jia², MOU Zhen-bo¹

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Science, Harbin 150070, China;

2. Department of Aquaculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In the present study, distant hybridizations between *Hucho taimen* and *Brachymystax lenok* were carried out by artificial propagation. The results showed that there were no significant differences in fertilization rate, eyed rate, hatching rate, larva floating rate of the hybrid between *Hucho taimen*(♀) and *Brachymystax lenok*(♂)(HB) and control groups($P > 0.05$). First feeding larvae were fed with waterfleas and limnodrilu, then the mixture of limnodrilu and power diets, particulated diets. The taming results showed that the fries of *Brachymystax lenok*(BB) were the easiest to open mouth and to be fed particulated diets, then were the the hybrid between *Hucho taimen*(♀) and *Brachymystax lenok*(♂)(HB), the fries of *Hucho taimen*(HH) were the hardest. After six weeks, the body weight and length of fries grew gradually in all groups. The body

收稿日期: 2009-06-03

基金项目: 黑水研基本科研专项(2007HSYZX-YY-21); 黑龙江省科技攻关项目(GC03B511; GA06B203-4); 科技部农转资金项目(2007GB23260395); 国家“十一五”支撑计划(2006BAD03B08)

作者简介: 徐革锋(1979-), 男, 助理研究员, 主要从事鱼类育种方面的研究。E-mail: xgffish@yahoo.com.cn

通讯作者: 牟振波, E-mail: mouzhenbo@163.com

weights of HB were 25% faster than HH and 70% faster than BB. The regression analysis of the relationship between body length and weeks old, body weight and weeks old were $Y = 0.022x^2 + 0.52x + 7.30$ ($R^2 = 0.9874$) and $Y = 2.8171e^{0.2541x}$ ($R^2 = 0.9877$), respectively. The regression analysis of the relationship between body length and body weight was $Y = -0.0024x^3 + 0.051x^2 + 0.42x + 7.4$ ($R^2 = 0.9875$). The daily weight gain of HB was (0.30 ± 0.13) g, which was higher than HH and BB.

Key words: *Hucho taimen*; *Brachymystax lenok*; intergeneric hybridizations; artificial reproduction; growth characteristics

哲罗鲑 (*Hucho taimen*) 属鲑形目 (Salmoniformes)、鲑科 (Salmonidae)、哲罗鲑属 (*Hucho*)。濒危等级为易危, 国家二级保护动物^[1-2]。哲罗鲑主要分布在俄罗斯的伏尔加河、皮乔拉河、贝加尔湖流域、额穆尔河水系、哈萨克斯坦的鄂毕河水系、中国的黑龙江水系和额尔齐斯河水系^[3-5]。由于环境污染、过渡捕捞等人为因素影响, 近 20 年来中国境内的哲罗鲑资源量极具下降, 其种群数量已处于濒危状态^[1, 6-7]。野生哲罗鲑性成熟年龄为 5⁺ 龄, 体长大于 40 cm, 是淡水鱼中最凶猛的大型鱼类之一^[8-9]。野生哲罗鲑一般集群于大的江河湖泊之中越冬, 繁殖期在每年的 4-5 月份, 水温在 8℃ 左右, 以底质为砂砾的清澈小河、溪流为产卵场, 属洄游产卵型鱼类, 其产卵方式与大麻哈鱼相似^[2, 8, 10]。

细鳞鲑 (*Brachymystax lenok*) 属鲑形目 (Salmoniformes)、鲑科 (Salmonidae)、细鳞鲑属 (*Brachymystax*)。濒危等级为易危, 国家二级保护动物^[1, 11]。细鳞鲑主要分布于西伯利亚东部、蒙古北部、中国、韩国, 欧洲和北美洲等地区^[11-13]。目前在中国的黑龙江流域栖息着吻部特征不同的两种细鳞鲑^[14-15], 一种为尖吻形态的; 另一种为钝吻形态的。该鱼是我国名贵的鲑科冷水性经济鱼类, 具有很高的营养和食用价值。但近些年来随着人口增长、渔业资源的过度开发利用以及水域生态环境的污染等等, 使细鳞鲑的生存受到了前所未有的威胁, 乃至濒临绝灭的危险境地^[1, 16]。野生细鳞鲑性成熟年龄为 3⁺ 龄, 体长大于 25cm, 是中小型偏肉食性鱼类^[17]。野生细鳞鲑在江河及支流的深水区栖息、越冬, 但在湖泊开阔水域生活, 繁殖期为每年的 5 月份以后, 选择两岸植被茂密、水质澄清的石砾底质的溪流为产卵场, 属洄游产卵型鱼类^[8, 15, 17]。

哲罗鲑与细鳞鲑在生活习性、繁殖习性和遗传演化等方面有着极大的共性^[8, 18], 但由于他们

亲缘关系较远, 导致这两种鱼的绝大部分群体之间处于生殖隔离状态。但在上个世纪 50 年代薛镇宇等^[19]曾报道过, 在黑龙江上游呼玛河段捕获了哲罗鲑与细鳞鲑的天然杂交种。目前哲罗鲑和细鳞鲑的人工繁殖都已经宣告成功, 且均处于人工扩繁阶段。国内许多学者也对这两种鱼的人工繁育^[10, 20-21]、驯化养殖^[20, 22]、生物学^[2-9, 12-15]、遗传学^[23-24]和分子生物学^[11, 25]等方面作了大量工作。2007 年作者就已经解决了这两种鱼的属间杂交难题, 并已经获得大批杂交幼鱼和鱼种。因此, 在人工育苗过程中, 本研究对杂交卵(哲罗鲑(♀)×细鳞鲑(♂))的受精率、发眼率、仔鱼上浮率、开口驯化和幼鱼养殖等进行了初步研究, 在同等条件下将杂交组与对照组进行了对比养殖试验, 比较他们之间的生长性能差异, 验证杂交种是否易于驯化、是否具备杂种优势、是否具有良好的生长潜能等问题, 这将对今后提高生产性能、培育新品种起到重要指导意义。

1 材料与方法

1.1 远缘杂交亲本

野生的哲罗鲑 (*Hucho taimen*) 和细鳞鲑 (*Brachymystax lenok*) 采捕于乌苏里江虎头段, 至今仍保存在中国水产科学研究院黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼试验站。哲罗鲑 10 尾, 均超过 10⁺ 龄, 全长为 84~91 cm, 体重为 4.69~6.75 kg; 细鳞鲑 12 尾, 均超过 8⁺ 龄, 全长为 48.5~55 cm, 体重为 1.38~1.88 kg。

1.2 人工催产繁育

由于野生的哲罗鲑与细鳞鲑的繁殖季节有所不同, 因此, 需选择合适水温范围进行人工培育, 并根据他们对药物的不同敏感效应时间注射性激素, 使杂交亲本的雌雄配子达到同步成熟,

再通过人工繁育技术完成远缘杂交试验。2007年5月份,首先采集哲罗鲑(3尾)和细鳞鲑(3尾)的精液,并将镜检精子活力状况良好的精液4℃保存,而后将采集的哲罗鲑(2尾)和细鳞鲑(4尾)的卵子分别与低温保存的精液混合受精。哲罗鲑(♀)×细鳞鲑(♂)为杂交组,定义为HB;哲罗鲑(♀)×哲罗鲑(♂)和细鳞鲑(♀)×细鳞鲑(♂)为双亲对照组,分别定义为HH和BB。杂交组和对照组均按照♀:♂=1:3比例进行人工授精,孵化采用与虹鳟鱼相同的方法^[26]。受精卵的人工繁育效果按如下公式计算^[27]:

$$F = N_2 / N_1 \times 100\% \quad (1)$$

$$E = N_3 / N_2 \times 100\% \quad (2)$$

$$H = N_4 / N_3 \times 100\% \quad (3)$$

$$L = N_5 / N_4 \times 100\% \quad (4)$$

式中: F 为受精率(%); E 为发眼率(%); H 为孵化率(%); L 为仔鱼上浮率(%); N_1 为排出卵数(个); N_2 为受精卵数(个); N_3 为发眼卵数(个); N_4 为出苗数(个); N_5 为上浮仔鱼数(个)。

1.3 鱼苗开口、驯化饲养

参照徐革锋等^[20]和徐伟等^[10,21]的方法,对不同时期上浮的鱼苗(HH、HB和BB)进行同等条件下的生物饵料(水蚤和水蚯蚓)开口、转口,人工饲料(饲料粉末、软颗粒、硬颗粒)驯化,并培育出一定数目的幼鱼群体。

1.4 幼鱼期生长特性比较

将哲罗鲑(HH)、细鳞鲑(BB)及其杂交种(HB)幼鱼各900尾,分成3个试验组,每组设3个平行(3×300)。第一组为哲罗鲑对照试验组(HH₁-HH₃组),第二组为细鳞鲑对照试验组(BB₁-BB₃组),第三组为杂交试验组(HB₁-HB₃组),投喂国产饲料(山东升索,1.5mm粒径),试验共进行6周,第0周设为应激适应期,试验前每组随机测量30尾鱼的初始全长和体质量数据,之后每周分别测量一次。每天投饵量保持在鱼体质量的8%~10%,投饵率为3次/d,试验期间饲养管理参照徐革锋等^[20]的方法。

1.5 生长性能指标及数据统计

幼鱼期生长性能指标分别设置为全长、体质量的变化曲线,全长增长与体质量增长的变化关系及日增重。通过SPSS11.5分别对HH₁₋₃、

HB₁₋₃和BB₁₋₃的鱼全长、体质量与周龄,全长与体质量进行回归分析,根据相关指数(R^2)的大小表示回归方程可靠程度的高低,并选择相关指数最高的曲线关系式作为生长性能最佳曲线方程,通过显著性比较对不同试验组的日增重情况进行分析与计算。

2 结果

2.1 人工繁育效果

HB受精卵经过148~155℃·d出现眼点,而HH和BB的眼点分别需经过160~170℃·d、140~150℃·d发育才能出现。HB、HH和BB的各项人工繁育的技术指标见表1,杂交组(HB)与对照组(HH和BB)的受精率、发眼率、孵化率和仔鱼上浮率均差异不显著($P>0.05$)。HB的孵化率和仔鱼上浮率均高于HH和BB的。

表1 哲罗鲑(♀)×细鳞鲑(♂)的远缘杂交受精率、发眼率、孵化率和仔鱼上浮率

Tab.1 The fertilization rate, eyed rate, hatching rate, larva floating rate of the hybrid between *H. taimen* (♀) and *B. lenok* (♂)

分组	受精率 (%)	发眼率 (%)	孵化率 (%)	仔鱼上浮率 (%)
	$\bar{X} \pm S. D$			
HB	90.1 ± 3.1	89.1 ± 0.8	94.2 ± 0.9	97.5 ± 0.1
HH	91.5 ± 0.8	91.8 ± 0.7	93.0 ± 1.0	96.3 ± 0.5
BB	90.1 ± 1.5	89.8 ± 0.9	91.8 ± 2.3	94.7 ± 1.0

注:同列数值肩 uppercase 字母表示差异程度,不同字母表示存在显著性差异($P<0.05$)。

2.2 鱼苗开口及驯化

当HH、HB和BB的上浮仔鱼开始摄取外源营养时,需根据已有经验与鱼苗发育情况,于2007年适时选择不同饵料进行投喂,饵料选择、配比和驯化方法等见表2。投喂饵料的规格主要取决于鱼苗口列大小,在开口初期只能投喂小规格的水蚤,随着鱼苗口列变大,可以选用细微机械破碎的水丝蚓→粗略机械破碎的水丝蚓→水丝蚓团,再选用饲料粉与水丝蚓按一定比例混合成泥团进行饲喂,经过这种过渡后,逐渐选用饲料泥团→软颗粒饲料→硬颗粒饲料进行饲喂。研究发现,BB最易于开口驯化和摄食人工饲料,其次是HB,最难于驯化的是HH。

表 2 HH、HB 和 BB 鱼苗对不同饵料的选择及人工驯养
Tab.2 Different food choice of young HH, HB, BB and artificial acclimatization

日期 (月,日)	饵料及其配比			驯化方法		死亡率 (%)
	HH	HB	BB	投喂量	投饲频率 (次/d)	
5,24 - 6,3	100% 水蚤	100% 水蚤	100% 水蚤(或水丝蚓)	饱和	4	1~5
6,4 - 6,11	100% 水蚤	75% 水蚤 + 25% 水丝蚓	100% 水丝蚓	饱和	4	1~5
6,12 - 6,20	50% 水蚤 + 50% 水丝蚓	25% 水蚤 + 75% 水丝蚓	50% 水丝蚓 + 50% 粉状饲料	饱和	4	1~5
6,21 - 7,1	25% 水蚤 + 75% 水丝蚓	100% 水丝蚓	100% 粉状饲料	饱和	4	1~3
7,2 - 7,10	100% 水丝蚓	50% 水丝蚓 + 50% 粉状饲料	100% 微颗粒饲料	饱和	4	1~3
7,11 - 7,20	50% 水丝蚓 + 50% 粉状饲料	25% 水丝蚓 + 75% 粉状饲料	100% 微颗粒饲料	饱和	4	1~3
7,21 - 8,1	10% 水丝蚓 + 90% 粉状饲料	100% 微粒饲料	100% 微颗粒饲料	饱和	6	1
8,2 -	100% 微颗粒饲料	100% 微颗粒饲料	100% 颗粒饲料	8~12% (体质量)	6	1

2.3 幼鱼阶段不同试验组的生长性能比较

HH、HB 和 BB 幼鱼的初始全长和体质量见图 1 和图 2,由于发育速度不同,导致 HB 和 HH 的全长显著大于 BB;HB 的体质量显著大于 BB 和 HH($P < 0.05$),BB 全长与 HH 之间不存在显著性差异($P > 0.05$)。HH、HB 和 BB 经过 6 周的培育,其全长与体质量均呈正增长趋势变化(图 1 和图 2),HB 的体质量增长较 HH 快近 25%,较 BB 快近 70%。

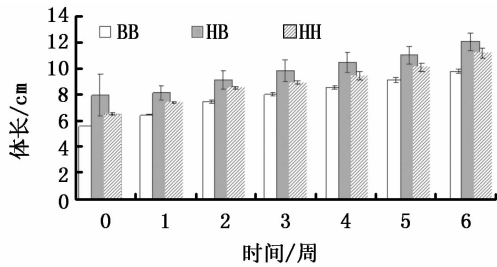


图 1 HH、HB 和 BB 在 6 周内的体长增长情况
Fig.1 The body length of HH, HB, BB with six weeks

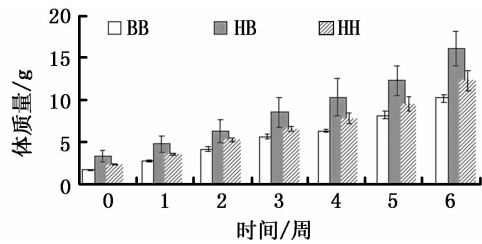


图 2 HH、HB 和 BB 在 6 周内的体重增长情况
Fig.2 The body weight of HH, HB, BB with six weeks

2.4 生长性能的回归分析

本研究根据试验结果选用二次多项式曲线 $Y = ax^2 + bx + c$ 做为 HH、HB 和 BB 的全长与周龄关系的最佳方程(表 3);体质量与周龄的关系选用指数曲线 $Y = ae^{bx}$ 做为最佳方程(表 3);全长与体质量的关系选用三次多项式 $Y = ax^3 + bx^2 + cx + d$ 为最佳曲线方程(表 3)。HH、HB 和 BB 的日均增重之间不存在显著性差异($P > 0.05$) (表 3),但 HB 的平均日增重最大、HH 的次之、BB 的最小。

表 3 HH、HB 和 BB 幼鱼时期生长特性的回归分析
Tab.3 The regression analysis of growth on fingerlings of HH, HB, BB

项目	方程式		
	HH	HB	BB
体长与周龄	$Y = -0.011x^2 + 0.81x + 5.88$ ($R^2 = 0.9841$)	$Y = 0.022x^2 + 0.52x + 7.30$ ($R^2 = 0.9874$)	$Y = -0.038x^2 + 0.99x + 4.68$ ($R^2 = 0.995$)
体质量与周龄	$Y = 2.0822e^{0.2622x}$ ($R^2 = 0.9693$)	$Y = 2.8171e^{0.2541x}$ ($R^2 = 0.9877$)	$Y = 1.5046e^{0.2883x}$ ($R^2 = 0.9605$)
体长与体质量	$Y = 0.028x^3 - 0.34x^2 + 1.9x + 4.9$ ($R^2 = 0.9951$)	$Y = -0.0024x^3 + 0.051x^2 + 0.42x + 7.4$ ($R^2 = 0.9875$)	$Y = 0.012x^3 - 0.18x^2 + 1.5x + 4.2$ ($R^2 = 0.9973$)
日均重($\bar{X} \pm S.D$)(g/d)	0.24 ± 0.82	0.30 ± 0.13	0.20 ± 0.069

3 讨论

3.1 哲罗鲑(♀)×细鳞鲑(♂)的人工繁育

哲罗鲑与细鳞鲑均属鲑科鱼类,但分类于不同属^[1],在黑龙江水系这两种鱼分布极为广泛,并且它们的繁殖特性和进化地位等方面具有极大的共性^[8,18]。薛镇宇等^[19]和张觉民^[8]均报道过,在黑龙江水系的呼玛河段曾捕获到哲罗鲑与细鳞鲑的天然杂交种,充分证明哲罗鲑与细鳞鲑存在杂交的可能性。一般情况下在鲤科、鲤科范围内的亚科、鲢鳙亚科、鳊亚科和鲃亚科等鱼类中运用属间杂交育种手段较为成功和有效^[28]。而在鲑鳟鱼类领域属内的种间杂交是主要的育种手段,且人工繁育的杂交子代大多数能存活^[29]。但绝大部分鲑科鱼属间杂交不能获得成活的杂种,如硬头鲑(*Oncorhynchus mykiss*)与红点鲑属鱼(*Salvelinus*)杂交,不论正反交杂种孵化率低,获得的少量鱼苗生活力也很低^[28-29]。本研究通过人工繁育技术成功将哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)进行了远缘杂交,结果表明,HB、HH和BB的受精率、发眼率、孵化率和仔鱼上浮率不存在显著性差异($P > 0.05$),但HB的孵化率和仔鱼上浮率均高于双亲对照组(表1),且人工繁育效果均好于其他鲑科鱼属间^[28-29]、部分种间杂交^[30]。本研究发现,进行属间杂交的难点在于亲本配子成熟的同步性和2个远缘种的雌雄核质的亲和性,再有就是要有较为成熟的人工繁育经验作为基础,本研究主要借鉴了哲罗鲑、细鳞鲑以及虹鳟的人工繁育经验,从而完成了对哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)的属间远缘杂交,且成功获得了大批繁育后代。本研究对哲罗鲑(♀)与细鳞鲑(♂)的成功繁育不但为我国鲑科鱼领域的属间杂交研究填补空白,还为将来开发新的商业养殖品种奠定了基础。

3.2 哲罗鲑(♀)、细鳞鲑(♂)及其杂交种鱼苗的开口及驯化

鱼类摄食人工全价饵料饲料是规模化养殖的一个重要环节,但其食性及摄食行为是生物进化过程中长期形成的遗传特性,一般较难人为改变,肉食性凶猛鱼类的鱼苗人工驯养难度表现的尤为突出^[10]。鲟鱼(*Acipens*)^[31-32]、细鳞鲑^[20,33]

和哲罗鲑^[10,27]等的驯养都是采用先投喂动物性或生物饵料,然后再逐渐掺入人工配合饲料的方法进行转口驯化,且转口时期选用的饲料均要求较高的蛋白质含量。从本研究的结果来看,在哲罗鲑鱼苗阶段进行生物饵料开口和人工饲料转口及驯化均较为困难,这与徐伟等^[10]的结果相一致,但Jungwirt^[34]在对多瑙河哲罗鱼(*Hucho hucho*)的研究发现,利用人工饲料无法对其进行驯养;而在细鳞鲑鱼苗阶段进行生物饵料开口、以及人工饲料转口均较哲罗鲑的容易,这与徐革锋等^[20]的研究结果一致,但哲罗鲑(♀)×细鳞鲑(♂)在鱼苗阶段开口、驯化难度介于双亲之间,较哲罗鲑容易,但不如细鳞鲑易于驯化。研究表明,HB遗传了HH的生长快的优势,同时还继承了BB的易于开口、驯化等一些特性,并推测HB的杂种优势应来源于HH与BB异质性结合后的等位基因间相互作用的结果。相比较之下,其它鲑鳟鱼类如虹鳟、大西洋鲑和银鲑等的鱼苗均可完全采用人工全价饲料进行开口驯化^[10,27,35],这可能与不同种类的遗传、食性和适应生境的因素有关。

3.3 哲罗鲑(♀)、细鳞鲑(♂)及其杂交种在幼鱼时期的生长性能分析

本研究发现,HB在胚胎时期和鱼苗时期的生活力与双亲无显著性差异($P > 0.05$),且HB在幼鱼阶段表现出杂种的生长优势。HB的生长较父母本都快,这与以往鲑科鱼的属间杂交不能获得子代或子代不具有生长优势有所不同^[29]。本研究对HH、HB和BB的6周生长性能指标进行了回归分析,拟合出了相关的最佳生长方程(表3)。通过对日增重分析发现,HB的生长快于双亲,但由于杂种优势的遗传基础的复杂性,及其研究与验证方法的局限性,导致我们对杂种优势的本质或遗传机理仍不太清楚,但通过杂种优势贡献力的估算和分子生物学证据(另文待发表)能够定性的推断出,HB的生长优势主要贡献者是HH。

参考文献:

- [1] 乐佩琦,陈宜瑜. 鱼类[M]//汪松. 中国濒危动物红皮书, 1版. 北京:科学出版社,1998:29-37.
- [2] 董崇智,李怀明,赵春刚. 濒危名贵哲罗鱼保护生物学的研究I,哲罗鱼分布区域及其变化[J]. 水产学杂志, 1998,11(1):65-69.

- [3] 尼科里斯基. 黑龙江流域鱼类[M]. 高岫,译. 北京:科学出版社,1960:42-47.
- [4] 李思忠. 新疆北部鱼类的调查研究[J]. 动物学报, 1966, 18(1):41-56.
- [5] Holcik J, Hensel K, Nieslanik J, et al. The Eurasian Huchen *Hucho hucho*: Largest Salmon of the World[M]. Hingham (USA): Kluwer Academic Publishers, 1988: 42-131.
- [6] 董崇智,李怀明,赵春刚. 哲罗鱼性状及生态学资料[J]. 水产学杂志, 1998, 11(2):34-39.
- [7] 任慕莲,郭焱,张秀善,等. 中国额尔齐斯河鱼类资源及渔业[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,2002:58-63.
- [8] 张觉民. 黑龙江省鱼类志[M]. 哈尔滨:黑龙江科技出版社, 1995:50-54.
- [9] 尹家胜,徐伟,曹顶臣,等. 乌苏里江哲罗鲑的年龄结构、性比和生长[J]. 动物学报,2003,49(5):687-692.
- [10] 徐伟,尹家胜,匡友谊,等. 哲罗鱼人工育苗技术研究[J]. 上海水产大学学报,2008,17(4):252-256.
- [11] 夏颖哲,盛岩,陈宜瑜. 利用线粒体 DNA 控制区序列分析细鳞鲑种群的遗传结构[J]. 生物多样性, 2006, 14(1): 48-54.
- [12] 黄浩明,张德龙,庄龙杰,等. 鸭绿江细鳞鱼的生物学[J]. 水生生物学报,1989,13(2):160-168.
- [13] Lee sang-min. Protein requirement of juvenile Manchurian trout *Brachymystax lenok*[J]. Fisheries Science,2001, 67: 46-51.
- [14] 马波,尹家胜,李景鹏. 黑龙江流域两种细鳞鲑的形态学比较及其分类地位初探[J]. 动物分类学报,2005,30(2): 257-260.
- [15] 牟振波,刘伟,徐革锋. 乌苏里江二种细鳞鱼生物学比较研究[J]. 水产学杂志,2006,19(2):1-8.
- [16] 徐革锋,陈松波,牟振波. 细鳞鱼的卵黄发生[J]. 中国水产科学,2007,14(3):377-38.
- [17] 董崇智,夏重志,姜作发,等. 呼玛河细鳞鱼种群生态学特征及保护[J]. 水产学杂志,1997,10(1):77-81.
- [18] Hartley S E. The chromosomes of salmonid fishes[J]. Biological Reviews, 1987, 62: 197-214.
- [19] 薛镇宇,黄尚务,阎荣元. 黑龙江流域的细鳞鱼和哲罗鱼及其杂交种[J]. 水生生物学集刊,1959,2:215-220.
- [20] 徐革锋,夏大明,姚德鑫,等. 不同饵料对细鳞鱼仔鱼开口驯化的比较[J]. 水产学杂志,2007,20(2):7-11.
- [21] 徐伟,尹家胜,姜作发,等. 哲罗鱼人工繁育技术的初步研究[J]. 中国水产科学, 2003,10(1):26-30.
- [22] 姜作发,尹家胜,徐伟,等. 人工养殖条件下哲罗鱼生长的初步研究[J]. 水产学报,2003,27(6):590-594.
- [23] Viktorovsky R M, Makoedov A N, Shevchishin A A. The chromosomal sets of *Brachymystax lenok* and *Hucho taimen* and the divergency of the salmonid genera[J]. Tsiologiya, 1985, 27: 703-709.
- [24] 张荣华,孙中武,尹家胜,等. 哲罗鱼的染色体核型分析[J]. 水产学杂志,2008,21(1):64-67.
- [25] 佟广香,鲁翠云,匡友谊,等. 哲罗鱼基因组微卫星富集文库的构建与分析[J]. 中国水产科学, 2006,13(2):181-186.
- [26] 刘雄,王照明,金国善,等. 虹鳟养殖技术[M]. 北京:农业出版社,1990:34-70.
- [27] 徐伟,孙慧武,关海红,等. 哲罗鱼全人工繁育的初步研究[J]. 中国水产科学,2007,14(6):896-902.
- [28] 范兆廷主编. 水产动物育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2005:109-110.
- [29] 楼允东主编. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社, 1999:83-86.
- [30] Galbreath P F, Tnorgaard G H. Saltwater performance of triploid Atlantic salmon *Salmo salar* L. × brown trout *Salmon trutta* L. hybrids[J]. Aquaculture Research, 1997, 28:1-8.
- [31] 孙大江,曲秋芝,吴文化,等. 史氏鲟人工繁殖及养殖技术[M]. 北京:海洋出版社,2000: 52-58.
- [32] 柴毅,危起伟,李罗新,等. 中华鲟仔鱼的转食驯化[J]. 安徽农学通报,2008,14(17):179-203.
- [33] 张玉勇,徐革锋,金舒博,等. 养殖密度对饵料驯化期细鳞鱼稚鱼生长的影响[J]. 上海水产大学学报,2008,17(3): 321-326.
- [34] Jungwirth M. The problem of farming and conservation of the Danube salmon (*Hucho hucho* L.) [J]. Envir Biol Fish, 1978, 3:231-234.
- [35] 李永发,梁双,候俊林. 陆封型大西洋鲑的池塘养殖及生物学研究[J]. 水产学杂志,2005,18(1):29-32.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0184 - 06

室内罗氏沼虾幼虾养殖密度对水质与生长的影响

刘永士¹, 臧维玲¹, 侯文杰¹, 张煜¹, 杨明¹, 戴习林¹, 丁福江²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306

2. 上海申漕特种水产开发公司, 上海 201516)

摘要:通过室内 60 d 罗氏沼虾幼虾养殖试验,研究了不同养殖密度(150 ind/m³、400 ind/m³、550 ind/m³、800 ind/m³)对水质与幼虾生长特点的影响。试验发现,各密度组水质指标 pH、DO、TAN、NH₃-N、NO₂⁻-N 和 COD_{Mn}均控制在罗氏沼虾生长的适合范围之内,密度对主要水质指标未产生显著性影响;不同养殖密度对幼虾生长指标产生不同程度的影响,最低密度组成活率和增长率与其他各组存在显著性差异($P < 0.05$),次低密度组增长率与最高密度组存在显著性差异($P < 0.05$),最低密度组的增重率与其他各组存在极显著差异($P < 0.01$);4 种密度组的罗氏沼虾幼虾体重(w)和体长(L)之间的关系都符合幂函数方程: $w = aL^b$ (a 的范围为 0.013 2 ~ 0.015 1, b 的范围为 3.433 0 ~ 3.502 1);体长(L)和养殖天数(d)间符合线性相关: $L = ad + b$ (a 的范围为 0.038 5 ~ 0.049 2, b 的范围为 1.801 1 ~ 1.886 1)。室内高密度养殖罗氏沼虾幼虾可根据自身养殖条件,参考 150 ~ 400 ind/m³ 选用布苗密度。

关键词:罗氏沼虾;密度;水质;成活率

中图分类号: S 966.1 文献标识码:A

The effect of the stocking densities of indoor juvenile shrimps *Macrobrachium rosenbergii* culture on water quality and growth

LIU Yong-shi¹, ZANG Wei-ling¹, HOU Wen-jie¹, ZHANG Yu¹, YANG Ming¹, DAI Xi-lin¹, DING Fu-jiang²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Shencao Special Fisheries Development Co., Shanghai 201516, China)

Abstract:This study analysed the effect on water quality and growth characteristics of juvenile shrimps *Macrobrachium rosenbergii* in different stocking densities(150 ind / m³, 400 ind / m³, 550 ind / m³, 800 ind / m³) by 60-day indoor culture experiment. The results showed that the water quality indexes of different densities groups, such as pH, DO, TAN, NH₃-N, NO₂⁻-N, COD_{Mn} were effectively controlled within safe range. There was no significant difference among main water quality indexes in different stocking densities. Different densities partly had influence on the growth of juvenile shrimps. The survival rate and growth rate of the lowest density group were significantly different from the other groups ($P < 0.05$), while significant difference was found on growth rate between the second lowest density group and the highest density group ($P < 0.05$). The weight gain rate of the lowest density group was significantly different from the other groups($P < 0.01$). By regression analysis, the regression equations of the body weight (w)-length (L)

收稿日期:2009-07-16

基金项目:上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2006)第9-4号]

作者简介:刘永士(1985-),男,硕士研究生,专业方向为渔业水环境及其调控。E-mail: liuys101@yahoo.com.cn

通讯作者:戴习林,E-mail:xldai@shou.edu.cn

relationship of juvenile shrimps *Macrobrachium rosenbergii* were obtained as $w = aL^b$ ($a: 0.013\ 2 - 0.015\ 1$, $b: 3.433\ 0 - 3.502\ 1$), and the relationship of body length and culture days met linear correlation as $L = ad + b$ ($a: 0.038\ 5 - 0.049\ 2$, $b: 1.801\ 1 - 1.886\ 1$). Indoor high-density culture of juvenile shrimps *Macrobrachium rosenbergii* should be based on their own conditions, the stocking densities of 150–400 ind/m³ could be employed.

Key words: *Macrobrachium rosenbergii*; density; water quality; survival

罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 因生长快、食性广与抗病能力强等优点,近年来成为我国及东南亚地区广泛开展养殖的虾类之一^[1-2],在我国一些地区,如江苏省高邮与江都等地已形成罗氏沼虾规模化养殖产业,同时强有力地带动了相关产业的发展,形成了当地经济的支柱产业。为提高产量与经济效益,一些资料研究了有关提高罗氏沼虾产量的养殖技术^[3-5]。为提前上市,人们通常采用大棚温室将罗氏沼虾幼虾暂养一个月左右再移于外塘养成^[6],印度、美国与泰国等探讨了以置于池塘中网箱养殖罗氏沼虾幼虾的技术^[7-9],其中巴西 Marques 等^[10]的研究结果发现,利用网箱养殖幼虾可提高养殖密度,操作简便,成本低,但提高密度使成活率有所降低和减缓生长速度。我国关于室外塘罗氏沼虾养殖密度对生产影响的研究也有报道^[11-12],但有关温室养殖密度对罗氏沼虾幼虾生长影响的研究报道较罕见。本文探讨了温室不同养殖密度对罗氏沼虾幼虾生长特点与水质的影响,研究结

果可为温室开展罗氏沼虾幼虾高密度养殖提供科学与实践依据,为罗氏沼虾提早上市提供新的养殖模式。

1 材料与方法

1.1 试验池与养殖用水

养殖试验在上海申漕特种水产开发公司卤虫孵化池进行,池上部为长方体(1.64 m × 1.62 m × 0.73 m),下部为圆锥体(h = 0.4 m),养殖有效水体为 2 m³,池中心设有排污管,开启阀门可排污,池中放有 2 个充气石。试验用水为经漂白粉精消毒、暗房沉淀数日和充分曝气等预处理的河水。

1.2 试验用虾

试验用虾为公司培育罗氏沼虾淡化暂养苗。试验共设计 4 种密度,分别为 150 ind/m³、400 ind/m³、550 ind/m³ 和 800 ind/m³,每密度组有 2 个重复,试验池布苗简况见表 1。

表 1 试验池布苗简况

Tab. 1 The seedstock of experimental ponds

组别	放养密度		平均体长 (cm)	平均体重 (g)
	单位平方米的尾数(ind/m ²)	单位立方米的尾数(ind/m ³)		
1	111	150	1.73 ± 0.19	0.106
2	296	400	1.95 ± 0.54	0.149
3	407	550	1.97 ± 0.43	0.135
4	592	800	2.13 ± 0.52	0.208

1.3 试验管理

试验池采用低水位 50 cm 布苗。试验期间,按 4 次/d 投喂人工颗粒料,定时观察虾的活力、摄食饱食度及残饵等情况,适时调整投饵量,每 10 d 于各试验池随机取 10 尾虾,测体长和体重,同时取水样测定氨氮等水质指标,据检测结果适时添加生石灰液调节 pH 以及排污。试验中不换水、不用药,仅添加因蒸发和排污损失的水量。

1.4 水质指标测定方法

每 10 d 测定各试验池水质指标,测定方法如下^[13-14]:溶解氧(DO)采用修正碘量法;COD 采用碱性高锰酸钾法;pH 采用 pHB-4 型 pH 计测定、总氨氮(TAN)采用萘式比色法;NO₂⁻-N 采用重氮—偶氮比色法;NO₃⁻-N 采用锌镉还原—重氮偶氮比色法。非离子氨氮(NH₃-N)浓度由总氨氮(TAN)浓度通过下式^[12]计算求得:

$$C_{\text{NH}_3\text{-N}} = C_{\text{TAN}} \times f_{\text{NH}_3\text{-N}} \quad (1)$$

$$f_{\text{NH}_3\text{-N}} = 1 / [1 + 10^{(pK_a - pH + pYH)}] \quad (2)$$

式中: $C_{\text{NH}_3\text{-N}}$ 为分子氨浓度 (mg/L); C_{TAN} 为总氨氮浓度 (mg/L); $f_{\text{NH}_3\text{-N}}$ 为非离子氨 ($\text{NH}_3\text{-N}$) 占总氨氮 (TAN) 的百分比 (%); pK_a 为 NH_4^+ 水解反应表现平衡常数的负对数; $pYH = -\lg YH$ (氢离子活度系数的负对数)。

1.5 数据处理

据试验结果按以下式子计算虾的增重率 (W)、增长率 (L) 和成活率 (S):

$$W = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\% \quad (3)$$

$$L = (L_t - L_0) / L_0 \times 100\% \quad (4)$$

$$S = N_t / N_0 \times 100\% \quad (5)$$

式中: W_0 为初始体重 (g); W_t 为终末体重 (g); L_0 为初始体长 (cm); L_t 为终末体长 (cm); N_0 为初始尾数; N_t 为终末尾数。

2 结果与讨论

2.1 不同养殖密度对养殖试验池水质的影响

表 2 为 60 d 养殖试验期间各密度组水质指标测定值。表 2 表明, 在 60 d 养殖期间, pH 和 DO 随养殖密度增加逐渐降低, 其余水质指标则逐渐升高, 但增与升的幅度均较小, 如最高密度组的 DO 与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 平均值仅较最低密度组分别下降 0.28 mg/L 与上升 0.001 mg/L。用最小显著差数法 (LSD 法)^[15], 对水质指标作显著性检验, 发现第 1、2 组 pH 均与第 3、4 组间有极显著差异 ($P < 0.01$), 第 3 组 pH 与第 4 组有显著差异 ($P < 0.05$)。这些差异主要是各池泼洒石灰液时间不同, 而测 pH 时间相同所致; 第 1、2 组 TAN 均和第 3、4 组存在极显著性差异 ($P < 0.01$), 但 $\text{NH}_3\text{-N}$ 并不存在显著差异, 而 TAN 的毒性主要为 $\text{NH}_3\text{-N}$ 。各密度组其余各相应水质指标间均无显著性差异。可见, 采用本试验条件, 在 60 d 养殖周期内, 虽然试验池主要水质指标平均值表现随养殖密度加大逐步变差, 但并无对主要水质指标产生显著性影响, 且水质指标均处于适合罗氏沼虾生长状况^[16-17]。如即使检测到的 DO 最低值也达 5.93 mg/L, 既可满足池水物质正常循环、保持氧化状态所需溶氧 (3.5 mg/L 以上) 的条件^[17], 也可满足虾正常呼吸需要。应指出, 尽

管试验组最大密度差达 650 ind/m³, 各密度组相应水质指标间之所以不存在显著性差异, 主要由于净水网对 TAN、 NO_2^- -N 和悬浮物等具有良好的吸附与转化作用^[18]。

2.2 不同养殖密度对生长的影响

表 3 与图 1 分别为罗氏沼虾幼虾饲养 60 d 后, 养殖密度对成活率、增长率、单位产量与增重率等生长指标的影响。表 3 与图 1 表明, 成活率、增长率与增重率等均随养殖密度增大逐渐降低。有关室外塘养殖密度对凡纳滨对虾及其他虾类生长影响的研究也有类同结果^[10, 19-20]。前已述及, 各试验组水质指标均处于虾合适生长范围, 但密度最低的第 1 组成活率 (74.9%) 为其余组的 1.4 ~ 2.2 倍, 此主要因其密度仅为其余组 18.8% ~ 37.5%, 有研究指出^[21-22], 不同养殖密度显著影响虾的成活率, 且虾类具自残特点, 特别是蜕壳后甲壳硬化前易被蚕食, 养殖密度升高, 个体对资源、空间的竞争加剧, 虾体相互接触频率增加, 加剧相互间撕咬和吞食程度, 导致残杀率提高, 从而降低成活率。这些也均是导致本试验较高密度组成活率均显著低于第 1 组的原因 ($P < 0.05$)。表 3 和图 1 表明, 第 1 组增长率与增重率不同程度高于其余组, 分别为其余组的 1.3 ~ 1.6 倍与 1.9 ~ 3.2 倍, 利用最小显著差数法 (LSD 法)^[15] 作显著性检验结果表明, 第 1 组的低养殖密度也使其幼虾增长率和增重率分别与其余组存在显著性差异 ($P < 0.05$) 和极显著性差异 ($P < 0.01$), 次低密度组虾增长率与最高组存有显著性差异 ($P < 0.05$)。以往文献也有类似的结果报道, 如徐晓群等^[23] 和杨国梁等^[24] 均指出养殖密度过大会导致种内对水域空间或食物资源的竞争, 通常是体质较弱的幼体更处于劣势, 生长率进一步下降, 因此整个种群的平均生长率下降, 养殖密度不同造成的竞争还会使能量消耗程度不同, 进而影响生长。张国新以 75 ~ 900 ind/m² 养殖密度进行凡纳滨对虾养殖试验也发现, 密度对于虾体长与体重增加存有极显著或显著影响。

表 3 表明, 经 60 d 养殖试验, 虽然单位水体产量随密度增加而逐渐增高, 最高密度组产量 (0.740 kg/m³) 为最低组 (0.451 kg/m³) 的 1.6 倍, 其布苗密度为第 1、2 组的 5.3 与 2.0 倍, 苗种成倍剧增, 但经显著性检验, 4 种密度组产量却无

显著差异 ($P > 0.05$)。有资料提出^[10],将体重 0.05 g 罗氏沼虾幼虾置于外塘网箱暂养 60 d,各密度组 (100 ~ 800 ind/m²) 间成活率无显著差异,但最高密度组的最终体重与增重量均最高,故其认为以网箱暂养幼虾 (初始体重约 0.05 g),采用 800 ind/m² 密度可降低养殖成本。鉴于本试验结

果以及初始虾体重 (0.106 ~ 0.208 g) 高于前者,且是采用室内不换水的封闭式小水体养殖,故建议室内罗氏沼虾幼虾暂养布苗密度可参考 150 ind/m³ ~ 400 ind/m³ 进行选择。对于大水体或初始幼虾体重远小于本试验时,可适当增加布苗密度。

表 2 试验期间不同养殖密度组水质指标测定结果
Tab. 2 The water quality index of test groups with different stocking densities

养殖天数 (d)	组别	水温 (°C)	pH	DO (mg/L)	TAN (mg/L)	NH ₃ -N (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N (mg/L)	COD _{Mn} (mg/L)
0	1	33.0	8.43	6.52	0.405	0.087	0.549	8.45
	2	33.0	8.43	6.52	0.405	0.087	0.549	8.45
	3	33.0	8.43	6.52	0.405	0.087	0.549	8.45
	4	33.0	8.43	6.52	0.405	0.087	0.549	8.45
20	1	32.8	8.37	6.53	0.443	0.083	0.013	8.13
	2	32.6	8.41	6.35	0.460	0.092	0.017	7.75
	3	32.7	8.26	6.58	0.678	0.104	0.026	8.76
	4	32.6	8.08	5.93	0.869	0.090	0.057	10.98
40	1	31.2	8.25	6.56	0.247	0.033	0.020	12.04
	2	31.4	8.10	6.44	0.304	0.031	0.053	13.10
	3	31.2	7.91	6.19	0.348	0.024	0.061	22.02
	4	31.1	7.86	6.15	0.519	0.031	0.085	22.51
60	1	26.6	7.99	6.97	0.417	0.024	0.065	16.18
	2	26.6	7.87	6.99	0.380	0.017	0.121	21.47
	3	26.6	7.57	6.92	0.724	0.017	0.185	22.99
	4	26.6	7.46	6.83	0.513	0.009	0.159	31.47
平均值 ± 标准差	1	30.7 ± 2.6	8.21 ± 0.29	6.49 ± 0.53	0.309 ± 0.081	0.052 ± 0.030	0.109 ± 0.195	11.58 ± 3.45
	2	30.7 ± 2.6	8.17 ± 0.32	6.41 ± 0.42	0.367 ± 0.058	0.050 ± 0.032	0.126 ± 0.191	11.76 ± 4.86
	3	30.9 ± 2.5	8.02 ± 0.37	6.36 ± 0.48	0.517 ± 0.147	0.051 ± 0.037	0.142 ± 0.187	14.63 ± 6.52
	4	30.7 ± 2.7	7.97 ± 0.41	6.21 ± 0.50	0.581 ± 0.189	0.053 ± 0.038	0.151 ± 0.179	16.86 ± 8.65

注:表中平均值为试验期间每 10 d 测得的 7 次结果之平均值 ± 标准差;表中 1、2、3、4 组养殖密度分别为 150 ind/m³ (111 ind/m²)、400 ind/m³ (296 ind/m²)、550 ind/m³ (407 ind/m²)、800 ind/m³ (592 ind/m²)。

表 3 试验期间不同养殖密度组水质指标测定结果
Tab. 3 The effect of different stocking densities on growth of *Macrobrachium rosenbergii*

生长指标	密度 (ind/m ³)			
	150	400	550	800
成活率 (%)	74.9 ± 4.0 ^a	51.8 ± 1.9 ^b	42.9 ± 14.6 ^b	34.6 ± 1.4 ^b
增长率 (%)	187.1 ± 2.9 ^a	140.6 ± 0.8 ^b	129.6 ± 8.3 ^{bc}	113.6 ± 11.2 ^c
单位水体产量 (kg/m ³)	0.451 ^a	0.625 ^a	0.618 ^a	0.740 ^a

注:上标字母相同的表示无显著性差异 ($P > 0.05$)。

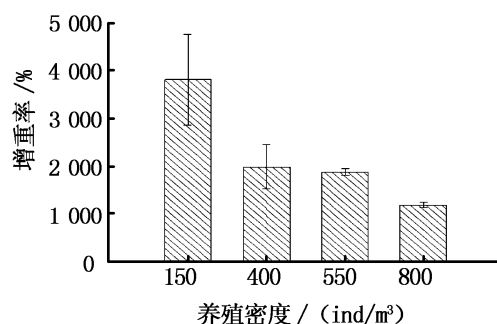


图 1 养殖密度对罗氏沼虾幼虾增重率的影响
Fig. 1 The effect of different stocking densities on weight gain rate of juvenile shrimps *Macrobrachium rosenbergii*

2.3 试验虾体长与体重、体长与养殖天数的关系

将各密度组不同生长阶段所测幼虾体长 (L) 和体重 (w) 以及体长 (L) 和养殖天数 (d) 分别作散点图,发现体长和体重关系符合幂函数 (图 2),体长和养殖天数关系呈线性相关 (图 3)。第 1 组 - 第 4 组幼虾体重和体长关系式为

$$\text{第 1 组 } w = 0.0141L^{3.4889} \quad R^2 = 0.9898$$

$$\text{第 2 组 } w = 0.0132L^{3.4848} \quad R^2 = 0.9939$$

$$\text{第 3 组 } w = 0.0137L^{3.5021} \quad R^2 = 0.9954$$

第4组 $w = 0.0151L^{3.433}$ $R^2 = 0.9980$

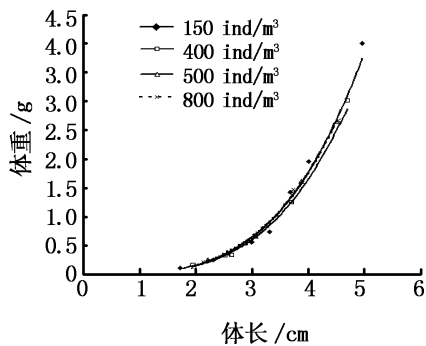


图2 不同密度组罗氏沼虾体重与体长的关系曲线
Fig. 2 The relationship of body weight and length of *Macrobrachium rosenbergii* in different densities groups

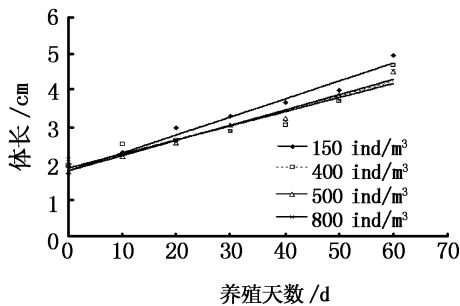


图3 不同密度组罗氏沼虾体长与养殖天数的关系曲线

Fig. 3 The relationship of body length and culture days of *Macrobrachium rosenbergii* in different densities groups

利用 SPSS13.0 软件对上述四组回归方程分别进行假设,检验的结果如下。

$F = 455.844 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$; $F = 865.315 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$; $F = 1464.958 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$; $F = 2053.909 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$ 。表明各密度组幼虾体重和体长的回归关系均极显著,说明体重和体长关系符合幂函数方程。

第1组-第4组幼虾体长和养殖天数关系式为

$$\text{第1组 } L = 0.0492d + 1.8011 \quad R^2 = 0.9765$$

$$\text{第2组 } L = 0.0393d + 1.8861 \quad R^2 = 0.8999$$

$$\text{第3组 } L = 0.0415d + 1.8152 \quad R^2 = 0.9759$$

$$\text{第4组 } L = 0.0385d + 1.8859 \quad R^2 = 0.9376$$

同样对4种密度体长与养殖天数回归方程分别进行假设,检验的结果如下。

$$F = 205.373 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26; F =$$

$44.624 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$; $F = 197.997 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$; $F = 74.631 > F_{0.01}(1, 5) = 16.26$ 。表明试验组幼虾体长和养殖天数的回归关系均极显著,说明体长和养殖天数配合线性方程是适合的。郑善坚^[3]与周智勇等^[25]曾分别提出罗氏沼虾体重与体长间存有幂函数关系、体长与养殖天数间呈线性相关。可见,经60d室内高密度养殖,罗氏沼虾幼虾体重与体长生长特点仍与他人用室外塘养殖罗氏沼虾研究结果类同。

图2显示,幼虾体长约3cm前,体长增长速度较快,且快于体重,此后则显示体重增长加快,这与通常虾类养殖特点相一致^[26-27]。结合图2和图3可看出,当体长小于3cm时(约20d),各密度组的体重随体长的变化特点基本相同,此后幼虾体长直至约4.5cm时,图2曲线显示第1组、第3组与第4组体重随体长的变化特点基本一致,但第1组幼虾在约55d时,体长即达到4.5cm,而第3组与第4组试验虾需经60d饲养体长方达到4.5cm,此特点也在上述显著性检验时得以显示,即第1组的增长率与增重率均与其余组存有显著差异。此与查广才等^[28]提出凡纳滨对虾在40~60d的养殖期间蜕壳和体长生长加快相符。但应注意,这个时期罗氏沼虾蜕壳频繁,体质较弱,如果养殖环境恶化或营养不良,都会造成虾类生长不良或死亡增加,因此,这个时期是高密度养殖的关键期。

3 结论

在试验养殖条件下,4种不同密度试验池的水质指标(DO、pH、TAN、NH₃-N、NO₂⁻-N、COD_{Mn})等均控制在罗氏沼虾生长的合适范围内,密度对主要水质指标未产生显著影响。

不同养殖密度不同程度影响幼虾的成活率与生长状况,150 ind/m³成活率、增长率与增重率与其余组间存有显著与极显著差异。

不同密度组试验虾体重与体长均呈现幂函数关系;体长与养殖天数间具线性关系。

综合试验结果,结合苗种与商品虾价格,建议室内高密度养殖罗氏沼虾幼虾可据自身养殖条件,参考150~400 ind/m³选用布苗密度。

参考文献:

[1] 潘家模,孙祖荣,周国良,等.罗氏沼虾养殖技术[M].上

- 海:上海科学技术出版社,1997:1-11.
- [2] 王克行. 虾蟹类增殖学[M]. 北京:中国农业出版社,1996:235-250.
- [3] 郑善坚. 罗氏沼虾池塘养殖技术及生长研究[J]. 淡水渔业,1995,25(4):40-41.
- [4] 徐桂荣,朱正国,臧维玲,等. 盐度对罗氏沼虾幼虾生长的影响[J]. 上海水产大学学报,1997,6(2):124-127.
- [5] 王亚斌,王军霞,刘存歧,等. 水质因子对罗氏沼虾生长及毒性的研究进展[J]. 河北渔业,2008,(4):1-3,8.
- [6] 邓勇辉,陈文静,周智勇,等. 罗氏沼虾幼虾培育技术[J]. 江西水产科技,2001,(3):29-30.
- [7] Panicker P K R, Kadri E S. Cage-culture experiment on culture of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) [J]. Proceedings of the Short-term Training Programme in Brackish Water Prawn and Fish Culture, 1981: 81-82.
- [8] Menasveta P, Piyatiratitvokul S. Effects of different culture systems on growth survival and production of the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. Elsevier, 1982:175-189.
- [9] Stanley R W, Moore L B. The growth of *Macrobrachium rosenbergii* fed commercial feeds in pond cages [J]. World Maricult. 1983, 14, 174-184.
- [10] Marques H L de A, Lombardi J V, Boock M V. Stocking densities for nursery phase culture of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in cages [J]. Aquaculture, 2000, 180(1-2): 127-132.
- [11] 吴锐全,肖学铮,黄樟翰,等. 罗氏沼虾养殖密度与产量的关系[J]. 淡水渔业,2000,30(3):8-10.
- [12] 朱勇夫,南春莲,印杰. 罗氏沼虾池塘不同养殖密度对比试验[J]. 科学养鱼,2006,(1):29-30.
- [13] 臧维玲. 养鱼水质分析[M]. 北京:中国农业出版社,1991:44-96.
- [14] 国家质量技术监督局. 海水分析—海洋监测规范[S]. 北京:中国标准出版社,1998:142-143, 150-162.
- [15] 蔡一林,岳永生. 水产生物统计[M]. 北京:中国农业出版社,2004:86-87.
- [16] 臧维玲,蔡云龙,戴习林,等. 罗氏沼虾育苗循环水处理技术与模式[J]. 水产学报,2004,28(5):529-534.
- [17] 陆锦天,林惠山. 罗氏沼虾规模性育苗的水质标准及水质优化技术[J]. 水产科技情报,2001,28(4):157-162.
- [18] 臧维玲,杨明,戴习林,等. 凡纳滨对虾室内封闭式养殖水质变化与氮收支的试验研究[J]. 农业环境科学学报,2009,28(5):1019-1024.
- [19] 李玉泉,李健,王清印,等. 溶解氧含量和养殖密度对中国对虾生长的影响[J]. 中国水产科学,2005,12(6):751-756.
- [20] 刘广斌,马牲. 凡纳滨对虾高密度养殖实验[J]. 海洋湖沼通报,2004,(3):54-58.
- [21] 张国新. 不同养殖密度对南美白对虾生长的影响[J]. 河北渔业,2008,(8):12-15.
- [22] 张天时,孔杰,刘萍,等. 饵料和养殖密度对中国对虾幼虾生长及存活率的影响[J]. 海洋水产研究,2008,29(3):41-47.
- [23] 徐晓群,朱小明,费亮亮,等. 不同饵料、密度和池底对锯缘青蟹大眼幼体蜕皮变态的影响[J]. 厦门大学学报,2005,44(2):268-271.
- [24] 杨国梁,罗坤,孔杰,等. 罗氏沼虾不同养殖条件松下的生长和存活率相关分析[J]. 海洋水产研究,2008,29(3):74-79.
- [25] 周智勇,熊国根,陈文静,等. 罗氏沼虾生长研究[J]. 江西水产科技,2001,(2):15-18.
- [26] 张灵侠,沈琪,胡超群,等. 两个凡纳滨对虾家系体重与体长的关系[J]. 热带海洋学报,2006,25(1):23-26.
- [27] Dall. 对虾生物学[M]. 陈楠生,译. 青岛:青岛海洋大学出版社,1992:229-271.
- [28] 查广才,周昌清,黄建荣,等. 低盐度养殖的凡纳滨对虾体长和体重增长规律[J]. 水产学报,2006,30(4):489-494.

文章编号: 1674-5566(2010)02-0190-06

投喂频率对星斑川鲽幼鱼生长和 体组成影响的初步研究

孙丽慧^{1,2}, 王际英², 丁立云^{1,2}, 崔丽娇^{1,2}, 帅继祥^{1,2}, 孙永智², 张利民²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 山东省海洋水产研究所, 山东 烟台 264006)

摘要:研究了不同投喂频率1次/d、2次/d(周日不投)、2次/d和3次/d对星斑川鲽幼鱼生长、摄食率、饲料利用情况和全鱼及其组织组成的影响。结果表明:随着投喂频率的增加,星斑川鲽幼鱼的增重率、特定生长率和摄食率显著升高,2次/d(周日不投)组增重率和特定生长率显著高于1次/d组($P < 0.05$),但与2次/d和3次/d组无显著性差异($P > 0.05$);2次/d(周日不投)组饲料转化率和蛋白质效率稍高于2次/d和3次/d组,但各组之间差异不显著($P > 0.05$);全鱼水分和粗蛋白含量不受投喂频率的显著影响($P > 0.05$),全鱼粗脂肪含量2次/d(周日不投)组显著低于2次/d组($P < 0.05$),全鱼灰分含量1次/d组显著高于2次/d(周日不投)组和3次/d组($P < 0.05$),其余各组差异不显著($P > 0.05$);肌肉水分含量随投喂频率增加而显著降低($P < 0.05$),肌肉粗蛋白和粗脂肪含量与水分含量呈负相关,肌肉灰分含量1次/d组显著高于2次/d组($P < 0.05$),其余各组无显著性差异($P > 0.05$);肝脏水分和粗脂肪含量各组之间无显著性差异($P > 0.05$),肝脏粗蛋白含量1次/d组显著低于其余各组($P < 0.05$),其余各组之间差异不显著($P > 0.05$)。

关键词:星斑川鲽;投喂频率;生长;体组成

中图分类号: S 936.1 **文献标识码:** A

Effects of feeding frequency on growth and body composition of juvenile *Platichthys stellatus*

SUN Li-hui^{1,2}, WANG Ji-ying², DING Li-yun^{1,2}, CUI Li-jiao^{1,2},
SHUAI Ji-xiang^{1,2}, SUN Yong-zhi², ZHANG Li-min²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Marine Fisheries Research Institute of Shandong Province, Yantai 264006, China)

Abstract: A study was conducted to assess the effects of different feeding frequency (1, 2, 3 times per day and 2 times per day but Sunday) on growth performance, feed utilization, body and tissue composition of juvenile Starry Flounder (54.52 g). The results showed that weight growth rate, specific growth rate and feeding rate were enhanced significantly by feeding frequency ($P < 0.05$). Weight growth rate and specific growth rate of 2 times per day but Sunday was significantly higher than 1 time per day ($P < 0.05$) but no significant difference with the other groups. Body moisture and protein content were not significantly affected by

收稿日期:2009-09-08

基金项目:国家农业部重点行业公益项目(nyhyzx07-046);国家科技部农转资金项目(03EFN213700155);山东省水生动物营养与饲料泰山学者岗位经费(TS200651036)

作者简介:孙丽慧(1984-),女,硕士研究生,专业方向为水产动物营养与饲料。E-mail:miduo1984422@126.com

通讯作者:张利民,E-mail:ytzlm@139.com

feeding frequency ($P > 0.05$). Lipid content of whole body under 2 times per day but Sunday was significantly lower than 2 times per day ($P < 0.05$). Muscle moisture content was decreased significantly by feeding frequency ($P < 0.05$). Muscle protein and lipid content has negative correlation with moisture content.

Key words: *Platichthys stellatus*; feeding frequency; growth; composition

星斑川鲮 (*Platichthys stellatus*), 隶属鲮形目 (Pleuronctiformes)、鲮科 (Pleuronectidae)、星鲮属,性情温驯、适应温度较广,快速生长水温 12 ~ 24 °C,适于我国大部分地区集约化养殖,是继牙鲆、大菱鲆之后被认为最有希望的养殖鱼类之一。星斑川鲮营养价值高,口感独特。可与鲑鳟鱼类媲美。加之其耐运输、耐冷冻,冷藏后肉质基本不变,在国内外市场尤其欧洲深受欢迎。目前,国内外有关星斑川鲮营养学方面的研究已有部分报道^[1-4],但有关其投喂频率方面的研究尚鲜有报道。适宜的投喂频率可以提高鱼类的生长速度和存活率,提高终产量^[5];不合理的投喂频率不仅会导致鱼体参差不齐^[6];还会造成饲料浪费,增加成本,从而污染养殖环境^[7]。因此,确定适宜的投喂频率是提高星斑川鲮养殖的经济和生态效益的重要因素之一。本实验旨在通过研究不同投喂频率对星斑川鲮的生长、饲料转化率、摄食率和鱼体组成的影响,确定最佳日投喂频率,进而为星斑川鲮养殖生产中饲料的合理投喂提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验饲料配方

试验所用饲料为同一批制作的颗粒饲料,所有原料分析营养成分后(表 1),粉碎过 80 目筛,按配比称量后加适量水混合均匀,经螺旋挤压机加工成直径为 4.5 mm 的颗粒膨化饲料,70 °C 烘干,置于通风干燥处保存、使用。

1.2 试验鱼来源、饲养条件及试验设计

试验于 2009 年 4 月 - 6 月在山东省海洋水产研究所水循环系统进行。试验用鱼购自荣成港西水产养殖场,选用相同种质来源,大小均匀,健康的星斑川鲮初始体重为 (54.52 ± 0.23) g,随机分为 1 次/d、2 次/d(周日不投)、2 次/d 和 3 次/d 4 个投喂频率组,每组设 3 个重复,每个重复放养 20 尾鱼,分别放于 70 cm × 80 cm 的绿色圆柱形养殖桶中,控制水深 40 cm 左右,试验周期为 8

周。正式试验前星斑川鲮在养殖系统中进行 2 周的驯养,期间投喂粗蛋白含量 50% 左右的商品饲料。养殖过程控制水温在 (19.0 ± 1.0) °C, pH 值为 7.8 ~ 8.6,盐度为 28 ~ 30,保证溶氧 > 5 mg/L,氨氮、亚硝酸氮均 < 0.1 mg/L。饱食投喂,投喂 30 min 后,从系统自带的排水口将残饵排出,数颗粒,计算残饵量。各组投喂频率及投喂时间如表 2。

表 1 试验饲料配比及营养组成

Tab. 1 Formulation and nutrient compositions of the experimental diets

原料 (g/100 g)	含量 (%)
鱼粉	48
大豆浓缩蛋白	8
花生粕	6
血球蛋白粉	2
乌贼内脏粉	3
鱼油	4
大豆油	4
海藻粉	2
面粉	8
α 淀粉	5.8
淀粉	5
复合矿物质 ¹	2
复合维生素 ²	1
蛋氨酸	0.14
胆碱	0.5
黏合剂	0.5
抗氧化剂	0.06
合计	100
化学组成 (% 干物质)	
粗蛋白	53.18
粗脂肪	14.99
灰分	13.53
磷	1.86
钙	2.73
能量 (MJ/kg 干物质)	19.17

注: 1. 复合矿物质 (mg/g 饲料), MgSO₄ · 7H₂O, 3 568.0 mg; NaH₂PO₄ · 2H₂O, 25 568.0 mg; KCl, 3 020.5 mg; KAl(SO₄)₂ · 8.3 mg; CoCl₂, 28.0 mg; ZnSO₄ · 7H₂O, 353.0 mg; Ca-lactate, 15 968.0 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 9.0 mg; KI, 7.0 mg; MnSO₄ · 4H₂O, 63.1 mg; Na₂SeO₃, 1.5 mg; C₆H₅O₇Fe · 5H₂O, 1 533.0 mg; NaCl, 100.0 mg; NaF, 4.0 mg。

2. 复合维生素 (mg/g 饲料), 维生素 A, 38.0 mg; 维生素 D₃, 13.2 mg; α-生育酚, 210.0 mg; 硫胺素, 115.0 mg; 核黄素, 380.0 mg; 盐酸吡哆醇, 88.0 mg; 泛酸, 368.0 mg; 烟酸, 1 030.0 mg; 生物素, 10.0 mg; 叶酸, 20.0 mg; 维生素 B₁₂, 1.3 mg; 肌醇, 4 000.0 mg; 抗坏血酸, 500.0 mg。

表 2 投喂频率及投喂时间

Tab.2 Feeding frequency and feeding time

投喂频率	投喂时间		
(F1) 1 次/d	17:00		
(F2 ⁻) 2 次/d(周日不投)	08:00	17:00	
(F2) 2 次/d	08:00	17:00	
(F3) 3 次/d	08:00	12:30	17:00

1.3 指标测定与数据统计分析

试验开始前取 10 尾鱼用于常规营养成分分析。养殖试验结束后,停喂 24 h,分别测各组鱼的湿体重,并从各组随机取 6 尾,用作鱼体营养成分分析。将所取得的鱼体样品在 105 °C 下烘至恒重,得水分含量;采用 FOSS 定氮仪(Kjeltec™ 2100)测定样品中的粗蛋白含量;采用索氏提取法测定粗脂肪含量;采用马福炉 550 °C 灼烧法测定灰分含量。

鱼体在实验过程中的各项指标分别用以下公式计算:

$$R_{WG} = 100 \times (\bar{w}_t - \bar{w}_0) / \bar{w}_0 \quad (1)$$

$$R_{SC} = 100 \times (\ln w_t - \ln w_0) / t \quad (2)$$

$$R_F = 100 \times w_f / [t \times (w_t + w_0) / 2] \quad (3)$$

$$R_{PE} = 100 \times (w_t - w_0) / w_p \quad (4)$$

$$E_{FC} = 100 \times (w_t - w_0) / w_f \quad (5)$$

$$I_{VS} = 100 \times w_v / w \quad (6)$$

$$I_{HS} = 100 \times w_h / w \quad (7)$$

$$I_{DT} = 100 \times w_d / w \quad (8)$$

$$F_C = 100 \times w / L^3 \quad (9)$$

式中: R_{WG} 为增重率(%); \bar{w}_0 为初均重(g); \bar{w}_t 为终均重(g); R_{SC} 为特定生长率(%/d); t 为饲养天数; R_F 为摄食率(%/d); w_f 为饲料摄入量(g); w_0 为初总重(g); w_t 为终总重(g); R_{PE} 为蛋白质效率(%); w_p 为蛋白质摄取量; E_{FC} 为饲料转化率(%); I_{VS} 为肝体比(%); w_v 为肝脏重(g); w 为鱼体重(g); I_{HS} 为脏体比(%); w_h 为内脏重(g); I_{DT} 为消化道指数(%); w_d 为消化道重(g); F_C 为饱满度(%); L 为鱼体长(cm)。

所有数据用 SPSS 16.0 统计软件分析。同一养殖桶实验数据(平均值)作为一个样本值,各实验组相应数据经方差分析(one-way ANOVA),若差异显著再做 Duncan's 多重比较检验组间的差异。

2 结果

2.1 星斑川鲷幼鱼生长、饲料利用情况

实验 8 周后,星斑川鲷幼鱼生长和饲料利用情况如表 3,表 3 结果说明,F2⁻组(2 次/d,周日不投)、F2 组(2 次/d)和 F3 组(3 次/d)的星斑川鲷幼鱼末均重、增重率和特定生长率均显著高于 F1 组(1 次/d)($P < 0.05$),F2⁻组、F2 组和 F3 组之间无显著性差异($P > 0.05$);F2⁻组的摄食率显著高于 F1 组($P < 0.05$),显著低于 F3 组($P < 0.05$),与 F2 组之间差异不显著($P > 0.05$);F2⁻组的饲料转化率和蛋白质效率稍高于 F2 组和 F3 组,但各组之间差异不显著($P > 0.05$);随着投喂频率的增加,各处理组肝体比显著降低($P > 0.05$),F1 组显著大于 F2⁻组、F2 组和 F3 组($P < 0.05$),其余各组之间差异不显著($P > 0.05$);F1 组的脏体比显著高于 F2⁻组和 F2 组($P < 0.05$),其余各组无显著性差异($P > 0.05$);F2⁻组的消化道指数显著低于其他 3 组($P < 0.05$),其他 3 组差异不显著($P > 0.05$);F2⁻组的饱满度显著高于 F1 组($P < 0.05$),其余各组差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 星斑川鲷幼鱼全鱼及其组织组成

2.2.1 星斑川鲷幼鱼全鱼组成

星斑川鲷幼鱼全鱼组成如图 1,图中不同字母标记的表示差异显著($P < 0.05$),以下同。结果显示,全鱼水分含量各组之间差异不显著($P > 0.05$),但随着投喂频率的增加,有降低的趋势;全鱼粗蛋白含量 F2⁻组稍高于其他各组,但差异不显著($P > 0.05$);全鱼粗脂肪含量 F1 组和 F2⁻组显著低于 F2 组($P < 0.05$),其余各组差异不显著($P > 0.05$);全鱼灰分含量 F1 组显著高于 F2⁻组和 F3 组($P < 0.05$),其余各组差异不显著($P > 0.05$)。

2.2.2 星斑川鲷幼鱼肌肉组成

星斑川鲷幼鱼肌肉组成如图 2,结果显示,肌肉水分含量 F2⁻组显著高于 F2 组和 F3 组($P < 0.05$),但与 F1 组无显著性差异($P > 0.05$),肌肉粗蛋白含量 F2⁻组显著高于 F1 组($P < 0.05$),显著低于 F3 组($P < 0.05$),与 F2 组之间无显著性差异($P > 0.05$);肌肉粗脂肪含量与水分含量呈负相关;肌肉灰分含量 F1 组显著低于 F2 组

($P < 0.05$), 其余各组无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 3 星斑川鲮幼鱼生长和饲料利用情况
Tab.3 Growth performance and feed utilization of Starry Flounder

指标	投喂频率			
	F1	F2 ⁻	F2	F3
初均重(g)	54.52 ± 0.06	54.58 ± 0.03	54.60 ± 0.13	54.47 ± 0.22
末均重(g)	96.15 ± 4.45 ^a	103.57 ± 2.86 ^b	106.75 ± 1.98 ^b	107.03 ± 2.94 ^b
增重率(%)	76.42 ± 7.95 ^a	89.77 ± 5.30 ^b	95.43 ± 4.26 ^b	96.25 ± 5.61 ^b
特定增长率(%/d)	0.95 ± 0.08 ^a	1.07 ± 0.05 ^b	1.12 ± 0.04 ^b	1.13 ± 0.05 ^b
摄食率(%/d)	0.90 ± 0.03 ^a	1.03 ± 0.01 ^b	1.07 ± 0.04 ^{bc}	1.09 ± 0.01 ^c
蛋白质效率(%)	202.49 ± 10.77	201.57 ± 8.07	199.74 ± 0.17	201.20 ± 6.86
饲料转化率(%)	107.68 ± 5.73	107.20 ± 4.29	106.22 ± 0.09	107.00 ± 3.65
肝体比(%)	1.97 ± 0.20 ^b	1.73 ± 0.13 ^a	1.79 ± 0.16 ^a	1.66 ± 0.12 ^a
脏体比(%)	4.85 ± 0.23 ^b	4.45 ± 0.25 ^a	4.52 ± 0.28 ^a	4.59 ± 0.32 ^{ab}
消化道指数(%)	2.47 ± 0.14 ^b	2.17 ± 0.14 ^a	2.37 ± 0.23 ^b	2.41 ± 0.15 ^b
肥满度(%)	2.88 ± 0.19 ^a	3.02 ± 0.17 ^b	2.97 ± 0.20 ^{ab}	2.95 ± 0.17 ^{ab}

注:表中数据以平均值 ± 标准差表示,同行数值后不同上标英文字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

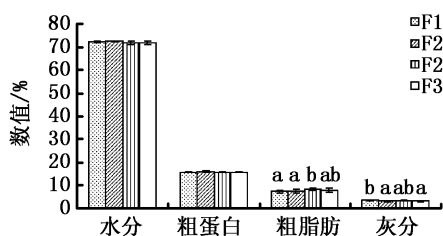


图 1 星斑川鲮幼鱼全鱼组成

Fig.1 Whole fish composition of fish fed experimental diets

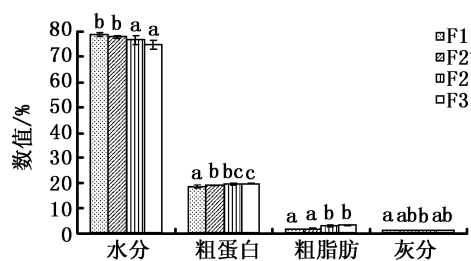


图 2 星斑川鲮幼鱼肌肉组成

Fig.2 Muscle composition of fish fed experimental diets

2.2.3 星斑川鲮幼鱼肝脏组成

星斑川鲮幼鱼肝脏组成如图 3, 结果表明, 投喂频率的改变对试验鱼肝脏中水分和粗脂肪含量均无显著影响 ($P > 0.05$)。肝脏粗蛋白含量 F1 组显著低于其余各组 ($P < 0.05$), 其余各组差异不显著 ($P > 0.05$)。

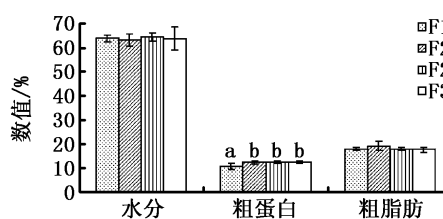


图 3 星斑川鲮幼鱼肝脏组成

Fig.3 Liver composition of fish fed experimental diets

3 讨论

3.1 投喂频率对星斑川鲮幼鱼生长、摄食率和饲料利用情况的影响

在本实验中, 随着投喂频率的改变, 星斑川鲮幼鱼摄食率显著升高, 饲料转化率和蛋白质效率各组之间差异不显著。这与斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[8]、杂交太阳鱼 (*Lepomis cyanellus* × *L. macrochirus*)^[9] 和南方鲇 (*Silurus meridionalis*)^[10] 的研究结果相似。其原因可能是随着投喂频率的提高, 投喂的饲料总量增加, 虽然每次的摄食量有所减少, 但累积饲料消耗总量增加, 当摄食量达到饱食以后, 摄食率会保持在相对较高的水平而不再有显著提高^[11]。有关美洲拟鲃 (*Pseudopleuronectes americanus*)^[12]、虹鳟 (*Salmo gairdneri* 和 *Oncorhynchus*

mykiss)^[13-14]、印度囊鳃鲶 (*Heteropneustes fossilis*)^[15]、鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)^[16]和生鱼 (*Channa striatus*)^[17]的研究表明,伴随着投喂频率增加而出现的体重增加是饲料消耗量增加所致。而对虹鳟^[18]和镜鲤 (*Cyprinus carpio* L.)^[19]的研究结果显示,生长率随投喂频率增加而升高可能是由于饲料转化率上升所致,与摄食率无关,这种差异可能是研究对象不同造成的。当投喂频率从2次/d(周日不投)增加到3次/d时,各组增重率差异不显著,这与龙虾 (*Jasus edwardsii*和 *Panulirus cygnus*)^[20-21]和瓦氏黄颡鱼幼鱼 (*Pelteobagrus vachelli*)^[22]的研究结果相似。究其原因,可能是由于投喂频率过高,使得星斑川鲈在摄食的时候体内还留存没有消化完全的食物,这样必然导致饲料的浪费,而星斑川鲈用于摄食的能量增加,导致用于生长的能量相对减少,从而影响其生长。另一原因可能是星斑川鲈为有胃鱼,摄取的饲料进入肠内消化的时间较无胃鱼长,消化吸收率易受高频率投喂的影响。

3.2 投喂频率对星斑川鲈幼鱼全鱼及其组织组成的影响

本试验结果表明,随着投喂频率的增加,全鱼粗蛋白含量先是略有升高,而后缓慢降低,但各组之间差异不显著,这与楼宝等^[23]对黑鲷鱼种 (*Sparus macrocephalus*)的研究结果相似。本试验中,全鱼粗脂肪含量随投喂频率增加而增加,这一研究结果与草鱼鱼种 (*Ctenopharyngodon idellus*)^[24]、日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*)^[25]、鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*)^[26]和黑鲷鱼种^[23]的研究结果一致。随着投喂频率增加,星斑川鲈幼鱼背肌粗脂肪含量显著升高,有关许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii*)^[7,27]、虹鳟^[13]和赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*)^[28]的研究也有类似报道。本试验中随投喂频率增加星斑川鲈背肌和肝脏粗蛋白含量显著升高。而 Lee^[7]的研究结果表明,当投喂频率增加时,许氏平鲈肌肉粗蛋白含量无显著性差异,肝脏粗蛋白含量显著降低,造成这种差异的原因可能是 Lee 采用的试验动物规格为均重 5.7 g 的许氏平鲈,养殖水温为 (24.0 ± 1.5) °C,而本试验采用的试验动物规格为均重 54.52 g 的星斑川鲈,养殖水温为 (19.0 ± 1.0) °C。随投喂频率增加,星斑川鲈幼鱼背肌粗脂肪含量显著升高,这与 Lee^[7]的研究结果相似。郑曙明等^[29]报道,

鱼类饥饿时,所动用的能源因鱼种类不同而有所差异,从鱼类的体组成可分析出身体储能物质的变化,如草鱼鱼种^[30]饥饿时主要利用糖类作为能源物质,而虎鲨 (*Panaceas polyuranodon*)^[29]、美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*)^[31]、和大西洋鳕 (*Esox lucius* L.)^[32]饥饿时主要利用脂类作为能源物质。本实验中,与2次/d投喂组相比,2次/d(周日不投)试验组全鱼和肌肉的粗脂肪含量显著降低,由此分析可知,周日不投时星斑川鲈主要依靠消耗体内脂肪维持其基本生理需要。

3.3 关于星斑川鲈幼鱼适宜投喂频率

鱼类的最适投喂频率因种类、规格、食性的不同而存在差异。Biswas 等^[33]对印度野鲮 (*Cirrhinus mrigala*)和南亚野鲮 (*Labeo rohita*)的研究发现,1次/d即可满足其生长需求。Silva 等^[34]发现当日投喂量为体重 10% 时,3次/d为巨脂鲤 (*Colossoma macropomum*)的最适投喂频率。楼宝等^[24,27]发现黑鲷鱼种和鲈鱼的适宜投喂频率均为2次/d。在本次试验中,当投喂频率为2次/d(周日不投)时,其增重率和特定生长率均显著高于1次/d组,但当继续增加投喂频率到2次/d和3次/d时,其增重率和特定生长率并没有显著提高,饲料转化率和蛋白质效率略有降低,但差异不显著。另外从节省劳动力和饲料成本等方面考虑,可以得出,在本试验条件下,星斑川鲈幼鱼的适宜投喂频率为2次/d(周日不投)。

参考文献:

- [1] Lee S M, Lee J H. Effect of dietary glucose, dextrin and starch on growth and body composition of juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*[J]. *Fish Sci*, 2004, 70: 53-58.
- [2] Lee S M, Lee J H, Kim K D, et al. Optimum Dietary Protein for Growth of Juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*[J]. *Journal of The World Aquaculture Society*, 2006, 37(2): 200-203.
- [3] Lee S M, Lee J H, Kim K D. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder *Platichthys stellatus* [J]. *Aquaculture*, 2003, 225: 269-281.
- [4] 段培昌,张利民,王际英,等.新型蛋白源替代鱼粉对星斑川鲈幼鱼生长、体成分和血液学指标的影响[J]. *水产学报*, 2009, 33(5): 709-806.
- [5] Kubitz F, Lovshin L L. Formulated diets, feeding strategies, and cannibalism control during intensive culture of juvenile carnivorous fishes[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 1999, 7(1):1-22.

- [6] Jobling M. Effect of feeding frequency on food intake and growth of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L[J]. J Fish Biol, 1983, 3(2):177-185.
- [7] Lee S M, Hwang U G, Cho S H. Effects of feeding frequency and dietary moisture content on growth, body composition and gastric evacuation of juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli*[J]. Aquaculture, 2000, 187:399-409.
- [8] Andrew J W, Page J W. The effects of frequency of feeding on culture of catfish[J]. Trans Am Fish Soc, 1975, 104: 317-321.
- [9] Wang N, Hayward R S, Noltie D B. Effect of feeding frequency on food consumption, growth, size variation, and feeding pattern of age-0 hybrid sunfish[J]. Aquaculture, 1998, (165): 261-267.
- [10] 何利君,谢小军,艾庆辉. 饲喂频率对南方鲇的摄食率、生长和饲料转化率的影响[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 434-436.
- [11] Tsevis N, Klaoudatos S, Conides A. Food conversion budget in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, fingerlings under two different feeding frequency patterns[J]. Aquaculture, 1992, 101: 293-304.
- [12] Tyler A V, Dunn R S. Ration, growth, and measures of somatic and organ condition in relation to meal frequency in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, with hypotheses regarding population homeostasis[J]. J Fish Res Bd Can, 1976, 33: 63-75.
- [13] Grayton B D, Beamish F W H. Effects of feeding frequency on food intake, growth and body composition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Aquaculture, 1977, 11: 159-172.
- [14] Ruohonen K, Vielma J, Grove D J. Effects of feeding frequency on growth and food utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low-fat herring or dry pellets[J]. Aquaculture, 1998, 165: 111-121.
- [15] Marian M P, Ponniah A G, Pitchairaj R, et al. Effect of feeding frequency on surfacing activity and growth in the air-breathing fish, *Heteropneustes fossilis* [J]. Aquaculture, 1982, 26: 237-244.
- [16] Charles P M, Sebastian S M, Raj M C V, et al. Effect of feeding frequency on growth and food conversion of *Cyprinus carpio* fry[J]. Aquaculture, 1984, 40: 293-300.
- [17] Sampath K. Preliminary report on the effects of feeding frequency in *Channa striatus*[J]. Aquaculture, 1984, 40: 301-306.
- [18] Windell J T, Foltz J W, Sarokon J A. Effect of fish size, temperature and a digestibility of a pelleted diets by rainbow trout *Salmo gairdneri* [J]. Trans Am Fish Soc, 1978, (107): 613-616.
- [19] Omar, E A, Gunther K D. Studies on feeding of mirror carp (*Cyprinus carpio* L) in intensive aquaculture[J]. J Anim Physiol Anim Nutri, 1987, (57): 168-172.
- [20] Thomas C W, Carter C G, Crear B J. Feeding availability and its relationship to survival, growth, dominance and the agonistic behaviour of the southern rock lobster, *Jasus edwardsii*[J]. Aquaculture, 2003, 215:45-65.
- [21] Danielle J, Roy M S, Blair H, et al. Growth rates and survival of western rock lobster (*Panulirus cygnus*) at two temperature (ambient and 23 °C) and two feeding frequencies[J]. Aquaculture, 2008, 279: 77-84.
- [22] 王武,周锡勋,马旭洲,等. 投喂频率对瓦氏黄颡鱼幼鱼生长及蛋白酶活力的影响[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(3): 224-229.
- [23] 楼宝,毛国民,骆季安,等. 饲喂频率对黑鲷生长及体生化成分的影响[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(6): 19-24.
- [24] 潘庆,刘胜,梁桂英. 投喂频率对草鱼鱼种的生长、鱼体和组织营养成分组成的影响[J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(增刊): 186-190.
- [25] 骆季安,楼宝,史会来,等. 饲喂频率对日本黄姑鱼生长及鱼体生化成分的影响[J]. 浙江海洋学报:自然科学版, 2007, 26(1): 37-40.
- [26] 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): 455-458.
- [27] Lee S M, Kim S H, Jeon I G, et al. Effects of feeding frequency on growth, feed efficiency and body composition of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. Aquaculture, 1996, 9:385-394.
- [28] Kayano Y, Yao S, Yamamoto S, et al. Effects of feeding frequency on the growth and body constituents of young red-spotted grouper, *Epinephelus akaara* [J]. Aquaculture, 1993, 110: 271-278.
- [29] 郑曙明,王燕妮,聂迎霞,等. 虎鲨饥饿后的补偿生长及淀粉酶活性研究[J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(5): 483-487.
- [30] 沈文英,林浩然,张为民. 饥饿和再投喂对草鱼鱼种生物化学组成的影响[J]. 动物学报, 1999, 45(4): 404-412.
- [31] 姜志强,贾泽梅,韩延波. 美国红鱼继饥饿后的补偿生长及其机制[J]. 水产学报, 2002, 26(1): 67-72.
- [32] Bernard W I, Alan T. The effects of starvation and force-feeding on the metabolism of the Northern pike, *Esox lucius* L. [J]. J Fish Biol, 1976, 8: 79-88.
- [33] Biswas G, Jena J K, Singh S K, et al. Effect of feeding frequency on growth, survival and feed utilization in mrigal, *Cirrhinus mrigala*, and rohu, *Labeo rohita*, during nursery rearing[J]. Aquaculture, 2006, 254: 211-218.
- [34] Silva C R, Gomes L C, Brandão F R. Effect of feeding rate and frequency on tambaqui (*Colossoma macropomum*) growth, production and feeding costs during the first growth phase in cages[J]. Aquaculture, 2007, 264: 135-139.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0196 - 05

饲料中添加不同形式叶黄素对 杂交鲢体色的影响

史少奕¹, 李小勤¹, 冷向军¹, 朱瑞俊¹, 吴世林²

(1. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;

2. 智特奇饲料科技有限公司, 广东 广州 510507)

摘 要:通过在饲料中添加 4 种不同形式叶黄素考察其对杂交鲢(*Silurus meridionalis* Chen × *Silurus asotus* Linnaeus)体色的影响。实验共分 5 个处理组,分别为基础饲料组(对照组)、添加普通叶黄素(以黄体素为主) 200 mg/kg 组、转化叶黄素(以玉米黄质为主) 200 mg/kg 组、包被普通叶黄素 100 mg/kg 组、包被转化叶黄素 100 mg/kg 组。以上述 5 种饲料分别饲喂平均体重为 61 g 的杂交鲢 20 d。结果表明,各组生长指标无显著差异;各叶黄素添加组鱼体背部皮肤、腹部皮肤黄度值及皮肤、肌肉叶黄素含量均显著高于对照组($P < 0.05$),普通叶黄素组背部皮肤、腹部皮肤叶黄素含量较转化叶黄素组显著提高 20.3%、11.3% ($P < 0.05$);添加 100 mg/kg 包被普通叶黄素对杂交鲢的着色效果与 200 mg/kg 普通叶黄素几乎相当;添加 100 mg/kg 包被转化叶黄素对杂交鲢的着色效果不及 200 mg/kg 转化叶黄素。上述研究表明,普通叶黄素对杂交鲢的着色效果优于转化叶黄素;普通叶黄素经包被处理后,在饲料中的添加量降低 50% 便能达到相同的着色效果。

关键词:杂交鲢;体色;叶黄素

中图分类号: S 963.73; S 965.128

文献标识码:A

Effect of different forms of xanthophylls on body color of hybrid catfish (*Silurus meridionalis* Chen × *Silurus asotus* Linnaeus)

SHI Shao-yi¹, LI Xiao-qin¹, LENG Xiang-jun¹, ZHU Rui-jun¹, WU Shi-lin²

(1. Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University,

Ministry of Education, Shanghai 201306, China;

2. Zhiteqi Technology Co., Ltd, Guangdong, Guangzhou 510507, China)

Abstract: The objective of this study was to investigate the effect of four different forms of xanthophylls added in feeds on body color of hybrid catfish (*Silurus meridionalis* Chen × *Silurus asotus* Linnaeus). Five diets were prepared in the study, i. e. basal diet (control), basal diet supplemented with 200 mg/kg normal xanthophylls, 200 mg/kg transformed xanthophylls, 100 mg/kg coated-normal xanthophylls and 100 mg/kg coated-transformed xanthophylls, and fed to hybrid catfish for 20 days. The results indicated no significant differences in growth among treatments but the value of yellowness of the dorsal, ventral skin and xanthophylls content in skin, muscle of fish fed different xanthophylls were significantly higher than those of control ($P < 0.05$). The content of xanthophylls in dorsal and ventral skin of normal xanthophylls group were increased by

收稿日期:2009-05-19

基金项目:上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介:史少奕(1983-),女,硕士研究生,专业方向为水产动物营养与饲料研究。E-mail:ssy19831011@163.com

通讯作者:冷向军,E-mail:xjleng@shou.edu.cn

20.3%, 11.3% compared with transformed xanthophylls group ($P < 0.05$). Pigmentation effect of 100 mg/kg coated-normal xanthophylls was similar to 200 mg/kg normal xanthophylls whereas 100 mg/kg coated-transformed xanthophylls was worse than 200 mg/kg transformed xanthophylls. We conclude that better pigmentation was obtained by adding normal xanthophylls than transformed xanthophylls and when the adding dose of coated-normal xanthophylls was half of normal xanthophylls, the pigmentation effect of former was same as the latter.

Key words: hybrid catfish (*Silurus meridionalis* Chen \times *Silurus asotus* Linnaeus); body color; xanthophylls

鱼类所呈现的红、黄等色泽,主要是由叶黄素类着色剂决定,包括黄体素、玉米黄质、虾青素等^[1]。目前,叶黄素类着色剂已在鱼类养殖中得到一定程度的应用。在饲料中添加 100 mg/kg 或 57 mg/kg 虾青素后,虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 肌肉均呈现红色,且肌肉虾青素含量显著提高^[2-3];大西洋鲑 (*Salmo salar*) 摄食含 55 mg/kg 虾青素的饲料后,肌肉也显现红色^[4];100 mg/kg 叶黄素(万寿菊提取物)可使胡子鲢呈现出野生个体天然具有的黄色^[5]。

杂交鲢是以南方大口鲢 (*Silurus meridionalis* Chen) 为父本、鲢鱼 (*Silurus asotus* Linnaeus) 为母本杂交而得。市场对其体色要求通常为黄色,尽管养殖中已有添加叶黄素改善其体色的实践,但目前尚未见有关报道。市售叶黄素产品主要为万寿菊提取物,以黄体素为主,含少量玉米黄质。以黄体素为主的叶黄素在水产饲料中已有研究报道^[5-6],但以玉米黄质为主的叶黄素未见研究应用。此外,叶黄素性质不稳定,包被是提高其稳定性的有效方法,但目前尚未见包被叶黄素在水产饲料中的应用。

本实验通过添加普通叶黄素(以黄体素为主)、转化叶黄素(以玉米黄质为主)及两者的包被形式,考察不同形式叶黄素对杂交鲢的着色效果,为饲用色素在水产饲料中的合理应用和养殖鱼类品质的改善提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计和试验饲料

在基础饲料中分别添加普通叶黄素、转化叶黄素、包被普通叶黄素、包被转化叶黄素(普通叶黄素和转化叶黄素中黄体素和玉米黄质的质量比例分别为 90:10 和 30:70),其叶黄素有效含量分别为 200 mg/kg、200 mg/kg、100 mg/kg、100 mg/kg。基础饲料配方及营养组成见表 1(风干基

础,基础饲料含叶黄素 0.8 mg/kg,相对于叶黄素添加量可忽略不计)。

表 1 基础饲料配方及营养组成
Tab. 1 Ingredient and nutritional composition of basal diet

成分	比例	营养水平	比例
鱼粉	20.00%	水分	8.74%
豆粕	30.00%	粗蛋白	35.62%
棉粕	5.00%	粗脂肪	6.71%
菜粕	11.00%	粗灰分	8.35%
次粉	21.70%		
麸皮	7.00%		
维生素预混料	0.50%		
矿物质预混料	0.40%		
氯化胆碱	0.40%		
磷酸二氢钙	1.50%		
鱼油	1.50%		
豆油	1.00%		
合计	100.00%		

注:维生素预混料和矿物质预混料在每千克饲料中的添加量(mg)为 $V_A, 6\ 000$ IU; $V_D, 2\ 000$ IU; $V_E, 50$; $V_K, 5$; $V_{B1}, 15$; $V_{B2}, 15$; $V_{B3}, 25$; $V_{B5}, 30$; $V_{B6}, 10$; $V_{B7}, 0.2$; $V_{B11}, 3$; $V_{B12}, 0.03$; Inositol, 100; $V_C, 100$; Zn, 80; Fe, 150; Cu, 4; Mn, 20; I, 0.4; Co, 0.1; Se, 0.1; Mg, 100。

饲料原料全部经粉碎过 40 目筛,充分混合均匀后,用挤压机制作成慢沉性颗粒饲料(粒径 2 mm),晾干后存于 4 °C 冰箱中暗置备用。

1.2 试验用鱼

本试验所用杂交鲢为南方大口鲢(δ)与鲢鱼(η)的杂交后代,平均体重为(61.03 \pm 0.90) g,体色浅灰色,共分 5 个试验组(对照组、普通叶黄素组、转化叶黄素组、包被普通叶黄素组、包被转化叶黄素组),每处理组 3 个重复,每重复 12 尾鱼,共 180 尾鱼。

1.3 饲养管理

养殖试验在上海海洋大学生态实验室进行。杂交鲢饲养于圆柱形的有机玻璃缸内(直径 0.70

m, 高 0.75 m)。试验开始前用基础饲料驯养杂交鲢 30 d。采用循环水过滤系统, 昼夜增氧。日投喂 2 次(8:00, 16:00), 投饲率为鱼体重的 4%, 并根据鱼的生长情况和摄食情况调整投饲量, 各组保持基本一致的水平。饲养周期为 20 d, 饲养期间水温为 $(26 \pm 2) ^\circ\text{C}$, $\text{DO} > 5 \text{ mg/L}$, $\text{NH}_3\text{-N} < 0.3 \text{ mg/L}$ 。

1.4 测定指标与试验方法

1.4.1 生长指标

按照以下公式测定增重量(W)、饲料系数(R_{FC})及成活率(R_{S})。

$$W = W_1 - W_0 \quad (1)$$

$$R_{\text{FC}} = F_{\text{T}} / (W_1 - W_0) \quad (2)$$

$$R_{\text{S}} = M_{\text{S}} / M_{\text{T}} \times 100\% \quad (3)$$

式中: W_0 为平均初始体重(g); W_1 为平均终末体重(g); R_{FC} 为饲料系数(%); F_{T} 为总投饲量(g); R_{S} 为成活率(%); M_{S} 为成活尾数; M_{T} 为总尾数。

1.4.2 肉眼观察体色

分别以深黄、金黄、灰黄、浅灰、灰黑来描述其体色^[6]。

1.4.3 色差计测定皮肤色差值

本实验所用色差计为上海精密科学仪器有限公司物理光学仪器厂生产的 WSC-S 型测色色差计(o/d 光源, 带光泽, 稳定性 $\Delta Y \leq 0.6$)。

测色方法参照陈林等的方法进行修改: 用吸水纸将鱼体表面水分吸干, 将色差计探头紧贴于鱼体侧最宽处侧线以上测量背部皮肤色差, 于鱼体正腹部(胸鳍和腹鳍之间)测量腹部皮肤色差,

记录 L^* 、 a^* 、 b^* 值。

1.4.4 皮肤、肌肉总叶黄素含量测定

各试验组分别取鱼 9 尾, 每尾剥取背部皮肤 1~2 g, 腹部皮肤 1~2 g, 切取背部肌肉 2~3 g, 进行总叶黄素含量测定。测定方法参考 AOAC 分析法^[7], 将皮肤、肌肉样品剪碎, 盛于 25 mL 棕色容量瓶中, 加入 7.5 mL 提取液(正己烷: 丙酮: 无水乙醇: 甲苯 = 10:7:6:7), 塞上塞子旋转振摇 1 min, 加入 1 mL 40% KOH-甲醇溶液, 旋转振摇 1 min, 于 55.5 $^\circ\text{C}$ 水浴加热 20 min(注意冷却烧瓶颈部以防溶剂损失), 冷却, 于暗处置 1 h, 加入 7.5 mL 正己烷, 旋转振摇 1 min, 以 10% 硫酸钠溶液定容至 25 mL, 猛烈振摇 1 min, 于暗处置 1 h, 取上清液于 474 nm 波长下 755 型分光光度计测定其吸光值, 计算其总叶黄素含量。

1.5 数据分析

实验结果采用 SPSS(Version 16.0) 统计软件进行处理分析, 数值以平均值 \pm 标准差($\bar{X} \pm \text{SD}$) 表示, 采用单因子方差分析(One-way ANOVA) 检验指标间的显著性, 用 Duncan's 法进行多重比较检验, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 不同形式叶黄素对杂交鲢鱼生长指标的影响

经过 20 d 的养殖, 普通叶黄素、转化叶黄素、包被普通叶黄素及包被转化叶黄素对杂交鲢增重量、成活率及饲料系数的影响见表 2。

表 2 饲料中添加不同形式叶黄素对杂交鲢生长指标的影响
Tab.2 Effect of diets supplemented with different xanthophylls on growth of hybrid catfish

组别	初均重(g)	末均重(g)	增重量(g)	成活率(%)	饲料系数
对照组	61.40 \pm 3.17	104.00 \pm 5.71	42.60 \pm 1.32	96.67 \pm 5.77	1.38 \pm 0.16
普通叶黄素组	61.90 \pm 2.59	106.50 \pm 5.83	44.60 \pm 2.12	96.67 \pm 5.77	1.35 \pm 0.15
转化叶黄素组	59.65 \pm 3.41	108.45 \pm 7.19	48.80 \pm 2.55	100.00 \pm 0.00	1.22 \pm 0.12
包被普通叶黄素组	60.90 \pm 3.94	105.00 \pm 5.21	44.10 \pm 2.71	96.67 \pm 5.77	1.28 \pm 0.15
包被转化叶黄素组	61.40 \pm 4.63	109.25 \pm 6.72	47.85 \pm 3.72	93.33 \pm 5.77	1.21 \pm 0.13

注: 同一列中具不同上标字母者差异显著($P < 0.05$), 以下各表相同。

由表 2 结果分析表明, 各组在增重量、成活率以及饲料系数方面差异均不显著($P > 0.05$)。

2.2 体色观察

实验开始时, 各组杂交鲢体色为浅灰色或灰黑色。经过 20 d 养殖, 对照组体色无变化, 为浅

灰色或灰黑色; 普通叶黄素组和包被普通叶黄素组体色为金黄色或深黄色, 转化叶黄素组和包被转化叶黄素组体色为灰黄色。

试验结束时, 杂交鲢的背部和腹部皮肤黄色度由深至浅依次为: 普通叶黄素组和包被普通叶

黄素组、转化叶黄素组、包被转化叶黄素组。

2.3 杂交鲈背部皮肤和腹部皮肤色差值

对照组及叶黄素添加组杂交鲈背部皮肤及腹部皮肤色差值统计结果见表 3。

由表 3 可知,添加不同形式叶黄素后均使背部皮肤和腹部皮肤 b^* 值(代表黄度)显著增加($P < 0.05$),普通叶黄素组和包被普通叶黄素组的 b^* 值显著高于转化叶黄素组和包被转化叶黄素组($P < 0.05$);对照组背部皮肤 L^* 值(代表明

度)显著高于叶黄素添加组,腹部皮肤 L^* 值均无显著差异($P > 0.05$);包被转化叶黄素组背部皮肤 a^* 值(代表红度)显著低于对照组及普通叶黄素组($P < 0.05$),腹部皮肤 a^* 值显著低于其他各组($P < 0.05$)。

2.4 皮肤、肌肉叶黄素含量

各组杂交鲈背部皮肤、腹部皮肤及肌肉中叶黄素含量的分析统计结果见表 4。

表 3 背部皮肤及腹部皮肤色差值

Tab. 3 Chromatism of dorsal skin

组别	背部皮肤			腹部皮肤		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
对照组	60.86 ± 3.12 ^b	-1.05 ± 2.25 ^b	3.57 ± 1.63 ^a	83.89 ± 1.06	-3.76 ± 1.22 ^b	2.98 ± 1.49 ^a
普通叶黄素组	52.51 ± 3.38 ^a	-1.07 ± 1.05 ^b	26.07 ± 3.37 ^d	84.19 ± 0.53	-1.67 ± 1.10 ^b	14.2 ± 3.93 ^c
转化叶黄素组	55.49 ± 4.38 ^a	-2.09 ± 1.16 ^{ab}	19.19 ± 2.72 ^c	83.03 ± 1.48	-2.74 ± 1.82 ^b	9.82 ± 2.96 ^b
包被普通叶黄素组	52.17 ± 1.40 ^a	-3.38 ± 1.63 ^{ab}	25.38 ± 3.03 ^d	82.76 ± 0.86	-3.24 ± 0.73 ^b	16.4 ± 2.94 ^c
包被转化叶黄素组	55.63 ± 2.37 ^a	-4.91 ± 3.71 ^a	15.47 ± 2.33 ^b	83.23 ± 1.20	-6.22 ± 3.34 ^a	7.03 ± 1.02 ^{ab}

注:同一列中具不同上标字母者差异显著($P < 0.05$),以下各表相同。

表 4 背部、腹部皮肤和肌肉叶黄素含量

Tab. 4 Xanthophylls content in dorsal skin, ventral skin and muscle

组别	背部皮肤(mg/kg)	腹部皮肤(mg/kg)	肌肉(mg/kg)
对照组	1.20 ± 0.11 ^a	0.78 ± 0.26 ^a	0.48 ± 0.13 ^a
普通叶黄素组	13.18 ± 1.28 ^d	7.76 ± 0.40 ^d	3.14 ± 0.29 ^c
转化叶黄素组	10.96 ± 0.17 ^c	6.97 ± 0.28 ^c	2.96 ± 0.04 ^c
包被普通叶黄素组	12.65 ± 1.88 ^d	7.81 ± 0.27 ^d	3.05 ± 0.49 ^c
包被转化叶黄素组	8.48 ± 0.30 ^b	5.42 ± 0.29 ^b	1.82 ± 0.20 ^b

注:背部、腹部皮肤和肌肉均为鲜组织。

表 4 表明,各叶黄素添加组皮肤和肌肉叶黄素含量显著高于对照组($P < 0.05$)。普通叶黄素组和包被普通叶黄素组背部和腹部皮肤叶黄素含量显著高于转化叶黄素组和包被转化叶黄素组($P < 0.05$);包被转化叶黄素组肌肉叶黄素含量显著低于其它叶黄素添加组($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料中添加叶黄素对杂交鲈生长的影响

目前,关于饲料中添加类胡萝卜素对鱼类生长影响的研究已有一些报道。在虹鳟饲料中添加 β -胡萝卜素或虾青素,对鱼体增重率和饲料系数无显著性影响^[8]。在脂鲤(*Hyphessobrycon callistus*)饲料中添加不同浓度虾青素、 β -胡萝卜

素与两者混合物(1:1),经过 8 周饲养,对鱼体增重率与成活率也无显著影响^[9]。本实验饲料中添加 4 种不同形式叶黄素,对杂交鲈增重量、成活率以及饲料系数均无显著性影响(表 2),与上述研究结果一致。

3.2 普通叶黄素和转化叶黄素着色效果的比较

黄体素(lutein),化学式 3,3'-二羟基- α -胡萝卜素,在其链两端的芳香环上各有一个羟基(-OH),由于烯键的存在,黄体素分子可以发生几何异构。在一定的温度、压力和强碱性水溶液中,黄体素会异构化为玉米黄质(zeaxanthin),化学式 3,3'-二羟基- β -胡萝卜素^[10]。因此,黄体素和玉米黄质互为同分异构体^[11]。

目前市售的叶黄素产品均以黄体素为主要

成分,此类叶黄素已在某些鱼类的着色研究和养殖生产中得到一定程度的应用。冷向军等^[5]在胡子鲶成鱼和幼鱼饲料中分别添加 100 ~ 150 mg/kg 和 50 ~ 100 mg/kg 叶黄素,可以显著改善鱼类的体色。大口鲶摄食含 100 ~ 150 mg/kg 叶黄素的饲料后,皮肤和肌肉叶黄素含量均显著提高^[12]。

关于叶黄素中黄体素和玉米黄质的不同比例对水产动物着色的影响尚无报道。本实验中普通叶黄素组杂交鲶的背部皮肤、腹部皮肤色差 b^* 值(分别为 26.1 ± 3.37 、 14.2 ± 3.93)均显著高于转化叶黄素组 b^* 值(19.2 ± 2.72 、 9.82 ± 2.96)(表 3);普通叶黄素组背部皮肤、腹部皮肤、肌肉叶黄素含量较转化叶黄素组显著提高了 20.3%、11.3%、6.1%(表 4);通过肉眼观察发现普通叶黄素组体色呈深黄色或金黄色,而转化叶黄素组体色表现为灰黄色,以上表明以黄体素为主的普通叶黄素对杂交鲶的着色效果明显优于以玉米黄质为主的转化叶黄素。

3.3 普通叶黄素和包被普通叶黄素稳定性的比较

一般天然色素的成分存在于生物体内时处于比较稳定的状态,一旦天然色素从生物体内分离出来,则多变成不稳定,易受热、光、空气、金属离子等因素的影响,引起变色和褪色^[13]。本实验中 200 mg/kg 普通叶黄素组杂交鲶的背部皮肤、腹部皮肤的色差 b^* 值及皮肤、肌肉叶黄素含量与 100 mg/kg 包被普通叶黄素组相比,均无显著性差异(表 3、4);通过肉眼不能分辨普通叶黄素组和包被普通叶黄素组,即 200 mg/kg 普通叶黄素与 100 mg/kg 包被普通叶黄素对杂交鲶有相同的着色效果,这表明叶黄素经包被后,减少了外部因素的影响,稳定性明显提高。

本实验结果表明,在添加量均为 200 mg/kg 时,普通叶黄素对杂交鲶的着色效果优于转化叶黄素;100 mg/kg 包被普通叶黄素与 200 mg/kg 普通叶黄素的着色效果几乎相当;100 mg/kg 包被转化叶黄素对杂交鲶的着色效果不及 200 mg/kg 转化叶黄素。

本次实验得到广州智特奇生物科技有限公司的经费支持,大连水产学院研究生颜世伟同学的帮助,特此表示感谢!

参考文献:

- [1] 冷向军,李小勤. 水产动物着色的研究进展[J]. 水产学报,2006,30(1):138-143.
- [2] Bjerkeng B. Aquaculture related carotenoids chemistry[D]. Dr Ing Thesis, University of Trondheim, Institute of Technology, 1990: 250.
- [3] No H K, Storebakken T. Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin and canthaxanthin in freshwater and saltwater[J]. Aquaculture,1992,101:123-134.
- [4] Olsen R E, Baker R T M. Lutein dose not influence flesh astaxanthin pigmentation in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Aquaculture, 2006, 258:558-564.
- [5] 冷向军,李小勤,韦友传,等. 饲料中添加叶黄素对胡子鲶体色的影响[J]. 水产学报,2003,27(1):38-42.
- [6] 冷向军,韦友传,陆地,等. 添加金黄素 Y 改善本地胡子鲶体色的试验[J]. 广东饲料,2002,11(5):23-24.
- [7] Quackenbush F W, Miller S L. Composition and analysis of the carotenoids in marigold petals[J]. Journal of Association of official Analytical Chemists, 1972,55(3):75-81.
- [8] Amar E C, Kiron V, Satoh S, et al. Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defence mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) [J]. Aquaculture Research,2001,32:162-173.
- [9] Wang Yi-Juan, Chien Yew-Hu, Pan Chih-Hung. Effects of dietary supplementation of carotenoids on survival, growth, pigmentation and antioxidant capacity of characins, *Hyphessobrycon callistus* [J]. Aquaculture, 2006, 261:641-648.
- [10] Perez-Vendrell A M, Hernandez J M, Llauro L, et al. Influence of source and ratio of xanthophylls pigments on broiler chicken pigmentation and performance [J]. Poultry Science, 2001, 80:320-326.
- [11] 卢艳杰,陈正行,姚惠源. 玉米蛋白粉中黄体素和玉米黄素的分离与定性[J]. 无锡轻工大学学报,2003,22(5):11-14.
- [12] 袁万安,陈建,童孝兵,等. 色素添加剂对大口鲶体色的影响[J]. 河北渔业,2005,(1):16-18.
- [13] 龚盛昭. 天然食用色素的稳定性和稳定化技术概况[J]. 广州食品工业科技,1997,13(1):7-8.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0201 - 06

L-肉碱对奥尼罗非鱼生长、脂肪含量及 血浆相关生化指标的影响

黄 凯, 陈 涛, 战 歌, 麻艳群, 于 丹, 蒋焕超

(广西大学动物科学技术学院, 广西 南宁 530005)

摘 要:取奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*)750 尾,随机分为 5 组(每组 150 尾),分别饲喂添加 0、50、100、150 和 200 mg/kg L-肉碱(L-carnitine)的饲料,以研究 L-肉碱对奥尼罗非鱼生长、脂肪含量及血浆相关生化指标的影响,饲养周期为 65 d。结果表明:饲料中肉碱添加量为 150 mg/kg 时,奥尼罗非鱼增重率和肥满度分别较对照组高 19.91% 和 8.42% ($P < 0.05$);饲料系数降低 31.39% ($P < 0.05$);肌肉脂肪含量降低 14.39% ($P > 0.05$);血浆中的胆固醇、甘油三酯含量分别降低 9.82% ($P > 0.05$) 和 65.43% ($P < 0.05$);血浆中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性分别降低 65.04% ($P < 0.05$) 和 53.73% ($P < 0.05$);血浆淀粉酶降低 69.36% ($P < 0.05$);血浆中尿素氮降低 11.76% ($P > 0.05$);白蛋白升高 37.19% ($P < 0.05$)。在本研究条件下,建议奥尼罗非鱼饲料中 L-肉碱添加量为 150 mg/kg。

关键词:奥尼罗非鱼;L-肉碱;生长;脂肪含量;血浆生化指标

中图分类号: S 963.73 文献标识码: A

Effects of dietary L-carnitine on growth, fat content and biochemical indexes of blood of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*)

HUANG Kai, CHEN Tao, ZHAN Ge, MA Yan-qun, YU Dan, JIANG Huan-chao

(College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the dietary L-carnitine requirement of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) through observing the growth of tilapia, analyzing fat content and blood biochemical indexes. 750 juvenile tilapia with body weight of (0.30 ± 0.01) g were randomly allotted to five groups, and were fed diets supplemented with different level L-carnitine (0, 50, 100, 150 and 200 mg/kg) for 65d to investigate the effects of L-carnitine on growth, fat content and blood biochemical indexes. The results showed that when tilapia feed were added with 150 mg/kg L-carnitine, tilapia' WGR and CF were 19.91% and 8.42% higher than that of control group ($P < 0.05$) respectively; FRC was reduced 31.39% ($P < 0.05$) respectively; the amount of fat in muscle was reduced 14.39% ($P > 0.05$); the contents of cholesterol (CHOL) and TG were reduced 9.82% ($P > 0.05$) and 65.43% ($P < 0.05$) respectively; the activities of ALT and AST in Tilapia's plasma were reduced 65.04% ($P < 0.05$) and 53.73% ($P < 0.05$) respectively; the activity of AMY was reduced 69.36% ($P < 0.05$); the content of BUN in Tilapia's plasma was reduced

收稿日期: 2009-10-31

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(0992014-2); 广西壮族自治区科技攻关项目(0537008-ZE)

作者简介: 黄 凯(1963-), 男, 教授, 博士, 主要从事水产动物营养学和集约化水产养殖学方面的研究。E-mail: hkai110@163.com

11.76% ($P > 0.05$); the content of ALB in *Tilapia*'s plasma was higher than that of control group ($P < 0.05$). Therefore, under this research condition, it is suggested that the supplement of L-carnitine in diets of juvenile *tilapia* was the best at 150mg/kg.

Key words: *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*; L-carnitine; growth; fat content; biochemical indexes of blood

L-肉碱是俄国科学家 Krimberg 于 1905 年在肌肉提取物中发现的类似于 B 族维生素的化合物。有 D 型和 L 型两种异构体。L-肉碱为天然成分,存在于厌氧菌、植物和动物组织中^[1]。水产养殖中,L-肉碱可增强机体对外来活性物质和水体中氨毒性的耐受,增强鱼类对水温变化的适应性^[2]。研究表明,L-肉碱作为水产动物饲料添加剂可以提高其生长速度,降低饲料系数;提高水产动物蛋白含量,降低体脂率,改善肉质^[3]。鱼类本身能在组织和肝脏中合成 L-肉碱,但随着高密度、集约化养殖中全价配合饲料的使用,体内合成的 L-肉碱远远不能够满足鱼类快速生长的需要,这样可能造成鱼体脂肪代谢受阻,食量减少,运动减弱,成活率降低^[4]。本试验通过在饲料中添加不同水平 L-肉碱,观测奥尼罗非鱼的生长,分析其对奥尼罗非鱼脂肪含量、血浆相关生化指标的影响,以期探讨 L-肉碱在奥尼罗非鱼配合饲料中的适宜添加量。

1 材料与方 法

1.1 试验鱼和饲养

试验用奥尼罗非鱼来自广西水产研究所,大小基本一致,体重为(0.30 ± 0.01) g,健康无病,共计 750 尾。试验鱼暂养 1 周后随机分为 5 组,每组设 3 个重复,每个重复 50 尾。试验期为 65 d。养殖试验采用循环水过滤系统进行。试验期间每日 8:00 和 17:00 时各投喂 1 次,以饱食为准,即鱼体重的 3% ~ 5%。每次待鱼吃完后收集残饵并称重。每隔 15 d 调整一次投喂量,根据水温和鱼摄食情况而定。每天早上吸污后,换水 1/3,观察鱼活动状况,并记录投饲量、水温和死亡数。

1.2 试验场地及水源

本试验在动物科学技术学院水产养殖基地进行。养殖容器采用 15 只(1.0 m × 1.0 m × 0.8 m)大小一致的水池,每个池子配有充氧机和加热

棒。水源为曝气去氯后的自来水,在加热控温、循环过滤、充氧条件下养殖,整个试验过程平均水温为(28.9 ± 0.7) °C, DO 为(7.03 ± 0.23) mg/L, pH 为 6.9 ± 0.1, NH₃-N 为(0.03 ± 0.01) mg/L。

1.3 饲料配制

按照罗非鱼的营养需求(NRC1998),以鱼粉、花生粕等原料配制成基础饲料,在此基础上添加不同水平的 L-肉碱,配制成 5 组试验饲料,其中 1 组为不添加,2、3、4 和 5 组分别以 50、100、150 和 200 mg/kg 水平添加,以上原料混合均匀后用温水调质,用绞肉机制成直径约 1 ~ 2 mm 的条状饲料,在 60 °C 恒温箱中经 5 h 烘干、制成长约 2 ~ 3 mm 的颗粒饲料后,于 0 °C 下密封储存,以备使用,饲料组成见表 1。

表 1 试验饲料组成和营养水平
Tab. 1 Nutrient level and composition of experimental diet

原料名称及 添加比例	饲料组(%)				
	1(对照)	2	3	4	5
鱼粉	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
豆粕	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0
次粉	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0
花生麸	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
菜子饼	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
玉米	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
麦麸	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
复合矿物质	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
复合维生素	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
鱼油	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
食盐	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
黏合剂	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
糊精	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
防霉剂	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
诱食剂	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
合计	100	100	100	100	100
水分	9.2	8.9	9.1	9.0	9.1
粗蛋白	39.6	39.8	39.7	39.6	39.5
粗脂肪	5.26	5.32	5.29	5.40	5.35
粗灰分	9.7	9.6	9.7	9.6	9.5

1.4 样品的采集和试验指标的测定

1.4.1 增重率、肥满度、肝体比、肝脂率和肌脂率的测定

试验结束前后,每池随机抽取鱼 20 尾,逐尾鱼称重,量体长,称取肝胰腺重量。每池取鱼 5 尾,分别剪取肝胰腺和肌肉,以索氏抽脂法测定其中的粗脂肪含量。

1.4.2 血液生化指标的测定

每池随机抽取鱼 15 尾,心脏抽血,加肝素抗凝,用台式离心机离心 10 min (4 000 r/min),取上清液为血浆冷藏待用。采用美国倍肯公司生产的 ABBOTT ALOYON 300 全自动生化分析仪进行血液生化指标的分析测定,测定指标有:胆固醇(CHOL),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白(HDLC),谷丙转氨酶(ALT),谷草转氨酶(AST), γ -谷氨酰转肽酶(GGT),尿素氮(BUN),白蛋白(ALB),总蛋白(TB)。

1.5 统计分析

试验数据用 SPSS 13.0 统计软件进行相关性分析和方差分析,试验结果用“平均数 \pm 标准差”表示,采用 Duncan 氏多重比较分析试验结果平均数的差异显著性($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 L-肉碱对奥尼罗非鱼生长的影响

由表 2 可知,饲养 65 d 后,1 到 4 组的鱼体增重率随着肉碱添加量的增加而提高,第 5 组回落,以 L-肉碱添加量 150 mg/kg 的第 4 组增重率

最高,为 5 752% \pm 701%,较 1、2、3、5 组分别高 19.91%、13.43%、17.15%、15.34%,显著高于其它各组($P < 0.05$);5 种饲料对奥尼罗非鱼的成活率影响不大($P > 0.05$),4 组的成活率 95.33% \pm 3.06% 稍低于成活率最高的 5 组 96.00% \pm 4.00%,与 1~3 组无显著性差异($P > 0.05$);从 1 组到 5 组鱼体肥满度逐渐增加,变化差异显著($P < 0.05$),其中 3、4、5 组差异不显著($P > 0.05$),但显著高于 1、2 组($P < 0.05$),2、3、4、5 组分别较 1 组提高了 1.05%、9.47%、8.42%、12.63%,第 5 组肥满度最大为 3.21% \pm 0.34%;各组饲料系数不呈规律性变化,4 组饲料系数最低(0.94 \pm 0.07),分别较 1、2、3、5 组降低 45.74%、2.13%、42.55%、12.77%,与 2、5 组差异不显著($P > 0.05$),显著低于 1、3 组($P < 0.05$)。

2.2 L-肉碱对奥尼罗非鱼的肝体比、肝胰腺和肌肉脂肪含量的影响

表 3 显示,各试验组奥尼罗非鱼肝胰腺脂肪含量差异不显著($P > 0.05$),其中第 2 组肝胰腺脂肪含量最高(5.42% \pm 0.99%),5 组次之(5.38% \pm 1.53%),1、3、4 组均较低;肌肉脂肪含量各组间差异显著($P < 0.05$),从 1~3 组,肌肉脂肪含量升高,3 组达最高,4、5 组的肌肉脂肪含量逐渐下降,5 组最低,1、4、5 组之间的肌肉脂肪含量无显著性差异($P > 0.05$),2、3 组显著高于其它各组($P < 0.05$);肝体比最小的是 4 组(0.76% \pm 0.08%),该值显著低于 1、2、5 组($P < 0.05$),与 3 组无显著性差异($P > 0.05$)。

表 2 不同 L-肉碱水平对奥尼罗非鱼生长指标的影响

Tab.2 Effect of different L-carnitine levels on growth of tilapia

生长指标	饲料组				
	1	2	3	4	5
初重(g/尾)	0.32 \pm 0.02	0.31 \pm 0.01	0.30 \pm 0.01	0.29 \pm 0.01	0.30 \pm 0.02
末重(g/尾)	15.67 \pm 1.67	16.03 \pm 1.91	15.03 \pm 1.72	16.97 \pm 1.79	15.26 \pm 1.84
成活率(%)	91.33 \pm 1.15	92.66 \pm 3.06	92.00 \pm 7.21	95.33 \pm 3.06	96.00 \pm 4.00
增重率(%)	4797 \pm 552 ^b	5071 \pm 628 ^{ab}	4910 \pm 529 ^b	5752 \pm 701 ^c	4987 \pm 428 ^{ab}
肥满度(%)	2.85 \pm 0.83 ^b	2.88 \pm 0.34 ^b	3.12 \pm 0.33 ^a	3.09 \pm 0.29 ^a	3.21 \pm 0.34 ^a
饲料系数	1.37 \pm 0.10 ^a	0.96 \pm 0.08 ^c	1.34 \pm 0.30 ^{ab}	0.94 \pm 0.07 ^c	1.06 \pm 0.08 ^{bc}

注:同一行数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异($P < 0.05$)。成活率(%) = 100 \times 终末尾数/初始尾数;增重率(%) = 100 \times (末重 - 初重)/初重;肥满度 = 100 \times 体重/体长³;饲料系数 = 摄食饲料总量/(末重 - 初重)。

表3 不同肉碱水平对奥尼罗非鱼肝体比、肝胰腺及肌肉脂肪含量的影响

Tab.3 Effects of different L-carnitine levels on amount of fat in liver and muscle of tilapia

指标	饲料组				
	1	2	3	4	5
肝体比 (%)	0.91 ± 0.12 ^{ab}	0.88 ± 0.09 ^{bc}	0.79 ± 0.07 ^{cd}	0.76 ± 0.08 ^d	0.98 ± 0.11 ^a
肝脏脂肪含量 (%)	5.13 ± 0.57	5.42 ± 0.99	5.12 ± 0.51	5.16 ± 0.57	5.38 ± 1.53
肌肉脂肪含量 (%)	1.39 ± 0.45 ^{ab}	2.12 ± 0.94 ^a	2.24 ± 1.49 ^a	1.19 ± 0.48 ^{ab}	0.79 ± 0.24 ^b

注:同一行数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异($P < 0.05$)。肝体比(%) = $100 \times$ 肝重/鱼体重;肝胰腺脂肪含量(%) = $100 \times$ 肝胰腺脂肪含量/肝重;肌肉脂肪含量(%) = $100 \times$ 肌肉脂肪含量/肌肉重量。

2.3 L-肉碱对奥尼罗非鱼的血浆生化指标的影响

由表4可见,各组奥尼罗非鱼血浆中的CHOL的含量变化差异不显著($P > 0.05$),但随着肉碱添加量的增加呈下降趋势,第4组CHOL的含量最低;血浆中TG、ATL和AST含量变化差异显著($P < 0.05$),其中第4组的TG含量最低,ATL和AST活性最低,从第1组到第5组ATL活性呈降低趋势。1、2组的TG含量显著高于4组($P < 0.05$),3、5组的TG含量与4组差异不显著($P > 0.05$);各组ATL活性随着L-肉碱添加量的增加而降低,1、2组显著高于4、5组($P < 0.05$);各组血浆中AST活性随L-肉碱添加量的增加而

呈不规则变化,3组的AST活性最高;各组血浆中的HDLc含量随着组数增加而下降,各组间无显著性差异($P > 0.05$),5组HDLc含量最低(1.51 ± 0.17);4组血浆中的GGT活性显著低于其它各组($P < 0.05$);各组血浆中BUN含量差异不显著($P > 0.05$),其中第4组BUN浓度最低,为(1.95 ± 0.59) mmol/L;从对照组到第4组血浆中白蛋白含量逐渐升高,到第5组回落,各组间差异显著($P < 0.05$),其中第1组(10.97 ± 1.07) g/L显著低于其他4组($P < 0.05$),第4组最高。1到5组血清中总蛋白浓度呈降低趋势,组间差异显著($P < 0.05$),第5组显著低于1、2、3组($P < 0.05$),与第4组差异不显著($P > 0.05$)。

表4 不同肉碱水平对奥尼罗非鱼血浆生化指标的影响

Tab.4 Effects of the different carnitine levels on tilapia's plasma biochemical indexes

生化指标	饲料组				
	1	2	3	4	5
胆固醇(mmol/L)	3.26 ± 0.29	3.26 ± 0.08	3.19 ± 0.09	2.94 ± 0.51	3.20 ± 0.42
甘油三酯(mmol/L)	0.81 ± 0.08 ^{ab}	0.86 ± 0.24 ^a	0.55 ± 0.13 ^{bc}	0.28 ± 0.07 ^c	0.50 ± 0.13 ^c
谷丙转氨酶(U/L)	123.00 ± 26.33 ^a	104.00 ± 17.09 ^a	85.50 ± 9.31 ^{ab}	43.33 ± 5.69 ^b	53.00 ± 13.59 ^b
谷草转氨酶(U/L)	384.00 ± 78.29 ^a	206.33 ± 25.70 ^{bc}	393.67 ± 80.67 ^a	177.67 ± 20.53 ^c	348.00 ± 70.70 ^b
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.77 ± 0.27	1.64 ± 0.08	1.59 ± 0.13	1.53 ± 0.10	1.51 ± 0.17
γ -谷氨酰转肽酶(U/L)	40.00 ± 3.00 ^b	66.67 ± 5.77 ^a	63.33 ± 15.28 ^a	20.00 ± 4.00 ^c	53.33 ± 5.77 ^{ab}
尿素氮(mmol/L)	2.21 ± 0.81	2.10 ± 0.30	2.25 ± 0.78	1.95 ± 0.59	2.41 ± 0.47
白蛋白(g/L)	10.97 ± 1.07 ^b	13.80 ± 1.13 ^a	14.90 ± 0.62 ^a	15.05 ± 0.92 ^a	14.06 ± 0.74 ^a
总蛋白(g/L)	38.20 ± 1.56 ^a	36.90 ± 3.29 ^a	34.26 ± 2.04 ^a	33.65 ± 3.04 ^{ab}	28.73 ± 2.24 ^b

注:同一行数据右上角不同上标小写字母代表有显著差异($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 不同L-肉碱水平对奥尼罗非鱼生长的影响

本试验结果指出,在奥尼罗非鱼饲料中添加一定比例的L-肉碱后,随着肉碱添加量的增加,奥尼罗非鱼的肥满度总体呈升高趋势,饲料系数逐渐降低,各组奥尼罗非鱼的增重率较对照组均

有提升,生长性能得到提高。本试验结果与其它学者在鲫(*Carassius auratus*)^[5]、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[6]、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[7]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[8]上研究结果一致。而另有一些学者认为肉碱对鱼类无促生长效果^[9-10],杜震宇^[9]等报道了在饲料中添加200 mg/kg的L-肉碱对罗非鱼生长的影响试验,罗非鱼初始重为(38.65 ± 0.21) g,试验温度为(20.62 ± 2.52) °C,肉碱添加组的生长率较未添

加组降低,添加 200 mg/kg 的 L-肉碱对罗非鱼并无促生长作用,认为可能是相对较低的水温影响了肉碱的作用效果。本研究在饲料中添加肉碱促进了奥尼罗非鱼的生长,这可能跟本试验较高的水温(28.9 ± 0.7) °C 和较小的鱼体初始重(0.30 ± 0.01) g 有关。肉碱的作用效果受到多方面因素的影响。Santulli 等^[11]通过研究指出,试验水温将会影响肉碱的作用效果;Torreele 等^[12]认为饲料中脂肪含量以及饲料中脂肪的组成可对肉碱的作用效果产生影响。本试验饲料的脂肪含量较杜震宇所用饲料脂肪含量低将近 2 个百分点。

章世元等^[13]用 L-肉碱水平分别为 0、50、100、150、200 和 250 mg/kg 的几组饲料对异育银鲫(*Hybridized prussian carp*)进行饲养试验,结果发现,200 mg/kg 组鲫增重最快,优于 250 mg/kg 组,这说明 L-肉碱对鲫的促生长作用并非完全与添加量呈正比。王骥腾等^[14]认为,肉碱可加强蛋白质合成进而引起肝糖和氮代谢的变化,但高剂量的肉碱消耗大量脂肪,可能造成鱼体所需脂肪量的相对不足,最终使得促生长效果不佳甚至下降。本试验同样表明,当饲料中肉碱添加量为 150 mg/kg 时,奥尼罗非鱼的增重率最高,饲料系数最低,促生长效果最好。而当肉碱添加量达到 200 mg/kg 时,增重率有所回落,饲料系数有所上升。所以在奥尼罗非鱼配合饲料生产中应把握好肉碱的适宜添加量。

3.2 不同 L-肉碱水平对奥尼罗非鱼肝胰腺和肌肉脂肪含量的影响

王永侠等^[15]认为,在饲料中添加 L-肉碱可以减少脂肪沉积,改善肉质。Hong 等^[10]研究指出,在大西洋鲑(*Salmo salar*)饲料中添加 L-肉碱可以降低组织脂肪含量。从本研究结果来看,奥尼罗非鱼肌肉脂肪含量先随着肉碱添加量的增加而升高,随后下降,其中肉碱添加量为 200 mg/kg 的第 5 组肌肉脂肪含量最低。周萌等^[6]研究发现,在军曹鱼饲料中添加一定量的 L-肉碱可以降低军曹鱼的肝体比及肝脂。本试验中,奥尼罗非鱼肝胰腺脂肪含量随着肉碱添加量的增加,不呈规律性变化,但可以看到,当肉碱添加量为 100 mg/kg 时,肝胰腺脂肪含量最低,这与 Burtle 等^[16]的试验结果相一致;4 组的肝体比最小,显著低于 1、2、5 组,到第 5 组陡然回升,说明添加适量的肉

碱能降低罗非鱼的肝体比。因此,在饲料中添加适量的 L-肉碱可以降低奥尼罗非鱼体内脂肪含量,促进脂肪代谢,预防鱼类脂肪肝。

3.3 不同 L-肉碱水平对奥尼罗非鱼血浆生化指标的影响

L-肉碱可有效清除合成胆固醇的原料—游离酰基,从而降低动物体内胆固醇沉积量。本试验中,添加 L-肉碱后奥尼罗非鱼血浆 CHOL 含量明显下降,说明 L-肉碱可以有效地降低奥尼罗非鱼体内胆固醇的沉积量,这与章世元等^[9]的研究结果相一致。由于 HDLC 是 CHOL 的主要运输者之一,所以 HDLC 和 CHOL 的变化趋势相似。TG 由甘油和脂肪酸缩合而成,血浆中 TG 含量过高即形成高脂血,对鱼体有害,L-肉碱作为脂肪酸的跨膜载体,以酰基 L-肉碱的形式将脂肪酸从线粒体外运送到膜内,促进脂肪酸的 β -氧化,使血浆中的 TG 含量下降。本研究显示,对照组奥尼罗非鱼的血浆 TG 含量较高,而 3、4、5 组血浆 TG 含量均有明显下降,其中 4 组降幅最大,说明添加肉碱可以降低奥尼罗非鱼的血脂浓度。

陈义等^[17]认为,血清中转氨酶的活性可反映肝细胞损伤程度,因而检测转氨酶是判断肝脏损害程度的主要实验室依据之一。当肝细胞遭受破坏或细胞膜通透性增加时,ALT 和 AST 等酶就会渗入血液,使血液中转氨酶的活性显著升高^[18],本试验中,150 mg/kg 添加组奥尼罗非鱼血浆 ALT 和 AST 酶的活性较低,肝细胞损伤程度较低。GGT 在肝内主要分布于肝细胞浆和肝内胆管上皮中,血浆中的 GGT 主要来自肝脏,肝脏受损时,血浆中 GGT 活性升高,本试验中 4 组 GGT 活性最低,肝脏受损程度较低。

L-肉碱可以抑制体内赖氨酸和蛋氨酸的消耗,从而起到节约蛋白质的作用,也可能通过增加丙酮酸羧化酶的作用来改变代谢过程中产生的废氮的去向,使之向合成氨基酸和机体蛋白质的方向转化^[19]。从本试验结果来看,随着肉碱添加量的增加,各组的血浆白蛋白有升高趋势,尿素氮有下降趋势,表明肉碱能增加体氮,抑制体内氨基酸消耗,从而起到节约蛋白质,促进蛋白质沉积的作用。

3.4 L-肉碱在奥尼罗非鱼饲料中的适宜添加量

L-肉碱在水产饲料中应用广泛,饲料厂一般

采用纯度为 50% 左右的肉碱。在饲料中添加 L-肉碱可以解决动物在生长过程中由于体内合成不足而造成的生长滞后的问题,从而提高动物生长速度,并且在一定程度上降低了饲料的损失。Becker^[20] 研究指出,在罗非鱼饲料中添加 L-肉碱对饲料利用率和蛋白质效率影响明显。本研究表明,当 L-肉碱(纯度为 99%) 在奥尼罗非鱼饲料中的添加量为 150 mg/kg 时,奥尼罗非鱼生长和脂肪代谢较好。建议在规模化、高密度养殖奥尼罗非鱼过程中,可以适当加大 L-肉碱添加量,但不能添加过量,否则过量的肉碱不但会消耗大量脂肪,使鱼体消瘦,生长缓慢,而且加重机体代谢负载,影响其它物质代谢,引起鱼类生长性能下降。另外值得注意的是要选好 L-肉碱的添加条件,应根据奥尼罗非鱼在不同的生长阶段、生理状态及环境条件下的实际需要量来添加 L-肉碱,否则就不能发挥奥尼罗非鱼最大的生长潜能。

参考文献:

- [1] 胡梦虹,王有基. 新型水产饲料添加剂—左旋肉碱(L-Carnitine)[J]. 现代渔业信息,2006,21(6):18-20,23.
- [2] 沈佳佳,张晓军,王浩. 绿色水产饲料添加剂—L-肉碱的研究进展[J]. 饲料与养殖,2005,(10):23-23.
- [3] 石军,陈安国,张云刚. L-肉碱的生物学功能及其在鱼类营养代谢中的作用[J]. 水利渔业,2002,22(5):10-12.
- [4] 朱友谊,张宝彤,李爱琴,等. 肉碱在畜牧水产动物营养上的研究及应用[J]. 中国饲料,1999,8:21-23.
- [5] 王立新,周继术,杨元昊,等. L-肉碱对鲫鱼生长和代谢的影响[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2004,32(10):63-65.
- [6] 周萌,曹俊明,马利,等. 饲料中添加磷脂油、胆碱、L-肉碱对军曹鱼生长及组织脂肪含量的影响[J]. 饲料工业,2007,28(10):23-25.
- [7] 许民强,邹成华. L-肉碱对日本鳗鲡生长性能的影响[J]. 水产科技情报,1997,24(5):223-225.
- [8] 景水才. 饲料中左旋肉碱对鲤鱼促生长和抗应激作用的影响[J]. 北京水产,2008,(2):54-56.
- [9] 杜震宇,刘永坚,田丽霞,等. 添加不同构型肉碱对于罗非鱼生长和鱼体营养成分组成的影响[J]. 水产学报,2002,26(3):259-264.
- [10] Hong J, Bradley T M. Atlantic salmon fed L-carnitine exhibit altered intermediary metabolism and reduced tissue lipid, but not change in growth rate[J]. J Nutri, 1996,126(8):1937-1950.
- [11] Santulli A, D'Amelio V. Effects of supplemental dietary carnitine on growth and lipid metabolism of hatchery-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. Aquaculture, 1986,59:177-186.
- [12] Torreele B E, Der Sluiszen A V, Verreth J. The effect of dietary L-carnitine on the growth performance in fingerlings of the American catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to dietary lipid[J]. Br J Nutr,1993,69:289-299.
- [13] 章世元,张丽娜,姜德兴. L-肉碱对异育银鲫生长性能、血液生化指标和肌肉氨基酸组成的影响[J]. 饲料添加剂,2008,(10):34-36,44.
- [14] 王骥腾,韩涛,韩丽霞,等. 2 个脂肪水平下添加肉碱对军曹鱼生长及体组成的影响[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2007,26(2):125-131.
- [15] 王永侠,占秀安,郑严严. L-肉碱及其在水产养殖中的应用研究进展[J]. 广东饲料,2008,17(3):39-40.
- [16] Burtle G J, Liu Q H. Dietary carnitine and lysine affect channel catfish lipid and protein composition[J]. J World Aquacult Soc, 1994,25(2):169-174.
- [17] 陈义,吴斌,李永茂. 病毒性肝炎肝细胞损伤程度对血清转氨酶活性与比值的影响[J]. 兰州医学院学报,1991,17(2):96-97,103.
- [18] 李莉. 动物生物化学[M]. 北京:中国农业出版社,2001:147.
- [19] 周洪琪,潘兆龙,李世钦. 草鱼代谢能的研究[J]. 水产学报,1998,22(1):28-31.
- [20] Becker K, Schreiber S, Angoni C, et al. Growth performance and feed utilization response of *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* hybrids to L-carnitine measured over a full fattening cycle under commercial conditions[J]. Aquaculture, 1999,174(3-4):313-322.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0207 - 07

饲料淀粉水平对淡水黑鲟生长 和消化酶活性的影响

韩 勃¹, 宋理平²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
2. 山东省淡水水产研究所, 山东 济南 250117)

摘 要: 配制 5 组等蛋白质等脂肪, 不同淀粉水平 (26%、30%、34%、38%、42%) 的饲料, 网箱养殖淡水黑鲟 (*Hephaestus fuliginosus*) 60 d, 初始体重为 (4.02 ± 0.11) g, 探讨其饲料中淀粉适宜添加量。结果表明, 淀粉含量 34% 组相对增重率和蛋白质效率显著高于其它各组 ($P < 0.05$), 饲料系数显著低于其它各组 ($P < 0.05$); 各组间肠道胰蛋白酶和脂肪酶活性无显著差异 ($P > 0.05$), 38% 和 42% 组肠道淀粉酶活性显著高于 26% 和 30% 组 ($P < 0.05$); 34% 组全鱼以及肌肉的粗脂肪含量显著高于 26%、30% 和 42% 组 ($P < 0.05$), 全鱼以及肌肉水分、粗蛋白和粗灰分含量各组间无显著差异 ($P > 0.05$); 各组淡水黑鲟脏体比和肥满度无显著差异 ($P > 0.05$), 42% 组肝体比显著高于 26%、30% 和 34% 组 ($P < 0.05$); 各组间成活率无显著差异 ($P > 0.05$)。综合实验结果分析, 淡水黑鲟饲料中淀粉适宜添加量为 34% ~ 38%。

关键词: 淡水黑鲟; 淀粉; 生长性能; 消化酶活性

中图分类号: S 917 文献标识码: A

The effects of starch levels on growth performance and digestive enzyme activities of *Hephaestus fuliginosus*

HAN Bo¹, SONG Li-ping²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Fresh Water Fishery Institute of Shandong Province, Jinan 250117, China)

Abstract: To examine the effects of dietary starch on the growth performance and digestive enzyme activities of *Hephaestus fuliginosus*, diets containing iso-nitrogenous, iso-lipidic but increasing starch levels (26%, 30%, 34%, 38% and 42%) were used to feed experimental fish for 60 days. At the end of the experiment, the *Hephaestus fuliginosus* fed 34% starch level showed higher relative weight and protein efficiency ratio, lower feed conversion ratio than other groups ($P < 0.05$), higher level of crude lipid compositions of whole body and muscle than 26%, 30% and 42% ($P < 0.05$). The groups *Hephaestus fuliginosus* fed 38% and 42% starch level showed higher level amylase activities in intestine than 26% and 30% ($P < 0.05$). The *Hephaestus fuliginosus* fed 42% starch level showed higher hepatosomatic index than 26%, 30% and 34% groups ($P < 0.05$). There were no significant differences in viserosomatic index, fullness coefficient, trypsin

收稿日期: 2009-09-01

基金项目: 山东省淡水水产研究所所长基金 (031020107)

作者简介: 韩勃 (1984 -), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物营养。E-mail: hanbo911@sina.com

通讯作者: 宋理平, E-mail: lpsyang1974@126.com

and lipase activities in intestine, moisture, crude protein and crude ash compositions of whole body and muscle, survival rates among the five groups ($P > 0.05$). The results suggested the optimum dietary starch requirement of *Hephaestus fuliginosus* was 34% ~ 38%.

Key words: *Hephaestus fuliginosus*; starch; growth performance; digestive enzyme activities

作为动物必需的能源物质之一,碳水化合物在鱼体内具有不可替代的生理作用,包括组成体组织细胞,提供能量,合成体脂,为合成非必需氨基酸提供碳架,节约蛋白质^[1]。与畜禽动物相比,鱼类对碳水化合物的利用能力较低^[2],一方面是因为鱼类 α -淀粉酶缺乏且消化道短^[3],对常见的碳水化合物消化吸收差;另一方面由于鱼类代谢较多依赖蛋白质和脂肪提供能量^[4],碳水化合物异生成脂肪能力较差^[5],糖异生酶在鱼摄食碳水化合物后不能产生适应性调节等原因,造成鱼体血糖和肝糖原水平升高,从而对鱼体生理功能造成负面影响^[6]。

淡水黑鲷,学名厚唇弱棘,隶属于鲈形目(Perciformes),鲷科(terapontidae),弱棘鲷属(*hephaestus*),原产于澳大利亚,是世界上少有的淡水鲷科鱼类。淡水黑鲷体表敷细鳞片、粘液较少、呈黄黑色;头部较尖、呈淡绿色、属亚热带杂食性鱼类。淡水黑鲷具有生长快、体形佳、肉质嫩滑爽口、无肌间刺、含肉率高、饲养方便等优点,深受广大养殖户和消费者的青睐^[7]。我国淡水黑鲷的养殖时间不长,对其营养需求的研究还不完善。目前,国内只有宋理平等^[8]研究报告,

其饲料中最适蛋白质含量为 40.63%,但其对碳水化合物需求量的研究在国内外还未见报道。

本研究探求了淡水黑鲷饲料中淀粉适宜添加量,以期对淡水黑鲷饲料的研制提供理论依据,促进这一新品种在我国的健康养殖。

1 材料与方法

1.1 实验鱼的来源与驯化

实验鱼取自山东省淡水水产研究所当年繁殖的同一批次淡水黑鲷,于玻璃钢水池中($r = 2.5$ m, $h = 1.5$ m)暂养 14 d,期间投喂淀粉含量为 26% 的饲料进行驯化。

1.2 实验饲料

分别以白鱼粉、鱼油和玉米淀粉作为蛋白质、脂肪和淀粉原料,以微精纤维素作为饲料填充物。白鱼粉经粉碎后,与玉米淀粉和纤维素按比例混合均匀,再加入矿物质和维生素预混剂混匀,将鱼油和适量水均匀喷洒在饲料上,用小型绞肉机制成粒径为 1.8 mm 的湿颗粒饲料,并于 40 °C 烘干后密封保存备用。各组实验饲料配方及营养成分均为干重,具体见表 1。

表 1 实验饲料配方及成分含量表
Tab. 1 Formulation and proximate composition of experimental diets

配方	淀粉水平				
	26%	30%	34%	38%	42%
鱼粉 (%)	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5
鱼油 (%)	7	7	7	7	7
玉米淀粉 (%)	24	28	32	36	40
微精纤维素 (%)	16.5	12.5	8.5	4.5	0.5
无机盐预混剂 ¹ (%)	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
维生素预混剂 ² (%)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
营养组成 (%)					
总糖 (%)	25.7	29.8	33.9	37.8	42.1
粗蛋白 (%)	38.9	38.2	38.5	38.4	38.7
粗脂肪 (%)	9.1	9.4	9.4	9.3	8.9
粗灰分 (%)	9.4	9.2	9.5	9.2	9.1

注:1. 无机盐预混剂(每千克含量): NaF, 2 mg; KI, 0.08 mg; CoCl₂ · 6H₂O, 1 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 10 mg; FeSO₄ · H₂O, 74 mg; ZnSO₄ · H₂O, 50 mg; MnSO₄ · H₂O, 60 mg; MgSO₄ · 7H₂O, 1 000 mg; K₂HPO₃ · 3H₂O, 6 000 mg; NaH₂PO₃ · 2H₂O, 5 000 mg; NaCl, 100 mg; CaCO₃, 4 g。

2. 维生素预混剂(每千克含量): 硫胺素, 20 mg; 核黄素, 40 mg; 吡哆醛, 20 mg; 钴胺素, 0.1 mg; 亚硫酸氢钠甲萘醌, 10 mg; 肌醇, 1 000 mg; 泛酸, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 生物素, 1.23 mg; 视黄醇, 25 000 IU; 胆钙化醇, 2 500 IU; 生育酚, 112 mg; 抗坏血酸, 2 112 mg; 氯化胆碱, 2 500 mg。

1.3 实验鱼的饲养与日常管理

暂养结束后停食 24 h,挑取 300 尾平均体重(4.02 ± 0.11) g 的健康幼鱼,随机放入 15 个聚乙烯网箱中(60 cm × 60 cm × 120 cm),每网箱 20 尾。每日饱食投喂饲料 3 次(7:00, 12:30, 18:00)。实验用水取自玉景矿泉水厂,期间连续充气并保持水温(27.0 ± 1.5) °C、pH(7.5 ± 1.0)、NH₃-N < 0.4 mg/L、H₂S < 0.05 mg/L。每 7 d 换水一次(换水量 1/3),并清理粪便和残饵,养殖实验共进行 60 d。

1.4 样品的采集

养殖实验结束后,饥饿 24 h,对各个网箱所有淡水黑鲟测定终体重和终体长,随后依次采集各样品。

1.4.1 肠道样品

每个网箱随机取 3 尾淡水黑鲟称重后,麻醉鱼体,解剖取其内脏团准确称重;再从内脏团中分离出其肝脏并准确称重;后分离出其肠道,装于密封袋中,立即转至 -20 °C 的冰箱中待用,整个解剖过程在冰盘上操作。

1.4.2 肌肉样品

将解剖后的淡水黑鲟用抹布抹干置于解剖盘上,剔除鱼皮,取其两侧侧线上的背肌,装于密封袋中,立刻放于 -20 °C 的冰箱中待用。

1.4.3 全鱼样品

每个网箱随机取 3 尾中等大小的淡水黑鲟装入自封袋,迅速转入 -20 °C 冰箱中待用。

1.5 样品分析

1.5.1 营养成分测定

水分采用恒温干燥法(105 °C);粗蛋白采用凯氏定氮法;粗脂肪的测定以乙醚为溶剂,采用索氏抽提法;粗灰分是在马福炉中焚烧(550 °C)测得;总糖采用 3,5-二硝基水杨酸法。

1.5.2 消化酶活性的测定

胰蛋白酶:依试剂盒中方法(试剂盒购于南京建成生物工程研究所),定义在 pH 8.0,37 °C 条件下,每毫克蛋白中含有的蛋白酶每分钟使吸光度变化 0.003 即为一个酶活力单位。

淀粉酶:碘-淀粉比色法。依试剂盒中方法(试剂盒购于南京建成生物工程研究所),定义组织中每毫克蛋白在 37 °C 与底物作用 30 min,水解 10 mg 淀粉定义为一个淀粉酶活力单位。

脂肪酶:依试剂盒中方法(试剂盒购于南京建成生物工程研究所),定义在 37 °C 条件下,每克组织蛋白与底物反应 1 min,每消耗 1 μmol 底物为一个酶活力单位。

组织蛋白:考马斯亮兰蛋白试剂盒测定(试剂盒购于南京建成生物工程研究所)。

1.6 数据分析与统计

各实验参数通过以下公式计算求得:

$$R_S = 100 \times N_f / N_i \quad (1)$$

$$R_{WG} = 100 \times (W_t - W_0) / W_0 \quad (2)$$

$$R_{FC} = I_d / (W_t - W_0) \quad (3)$$

$$R_{PE} = 100 \times (W_t - W_0) / (I_d \times P_d) \quad (4)$$

$$I_{VS} = 100 \times W_V / W_t \quad (5)$$

$$I_{HS} = 100 \times W_L / W_t \quad (6)$$

$$F_C = 100 \times W_t / L_t^3 \quad (7)$$

式中: R_S 为成活率; N_f 为终末尾数; N_i 为初始尾数; R_{WG} 为相对增重率; W_t 为终末体重(g); W_0 为初始体重(g); R_{FC} 为饲料系数; R_{PE} 为蛋白质效率; I_{VS} 为肝体比; W_V 为终末内脏团重(g); I_{HS} 为肝体比; W_L 为终末肝重(g); F_C 为肥满度(g/cm³); L_t 为终末体长(cm); I_d 为摄入干物质的总量(g); P_d 为饲料中蛋白质含量。

采用 SPSS 17.0 软件对各组数据进行方差分析和 Duncan's 多重检验($P < 0.05$ 即认为显著差异)。

2 结果

2.1 饲料淀粉水平对淡水黑鲟生长性能和饲料利用的影响

由表 2 可知,经过 60 d 养殖实验,各组淡水黑鲟成活率无显著差异($P > 0.05$)。34% 组淡水黑鲟的终体重和相对增重率显著高于其它实验组($P < 0.05$),分别达到 7.65 g 和 91.25%,是 26% 组的 1.43 和 2.73 倍。饲料系数随饲料淀粉水平上升先减小后增大,其中 34% 组最低(1.55),显著低于 26% 和 30% 组($P < 0.05$);30%、38% 和 42% 组间无显著差异($P > 0.05$)。34% 组蛋白质效率达到 170.86%,显著高于其它组($P < 0.05$),是 26% 组的 2.18 倍。

2.2 饲料淀粉水平对淡水黑鲟形体特征的影响

随着饲料淀粉水平的增加,淡水黑鲟脏体

比、肝体比和肥满度逐渐增高(见表3)。42%组脏体比最大(7.79%),但各组间无显著差异($P > 0.05$)。42%组肝体比(2.08%)显著高于26%、30%和34%组($P < 0.05$),是26%组的1.28倍,38%组与其它各组间无显著差异($P > 0.05$)。各实验组间肥满度无显著差异($P > 0.05$),说明60d养殖实验结束后,淡水黑鲟体形相近。

2.3 饲料淀粉水平对淡水黑鲟肠道消化酶的影响

各组淡水黑鲟肠道内胰蛋白酶和脂肪酶活性无显著差异($P > 0.05$) (见表4)。肠道淀粉酶活性随饲料淀粉水平升高呈逐渐增大趋势,38%和42%组显著高于26%和30%组($P < 0.05$);34%组与其它各组间无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 饲料淀粉水平对淡水黑鲟全鱼及肌肉成分的影响

由表5可知,全鱼粗蛋白和粗脂肪含量随饲料淀粉水平升高呈先增大后减小趋势。38%组粗蛋白含量(15.95%)最高,但与其它各组并无显著差异($P > 0.05$)。34%组粗脂肪含量(7.44%)显著高于30%组($P < 0.05$),30%组又显著高于26%、42%组($P < 0.05$)。各实验组间全鱼水分和粗灰分含量无显著差异($P > 0.05$)。随饲料淀粉水平升高,肌肉粗蛋白含量呈逐渐增

加趋势,42%粗蛋白含量(18.47%)最高,但与其它组无显著差异($P > 0.05$)。肌肉粗脂肪含量仍呈先增大后减小趋势,34%组(3.61%)与38%无显著差异($P > 0.05$),显著高于30%和42%组($P < 0.05$)。各实验组间肌肉水分和粗灰分含量无显著差异($P > 0.05$)。

3 讨论

鱼类对饲料碳水化合物利用能力较差^[2],但其饲料中应含有适量的碳水化合物^[9]。如添加量不足,蛋白质和脂肪就会被分解用于能量供应和合成一些可由碳水化合物衍生而来的生物活性物质(如非必需氨基酸和核酸),造成鱼类代谢紊乱,鱼体消瘦,生长性能下降^[10]。但当鱼类摄食过高水平碳水化合物饲料后,鱼体血糖持续偏高^[11],代谢负荷加重^[12],同样导致鱼体的生长率和饲料效率降低^[13]。鲈鱼(*Micropterus salmonides*)饲料中加入10%的碳水化合物使生长得到改善,但增加到27%时生长会迟缓^[14]。适宜的碳水化合物含量可以促进鱼类生长,起到节约蛋白质的作用。大西洋鲑(*Salmo salar*)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)等肉食性鱼类的饲料中添加15%~18%的碳水化合物可以提高生长率、饲料效率和蛋白质效率^[15]。

表2 饲料淀粉水平对淡水黑鲟生长性能和饲料利用的影响

Tab.2 Effect of dietary starch levels on growth performances and feed utilization of *Hephaestus fuliginosus*

生长指标	淀粉水平				
	26%	30%	34%	38%	42%
初始体重(g/尾)	4.06 ± 0.08	4.02 ± 0.12	3.94 ± 0.22	4.04 ± 0.10	4.04 ± 0.09
终末体重(g/尾)	5.34 ± 0.12 ^c	5.61 ± 0.13 ^c	7.65 ± 0.27 ^a	6.47 ± 0.49 ^b	6.45 ± 0.29 ^b
成活率(%)	85.00 ± 2.89	81.67 ± 1.67	86.67 ± 1.67	82.50 ± 2.50	83.33 ± 4.41
相对增重率(%)	33.38 ± 3.00 ^c	40.09 ± 3.15 ^c	91.25 ± 6.83 ^a	61.67 ± 1.27 ^b	61.09 ± 7.18 ^b
饲料系数	3.35 ± 0.33 ^a	2.48 ± 0.19 ^b	1.55 ± 0.13 ^c	1.94 ± 0.06 ^{bc}	2.04 ± 0.20 ^{bc}
蛋白质效率(%)	78.35 ± 7.75 ^c	105.87 ± 8.41 ^{bc}	170.86 ± 14.57 ^a	134.59 ± 4.39 ^b	129.86 ± 12.04 ^b

注:每行平均值后上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$),下同。

表3 饲料淀粉水平对淡水黑鲟形体特征的影响

Tab.3 Effect of dietary starch levels on viserosomatic index, hepatosomatic index and fullness coefficient of *Hephaestus fuliginosus*

形体指标	淀粉水平				
	26%	30%	34%	38%	42%
脏体比(%)	7.21 ± 0.39	7.38 ± 0.17	7.53 ± 0.29	7.78 ± 0.21	7.79 ± 0.29
肝体比(%)	1.63 ± 0.17 ^b	1.65 ± 0.14 ^b	1.65 ± 0.05 ^b	1.83 ± 0.03 ^{ab}	2.08 ± 0.06 ^a
肥满度(%)	1.60 ± 0.13	1.65 ± 0.02	1.74 ± 0.05	1.77 ± 0.04	1.79 ± 0.02

表 4 饲料淀粉水平对淡水黑鲟肠道消化酶的影响

Tab. 4 Effect of dietary starch levels on main digestive enzyme activities in intestine of *Hephaestus fuliginosus*

消化酶指标	淀粉水平				
	26%	30%	34%	38%	42%
胰蛋白酶(U/mgprot)	2 216.32 ± 45.24	2 238.97 ± 56.17	2 227.53 ± 36.19	2 247.78 ± 74.82	2 258.07 ± 42.21
脂肪酶(U/gprot)	37.43 ± 5.11	39.65 ± 6.14	39.98 ± 4.56	40.83 ± 5.72	39.78 ± 3.96
淀粉酶(U/mgprot)	23.51 ± 3.23 ^b	23.97 ± 4.26 ^b	25.04 ± 4.50 ^{ab}	26.87 ± 4.24 ^a	27.19 ± 7.03 ^a

表 5 饲料淀粉水平对淡水黑鲟全鱼及肌肉成分的影响

Tab. 5 Effect of dietary starch levels on whole body and muscle compositions of *Hephaestus fuliginosus*

指标	淀粉水平				
	26%	30%	34%	38%	42%
水分(%)	75.59 ± 0.37	76.02 ± 0.29	75.17 ± 0.25	74.75 ± 0.54	75.10 ± 0.81
粗蛋白(%)	15.16 ± 0.22	15.26 ± 0.22	15.54 ± 0.30	15.95 ± 0.11	15.44 ± 0.55
粗脂肪(%)	5.13 ± 0.39 ^e	6.51 ± 0.15 ^b	7.44 ± 0.17 ^a	7.14 ± 0.09 ^{ab}	5.62 ± 0.16 ^c
粗灰分(%)	4.14 ± 0.15	4.10 ± 0.23	3.83 ± 0.17	4.17 ± 0.10	3.88 ± 0.12
肌肉成分水分(%)	78.08 ± 0.10	78.11 ± 0.19	78.39 ± 0.32	78.24 ± 0.31	78.29 ± 0.05
粗蛋白(%)	18.35 ± 0.08	18.33 ± 0.05	18.37 ± 0.05	18.43 ± 0.13	18.47 ± 0.08
粗脂肪(%)	2.78 ± 0.17 ^e	3.18 ± 0.09 ^b	3.61 ± 0.18 ^a	3.36 ± 0.05 ^{ab}	3.04 ± 0.04 ^{bc}
粗灰分(%)	1.16 ± 0.01	1.18 ± 0.06	1.15 ± 0.03	1.16 ± 0.03	1.14 ± 0.01

本实验发现饲料淀粉水平为 26% ~ 34% 时,淡水黑鲟相对增重率逐步增大;超过 34% 时,其生长受到抑制,增重率逐步下降,需求量为 34% ~ 38%,与同为杂食性的鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)^[16]、罗非鱼 (*Aeromonas hydrophila*)^[17] 和异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*)^[18] 相近。不同食性鱼类饲料中碳水化合物需求量差异较大:肉食性鱼类饲料碳水化合物需求量一般 ≤ 20%^[19],黑鲟 (*Sparus macrocephalus*)、鲟鱼 (*Parabembras curtus*) 和大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*) 分别为 15.9%、10% 和 20%^[20];杂食性鱼类的需求量一般在 25% ~ 40% 之间^[21],鲤鱼、罗非鱼和宝石鲈 (*Scortum barcoo*) 分别为 30%、40% 和 33% ~ 37%^[16-17,22];草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 饲料中最适碳水化合物含量为 36.5% ~ 42.5%^[16],可见草食性鱼类可利用更高水平的碳水化合物。这可能是因为不同食性鱼类肠道分泌淀粉消化酶能力不同^[23];也有可能与杂食性鱼类能更好的调节血糖浓度,加速糖酵解,而降低糖异生作用^[24] 有关。与对异育银鲫^[25] 和宝石鲈^[22] 饲料适宜淀粉水平的研究相比,淡水黑鲟相对增重率较小,可能与淡水黑鲟性情好斗,尤其在摄食时争抢凶猛,互相攻击,造成体质弱小的鱼长期无法正常摄食有关;也有报道认为:淡水黑鲟在苗种期间(10 g 以下),生长相对较慢,随着个体增长,生长速度逐渐加快^[7]。

当饲料淀粉水平小于 34% 时,淡水黑鲟饲料利用率随其水平升高逐渐增大,说明饲料淀粉水平未达到淡水黑鲟最适需求量之前,日粮中适当的非蛋白能量源(脂肪和碳水化合物)可以减少蛋白质的分解代谢^[26],蛋白质效率也逐步升高。但当 38% 和 42% 组淀粉水平超过其最适需求量后,饲料效率开始下降。肉食性的大西洋鲈 (*Pleuronectes ferruginea*)^[27]、大西洋鳕 (*Gadus morrhua*)^[28] 和杂食性的斑点叉尾鲟 (*Ictalurus punctatus*)^[2] 等鱼类的相关研究都证实了当饲料碳水化合物含量过高时,鱼类会表现出饲料系数增大和蛋白质效率降低等现象^[13]。可能是因为部分鱼类(如鲤鱼)肠道淀粉酶活性不随饲料淀粉水平的提高而上升^[29],过高的糖水平反而抑制了肠道内氨基酸的吸收和转运,致使蛋白质效率下降^[30]。

本实验淡水黑鲟脏体比及肝体比随饲料中淀粉水平升高呈逐步增大趋势。肝脏是鱼类营养代谢的主要器官,在碳水化合物代谢中发挥着重要的作用^[31]。翘嘴红鲌 (*Erythroculter erythropterus*)^[32]、虹鳟^[33]、青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*)^[25]、大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*)^[34] 以及南方鲇 (*Silurus meridionalis*)^[35] 的研究都表明:长期饲喂高碳水化合物含量饲料能造成肝脏肿大,增加肝体比及脏体比。当鱼类摄入碳水化合物后,一部分用于

机体的代谢供能;另一部分则以糖原的形式储存于肝脏和肌肉中,所以当鱼类摄入大量淀粉后,由于肝糖原的大量蓄积,肝胰脏增大,损害肝脏功能,从而影响鱼体免疫力^[15]。

实验发现淡水黑鲟肠道淀粉酶活性随饲料淀粉水平升高逐步增加,但34%、38%和42%组间已无显著差异($P > 0.05$),说明食物中的淀粉会对肠道产生一定的刺激作用,促使淀粉酶的分泌增加、活性增强,尽管淀粉酶的调节作用是有限的,但体现了淀粉酶对底物的适应性^[24]。据李广丽研究报道^[29]:随着饲料中淀粉水平升高,草鱼肝胰脏和肠道内淀粉酶比活性均显著升高,而鲤鱼虽略有升高,但增高不显著,可见淡水黑鲟肠道淀粉酶的调节机制与鲤鱼是相近的。另外,各种消化酶活性与食物刺激、肠道不同部位、温度、鱼体不同发育阶段等诸多因素相关,对其肠道消化酶调节机制还需进一步深入研究。

随着饲料中淀粉水平的增高,全鱼及肌肉中粗蛋白含量有逐步增大的趋势,但各组间无显著差异($P > 0.05$);而34%组全鱼及肌肉中粗脂肪含量显著增高($P < 0.05$),说明淡水黑鲟具备一定的将淀粉转化成体蛋白和体脂的能力,但转化体蛋白效果与转化体脂相比是微量的,次要的。鱼类可将饲料中的碳水化合物转化为身体脂肪而存储起来^[36],由于饲料中碳水化合物含量的增加,促使肝脏脂肪合成酶活性增强,从而表现出鱼体脂肪含量在一定程度上也相应增加^[37]。南方鲇^[38]和宝石鲈^[22]的研究中也报道了类似结果。

本实验条件下,综合考虑淡水黑鲟生长性能、饲料利用、形体特征等指标,确定其饲料淀粉适宜添加量为34%~38%。

参考文献:

- [1] 李爱杰. 水产动物营养与饲料[M]. 北京:中国农业出版社,1996:29-30.
- [2] Wilson R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J]. Aquaculture, 1994, 124: 67-80.
- [3] Spannhof L, Plantikow H. Studies on the carbohydrate digestion in rainbow trout [J]. Aquaculture, 1983, 30: 95-108.
- [4] Weber J M, Haman F. Pathways for metabolic fuels and oxygen in high performance fish [J]. Comparative Biochemistry Physiology, 1996, 113A: 33-38.
- [5] Hillestad M, Johnsen F, Asgard T. Protein to carbohydrate ratio in High energy diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L) [J]. Aquaculture Research, 2001, 32: 517-523.
- [6] Deng D F, Refstie S, Hung S S. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates [J]. Aquaculture, 2001, 199: 107-117.
- [7] 崔迎松,付佩胜,尹永波. 淡水黑鲟的生物学特性[J]. 内陆水产,2003,(9):3.
- [8] 宋理平,张家国,师吉华,等. 不同蛋白质水平对淡水黑鲟幼鱼生长性能的影响[J]. 中国饲料,2006,(7):29-32.
- [9] 孙挺. 黄颡鱼幼鱼三大营养素需要量的研究[D]. 雅安:四川农业大学,2008:151-170.
- [10] Buhler D R, Halver H E. Nutrition of salmonoid fishes IX. Carbohydrate requirements of chinock salmon [J]. Nutr, 1961, 74: 307-318.
- [11] Bergot F. Carbohydrate in rainbow trout diets: effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition [J]. Aquaculture, 1979, 18: 157-167.
- [12] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes [J]. Aquaculture Nutrition, 2002, 8: 175-194.
- [13] Hilton J W, Atkinson J L. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets [J]. British Journal of Nutrition, 1982, 47 (3): 597-607.
- [14] BoonyaratPalin. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead sea bream and common carp [J]. Am J Physiol, 2000, 278: 1164-1170.
- [15] Hemre G I, Hansen T. Utilization of different dietary starch sources and tolerance to glucose loading in Atlantic salmon during parrismolt transformation [J]. Aquaculture, 1998, 161: 145-157.
- [16] Wilson R P. Handbook of Nutrient requirements of Finfish [M]. Boca Roton: CRC Press, 1991:13-22.
- [17] 林建斌. 鱼类对日粮中碳水化合物的利用[J]. 饲料工业, 1995,(12):8-10.
- [18] 蔡春芳,王道尊,黄卫. 异育银鲫对糖利用性的研究-饲料糖含量对生长、消化吸收率及体成分的影响[J]. 苏州大学学报:自然科学版,1999,3(15):87-90.
- [19] 黄晓艳. 南方鲇幼鱼对三大营养素需求量的研究[D]. 雅安:四川农业大学,2008:35-45.
- [20] 高淳仁,李岩,徐学良. 黑鲟幼鱼对饲料蛋白质、脂肪、糖类需求量的研究[J]. 齐鲁渔业,1993,(6):35-37.
- [21] Lim. Utilization of carbohydrates in warm-water fish with particular reference to tilapia [J]. Aquaculture, 1999, 151: 79-96.
- [22] 宋理平. 宝石鲈营养需求的研究[D]. 济南:山东师范大学,2009:40-60.
- [23] 周景祥,余涛,黄权,等. 鲤鱼、黄颡鱼和大眼鲈消化酶活性的比较研究[J]. 吉林大学学报,2001,23(1):94-96.

- [24] 高梅. 饲料碳水化合物对南方鲇幼鱼消化酶及相关生理指标的影响[D]. 重庆:西南大学,2006:40-50.
- [25] 蔡春芳. 青鱼和鲫对饲料糖的利用及其代谢机制的研究[D]. 上海:华东师范大学,2004:40-60.
- [26] Cho C Y, Kaushi S J. Nutrition energetic in fish; energy and Protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. World Rev Nutr Diet, 1990,61: 132-172.
- [27] Hemre G L, Sandnes K. Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, Salmon salar growth and feed utilization[J]. Aq Nut, 1995a,(26): 149-154.
- [28] Eranullall J A K. Growth rate, feed conversion, and body composition of carbohydrate [J]. Aquaculture, 1998,(29): 84-97.
- [29] 李广丽. 草鱼、鲤肠道,肝胰脏消化酶活性的初步研究[J]. 湛江水产学院学报,1994,14(1):34-40.
- [30] 尾崎久雄. 鱼类血液与循环生理[M]. 许学龙,译. 上海:上海科学技术出版社,1982:88-115.
- [31] 田丽霞. 草鱼的糖代谢研究[D]. 广州:中山大学,2003:45-58.
- [32] 戈贤平. 不同糖、脂含量日粮对翘嘴红鲌相关糖代谢酶的调节研究[J]. 淡水渔业,2006,12:27-30.
- [33] Panserat S, Médale F, Brèque J, et al. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, rainbow sea-bream, and common carp [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000, 278: 1164-1170.
- [34] 谭肖英,刘永坚,田丽霞,等. 饲料中碳水化合物水平对大口黑鲈生长、鱼体营养成分组成的影响[J]. 中山大学学报:自然科学版,2005,44(增刊):258-262.
- [35] 罗毅平,谢小军. 南方鲇对饲料碳水化合物的代谢适应[J]. 水生生物学报,2009,33(1):140-144.
- [36] Sargent J, Henderson R J, Tocher D R. The lipids. Fish Nutrition [M]. San Diego: Academic Press, 1989: 153-218.
- [37] Shiau S Y, Lin S F. Effect of Supplemental Dietary Chromium and Vanadium on the Utilization of Different Carbohydrate in Tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. Aquaculture, 1993, 110: 321-330.
- [38] 李治,谢小军. 饲料中碳水化合物水平对南方鲇幼鱼身体化学组成的影响[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2005,30(5):914-919.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0214 - 05

营养盐可得性对坛紫菜氮磷吸收、生长及藻红蛋白含量的影响

孟庆俊¹, 林少珍², 项彬彬¹, 南春容¹

(1. 温州医学院海洋科学系海洋科学研究所, 浙江 温州 325035;

2. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325000)

摘要: 实验室条件下, 研究了 N、P 浓度、不同化合态 N 及 N:P 比值对坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*) N、P 吸收速率, 以及 P 浓度对坛紫菜生长速率和藻红蛋白含量的影响。结果表明, 随着营养盐浓度的升高, 坛紫菜对 N、P 的吸收速率也随之增高, 当无机氮浓度达到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, 坛紫菜对 N、P 的吸收速率趋向接近最大值; 当 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值为 1:5 时, 坛紫菜对 N 的吸收达到最大值; 坛紫菜对 P 的吸收速率随 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值的减小而略有增大; 坛紫菜对 N 的吸收速率随着 N:P 比值的增大而增大, 而对 P 的吸收速率随着 N:P 比值的增大而减小; 在磷浓度低于 12 $\mu\text{mol/L}$ 的情况下, 坛紫菜的生长速率和藻红蛋白含量随着 P 浓度的升高而增加, 高于 12 $\mu\text{mol/L}$ 时, 则不再增加。

关键词: 坛紫菜; 营养盐可得性; N、P 吸收速率; 生长速率; 藻红蛋白

中图分类号: S 986.43 **文献标识码:** A

Effect of nutrient availability on nitrogen and phosphorus uptake rate, growth rate and the content of phycoerythrin in *Porphyra haitanensis*

MENG Qing-jun¹, LIN Shao-zhen², XIANG Bin-bin¹, NAN Chun-rong¹

(1. Marine Science Research Institute, Marine Science Department, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;

2. Zhejiang Marine Culture Research Institute, Wenzhou 325000, China)

Abstract: The effect of nutrient availability on the uptake rates of nitrogen (N) and phosphorus (P), and the effect of P concentration on the growth rate and phycoerythrin content in *Porphyra haitanensis* were studied under laboratory conditions. The uptake rates of N and P increased with their concentrations in the media, and approached the highest at DIN more than 100 $\mu\text{mol/L}$; the combination of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ also affected the uptake of N by *P. haitanensis*, and the best combination of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ is $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1:5$; the N uptake rate increased while the P uptake rate decreased with N:P increase; the growth rate and PE content in *P. haitanensis* increased with the increase of P when the concentration of P was below 12 $\mu\text{mol/L}$.

Key words: *Porphyra haitanensis*; nutrient availability; nitrogen and phosphorus uptake rate; growth rate; phycoerythrin

收稿日期: 2009-09-09

基金项目: 浙江省自然科学基金 (Y506224)

作者简介: 孟庆俊 (1983 -), 男, 硕士研究生, 专业方向为海洋生态环境修复。E-mail: mqj98s3@163.com

通讯作者: 南春容, Tel: 0577 - 86699360, E-mail: nanchunrong@163.com

自 20 世纪 80 年代以来,随着工农业生产的快速发展,我国近海海域富营养化问题日趋严重。海水富营养化是发生赤潮的主要原因之一,而氮(N)、磷(P)含量的升高是水体富营养化的重要特征,抑制海水的富营养化可减少赤潮的发生^[1]。近年来,很多学者进行了海水富营养化及海藻生物修复方面的研究。例如,Colleen 等^[2]进行了麒麟菜(*Euchema*)的营养吸收生理研究;徐永健等^[3]对龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)和菊花心江蓠(*G. licheoides*)的 N、P 吸收速动力学进行了研究;许忠能等^[4]研究了营养盐因子对细基江蓠繁枝变种氮、磷吸收速率的影响;刘静雯^[5]进行了氮饥饿细基江蓠繁枝变型和孔石莼氮的吸收动力学特征的研究。

坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)为暖温带性海藻,属于红藻门红毛菜科紫菜属,是温州洞头海区人工养殖的重要海藻之一,目前养殖面积已达 1 000 hm²,年收获干品菜 1 100 t,经济效益十分可观。但近年来洞头海域富营养化明显,海水中 N、P 浓度升高^[6];另外,洞头海区网箱养殖发达,养殖动物的排泄物中含有大量 NH₄⁺-N,这使得周围海水中 NO₃⁻-N:NH₄⁺-N 比值发生变化;加之无磷洗衣粉的推广使用等,导致近海海域水体中 N:P 比值发生变化。这些营养盐组成比例的变化,势必对海洋藻类的营养吸收等发生影响。本实验旨在研究 N、P 浓度、不同化合态氮和 N:P 比值等营养盐因子对坛紫菜 N、P 吸收的影响,以及 P 浓度对坛紫菜生长和藻红蛋白含量的影响,以探明坛紫菜营养吸收的基本规律。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)于 2008 年 9-12 月采自浙江温州洞头。选择新鲜健康的藻体,除去表面附着物,用过滤海水冲洗干净,暂养于实验室中。期间每天更换一次海水,并不定时搅水 6~8 次,每日干露 3~5 h。实验前 24 h 将藻体分成 1.0 g 左右大小,转移到光照强度为 120 μE/(m²·s),光周期为亮暗比 L:D = 12 h:12 h,温度为 20 ℃ 的光照培养箱中暂养备用。

实验用海水取自浙江温州洞头距海岸约 2 km 的清澈水域,取回后经过滤、煮沸,冷却后避光保存备用,实验用海水盐度为 28。经测定,海

水中亚硝氮浓度可忽略不计。

1.2 实验设计

1.2.1 不同 N、P 浓度下坛紫菜对 N、P 的吸收速率

实验用培养液无机氮浓度设为 5、10、30、50、100、200 μmol/L(除本底硝氮和氨氮外,以硝酸钠调节无机氮浓度),N:P = 10:1,相应各处理的 P 浓度为 0.5、1、3、10、20 μmol/L。每组设 3 个重复和 1 个空白对照。实验条件为:光照强度为 120 μE/(m²·s),光周期为亮暗比 L:D = 12 h:12 h,温度为(20.0 ± 0.5) ℃,盐度为 28。

1.2.2 不同化合态的 N 对 N、P 吸收速率的影响

实验按 NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 所占比例不同分为 5 个处理,NO₃⁻-N:NH₄⁺-N 比值分别为 10:1、5:1、1:1、1:5、1:10。各处理的无机氮(NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N)总浓度设为 50 μmol/L, P 浓度为 5 μmol/L, N:P 比值为 10:1。每处理设 3 个重复和 1 个空白对照。

1.2.3 不同 N:P 比值对 N、P 吸收速率的影响

实验无机氮(本底 NH₄⁺-N 加 NO₃⁻-N)浓度设定为 50 μmol/L,该浓度下设 N:P 比值分别为 1:1、5:1、10:1、15:1、30:1、50:1,共 6 个梯度,每处理设 3 个重复和 1 个空白对照。

1.2.4 P 浓度对坛紫菜生长速率和藻红蛋白含量的影响

实验按 P 浓度的不同分为 1.8(本底)、3、6、12、25、50 μmol/L 共 6 个处理,每处理设 3 个重复和 1 个空白对照,各处理的总无机氮(本底 NH₄⁺-N 加 NO₃⁻-N)浓度为 800 μmol/L。

1.3 实验方法

N、P 吸收实验用 500 mL 三角烧瓶,内装 400 mL 培养液。每个三角瓶中加新鲜坛紫菜藻体(1.00 ± 0.01) g,加盖牛皮纸,置于光照培养箱中。实验开始前将海藻置于实验设定的条件下适应 4 h,然后更换相同体积的新鲜培养液,开始实验。吸收时间设定为 4 h,期间每隔 30 min 摇动三角瓶,实验结束后捞出海藻终止吸收,测定介质中 N(NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N)、P 含量。N、P 测定方法参考《海洋调查规范——海水化学要素观测》^[7]。坛紫菜对 N、P 吸收速率按下述公式计算:

$$U = (S_0 - S_t) \cdot V / (t \cdot G) \quad (1)$$

式中: U 为营养盐的吸收速率 [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$]; S_0 为实验开始时培养液营养盐浓度 ($\mu\text{mol}/\text{L}$); S_t 为实验结束时培养组培养液的营养盐浓度 ($\mu\text{mol}/\text{L}$); V 为所用培养液体积 (L); t 为实验时间 (h); G 为坛紫菜的鲜重 (g)。

生长实验用 5 L 玻璃水族缸, 内装 $t/2$ 培养液 2 L, 放新鲜坛紫菜 (5.00 ± 0.20) g 置于光照培养箱中, 每天定时搅动培养液 6 次。期间每天定时取出坛紫菜藻体, 吸去多余水分、称重、记录结果, 计算生长速率, 实验至第 7 天结束。藻体生长速率 (R_{SC}) 按以下公式计算:

$$R_{\text{SC}} (\%/d) = [(W_t/W_0)^{(1/t)} - 1] \times 100 \quad (2)$$

式中: W_0 为初始时刻坛紫菜鲜重 (g); W_t 为 t 时刻坛紫菜鲜重 (g); t 为两次测定间隔时间 (d)。

生长实验开始前和结束后, 分别将坛紫菜叶状体样品经过真空冷冻干燥, 取 0.5 g, 用去离子水快速冲洗, 吸干水分, 玻璃匀浆器研磨匀浆, 分光光度计测定藻红蛋白含量^[8]。

1.4 数据处理

用 SPSS 统计软件对实验数据进行作图和统

计分析。

2 结果

2.1 不同 N、P 浓度对坛紫菜 N、P 吸收速率的影响

不同的 N、P 浓度对坛紫菜 N 的吸收速率影响显著 ($P < 0.05$)。在 N 浓度低于 $100 \mu\text{mol}/\text{L}$, N:P = 10:1 时, 坛紫菜对 N、P 的吸收速率随着介质中 N 浓度的升高而迅速增加 (图 1a, b), 当 N 浓度高于 $100 \mu\text{mol}/\text{L}$, P 浓度高于 $10 \mu\text{mol}/\text{L}$ 时, 坛紫菜对 N、P 的吸收速率趋于饱和, 增加不明显。

2.2 不同化合态 N 对坛紫菜 N、P 吸收速率的影响

随着 $\text{NO}_3^- \text{-N} : \text{NH}_4^+ \text{-N}$ 比值的增大, 坛紫菜对 N ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$) 的吸收速率增加, 当 $\text{NO}_3^- \text{-N} : \text{NH}_4^+ \text{-N} = 1 : 5$ 时, 吸收速率达到最大值, 为 $0.57 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$, 随后略有下降 (图 2a)。

随着 $\text{NO}_3^- \text{-N} : \text{NH}_4^+ \text{-N}$ 比值的增加, 坛紫菜对 P 的吸收速率略有升高 (图 2b)。

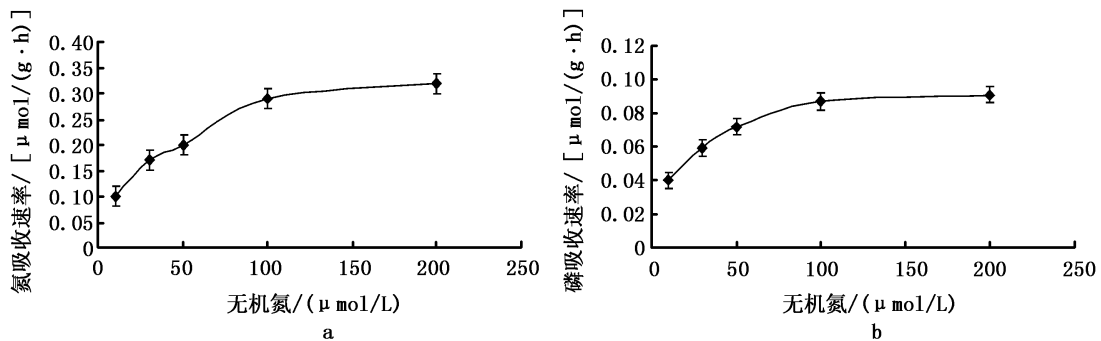


图 1 N、P 浓度对坛紫菜 N、P 吸收速率的影响

Fig. 1 Effect of different concentration of N and P on nitrogen and phosphate uptake rates by *P. haitanensis*

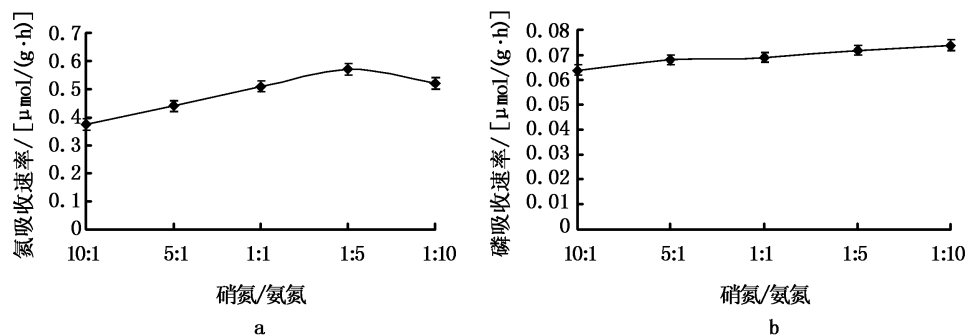


图 2 $\text{NO}_3^- \text{-N} : \text{NH}_4^+ \text{-N}$ 比值对坛紫菜 N、P 吸收速率的影响

Fig. 2 Effect different chemical combination of $\text{NO}_3^- \text{-N}$ and $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ on nitrogen and phosphate uptake rates by *P. haitanensis*

2.3 不同 N:P 比值对坛紫菜 N、P 吸收速率的影响

N:P 比值对坛紫菜 N(NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N) 的吸收影响显著($P < 0.05$)。当 N:P 低于 15:1 时,坛紫菜对 N 的吸收速率随 N:P 比值的增大而

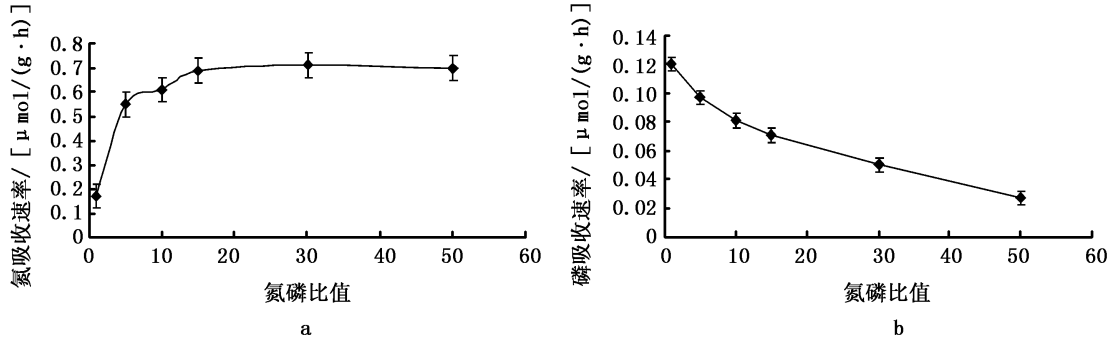


图3 N:P 比值对坛紫菜 N、P 吸收速率的影响

Fig. 3 Effects of different ratios of N:P on nitrogen and phosphate uptake rates by *P. haitanensis*

2.4 P 浓度对坛紫菜生长速率和藻红蛋白含量的影响

在 P 浓度低于 $12 \mu\text{mol/L}$ 时,坛紫菜的生长

速率和藻红蛋白含量随 P 浓度的升高而快速升高;而在磷浓度高于 $12 \mu\text{mol/L}$ 时,几乎不再增加(图 4a, b)。

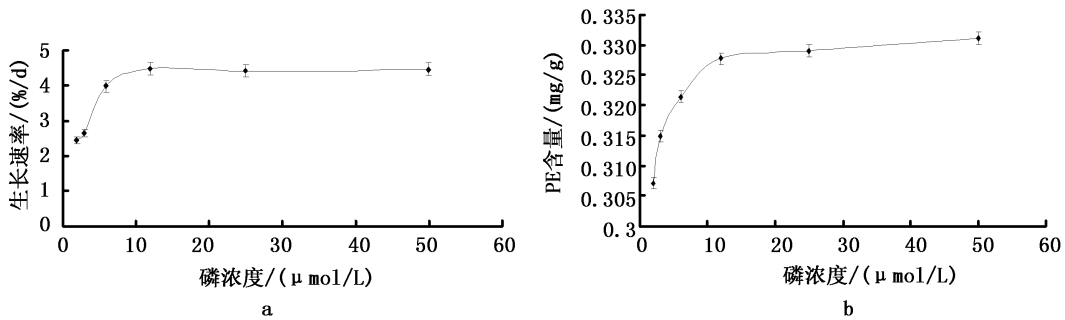


图4 磷浓度对紫菜生长速率的影响

Fig. 4 Effect of different P concentration on growth rate of *P. haitanensis*

3 讨论

坛紫菜对 N、P 的吸收速率随着培养液中营养盐浓度的升高而增加,当培养液中的 N、P 达到一定浓度后趋向平缓。这是因为在营养盐浓度较高的情况下,藻体内利用 N、P 的一系列生理过程的底物浓度升高了,因而在一定的范围内,海藻的同化作用相应增加,进而促进藻类对营养盐的吸收^[9]。坛紫菜这一吸收营养盐的特性可以有效地吸收和改善富营养化水体,降低对养殖动物的营养威胁。

坛紫菜对 N 的吸收速率随着 NO_3^- -N: NH_4^+ -N 比值的增加而升高,并且坛紫菜对 NH_4^+ -N 的吸收速率大于 NO_3^- -N。藻类将吸收的无机氮同化为自身的有机氮时,必须先还原成铵,因此直接利用环境中的 NH_4^+ -N 可以节约能量的消耗^[10]。但有些研究证明大型海藻对不同化合态 N 的吸收与其在环境中总无机氮中所占的比例相关^[11]。从本实验结果看,坛紫菜对氨氮的吸收大于硝氮且优先吸收氨氮。根据坛紫菜的这一特性,将其作为水产动物养殖区(海水中氨氮浓度较高)配套养殖藻类,以吸收海水中氨

氮,净化海水养殖区水质,有较好的生态意义。

当介质中的 N 浓度一定时, N:P 比值对坛紫菜 N、P 吸收速率影响显著 ($P < 0.05$)。传统的 Redfield 比值认为海洋浮游生物中 N:P 比例近乎恒定,且与深层海水中 N:P 比例相似,其比值为 16:1^[12],这一比值在判别海洋大型藻类和浮游植物的生长是 P 限制还是 N 限制时被广泛认可。有学者认为,当 N:P > 22 时, P 为限制性营养盐^[13]。目前,由于无磷洗衣粉的使用等原因,许多地区的近海水域 N、P 比例失调, N:P 比值明显升高,严重偏离 Redfield 比值。本实验曾在不同季节几次测定洞头近海水域的 N、P 浓度,发现 N:P 比值为 30:1 ~ 160:1。本实验的结果显示, N:P 比值过高影响坛紫菜对磷的吸收。磷浓度偏低影响坛紫菜的生长和藻红蛋白含量。

参考文献:

- [1] 周名江,朱明远,张经. 中国赤潮的发生趋势和研究进展[J]. 生命科学,2001,13(2):54-60.
- [2] Colleen J, Mtolera M, Abrahamsson K. The culture and physiology of *Euchema* (Rhodophyta): its increasing price in East Africa[J]. *Ambio*, 2004, 24(7-8): 497-501.
- [3] 徐永健,钱鲁闽,韦玮,等. 两种大型海藻自然环境下的营养动力学研究[J]. 海洋环境科学,2007,26(2):161-165.
- [4] 许忠能,林小涛,林继辉,等. 营养盐因子对细基江蓠繁枝变种氮、磷吸收速率的影响[J]. 生态学报,22(3):366-374.
- [5] 刘静雯,董双林. 氮饥饿细基江蓠繁枝变型和孔石莼氮的吸收动力学特征[J]. 海洋学报,2004,26(2):95-103.
- [6] 姚炜民,陈雷,韩莉峰,等. 浙江三盘港海水养殖区水质监测及分析[J]. 海洋环境科学,2008,(1):9-11.
- [7] 国家技术监督局. GB/T 12763.4-1991 海洋调查规范——海水化学要素观测[S]. 北京:中国标准出版社,1991.
- [8] 戴维斯 C J. 海洋植物学[M]. 厦门大学植物生态学研究室,译. 厦门:厦门大学出版社,1989:258.
- [9] Dawes C J, Koch E W. Physiological responses of the red algae *Gracilaria verrucosa* and *G. tikvahiae* before and after nutrient enrichment[J]. *Bulletin of Marine Science*, 1990, 46(2): 335-344.
- [10] 李铁,史致丽,李俊. 营养盐对中肋骨条藻和新月藻部分生化组成和性质的影响[J]. 海洋与湖沼,2000,31(3):239-245.
- [11] Hein M, Pedersen M F, Sand-Jensen K. Size-dependent nitrogen up take in micro- and macroalgae[J]. *Marine Ecology Series*, 1995,(118): 247-253.
- [12] 王保栋,陈爱萍,刘峰. 海洋中 Redfield 比值的研究[J]. 海洋科学进展,2003,21(2):232-235.
- [13] 杨东方,张经,陈豫,等. 营养盐限制的唯一性因子探究[J]. 海洋科学,2001,25(12):49-51.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0219 - 07

壳聚糖对淡水白鲢生长和非特异性免疫功能的影响

童春^{1,2}, 曹振杰², 杨玲², 秦玉广², 孙栋²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 山东省淡水水产研究所, 山东 济南 250117)

摘要: 配制添加不同浓度壳聚糖(0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)的6组实验饲料,网箱养殖淡水白鲢(*Colossoma brachypomum*) (82.26 ± 5.13) g 60 d,探讨壳聚糖对淡水白鲢生长、非特异性免疫功能的影响和其在饲料中的适宜添加量。结果表明:0.6%组末体重、特定生长率、饲料效率和蛋白质效率显著高于0、0.2%、0.4%和1.0%组($P < 0.05$);0.6%、0.8%和1.0%组脏体比显著低于0、0.2%和0.4%组($P < 0.05$);0.6%、0.8%和1.0%组肝体比显著低于0组($P < 0.05$);0.6%组溶菌酶活性最高,显著高于0和0.2%组($P < 0.05$);0.6%组超氧化物歧化酶活性最高,显著高于其它组($P < 0.05$);0.6%组酸性磷酸酶活性显著高于0和0.2%组($P < 0.05$);用嗜水气单胞菌对淡水白鲢进行攻毒后的14 d内,0.6%、0.8%和1.0%组的死亡率显著低于0组($P < 0.05$)。综合各项实验指标,淡水白鲢饲料中添加适量的壳聚糖能提高其生长性能、饲料利用率、非特异性免疫功能以及抗嗜水气单胞菌感染能力,适宜添加量0.6%~0.8%。

关键词: 壳聚糖;淡水白鲢;生长;非特异性免疫;嗜水气单胞菌

中图分类号: S 963.1 文献标识码: A

Effects of dietary chitosan on growth and non-specific immunity of freshwater spadefish (*Colossoma brachypomum*)

TONG Chun^{1,2}, CAO Zhen-jie², YANG Ling², QING Yu-guang², SUN Dong²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Fresh Water Fishery Institute of Shandong Province, Jinan 250117, China)

Abstract: Freshwater spadefish (*Colossoma brachypomum*) with initial weight of (82.26 ± 5.13) g in netcage were fed with diets supplemented with different levels of chitosan (0, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0%) for 60d to examine the effects of dietary chitosan on growth and non-specific immunity of freshwater spadefish, and the appropriate dosage of chitosan for dietary supplementation. The results showed that the final weight, specific growth rate (SGR), feed efficiency ratio (FER) and protein efficiency ratio (PER) of group 0.6% was highest, significantly higher than groups 0, 0.2%, 0.4% and 1.0% ($P < 0.05$). Hepatosomatic indexes (HSI) of groups 0.6%, 0.8% and 1.0% were significantly lower than groups 0, 0.2% and 0.4% ($P < 0.05$). Viscerosomatic index (VSI) of groups 0.6%, 0.8% and 1.0% were significantly lower than group 0 ($P < 0.05$). Activity of lysozyme (LZM) of group 0.6% was highest, significantly higher than groups 0 and 0.2% ($P < 0.05$). Activity of super oxide dismutase (SOD) of group 0.6% was significantly higher than that of other groups ($P < 0.05$). Activity of acid phosphatase (ACP) of group 0.6% was higher than

收稿日期: 2009-09-21

基金项目: 山东省农业良种工程项目(20061903)

作者简介: 童春(1986-),女,硕士研究生,专业方向为水产动物营养与饲料。E-mail: tongchun86@163.com

通讯作者: 曹振杰, E-mail: caozhenjie2009@163.com

groups 0 and 0.2% ($P < 0.05$). Mortality of groups 0.6%, 0.8% and 1.0% were significantly lower than group 0 ($P < 0.05$) after being challenged with live *Aeromonas hydrophila* in 14 d. Thus adding chitosan in freshwater spadefish feed appropriately can improve their growth performance, feed utilization, non-specific immune function and the resistance to infection with *Aeromonas hydrophila*. The supplement of 0.6% ~ 0.8% chitosan was optimum for the feed of freshwater spadefish.

Key words: chitosan; freshwater spadefish; growth; non-specific immunity; *Aeromonas hydrophila*

淡水白鲢,学名短盖巨脂鲤,脂鲤科(Characidae),巨脂鲤属(*colossoma*),原产于南美洲亚马逊河,为热带、亚热带鱼类。因其具有食性杂、生长快、病害少、肉厚刺少、味道鲜美、营养丰富等优点,深受广大养殖户和消费者的青睐^[1]。近年来,随着养殖密度增大以及水环境恶化,造成鱼体免疫力降低,发生病害频率也大大增加^[2]。实际生产中,往往采用大量泼洒药物的方式来防病治病,虽可以在短期内控制病害蔓延,但会带来耐药性、药物残留和环境污染等一系列问题,不符合发展健康、绿色渔业的要求。通过满足鱼类对各种营养元素的需求,从而增强其自身免疫力来防病,已经成为当前国内外研究者探讨水产养殖动物疾病防治方法的重要途径^[3-5]。已有的研究也证实了在饲料中添加一定水平的免疫制剂,可以调节水产动物自身免疫系统功能,提高其抗病能力^[6-9]。

壳聚糖,又名几丁质糖、脱乙酰基甲壳素,是甲壳素脱乙酰基后的降解产物^[10],具有抗微生物活性、激活淋巴细胞、调节脂肪代谢、降低血脂和胆固醇等多种生理功能,是一种理想的免疫添加剂^[11]。壳聚糖作为水产动物饲料添加剂,在花鲈(*Lateolabrax japonicus*)、中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、罗非鱼(*Tilapia*)和暗纹东方鲀(*Fugu obscurus*)实验中,均起到提高存活率、促生长和提升鱼体非特异性免疫力的作用^[12-16]。目前,国内外还没有关于饲料中添加壳聚糖对淡水白鲢生长及非特异性免疫功能影响的报道。

本实验用添加不同浓度壳聚糖饲料连续喂养淡水白鲢,通过测定其生长性能、饲料利用、非特异性免疫活性以及嗜水气单胞菌攻毒 14 d 内的死亡率等指标,评价了饲料中添加壳聚糖对淡水白鲢免疫应答的增强作用,确定其饲料中壳聚

糖的适宜添加量,以期为淡水白鲢饲料添加剂的研制生产以及壳聚糖在水产健康养殖上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

壳聚糖购于海得贝海洋生物工程有限公司,纯度 $\geq 95\%$ 。鱼粉、豆粕、菜粕、酵母和次粉经粉碎后过 40 目筛,按比例加入壳聚糖、矿物质和维生素预混剂混匀后,将鱼油和适量水均匀喷洒在饲料上,用绞肉机制成不同壳聚糖浓度(0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)的 6 组湿颗粒饲料(粒径 2.5 mm),烘干后密封保存备用。各组实验饲料配方及营养成分见表 1。

1.2 实验鱼的来源与驯化

实验淡水白鲢取自山东省淡水水产研究所,于玻璃钢水池($r = 2.5 \text{ m}$, $h = 1.5 \text{ m}$)暂养 14 d,暂养期间用壳聚糖含量为 0 的实验饲料进行驯化。

1.3 实验鱼的饲养与日常管理

暂养结束后停食 24 h,挑取 360 尾体重(82.26 ± 5.13) g 的健康淡水白鲢,随机放入 18 个置于同一水池的(共设 6 组,每组 3 重复)聚乙烯网箱中($60 \text{ cm} \times 60 \text{ cm} \times 120 \text{ cm}$),每网箱 20 尾。每日投喂饲料 3 次(7:00, 12:30, 18:00),每次投喂至鱼普遍不主动摄食为止。实验用水取自玉景矿泉水厂,实验期间水温(27.0 ± 1.5) $^{\circ}\text{C}$ 、pH(7.5 ± 1.0)、 $\text{NH}_3\text{-N} < 0.4 \text{ mg/L}$ 、 $\text{H}_2\text{S} < 0.05 \text{ mg/L}$ 、溶氧 $> 6 \text{ mg/L}$ 。每 7 d 换水一次(换水量 1/3),虹吸法清理粪便,收集残饵并烘干称重。养殖实验共进行 60 d。

表 1 实验用饲料配方及营养成分分析
Tab.1 Formulation and nutrient composition of the experimental diets

配方	壳聚糖水平					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
鱼粉	15	15	15	15	15	15
豆粕	30	30	30	30	30	30
菜粕	15	15	15	15	15	15
酵母	5	5	5	5	5	5
次粉	27	26.8	26.6	26.4	26.2	26
鱼油	3	3	3	3	3	3
壳聚糖	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
无机盐预混剂 ¹	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
维生素预混剂 ²	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
营养组成 (%)						
水分	9.72%					
粗蛋白	34.75 %					
粗脂肪	7.46%					
粗灰分	9.38%					

注: 1. 无机盐预混剂(每千克含量): NaF, 2 mg; KI, 0.08 mg; CoCl₂·6H₂O, 1 mg; CuSO₄·5H₂O, 10 mg; FeSO₄·H₂O, 74 mg; ZnSO₄·H₂O, 50 mg; MnSO₄·H₂O, 60 mg; MgSO₄·7H₂O, 1 000 mg; K₂HPO₃·3H₂O, 6 000 mg; NaH₂PO₃·2H₂O, 5 000 mg; NaCl, 100 mg; CaCO₃, 4 g。

2. 维生素预混剂(每千克含量): 硫胺素(B1), 20 mg; 核黄素(B2), 40 mg; 吡哆醛(B6), 20 mg; 钴胺素(B12), 0.1 mg; 亚硫酸氢钠甲萘醌(K3), 10 mg; 肌醇(inositol), 1 000 mg; 泛酸, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 生物素(H), 1.23 mg; 视黄醇(A), 25 000 IU; 胆钙化醇(D), 2 500 IU; 生育酚(E), 120 mg; 抗坏血酸(C), 2 112 mg; 氯化胆碱, 2 500 mg。

1.4 样品的采集与分析

1.4.1 样品的采集

60 d 养殖实验结束后, 饥饿实验鱼 24 h, 对各个网箱所有淡水白鲟测定终体重。随后每网箱随机取 3 尾淡水白鲟分别称重后麻醉, 用注射器从尾静脉取血, 分别置于不同编号离心管中用于平行实验。所取血液在室温下静置 1 h 待其凝固后, 放入 4 °C 冰箱中静置 4 h, 再于 4 °C 环境中以 4 000 r/min 离心 10 min, 收集上层血清, -20 °C 保存, 分析时取出在 4 °C 下解冻。

取血完成后解剖淡水白鲟, 取出内脏团并准确称重; 后分离出其肝脏, 用生理盐水稍加冲洗, 吸水纸吸干表面水分, 并准确称重。

1.4.2 样品的分析

营养成分测定: 水分采用恒温干燥法(105 °C); 粗蛋白采用凯氏定氮法; 粗脂肪的测定以乙醚为溶剂, 采用索氏抽提法; 粗灰分是在马福炉中焚烧(550 °C)测得。

溶菌酶活力: 采用溶菌酶试剂盒(购于南京建成生物工程研究所产品)测定。酶活力单位定义为: 溶菌酶液吸光值每分钟下降 0.001 定义为一个活性单位。单位血清用量为 0.2 mL。

超氧化物歧化酶活力: 采用超氧化物歧化酶试剂盒(购于南京建成生物工程研究所产品)测

定。酶活力单位定义为: 在 1 mL 反应液中, 每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达 50% 时的酶量。单位血清用量为 30 μL。

酸性磷酸酶活力: 采用酸性磷酸酶试剂盒(购于南京建成生物工程研究所)测定。酶活力单位定义为: 100 mL 血清在 37 °C 与底物作用 15 min 产生 1 mg 酚为单位。单位血清用量为 20 μL。

1.5 攻毒

嗜水气单胞菌菌液取自山东大学生命科学学院, 用灭菌生理盐水将菌液浓度调至 3 × 10⁸ CFU/ml。60 d 养殖实验结束后, 每网箱留 10 尾淡水白鲟供攻毒实验, 采用腹腔注射法, 每尾鱼注射 0.3 mL 菌液, 饱食投喂 14 d, 记录死亡情况。

1.6 数据分析与统计

各实验参数通过以下公式计算求得:

$$R_{SC} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t \quad (1)$$

$$R_{FE} = 100 \times (W_t - W_0) / I_d \quad (2)$$

$$R_{PE} = 100 \times (W_t - W_0) / (I_d \times P_d) \quad (3)$$

$$I_{VS} = 100 \times W_V / W_t \quad (4)$$

$$I_{HS} = 100 \times W_L / W_t \quad (5)$$

式中: R_{SC} 为特定生长率(%); R_{FE} 为饲料效率(%); R_{PE} 为蛋白质效率(%); I_{VS} 为脏体比(%);

I_{HS} 为肝体比(%); W_0 为初始体重(g); W_t 为终末体重(g); W_v 为终末内脏团重(g); W_L 为终末肝重(g); t 为实验时间(min); I_d 为摄入干物质的总量(g); P_d 为饲料中蛋白质含量(g)。

采用 SPSS 16.0 软件对各组数据进行方差分析和 Duncan's 多重检验($P < 0.05$ 即认为显著差异)。

2 结果

60 d 养殖实验结束后,各网箱成活率均为 100%。由表 2 可知,淡水白鲟的末体重和特定生

长率随壳聚糖添加量上升呈先增大后减小趋势;其中 0.6% 组末体重和特定生长率最大,显著高于 0、0.2%、0.4% 和 1.0% 组($P < 0.05$),是 0 组的 1.34 倍。饲料效率和蛋白质效率呈相同的趋势,在壳聚糖添加量低于 0.6% 时逐渐增加,超过 0.6% 后逐渐减小;0.6% 组的饲料效率和蛋白质效率最高,分别达到 72.86% 和 209.66%,显著高于 0、0.2%、0.4% 和 1.0% 组($P < 0.05$);0.8% 组的饲料效率和蛋白质效率显著高于 0 组($P < 0.05$),与其它各组均无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 饲料中添加壳聚糖对淡水白鲟生长和饲料利用的影响

Tab. 2 Effects of dietary chitosan on growth performance and feed utilization for *Colossoma brachyopum* fed experimental diets for 60 d

	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
初体重(g)	82.70 ± 6.2	82.30 ± 5.1	82.50 ± 3.2	83.00 ± 5.1	82.20 ± 6.3	83.10 ± 5.2
末体重(g)	170.92 ± 9.1 ^c	177.39 ± 8.9 ^c	191.10 ± 9.5 ^b	219.39 ± 9.8 ^a	207.09 ± 8.4 ^a	195.99 ± 8.7 ^b
特定生长率(%)	1.21 ± 0.05 ^c	1.28 ± 0.010 ^c	1.40 ± 0.05 ^b	1.62 ± 0.12 ^a	1.54 ± 0.05 ^a	1.43 ± 0.08 ^b
饲料效率(%)	53.51 ± 3.36 ^c	63.25 ± 3.74 ^b	65.70 ± 1.57 ^b	72.86 ± 3.96 ^a	67.76 ± 3.72 ^{ab}	66.99 ± 3.02 ^b
蛋白效率(%)	153.98 ± 10.02 ^c	182.03 ± 10.78 ^b	189.06 ± 9.52 ^b	209.66 ± 11.41 ^a	194.98 ± 10.71 ^{ab}	192.49 ± 8.69 ^b

注:每行平均值后上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$),下同。

淡水白鲟脏体比随壳聚糖添加量上升逐渐减小(见表 3),1.0% 组脏体比最小,显著低于 0、0.2% 和 0.4% 组($P < 0.05$),与 0.6% 和 0.8% 组

无显著差异($P > 0.05$)。0.6%、0.8% 和 1.0% 组之间肝体比无显著差异($P > 0.05$),均显著低于 0 组($P < 0.05$)。

表 3 饲料中添加壳聚糖对淡水白鲟脏体比和肝体比的影响

Tab. 3 Effects of dietary chitosan on viscerosomatic and hepatosomatic indexes of *Colossoma brachyopum* fed experimental diets for 60 d

	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
脏体比(%)	9.94 ± 1.03 ^a	9.68 ± 0.80 ^a	9.61 ± 0.65 ^a	8.01 ± 0.50 ^b	7.97 ± 0.52 ^b	7.65 ± 0.76 ^b
肝体比(%)	1.60 ± 0.09 ^a	1.52 ± 0.06 ^{ab}	1.48 ± 0.04 ^{ab}	1.40 ± 0.05 ^b	1.42 ± 0.06 ^b	1.40 ± 0.09 ^b

免疫指标的统计结果如表 4 所示,0.6% 组溶菌酶活性最高,显著高于 0 和 0.2% 组($P < 0.05$);0.6% 组超氧化物歧化酶活性显著高于其它各组($P < 0.05$);0 组和 0.2% 组显著低于

0.4%、0.8% 和 1.0% 组($P < 0.05$);0.6% 组酸性磷酸酶活性最高,显著高于 0 和 0.2% 组;0.4%、0.8% 和 1.0% 组显著高于 0 组($P < 0.05$),与 0.2% 和 0.6% 组无显著差异($P > 0.05$)。

表 4 饲料中添加壳聚糖对淡水白鲟非特异性免疫的影响

Tab. 4 Effects of dietary chitosan on non-specific immunity of *Colossoma brachyopum* fed experimental diets for 60 d

	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
溶菌酶(U/mL)	366.00 ± 16.71 ^c	598.55 ± 11.88 ^b	690.24 ± 16.69 ^{ab}	799.08 ± 17.99 ^a	708.61 ± 14.94 ^{ab}	701.79 ± 15.93 ^{ab}
超氧化物歧化酶(U/mL)	152.87 ± 2.98 ^c	155.86 ± 1.97 ^c	168.38 ± 2.74 ^b	180.07 ± 3.64 ^a	170.34 ± 3.99 ^b	166.47 ± 2.89 ^b
酸性磷酸酶(U/100mL)	9.06 ± 0.56 ^c	10.01 ± 0.65 ^{bc}	11.10 ± 0.49 ^{ab}	12.57 ± 0.58 ^a	11.52 ± 0.62 ^{ab}	10.94 ± 0.64 ^{ab}

淡水白鲟在用嗜水气单胞菌攻毒后 14 d 内, 0.8% 组死亡率最低, 与 0.6% 组间无显著差异 ($P > 0.05$); 1.0% 组死亡率显著高于 0.8% 组,

但显著低于 0 组 ($P < 0.05$), 与其它组无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 5 经嗜水气单胞菌攻毒 14 d 后淡水白鲟的死亡率

Tab. 5 Mortality of *Colossoma brachyopum* after being challenged with live *Aeromonas hydrophila* for 14 d

死亡率 (%)	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
	76.67 ± 1.01 ^a	66.67 ± 2.00 ^{ab}	66.67 ± 1.06 ^{ab}	43.33 ± 1.21 ^{bc}	30.00 ± 1.03 ^c	53.33 ± 1.42 ^b

3 讨论

于东祥^[17]对真鲷 (*Pagrosomus major*), Shiao 等^[18]对罗非鱼、Kono 等^[19]对黄尾笛鲷 (*Lutjanus campechanus*) 和日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)、华雪铭^[16]对暗纹东方鲀以及陈云波等^[20]对异育银鲫的研究都证实了饲料中添加适量的壳聚糖能显著提高实验鱼的生长性能和饲料利用率 ($P < 0.05$)。壳聚糖作为饲料添加剂, 主要通过以下途径提高鱼体生长性能和饲料利用率: 吸附 H^+ , 结合鱼体内酸性物质, 抑制、中和胃酸分泌, 保护胃黏膜; 促进鱼体肠内有益菌群的繁殖, 抑制有害菌群的滋生及减少大肠杆菌生长的机会, 调整肠道生态环境, 提高鱼体消化机能; 提高鱼体肠道和肝脏的蛋白酶、淀粉酶, 以及肝脏极低密度脂蛋白的活性; 在饲料表面形成一层保护膜, 延长水化时间, 保护饲料养分, 防止霉变不污染水源^[21]。

本实验研究发现在淡水白鲟饲料中添加 0.6% 的壳聚糖具有显著提高其特定生长率、饲料效率和蛋白质效率的作用 ($P < 0.05$); 但当壳聚糖水平超过 0.8% 时, 特定生长率、饲料和蛋白效率并没有表现出进一步的升高, 反而显著下降 ($P < 0.05$)。说明 0.6% ~ 0.8% 的壳聚糖可以显著提高淡水白鲟的生长性能和饲料利用率 ($P < 0.05$), 而超过 0.8% 的壳聚糖对提高淡水白鲟的生长性能和饲料利用率无益。此结果略高于罗非鱼饲料最适壳聚糖添加量 0.5%^[22], 花鲈饲料最适添加量 0.5%^[12], 可能是因为不同实验鱼对壳聚糖适应和利用效果有差异。高浓度壳聚糖反而降低淡水白鲟的生长性能和饲料利用率, 可能是因为壳聚糖具有很强的吸附离子和蛋白质的能力, 过量添加时吸附了鱼类生长所必需的营养物质, 而导致鱼消化吸收能力的下

降^[12]。

高密度养殖加上长期投喂低蛋白、高脂肪、高糖类和缺维生素的饲料, 易导致鱼体肥胖, 肝脂和肝体比增大, 造成鱼体脂肪代谢障碍, 抗病能力降低^[23]。壳聚糖在鱼体内以带正电的阳离子形态出现, 可与胆酸和胆盐结合, 不但减少胆固醇在肝脏的堆积量, 还能促使肝脏将胆固醇转化为胆汁酸, 从而降低肝体比^[24]。目前, 关于适量添加壳聚糖能降低实验鱼肝体比的报道有很多: 饲料中添加 0.5% ~ 1.0% 壳聚糖能有效降低罗非鱼的肝体比重和肝脂含量^[22], 罗非鱼饲料中添加适量的壳聚糖 (0.1% ~ 0.9%) 能有效降低其肝胰脏指数和内脏指数^[25] 等等。本实验饲料中添加 0.6% 的壳聚糖具有显著的降低淡水白鲟脏体比和肝体比的作用 ($P < 0.05$), 印证了适量添加壳聚糖能提高动物肝脏脂肪代谢的效率和肝脏的机体活力, 降低肝脏的脂肪含量和肝病发生, 这对于提高集约化养殖效益具有重要的意义。

溶菌酶、超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性是评价鱼类免疫力的常用指标^[26]。其中溶菌酶是由淋巴细胞分泌的碱性溶解酶, 当机体受到病原攻击时, 白细胞聚集在感染区, 包围异物进行吞噬, 此时吞噬细胞活性增强, 吞噬细胞中含有溶菌酶, 因此随着吞噬活性的增强也导致了溶菌酶活性的变化^[12]。本实验添加壳聚糖组的血清溶菌酶活性均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 并在一定范围内随着壳聚糖浓度的增大而升高, 并于 0.6% 的添加量时达到最大, 与暗纹东方鲀^[16]、花鲈^[12]、异育银鲫^[14] 的研究结论相近。可能是因为壳聚糖为阳性趋化剂, 吸收单核细胞从血管中游出, 聚集在组织中形成吞噬细胞, 或直接刺激局部组织, 促进细胞增生, 继而演变为巨噬细胞, 提高巨噬细胞活性, 使其吞噬能力增强, 从而提

高鱼体免疫力^[27]。

超氧化物歧化酶活性与机体免疫水平密切相关,对于增强巨噬细胞的防御功能和整个机体的免疫机能具有重要作用^[28],而酸性磷酸酶活性被认为是巨噬细胞的标志酶,其活力的高低反映了巨噬细胞的激活程度^[29]。超氧化物歧化酶是生物体内一种重要的抗氧化酶,可以清除机体内多余的自由基,从而免除自由基对生物的危害。目前,还没有关于壳聚糖对血清中超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性影响的研究报道,本实验添加0.6%壳聚糖后显著提高了淡水白鲢血清中超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性($P < 0.05$),而添加0.2%壳聚糖时,与对照组无显著差异($P > 0.05$),说明适量壳聚糖对提高鱼机体免疫能力有积极作用。关于壳聚糖对超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性影响的机理,还需进一步深入研究探讨。

壳聚糖已被证实是对革兰氏阴性和阳性菌都有明显的抑制和杀灭作用,具体杀菌机理可能是:大多数的致病菌都呈阴离子性状,而壳聚糖是带正电荷的天然高分子材料,可与病原菌表面鞭毛及套膜吸附凝聚,从而抑制病原菌的繁殖和生长^[30]。攻毒实验可以更直观的反映免疫添加剂的作用效果。本实验攻毒后14d内,0.6%、0.8%、1.0%组死亡率显著低于0组,说明了添加适量的壳聚糖能提高淡水白鲢的抗嗜水气单胞菌感染能力。已有研究表明,添加免疫多糖可以增强黄鳝(*Monopterus albus*)^[31]、斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)^[32]对嗜水气单胞菌的抵抗力,降低攻毒后的死亡率。迟淑艳等^[33]在研究中发现 β -葡聚糖在饲料中添加量为1%~1.5%时,可以明显改善奥尼罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染能力。

根据饲料中添加不同浓度的壳聚糖对淡水白鲢生长性能和饲料利用、非特异性免疫力和经嗜水气单胞菌攻毒后死亡率等指标,确定壳聚糖可作为淡水白鲢饲料中一种安全高效的免疫添加剂,适宜添加量0.6%~0.8%。

参考文献:

[1] 陆清尔,李忠全,周向阳. 盐酸甜菜碱对淡水白鲢生长性能鱼体解剖特性和肉质的影响[J]. 浙江海洋学院学报, 2001, 20(9): 130-136.

[2] 艾庆辉,麦康森. 鱼类营养免疫研究进展[J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 425-430.

[3] Anderson D P, Siwicki A K. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion [J]. Prog Fish Cult, 1994, 56: 258-261.

[4] 钱云霞,王国良,邵健忠. 鱼类的非特异性免疫调节[J]. 宁波大学学报:理工版, 2000, 13(1): 95-99.

[5] 王桂芹,周洪琪. 鱼类免疫增强剂的研究现状[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(3): 344-349.

[6] Anthony L M, Ronald J P, Stewart W A, et al. Effects of various feed supplements containing fish protein hydrolysate or fish processing by-products on the innate immune functions of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. Aquaculture, 2003, 220: 643-653.

[7] Misra C K, Das B K, Mukherjee S C, et al. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings [J]. Aquaculture, 2006, 255: 82-94.

[8] 杨文鸽,黄晓春,李花霞,等. 葡聚糖与其羧甲基衍生物对养殖大黄鱼非特异免疫作用[J]. 浙江农业学报, 2006, 18(1): 16-20.

[9] 王正丽,麦康森,刘付志国,等. 饲料中维生素C和 β -葡聚糖对牙鲆免疫力和抗病力的影响[J]. 高技术通讯, 2006, 16(7): 757-762.

[10] 丁晓岚,闫素梅,塔娜. 壳聚糖对动物脂肪代谢及生长性能的影响[J]. 饲料工业, 2005, 26(12): 8-9.

[11] Anderson D P, Siwicki A K. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion [J]. The Progressive Fish Culturist, 1994, 56: 258-261.

[12] 常青,梁萌青,王家林,等. 壳聚糖对花鲈生长和非特异性免疫力的影响[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5): 17-22.

[13] 宋超,牛翠娟,陈欣然. 壳聚糖对急性氨氮胁迫下中华鳖稚鳖非特异性免疫反应的影响[J]. 动物学报, 2007, 53(2): 270-277.

[14] 王树芹,周洪琪. 壳聚糖对异育银鲫溶菌酶和白细胞吞噬活性的影响[J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(2): 121-125.

[15] 刘兴国,宋理平,周洪琪. 低分子壳聚糖对罗非鱼肝脏抗氧化能力和肝脂含量影响的研究[J]. 海洋渔业, 2004, 26(4): 291-294.

[16] 华雪铭,周洪琪,张冬青,等. 壳聚糖和益生菌对暗纹东方抗病力和免疫功能的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(4): 478-486.

[17] 于东祥,柳学周,雷霖霖. 甲壳胺制剂对真鲷幼鱼的促生长作用研究[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(3): 62-64.

[18] Shiau S, Yu Y. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in *Tilapia* and *Lateolabrax japonicus* [J]. Aquaculture, 1999, 179: 439-446.

[19] Kono M, Matsui T, Shimizu C. Effect of chitin, chitosan and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish

- [J]. Bull Japan Soc Scient Fish, 1987, 53 (1): 125 - 129.
- [20] 陈云波,周洪琪,华雪铭,等. 饲料中添加壳聚糖对异育银鲫的生长及抗病力的影响[J]. 皖西学院学报,2005,21(5):31 - 33.
- [21] 向泉,向勇,冯君,等. 甲壳素和壳聚糖在水产动养殖中的应用[J]. 饲料研究,2003,(8):22 - 23.
- [22] 刘兴国,周洪琪,宋理平. 低分子壳聚糖对罗非鱼的肝脂代谢和饲料利用率的影响研究[J]. 海洋水产研究,2004,25(5):291 - 195.
- [23] 胡梦虹,王有基. 聚糖对罗非鱼营养生理学作用的研究[J]. 广东饲料,2007,16(2):28 - 29.
- [24] 刘兴国,宋理平. 壳聚糖作为罗非鱼饲料添加剂的效果研究[J]. 渔业现代化,2004,(1):40 - 41.
- [25] 向泉,向勇. 甲壳素和壳聚糖对罗非鱼生长的影响[J]. 饲料研究,2002,12:25 - 27.
- [26] 黄洪敏,邵健忠,项黎新. 鱼类免疫增强剂的研究现状与进展[J]. 水产学报,2005,29(4):552 - 554.
- [27] 宋献周,沈月新. 不同平均分子量的 α -壳聚糖的抑菌作用[J]. 上海水产大学学报,2000,9(2):138 - 141.
- [28] 马贵华,刘六英,钟青. 中华绒螯蟹超氧化物歧化酶的初步研究[J]. 水利渔业,2006,26(4):24 - 26.
- [29] 刘青,赵恒寿. 鱼类常用免疫指标及其检测技术[J]. 渔业现代化,2007,34(3):28 - 30.
- [30] 闫大伟,华雪铭,周洪琪. 壳聚糖对草鱼生长、抗病性能的影响[J]. 饲料工业,2007,28(12):17 - 19.
- [31] 徐海华,李兆文,汪成竹,等. 免疫多糖对受免黄鳝免疫保护力的增强作用[J]. 华中农业大学学报,2007,26(1):80 - 84.
- [32] 罗璋,姚鹃,陈昌福,等. 酵母免疫多糖对受免斑点叉尾鲷免疫应答的增强作用[J]. 淡水渔业,2007,37(3):22 - 25,33.
- [33] 迟淑艳,周歧存,周健斌,等. β -葡聚糖对奥尼罗非鱼生长性能及抗嗜水气单胞菌感染的影响[J]. 中国水产科学,2006,13(5):767 - 774.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0226 - 06

紫菜叶状体的红烂病研究

黄林彬^{1,2}, 严兴洪¹

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学教育部水产种质资源发掘与利用省部共建重点实验室, 上海 201306)

摘要:从福建省平潭岛野生坛紫菜群体中发现有患细菌性红烂病的叶状体,从患病的叶状体上分离得到病原细菌一株,经 16S rDNA 序列分析发现其与细菌域海螺菌目(Oceanospirillales)、盐单胞菌科(Halomonadaceae)、Cobetia 属的海科贝特菌(*Cobetia marina*)的相似度达 100%。病原细菌经液体培养基扩大培养后,将适量的菌液接种到不同种紫菜和坛紫菜不同品系的叶状体圆盘块上进行人工回复感染试验以确定其感染特性。结果发现该病原细菌能感染健康野生坛紫菜且出现的病症与海区患病坛紫菜相同,且该病原细菌对不同种紫菜(坛紫菜、条斑紫菜、未定名紫菜)的叶状体圆盘块和不同品系的坛紫菜(AN-2, YZ-6, JIU-7, ZS-1)叶状体圆盘块均能快速感染,所产生的病症与野生坛紫菜叶状体感染红烂病的症状相同:均出现了铁锈红色的死亡细胞,且同时含有少量被解离的单离细胞。上述结果说明分离到的病原细菌是坛紫菜红烂病的病原细菌,可以快速感染各种不同的紫菜叶状体。

关键词:坛紫菜;条斑紫菜;叶状体;病原菌;感染;红烂病

中图分类号: S 946.2 文献标识码: A

Study on the red-rotting disease of *Porphyra* blades

HUANG Lin-bin^{1,2}, YAN Xing-hong¹

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: A strain of pathogenic bacterium was isolated from the blades of wild type *Porphyra haitanensis* with red-rotting disease collected from the wild population along the coasts of Pingtan Island of Fujian Province. The bacterium had a 100% similarity with *Cobetia marina* (Oceanospirillales, Proteobacteria) according to analysis of the 16S rDNA array. After the pathogenic bacterium was cultured in liquid medium for a period of time, an amount of bacterial suspension was inoculated onto the blades of different *Porphyra* in an artificial re-infection. It was found that the isolated bacterium could infect the healthy wild type *P. haitanensis* blades with the same symptoms to the diseased blades in the field, and the different species of *Porphyra* (*P. haitanensis*, *Porphyra yezoensis*, and *Porphyra* sp.) blades and different strains of *P. haitanensis* (AN-2, YZ-6, JIU-7, ZS-1) blades were all infected rapidly with the same symptoms to the wild type *P. haitanensis* blades in which the infected cells were in rust color and several single cells were enzymatically decomposed

收稿日期: 2009-10-12

基金项目: 上海高校选拔培养优秀青年教师科研专项基金项目(SSC-07009); 教育部水产种质资源发掘与利用省部共建重点实验室资助项目(KFT2008-9); 上海市教育委员会重点学科建设项目(J50701)

作者简介: 黄林彬(1983-), 男, 硕士, 助理实验师, 主要从事海洋生物生理生态学方面的研究。E-mail: lbhuang@shou.edu.cn

通讯作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

from the blades. It was concluded that the bacterium isolated was the pathogen of red - rotting disease of *P. haitanensis* blades and could also infect blades of *Porphyra* spp. rapidly.

Key words: *Porphyra haitanensis*; *Porphyra yezoensis*; blade; pathogen; infection; red-rotting disease

坛紫菜是我国重要的海水养殖品种之一,近年来由于其栽培的面积和密度不断扩大和长期使用种质退化的野生种,导致坛紫菜的病害频繁发生,这不仅给紫菜生长带来了很大的危害,而且病菜被制成干品后,品质明显降低^[1-2]。据中国水产养殖病害监测结果显示,2005年浙江省人工养殖的坛紫菜发病率为26.70%,造成经济损失达1 163.01万元^[3]。

至今,病因较清楚的紫菜病害主要有:由真菌腐霉菌引起的赤腐病^[4-5]、由壶状菌引起的壶状菌病^[6-7]以及由假单胞杆菌和弧菌共同作用引起的绿斑病^[8-9],而对于其它传染性病害则研究较少。本文研究的坛紫菜红烂病是严兴洪等^[10]于2008年报道的一种野生坛紫菜叶状体病害,该病害能迅速感染野生坛紫菜叶状体并在短时间内导致叶状体腐烂解体,是一种传染性和危害性较大的病害。本文对福建平潭地区野生坛紫菜叶状体红烂病的病原菌进行了16S rDNA序列分析鉴定,研究其感染不同种紫菜叶状体和坛紫菜不同品系叶状体的症状,以期为该病害的防治提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 紫菜叶状体材料

患病坛紫菜叶状体于2004年2月采自福建省平潭岛的自然岩礁上,从患病叶状体上分离获得病原菌。坛紫菜野生品系(*PT-001*)由2002年1月采自福建省平潭岛自然岩礁上的一棵坛紫菜叶状体放出的一个果孢子长成。条斑紫菜品系(*LS-001*)由2001年从江苏吕泗海区养殖网帘上采回的一棵条斑紫菜叶状体放出的一个果孢子长成。未定名紫菜品系(*Porphyra* sp.)由2004年从墨西哥沿海采回的一棵叶状体上放出的一个果孢子长成。4种坛紫菜改良品系由野生坛紫菜经⁶⁰Co- γ 射线辐射诱变后获得^[11]。上述材料均以自由丝状体的形式保存于实验室内,用于人工感染试验的健康的紫菜叶状体均为实验室内由贝壳丝状体采壳孢子培养而成^[11]。

1.2 病原菌的16S rDNA分析

分离和纯化过程同文献^[10]。纯化的病原菌经病原菌DNA提取、16S rDNA的PCR扩增(采用Takara公司的16S rDNA Bacterial Identification PCR Kit)、回收目的片段后委托宝生物工程(大连)有限公司进行16S rDNA测序,经BLAST序列比对以分析病原菌的分类地位。

1.3 病原菌感染不同紫菜的叶状体试验

1.3.1 不同种紫菜的叶状体感染试验

取实验室内培养成的健康坛紫菜和条斑紫菜叶状体各一段(长约2 cm、宽约1.5 cm)、未定名的紫菜3片(直径约0.8 cm),分别加入500 mL灭菌培养液和等量的病原菌进行充气培养,每隔一定时间观察各种紫菜叶状体上出现的感染情况。培养温度为23℃,光周期为10 L:14 D,光强为90 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光源为40 W日光灯。

1.3.2 不同品系的坛紫菜叶状体感染试验

取实验室内培养成的健康坛紫菜野生品系和4种改良品系的叶状体(*AN-2*, *YZ-6*, *JIU-7*和*ZS-1*),用直径为8 mm的打孔器分别从每个品系的叶状体上取6个圆盘块,各加入250 mL灭菌培养液和等量的病原菌进行充气培养。每隔一定时间检查各品系的叶状体圆盘块上出现的感染情况。培养温度为23℃,光周期为10 L:14 D,光强为90 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光源为40 W日光灯。

2 结果与分析

2.1 病原菌的16S rDNA分析

将病原细菌以划线培养方式接种到细菌分离培养基上,获得纯化菌落:呈乳白色、边缘光滑、不透明、微凹入固体培养基、逆光观察可见蓝色的荧光。用透射电镜观察发现:病原菌呈短杆状、两端较圆、具有极生单鞭毛。该病原菌各方面特征均与文献^[10]的研究相同。通过16S rDNA序列测定,经BLAST数据库比对,发现与海科贝特菌(*Cobetia marina*)^[12]的相似度达到

100% (数据库编号 AY628694.1), 初步确定该病原菌属于海螺菌目(Oceanospirillales)、盐单胞菌科(Halomonadaceae)、Cobetia 属。对于本病原菌的鉴定还需结合生理生化特性等研究, 才能最后确定其分类地位。

2.2 不同种紫菜叶状体感染试验

接种病原菌 6 h 后, 镜检发现坛紫菜叶状体切段和条斑紫菜叶状体切段边缘已被感染(图版 I-1,2), 坛紫菜叶状体切段的感染细胞呈铁锈红色、变形拉长, 释放出原生质, 最后变绿并流失; 条斑紫菜叶状体切段的感染症状与坛紫菜有所不同: 边缘出现较多的游离细胞, 而铁锈红色变形拉长细胞较少。未定名紫菜叶状体边缘在 24 h 后也被感染(图版 I-3), 其感染细胞病症基本上与条斑紫菜叶状体切段相同, 变形拉长的细胞较少而解离的细胞较多。

接种病原菌 24 h 后, 检查发现坛紫菜叶状体切段边缘已出现了较大的显微可见病斑(图版 I-4)。接种病原菌 30 h 后, 这些病斑扩大成肉眼可见(图版 I-5)。48 h 后, 坛紫菜叶状体切段上出现两处直径约 2 mm 的圆形病斑, 边缘也出现多处大的半圆形病斑(图版 II-2), 条斑紫菜叶状体切段在接种病原菌 54 h 后内部出现一个较小的肉眼可见病斑(图版 I-6), 此时坛紫菜片上的原两个小病斑已继续扩大相连成一个大的病斑(图版 II-3), 到 76 h 时进而扩大为一个大的椭圆形病斑(图版 II-4), 81 h 时病斑进一步扩大, 使坛紫菜叶状体切段解体成两段(图版 II-5)。

2.3 坛紫菜不同品系的叶状体感染试验

2.3.1 野生品系和改良品系的坛紫菜叶状体感染试验

接种病原菌 24 h 后检查发现: 野生品系和改良品系的叶状体圆盘均已被感染, 边缘出现了病斑(图版 III-1,2,5,6), 而对照组则正常(图版 III-7,8)。野生品系感染病害后也出现了部分细胞游离出来的现象(图版 III-3,4), 而改良品系中则没有。

2.3.2 4 种改良品系的坛紫菜叶状体感染试验

接种病原菌后 4 h, 检查发现 JIU-7 叶状体圆盘块上已出现一个显微可见病斑, 里面含有 8 个铁锈红色死亡细胞, 而其它 3 个品系坛紫菜叶状体圆盘块还未出现病斑和死亡细胞。8 h 后检查发现, 另外 3 种坛紫菜叶状体圆盘也出现了铁锈

红色死亡细胞, 其症状为红烂病的典型特征。16 h 时病斑继续扩大, 有的中央已形成了空洞, 死亡细胞数目已无法统计。接种后 4 h、8 h、10 h 和 12 h 时的叶状体圆盘上出现的病斑数和死亡细胞数如表 1 所示。

表 1 坛紫菜不同品系的叶状体圆盘块被感染后的病斑数和死亡细胞总数

Tab.1 The total numbers of foci and dead cells appeared on the blades of different strains of *P. haitanensis* after incubation with pathogen

品系	被感染的时间 (h)			
	4	8	10	12
AN-2	0(0)	11(107)	19(153)	50(301)
YZ-6	0(0)	5(62)	12(97)	17(119)
JIU-7	1(8)	2(31)	10(64)	22(116)
ZS-1	0(0)	1(6)	7(73)	16(82)

注: 病斑数为随机取 40 个视野($\times 40$)统计的总数; 括号内数字代表病斑内死亡细胞总数。

接种病原菌 24 h 后, 4 种品系的坛紫菜叶状体圆盘块均被病原菌感染且边缘出现肉眼可见病斑, 感染细胞呈铁锈红色, 变形拉长后释放出原生质, 最后死亡细胞变绿后流失, 而此时各圆盘块内部只有个别细胞出现感染现象(图版 IV)。

接种病原菌 50 h 后, 4 种坛紫菜叶状体圆盘块的感染都已比较严重, 边缘均出现多处大病斑(图版 V-2)。接种病原菌 72 h 后, YZ-6 圆盘块已基本烂光, 病烂情况最严重, 其次是 AN-2、JIU-7 和 ZS-1 (图版 V-3)。接种病原菌 96 h 后, 除 AN-2 外其它 3 个坛紫菜品系的叶状体均基本烂光, 有的仅剩余一小块(图版 V-4)。

3 讨论

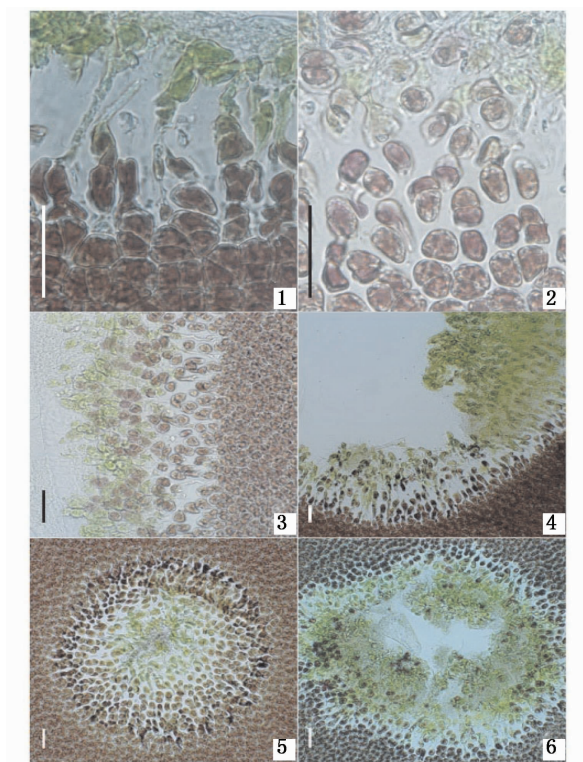
本研究证实坛紫菜细菌性红烂病病原菌能够感染不同种紫菜的叶状体(坛紫菜、条斑紫菜和未定名紫菜)以及经实验室选育的坛紫菜不同品系的叶状体(JIU-7、AN-2、YZ-6 和 ZS-1), 并且感染的速度和症状基本相同。实验室内选育的坛紫菜改良品系和野生品系叶状体感染本病害后的病症基本相同, 说明这些改良品系对本病害的抗病力没有什么优势。目前紫菜优良品系的选育标准基本上都是围绕叶状体生长和品质两方面开展的^[13], 已筛选到的坛紫菜优良品系有能抗高温的品系^[14]和具有生长优势的品系^[15], 抗病紫菜品系的选育有待开展。

不同种紫菜的叶状体在感染本病后出现的症状有所不同(图版 I-1~3),推测病原菌在感染过程中会分泌少量的琼胶降解酶,但由于3种紫菜叶状体胶质层的厚薄不同,导致了病症的差异:叶状体较薄的紫菜在感染后容易游离出单细胞,而叶状体较厚的紫菜在感染后不易游离出单细胞,而是细胞变形拉长释放原生质后死亡降解。不同种紫菜的叶状体在厚薄方面具有明显差异^[16],条斑紫菜的叶状体为单层细胞,厚约35~50 μm ,胶质层的厚度约7~25 μm ;坛紫菜的叶状体大部分为单层细胞,局部为双层细胞,厚约65~110 μm ,胶质层的厚度约15~75 μm ,从上述数据可以看出坛紫菜的胶质层要比条斑紫菜的胶质层厚8~50 μm 左右,这就可以解释为什么条斑紫菜叶状体细胞比较容易游离出来,而坛紫菜的叶状体细胞较难游离出来。病原菌可能会分泌出一种以上的酶能降解紫菜胶质层,该酶对胶质层比较薄的条斑紫菜叶状体解离效果较好,而对于胶质层比较厚的坛紫菜叶状体则解离能力较弱。这就可以解释上述两种紫菜叶状体感染后病症的不同。另外,叶状体感染时边缘和内部的症状有所不同(图版IV),边缘处的感染细胞数目多且症状比叶状体内部要严重,推测病原菌通过入侵边缘受伤细胞而后再进一步侵染叶状体内部,达到感染的目的。

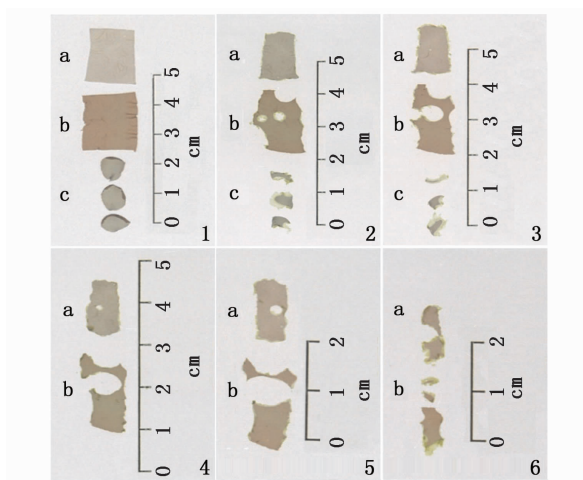
本病害侵染速度快,叶状体一旦被感染则很快会降解,在海区则会造成减产,养殖过程中应密切注意,并通过延长网帘干露时间等措施来防止本病的发生。

参考文献:

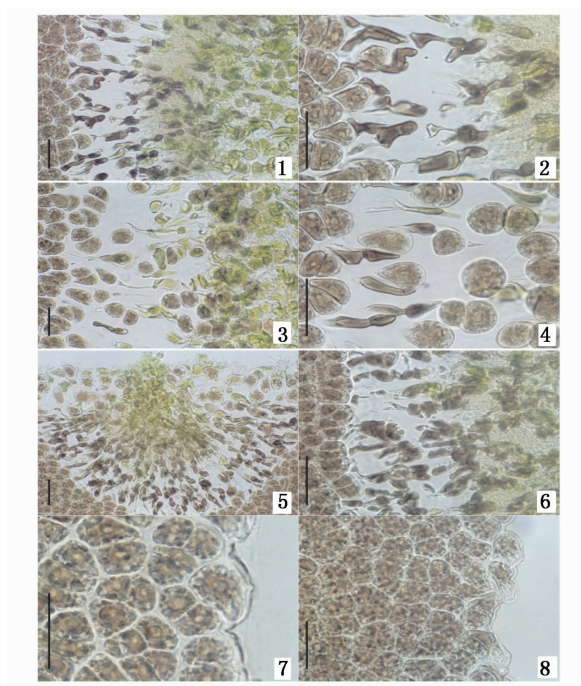
- [1] 曾呈奎,王素娟,刘思俭,等.海藻栽培学[M].上海:上海科学出版社,1985:204-206.
- [2] 福建省水产局.坛紫菜人工养殖[M].福州:福建人民出版社,1979:1-101.
- [3] 陈爱平.2005年中国水产养殖病害监测报告(三)[J].科学养鱼,2006,(10):48-49.
- [4] 马家海.条斑紫菜赤腐病的初步研究[J].上海水产大学学报,1996,5(1):1-7.
- [5] 新崎盛德.アサクサノリの腐れ病に関する研究[J].日本水産学会誌,1947,13(3):74-90.
- [6] 马家海.江苏南部沿海条斑紫菜壶状菌病的调查研究[J].上海水产大学学报,1992,1(3-4):185-188.
- [7] 新崎盛敏.アマノリ類に寄生する壺状菌について[J].日本水産学会誌,1960,26(6):543-548.
- [8] 中尾義房,小野原隆幸,松原孝之.ノリ病害細菌学的研究-I.細菌による緑斑病様障害の実験的病症[J].日本水産学会誌,1972,38(6):561-564.
- [9] 藤田雄二.ノリに緑斑病様障害をおこす細菌の粗酵素による葉体崩裂[J].日本水産学会誌,1973,39(8):911-915.
- [10] 严兴洪,黄林彬,周晓,等.坛紫菜叶状体的细菌性红烂病研究[J].中国水产科学,2008,15(2):313-322.
- [11] 严兴洪,梁志强,宋武林,等.坛紫菜人工色素突变体的诱变和分离[J].水产学报,2005,29(2):166-172.
- [12] 方呈祥.中国高等学校菌种目录[M].北京:化学工业出版社,2009:58.
- [13] 梁志强.坛紫菜遗传育种的初步研究[D].上海:上海海洋大学,2004:1-50.
- [14] 严兴洪,马少玉.坛紫菜抗高温品系的筛选[J].水产学报,2007,31(1):112-119.
- [15] 谢松平,宋武林,黄健,等.坛紫菜“申福1号”人工育苗技术[J].水产养殖,2006,27(5):39-44.
- [16] 李伟新,朱仲嘉,刘凤贤.海藻学概论[M].上海:上海科学技术出版社,1982:34-35.



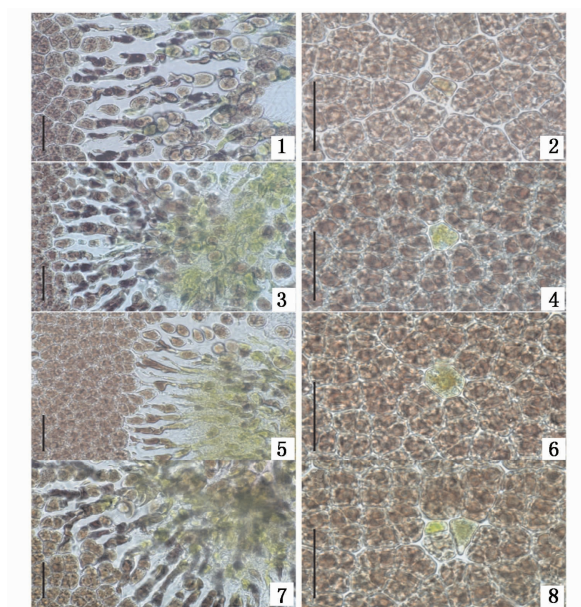
图版 I



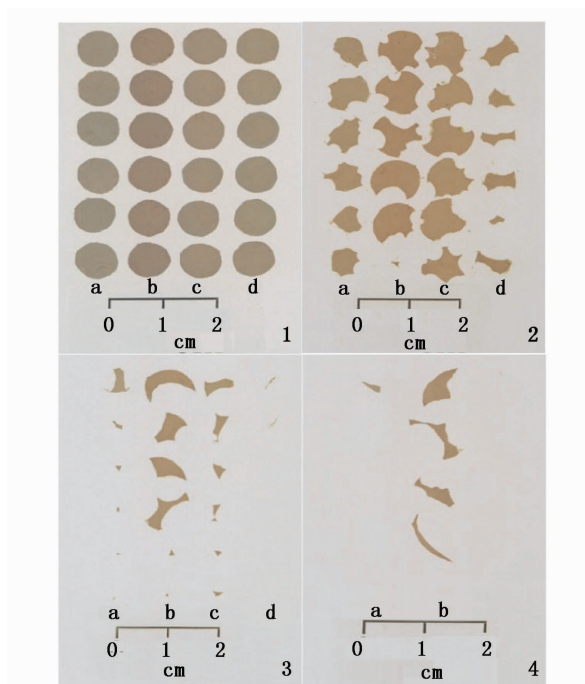
图版 II



图版 III



图版 IV



图版 V

图版说明

图版 I 3 种紫菜感染病原菌的情况(微观)

Plate I Symptoms of 3 different *Porphyra*

blades infected with the pathogen (microscopic)

1. 接种病原菌 6 h 后,坛紫菜片段边缘受感染; 2. 接种病原菌 6 h 后,条斑紫菜片段边缘受感染; 3. 接种病原菌 24 h 后,未定名紫菜圆盘边缘受感染; 4. 接种病原菌 24 h 后,坛紫菜片段边缘出现大病斑; 5. 接种病原菌 30 h 后,坛紫菜片段内部出现肉眼可见病斑; 6. 接种病原菌 54 h 后,条斑紫菜片段内部出现肉眼可见病斑。图中标尺均代表 50 μm 。

图版 II 3 种紫菜感染病原菌的情况(宏观)

Plate II Symptoms of 3 different *Porphyra*

blades infected with the pathogen (macroscopic)

1. 接种病原菌之前 3 种紫菜叶状体的情况(a:条斑紫菜、b:坛紫菜和 c:未定名紫菜); 2~6. 三种紫菜叶状体感染病原菌后 48 h, 54 h, 76 h, 81 h, 96 h 的情况。

图版 III 野生型与优良品系坛紫菜

感染病原菌的情况

Plate III Symptoms of wide type and improved type of *P. haitanensis* infected with pathogen

1-4. 野生型坛紫菜感染病原菌 24 h 后的症状(1. 示叶状体圆盘边缘死细胞; 2. 示叶状体圆盘边缘变形拉长细胞; 3. 示叶状体圆盘边缘死细胞; 4. 示叶状体圆盘边缘解离细胞); 5-6. 坛紫菜优良品系 YZ-6 感染病原菌后 24 h 的症状(5. 示叶状体圆盘边缘病斑; 6. 示叶状体圆盘边缘死细胞); 7-8. 对照组(7. 示野生型坛紫菜叶状体圆盘边缘健康细胞; 8. 示优良品系 YZ-6 叶状体圆盘边缘健康细胞)。图中标尺均代表 50 μm 。

图版 IV 4 种不同品系坛紫菜感染

病原菌的情况(微观)

Plate IV Symptoms of 4 different strains of

P. haitanensis blades infected with

pathogen (microscopic)

1-2. 坛紫菜 JIU-7 叶状体接种病原菌后 24 h 的症状(1. 示叶状体圆盘边缘死细胞; 2. 示叶状体圆盘内部 3 个死细胞); 3-4. 坛紫菜 ZS-1 叶状体接种病原菌后 24 h 的症状(3. 示叶状体圆盘边缘死细胞; 4. 示叶状体圆盘内部 1 个死细胞); 5-6. 坛紫菜 AN-2 叶状体接种病原菌后 24 h 的症状(5. 示叶状体圆盘边缘死细胞; 6. 示叶状体圆盘内部 1 个死细胞); 7-8. 坛紫菜 YZ-6 叶状体接种病原菌后 24 h 的症状(7. 示叶状体圆盘边缘死细胞; 8. 示叶状体圆盘内部 3 个死细胞)。图中标尺均代表 50 μm 。

图版 V 4 种不同品系坛紫菜感染

病原菌的情况(宏观)

Plate V Symptoms of 4 different strains of

P. haitanensis blades infected with

pathogen (macroscopic)

1. 感染病原菌之前的 4 种不同品系的坛紫菜叶状体(a:JIU-7、b:ZS-1、c:AN-2、d:YZ-6); 2. 感染病原菌 50 h 后的 4 种坛紫菜叶状体; 3. 感染病原菌 72 h 后的 4 种坛紫菜叶状体; 4. 感染病原菌 96 h 后的 4 种坛紫菜叶状体(AN-2 和 YZ-6 已全部解体)。

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0232 - 08

鱿鱼类资源量变化与海洋环境 关系的研究进展

曹 杰¹, 陈新军^{1,2,3}, 刘必林^{1,2,3}, 田思泉^{1,2,3}, 钱卫国^{1,2,3}

- (1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
2. 上海海洋大学大洋生物资源开发和利用上海市高校重点实验室, 上海 201306;
3. 上海海洋大学大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306)

摘 要:近几十年随着传统渔业资源量的下降,短生命周期的鱿鱼类产量出现持续增加,并已成为重要的渔获对象。由于鱿鱼类为短生命周期鱼类,对环境变化极为敏感,这一特点使得传统基于种群动力和生物学过程的资源量评估模型并不能很好地估算其资源量,为了解环境因子和鱿鱼类资源量变化的关系,从研究方法和内容上对其研究现状进行了回顾,目前的研究已经能够在一定程度上解释环境因子对鱿鱼类资源量变化的影响机制,但是还不能完全利用环境变量来预测资源量的变化;本文还归纳了主要经济鱿鱼类栖息环境的特点,以及环境因子对其生活史各个阶段(孵化、仔稚鱼、成鱼和产卵)和资源补充量的影响,总结了目前研究遇到的问题和不足,并提出了今后研究重点应放在环境因子如何影响鱿鱼类生活史阶段中的孵化到仔稚鱼过程,从而能够提高对鱿鱼类补充量大小的估测精度,为其资源评估的进一步发展提供全面的理论基础。

关键词:鱿鱼类;海洋环境;资源补充量;生活史

中图分类号: S 932.8 文献标识码: A

Review on the relationship between stock recruitment of squid and oceanographic environment

CAO Jie¹, CHEN Xin-jun^{1,2,3}, LIU Bi-lin^{1,2,3}, TIAN Si-quan^{1,2,3}, QIAN Wei-guo^{1,2,3}

- (1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Shanghai Education Commission for Oceanic
Fisheries Resources Exploitation, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources,
Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Over the past decades, with the decline of economic finfish stocks around the world, the short-life cycle squid has become one of important fishing targets and its total catches keep on increasing. Because the short-life cycle squid is sensitive responding to environmental changes with great abundance fluctuations, which sometimes reduces the recruitment to the stocks, the assessment and management do not work well based on traditional population dynamic models. In this paper, we review the development of methods and

收稿日期: 2009-09-07

基金项目: 国家自然科学基金(NSFC40876090); 上海市曙光跟踪计划(08GG14); 教育部博士点基金(20093104110002); 上海市重点学科建设项目(S03702)

作者简介: 曹 杰(1985 -), 男, 硕士研究生, 专业方向为渔业资源学。E-mail: jcao@stmail.shou.edu.cn

通讯作者: 陈新军, Tel: 021 - 61900340, E-mail: xjchen@shou.edu.cn

models used in this field, current researches could explain the mechanism of how environmental factors influence the stock of squids to a certain extent, however they could not predict the change of stock based on environmental factors successfully. and we also conclude the characteristics of squid habitat and the influences of environmental changes on squid life cycle (post-hatching, larval, growth and spawning) and its recruitment. Finally, we point out the problem for the current research, and highlight the future work. We should focus on the life stage from post hatching to larval with high effect by marine environment so that we can improve the estimate of recruitment of squids and provide comprehensive theoretical basis for squid stock assessment.

Key words: squid; oceanographic environment; stock recruitment; life stage of squid

鱿鱼类是重要的海洋经济动物,通常包括柔鱼属(*Ommastrephidae*)和枪乌贼属(*Loliginidae*),具有生命周期短、生长快等特点,资源极为丰富且极易受到环境的变化而波动^[1]。随着世界传统底层渔业资源的普遍衰退以及人类对海洋蛋白质需求的不断增加,鱿鱼类作为优质动物蛋白质的来源和新兴渔业(主要指钓捕作业为主)越来越受到世界各国和地区的重视,被认为是未来最具开发潜力的渔业之一^[1]。近几十年来,世界头足类渔业发展较快,其产量在世界海洋渔获量中的比例也不断增加,从 20 世纪 70 年代的 1% 增加到目前的 5% 以上^[1],2006 年世界头足类总产量超过 400 万吨,其中 70% 以上为鱿鱼类^[2],主要的经济种类有十几种。我国是生产头足类的主要国家之一,年头足类总产量超过 100 万吨。

随着鱿鱼类资源开发力度和规模的不断扩大,鱿鱼类产量不断增长,几乎所有鱿鱼类资源和渔获量均出现剧烈波动的现象。例如,2006 年东太平洋茎柔鱼(*Dosidicus gigas*)的产量是 2000 年的 5 倍,1998 年因厄尔尼诺现象的影响秘鲁外海茎柔鱼产量达到自开发以来的最低值^[1];西南大西洋阿根廷滑柔鱼(*Illex argentinus*)在 2004 - 2005 年资源量突然急剧下降后又有所回升,同一时期内太平洋褶柔鱼(*Todarodes pacificus*)的资源量也有所下降^[2]。这种被认为是鱿鱼类特有、无规律性、突发性的资源波动给科学研究者带来了很大的挑战^[3],也给渔业生产者和管理者带来很大的不确定性。研究者们从最初直接揭示资源分布与环境因子的关系^[3-4],到解释环境变动如何影响到鱿鱼类生活史各个阶段^[4-9],都表明了鱿鱼类资源量的波动与海洋环境甚至全球气候之间都存在着极为密切的关系^[10-17]。鱿鱼类对

环境变动极为敏感的特点,使得人们在对其进行资源评估和管理时,环境因素成为一个必不可少的要素。此外,鱿鱼类又处于生态系统中承上启下的中间地位,其资源的变动直接影响到整个生态系统的稳定性^[10]。因此,研究鱿鱼类资源变化和环境波动的关系,对今后科学利用该资源、保护海洋生态系统都有着极为重要的意义。另外,在当今极端环境基本没有预兆的情况下^[18],掌握二者之间的关系对预测海洋环境的变化也有一定的意义。

1 鱿鱼类生活史及生态地位

鱿鱼类为短生命周期的物种,通常寿命不超过 2 年^[19]。一生只产卵一次,产卵后即死亡^[19],因此每一代的资源量多少都完全取决于上一代亲体所产生补充量以及补充量在进入该种群前的存活率,这种生活史模式不同于长生命周期鱼类,如果人们还是利用已有的传统模型对其补充量进行预测,以及描述亲体与补充量关系,其准确性将大大降低^[20]。其原因在于:(1)环境变化对其生活史各个阶段(孵化、稚仔鱼、成鱼和产卵)的影响很大^[21-29](图 1)。其中从孵化到仔稚鱼被认为是一个非常非常重要的阶段,也是目前最不被了解的阶段^[20],研究环境变化对该阶段的影响对准确估算鱿鱼类孵化成功率有着重要的意义;(2)鱿鱼类没有剩余群体,只有当代的补充群体。

鱿鱼类是海洋生态系统中重要的组成成份,其在海洋生态系统的营养阶层中处于中间地位,作为捕食者,其主要捕食一些小鱼和小虾,作为饵料,其主要被海洋大型鱼类和哺乳动物捕食(图 2)。因此鱿鱼类资源量的变动直接影响其捕食者和食物的种群数量从而影响整个生态系统

的结构。例如目前一些作为鱿鱼类捕食者的传统捕捞对象种类资源量的下降被认为是这些鱿鱼类资源量增长的原因之一^[1, 10]。

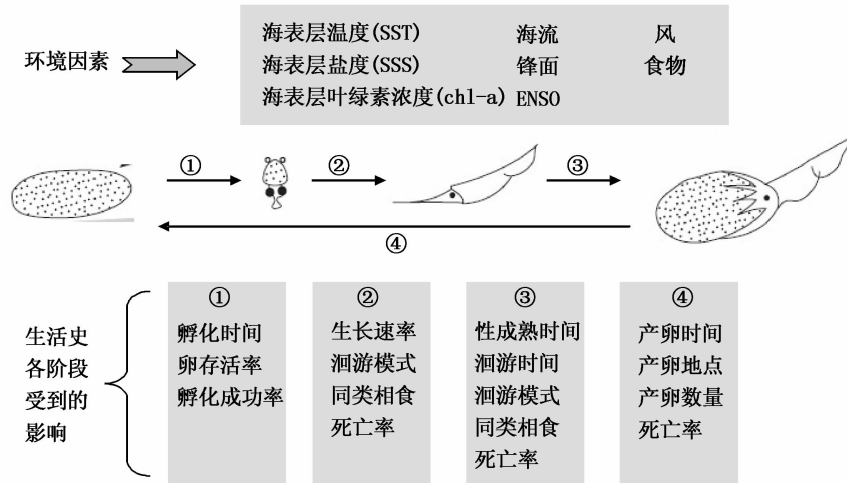


图1 鱿鱼类生活史中受到环境因子影响的示意图

Fig. 1 Schematic of squid life cycle influenced by environmental factors

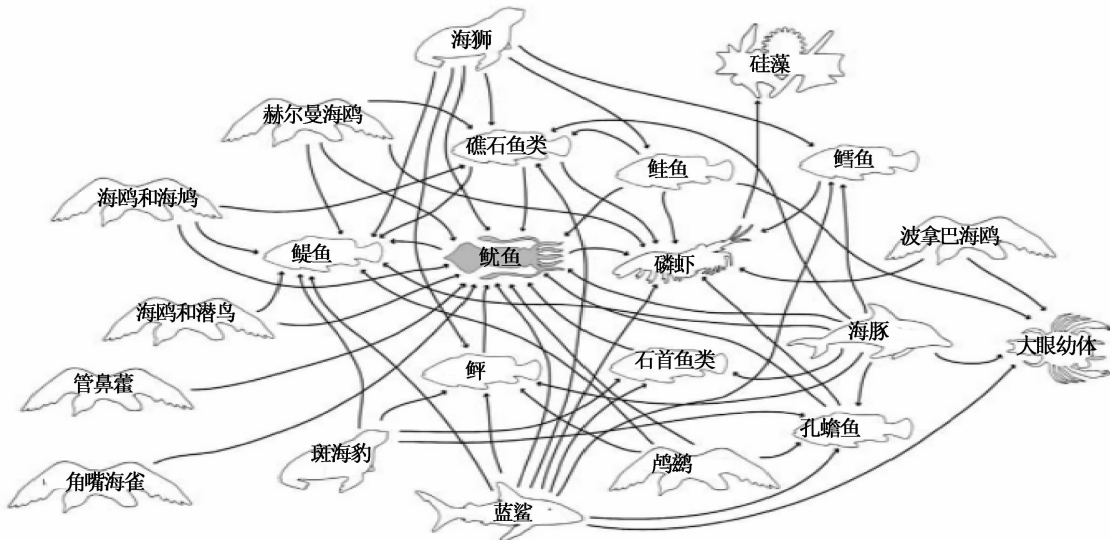


图2 鱿鱼类在海洋生态系统营养阶层中地位的示意图

Fig. 2 Schematic of the role of squid in trophic structure of the marine ecosystem

加利福尼亚沿岸乳光枪乌贼 (*Loligo opalescens*) 的生态地位^[30]

2 鱿鱼类栖息环境

鱿鱼类分布广泛, 主要分布在区域性的重要大洋性生态系统中, 如各大洋的高流速的西部边界流、大尺度沿岸上升流和大陆架海域^[31-32] (图3)。其中栖息在各大洋西部边界流和上升流附近海域的种类, 资源量极大, 也是目前海洋环境变化对鱿鱼类影响的研究重点^[5]。典型的有西

南大西洋的阿根廷滑柔鱼 (*Illex argentinus*)、北太平洋的柔鱼 (*Ommastrephes bartramii*) 和日本周边海域的太平洋褶柔鱼 (*Todarodes pacificus*) 均分布在西部边界流海域。西部边界流从赤道附近携带大量的热量与高纬度冷水海流相遇后, 在锋面形成涡流和一些异常的水团, 这种环境特征能够给鱿鱼类不同生活史阶段带来营养和合适的生存环境^[33-34]。例如分布在北太平洋的柔鱼, 属

于大洋性洄游的种类,每年进行着南北洄游^[35],北上的黑潮不但帮助其输送稚仔鱼和浮游植物,而且黑潮北上到高纬度与亲潮相遇而形成的锋面和涡流等,这些都有助于提高高纬度海域形成丰富的初级生产力^[36]。同样在西南大西洋海域,巴西暖流和福克兰海流交汇处形成的暖水团,给阿根廷滑柔鱼的补充群体提供了适宜的海洋环境^[21]。

而与沿岸上升流生态系统有关的鱿鱼类,主要有分布在秘鲁寒流区域的茎柔鱼(*D. gigas*)、本格拉寒流区域的好望角枪乌贼(*Loligo reynaudi*)、加利福尼亚寒流区域的乳光枪乌贼(*Loligo opalescens*)和印度洋西北部海域的鸢乌贼(*Sthenoteuthis oualaniensis*)。这些低流速东部边界流通过表层埃克曼作用,将底层富含营养海水输送至表层,从而为鱿鱼类提供丰富的营养物质^[37]。而分布在近岸大陆架海域的鱿鱼类则主要受到陆地河流、降雨等环境因素的影响^[12]。

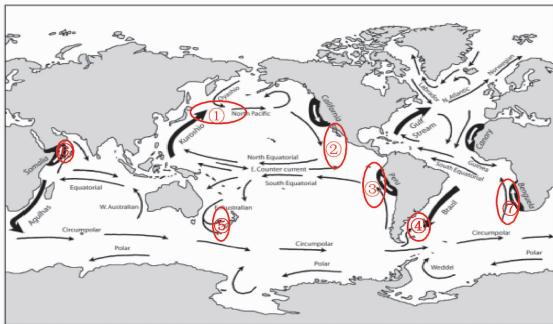


图3 主要鱿鱼类在海洋大尺度海流中的分布示意图

Fig.3 Schematic of squids distributed in large ocean currents

- ①黑潮与亲潮交汇区 - 北太平洋柔鱼 (*Ommastrephes bartramii*);
- ②加利福尼亚寒流上升流区域 - 乳光枪乌贼 (*Loligo opalescens*);
- ③秘鲁寒流上升流区域 - 茎柔鱼 (*Dosidicus gigas*);
- ④巴西暖流和福克兰海流交汇区 - 阿根廷滑柔鱼 (*Illex argentinus*);
- ⑤新西兰西部东澳暖流区域 - 新西兰鱿鱼 (*Nototodarus sloanii*);
- ⑥印度洋西北部上升流海域 - 鸢乌贼 (*Sthenoteuthis oualaniensis*);
- ⑦本格拉寒流上升流区域 - 好望角枪乌贼 (*Loligo reynaudi*)。

这些海域的环境特点虽然为鱿鱼类提供了适宜的栖息条件,但是其自身的时空变动以及外因诱导使其发生的变化都会给鱿鱼类生活史的各个阶段带来影响。例如黑潮发生大弯曲、厄尔尼诺现象等的出现,使得西北太平洋柔鱼冬春生西部群体产卵场海域适合产卵和孵化的水温范

围减少,从而减低了柔鱼孵化的成功率^[17];由于西北太平洋柔鱼秋生群体在生活史的前半周期所栖息环境中的初级生产力要比冬春生群体丰富,因此秋生群体在前半周期的生长速率大于冬春生群体^[9];巴西暖流的减弱使得阿根廷滑柔鱼栖息环境中适合生存的水温范围大大降低,导致其死亡率增加,从而进一步影响到来年的补充量^[21]。总之,只有当栖息地环境的变化与波动对鱿鱼类生存和生长有利,并且在时间上与鱿鱼类生活史阶段同步,才会有利于鱿鱼类资源补充量的发生、发展和增加,否则则会大幅度减少,这也是鱿鱼类被称为生态机会主义者的原因。

3 资源量变动与环境因子关系

3.1 研究方法

20世纪80年代初,Caddy和Rowell首先提出头足类的分布及资源量和海洋环境之间的关系^[3-4]。90年代以后,研究者们从水温入手开始了相关的研究。最初的研究只是简单的根据揭示了温度与鱿鱼类分布及资源量的关系为寻找渔场提供一定的理论依据^[38-43],并没有过多的考虑其它环境因子和解释内在的联系即影响机制。随着研究方法的发展,研究者们开始考虑更多的环境因素包括海表层温度(SST)、海表层盐度(SSS)、海表面高度(SSH)、海表层叶绿素a浓度(Chl-a)、锋面等等,将鱿鱼类生活史各个阶段分开考虑,并试图解释环境变量对鱿鱼类资源量变动的影响机制。

在研究方法发展的同时,数理统计方法和模型的应用也在不断地深入,从最初的单一因子变量的回归模型和相关性分析到现在多因子变量的复杂数理模型,包括应用Generalized Linear Models (GLM)、Generalized Additive Models (GAM)来解释各种环境因子对鱿鱼类资源量分布与变化的影响程度等,例如田思泉等利用GAM模型分析阿拉伯北部公海海域鸢乌贼渔场分布及其与海洋环境因子的关系,结果表明了产量与表温、50 m水温和200 m水温以及各层盐度的关系密切^[44]。类似的还有栖息地指数模型(habitat suitability index model, HSI),田思泉等利用该模型分析了北太平洋柔鱼栖息地环境变量与其分布的关系,揭示了关键性环境变量以及其适合范围^[45]。另外还包括应用Auto-Regressive

Integrated Moving Average (ARIMA)^[46]等时间序列分析法来分析环境变量对资源量分布和变化的延迟影响和时间上的自相关性,这些模型主要为时间模拟(temporal modelling)即利用数据在时间序列上的变化找出变量之间的关系。另外由于地理信息系统(Geographic Information Systems, GIS)的发展,一些空间模拟(spatial modelling)的模型也得到了较大的发展,包括应用 Generalized Additive Mixed Models (GAMM)来分析环境变量影响资源量空间上的分布^[47]等等。最后在模型的计算过程中,许多新的方法也被应用,例如 bootstrapping、人工神经网络算法(artificial neural networks, ANN)和贝叶斯算法(Bayesian models)^[48],从而使得模型得到的结果更为准确。

3.2 柔鱼类资源变动与环境因子关系

柔鱼类中大洋性种类的研究较为深入,环境变动被认为对该种类的资源量变动起着决定性的影响,尤其是海表层温度作为一直接影响因子对其生活史各个阶段都有深刻的影响,因此研究者们常常利用其产卵场的海表层温度等主要环境因素的变动解释其资源量(补充量)的变化。Waluda 利用福克兰群岛海域阿根廷滑柔鱼产卵场的海表层适合其产卵水温的范围大小一定程度上解释了其补充量的变化^[36]; Sakurai 认为太平洋褶柔鱼也有相同的情况^[49]; 曹杰等利用北太平洋柔鱼冬春生西部群体产卵场与索饵场的适合水温范围解释了其资源量的变化^[17]; 以上的研究都认为温度影响了柔鱼类孵化生活史阶段从而影响了其资源量的变动,并且解释了温度变化的原因即能够影响温度变化的其它环境因子(间接环境因子),这些间接环境因子通过影响其栖息环境的表层温度而间接地影响其资源量的变动。例如巴西暖流的强弱能够影响福克兰群岛附近阿根廷滑柔鱼产卵场海表层适合其产卵的水温范围^[36]; 黑潮强弱和路径变化能够影响北太平洋柔鱼冬春生西部群体产卵场适合水温范围^[17]; 厄尔尼诺现象、拉尼娜现象和气候变化等等都能够通过影响柔鱼类栖息地的海表层温度组成和结构而对其资源量造成一定的影响^[50-52]。

总之,环境影响柔鱼类资源量的关键阶段是从孵化到稚仔鱼的生活史阶段,因为该阶段柔鱼主要是被动地受到环境的影响,不能主动地适应

环境的变化,而当稚仔鱼发育到成鱼后,柔鱼个体拥有了较强的游泳能力就能够通过洄游等方式寻找适宜的栖息环境而主动地适宜环境的变化。

3.3 枪乌贼类资源变动与环境因子关系

枪乌贼类通常栖息于沿岸的大陆架上,与大洋性柔鱼类经历的环境条件有所区别,没有进行大规模远距离的洄游,也没有受到大尺度海流的影响。然而海表层水温变动对枪乌贼的资源量变化也有一定的影响^[53],例如 Agnew 等人利用海表层水温的环境变量和亲体量的大小解释了福克兰群岛附近巴塔哥尼亚枪乌贼(*Loligo gahi*)补充量的变动^[54]; Challier 等人认为英吉利海峡福氏枪乌贼(*Loligo forbesi*)的补充量与水温的关系较为密切^[55],但并不像柔鱼类那样属于决定性的环境因素。除了温度外枪乌贼的资源量还受到其它很多环境因素的直接影响。由于枪乌贼会在近岸大陆架海域进行洄游活动,因此海水的深度与枪乌贼生活史各个阶段有着密切的联系^[6]。苏格兰海域的福氏枪乌贼(*Loligo forbesi*)资源量被认为在大陆架中等深度的暖水域中最为丰富^[45],其资源量也一定程度上受到表温的影响^[56]。有研究表明好望角枪乌贼产卵场海域的海水浑浊度与溶解氧气浓度是其生活史中产卵阶段的关键环境因子^[8],海水过于浑浊而能见度太低使得其交配和产卵成功率降低从而资源量下降。另外降雨、风、潮汐等等环境变化都可能对其资源量产生影响。

4 总结与展望

鱿鱼类作为一种短生命周期的生态机会主义者(ecological opportunists)^[5],环境变化对其资源量波动的影响一直受到研究者的关注,研究方法也在不断发展。目前在揭示二者关系的同时,也在一定程度上解释了其中的影响机制,然而大多数研究还不能完全利用环境变量来描述资源量的变化,即使二者关系十分显著,这种关系也没有经过验证,也就是说目前想要利用这种关系来预测资源量的变化还比较困难,事实也证明了以往的大多数利用环境变量来预测鱿鱼类资源的研究都没能经受住时间的考验^[20]。因此,目前全球对于鱿鱼类资源的开发力度在不断增加,科学地对其资源量进行评估和管理是当务之急,现

阶段研究鱿鱼类资源量和环境变化的关系是为了弥补传统资源评估方法在短生命周期鱼类上的不足,为此,就目前而言既不能单一地只考虑环境因素而忽略其自身的种群动力过程,也不能只考虑种群动力过程而忽略环境因素,应该将二者同时考虑,发展出适合鱿鱼类的资源评估和预测模型。然而大多数鱿鱼种类经商业性开发不到 40 年,就目前掌握的数据想要短期内彻底弄清其资源量和环境变化的关系是不切实际的。建议今后的研究重点应该放在环境因子对鱿鱼类生活史影响最大的孵化到稚仔鱼阶段上,加大对鱿鱼类产卵场及其栖息环境、洄游分布等重要生活史阶段的调查和了解。

参考文献:

- [1] 周金官,陈新军,刘必林. 世界头足类资源开发利用现状及其潜力[J]. 海洋渔业, 2008, 30(3): 268 - 274.
- [2] FAO Marine Resources Service, Fishery Resources Division. Review of the state of world marine fishery resources [R]. FAO Fisheries Technical Paper, 2005, (457): 235.
- [3] Caddy J F. The cephalopods: factors relevant to their population dynamics and to the assessment and management of stocks [R]. Advances in Assessment of World Cephalopod Resources. FAO Fisheries Technical Paper, 1983, (231): 416 - 449.
- [4] Rowell T W, Young J H, Poulard J C, et al. Changes in the distribution and biological characteristics of *Illex illecebrosus* on the Scotian shelf, 1980 - 83 [J]. NAFO Scientific Council Studies, 1985, (9): 11 - 26.
- [5] Anderson C I H, Rodhouse P G. Life cycles, oceanography and variability: ommastrephid squid in variable oceanographic environments[J]. Fish Res, 2001, 54(1): 133 - 143.
- [6] Arkhipkin A I, Jereb P, Ragonese S. Growth and maturation in two successive seasonal groups of the short-finned squid *Illex coindetii* from the Strait of Sicily (central Mediterranean) [J]. ICES J Mar Sci, 2000, 57(1): 31 - 41.
- [7] Arkhipkin A I, Middleton D A J, Sirota A M, et al. The effect of Falkland Current inflows on offshore ontogenetic migrations of the squid *Loligo gahi* on the southern shelf of the Falkland Islands [J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2004, 60(1): 11 - 22.
- [8] Augustyn C J, Lipinski M R, Sauer W H H, et al. Chokka squid on the Agulhas Bank; life history and ecology [J]. S Afr J Mar Sci, 1994, 90(3): 143 - 153.
- [9] Ichii T, Mahapatra K, Sakai M, et al. Life history of the neon flying squid; effect of the oceanographic regime in the North Pacific Ocean [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2009, 378(2): 1 - 11.
- [10] Agnew D J, Beddington J R, Hill S L. The potential use of environmental information to manage squid stocks [J]. Can J Fish Aquat Sci, 2002, 59(12): 1851 - 1857.
- [11] Agnew D J, Hill S, Beddington J R. Predicting the recruitment strength of an annual squid stock; *Loligo gahi* around the Falkland Islands [J]. Can J Fish Aquat Sci, 2000, 57(12): 2479 - 2487.
- [12] Bakun A, Csirke J. Environmental processes and recruitment variability [R]. Squid Recruitment Dynamics. The Genus *Illex* as a Model. The Commercial *Illex* Species. Influences on Variability. FAO Fisheries Technology, 1998, (376): 273.
- [13] Bellido J M. Use of geographic information systems, spatial and environment-based models to study ecology and fishery of the veined squid (*Loligo forbesi* Steenstrup 1856) in Scottish waters [D]. PhD Thesis. University of Aberdeen, United Kingdom, 2002: 183.
- [14] Dawe E G, Colbourne E B, Drinkwater K F. Environmental effects on recruitment of shorth-finned squid (*Illex illecebrosus*) [J]. ICES J Mar Sci, 2000, 57(4): 1002 - 1013.
- [15] Pierce G J, Wang J, Bellido J M, et al. Relationships between cephalopod abundance and environmental conditions in the Northeast Atlantic and Mediterranean as revealed by GIS [C]. ICES CM, 1998(M): 20.
- [16] Waluda C M, Trathan P N, Rodhouse P G. Influence of oceanographic variability on recruitment in the *Illex argentinus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) fishery in the South Atlantic [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1999, 183(8): 159 - 167.
- [17] Cao J, Chen X, Chen Y. Influence of surface oceanographic variability on abundance of the western winter-spring cohort of neon flying squid *Ommastrephes bartramii* in the NW Pacific Ocean [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2009, 381(5): 119 - 127.
- [18] Robinson R A, Learmonth J A, Hutson A M, et al. Climate Change and Migratory Species: A Report for DEFRA on Research Contract CR0302 [R]. BTO Research Report 414, British Trust for Ornithology, 2005.
- [19] Roberts M J. The influence of the environment of chokka squid *Loligo vulgaris* reynaudii spawning aggregations; steps towards a quantified model [J]. S Afr J Mar Sci, 1998, 20(1): 267 - 284.
- [20] Pierce G J, Boyle P R. Empirical modelling of interannual trends in abundance of squid (*Loligo forbesi*) in Scottish waters [J]. Fish Res, 2003, 59(3): 305 - 326.
- [21] Waluda C M, Rodhouse P G, Podestá G P, et al. Surface oceanography of inferred hatching ground of *Illex argentinus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) and influences on recruitment variability [J]. Mar Biol, 2001, 139(4): 671 - 679.
- [22] Villanueva R. Effect of temperature on statolith growth of the European squid *Loligo vulgaris* during early life [J]. Mar Biol, 2000, 136(3): 449 - 460.

- [23] Villanueva R. Experimental rearing and growth of planktonic *Octopus vulgaris* from hatching to settlement[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1995, 52(12): 2639–2650.
- [24] Villa H, Quintela J, Coelho M L, et al. Phytoplankton biomass and zooplankton abundance on the south coast of Portugal (Sagres), with special reference to spawning of *Loligo vulgaris*[J]. Sci Mar, 1997, 61(2): 123–129.
- [25] Sims D W, Genner M J, Southward A J, et al. Timing of squid migration reflects North Atlantic climate variability[J]. Proceedings of the Royal Society of London, 2001, 268(1485): 2607–2611.
- [26] Rodhouse P G, Robinson K, Gajdatsy S B, et al. Growth, Age structure and Environmental history in the cephalopod *Martialia hyadesi* (Teuthoidea, Ommastrephidae) at the Antarctic Polar Frontal zone and on the Patagonian Shelf Edge [J]. Ant Sci, 1994, 6(2): 259–267.
- [27] Boletzky S V. Reproductive strategies in cephalopods: variations and flexibility of life-history [M]. Advances in Invertebrate Reproduction, Elsevier Science Pub, 1986: 379–389.
- [28] Boyle P R, Pierce G J, Hastie L C. Flexible reproductive strategies in the squid *Loligo forbesi* [J]. Mar Biol, 1995, 121(3): 501–508.
- [29] Moreno A, Azevedo M, Pereira J, et al. Growth strategies in the squid *Loligo vulgaris* from Portuguese waters [J]. Mar Biol Res, 2007, 3(1): 49–59.
- [30] Morejohn G V, Harvey J T, Krasnow L T. The importance of *Loligo opalescens* in the food web of marine vertebrates in Monterey Bay, California [J]. Fish Bull (California Department of Fish and Game), 1978, (169): 67–98.
- [31] Roper C F E. An overview of cephalopod systematics, status, problems and recommendations [J]. Memoirs of the National Museum, Victoria, 1983, 44(1): 13–27.
- [32] Roper C F E, Sweeney M J, Nauen C E. An annotated and illustrated catalogue of species of interest to fisheries [R]. Cephalopods of the world. FAO Fisheries Synopsis, 1984, 125(3): 277.
- [33] O’Dor R K. Big squid in big currents [J]. S Afr J Mar Sci, 1992, 12(1): 225–235.
- [34] Mann K H, Lazier J R N. Dynamics of Marine Ecosystems [M]. Oxford, Blackwell, 1991.
- [35] Saijo Y, Kawamura T, Izka T, et al. Primary production in Kuroshio and adjacent area [M]. Proceedings of 2nd CSK Symposium, Tokyo, 1970: 169–175.
- [36] Bower J R, Ichii T. The red flying squid (*Ommastrephes bartramii*): a review of recent research and the fishery in Japan [J]. Fish Res, 2005, 76(1): 39–55.
- [37] Demarcq H, Faure V. Coastal upwelling and associated retention indices derived from satellite SST. Application to *Octopus vulgaris* recruitment [J]. Oceanologica Acta, 2000, 23(4): 391–408.
- [38] Augustyn C J. The biomass and ecology of chokka squid *Loligo vulgaris reynaudii* off the west coast of South Africa [J]. S Afr J Zoo, 1991, 26(4): 164–181.
- [39] Sauer W H H, Goschen W S, Koorts A S. A preliminary investigation of the effect of sea temperature fluctuations and wind direction on catches of Chokka squid *Loligo vulgaris reynaudii* off the Eastern Cape, South Africa [J]. S Afr J Mar Sci, 1991, 11(1): 467–473.
- [40] Roberts M J, Sauer W H H. Environment: the key to understanding the South African chokka squid (*Loligo vulgaris reynaudii*) life-cycle and fishery [J]. Ant Sci, 1994, 6(2): 249–258.
- [41] Rasero M. Relationship between cephalopod abundance and upwelling: the case of *Todaropsis eblanae* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in Galician waters (NW Spain) [C]. ICES CM, 1994: 40.
- [42] Chen X J. An analysis on marine environment factors of fishing ground of *Ommastrephes bartramii* in northwest Pacific [J]. J Shanghai Fish Univ (in Chinese), 1997, 6(4): 285–287.
- [43] Chen X J. Study on the formation of fishing grounds of the large squid, *Ommastrephes bartramii* in the waters 160°E – 170°E North Pacific Ocean [J]. J Shanghai Fish Univ (in Chinese), 1999, 8(2): 197–201.
- [44] 田思泉, 陈新军, 杨晓明. 阿拉伯北部公海海域鸕乌贼渔场分布及其与海洋环境因子关系 [J]. 海洋湖沼通报, 2006, (1): 51–57.
- [45] Tian S Q, Chen X J, Chen Y, et al. Evaluating habitat suitability indices derived from CPUE and fishing effort data for *Ommastrephes bartramii* in the Northwestern Pacific Ocean [J]. Fish Res, 2009, 95(2–3): 181–188.
- [46] Efthymia V Tsitsika, Christos D Maravelias, John Haralabous. Modeling and forecasting pelagic fish production using univariate and multivariate ARIMA models [J]. Fish Sci, 2007, 73(5): 979–988.
- [47] Mafalda Viana, Graham J Pierce, Janine Illian, et al. Hastie. Seasonal movements of veined squid *Loligo forbesi* in Scottish (UK) waters [J]. Aquat. Living Resour, 2009, 29(3): 291–305.
- [48] Georgakarakos S, Koutsoubas D, Valavanis V D. Time series analysis and forecasting techniques applied on loliginid and ommastrephid landings in Greek waters [J]. Fish Res, 2006, 78(1): 55–71.
- [49] Sakurai Y, Kiyofuji H, Saitoh S, et al. Changes in inferred spawning areas of *Todarodes pacificus* (Cephalopoda: Ommastrephidae) due to changing environmental conditions [J]. ICES J Mar Sci, 2000, 57(1): 24–30.
- [50] Chen X J, Zhao X H, Chen Y. El Niño/La Niña Influence on the Western Winter-Spring Cohort of Neon Flying Squid (*Ommastrephes bartarmii*) in the northwestern Pacific Ocean [J]. ICES J Mar Sci, 2007, 64(6): 1152–1160.
- [51] Gonzalez A F, Trathan P, Yau C, et al. Interactions between oceanography, ecology and fishery biology of ommastrephid squid *Martialia hyadesi* in the South Atlantic [J]. Mar Ecol Prog Ser, 1997, 152(7): 205–215.

- [52] Waluda C M, Yamashiro C, Rodhouse P G. Influence of the ENSO cycle on the light-fishery for *Dosidicus gigas* in the Peru Current; an analysis of remotely sensed data[J]. Fish Res, 2006, 79(1-2): 56-63.
- [53] Robin J P, Denis V. Squid stock fluctuations and water temperature: temporal analysis of English Channel Loliginidae [J]. J Appl Ecol, 1999, 36(1): 101-110.
- [54] David J A, Simeon H, John R B. Predicting the recruitment strength of an annual squid stock: *Loligo gahi* around the Falkland Islands[J]. Can J Fish Aquat Sci, 2000, 57(12): 2479-2487.
- [55] Laurence C, Juliette R, Graham J P, et al. Environmental and stock effects on recruitment variability in the English Channel squid *Loligo forbesi* [J]. Aquat Living Resour, 2005, 18(4): 353-360.
- [56] Bellido J M, Pierce G J, Wang J. Modelling intra-annual variation in abundance of squid *Loligo forbesi* in Scottish waters using generalized additive models[J]. Fish Res, 2001, 52(1-2): 23-39.

《上海海洋大学学报》征稿简则(2009年9月修订)

一、征稿内容

《上海海洋大学学报》为上海海洋大学主办,以海洋、水产科学技术为主的面向全国的综合学术刊物。前身为《上海水产大学学报》,2009年起因学校更名而变更刊名。主要刊载海洋环境、海洋工程、海洋信息、海洋渔业、水产生物技术、水产养殖与增殖、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔业经济与技术管理等方面的文章,并酌登学术动态和重要书刊的评介等。欢迎广大作者踊跃投稿。

二、来稿注意事项

1. 来稿文责自负。要求论点明确,数据可靠,简明扼要,文字精练(包括文章题名、图、表和文献的运用),着重阐述作者的新方法、新观点和新成果等。
2. 来稿请访问本刊的网站,进行网上投稿,网址:<http://kjzk.shou.edu.cn/dxxb/default.htm>,本刊只接收网络投稿,必要时退作者修改、精减并清稿。若作者投稿3个月后未收到本编辑部任何通知,可自行处理稿件,请勿一稿多投。
3. 对录用的文章将收取一定的版面费,文章刊登后,将酌致稿酬,并赠送若干册当期的本刊。
4. 本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》、《中国期刊网》、《万方数据-数字化期刊群》等,作者著作权使用费与印刷版稿酬一次付给。

三、对稿件的编辑出版要求

1. 论文稿书写的顺序:题名,作者署名,作者单位(写至二级)及所在地和邮编,中文摘要(400字左右),关键词(3~8个,研究对象的词应排列在前),中图分类号,英文题名、作者署名、作者单位(写至二级)及所在地和邮编、Abstract(与中文摘要相对应,以学术刊物上惯用的文体和句型撰写)、key words(与中文关键词相对应),正文,参考文献。首页地脚处请注明:①收稿日期;②基金项目:资助者(编号)。③作者简介:姓名(出生年-),性别,职称,学位,研究方向。稿件联系人另注明联系地址、邮编、电话、电子信箱。
2. 插图和照片要清晰,表格请采用“三线表”的形式,力求简明,其内容勿与图及文字表述重复。图、表不单列,在文稿的相应页面内均应留有适当部位并写明图题、表题,其题目均须汉英对照。
3. 文中的学术名词、名称或术语,度量衡及其符号均应符合国家标准。
4. 参考文献只列确引的、最新的、最主要的、国内外公开发表的文献。每条文献中,作者姓名不超过3人者,全部照录;超过者,则第3人之后从略,加“等”之类的缩写。“参考文献:”列于正文后,独占一行。所列文献一律采用标准化的顺序编码制,即把序号置于方括号内,并视引文的具体情况将序号作为上角标,或作为引文中的组成部分。每条文献应按类型注明其标志。

参考文献类型	期刊	专著	论文集	学位论文	报告	报纸	标准	专利	数据库	计算机程序	汇编	电子公告
文献类型标志	J	M	C	D	R	N	S	P	DB	CP	G	EB

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0240 - 06

不同名义 CPUE 算法对 CPUE 标准化的影响

田思泉^{1,2,3}, 陈新军^{1,2,3}

- (1. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306;
2. 上海海洋大学大洋生物资源开发和利用上海市高校重点实验室, 上海 201306;
3. 上海海洋大学大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: CPUE 标准化是渔业资源评估的重要研究内容。不同名义 CPUE 计算方法通常会影响到 CPUE 的标准化, 进而影响到对资源丰度的评价。在 CPUE 标准化过程中, 首先对名义 CPUE 进行计算, 通常有以下 3 种方法: (1) 直接将每个记录的产量除以其对应的捕捞努力量计算出 CPUE 值, 然后输入模型; (2) 先对所有的记录计算出 CPUE, 然后以一个空间尺度(小渔区, 如 $0.5^\circ \times 0.5^\circ$) 统计数据, 对每个小渔区内所有的 CPUE 直接求平均值(所有 CPUE 求和再除以记录的数量)输入模型; (3) 以一个空间尺度统计数据, 用小渔区内的所有记录的总产量除以总捕捞努力量计算的 CPUE 输入模型。本文以我国在西南大西洋的阿根廷滑柔鱼鱿钓渔业为例, 分别使用上述 3 种 CPUE 计算方法, 运用广义加性模型(Generalized Additive Model, GAM)模型进行 CPUE 标准化(对应的模型分别为 GAM_a 、 GAM_b 和 GAM_c), 比较不同模型的结果。研究发现, 3 种模型得出的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 存在差别, GAM_a 与 GAM_b 、 GAM_c 的结果相差较大, GAM_b 和 GAM_c 所得的结果相差较小, 而 GAM_a 与 GAM_b 、 GAM_c 的标准化 CPUE 值、变异系数以及模型各因子方差贡献率等相差较大。3 种模型之间的差别主要由于样本数、捕捞努力量的假设、数据记录的时空尺度和模型中因子的选择等因素影响。因此在使用商业性渔业数据分析渔业资源状况时, 需要考虑由于 CPUE 计算方法的不同带来的不确定性。

关键词: CPUE 标准化; 广义加性模型; 西南大西洋; 阿根廷滑柔鱼

中图分类号: S 932.8 **文献标识码:** A

Impacts of different calculating methods for nominal CPUE on CPUE standardization

TIAN Si-quan^{1,2,3}, CHEN Xin-jun^{1,2,3}

- (1. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Shanghai Education Commission for Oceanic Fisheries Resources Exploitation, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: CPUE standardization is a role in fisheries stock assessment. Different calculating methods for nominal CPUE can affect standardized CPUE which usually is used to index fisheries abundance. In CPUE

收稿日期: 2009-12-08

基金项目: 国家科技“八六三”计划(2007AA092202); 国家科技“八六三”计划(2007AA092201); 国家科技支撑计划(2006BAD09A05); 上海市捕捞学重点学科(S30702)

作者简介: 田思泉(1978-), 男, 博士, 主要从事渔业资源与渔场学方面的研究。E-mail: sqtian@shou.edu.cn

通讯作者: 陈新军, Tel: 021-61900340, E-mail: xjchen@shou.edu.cn

standardization modeling, nominal CPUE is as a response variable which usually can be calculated in three methods: (1) for every record, CPUE is calculated by catch dividing the corresponding effort, and the all CPUEs were input the model; (2) all fisheries data records are first grouped by one spatial scale (fishing grid, such as $0.5^{\circ} \times 0.5^{\circ}$), then for every grid, average CPUE is calculated by all CPUE dividing the number of records, all average CPUEs of fishing grids are as the model input; (3) the fisheries data grouping and the model input are same as (2), but the average CPUE for every grid is calculated by total catch dividing total fishing effort. For evaluating impacts of different nominal CPUE inputs on CPUE standardization modeling, Chinese *Illex argentinus* fishery in the South Atlantic Ocean was, as a study case, the three above-mentioned nominal CPUEs calculated from this fisheries data were input generalized additive models which were used to standardize these CPUEs. The corresponding models were GAM_a , GAM_b and GAM_c , respectively. The results derived from the GAMs were compared. From these analysis, there were differences among these standardized CPUEs derived from the three GAMs. GAM_b and GAM_c showed similar trends in standardized CPUEs. But there were significant variances between GAM_a and the latter two GAMs in the values of standardized CPUE, coefficient of variance and the variance contribution rate of each explanatory variable in the models. The differences among these GAMs were mainly owing to sample numbers, the assumption for calculating fishing effort, the spatio-temporal scale for grouping fisheries data and model selection, etc. On the summary, the certainties due to different calculating methods for CPUE should be considered when commercial fisheries data were used to analyze the status of fisheries stock.

Key words: CPUE standardization; generalized additive model; Southwest Atlantic Ocean; *Illex Argentinus* fishery

渔业资源评估中,单位捕捞努力量渔获量(Catch per unit effort, CPUE)通常被认为与渔业资源丰度成比例,被作为资源相对丰度指数来反映渔业资源丰度的大小^[1]。渔业数据按来源的独立性可以分为两类:一种是独立调查数据(Independent survey data),主要来自于科学调查的数据;另一种是非独立数据(Dependent survey data),主要来自渔业观察员、港口调查数据或渔民汇报的数据(即商业性渔业数据)^[2-4]。在许多渔业(尤其是大洋性渔业)数据集中^[5-8],由于独立调查数据获取的高费用问题和难以操作性,商业性渔业数据常被用来分析渔业资源状况,商业性渔业数据由于常受到各种因素(如时间、空间、渔船参数、环境等)的影响,常采用统计模型对其 CPUE 进行标准化,使用标准化后的 CPUE 来反应渔业资源丰度的情况^[1]。在使用统计模型对商业性渔业 CPUE 进行标准化中,CPUE 作为模型中的应变量,其输入方式通常有 3 种:(1)直接将每个记录的产量除以其对应的捕捞努力量计算出 CPUE 值,然后输入模型;(2)先对所有的记录计算出 CPUE,然后以一个空间尺度(小渔区,如 $0.5^{\circ} \times 0.5^{\circ}$)统计数据,对每个小渔区内

所有的 CPUE 直接求平均值(所有 CPUE 求和再除以记录的数量)输入模型;(3)以一个空间尺度统计数据,用小渔区内的所有记录的总产量除以总捕捞努力量计算的 CPUE 输入模型。CPUE 输入方式的不同,可能会影响 CPUE 标准化的结果,进而影响人们对渔业资源形势的判断。本文以我国渔船在西南大西洋的阿根廷滑柔鱼渔业^[9]为例,分别上述 3 种方法计算 CPUE,运用广义加性模型(Generalized Additive Model, GAM)方法^[10]对 CPUE 进行标准化。通过比较标准化后的 CPUE,从而评价不同 CPUE 输入方法及其对评价渔业资源的影响。

1 材料和方法

1.1 数据来源

1.1.1 商业性渔业数据

商业性生产数据来源于中国远洋渔业分会上海海洋大学鱿钓技术组建立的西南大西洋阿根廷滑柔鱼生产数据库,时间为 2000 - 2007 年。数据字段包括日期、经度、纬度、产量、作业次数。

1.1.2 海洋环境数据

海洋环境数据(包括温度、盐度和海平面高

度)来源于 NOAA (<http://oceanwatch.pifsc.noaa.gov/las/servlets/dataset>), 时间为 2000 - 2007 年, 环境因子分别为表温(SST)、叶绿素(chl-a)和海面高度(SSH)。

1.2 数据分析方法

1.2.1 CPUE 计算

根据前言中所提的 3 种方法分别计算 CPUE, 其计算公式分别为

$$CPUE_a = \frac{C}{E} \quad (1)$$

式中: C 表示一艘渔船一天的产量; E 表示其对用的作业次数。

$$CPUE_b = \frac{\sum CPUE_{ai}}{n} \quad (2)$$

式中: $CPUE_b$ 表示平均 CPUE, $CPUE_{ai}$ 表示一个月内、一个 $0.5^\circ \times 0.5^\circ$ 小渔区内每个记录的 CPUE, 计算方法同(1); n 表示记录的个数。

$$CPUE_c = \frac{\sum C_i}{\sum E_i} \quad (3)$$

式中: $CPUE_c$ 表示平均 CPUE; $\sum C_i$ 表示一个月内、一个 $0.5^\circ \times 0.5^\circ$ 内总产量; $\sum E_i$ 表示对应的总作业次数。

将上述计算的 3 种 CPUE, 分别根据经纬度和时间一致性与环境数据进行匹配。

1.2.2 使用 GAM 模型对 CPUE 进行标准化

GAM 是一种非参数化的多元线性回归模型。GAM 模型相对于传统的回归模型在分析资源丰度与环境的空间关系上提供了更多的信息, 可以更好地描述 CPUE 与其它变量之间的非线性关系^[8], 近年来被越来越多的运用到 CPUE 标准化研究中^[11-13]。本文所用的 GAM 模型对 CPUE 进行标准化, 其一般表达方式为

$$\ln(CPUE + c) = y + m + s(longitude) + s(latitude) + s(SST) + s(SSH) + s(Chl) + \varepsilon \quad (4)$$

式中: c 为常数项(取 1), y 表示年, m 表示月, $longitude$ 为经度, $latitude$ 为纬度, SST (sea surface temperature) 为海表温度($^\circ\text{C}$), SSH (sea surface height) 为海平面高度(cm), Chl (chlorophyll-a) 为叶绿素(mg/m^3), ε 为误差, s 为样条平滑(spline smoother)。

模型的因子选择和拟合度根据因子的显著

水平(p)和赤池信息准则(Akaike information criterion, AIC)^[14]的值来判断。分别用上述 3 种 CPUE 数据输入 GAM 模型进行 CPUE 标准化, 对应的 GAM 模型分别表示为 GAM_a 、 GAM_b 和 GAM_c , 标准化的 CPUE 分别表示为 $S\text{-}CPUE_a$ 、 $S\text{-}CPUE_b$ 和 $S\text{-}CPUE_c$ 。模型的计算通过 S-plus8.0 软件来实现。

1.2.3 标准化 CPUE 比较

对上述 3 个模型标准化后的结果, 分别计算年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 的值; 计算不同模型的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 的均值和变异系数(coefficient of variance, V_c), 进行统计学比较。变异系数计算的方法为

$$V_c = \frac{D_s}{m} \quad (5)$$

式中: D_s 为每个模型的所有年标准化 CPUE 或月标准化 CPUE 的标准差, m 为每个模型所有年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 的均值。

2 结果

2.1 CPUE 标准化结果

本文在使用 GAM 模型对不同 CPUE 标准化建模中, 首先根据 p 值, 将模型中不显著的因子($P < 0.05$)排除, 在这 3 个模型中, 只有 GAM_c 中叶绿素(chl)被排除出模型(见表 1), 然后根据模型的结果, 分别计算各年(2000 - 2007)的标准化 CPUE 和各月(1 - 5)的标准化 CPUE。各模型对应的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 分别见图 1 和图 2。从图中可以看出, 使用 3 种模型得出的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 均不一致。从年标准化 CPUE 看, $S\text{-}CPUE_a$ 和 $S\text{-}CPUE_c$ 的最高值出现在 2006 年, 而 $S\text{-}CPUE_b$ 的最高值出现在 2007 年; $S\text{-}CPUE_a$ 最小值出现在 2001 年, $S\text{-}CPUE_b$ 出现则 2000 年, $S\text{-}CPUE_c$ 而则出现则 2004 年; 从图中看, 三者的各年标准化 CPUE 变动趋势存在着明显的不同。从月标准化 CPUE 看, $S\text{-}CPUE_b$ 和 $S\text{-}CPUE_c$ 基本上呈相同的变化趋势, 从 1 月到 5 月标准化 CPUE 值一直呈下降趋势。而 $S\text{-}CPUE_a$ 的值 1 - 3 月一直呈上升趋势, 然后 3 - 5 月再呈下降趋势。

表 1 GAM 模型中各因子的统计检验

Tab.1 Statistical test of each GAM for model selection

因子	GAM _a		GAM _b		GAM _c	
	p	方差贡献率(%)	p	方差贡献率(%)	p	方差贡献率(%)
year		1.032 9		0.967 0		0.634 1
month		0.448 3		2.687 5		2.198 1
s(longitude)	0.000 0	5.721 0	0.000 1	3.806 8	0.000 3	4.019 2
s(latitude)	0.000 0	1.036 9	0.000 0	4.045 5	0.000 0	4.315 0
s(sst)	0.000 0	2.821 8	0.001 9	1.150 2	0.001 6	1.195 4
s(ssh)	0.000 1	0.356 5	0.018 0	1.127 5	0.026 8	1.014 2
s(chl)	0.000 0	1.123 4	0.041 6	0.911 2	0.057 7	

注:在本文的 GAM 中,year 和 month 作为“factor”,始终存在于模型中。

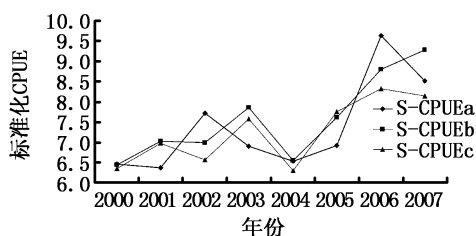


图 1 不同 GAM 模型的年标准化 CPUE

Fig.1 Annual standardized CPUEs derived from different GAMs

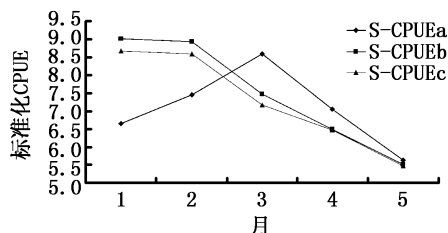


图 2 不同 GAM 模型的月标准化 CPUE

Fig.2 Monthly standardized CPUEs derived from different GAMs

2.2 标准化 CPUE 的比较

表 2 是分别对 3 个模型输出的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 之间的统计学比较分析,从各模型的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 平均值看,各模型的标准化 CPUE 平均值差别不大,但 GAM_b 的平均值都是最大。变异系数可以反映样本值变化情况,在年标准化 CPUE 中,GAM_a 的变异系数最大,该模型的结果反映资源的年际变化波动最大,而 GAM_c 的变异系数最小,反映资源年际变化波动最小;而从月标准化 CPUE 看, GAM_b 的变异系数最大,该模型的结果反映月资源变化波动最大, GAM_a 的变异系数最小,该模型的结果反映月资源变化波动最小。从模型的 AIC 值看,由于 AIC 值得比较需要模型的输入样本数相同,因此只能比较 GAM_b 和 GAM_c, GAM_b 的 AIC 值更小,反映 GAM_b 模型的拟合度更好。

表 2 3 个 GAM 模型结果的统计学比较

Tab.2 Statistical comparing the standardized CPUEs derived from the GAMs

模型		GAM _a	GAM _b	GAM _c
年标准化 CPUE	平均值	7.384 8	7.575 3	7.251 1
	变异系数	0.1584	0.137 0	0.111 3
月标准化 CPUE	平均值	7.084 84	7.492 3	7.284 9
	变异系数	0.152 84	0.204 2	0.189 9
AIC		6 042.33	2 067.03	2 082.17

3 讨论

对商业性生产数据进行 CPUE 标准化的研究最早是从对渔船努力量的标准化开始,主要是通过渔船的捕捞能力与标准船的捕捞努力量的效率比而对生产数据进行标准化,但随着渔业现代

化技术的发展,各船之间的捕捞效率基本相差不大。阿根廷滑柔鱼属于短生命周期的中上层种类头足类,其资源极易受到环境因子的影响^[9],而且其生命周期中的资源的时空分布也是不同的。因此本文采用的 GAM 模型对西南大西洋阿根廷滑柔鱼渔业 CPUE 进行标准化时,只考虑时

间、空间、海洋环境等因子对 CPUE 的影响,而实际上影响 CPUE 的因子有很多,但由于数据的可获取性,在 CPUE 标准化模型中,忽略了其它因子的影响。

在本文的分析中, GAM_b 和 GAM_c 分析结果比较一致,而 GAM_a 与二者的区别较大。从模型中各因子的方差贡献率看(见表 1),在 GAM_a 模型各因子中,经度模型所贡献的方差贡献率最高,达到 5.72%,随后为 SST 和纬度,分别可解释 2.8% 和 1.04% 的方差贡献率; GAM_b 模型和 GAM_c 模型比较相似,纬度、经度和月的方差贡献率位都居前 3 位,总共可解释 10% 以上的模型方差贡献率。因此,从模型各因子所解释的方差贡献率看, GAM_b 和 GAM_c 比较相似,而 GAM_a 明显不同,各模型中因子的方差贡献率不同,对其分析的结果必然产生影响。此外, GAM_b 和 GAM_c 的输入的 CPUE 值是经过一个空间尺度 ($0.5^\circ \times 0.5^\circ$) 和时间尺度(月)进行统计求的平均值,每个时空尺度的都有一定数据样本数,经过求平均值后 CPUE 数据之间的极差明显变小,一些 CPUE 记录的异常值也被弱化,而且两个模型的解释变量的值都是一样的,两个模型数据输入的区别就是由于不同计算方法的 CPUE 输入值,在鱿钓渔业的研究^[7,8]中,由于数据获取难度的原因,一般假设每艘船的捕捞能力是等效的(而实际上是不等效的),CPUE 受捕捞努力量的影响被忽略,导致这两种方法计算的 CPUE 相差较小(差异的程度主要与每个时空尺度内记录的样本数相关),因此, GAM_b 和 GAM_c 标准化 CPUE 差异不大。而 GAM_a 的 CPUE 输入采用的是每艘船的原始数据记录,原始记录的 CPUE 值之间往往存在较大的极差,可能存在一些异常值,也就是说 CPUE 值的波动较大,其数据量远大于 GAM_b 和 GAM_c 的 CPUE 输入数据量,模型的解释变量的样本数也不同,可能导致 GAM_a 的结果与 GAM_b 和 GAM_c 差异较明。此外,渔业数据统计的时空尺度对 CPUE 标准化的结果产生影响^[15-16]。因此,总结这 3 个模型的 CPUE 标准化结果产生差异的原因,主要受样本数、捕捞努力量的假设、数据记录的时空尺度和模型中因子的选择等因素影响。

从统计学角度看, GAM_a 模型的 CPUE 数据来自于每个渔船的实际生产记录数据,因此更适

合用于分析渔业资源状况, GAM_b 的 CPUE 数据相比 GAM_c 的 CPUE 数据更符合统计的误差分布假设,但由于商业性 CPUE 受到很多因素的影响,因此很难评价哪个 CPUE 计算方法更适合,需要对科学调查数据来进行验证,以评价不同计算方法的合适度。在对商业性渔业数据进行 CPUE 标准化中,模型的不同会导致结果的不同^[1]。本文的分析计算结果表明,在 CPUE 标准化模型中,使用不同方法计算的 CPUE 作为模型输入,其标准化后 CPUE 在反映资源的丰度变化时也是不同的。如本文的 GAM_a 模型与 GAM_b 、 GAM_c 模型的年标准化 CPUE 和月标准化 CPUE 相差较大,采用不同的 CPUE 计算方法评估的资源状况明显不同,因此不同的 CPUE 输入所获得的结果可能影响到人们对资源状态的判断,从而影响人们对资源的开发和保护策略的制定。在对商业性渔业数据进行 CPUE 标准化时,需要考虑由于 CPUE 计算方法的不同,对资源的评估结果可能带来不确定性,一个不合适的模型输入,可能导致对资源形势的错误判断。因此在使用商业性渔业数据进行标准化时,不但需要考虑模型的不同对结果的影响,还要考虑相同模型不同的模型输入对结果的影响,需要进行类似本文的比较分析,从而选择最合适的模型和方法。

国内外很多对西南大西洋阿根廷滑柔鱼渔业的研究^[5,17-18]所采用的数据都是截止到 2003 年,本文采用的数据为 2000 - 2007 年,因此在年际变化上很难进行比较。本文 GAM_b 和 GAM_c 模型计算的月标准化 CPUE 显示资源丰度在 1 月份最高,然后逐月开始下降,这与陈新军等^[18]研究的结果基本一致, Sacau 等^[5]使用 GAM 模型分析在西南大西洋生产的西班牙渔船的 CPUE 与影响因素的关系显示,CPUE 主要受 SST、纬度和月份影响较大,这与本文 GAM_b 和 GAM_c 模型各因子方差贡献率的结果(表 1)基本相似。

本文使用 GAM 模型对 CPUE 进行标准化, GAM 能非常好的表达 CPUE 与其影响因子的非线性关系,而且对数据的误差分布要求不高、并具备分析时空数据的功能,因此非常合适被用来进行渔业生态数据的分析,近年来被越来越多运用到 CPUE 标准化研究上^[19]。

参考文献:

- [1] Maunder M N, Punt A E. Standardising catch and effort data: a review of recent approaches [J]. Fisheries Research, 2004, 70:141 - 159.
- [2] Booth A J. Incorporating the spatial component of fisheries data into stock assessment models [J]. ICES Journal of Marine Science, 2004, 57: 858 - 865.
- [3] Scheirer K, Chen Y, Wilson C. Comparing two sampling programs for the Maine lobster fishery [J]. Fisheries Research, 2004, 68: 343 - 350.
- [4] Stelzenmüller V, Ehrlich S, Zauke G P. Impact of additional small-scale survey data on the geostatistical analyses of demersal fish species in the North Sea [J]. Scientia Marina, 2005, 69: 587 - 602.
- [5] Sacaul M, Pierce G J, Wang J, *et al.* The spatio-temporal pattern of Argentine shortfin squid *Illex argentinus* abundance in the southwest Atlantic [J]. Aquatic Living Resources, 2005, 18:361 - 372.
- [6] Tian S Q, Chen X J, Chen Y, *et al.* Standardizing CPUE of *Ommastrephes bartramii* for Chinese squid-jigging fishery in Northwest Pacific Ocean [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2009, 27(4): 729 - 739.
- [7] 陈新军, 赵小虎. 鲁外海茎柔鱼产量分布及其与表温关系的初步研究[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(1): 65 - 70.
- [8] 田思泉, 陈新军, 冯波, 等. 西北太平洋柔鱼资源丰度与栖息环境的关系及其时空分布[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(5): 586 - 892.
- [9] 王尧耕, 陈新军. 世界大洋性经济柔鱼类资源及其渔业[M]. 北京: 海洋出版社, 2005: 189 - 215.
- [10] Hastie T J, Tibshirani R J. Generalized Additive Models [M]. London: Chapman & Hall, 1990:335.
- [11] Bigelow K A, Boggs C H, He X. Environmental effects on swordfish and blue shark catch rates in the US North Pacific longline fishery [J]. Fisheries Oceanography, 1999, 8: 178 - 198.
- [12] Campbell R A. CPUE standardisation and the construction of indices of stock abundance in a spatially varying fishery using general linear models [J]. Fisheries Research, 2004, 70: 209 - 227.
- [13] Punt A E, Walker T I, Taylor B L, *et al.* Standardization of catch and effort data in a spatially-structured shark fishery [J]. Fisheries Research, 2000, 45: 129 - 145.
- [14] Akaike H. A new look at the statistical model identification [J]. IEEE Trans Autom Control, 1974, AC - 19:716 - 723.
- [15] Piet G J, Quirijns F J. The importance of scale for fishing impact estimations [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2009, 66: 829 - 835.
- [16] Tian S Q, Chen Y, Chen X J, *et al.* Impacts of spatial scales of fisheries and environmental data on catch per unit effort standardization [J]. Marine and Freshwater, 2009, 60: 1273 - 1284.
- [17] Chen C S, Chiu T S. Standardising the CPUE for the *Illex argentinus* fishery in the Southwest Atlantic [J]. Fisheries Science, 2009, 75:265 - 272.
- [18] 陈新军, 刘金立. 巴塔哥尼亚大陆架海域阿根廷滑柔鱼渔场分布及与表温的关系分析[J]. 海洋水产研究, 2004, 25(6): 19 - 24.
- [19] Denis V, Lejeune J, Robin J P. Spatio-temporal analysis of commercial trawler data using general additive models: patterns of Loliginid squid abundance in the north-east Atlantic [J]. ICES Journal of Marine Science, 2002, 59(3): 633 - 648.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0246 - 06

我国海岸带综合管理的探索性研究

黄康宁, 黄硕琳

(上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306)

摘要:近年来,随着海岸带地区环境恶化、资源破坏、灾害频发和人口剧增,我国海岸带所受到的危害也不断增多。作为一种有效的海洋管理机制,海岸带综合管理日益受到包括我国在内的各国的重视。基于海岸带综合管理的概念及其特征,主要从 3 个方面阐述了目前我国海岸带综合管理的现状及问题,并据此结合美国的海岸带综合管理经验研究,分析提出了 4 个方面的对策和建议:有关海岸带管理边界划定的建议;有关我国海岸带管理协调机制的建议;有关我国海岸带管理立法的建议;有关公众参与的建议。

关键词:海岸带综合管理;管理边界;协调机制;立法

中图分类号: S 937.0 文献标识码: A

An exploratory study of integrated coastal zone management in China

HUANG Kang-ning, HUANG Shuo-lin

(College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In recent years, with the environmental degradation, resource damage, the frequency of disasters and population increasing, the coastal zones suffered the growing pressure. As an effective mechanism for ocean management, integrated coastal zone management (ICZM) is accepted by most countries increasingly, including China. In this paper, the concepts and the features of ICZM are introduced, then the current status and problems of ICZM are analyzed from three aspects. At last, based on the ICZM of USA, four relevant measures are put forward: suggestions on boundary delimitation; suggestions on the coordination mechanisms; suggestions on coastal zone legislation; suggestions on public participation.

Key words: integrated coastal zone management (ICZM); boundary delimitation; coordination mechanisms; coastal zone legislation

20 世纪 80 年代初,联合国出版了《海岸带管理与开发》一书,论述了海岸带管理与开发的理论、政策及其技术标准和措施。80 年代末期,“海岸带综合管理”(Integrated Coastal Zone Management, ICZM)正式成为专家普遍接受的科学术语^[1]。我国于 1979 年在海岸带和海涂资源

综合调查过程中,提出制定《海岸带管理法》的任务,第一次使用“海岸带管理”的概念^[2]。80 年代初,我国开始注意海岸带管理问题的研究,并进行了为期 8 年的海岸带和海涂资源综合调查,以及全国海岛资源调查。但此时的研究主要集中于海岸带开发利用和综合管理重要性的认识

收稿日期:2009-06-05

基金项目:上海海洋大学研究生科研基金(A-2501-09-0000-97099)

作者简介:黄康宁(1985-),女,硕士研究生,专业方向为渔业政策与法规。E-mail:knhuangm@yahoo.cn

通讯作者:黄硕琳,E-mail:slhuang@shou.edu.cn

上,缺乏对其理论方法的深入研究。90年代中期以来,众多学者开始投身于海岸带综合管理的理论与方法的研究,如海岸带综合管理的区域性特征及其发展机制^[3],海岸带环境系统与海岸带信息系统^[4],以及海岸带综合管理的核心目的及有关技术的应用^[5]等。综观我国的海岸带研究,技术和应用层面比较多,也相对比较成熟,但在管理上,至今还是松散的行业管理模式,缺乏明确的海岸带管理边界、海岸带管理协调机构以及海岸带管理法。因此,从海岸带综合管理的概念和特征出发,主要从海岸带管理边界、协调机制以及立法等几个方面探讨了目前的现状及问题,并提出了相应的对策和建议。

1 海岸带综合管理的概念及特征分析

1.1 海岸带综合管理概念

目前世界上还没有给出明确一致的海岸带综合管理概念。不同国家或地区的侧重点不同,给出的定义也不一样。

1993年世界海岸大会有关文献的定义为:海岸带综合管理是一种政府行为,协调各有关部门的海洋开发活动,应确保制定目标、规划及实施过程尽可能广泛地吸引各利益集团参与,在不同的利益中寻求最佳方案,并在国家的海岸带总体利用方面,实现一种平衡^[6]。1996年美国海洋管理专家约翰·克拉克^[7]在其专著《海岸带管理指南》中认为,海岸带综合管理是通过规划和项目开发、面向未来的资源分析、应用可持续概念等检验每一个发展阶段,试图避免对沿海区域资源的破坏。2002年世界银行指出:“海岸带综合管理是在由各种法律和制度框架构成的一种管理程序指导下,确保海岸带地区发展和管理的相关规划和环境、社会目标相一致,并在其过程中充分体现这些因素”^[8]。我国著名海洋管理专家鹿守本^[6]定义:海岸带综合管理是高层次的管理,是海洋综合管理的区域类型,通过战略区划规划、立法、执法和行政监督等政府职能行为,对海岸带的空间、资源、生态环境及其开发利用的协调和监督管理,以便达到海岸带资源的可持续利用。

但无论何种概念,其关键是要针对海岸带所涉管理和利益部门的多样性和复杂性问题,增强

各部门之间的协调、合作,合理开发利用海岸带资源,维护海岸带生态环境,保证海岸带地区自然、经济和社会协调发展,实现海岸带地区的可持续发展。

1.2 海岸带综合管理特征

由以上 ICZM 的定义,可以看出,海岸带综合管理是动态的、多学科、多部门的、强调可持续发展和利用的管理过程,涵盖了信息的收集、决策的制定以及管理和监督的实施。具体来说,海岸带综合管理的特征主要包括以下几点。

1.2.1 动态性

随着海岸带地区人口、社会经济、资源需求以及开发利用程度不断的变化,海岸带地区的生态、地貌和水文等状况也不断变化,导致海岸带系统也一直处于动态变化之中。这就要求在海岸带综合管理中,应根据海岸带地区的变化,适时调整海岸带管理的政策、计划和规划,使海岸带开发利用管理和保护处于动态、连续的过程。

1.2.2 综合性

海岸带综合管理与分部门、分行业的管理相比,更强调“综合性”,其综合性主要体现在:海陆间的综合、海岸带的政府部门间的综合,以及各学科间的综合^[9]。海岸带既包括海域部分,又包括陆域部分,地理位置和生态环境特殊。它涉及的部门众多,除海洋管理部门外,还包括国土资源、农业、林业、旅游、环保、交通等部门。各部门因其职责不同,利益出发点也不同,使得海岸带“综合”管理成为必需。另外,它所涉及的学科也很多,不仅包括地理、环境、和生态等自然科学范畴,还包括管理、社会、法律、教育等社会科学范畴。

1.2.3 协调性

海岸带综合管理中涉及的部门、机构、团体、组织、教育机构以及学科等众多,其协调性主要体现在海岸带科学研究与政府行政管理之间的协调,各学科之间的协调,各教育机构、团体之间的协调以及各政府部门之间的协调等^[10]。通过这种多部门、多学科之间的协调,可以使各利益相关者合理分配、利用和保护海岸带资源与环境,减少海岸带管理中的矛盾和冲突。

1.2.4 可持续发展性

可持续发展的基本特征是保持生态持续、经济持续和社会持续。海岸带开发与管理中,不仅

涉及到海岸带自然资源系统和社会经济系统,还涉及到局部利益与整体利益,近期利益与长远利益。它们之间具有很强的关联性和制约性。海岸带综合管理强调在这些关联性和制约性中找到平衡点,以实现海岸带的可持续发展。

2 我国海岸带综合管理的现状及问题

2.1 海岸带管理边界

联合国经济与社会理事会编著的《海岸带管理与开发》中,将海岸带定义为海陆相互作用的地带,但这是比较模糊的概念,并未明确划定海和陆的范围,不适合行政管理。我国于1985年开展全国海岸带和海涂资源综合调查时,规定了海岸带调查工作的范围为海岸线向陆延伸10 km向海延伸到15 m等深线,但该海岸带范围主要是为了适应当时的全国海岸带和海涂资源调查的需要,并未经过科学的论证。海岸带管理边界的模糊,为我国海岸带综合管理造成了一定的困扰,如立法中管辖范围的冲突,部门职责的重叠,各省市海岸带开发利用权属界定不清等。所以,在探索海岸带综合管理中,如何划分海岸带管理的海陆分界线,是我们亟待解决的基本问题。

2.2 协调机制

一般来说,在某项政策领域内,部门设置越多,政府职责的分散化和重复工作的可能性就越大^[7]。我国的海洋管理体制是以海监、环保、渔政、海事、边防和海关等部门为主的分散型行业管理体制。在众多的部门中,涉及海岸带开发与管理的则多达20余个,各部门因职责和分工不同,都对海岸带地区进行不同目标或对象的管理。如海洋行政管理部门,主要职责是综合管理国家海洋事务,制定并实施相关相应的政策、方针、区划和规划等;国土资源部主要涉及海岸带的滩涂资源、海洋石油勘探开发等;交通部门主要涉及海上运输及船舶的安全、秩序等;农业部门具有海岸带地区渔业资源的开发与保护的职责等;旅游部门涉及滨海旅游的开发与管理。不同的部门因其职责不同,在管理中往往会造成管理上的“真空”或重叠,使得各利益相关者之间矛盾不断。如沿海企业排污造成海域污染与滨海旅游、海水养殖之间,海水养殖与港口开发之间,

港口开发和生态保护之间产生的纠纷等等。随着开发程度的加大,诸如此类的问题与矛盾不断突出。可见,实施海岸带综合管理,急需我们解决这种部门间的不协调问题。而建立什么样的协调机制,如何建立这种协调机制,是我们必须考虑的问题。

2.3 立法问题

国外的海岸带管理法,大致可以分为3种类型:第一,综合性的海岸带管理法,如美国的《海岸带管理法》,韩国的《海岸带管理法》。第二,专项性的海岸带管理法,如日本的《海岸带法》、英国的《海岸保护法》。第三,与海岸带管理有关的部门法规。这种法规较多,美、英、日、法、澳、韩等国都具备诸多这样的法律法规。

从20世纪80年代初至今,我国颁布实施的与海岸带管理有关的法律法规众多,如《海洋环境保护法》、《渔业法》、《矿产资源法》、《土地管理法》、《海上交通安全法》、《海域使用管理法》等,这些法律大多是行业法,多从本部门着眼,而很少会兼顾其他行业,因而多项法律之间往往会出现管辖的重叠或“真空”。最典型的例子是我国现有的法律中对滩涂是属于陆地还是海域的界定,并不明确,这势必会造成土地管理部门和海洋行政主管部门在管理权限上的交叉和冲突。另外,对于专项性的海岸带管理法,我国从1979年至今,也未能成功颁布。1979年我国提出了制定海岸带管理法的任务,1983年起草了《中华人民共和国海岸带管理法》,并于1985年改为《海岸带管理条例》,前后修稿数次,最终以失败而告终。20世纪90年代,我国再次启动了《中华人民共和国海岸带滩涂资源管理条例》的起草,出了两次修改稿,也未成功。究其原因,主要是因为我国当时的各涉海部门也认为,现行众多的涉海法律都包含了对海岸带地区的管辖,再颁布专门的海岸带管理法,势必会出现管辖权的交叉和重叠,难以协调^[11]。可见,颁布专项性的海岸带管理法是必须的。但在颁布海岸带管理法中面临的问题将会很多,除了上述管辖范围重叠问题之外,还包括海岸带管理法所要调整的内容的界定,资源、矿产等开发利用优先性的选择,以及具体的操作步骤等。

3 对策及建议

3.1 有关海岸带管理边界划定的建议

在划定海岸带管理边界时,可依据国际上划定海岸带范围的一般标准:自然标准、行政边界、任意距离及选择的环境单元^[12],结合我国具体情况进行权衡。

3.1.1 区分海岸带类型和属性

我国海岸带类型包括基岩海岸、平原海岸和生物海岸。在这些海岸带范围内,既有乡村、城市,又有岛屿。乡村地区,海岸带开发利用管理更偏向于依赖自然资源;城市地区,受人类活动以及开发利用程度影响较大;岛屿因其自身特点不同,对自然资源的依赖性和开发利用程度也各不相同。在划定海岸带管理边界时,应以海岸带调查为基础,充分考虑海岸带类型及其生态因素、经济因素、社会因素和地质因素,在保证该地区行政区域和自然生境的完整性以及管理的可实施性下进行划界。如对包括红树林、珊瑚礁、湿地、保护区等关键生境在内的海岸带的划界,应采取稳健原则,充分考虑划界对其带来的可能影响,避免导致破坏,造成无法挽回的损失。

3.1.2 借鉴美国经验,各沿海地区因地制宜

1972年美国海岸带管理法颁布,标志着ICZM作为正式的政府活动首先得到实施。从70年代至今,美国的海岸带综合管理取得了长足的发展。美国海岸线全长22 680 km,在划定海岸带管理边界时,并未作出具体规定,而是由各州根据自己的管理目标和策略对海岸带范围进行调整,所划出的海岸带管理范围也宽窄不一。如阿拉斯加州,海岸带综合管理主要侧重于鱼类和野生生物的管辖,其边界为向海方向离岸4.8 km的海域,向陆方向为有影响的开发项目所必要的范围,在特定情况下,可沿溯河鱼类流系的方向向陆延伸3.2 km;佛罗里达州管理的侧重点主要基于动植物栖息地的国土利用,其边界为州的全部陆地面积,海界向东延伸5.56 km,在墨西哥湾向西延伸6.68 km;夏威夷州,管理重点是提供和保护娱乐资源,该州所划定的海岸带管理边界包括州属水域和除州森林保护区以外的所有的陆地区域等。实践证明,在美国,这种根据海岸带管理侧重点的不同来划定海岸带范围具有一定的现实意义^[13]。

结合我国海岸带的具体情况,我国海岸线漫长,大陆岸线长18 000 km,岛屿岸线长14 000 km,海岸类型不同,各省市的海岸带管理重点也不同,划定具体的、统一的全国性海岸带边界有一定的困难。但我们可以借鉴美国的成功经验,在相关的海洋法或海岸带法规中,明确海岸带的法律定义,对其作出全面的原则性规定,由国家制定一个大致的划界标准,再由地方省市根据自己的海洋规划、区划的不同特点和定位,因地制宜,划出适合本省市的具体管理边界。

3.2 有关建立协调机制的建议

世界各国在海岸带管理中,为了加强涉海部门间的协调问题,普遍采用的方法是:由一个统一的部门来管理,或由一个多部门组成的机构来管理^[9]。如美国就采用了后者。1997年美国成立了海洋领导小组,成员由联邦主要海洋机构负责人组成。该小组定期召开会议,对海洋和海岸带的政策变化提供监督和建议,强化了部门间的协调,促进了海岸带综合管理的进一步发展。而我国,到目前为止,还没有健全的海岸带综合管理协调机制,但国内众多学者已经开始着手研究,归纳起来,大致有3种建议^[10,14-16]。第一,在国务院下设非常务机构,成立海岸带综合管理委员会,成员由各涉海部门的领导担任。负责拟定法规、政策、规划,开展各种重大活动等。第二,定期召开海岸带综合管理联席会,成员可由分管海洋工作的领导以及相关科研工作者、社会团体、公众代表等组成,除了交流信息外,负责对海岸带综合管理阶段性工作出现的重大问题以及矛盾进行协调。第三,在国家、省、市、县海洋行政管理部门内部设立专门的海岸带综合管理办公室,专门负责海岸带管理的相关工作。考虑到我国现有的海洋行政管理机构、海岸带管理机制以及资金、技术等问题,最简易可行的建议是第二和第三种。

3.3 有关海岸带管理立法的建议

面对缺乏专门的海岸带管理法的情况,考虑到相关行业法之间存在的管辖权重叠等问题,我们需要从多方面入手。

3.3.1 加强立法调研和规划,逐步解决适用范围重叠问题

进行立法调研,对现有的相关部门法的条款进行全面的分析,对已经过时的条款加以修订,

并对相关部分的法律性质进行明确的界定。如滩涂是属于土地还是海域,是归属于国家还是集体,应在各涉及的法律中明确界定,而不应出现争议。在各种立法调研的基础上,进行立法规划,努力协调好各涉海部门的思想认识,力争在立法的必要性和紧迫性上达成基本一致的原则性认识;努力协调好与现行法律制度的关系,将拟颁布的海岸带管理法与各行业法之间可能产生的适用范围重叠问题一一列举出来,加以分析、论证,提出解决方案。

3.3.2 借鉴成功的海岸带管理立法经验,推进立法进程

综观美国海岸带立法过程,立法形式是由单项的部门立法向综合管理立法迈进的。十九世纪早期,美国颁布的《大马哈鱼渔业法》、《海运法》、《石油污染法》等都属于部门性的单项法规。随着海岸带利用程度加大,不同行业之间的矛盾日益突出,现有部门法无法适应现实的管理需要,所以,美国于1972年颁布了世界上第一部综合性的海岸带管理法规,即《海岸带管理法》。在该法的制定和实施过程中,不同利益主体之间的平衡,国际海洋发展及其对本国的影响是其不断完善依据^[14]。该法中,美国确立了从联邦到州、地区和地方的海岸带、海洋管理体制,并要求联邦及各地方政府制定海岸带计划,增加了从联邦到地方政府的管理职能,从而促进了海岸带综合管理的发展。

从我国国内来看,江苏省1991年9月1日颁布并于1997年7月31日修正了《江苏省海岸带管理条例》。该条例从行政管理、规划和科研、开发利用、治理保护、开发基金和鼓励措施、奖励与惩罚等几个方面对江苏省的海岸带管理进行了规定。这是我国首部成功的地方性海岸带管理条例,具有十分重要的理论意义,对江苏省的海岸带管理起到了一定的作用。

因此,可以结合我国的实际情况和美国的立法背景,借鉴其在立法进程和立法内容等方面的经验;也可以充分发挥我国地方海岸带立法的灵活性,做到以地方省市的立法经验为契机;可以通过会议、教育、宣讲等多个途径对海岸带立法进行宣传,推进我国海岸带管理立法进程。

3.4 有关公众参与的建议

国外成功的ICZM经验表明,在制定、采纳和

执行管理计划时,邀请所有主要利益相关者参加,相互交流、及时反馈信息,并就管理问题协商达成共识是管理的明智之举^[9]。研究美国的海岸带管理可以发现,其管理的特色之一即鼓励公众参与,美国的《海岸带管理法》所提出的政策中,就特别包括了“鼓励公众、州和当地政府、州间政府,其他区域机构和联邦政府的参与和合作”^[17]。而我国的海岸带综合管理,无论是管理边界的划定、协调机制的构建,还是海岸带立法进程的推进,也都不能离开公众的参与。为了完善公众参与机制,从参与对象上来说,要尽可能广泛地包括普通民众、当地渔民、水产科研单位(高校、研究所)、大中小型相关企业、民间团体以及政府,以保证参与对象的全面性。从参与形式上来说,包括市民管理、共同规划、磋商协议、市民反馈、信息发布等全过程的公众参与;也包括教育界、科技界的参与以及大众传媒的介入,如展览、电视视点、新闻专刊、知识竞赛、走访宣讲、专题讲座、社会实践等广泛性的社会教育^[18-19]。当然,稳定的财政支持,有效的资金支持体系是成功完善公众参与机制的保证。

作为一种有效的海洋管理机制,海岸带综合管理虽然在世界上还没有统一的定义,但它所具备的动态性、综合性、协调性和可持续发展性等基本特征,及其“增强各部门之间的协调、合作,合理开发利用海岸带资源,维护海岸带生态环境,保证海岸带地区自然、经济和社会协调发展,实现海岸带地区的可持续发展”的关键都是一样的。目前,我国的海岸带综合管理仍在探索中前进,取得成功的同时,也面临诸多问题。除了上述文章中讨论的海岸带管理边界、规划、立法和公众参与等主要问题及对策建议外,还包括海岸带信息和数据的共享,海岸带总体规划、海岸带地区的联合执法等等,这都有待我们进一步研究和探讨。

参考文献:

- [1] 董健,王森.我国海岸带综合管理模式及其运行机制研究[J].中国海洋大学学报,2006,(4):1-49.
- [2] 宋增华.构建海岸带综合管理体制的设想[J].海洋开发与管理,2002,(5):21-25.
- [3] 张灵杰.海岸带综合管理的区域性特征及其发展机制[J].海洋环境科学,2000,19(2):63-68.
- [4] 裴相斌,赵俊琳.海岸带环境系统与海岸带信息系统[J].

- 地球信息科学,2001,(3):43-47.
- [5] 金建君,恽才兴,巩彩兰. 海岸带综合管理的核心目的及有关技术的应用[J]. 海洋湖沼通报,2002,(1):26-31.
- [6] 周洁. 海岸带综合管理实践的新进展[J]. 海洋信息,2003,(4):17-18.
- [7] 约翰 R. 克拉克. 海岸带管理手册[M]. 吴克勤,译. 北京:海洋出版社,2000.
- [8] World Bank. Integrated coastal management. Coastal and marine management: key topics [R/OL]. Washington USA. 2002. http://www-wds.worldbank.org/external/default/WDSContentServer/WDSP/IB/1996/08/01/000009265_3961219091924/Rendered/PDF/multi_page.pdf.
- [9] 赵明利,施平,伍业锋. 基于管治理念的区域海岸带综合管理模式探究[J]. 海洋通报,2006,25(3):52-57.
- [10] 石谦,郭卫东,杨逸萍. 科学研究为厦门海岸带综合管理服务的协调机制[J]. 台湾海峡,2002,(8):379-385.
- [11] 鹿守本. 海岸带管理模式研究[J]. 海洋管理,2001,(1):30-37.
- [12] 联合国经济及社会理事会. 海岸带管理与开发[M]. 北京:海洋出版社,1988.
- [13] 张灵杰. 美国海岸带综合管理及其对我国的借鉴意义[J]. 世界地理研究,2001,(2):42-47.
- [14] 张灵杰. 美国海岸海洋管理的法律体系与实践[J]. 海洋地质动态,2002,18(3):28-33.
- [15] 张灵杰. 区域海岸带综合管理体制与运行机制-玉环县个例研究[J]. 海洋通报,1999,(6):68-76.
- [16] Cao W Z, Wong M H. Current status of coastal zone issues and management in China: A review [J]. Environment International, 2007, (33): 985-992.
- [17] 恽才兴,蒋兴伟. 海岸带可持续发展与综合管理[M]. 北京:海洋出版社,2002.
- [18] 陈祺,黄硕琳. 我国水生生物资源增殖中的公共参与问题[J]. 上海水产大学学报,2007,16(6):586-591.
- [19] Terrie K. International ICZM: in search of successful outcomes [R]. Ocean & Coastal Management,2004,(47):195-196.

文章编号: 1674-5566(2010)02-0252-07

浒苔和条浒苔生长及其氨氮 吸收动力学特征研究

田千桃¹, 霍元子¹, 张寒野², 李信书^{1,3}

冯子慧¹, 王阳阳¹, 张饮江¹, 何培民¹

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090;

3. 淮海工学院海洋学院, 江苏 连云港 222005)

摘要:研究了浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 和条浒苔 (*Enteromorpha clathrata*) 在室内条件下的生长及其氨氮吸收动力学特征。结果表明: 浒苔和条浒苔藻体体重日生长率分别为 17.30% 和 16.82%; 浒苔和条浒苔藻体幼苗在温度 25 °C 和光照 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的条件下达到最大体长日生长率, 分别为 78.9% 和 82.1%。在 1~10 g/L 密度范围内, 浒苔和条浒苔对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的吸收速率随密度和时间的增加而增加, 当藻体密度为 10 g/L 时, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度分别下降了 86.43% 和 84.13%。两种浒苔对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 吸收速率与介质中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度呈显著的线性关系, 在 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度为 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时, 30 min 后浒苔和条浒苔的吸收速率分别为 421 和 409 $\mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$, 说明两种浒苔吸收氨氮的方式以被动扩散为主。在 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的起始浓度下, 浒苔和条浒苔对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的吸收速率随时间变化呈现 3 个不同阶段: 在 75 min 内呈快速吸收阶段, 75~185 min 为内部 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 控制的吸收阶段, 250 min 后为外界 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度控制的吸收阶段; 在 700 min 后, 浒苔和条浒苔的吸收速率分别为 41.3 和 37.7 $\mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$ 。该研究结果为理解浒苔绿潮的爆发机制及评价其对海洋生态系统的影响提供了理论依据。

关键词: 绿潮; 浒苔; 条浒苔; 日生长率; 氨氮吸收动力学

中图分类号: Q 178.1; S 968.41 文献标识码: A

Preliminary study on growth and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ uptake kinetics of *Enteromorpha prolifera* and *Enteromorpha clathrata*

TIAN Qian-tao¹, HUO Yuan-zi¹, ZHANG Han-ye², LI Xin-shu^{1,3}, FENG Zi-hui¹,

WANG Yang-yang¹, ZHANG Yin-jiang¹, HE Pei-min¹

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. East China Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

3. School of Marine Science and Technology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China)

Abstract: The growth and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ uptake kinetics of *Enteromorpha prolifera* and *Enteromorpha clathrata* were measured in the laboratory. The results showed that the growth rate of body weight of *E. prolifera* and *E.*

收稿日期: 2009-12-03

基金项目: 国家自然科学基金 (2007AA09Z406); 上海市浦江人才计划项目 (05PJ14086); 上海市优秀学科带头人计划项目 (08XD14037); 上海市水生生物学重点学科资助项目 (S30701)

作者简介: 田千桃 (1983-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水域生态修复. E-mail: qttianm@stmail.shou.edu.cn

通讯作者: 何培民, E-mail: pmhe@shou.edu.cn

clathrata mature thulli were 17.30 % per day and 16.82 % per day, while the growth rate of body length of seedling which cultured at 25 °C and 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ were as high as 85.10 % per day and 78.90 % per day. The ability of NH_4^+ -N uptake was enhanced by seaweed culture density (1 ~ 10 g/L) and experimental time (in 7 h) increasing. The highest efficiency NH_4^+ -N uptake with highest density (10 g/L) of *E. prolifera* and *E. clathrata* was up to 86.43 % and 84.13 %, respectively, after 7 h. The NH_4^+ -N uptake rate of *E. prolifera* and *E. clathrata* was positively correlated with NH_4^+ -N concentration, and NH_4^+ -N uptake rate of *E. prolifera* and *E. clathrata* was 421 and 409 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ under initial 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ after 30 min, which means that the NH_4^+ -N uptake mode was passive diffusion for *E. prolifera* and *E. clathrata. tenuistipitata*. Three distinct succeeding phases of NH_4^+ -N uptake were identified for *E. prolifera* and *E. clathrata* cultured at 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$: (1) surge uptake phase in 75 min; (2) internally controlled uptake phase between 75 ~ 185 min and (3) externally controlled uptake phase after 250 min; the NH_4^+ -N uptake rate of *E. prolifera* and *E. clathrata* was 41.3 and 37.7 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$, respectively, after 700 min. The results of this study would provide important theory data for understanding burst mechanism of green tides and evaluating the effects of it on marine ecosystem.

Key words: green tides; *Enteromorpha prolifera*; *Enteromorpha clathrata*; growth rate; NH_4^+ -N uptake kinetics

大型海洋绿藻大量增殖的现象,被称为“绿潮”(Green tide)。自 20 世纪 80 年代以来,在世界范围内的近海、海湾和河口内,绿潮已成为一类频发的生态异常现象^[1-4]。Morand 和 Briand^[5]综述了 37 个国家绿潮现象^[6],Schramm 和 Nienhuis^[7]列举了欧洲和亚洲受绿潮影响的 114 个地区。可见,“绿潮”已经成为一个严重的世界性生态问题。

近两年在我国黄海海域也爆发了浒苔绿潮灾害,特别是 2008 年,浒苔绿潮爆发的范围之大,前所未有,并导致了一系列的环境问题和经济损失。目前我国有关浒苔研究多见于营养价值、繁殖生物学和种质鉴定等方面。为此,本文对浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 和条浒苔 (*Enteromorpha clathrata*) 生长及其对 NH_4^+ -N 的吸收动力学特征进行了研究,以期对浒苔绿潮爆发机制和对近海海洋生态环境影响等方面提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料来源及预培养

浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 和条浒苔 (*Enteromorpha clathrata*) 分别于 2008 年 7 月和 4 月采自江苏如东近海和浙江奉化象山港。选择健康藻体,清洗藻体并去除表面附着物,将藻体

培养于加入 VES 培养液的 1 ~ 5 L 三角烧瓶中,在光照培养箱控制的环境条件下进行 2 周预培养,每隔 3 d 添加 1 次培养液,每 6 d 换一次消毒海水。

预培养期温度、盐度、光照强度、光周期分别设定为:25 \pm 0.5 °C、26、60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、12 L : 12 D,连续充气培养。

1.2 氮饥饿藻体培养

将藻体置于氮限制的海水介质中(总无机氮含量 < 3 $\mu\text{mol}/\text{L}$),连续饥饿培养 20 d,每 5 d 除氮外,补充其它营养成分,使藻体处于氮饥饿状态。培养条件为:温度 15 \pm 0.5 °C,盐度为 26,光照强度 20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光照周期 12L : 12 D,适当充气培养。

1.3 藻体体重相对生长率测定

称取初始湿重约为 0.3 g 的较大藻体(体长 10 ~ 15 cm),培养于盛有 200 mL VES 培养液的 250 mL 三角烧瓶中,实验各设 3 个重复。实验条件与预培养相同。连续充气培养 5 d,每天定时测定藻体湿重,计算体重相对生长率。

1.4 幼苗体长相对生长率测定

选取孢子萌发 24 h 后的健康幼苗,培养于盛有 VES 培养液的 24 孔细胞培养板中,每孔一棵幼苗,测定海藻幼苗在不同温度、光照强度条件

下的相对体长增长率。共设置 20、25、27.5、30 和 32.5 °C 5 个温度梯度,共设置 20、40、60、100 和 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 5 个光照强度梯度,共计 25 个温度—光照强度组合,实验进行 4 d。其他条件与预培养相同。应用 Image Pro Plus 软件在 Olympus 解剖镜下进行拍照测量,计算幼苗体长日相对增长率。

1.5 氮饥饿状态下 NH_4^+ -N 吸收动力学测定

两种浒苔 NH_4^+ -N 吸收动力学测定的实验条件设置为:温度(25 ± 0.5) °C,盐度为 26,光照强度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2/\text{s})$,光照周期 12 L: 12 D,充气培养。实验海水基准液(无机氮浓度小于 3 $\mu\text{mol}/\text{L}$)经过滤、煮沸处理。培养容器为盛有 200 mL 吸收介质的 250 mL 三角烧瓶。

1.5.1 不同密度藻体 NH_4^+ -N 去除效率测定

将藻体按湿重 1 g/L ~ 10 g/L 7 个梯度称重,每个梯度 3 个重复。培养液中 NH_4^+ -N 浓度为 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。吸收实验开始时 1 h 测一次,之后每 2 h 测一次。共取样 4 次,测定 NH_4^+ -N 浓度。实验结束后,将藻体置于 60 °C 烘箱中,烘干至恒重后称其干重。

1.5.2 不同 NH_4^+ -N 浓度下藻体吸收速率测定

培养液 NH_4^+ -N 浓度设置为 10、25、50、75、100、200、300、400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 8 个梯度,每个梯度 3 个重复组,每个重复组中放入约 0.3 g 湿重藻体。实验进行 0.5 h 后取样,测定 NH_4^+ 浓度,并将藻体置于 60 °C 烘箱中,烘干至恒重后称其干重。

1.5.3 不同时间藻体对 NH_4^+ -N 吸收速率测定

培养液 NH_4^+ -N 浓度为 400 $\mu\text{mol}/\text{L}$,每瓶均加入 0.3 g 湿重藻体,于实验开始后 15 min、30 min、50 min、75 min、105 min、135 min、185 min、250 min、350 min、500 min、700 min 取样,测定 NH_4^+ 浓度。实验结束后,将藻体置于 60 °C 烘箱中,烘干至恒重后称其干重。

1.5.4 NH_4^+ -N 测定方法

应用荷兰 SKALAR® 流动分析仪进行 NH_4^+ -N 测定。

1.6 数据处理

1.6.1 藻体生长率测定

藻体体重增长率:

$$R_{\text{GR}} = (B_t - B_0) \times 100\% \quad (1)$$

幼苗体长日增长率:

$$R_{\text{GR}} = (L_t - L_0) / (t \cdot L_0) \times 100\% \quad (2)$$

式中: R_{GR} 为相对增长率(%), B_0 和 L_0 为藻体初始湿重(g)和体长(μm), B_t 和 L_t 为第 t 天湿重(g)和体长(μm), t 为实验天数。

1.6.2 藻体对 NH_4^+ -N 吸收效率

藻体吸收速率即为单位藻体重量吸收 NH_4^+ -N 速率,计算公式:

$$V = [(C_{t-1} - C_t) \cdot V_{t-1}] / (t \cdot B) \quad (3)$$

式中: V 为吸收速率[$\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$], C_{t-1} , C_t 分别为每次取样时间间隔的起始和结束时介质中 NH_4^+ -N 的浓度($\mu\text{mol}/\text{L}$), V_{t-1} 为每次取样时间间隔起始的培养液体积(L), t 为每次取样的时间间隔(min), B 为藻体干重(g)。

1.6.3 数据分析

应用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计分析。藻体生长率和对 NH_4^+ -N 吸收动力学的特征等参数应用“one-way ANOVA”的方法进行多重比较,以 $P < 0.05$ 作为差异显著性水平,所得数据均以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果

2.1 藻体体重相对生长率测定

图 1 为本实验条件下,浒苔和条浒苔藻体体重相对生长率测定的实验结果。在实验前 3 d,浒苔生长率略大于条浒苔,而在实验第 4 ~ 6 d,条浒苔生长率略大于浒苔,两者差异并不显著($P > 0.05$)。浒苔和条浒苔藻体平均体重日相对生长率为 $17.30\% \pm 5.0\%$ 和 $16.82\% \pm 5.2\%$ 。

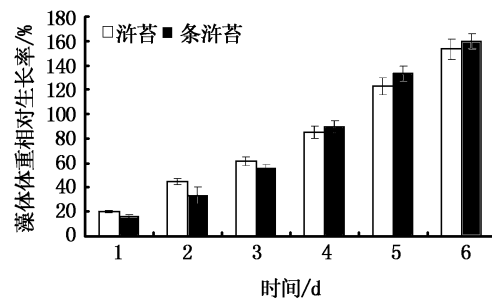


图 1 浒苔和条浒苔藻体体重相对生长率

Fig. 1 The relative growth rate of body weight for *E. prolifera* and *E. clathrata thulli*

2.2 幼苗体长日相对生长率测定

不同温度和光照强度对浒苔和条浒苔幼苗

体长日相对生长率的影响见图 2。在温度 20 °C 和 25 °C 时,两种浒苔幼苗体长日相对生长率均保持在 40% 以上,显著高于其它温度条件下的生长率($P < 0.05$)。光照强度为 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,浒苔和条浒苔幼苗在 25 °C 的体长日相对生长率显著高于 20 °C 的体长日相对生长率。除 30 °C 和 32.5 °C 外,两种浒苔幼苗体长日相对生长率随光照强度增加而升高,而在温度 30 °C 以

上,两种浒苔幼苗的生长基本停滞,甚至出现负增长的现象。统计分析表明,在 20 ~ 27.5 °C 和 20 ~ 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光照条件下,两种浒苔幼苗体长日相对生长率差异不显著($P > 0.05$)。由图 2 可知,在 25 °C 和 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,浒苔和条浒苔体长日相对生长率分别为 $78.9\% \pm 3.32\%$ 和 $82.1\% \pm 2.21\%$ 。图 3 示浒苔幼苗在 25 °C 和 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下生长情况。

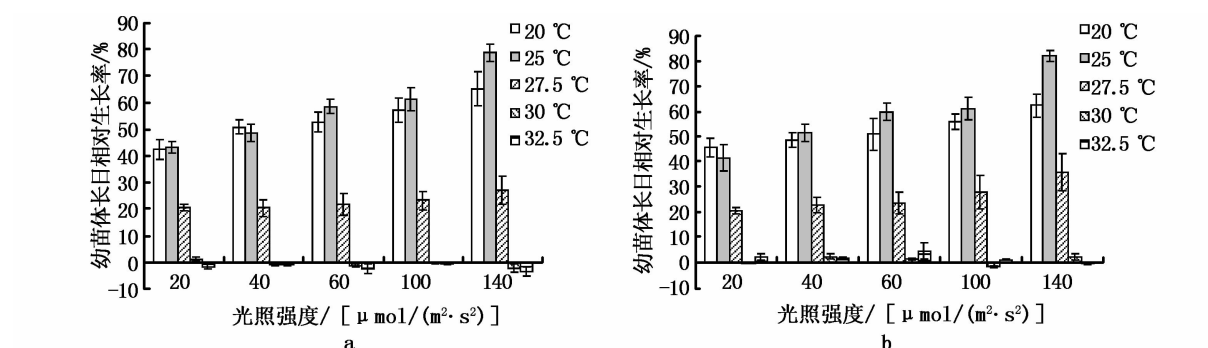


图 2 浒苔(a)和条浒苔(b)幼苗体长日相对生长率

Fig. 2 The relative growth rate of seedling length in *E. prolifera*(a) and *E. clathrata*(b)

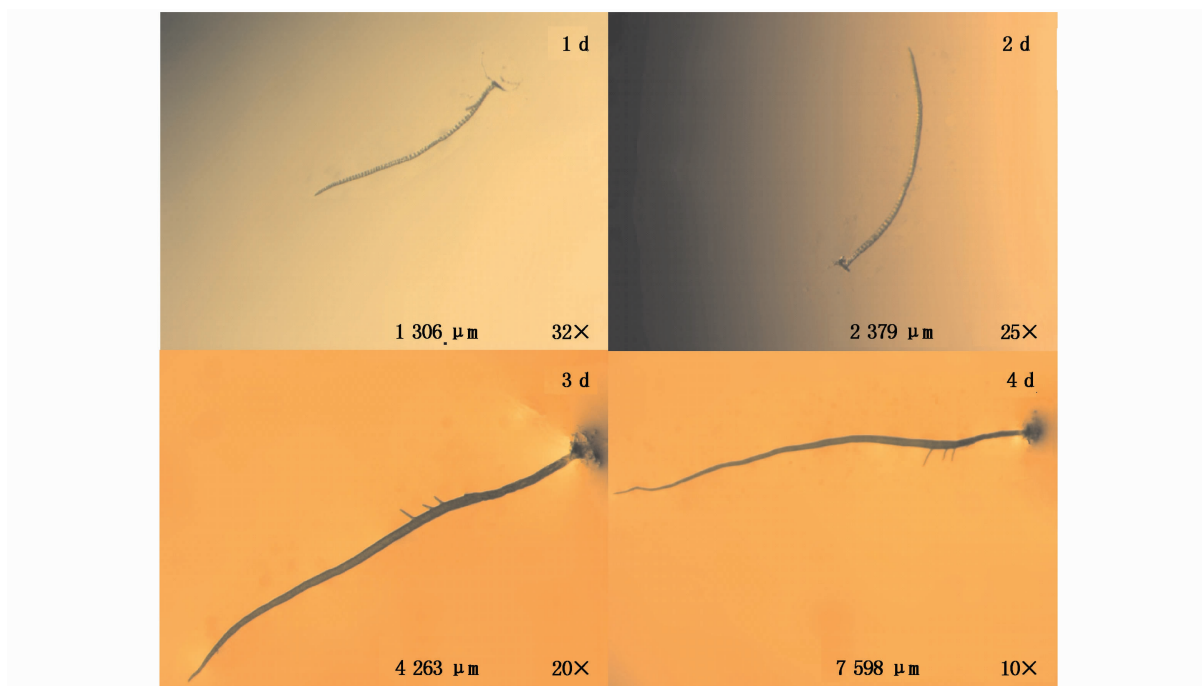


图 3 25 °C、140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 培养条件下浒苔幼苗生长情况

Fig. 3 Growth of *E. prolifera* seedlings cultured at 25 °C and 140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

2.3 藻体密度对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 去除率的影响

从图 4 可知,在实验范围内,藻体密度与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度降低成正比例关系。同样,实验时

间越长, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度减低幅度也越大。其中,藻体密度为 10 g/L 时,实验 7 h 后,浒苔和条浒苔培养介质中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 去除效果最高,其 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$

浓度分别降低了 86.43% 和 84.13%, 两者之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

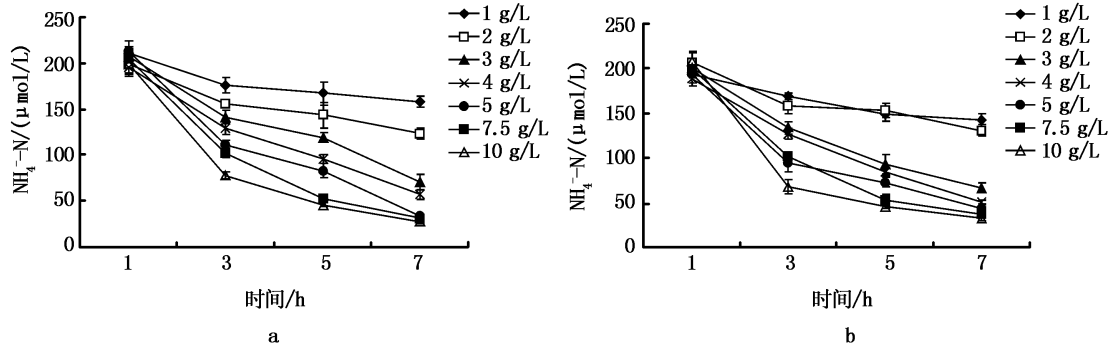


图 4 浒苔(a)和条浒苔(b)藻体密度对 NH_4^+ -N 浓度降低的影响

Fig. 4 Effect of different blade density of *E. prolifera* (a) and *E. clathrata* (b) on the decrease of NH_4^+ -N concentration

2.4 氮饥饿过程中两种浒苔对 NH_4^+ -N 的吸收动力学特征

图 5 显示了在 30 min 内, 不同 NH_4^+ -N 起始浓度对浒苔和条浒苔吸收速率的影响。从图 5 可知, 在 10 ~ 400 $\mu\text{mol/L}$ 的 NH_4^+ -N 浓度范围内, 浒苔和条浒苔对 NH_4^+ -N 的吸收效率与 NH_4^+ -N 的起始浓度呈极显著的线性关系 ($P < 0.01$), 表明在较短时间内, 浒苔和条浒苔对 NH_4^+ -N 的吸收机制为被动扩散。在 NH_4^+ -N 浓度为 400 $\mu\text{mol/L}$ 时, 0.5 h 后, 浒苔和条浒苔对 NH_4^+ -N 的吸收速率为 $(421 \pm 13.5) \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$ 和 $(409 \pm 22.3) \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$, 两者差异不显著 ($P > 0.05$)。

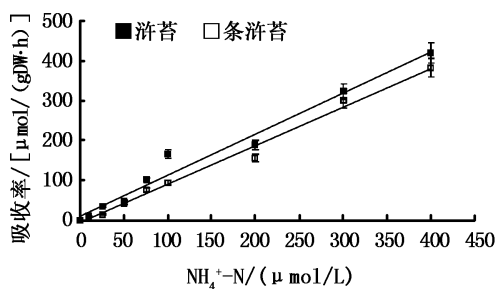


图 5 不同 NH_4^+ 浓度对浒苔和条浒苔吸收速率的影响

Fig. 5 Effect of different NH_4^+ -N concentrations on uptake rate in *E. prolifera* and *E. clathrata*

用吸收速率对吸收时间作图(图 6)得到氮饥饿浒苔和条浒苔对 NH_4^+ -N 吸收速率随时间变化的曲线。两种浒苔表现出相近的 3 个不同的吸收趋势: 在开始的大约 75 min 内吸收速率比较

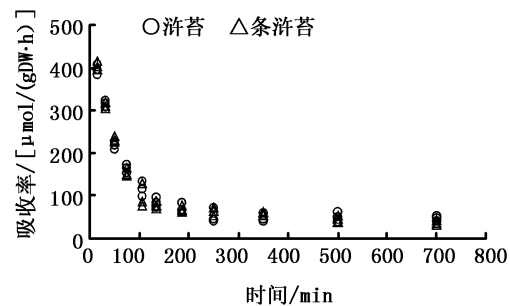


图 6 氮饥饿浒苔和条浒苔对 NH_4^+ 吸收效率的变化

Fig. 6 Changes of NH_4^+ -N uptake rates in *E. prolifera* uptake rate in *E. prolifera* and *E. clathrata*

快, 最大的吸收速率达到了 $405 \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$, 而在随后的 75 ~ 185 min 吸收速率相对比较缓慢, 吸收速率为 $69 \sim 164 \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$, 在 250 min 之后吸收速率基本接近平缓, 此时浒苔和条浒苔对 NH_4^+ -N 的吸收速率分别为 $(53.0 \pm 3.0) \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$ 和 $(57.3 \pm 6.7) \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$, 在 700 min 后, 吸收速率分别为 $(41.3 \pm 3.7) \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$ 和 $(37.7 \pm 6.5) \mu\text{mol}/(\text{gDW} \cdot \text{h})$ 。经方差分析表明, 在 400 $\mu\text{mol/L}$ 的起始浓度下, 浒苔和条浒苔对 NH_4^+ -N 吸收速率差异不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

浒苔属 (*Enteromorpha*) 海藻生存的生态幅较宽。王建伟等^[8]研究表明, 浒苔 (*E. prolifera*) 的生长对盐度、温度、光照强度和 pH 值的适应范围分别为 16 ~ 40、10 °C ~ 30 °C、> 9 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 。

s)、6~10;Dan等^[9]的结果也显示,浒苔生殖细胞成熟的最适盐度范围为5.0~52.0,孢子释放的最适盐度为13.2~45.3,假根形成的盐度范围为1.6~52.0之间。本实验中,在温度20~25℃、光照强度60~140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的范围内,两种浒苔幼苗的体长日生长率大于50%以上,在20~60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的范围内也达到了40%以上。本文所得到浒苔和条浒苔生长的最适温度与王建伟等^[8]的报道一致,但最适的光照强度与其报道的结果却不甚相同。王建伟等^[8]研究认为浒苔叶状体的最适生长点在72 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 左右,而本实验中两种浒苔的体长日生长率随着光照强度的升高而增加,在140 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时生长率达到最大值,显著高于在其它光照强度条件下的生长率。大型海藻的光合作用速度和藻体生长较大程度地依赖于辐照度的大小,而辐照度与光照强度的关系成正比。从本实验的结果来看,浒苔属海藻具有广辐照适应的特点,这与其广泛地生长于世界大部分地区海洋沿岸的生态习性相一致。本实验中浒苔和条浒苔幼苗的最大体长日生长率分别为78.9%和82.1%,略低于张寒野等^[10]报道的条浒苔日相对生长率为92.94%的值,而本实验所得的浒苔(17.30%)和条浒苔(16.82%)藻体体重日生长率在乔方利等^[11]报道的浒苔日生长率13.5%~31%的范围内,与梁宗英等^[12]报道的23%相近。本文的研究结果表明,浒苔属海藻较宽的生态幅和较快的生长率为浒苔绿潮的爆发提供了必要的生物学条件。

大型海藻能够高效去除富营养化水体中氮磷等营养盐。罗勇胜等^[13]研究表明,当细基江蓠繁枝变种(*Gracilaria tenuistipitata* var *liui*)密度为30 g/L时,对 NH_4^+-N 的相对降解率为69.69%;毛玉泽等^[14]研究了龙须菜(*Cracilaria lemaneiformis*)对扇贝排泄氮、磷有较强的吸附作用,对 NH_4^+-N 的去除率为83.7%;温珊珊等^[15]的实验表明,当真江蓠(*Gracilaria asiatica*)密度为10 g/L时,5 h对 NH_4^+-N 的去除效率为60%左右;本实验中,浒苔和条浒苔在7 h内对 NH_4^+-N 的去除效率可达86.43%和84.13%,在5 h的去除率也接近80%,说明两种浒苔去除 NH_4^+-N 的效率要高于细基江蓠繁枝变种、龙须菜和真江蓠。

大型海藻对 NH_4^+-N 的吸收可区分为3个时

段^[16]:起始短期的快吸收(V_s);内部 NH_4^+-N 控制的吸收(V_i);外界 NH_4^+-N 浓度控制的吸收(V_e)。这3个吸收阶段的形成是由于处于饥饿状态的海藻在吸收外界 NH_4^+-N 过程中体内不同氮之间的相互转化所致。在氮饥饿状态下起始0~15 min吸收的氮超过生长所需要的量,这是大型海藻对外界环境中营养盐变化的一种适应。Pedersen^[17]曾报道,把野外生长的石莼(*Ulva lactuca*)置于室内高浓度 NH_4^+-N 介质中,起始15 min内对 NH_4^+-N 的吸收超过其对氮需求量的20倍;氮饥饿细基江蓠繁枝变型在起始的50 min内也存在着快速吸收阶段^[18]。本实验也符合这一规律:两种浒苔在实验开始的75 min内存在一快速吸收阶段,吸收方式为被动扩散。

在一定范围内海藻的最大吸收速率随 NH_4^+-N 浓度的升高而增大。刘静雯和董双林^[18]研究证实,25℃条件下氮饥饿细基江蓠繁枝变型对 NH_4^+-N 最大吸收速率可达35.0~230.0 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$;温珊珊等^[15]对半饥饿真江蓠的研究表明,在20℃和 NH_4^+-N 浓度100~500 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 条件下,吸收速率可达23.22~159.40 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$ 。本实验中,浒苔和条浒苔对 NH_4^+-N 的吸收效率与 NH_4^+-N 的浓度呈极显著的线性关系,在介质中 NH_4^+-N 浓度为400 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时的吸收速率可分别达到421和409 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$,这与Rees等^[16]对一种浒苔(*Enteromorpha* sp.)的研究结果相近[350~400 $\mu\text{mol}/(\text{gDW}\cdot\text{h})$]。本实验表明,大规模漂浮聚集浒苔可高效吸收水体中 NH_4^+-N ,对富营养化海域有重要的生态修复作用。

本文对浒苔和条浒苔的生长和 NH_4^+-N 吸收动力学特征进行了初步的研究报道,而有关非稳态条件下,两种浒苔的生长和营养吸收动力学特征还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Hiraoka M, Ohno M, Shigeo K S, et al. Crossing test among floating *Ulva* thalli forming 'green tide' in Japan [J]. *Hydrobiologia*, 2004, 512:239-245.
- [2] Largo D B, Sembrano J, Hiraoka M, et al. Taxonomic and ecological profile of 'green tide' species of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) in central Philippines [J]. *Hydrobiologia*, 2004, 512:247-253.
- [3] Worm B, Lotze H K. Effects of eutrophication, grazing, and

- algal blooms on rocky shores [J]. *Limnology and Oceanography*, 2006, 51:569-579.
- [4] Dion P, Le Bozec S. The French Atlantic coasts [M]//Schramm W, Nienhuis P H. *Marine benthic vegetation. Recent changes and the effects of eutrophication*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1996:251-64.
- [5] Morand P, Briand X. Excessive growth of macroalgae: a symptom of environmental disturbance [J]. *Botanica Marina*, 1996, 39:491-516.
- [6] Morand P, Merceron M. Coastal eutrophication and excessive growth of macroalgae [M]//Pandalai S G. *Recent research developments in environmental biology*. Research Signpost, Trivandrum, Kerala, India, 2004:395-449.
- [7] Schramm W, Nienhuis P H. Introduction [M]//Schramm W, Nienhuis P H. *Marine benthic vegetation. Recent changes and the effects of eutrophication*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, 1996: 1-4.
- [8] 王建伟, 阎斌伦, 林阿朋, 等. 浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生长及孢子释放的生态因子研究 [J]. *海洋通报*, 2007, 26(2):60-65.
- [9] Dan A, Hiraoka M, Ohno M C. Observations on the effect of salinity and photon fluence rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardh (Chlorophyta, Ulvales) [J]. *Fisheries Science*, 2003, 68:1182-1188.
- [10] 张寒野, 吴望星, 宋丽珍, 等. 条浒苔海区试栽培及外界因子对藻体生长影响 [J]. *中国水产科学*, 2006, 13(5):781-786.
- [11] 乔方利, 马德毅, 朱明远, 等. 2008 年黄海浒苔爆发的基本状况与科学应对措施 [J]. *海洋科学进展*, 2008, 26(3):409-410.
- [12] 梁宗英, 林祥志, 马牧, 等. 浒苔漂流聚集绿潮现象的初步分析 [J]. *中国海洋大学学报*, 2008, 38(4):601-604.
- [13] 罗勇胜, 李卓佳, 文国樑. 细基江蓠繁枝变型净化养殖废水投放密度研究 [J]. *南方水产*, 2006, 2(5):7-11.
- [14] 毛玉泽, 杨红生, 周毅, 等. 龙须菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 的生长、光合作用及其对扇贝排洩氮磷的吸收 [J]. *生态学报*, 2006, 26(10):3225-3231.
- [15] 温珊珊, 张寒野, 何文辉, 等. 真江蓠对氨氮去除效率与吸收动力学研究 [J]. *水产学报*, 2008, 32(4):794-803.
- [16] Rees T A V, Grant, C M, Harmens H E, *et al.* Measuring rates of ammonium assimilation in marine algae; use of the protonophore carbonyl cyanide *m*-Chlorophenylhydrazone to distinguish between uptake and assimilation [J]. *Journal of Phycology*, 1998, 34: 264-272.
- [17] Pedersen M F. Transient ammonium uptake in the macroalga *Ulva lactuca* (Chlorophyta): nature, regulation, and the consequences for choice of measuring technique [J]. *Journal of Phycology*, 1994, 30: 980-986.
- [18] 刘静雯, 董双林. 氮饥饿细基江蓠繁枝变型和孔石莼氨氮的吸收动力学特征 [J]. *海洋学报*, 2004, 26(2):95-103.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0259 - 06

复合型人工湿地系统在农业面源 污染水处理上的应用

范志锋¹, 李平², 王丽卿¹, 季高华¹, 邱雪妹²

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海青浦区水利排灌管理署, 上海 201700)

摘要:利用复合型人工湿地系统净化处理农业面源污染,研究了湿地系统对营养物质、重金属的去除效果。结果表明,在低污染负荷的运行情况下,湿地系统对总氮、氨氮、硝态氮、亚硝态氮的去除率分别为 44.11%、18.90%、52.86% 和 73.32%;对总磷、高锰酸盐指数和叶绿素 a 的去除率为 49.46%、16.77% 和 75.82%;处理后的水质较处理前可提高 1~2 个水质等级。湿地系统对有机物的去除效果不明显,而对叶绿素的净化效果显著。湿地系统对重金属的去除有显著效果,对铜、锌、砷、硒、汞、铬、铅的去除率分别为 74.7%、85.3%、21.2%、40.0%、30.4%、41.3% 和 33.5%。湿地系统对总磷和叶绿素 a 的去除呈极显著差异,对亚硝态氮和 COD_{Mn} 呈显著差异。经湿地系统处理后,出水水质完全达到温室蔬菜灌溉水环境质量标准的要求。

关键词:复合型人工湿地系统;农业灌溉用水;水质净化;去除率

中图分类号: S 181 文献标识码: A

Application of compound constructed wetland for treating agricultural non-point source pollution

FAN Zhi-feng¹, LI Ping², WANG Li-qing¹, JI Gao-hua¹, QIU Xue-mei²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China;

2. Shanghai Qingpu District Irrigation and Drainage Management Bureau, Shanghai, 201700, China)

Abstract: Compound constructed wetland was applied in treating agricultural irrigation polluted water studied the removal effect on nutrients and heavy metals influenced by it. The results indicated that in the case of low pollution load, the removal rate on total nitrogen (TN), ammonia nitrogen (NH₃-N), nitrate nitrogen (NO₃-N) as well as nitrite nitrogen (NO₂-N) in wetland system were 44.11%, 18.90%, 52.86% and 73.32% respectively. The removal rate on total phosphorus (TP), organic compounds (COD_{Mn}) and chlorophyll a (Chla) were 49.46%, 16.77% and 75.82%. Correspondingly, the water has improved 1-2 water quality grade compared with that of water before treatment. The removal effect on organic compounds was not significant, while it had better purification effect on chlorophylla. The removal effect on heavy metals such as Cu, Zn, As, Se, Hg, Cr and Pb were 74.7%, 85.3%, 21.2%, 40.0%, 30.4%, 41.3% and 33.5%. The total phosphorus and chlorophyll a showed an extreme significant difference the nitrite nitrogen and organic

收稿日期: 2009-09-18

基金项目: 上海市重点学科水生生物学建设项目 (S30701); 上海市科委专项 (08D21981000)

作者简介: 范志锋 (1981-), 男, 助理实验师, 主要从事水生生物生态学及水域生态修复方面的研究。E-mail: zffan@shou.edu.cn

通讯作者: 王丽卿, E-mail: lqwang@shou.edu.cn

compounds showed significant difference after treatment by wetland system. The water quality of treated water could absolutely meet the environmental quality standard of irrigation water for greenhouse vegetables.

Key words: compound constructed wetland system; agriculture irrigation water; water purification; removal rate

随着中国农村经济的发展,化肥、农药的大量使用,使得农业面源污染成为中国环境污染的首要问题^[1]。农业面源产生的主要污染物如化肥、农药、杀虫剂等,虽然一部分可被植物体吸收利用,但大部分却通过地表径流流入河流、湖泊等地表水体,造成受纳水体的富营养化^[2-3],丧失应有的水体功能。因此,寻求一种合适有效的水处理技术对农业面源污染进行处理,具有重要的现实意义和生态价值。

人工湿地是 20 世纪 70 年代新兴的污水处理技术,它利用土壤、人工填料和湿地植物组成的独特生态系统中的物理、化学和生物的三重作用,通过过滤、吸附、沉淀、离子交换、植物吸收和微生物分解来实现对污水的高效净化。人工湿地水处理技术广泛应用于城市污水^[4]、工业废水^[5]、暴雨径流^[6]等水体的处理,具有良好的净化效果。建设复合型人工湿地系统对上海市青浦区农业园区内接受面源污染的河道水体进行净化处理,处理后的水应用于园区大棚蔬菜生产,实现水资源的循环利用,同时为安全、安心的生态农产品生产提供洁净的水源。本文对复合型人工湿地系统的水质净化效果进行研究,以期因地制宜建设人工湿地进行农业面源污染的生态补偿提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验场所及复合型人工湿地系统组成

复合型人工湿地系统位于上海市青浦现代

农业园区,园区内有稻田、菜地、还有精养鱼塘,存在一定的农业面源污染。园区内地处洼地的 5 条相对封闭河道,是面源污染的受纳水体。复合型人工湿地系统位于连接中北河和蒸中河的河道内,由水平流潜流湿地(4 个单元,两两串联)、垂直流潜流湿地(3 个单元)以及表面流湿地组成(图 1)。复合湿地系统总面积为 1 044 m²,其中水平流湿地 548 m²,潜流湿地 600 m²(表 1)。潜流湿地填料为 3 种不同粒径的滤料组成,填料总高度为 0.9 m,分 3 层平铺,上、中、下 3 层滤料粒径分别为 1.2、2.4、3.8 cm,湿地系统水力停留时间为 3.5 h,水力负荷为 16.9 m³/d。潜流湿地植物分别种植美人蕉、千屈菜、石菖蒲、黄花鸢尾、旱伞草等,表面流湿地为芦苇、水葱、香蒲等挺水植物和苦草、轮叶黑藻、伊乐藻等沉水植物。湿地系统通过动力可以实现园区内河道水体的单向流动;该系统由蒸中河进水,经垂直流—水平流—表面流—水平流—垂直流湿地,由中北河出水(图 1)。

1.2 试验条件和方法

本试验于 2008 年 8-9 月期间进行,取样时水温为 23.0~25.5 ℃。

在湿地连续运行期间,隔天在湿地系统的进水、出水口取样进行水质测定,连续取样测定 6 次。测定指标包括总氮(TN)、总磷(TP)、高锰酸盐指数(COD_{Mn})、氨氮(NH₃-N)、亚硝态氮(NO₂-N)、硝态氮(NO₃-N)和叶绿素 a(Chla),测定方法参照《水和废水监测分析方法(第四版)》^[7]。

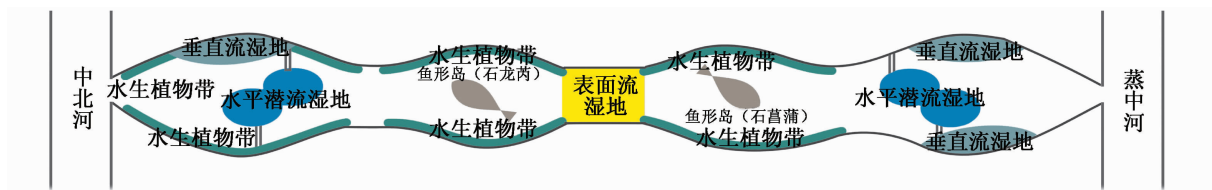


图 1 复合型人工湿地系统平面图

Fig. 1 The planar graph of compound constructed wetland

表 1 青浦农业园区复合型人工湿地系统结构组成
Tab.1 The constructed wetland structure composition of Qingpu agriculture park

人工湿地类型	面积(m ²)	湿地植物配置
垂直流潜流湿地 1	50	美人蕉(黄花)
垂直流潜流湿地 2	85	旱伞草 + 美人蕉(红花)
水平流潜流湿地 1	77	菖蒲
水平流潜流湿地 2	77	千屈菜
水平流潜流湿地 3	52.5	石菖蒲
表面流湿地 1	548	芦苇,水葱,香蒲
水平流潜流湿地 4	52.5	石龙瑞 + 水毛茛
水平流潜流湿地 5	77	黄花鸢尾
水平流潜流湿地 6	77	千屈菜
垂直流潜流湿地 3	53	亚菊

在湿地系统连续运行的第 9 天,取样测定进出水口重金属含量,测定指标包括铜、锌、砷、硒、汞、铬(六价)、铅,测定方法参照国家地表水环境质量标准规定方法^[7]。

复合型人工湿地系统对不同营养物质的去除效果利用 SPSS 16.0 统计软件进行显著性方差分析(ANOVA)。

2 结果

2.1 复合型人工湿地系统对不同营养物质的去除效果

受蒸中河河道水质变化的影响,湿地系统进水水质不稳定,进水主要水质参数变化范围为 TN 0.25 ~ 0.62 mg/L、TP 0.10 ~ 0.19 mg/L、COD_{Mn} 8.1 ~ 11.0 mg/L。根据《地表水环境质量标准基本项目标准限值》(GB3838—2002),该进水水质处于 III ~ V 类水。

2.1.1 复合型人工湿地系统对水体中氮的去除效果

复合型人工湿地进、出水中氮素营养物质浓度变化见图 2,从中可知:湿地系统对水体 TN 的去除效果不稳定,其中系统运行的第 5 天和第 9 天去除率较低,平均去除率为 44.11%,变幅 11.47% ~ 77.42%;湿地系统对氨氮的去除则比较稳定,但去除率较低,为 5.86% ~ 25.34%,在系统开放的第 9 天效果较差,去除率只有 5.86%,这可能与进水的氨氮浓度较低有关,其他时间测定的去除率都在 21.15% 左右,经过复合型人工湿地系统处理后的总氮和氨氮指标可达到地表水 II 类水质标准。湿地系统对硝态氮的去除效果比较明显,最高可达 75.97%,平均去除率为

52.86%,从图中可以看出,在系统连续运行的第 7 天,去除率反而比之前降低,这可能与进水硝态氮的浓度较高有关,其他时间的硝态氮的进水浓度都较低。湿地系统对亚硝态氮的去除率是 3 种形态氮中最高的,去除率平均高达 73.73%,变幅为 52.08% ~ 97.05%,且对亚硝态氮的去除比较稳定。

人工湿地去除氮的主要方式包括物理、化学和生物 3 个方面,物理方式为挥发、吸附,化学方式主要为氨化、硝化、反硝化和植物摄取^[8]。一般认为,表面流湿地通过湿地植物吸收、根系微生物降解的方式实现,潜流湿地以硝化、反硝化作用作为氮的主要去除机理。表面流湿地中沉水植物通过根系作用对营养物质吸收净化,可以对水质中营养物质的去除达到很好的效果^[9],而潜流湿地主要通过湿地植物的吸收和不同粒径的填料表面形成的生物膜来吸附、降解有机物和氮磷营养物质。湿地系统对总氮去除率不高,主要因为湿地系统的进水浓度较低,污染负荷较低。研究表明,低污染负荷的人工湿地对氮磷营养物质的去除率要低于高污染负荷^[10]。湿地系统对硝态氮和亚硝态氮的去除效果明显,这可能由于潜流湿地的面积大(占 43.3%),湿地进水污染负荷小,潜流湿地溶氧充足,湿地植物在此季节生长旺盛,植物通过蒸腾作用,加上湿地填料微生物活性较强,从而硝化和反硝化能力较强。硝态氮既可以被湿地中沉水植物群落直接吸收利用,也可以被潜流湿地填料中的微生物通过硝化和反硝化作用去除。

2.1.2 复合型人工湿地系统对磷的去除效果

湿地系统对总磷的去除效果明显(图 3),平均去除率为 49.46%,湿地运行初期,总磷的去除率只有 28.7%,随着系统的连续运行,去除率逐步升高。Tanner 等研究表明,潜流湿地运行初期对磷的去除率不高,有时甚至会出现负值,可能与湿地填料初期的磷的释放有关^[11],吴振斌也有类似报道^[12]。本试验虽然没有出现负值情况,但运行初期对磷的去除率低,与前人研究结果相符。人工湿地对磷的去除主要是通过湿地填料的吸附和微生物生物膜的降解作用来实现的^[13]。湿地系统潜流湿地填料为砾石,具有很高的磷吸附能力^[14],加上潜流湿地有效体积大(为 377.1 m³),因此,湿地系统对总磷的去除效果明显。尽

管湿地系统的表面流的水生植物占有面积很大,但植物对磷净化效果作用较小^[15]。湿地系统运行到第7天,进水总磷浓度达到地表水 IV 类标

准,但出水水质还能控制在 II 类,因此,湿地系统在稳定的情况下,尽管进水浓度可能升高,但出水水质仍然可以得到保证。

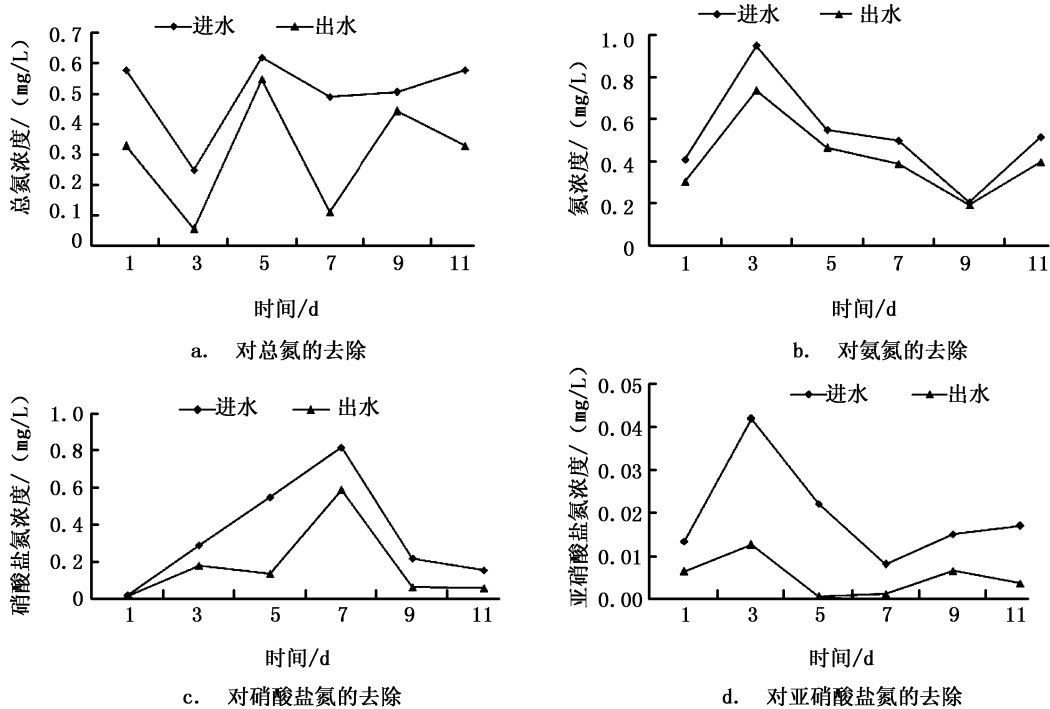


图2 湿地系统对总氮、氨氮、硝态氮和亚硝态氮的去除效果

Fig. 2 The removal effect on TN, NH₃-N, NO₂-N and NO₃-N in wetland system

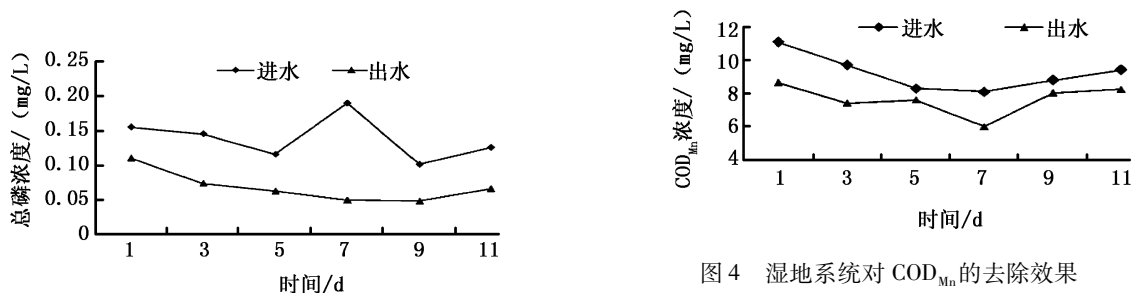


图3 湿地系统对总磷的去除效果

Fig. 3 The removal effect on TP in wetland system

2.1.3 复合型人工湿地系统对水体有机物(以 COD_{Mn}表示)的去除效果

湿地系统对有机物去除效果不显著(图4),去除率最高只有25.87%,出水水质达地表水 IV 类 COD_{Mn} 标准。湿地系统运行3天后去除率有所下降,之后又反弹,变化规律不明显。这可能与表面流湿地的沉水植物对水体中 COD_{Mn} 的去除效果不明显^[9]有很大关系。

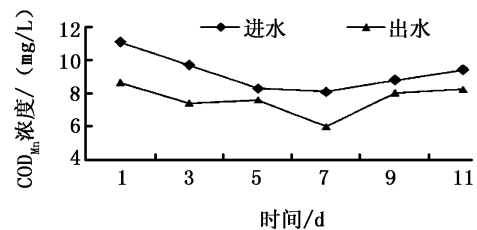


图4 湿地系统对 COD_{Mn} 的去除效果

Fig. 4 The removal effect on COD_{Mn} in wetland system

2.1.4 复合型人工湿地系统对水体中叶绿素 a (Chla) 的影响

如图5所示,湿地系统能够明显降低 Chla 含量,去除率为53.6%~84.0%,系统开放前5天,系统对 Chla 的去除率逐渐升高,5天以后去除率一直维持在80%以上。这说明,潜流湿地填料的过滤、沉降作用是 Chla 含量降低的重要原因,同时湿地系统中的沉水植物对浮游藻类有一定的抑制作用^[16];湿地系统进水 Chla 均值为26.43 μg/L,根据我国湖泊富营养化评价标准^[17],该水

体为中富营养型,出水 Chla 均含量为 $7.14 \mu\text{g/L}$, 属中营养型,因此,湿地系统可有效净化富营养化水体。

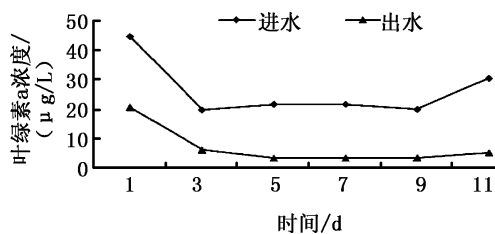


图5 湿地系统对叶绿素 a 的去除效果

Fig. 5 The removal effect on Chla in wetland system

2.2 湿地系统对重金属的去除效果

在湿地系统运行第 9 天,从系统的进、出水口分别取水样进行重金属的检测,并计算各个指标的去除率,如表 2 所示。

表 2 湿地系统对重金属物质的去除效果
Tab.2 The removal effect on heavy metal in wetlands system

指标	进水/mg/L	出水/mg/L	去除率
铜	0.003 36	0.002 51	74.7%
锌	0.001 76	0.001 5	85.3%
砷	0.002 6	0.000 55	21.2%
硒	0.000 21	0.000 084	40.0%
汞	0.000 056	0.000 017	30.4%
铬(六价)	0.001 09	0.000 45	41.3%
铅	0.002 36	0.000 79	33.5%

表 3 湿地系统不同水质因子进、出水的显著性差异检验

Tab.3 The significance difference test for different water quality before and after treatment in wetland system

显著性检验	总氮	氨氮	硝态氮	亚硝态氮	总磷	COD _{Mn}	叶绿素 a
F 值	4.498	0.735	1.317	7.786 *	19.800 **	7.178 *	15.816 **

注: * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; $df_1 = 1$; $df_2 = 10$ 。

3 结论

复合型人工湿地系统能有效地去除 N、P 等营养物质,处理低污染负荷的农业面源污染水体,总氮、总磷去除率可达 44.1% 和 49.5%,出水水质比进水可提高 1~2 个地表水水质等级;但对有机物质的去除率不高,仅为 16.8%;湿地系统对 Chla 的去除效率高达 75.8%。

复合型人工湿地系统在水力负荷为 $16.9 \text{ m}^3/\text{d}$,水力停留时间为 3.5 h 的条件下,系统对低污染负荷的河道水体的去除率不高,低污染负荷是影响湿地系统去除效果的主要因素。农业园区的湿地系统连续运行 10 d 后对水体营养物质的去

从表 2 中可以看出,进水重金属含量均较低,除汞浓度达到 II 类地表水汞的标准外,其他指标均小于 I 类地表水标准上限值。但是,尽管重金属含量低,湿地系统对铜、锌的去除效果还是非常显著,分别达到 74.70% 和 85.23%,对其他几种指标的去除率也较显著,湿地系统对汞的去除率为 30.36%,出水浓度为 $0.000\ 017 \text{ mg/L}$ 。经过复合型人工湿地处理,水体中重金属含量均达到国家地表水环境质量 I 类水质标准。研究指出,湿地植物(如美人蕉等)对金属铬有较好的去除能力^[18],湿地系统对汞的吸收主要通过植物体对汞的富集来实现^[19],本湿地系统中的湿地植物对重金属吸收富集以后,通过收割进行转移,从而达到移位生态修复的目的。以上结果表明,湿地系统能有效地去除水体中的重金属。

2.3 湿地系统对各水质因子进、出水的显著性差异检验

通过 SPSS 16.0 统计软件显著性方差分析得出,经湿地系统处理后,出水总磷和叶绿素 a 与进水相比呈极显著差异 ($P < 0.01$),亚硝态氮和 COD_{Mn} 呈显著差异 ($P < 0.01$),其他水质因子均无显著性差异。

除趋向稳定。

复合型人工湿地系统使灌溉用水中重金属物质含量的大幅下降,出水浓度大大低于 I 类地表水标准的上限,根据《温室蔬菜产地环境质量评价标准》(HJ333-2006),处理后的水完全符合温室蔬菜灌溉水环境质量标准,该人工湿地系统的建设不仅为农业面源污染实现了生态补偿,还可实现水资源的循环利用。

参考文献:

- [1] 李海鹏,张俊飏. 中国农业面源污染的区域分异研究[J]. 生态保护,2009,(4):43-45.
- [2] 潘少军. 农业面源污染亟待治理[N]. 人民日报,2008-4

- 15(10).
- [3] 朱兆良,孙波. 中国农业面源污染控制对策研究[J], 污染减排,2008,394:4-6.
- [4] 曹优明. 人工湿地对城市生活污水的净化研究[J], 水处理技术,2008,34(9):26-29.
- [5] 藉国东,孙铁珩,李顺. 人工湿地及其在工业废水处理中的应用[J], 应用生态学报,2002,13(2):224-228.
- [6] 张荣社,李广贺,周琪等. 潜流湿地控制暴雨径流中氮磷冲击负荷中试研究[J], 中国给水排水,2007,23(1):64-68.
- [7] 国家环保总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京:中国环境科学出版社,2002:123-207,344-391.
- [8] 卢少勇,金相灿,余刚. 人工湿地的氮去除机理[J]. 生态学报,2006,26(8):2670-2676.
- [9] 王丽卿,李燕,张瑞雷. 6 种沉水植物系统对淀山湖水水质净化效果研究[J]. 农业环境科学学报,2008,27(3):1134-1139.
- [10] 向长生,张彭义,卢少勇,等. 以马蹄莲为主体植物的人工湿地处理低浓度污水中试研究[J]. 生态环境,2007,26(5):1368-1371.
- [11] Tanner C C, Clayton J S, Upsdell M P. Effect of Loading Rate and Planting in Constructed Wetlands-II. Removal of Nitrogen and Phosphorus[J]. Wat Res,1993,29(1):27-34.
- [12] 吴振斌,陈辉蓉,贺锋,等. 人工湿地系统对污水磷的净化效果[J]. 水生生物学报,2002,25(1):28-35.
- [13] 帖靖玺,钟云,郑正,等. 二级串联人工湿地处理农村污水的脱氮除磷研究[J]. 中国给水排水,2007,23(1):88-96.
- [14] 郭本华,宋志文,李捷,等. 3 种不同基质潜流湿地对磷的去除效果[J]. 环境污染治理技术与设备,2006,7(1):110-113.
- [15] Mcjannet C L. Nitrogen and phosphorus tissue concentrations in 41 wetland plant: a comparison across habitats and functional groups [J]. Functional Ecology,1995,9(5):231-238.
- [16] 由文辉. 我国利用水生植物监测和净化污水的研究进展[J]. 环境科学动态,1993,(2):8-11.
- [17] 舒金华. 我国湖泊富营养化程度评价方法的探讨[J]. 环境污染与防治,1990,12(5):2-7.
- [18] 张超兰,陈文慧,韦必帽,等. 几种湿地植物对重金属铬胁迫的生理生化响应[J]. 生态环境,2008,27(4):1458-1461.
- [19] 王起超,刘汝海,吕宪国,等. 湿地汞环境过程研究进展[J]. 地球科学进展,2002,27(6):881-885.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0265 - 06

热塑挤压操作参数对低值水产蛋白 组织化制品物理特性的影响

杨 涛, 辛建美, 徐 青, 罗红宇

(浙江海洋学院食品与药学院, 浙江 舟山 316004)

摘 要:以北太平洋鱿鱼加工废弃的边角料为原料,采用双螺杆挤压技术,利用响应面分析方法研究了主要操作参数物料含水量、机筒温度和螺杆转速对鱿鱼蛋白挤出物的水分含量和堆积密度的影响,分别建立挤出物水分含量、堆积密度与操作参数的回归拟合方程。结果表明,物料含水量对挤出物水分含量的影响非常明显,两者呈现正相关关系,物料含水量和机筒温度的交互作用对挤出物的水分含量和堆积密度的影响均呈显著性;水分含量、堆积密度与操作参数的回归拟合方程的相关系数 R^2 分别是 0.952 和 0.819,拟合的统计模型具有较高的可信度。

关键词:热塑挤压;操作参数;响应面分析法;物理特性;北太平洋鱿鱼

中图分类号: S 985 文献标识码: A

Effect of extrusion processing on physical properties of texturized products in low value aquatic protein

YANG Tao, XIN Jian-mei, XU Qing, LUO Hong-yu

(Faculty of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China)

Abstract:The waste scrap from the North Pacific squid processing was used as raw material. Effect of extrusion process parameters on the physical properties of extruded squid protein using a twin screw extruder was studied employing response surface methodology. Twin extrusion cooking running parameters, feed moisture, barrel temperature and screw speed were examined as input variables. Meanwhile, as output variables, physical properties of the resultant extrudates included moisture and bulk density. Results showed that moisture content of extrudates was affected intensely by feed moisture which had positive correlation. Interaction of feed moisture and barrel temperature had significant influence on both water content and bulk density. Polynomial regression equations of process variables with two physical properties were obtained with $R^2 = 0.952$ and $R^2 = 0.815$, respectively. Both of regression equations were highly credible.

Key words: extrusion cooking; process parameter; response surface methodology; physical properties; North Pacific squid

低值水产蛋白的热塑挤压组织化作为一种 新技术,其产品物理特性的研究还不够完善。挤

收稿日期:2009-07-29

基金项目:浙江省科技厅优先主题项目(2007C13044);浙江省新苗人才计划项目(2008R40G2110029)

作者简介:杨 涛(1984-),男,硕士研究生,专业方向为海洋生物资源开发与利用。E-mail:yt286983209@126.com

通讯作者:罗红宇,E-mail:lisa8919@163.com

出物的水分含量会影响挤出物的后续加工、保藏等^[1],也关系挤出物的吸水率,吸水率越高组织化蛋白的弹性和韧性越高^[2]。堆积密度可以反映挤出物的膨化度,也可以反映出挤出物表面膨化构造情况^[3-4],堆积密度与挤出物膨化率成反比关系。水分含量和堆积密度直接影响挤出物的口感。

改变低值水产蛋白质的物理特性是研究挤压蒸煮组织化低值水产蛋白质的主要目标^[5],研究挤压操作参数对挤出物物理特性的影响是实现这一目标的前提。低值水产蛋白质组织化前后物性的改变与挤压机的操作参数是密不可分的^[6],因此,各操作参数对低值水产蛋白质挤出物物理性质的影响是该领域的重要研究内容之一。

研究的主要目的是探索鱼肉蛋白质在双螺杆挤压蒸煮过程中,主要操作参数即物料含水量、机筒温度和螺杆转速对挤出物的水分含量和堆积密度的影响^[7]。研究的3个操作参数各设5个水平,测定相应挤出产物的水分含量和堆积密度,分别建立挤出物水分含量与操作参数,挤出物堆积密度与操作参数的回归拟合方程。

1 材料与方法

1.1 材料

北太平洋鱿鱼边角料由中国水产舟山海洋渔业公司提供。要求在-18℃冻藏。

1.2 主要设备及仪器

SYSLG30-IV 双螺杆挤压机,济南赛百诺科技开发有限公司;HG63 水分自动测定仪,梅特勒-托利多公司;ZK 组织捣碎机,江苏省盐城市科学仪器厂;DGG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验仪器有限公司;BS110 精密电子天平,

北京赛多利斯有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 挤压工艺

首先将冷冻的鱿鱼边角料解冻,在70℃下分别烘至不同的水分含量,然后将烘干的鱿鱼边角料粉碎。启动双螺杆挤压机,待机筒温度和螺杆转速达到设定值并稳定运行时,开始喂料。

1.3.2 水分含量的测定

水分含量的测定采用重量法^[8]。

1.3.3 堆积密度的测定

堆积密度是测量一定容积下物料的质量^[9]。将挤出物烘干磨碎,取能通过6目而不能通过14目筛的颗粒,然后自然倾泻入100 mL量筒至刻度,再称量样品质量。堆积密度(bulk density, D_B)计算如下:

$$D_B = W/V \quad (1)$$

式中: V 为堆积容积(m^3); W 为样品质量(kg); D_B 为堆积密度(kg/m^3)。

1.3.4 操作参数对挤出物物理性质的影响

选择物料含水量、机筒温度和螺杆转速作为自变量,每个参数设置5个水平,分别以代码-1.682、-1、0、1、1.682表示,以挤出物的水分含量和堆积密度为目标函数,研究双螺杆挤压蒸煮过程中各个操作参数对组织化制品物理特性的影响^[10-11]。试验因素水平编码见表1。

1.3.5 统计学处理

本试验结果的分析采用SPSS 13.0,绘图采用Matlab 6.1。

2 结果

2.1 拟合模型的建立及其显著性检验

按1.3.4因素与水平设计试验方案,试验结果见表2。

表1 操作参数的响应面分析方法设计

Tab.1 Values assigned to process variables for response surface analysis

操作变量	编码	编码水平				
		-1.682	-1	0	1	1.682
物料含水量(%)	A	31.59	35	40	45	48.41
机筒温度(℃)	B	123	130	140	150	157
螺杆转速(Hz)	C	16.59	20	25	30	33.41

注:SYSLG30-IV型双螺杆挤压机螺杆转速换算公式为1 Hz=7.2 r/min。

表 2 响应曲面分析试验点安排及试验结果

Tab.2 Results and design of response surface analysis test

序号	变量			Y1	Y2
	A	B	C		
1	1	1	1	32.98	367.63
2	1	1	-1	29.11	359.62
3	1	-1	1	27.07	303.38
4	1	-1	-1	28.78	339.13
5	-1	1	1	21.82	324.75
6	-1	1	-1	21.68	326.13
7	-1	-1	1	21.75	314.25
8	-1	-1	-1	21.94	344.63
9	-1.682	0	0	19.81	370.89
10	1.682	0	0	31.23	317.52
11	0	-1.682	0	26.83	320.17
12	0	1.682	0	25.74	308.65
13	0	0	-1.682	26.28	318.23
14	0	0	1.682	25.62	303.69
15	0	0	0	23.51	373.13
16	0	0	0	23.78	369.75
17	0	0	0	24.01	370.34
18	0	0	0	23.69	373.01
19	0	0	0	24.26	372.71
20	0	0	0	24.31	370.51
21	0	0	0	23.67	371.39
22	0	0	0	23.59	373.21
23	0	0	0	24.88	369.88

注:Y₁ 为挤出物水分含量(%湿基);Y₂ 为挤出物堆积密度(kg/m³)。

根据表 2 数据进行多元回归拟合,获得挤出物水分含量(Y₁)和堆积密度(Y₂)对编码自变量物料含水量(%)、机筒温度(℃)、螺杆转速(Hz)的二次多项回归方程如下:

$$Y_1 = 23.975 + 3.658A + 0.309B + 0.073C + 0.804AB + 0.276AC + 0.739BC + 0.467A^2 + 0.738B^2 + 0.619C^2, P=0.001 < 0.01, R^2 = 0.952。$$

$$Y_2 = 372.056 - 4.062A + 2.961B - 4.538C + 16.978AB + 4.305AC + 7.430BC - 6.140A^2 -$$

$$17.202B^2 - 17.207C^2, P=0.001 < 0.01, R^2 = 0.819。$$

通过方差分析可得,本试验所选用的二次多项模型均具有高度的显著性,并且两个方程可信度较高,依据该拟合模型一方面可以根据操作参数预测挤出物的水分含量和堆积密度,另一方面也可以根据对挤出物水分含量、堆积密度的期望来设计操作参数。

对两个回归模型系数进行显著性检验,结果见表 3、表 4。

表 3 挤出物水分含量回归模型系数的显著性检验结果

Tab.3 Significance test of regression coefficient of extrudate moisture

系数项	回归系数	自由度	标准差	95% 置信下限	95% 置信上限	P 值
截距	23.975	1	0.303	23.320	24.630	<0.001
A	3.658	1	0.246	3.126	4.190	<0.001
B	0.309	1	0.246	-0.223	0.841	0.232
C	0.073	1	0.246	-0.459	0.605	0.771
AB	0.804	1	0.322	0.109	1.499	0.027
AC	0.276	1	0.322	-0.419	0.971	0.406
BC	0.739	1	0.322	0.044	1.434	0.039
A ²	0.467	1	0.228	-0.026	0.960	0.062
B ²	0.738	1	0.228	0.244	1.231	0.007
C ²	0.619	1	0.228	0.126	1.112	0.018

表 4 挤出物堆积密度回归模型系数的显著性检验结果

Tab.4 Significance test of regression coefficient of extrudate D_B

系数项	回归系数	自由度	标准差	95% 置信下限	95% 置信上限	P 值
截距	372.056	1	5.028	361.193	382.919	<0.001
A	-4.062	1	4.084	-12.885	4.762	0.338
B	2.961	1	4.084	-5.863	11.785	0.481
C	-4.538	1	4.084	-13.362	4.286	0.287
AB	16.978	1	5.337	5.448	28.507	0.007
AC	4.305	1	5.337	-7.224	15.834	0.434
BC	7.430	1	5.337	-4.099	18.959	0.187
A ²	-6.140	1	3.786	-14.319	2.039	0.129
B ²	-17.202	1	3.786	-25.381	-9.023	0.001
C ²	-17.207	1	3.786	-25.386	-9.028	0.001

由表 3 回归模型系数显著性检验结果可知,模型的一次项 A 极显著, B、C 不显著;二次项 B²、C² 显著, A² 不显著;交互项 AB、BC 显著, AC 不显著。由表 4 回归模型系数显著性检验结果可知,模型的一次项 A、B、C 均不显著;二次项 B²、C² 显著, A² 不显著;交互项 AB 显著, BC、AC 不显著。

2.2 操作参数对挤出物水分含量的影响

由图 1、图 2 可以明显的看出,挤出物的水分含量随着物料含水量的增加而增加。图 1 显示,机筒温度对挤出物水分含量无明显的影响,而图 3 显示,机筒温度对挤出物水分含量的影响波动较大,随着温度的上升,挤出物水分含量呈先降后升的波动变化,尤其是在较高的机筒温度和较高的螺杆转速条件下,挤出物水分含量较高。图 2 显示,螺杆转速对挤出物水分含量基本无影响,而图 3 显示,在低温区,挤出物水分含量随螺杆转速的升高而降低,而在高温区,挤出物水分含量随螺杆转速的升高而升高;曲面图还显示,机筒温度与物料含水量、机筒温度与螺杆转速之间的交互作用显著,而螺杆转速与物料含水量之间的交互作用不显著。结论与拟合模型的分析一致。物料含水量和机筒温度对挤出物水分含量的影响与刘俊荣等^[9]有关鱼肉蛋白质双螺杆挤压的研究报道相似,而螺杆转速略有不同,原因可能在于所选取的试验原料不同,从而使研究结果产生偏差。

2.3 操作参数对挤出物堆积密度的影响

图 4 显示,在较高的物料含水量和较高的机筒温度区间,堆积密度较大。图 5 显示,物料含水量和螺杆转速之间也呈现类似的结果,中等偏上的物料含水量表现出较大的挤出物堆积密度。

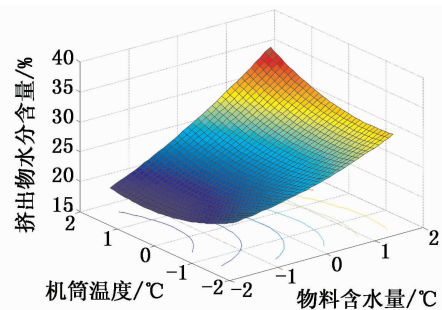


图 1 物料含水量和机筒温度对挤出物水分含量的影响

Fig.1 Effect of feed moisture and barrel temperature on extrudate moisture

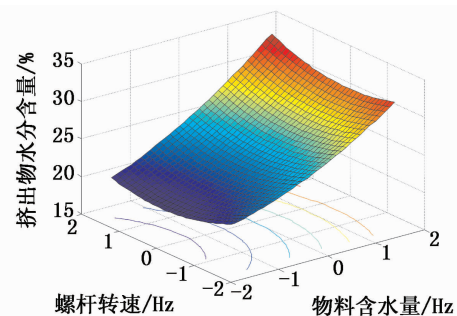


图 2 物料含水量和螺杆转速对挤出物水分含量的影响

Fig.2 Effect of feed moisture and screw speed on extrudate moisture

图 4 和图 6 显示,较大的挤出物堆积密度都出现在中等腔体温度范围内,原因可能由于在此条件下,物料在机筒内还未达到充分的熔融状态,使物料在腔体内进行质构重组的程度降低^[12-14],因此挤出物离开腔体时膨化度较小,结构较致密,从而产生较大的堆积密度。图 5 和图 6 结果

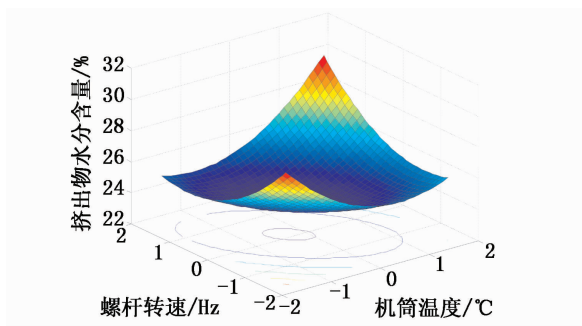


图3 机筒温度和螺杆转速对挤出物水分含量的影响

Fig. 3 Effect of barrel temperature and screw speed on extrudate moisture

均显示,在中等螺杆转速的条件下,挤出物堆积密度最大。曲面图还显示,机筒温度与物料含水量之间的交互作用显著,而物料含水量与螺杆转速、螺杆转速与机筒温度之间的交互作用不显著。结论与拟合模型的分析一致。物料含水量对挤出物堆积密度的影响与刘俊荣等^[9]有关鱼肉蛋白质双螺杆挤压的研究报道相似,而机筒温度和螺杆转速略有不同,堆积密度峰值出现的范围均低于其报道。

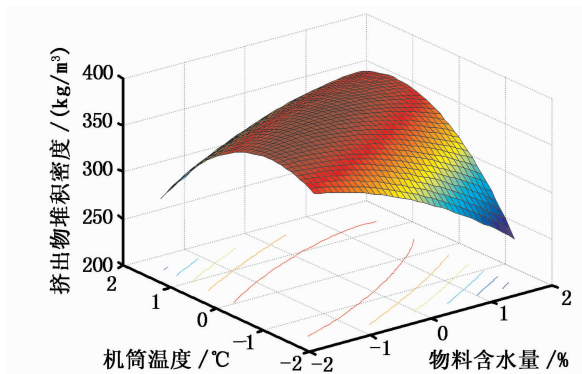


图4 物料含水量和机筒温度对挤出物堆积密度的影响

Fig. 4 Effect of feed moisture and barrel temperature on bulk density of extrudate

3 结论

物料含水量对挤出物水分含量的影响非常明显,两者呈正相关关系,物料含水量和机筒温度的交互作用对挤出物的水分含量的影响也十分显著。3个操作参数虽然对挤出物堆积密度的影响都不太显著,但物料含水量和机筒温度的交

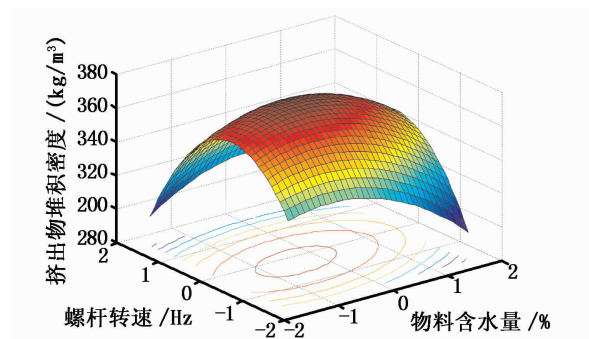


图5 物料含水量和螺杆转速对挤出物堆积密度的影响

Fig. 5 Effect of feed moisture and screw speed on bulk density of extrudate

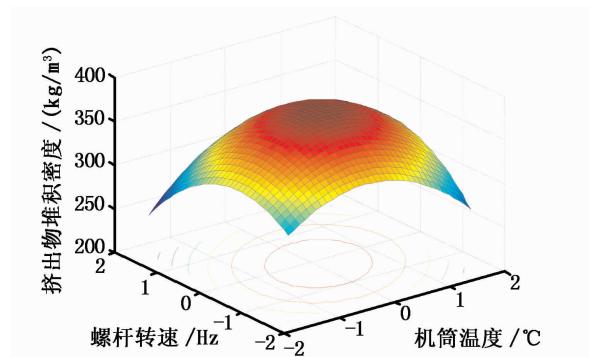


图6 机筒温度和螺杆转速对挤出物堆积密度的影响

Fig. 6 Effect of barrel temperature and screw speed on bulk density of extrudate

互作用对挤出物堆积密度影响非常明显。

挤出物水分含量和堆积密度与操作参数之间分别建立的回归拟合方程相关性好,具有一定的可信度。因此利用该拟合模型一方面可以根据设计的操作参数预测挤出物的这两个物理特性,另一方面也可以根据对产品物理特性的期望来设计这3个操作参数。

参考文献:

- [1] Sumathi A, Ushakumari S R, Malleshi N G. Physico-chemical characteristics, nutritional quality and shelf - life of pearl millet based extrusion cooked supplementary foods [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2007, 58(5): 250 - 362.
- [2] 张余,魏益民. 高水分组织化花生蛋白产品干燥和复水特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 35(5): 97 - 100.
- [3] 周相玲,胡立明,陈玉霞. 大豆组织化蛋白加工工艺对其物理性能影响分析[J]. 郑州工程学院学报, 2004, 25

- (1): 77-78.
- [4] 薛军,杨林燕,周惠明. 挤压膨化对莲子粉糊化度及容积密度影响的研究[J]. 食品科学,2007,28(5): 50-52.
- [5] 刘俊荣,薛长湖,伶长青,等. 鱼肉蛋白质热塑挤压组织化中过程参数的优化模型[J]. 水产学报,2005,29(5): 700-705.
- [6] 刘俊荣,汪秋宽,叶宇明,等. 鱼肉脱脂对双轴挤压组织化的影响[J]. 水产学报,1999,23(3): 283-289.
- [7] Shivendra Singh, Shirani Gamlath, Lara Wakeling. Nutritional aspects of food extrusion: a review[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2007,42: 916-929.
- [8] 吴谋成. 食品分析与感官评定[M]. 北京:中国农业出版社,2002: 49-50.
- [9] 刘俊荣,薛长湖,俞微微,等. 鱼肉蛋白质挤压过程中操作参数对挤出物水分含量及堆积密度的影响[J]. 水产学报,2006,30(6): 818-823.
- [10] 王钦德,杨坚. 食品实验设计与统计分析[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003: 384-434.
- [11] 毕金峰. 苹果变温压差膨化干燥工艺优化研究[J]. 食品科学,2008,29(11): 216-218.
- [12] 左进华,董海洲,武建堂,等. 挤压蒸煮对豆粕体外消化率的影响[J]. 食品与发酵工业,2008,34(5): 124-127.
- [13] 武建堂,左进华,董海洲. 双螺杆挤压对花生蛋白体外消化率影响研究[J]. 粮食与油脂,2008,(10): 25-28.
- [14] 杨绮云,李德溥,徐克非. 操作参数对双螺杆挤压机挤压效果影响的研究[J]. 食品科学,2001,22(2): 14-17.

欢迎订阅 2010 年《上海海洋大学学报》

《上海海洋大学学报》为上海海洋大学主办,面向全国的以海洋、水产科学技术为主的综合性学术刊物。前身为《上海水产大学学报》,2009 年起因学校更名而变更刊名。主要刊登研究论文,少量刊登综述、评述、简讯,并酌登学术动态和主要书刊评介等。目前学报是《中国科学引文数据库》来源期刊,《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊,万方数据-数字化期刊群全文收录期刊,中国科技论文统计源核心期刊,水产渔业类中文核心期刊。

本刊为双月刊,大 16 开,国内外公开发售。每期单价:10.00 元。国际标准刊号:ISSN 1674-5566,国内统一刊号:CN31-2024/S。国内邮发代号:4-604,国际发行代号:4822Q。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅,学生享半价订阅优惠。

编辑部联系地址:上海市临港新城沪城环路 999 号,上海海洋大学 201 信箱

邮政编码:201306

联系人:张海宁,孙海燕

联系电话:021-61900229

传 真:021-61900227

E-mail: xuebao@shou.edu.cn

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0271 - 06

校园网络安全与准入身份认证

胡光民, 柯立新

(上海海洋大学现代信息与教育技术中心, 上海 201306)

摘要:随着信息化技术在高校的普遍应用,校园网络的安全显得尤为重要。而传统的校园网络一般都重出口轻内部接入,在网络出口处部署了许多网络安全设备,如:防火墙、入侵检测以及流量控制设备等,但在校园网内部的接入安全却没能很好重视。就目前校园网发生的安全事件,90%是来自学校内部,使得校园网局部瘫痪的情况时有发生,网络管理人员十分被动、疲于奔命。为使校园网络的安全化被动封堵为主动防范,大量减少校园内部的网络安全事件发生。从而使校园网络在安全、可控、可用和畅通的环境中运行,有必要在网络的接入层加强安全管理。准入身份认证技术在校园网络安全中起到了很重要的作用,而准入身份认证的WEB化更有助于在高校数字化建设中部署和推进。

关键词:身份认证;网络准入;802.1x;WEB安全插件

中图分类号: TP 393 **文献标识码:** A

Campus network security and access authentication

HU Guang-ming, KE Li-xin

(*Modern Information and Education Technology Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China*)

Abstract: As information technology is widely used in colleges and universities, the security of network on campus is more and more important. However, in traditional campus network, people always focus more on the exit than the inner access. A number of network security devices are set up at the exit of the network, such as firewall, IDS, Flow Control devices, while the security of inner access is always being ignored. Almost 90 percent of campus network security affairs come from the campus. Partial paralysis of the network happens quite often, and the administration of networks becomes very passive. In order to change this situation to initiative guard to decrease the number of security affairs on campus, it is very necessary to strengthen the control of access. The technology of access authentication has a very significant effect on maintaining the safety of campus network, and also the technology of access authentication is very helpful to improve the digital construction in college.

Key words: authentication; network access; 802.1x; WEB security plug-in

随着计算机网络技术的快速发展以及因特网在人们的日常生活中日益普及,计算机网络已成为人们的一种工作和生活的平台,人们利用这一平台进行信息交流与信息共享,并通过计算机

网络来完成各种工作。然而,计算机网络给我们带来生活和工作便利的同时,因其网络的开放性,使其容易受攻击等安全问题日显突出,诸如网络黑客、病毒泛滥、垃圾信息等利用网络进行

收稿日期:2009-10-09

基金项目:上海海洋大学新校区弱电建设项目(B-9400-08-004)

作者简介:胡光民(1957-),男,工程师,主要从事计算机网络管理方面的研究。E-mail:gmhu@shou.edu.cn

非法活动直接或间接对人们的生活和工作带来了许多负面影响。如何确保校园网络的安全可靠、运行稳定是学校网络管理部门面临的首要课题。

1 校园网络安全与管理现状

由于互联网的开放性、自身的脆弱性、攻击的普遍性和管理的困难性等综合因素使得互联网的安全存在灾难性的隐患。而校园网的规模和用户群又有其独特性。

1.1 速度快和规模大

高校校园网是最早的宽带网络,普遍使用的以太网技术决定了校园网最初的带宽不低于 10 Mbps,目前普遍使用了百兆到桌面、千兆甚至万兆实现园区主干互联。校园网的用户群体也比较大,少则数千、多则数万人。高校学生一般集中住宿,因而用户群比较密集。正是由于高带宽和大用户量的特点,网络安全问题一般蔓延快、对网络的影响比较严重。

1.2 用户计算机种类繁多不便管理

比如学生的电脑一般是学生自己花钱购买、自己维护的,有的院系是统一采购、有技术人员负责维护的,有些院系则是教师自主购买、没有专人维护的。这种情况下要求所有的终端系统实施统一的安全策略(比如安装防病毒软件、设置可靠的口令)是非常困难的。比较典型的现象是,用户的计算机接入校园网后感染病毒,反过来这台感染病毒的计算机又影响了校园网的运行,于是出现终端用户和网络管理员相互指责的现象。更有些计算机甚至服务器系统建设完毕之后疏于管理,甚至被攻击者攻破作为攻击的跳板、肉机,变成攻击试验床也无人觉察。

1.3 活跃的用户群体

高等学校的学生通常是最活跃的网络用户,对网络新技术充满好奇,勇于尝试。如果没有意识到后果的严重性,有些学生会尝试使用网上学到的、甚至自己研究的各种攻击技术,可能对网络造成一定的影响和破坏。

1.4 开放的网络环境

由于教学和科研的特点决定了校园网络环境应该是开放的、管理也是较为宽松的。比如,企业网可以限制允许 Web 浏览和电子邮件的流

量,甚至限制外部发起的连接不允许进入防火墙,但是在校园网环境下通常是行不通的,至少在校园网的主干不能实施过多的限制,否则一些新的应用、新的技术很难在校园网内部实施。

1.5 有限的投入

校园网的建设和管理通常都轻视了网络安全,特别是管理和维护人员方面的投入明显不足。在中国大多数的校园网中,通常只有网络中心的少数工作人员,他们只能维护网络的正常运行,无暇顾及、也没有条件管理和维护数万台计算机的安全。

1.6 盗版资源泛滥

由于缺乏版权意识,盗版软件、影视资源在校园网中普遍使用,这些软件的传播一方面占用了大量的网络带宽,另一方面也给网络安全带来了一定的隐患。比如,Microsoft 公司对盗版的 XP 操作系统的更新作了限制,盗版安装的计算机系统今后会留下大量的安全漏洞。另一方面,从网络上随意下载的软件中可能隐藏木马、后门等恶意代码,许多系统因此被攻击者侵入和利用。

1.7 校园网拓扑结构重出口轻接入

传统的校园网络结构一般都比较重视出口的安全管理以及核心应用服务器的安全管理,轻视和疏于对接入终端的安全管理。而对于目前校园网络的攻击一般都是由校园用户终端发起的。这些攻击大量是终端用户无意的,比如计算机中了病毒,也有少量有意使用黑客工具对服务器进行攻击。常见的病毒如 ARP 攻击和欺骗、DDos 攻击。ARP 攻击和欺骗将会使整个接入网段瘫痪,用户的 IP 地址被发起 ARP 攻击的主机所占用,使其他用户无法接入网络,如图 1 所示;DDos 攻击是用户终端成为肉机对特定网络或服务器发起攻击,使的某个网络的带宽堵塞或服务器的资源耗尽而拒绝服务,如图 2 所示。

2 校园网准入身份认证

目前校园网采用的身份认证主要有 2 种形式。一种是基于校园网出口处的网关型的 WEB 身份认证,另一种是基于 802.1x 的接入交换机端口的身份认证^[1]。基于校园网出口处的网关型的 WEB 身份认证只能对用户访问互联网做身份认证及审计,而对于其在校内网内部的行为不能

做控制和审计。基于 802.1x 的接入交换机端口的身份认证能对接入用户的身份合法性认证和审计,但如果是单纯的 802.1x 的接入交换机端口的身份认证对接入用户的合法性作了认证,但对接入的终端设备对网络的有意或无意的攻击却不能防范^[2]。这里所论述的网络准入身份认证是从网络接入终端的安全控制入手,结合身份认证服务器,安全策略服务器和网络设备,以及第三方软件系统(杀毒软件和系统补丁服务器),完成对接入终端用户的强制认证和安全策略应用,从而达到保障整个网络安全的目的^[3]。

```
telnet@BigIron Router#sh arp 202.121.69.0 255.255.255.0
```

IP Address	MAC	PAddress	Type	Age	Port
1 202.121.69.7	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
2 202.121.69.10	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
3 202.121.69.29	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
4 202.121.69.46	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
5 202.121.69.63	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
6 202.121.69.67	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
7 202.121.69.79	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
8 202.121.69.82	0016.e09e.084f		Dynanac	0	2/4
9 202.121.69.83	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
10 202.121.69.84	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
11 202.121.69.88	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
12 202.121.69.89	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
13 202.121.69.90	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
14 202.121.69.91	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
15 202.121.69.103	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
16 202.121.69.123	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
17 202.121.69.133	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
18 202.121.69.134	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
19 202.121.69.135	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
20 202.121.69.144	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
21 202.121.69.146	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
22 202.121.69.153	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4
23 202.121.69.155	0014.2ab6.5719		Dynanac	0	2/4

图 1 ARP 攻击截图

Fig. 1 ARP Attack Screenshot

```
telnet@BigIron Router(config-vlan-100)#
```

RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4053 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4062 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4070 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4078 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4088 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4096 D=80
RX 202.121.74.110	->58.212.36.59	TCP	S=4477 D=5143 uAPrsf
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4103 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4104 D=80
RX 61.143.224.148	->202.121.74.120	TCP	S=21 D=1319 uAPrsf
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4105 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=4106 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3685 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3686 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3687 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3688 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3689 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3690 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3691 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3692 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3693 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3694 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3695 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3698 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3696 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3697 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3699 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3700 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3701 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3702 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3703 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3704 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3705 D=80
RX 172.19.2.72	->219.153.45.97	UDP	S=3706 D=80

图 2 DDos 攻击截图

Fig. 2 DDos Attack Screenshot

准入身份认证是一种主动式网络安全管理技术,用户终端在接入网络之前,必须先接受身份识别和安全状态评估,使得只有符合安全标准的终端才准许访问网络,有助于确保拒绝不符合策略的设备接入,将其放入隔离区加以修复,或者仅仅允许其访问有限的资源。

终端安全状态是指操作系统补丁、第三方软件版本、病毒库版本和是否感染病毒等反映终端

防御能力的状态信息。另外,安全状态是动态的,这意味着终端系统会随着时间迁移,可能由安全状态转变为不安全状态。用户上网过程中,如果终端发生感染病毒等安全事件,准入控制系统可实时隔离该“危险”终端^[4]。

通过网络准入身份认证后,将大为改善校园网络的运行环境,减少了接入终端有意或无意地对校园网络的各种攻击,比如 ARP 欺骗和攻击^[5]、DDos 攻击^[6]等等。

3 准入身份认证的实现

3.1 准入身份认证组成

准入身份认证由 6 个部份组成:接入交换机;身份认证服务器;安全策略管理平台;入侵检测 IDS;用户认证客户端;第三方软件系统(杀毒软件和系统补丁服务器)

3.2 准入身份认证工作原理

用户使用网络前,首先由接入交换机和身份认证服务器对其进行身份认证。

身份认证服务器检查用户身份,批准或拒绝用户的接入请求。

安全管理平台学习用户的身份、主机环境等信息,并将制定好的策略下发到用户认证客户端。

用户认证客户端对用户主机进行检查,并将检查结果反馈回安全管理平台服务器。

IDS 对网络安全事件进行检测收集,将安全事件反馈回安全管理平台。

安全管理平台对 IDS 反馈的安全事件进行统一管理,将安全事件关联至用户。

安全管理平台对每个用户的检测结果和安全事件进行处理,生成相应的策略,并将 IP 地址与用户机的 MAC 地址作动态绑定,然后下发至交换机执行。

通过以上准入身份认证系统的管理和控制,接入端对网络的安全危害大为减少。

4 准入身份认证的前后对比

在没有准入身份认证部署前,网络中的 ARP 病毒几乎天天发生,如图 1 所示。网络管理人员为查找攻击源主机疲于奔命,由于不能主动地去安全防御,只能被动地去查找攻击源,校园网中

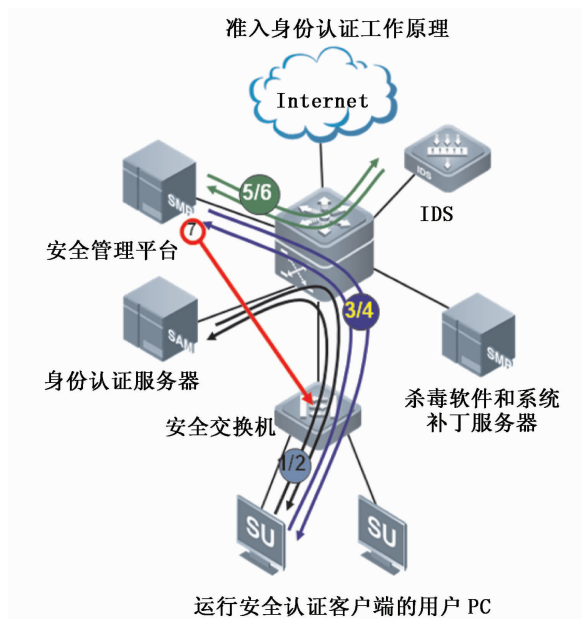


图3 准入身份认证原理图

Fig. 3 Schematic diagram of access authentication

部分网段网络瘫痪频繁发生就不足为奇了。

在部署准入身份认证系统后,网络的安全隐患大为改观,用户的计算机在上网时主机系统都进行了检查,确认没有安全隐患后才准接入网络。在发现客户计算机有危险隐患时就及时提示用户,并将其放入隔离区加以修复,对特别严重的攻击就提示后直接阻断。并且准入身份认证系统具有审计功能,其日志对有意的黑客攻击的定位提供了可能。由于部署了主动式安全防范机制—准入身份认证系统,大大提高了校园网的安全机制,也大大减少了网络管理人员疲于奔命的状况。

5 WEB 准入身份认证

前述的准入身份认证系统的部署对整个校园网的安全起到了非常大的作用,然而对用户来

说却增加了不少麻烦,因为每个用户上网必须安装定制的安全客户端程序,这对于初次使用校园网的新生来说怎样获取安全客户端程序就成了问题了,另外对于临时来学校开会的外来人员的上网也成了问题。我们先前提到的 WEB 网关型出口身份认证,因其不能对接入实现身份认证,然而它却能很方便的实现出口身份认证。如果将准入身份认证实现 WEB 化,用户就可直接使用浏览器进行准入身份认证,这就大大方便了用户,通过 WEB 准入身份认证,实现动态自动的 IP + MAC + 端口绑定、防 ARP 欺骗、防 DHCP 欺骗、访问控制(ACL),对于校内师生还可做 WEB 控制插件下发,以实现对客户计算机安全的检查。具有 WEB 准入身份认证就实现了可控性和安全性、易用性和兼容性、高性能和高可用、智能性和融合性的完美结合。

身份认证是网络准入的基础、网络准入是真实地址的基础、真实地址是安全可信的基础。只有接入层的安全得到了保障,整个校园网的安全才能得以实现,网络安全需要准入身份认证,方便用户使用需要 WEB 准入身份认证。

参考文献:

- [1] 谭丽莎,刘威. 浅谈 802.1x 认证技术在校园网中的应用[J]. 网络与信息,2008,10:31-31.
- [2] 段海新. 802.1x 技术和准入控制技术[J]. 中国教育网络,2008,(2):12-13.
- [3] 魏克,段海新. 身份认证管理与准入控制[J]. 中国教育网络,2005,(9):13-15.
- [4] 李兴国,雷若寒. 利用准入控制实现校园网的安全管理[J]. 微计算机信息,2008,24:47-48.
- [5] 何云强,符兴华. 高校机房病毒及 ARP 欺骗的应对策略[J]. 信息系统工程,2009,6:94-97.
- [6] 曾文权,向友君,尚敏. DDos 攻击原理及防御方法分析[J]. 计算机技术与发展,2009,19(7):156-158.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0275 - 06

基于 web 的智能网管系统设计与实现

柯立新^{1,2}, 陈家琪¹, 吴开军²

(1. 上海理工大学光电信息与计算机工程学院, 上海 200093;
2. 上海海洋大学现代信息与教育技术中心, 上海 201306)

摘要:将简单网络管理协议(SNMP)的思想、NetFlow 技术、PHP 多线程技术融入到网络性能监测系统中,通过对性能数据的采集、存储及分析,设计并开发了一套智能化网管系统。系统采用 PHP 语言开发,分为数据采集、性能数据库、数据分析及处理、数据显示、阈值设定与警告及用户管理 6 大模块,不同的模块实现不同的功能。数据采集程序采用了多线程机制对性能数据进行采集,多线程采集各种性能数据,允许一个程序同时有效地执行多个任务,既增强了程序的功能,又提高了程序的性能。数据分析模块主要负责采集端口组、TCP/IP 组、UDP 组的数据,并结合相关公式就可以计算出我们所需要的实时和历史数据性能指标值。信息显示模块按条件查询方式将端口组、IP 组、TCP 组、UDP 组的性能指标显示出来。实际应用证明,该系统能够监控网络的实时变化,并将异常及时地通过邮件、短信等方式反馈给网络管理员,达到了预期目的。

关键词:SNMP; NetFlow; 智能网络管理; 多线程; PHP; OID

中图分类号: TP 393.06 **文献标识码:** A

Design and implementation of intelligent network management system based on web

KE Li-xin^{1,2}, CHEN Jia-qi¹, WU Kai-jun²

(1. School of Optical-Electrical and Computer Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;

2. Modern Information and Education Technology Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: SNMP protocol, NetFlow technology, multi-threading technology of PHP are introduced into performance monitoring system in this paper. A set of intelligent network monitoring system is designed and developed by collecting, storing and analyzing performance data. PHP language is used to develop the system. It is divided into six modules, such as data acquisition, performance databases, data analysis and processing, as well as data display, threshold settings and warnings and user management. Different modules achieve different functions. Data acquisition program uses multi-threading mechanism to collect a variety of performance data and allows the program to effectively perform multiple tasks simultaneously, so that it not only enhances the program's function but also improves the performance of the program. Data analysis module is mainly responsible for collecting data from the port group, TCP/IP group, UDP group and other groups, and combined with the relevant formulas, the real-time and historical data that we need can be calculated.

收稿日期: 2009-11-04

基金项目: 上海海洋大学青年基金(A-2501-08-0127)

作者简介: 柯立新(1980-), 男, 硕士研究生, 专业方向为网络安全。E-mail: lxke@shou.edu.cn

通讯作者: 陈家琪, Tel: 021-65684675, E-mail: cjq.126@126.com

Information display module displays performance of the port group, IP group, TCP group, UDP group and other groups according to the conditions-search ways. Practical application shows that the system has achieved the expected goal by making overall performance more reasonable and improving the efficiency of operation of the campus network greatly through real-time monitoring of performance data, and also reporting the exception to the network manager timely.

Key words:SNMP; NetFlow; intelligent network management; multi-threading; PHP; OID

随着计算机网络技术的迅猛发展,现代企业对于网络的依赖性越来越强烈。同时伴随着网络用户的不断增加和对企业级应用需求的不断提高,企业对于网络设备硬件的投入不断加大,于是各种各样的网络设备不断加入到企业局域网中,网络规模不断扩大,结构越来越复杂,功能也越来越强。网络管理已经成为网络系统运行好坏的关键。在网络发展的同时,人们更多关注网络设备的状态,关注网络中是否出现异常。设计一套高效的智能型网络性能监测管理系统尤为必要。其中网络管理协议是实现网络监测和管理功能必不可少的部分,简单网络管理协议(SNMP)由于其简单性,协议容易更新,并且可以方便地扩展功能以满足用户未来的管理需求,而被众多厂商支持。但是 SNMP 也有其自身的缺陷,它只能提供比较粗糙和简略的网络信息,这些信息只能让管理者发现部分问题,难以进一步对出现的问题采取相应的解决措施。为了克服上述存在的问题,本文在研究 SNMP 协议基础上,结合思科的 NetFlow 技术,设计并实现了一个针对企业网应用的网络性能监测管理原型系统。该系统采用了 PHP 语言进行编写,通过定时采集、监测和分析网络性能参数,使得网络整体性能更趋于合理,实现了对各种网元设备的统一管理,提高了网络运行的效率。

1 概述

1.1 简单网络管理协议(SNMP)

简单网络管理协议(SNMP)^[1-2]是 TCP/IP 协议簇的一个应用层协议,主要包括管理信息结构(SMI),管理信息库(MIB)以及 SNMP 协议。通过 SNMP 管理工具可以收集 MIB 信息,在管理控制台呈现给管理员这新信息报告设备的特性、数据吞吐量、通信超载和错误等,并能根据实际情况控制端口的通断等。

1.2 NetFlow 技术

NetFlow 技术是基于网流而发展起来的,是 1996 年由 Cisco 公司开发的一套网络流量统计技术。目前该技术已成为事实工业标准,被包括 Juniper、Extreme 和 Foundry 等大多数主流网络设备提供商的支持^[3]。NetFlow 技术利用流信息,可依据源 IP 地址、目的地 IP 地址对数据包进行包个数、字节数的统计。其根据网络数据包传输时连续相邻的数据包通常是往相同目的地地址传送的特性,配合 Cache 快取机制,利用标准路由模式处理数据流的第一个 IP 数据报,生成 NetFlow 缓存,随后同样的数据基于缓存信息在同一个数据流中进行传输,不再匹配相关的访问控制等策略,同时 NetFlow 缓存包含了随后数据流的统计信息。NetFlow 目前主要有 v1、v5、v7、v8、v9 等 5 个版本。本文所使用的是 NetFlow v5。

2 智能网管系统设计

本系统的目标是监测网元设备(路由器、交换机、主机)以获得网络性能参数,通过监测和分析网络性能参数^[4],不仅能直观地反映整个企业主干网络的动态变化和负载状况,而且还可以通过历史数据的统计和分析确定利用率趋势,预先发现网络运行瓶颈,并将异常及时的通过邮件、短信等方式反馈给网络管理员,从而避免网络饱和带来的低性能,更好的保障整个网络的顺畅。

2.1 系统总体架构

通过对网络管理、SNMP 协议和 NetFlow 技术的研究,设计和构建了基于 B/S 架构的智能网络管理系统结构模型(如图 1 所示),分为数据采集、性能数据库、数据分析及处理、数据显示、阈值设定与警告及用户管理 6 大模块,不同的模块实现不同的功能。各模块结构如图 1 所示。

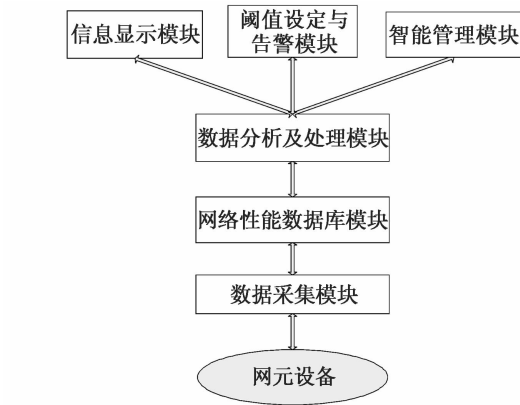


图1 智能网管系统体系结构图

Fig. 1 Intelligent network management system architecture

2.2 系统各模块功能

数据采集模块的功能是完成性能数据的实时采集,并将采集的数据存入性能数据库,其数据采集具体流程如图2所示。数据采集模块是性能监测系统的第一个环节,是数据分析和显示的基础,数据采集的准确性、实时性是影响企业网络的关键因素。为了加快采集的反应速度和更好的利用系统资源,此数据采集程序采用了多线程机制对性能数据进行采集,多线程采集各种性能数据,允许一个程序同时有效地执行多个任务,既增强了程序的功能,又提高了程序的性能,有了多线程的支持,对数据采集就可以并发进行,此程序每隔两分钟对数据进行一次采集、存储。性能数据库模块主要用于将数据采集到的性能数据存入相应的数据库中,以供统计分析和显示模块等使用。因为网络流量大,且变化较快对数据库的稳定性和速度要求较高,另外考虑到跨平台,因此本文选用 MySQL 数据库来存储原始流量信息^[5]。

数据分析模块主要用于采集端口组、TCP/IP 组和 UDP 组的数据,并结合相关公式就可以计算出所需要的实时和历史数据性能指标值,比如接口利用率、丢包率、错误率和转发率等。利用率反映了信道利用程度,利用率高说明信道资源得以充分的利用,而过高的利用率预示着信道可能成为潜在的网络瓶颈,有必要进行升级。接口的输入输出丢包率反映了被丢弃报文所占总报文的百分比,长期的高丢包率说明没有充分的处理报文^[6]。

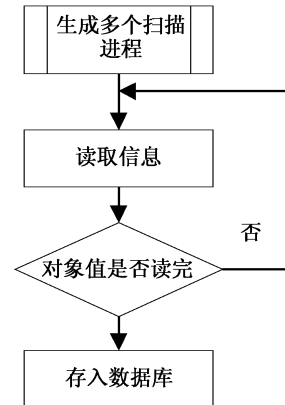


图2 数据采集流程图

Fig. 2 Data acquisition process

信息显示模块包括实时显示子模块和历史数据显示子模块。实时显示子模块显示方式为利用即点即现方式和按条件查询方式将端口组、IP 组、TCP 组和 UDP 组的性能指标实时显示出来。即点即现方式就是将鼠标放到网络拓扑图的某条链路上就能动态显示该链路的多项性能指标;按条件查询方式就是用户通过输入 IP 地址、端口号、选择指标(例如端口利用率)和图形(折线图、点状图和柱状图)就可以查询所有与性能相关的实时数据,包括接口发送的字节数、接口接收到的字节数、接口利用率、输入/输出丢包率和 IP 吞吐率等。历史数据显示子模块显示方式为利用按历史条件查询方式将端口组、IP 组、TCP 组和 UDP 组的性能指标以折线图或饼形图的形式显示出来。按历史条件查询方式就是输入设备名称或 IP 地址,选择时间、端口号及性能指标就可以查询过去任意与性能指标有关的性能图形。

阈值设定及告警模块是由于影响性能管理的性能指标很多,如丢包率、交换机内存利用率和吞吐率等,因此有必要对这些性能指标进行阈值设置以方便网络性能出现问题时可以及时向管理员告警^[7]。但是决定把阈值设置为多少是件很困难的事情,一般情况下,可以通过试验找到一个合理的数值^[8]。当设备的性能指标超过阈值时,系统会发出告警并通过邮件或短信告知管理员。

智能管理模块是当网络出现异常,系统会采用一些相应的策略来保证网络尽可能的正常运行^[9-10],如尽可能保证比较重要的服务,使损失

降低到最小。

3 实验结果及应用

3.1 系统运行环境

本系统以网络中心接入层和汇聚层交换机及一台 ftp 服务器作为监测设备,编程语言采用 PHP 语言,数据库采用 MySQL 数据库,开发工具采用 Zend Studio 6.1.0。本系统采用标准的 SNMP 协议结合 NetFlow,系统开发采用 PHP 语言,网络监控模块采用了功能强大的 RRDTool,最后布署在 ubuntu 9.04 server 上。

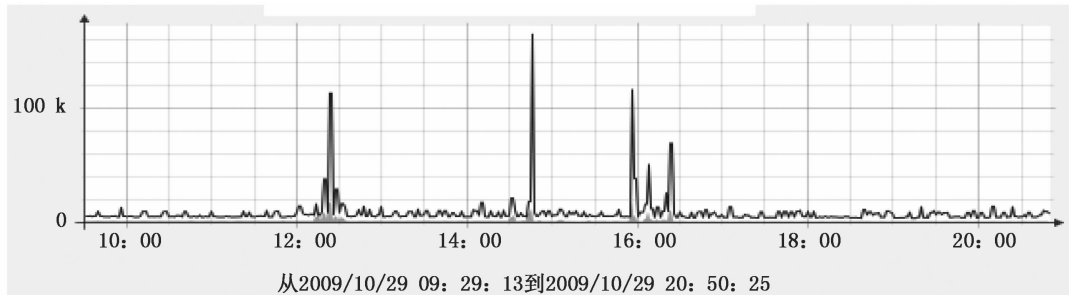


图3 交换机端口流量曲线

Fig.3 Switch port traffic curve

通过阈值与告警模块,能看到设备的状态(如图4),及时发现网络问题,预防很多网络故障,当网络发生故障时,系统会自动发送电子邮件报告给网络管理员,实验中设置收件箱为139邮箱,邮件会以短信方式发到手机。



图4 设备状态图

Fig.4 States of devices

4 结束语

本文设计并开发了一套基于 web 的智能网络管理系统,该系统采用 PHP 语言编写,通用性好,可扩展性强,使用简捷、直观、方便,实验证明能实时监控网络设备和链路状态并智能处理一些简单网络故障。但是如何应用人工智能、神经网络相关理论来增强网络管理中的主动性、智能性,使网络可以自动及时地调整自身状态,减少

3.2 性能显示

系统的性能显示就是将采集到的性能数据以图形方式表现出来,PHP 拥有强大的动态图形创建功能,这也是系统选用 PHP 作为开发语言的重要原因之一。性能显示可以是实时的或历史的,通过校园网性能监测实时显示图(如图3所示),可以看出链路流量、链路利用率情况以及整个主干网络拓扑的动态信息,以便网络管理员能更好的调控网络流量,使网络整体流量趋于合理,从而提高网络的整体性能。

人工参与,还有待我们进一步研究。

参考文献:

- [1] 马卫国. 计算机网络管理[M]. 北京:机械工业出版社,2006.
- [2] 杨家海,任宪坤. 网络管理原理与实现技术[M]. 北京:清华大学出版社,2000.
- [3] 李兴国,费玲玲. 基于 Netflow 的流量分析技术研究[J]. 微计算机信息,2008,19(5):198-200.
- [4] 孙晋成,马力,殷春霞. 基于 SNMP 的校园网性能监测系统的设计与实现[J]. 西安邮电学院学报,2009,14(3):87-91.
- [5] 张华忠,王勇. 多媒体网络实时监控平台的设计与实现[J]. 小型微型计算机系统,2000,21(7):770-772.
- [6] 翟有甜. NetFlow 原理以及在互联网流量分析中的应用[D]. 上海:华东师范大学,2006:15-30.
- [7] 张慧丽. 基于 NetFlow 的异常流量智能检测引擎设计[J]. 计算机时代,2006,(9):17-19.
- [8] 方匡钿,姚奇富. 基于统计预测算法的新型网络性能预警系统[J]. 计算机仿真,2007,(8):106-109.
- [9] 汪精明,赵晓峰,王平水. 基于 NetFlow 的蠕虫病毒监控系统设计与实现[J]. 计算机技术与发展,2007,(5):25-28.
- [10] 蒲天银,秦拯. 基于 Netflow 的流量异常检测技术研究[J]. 计算机与数字工程,2009,(7):115-118.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0279 - 05

论建高水平特色大学条件下学报发展路径的创新

王星, 卢怡

(上海海洋大学学报编辑部, 上海 201306)

摘要:随着高水平特色大学建设目标的确立,学报要继续发挥学校教学科研的学术导向和学校科学发展的支撑作用,也必须相应探索新的发展路径。学报联系高校实际从办刊理念创新开始,抓住机遇,转变观念;内容结构的创新,既要保持特色凸现优势,又要注重反映本校教学、科研和管理的成果;办刊形式的创新,延伸编辑功能;编辑主体的创新,只有创新的知识结构才能领略创新的理论;编辑手段的创新,要充分用好互联网,加强与作者读者的联系;保障机制的创新,建立优秀论文成长的机制、探索编校质量考核机制和完善学报与教学科研的互动机制等。学报要在学校发展中,把学报办成高水平有特色的刊物,促进学校的科学发展。

关键词:高水平;特色;大学;学报;发展路径;创新

中图分类号: G 237.5 文献标识码: A

Studying on the innovation of journal's development path under the conditions of high-level distinctive university

WANG Xing, LU Yi

(Editorial Office for Journal of Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: With the construction goal establishment of high-level characteristic university, journal should still play a role of academic orientation of teaching and research and a supporting role in scientific development, and must explore a new way of development. Journal should relate the practicality of university, from the beginning of publication management concept innovation, seize the opportunity, change the idea; the innovation of the content structure should maintain the advantage in characteristics, as well as pay attention to reflect the achievements of the teaching, researching and controlling; the innovation of the publication mode, extending editing function, the innovation of the editorial subject should be conducted; only innovative knowledge structure can appreciate the theory of innovation; the innovation of the edited method should use the internet fully, enhance the connection between authors and readers; ensure the innovation of the mechanism, establish the mechanism of the excellent thesis, explore the check mechanism of the editor's proofreading quality, and improve an interactive mechanism between journal and teaching and research. Journal should run the high-level and distinctive magazine in the development of the university, to promote the scientific development of the university.

Key words: high-level; distinctive; university; journal; development path; innovation

收稿日期: 2009-10-10

基金项目: 中国科协精品科技期刊工程项目(QK2009001-B)

作者简介: 王星(1957-),女,助理研究员,硕士,主要从事马克思主义基础理论、思想政治教育及期刊编辑方面的研究。E-mail: xwang@shou.edu.cn

现在全国很多高校都提建设高水平特色大学或有特色的高水平大学。毫无疑问,建设高水平特色大学应该是学科建设、教学质量、学校管理和校园文化建设等都是高水平的,而且各校不同,具有自身的办学特色。为此,高校学报也应该更新观念,创新发展途径,适应学校发展定位,办成高水平有特色的刊物,保持与学校的发展目标相一致,为学校的科学发展提供有力的支撑。

1 学报办刊理念的创新

特色型大学原来大都属于行业性大学,改革发展中,经过“建一流大学”的热潮后,在保持与行业天然联系的同时,顺应社会经济发展要求,准确定位,逐步走出了一条在坚持与行业有关的主体特色学科优势明显的同时,多学科协调发展的道路,建设在国内外有重要影响,特色鲜明,高水平,多科性的教学研究型大学。为此,学报应抓住机遇从办刊理念创新开始探索与此相适应的新的发展路径。学报的创新水平在一定程度上代表了高校的创新能力。

1.1 明确方向,增强适应与导向意识

高校学报确立适应意识是学校新一轮发展的需要,是编辑人员从心理适应、能力适应到创新发展的过程。根据学校新的定位,学报如及时调整方向,聚焦新的目标,大胆张扬新的理念,发挥学报是反映校内外最新研究成果的学术期刊,是反映本校科研成果的窗口与阵地的服务功能,同时,进一步增强学报的导向意识,发挥高校学报对科技成果转化中的传播、中介、催化的作用,为学校的发展做出更大的作为。

1.2 认真规划,树立精品与品牌意识

高校在进行学科调整,重新布局之际,正是学报树立精品意识,实施品牌战略之时。理念能左右人的行为,要统一编辑人员的思想。学报的精品与品牌的打造首先要打造办刊人的思想、锤炼办刊人的理念。大凡品牌都是靠精品来维系的,精品是一个特定的文化概念。精品意识也就是质量效益意识,它贯穿于编辑过程的始终。真正树立起适时的新理念,它将成为激发人的斗志、鼓舞人的精神的催化剂。

2 学报内容结构的创新

高水平是指学校从教学、学科、科研、管理和

校园文化建设等各方面都是上水平的。学报有责任维护已经上水平的方面,也需要关注有潜力的方面,更要有慧眼发现新兴的方面,形成自己刊物内容的特色。要注重社会反映和社会效应,提升社会价值。

2.1 突出优势学科,办出学报特色

特色彰显的就是质量和水平。学科建设涉及人才培养、教学研究、队伍建设和学校管理等一系列问题,是高校的一项根本性任务。行业性高校在对应本行业时都凝聚了一批学术骨干,凝练出一些优势特色学科。高校学报的质量取决于该校学科建设的水平,学报应抓住优势特色学科,为学校优势特色学科的发展提供稳定的平台。学术研究是一种从必然求自由的创造性劳动,学术上的创新是学报发展的原动力。高校学报要真正发挥导向作用,最重要的一点就是要坚持导向与创新相结合,对所刊登的内容要有个性和特色的安排。注重发现、培育和扶持新的学科生长点。

2.2 反映本校的教学科研和学生管理等方面的成果

高校学报与行业性的专门刊物不同,专门刊物的读者是纵向性的,而高校学报的读者是横向性的。学报是高校教师创造新知识,获取新知识,实现教学内容和学生管理更新的一个重要源泉,有责任反映学校教师在教育教学方面的改革探索成果,同样可以将其培育成品牌栏目,作为学报的新亮点。科研成果转化为教学内容和管理工作需要一个消化吸收的过程,可一旦转化就具有稳定性,产生效果。学报要做推波助澜的工作。学报应成为师资培养、特别是教师科研能力培养的一个重要途径。优秀新人的脱颖而出,教师在职称评定、课题申请、学位攻读等事项上大都能依靠在学报发表的成果,这是学报的职责和成就。强化发展特色,协调发展综合,以特色带动综合,以综合强化特色的学科发展思路,也是学报的发展思路。

2.3 吸收校外有创新的高质量论文,搭建校内外学术优势互补平台

引入校外名家的稿件,把学报办成开放性的期刊是科学的发展路径。“通过引入高质量的外稿,在学报中交锋、交流、碰撞,可以改变学报所

发表论文的学缘关系,防止学术上的近视病,刺激并推动本校教学科研的发展”^[1]。学报也是服务于社会、指导科学实践的学术刊物,应该根据社会的需要不断地改变学报本身的面貌,从栏目设置、知识广度、服务空间等不断适应社会发展的变化,不断地改变和提高学报本身质量的标准,使校内外学术论文在学报上进行广泛的交流,互相启发,甚至共同研究。学报要为现实服务,就要对当前改革实践中提出的新问题进行研究,及时地指导科研和生产的发展,以增加学报的实践性,有利于最大限度地实现学报的社会效益,实现对人类进步和科技发展的重大的社会价值^[2]。

3 学报办刊形式的创新

形式脱离特定的内容难免会魂不附体。同时,形式也有其相对的独立性和独特的魅力。当与内容相结合的创新的办刊形式产生,会使刊物具有跨越发展的生命力。

3.1 与企业 and 政府部门联合办刊,为高校产学研搭建平台

大学与社会的发展处于良性互动,这是现代大学发展具有动力和活力的表现。产学研合作作为大学与社会发展互动中最重要的形式及桥梁,在知识经济和高新技术领域发挥着越来越重要的作用^[3]。学报是高校扩大科研、教学与社会对接的重要窗口,在促进具有特色的产、学、研相结合的道路上,成为知识创新、推动科学技术成果向现实生产力转化的重要力量。通过联合办刊,构建以高校学报为纽带,联结高校、企业和政府部门,把理论问题、现实问题和政府决策联系起来,推进高水平特色大学建立以科技创新成果产业化为核心的产学研连动机制,为企业和政府决策提供高质量、高效益的服务。

3.2 建立学术合作单位,促进高校的学科发展

开放性是中国特色社会主义理论体系的宝贵品质,是当今的特色。高校学报可以采取“走出去,请进来”的办法,邀请一些与本校特色或优势学科相对应的其他高校的强势学科单位作为学术合作单位。也可以邀请一些相关的科研院所或企业、政府部门作为学术合作单位。甚至可

以邀请本校是培育学科,而对方是优势学科的单位作为合作单位。还可以与境外、国外的高校、科研院所合作。双方签定合作协议。这样,学报可以做到有规划有目的不定期地刊登一些高质量的外稿,扩大教师的视野,提升高校学报的影响力,促进学科又好又快地发展。

4 学报编辑主体性创新

编辑主体是编辑行为的实施者,编辑主体性强调的是一种编辑的责任意识和一种工作能动性,是编辑工作中的以我为主的自我意识^[4]。编辑实践活动是编辑主体意识的生成基础,是编辑主体性的实现途径^[5]。

4.1 学报编辑主体要在选题上创新

在市场经济条件下,期刊同样面临着优胜劣汰、适者生存的局面。学报编辑主体意识的自觉即是学报创新的基因,编辑主体要拓展意识,开辟坦途。多深入学校各学科和科研机构调研拟出一批课题,或请学科领军人物出题,主动遴选课题,有意识地邀请一些专家学者为学报撰稿,设计专题或栏目,引导作者为学报出精品创品牌。编辑主体的创新,最主要表现在选题的创新,策划的超前,标题的出彩,编辑应不断增强主体性、预见性、创造性,完成日常栏目选题规划,真正从自在走向自为。学报走在高校整体改革和发展的前头,这才是科研兴校的具体体现。传统学科与新兴学科相结合时会产生出具有生命力的新学科。编辑要抓住这一特点,从编辑学术的特有视角去观察专业学科的发展潜力,去挖掘、发现、培养和扶持新的学科生长点。

4.2 学报编辑主体要在知识结构上创新

在交叉学科和新兴学科不断出现的今天,对学报编辑原有的知识结构提出了挑战。学报编辑要做科研成果的鉴别者和选择者,就必须对各部门新兴学科的知识感兴趣并有所了解,否则就不能对新科研成果给出正确判断,从而错过或混灭有价值的观点和稿件。“只有自主的人才会焕发出劳动的热情,增强创造需要,精心分析自己的客观环境,计算和权衡活动的结果,并为此唤醒自身沉睡的潜能,把全部身心投入到活动中去,创造更多的客体价值”^[6]。没有创新的知识结构,就无法领略创新的理论。因此,学报编辑的

知识结构、思想水平和学术能力的高低,决定了学报的科学发展路径。兵无常势,水无常形,编辑要与作者掌握好互动时机,与审稿专家达成一定程度上的默契与长期战略合作关系,增长自己的才干,成为学者型编辑。

5 学报编辑手段的创新

信息技术的迅速发展,给编辑出版事业创造了变革条件。神奇的网络技术赋予了传统的传媒方式与编辑方式以新的活力与内涵,成为编辑事业向现代化迈进的新动力^[7]。

5.1 充分利用现代化手段办刊是信息时代的需要

互联网的诞生,传媒形态的变化,改变了人们的工作方式和信息获取方式,也给高校学报的运行机制创新带来了无限生机,结束了学报纸上编辑的工作,进入了广阔的机上编辑空间。在纸上编辑过程中,能利用的资源是人工的有限的,一般除了资料室和图书馆存有的书籍外,别无索取。而进入信息数字化后,信息量成百倍的增长,内容无所不有,获取信息的途径也越来越快捷。互联网的开放性、流动性和多元性等特征,给作者的个性张扬提供了有利的基础,而编辑也可以方便地按编辑的要求在机上编辑中驰骋,大大提高了工作效率。

5.2 建好学报网站,提升投稿、审稿等全方位的编辑功能

在网上构建、调整和整合各种资源,及时公布组稿计划和意向,让更多的作者(特别是从事该方面研究而又未与编辑部建立联系的作者)可随时了解。同时还可获得读者的相关反馈信息。编辑还可随时在网上组织有关的学术讨论,通过网络与作者和读者实现实时互动,摆脱时间和空间的限制,在此基础上可以使原创造进一步逻辑化、规范化^[4]。网络的超容量性有助于编辑“控制总量”,“盘活存量”,“提高质量”,坚持以质量为出发点和落脚点,不断创新编辑手段。编辑要善于与作者协调好关系,并介绍有潜力的作者与更多的优秀作者认识,扩大作者的视野,强化作者间的互相推广意识;要有记者的敏锐思维和锐利眼光,充分利用先进手段,为更多读者正在受到学报刊发论文的启发后进行更深入研究,从而

进行再创造再开发的服务^[8]。通过网络可以提高审稿的准确度、提高细节方面的学术把关的业务技能、实现学术信息的交流^[9],推进高水平特色大学的发展和社会的进步。

6 学报保障机制的创新

学报随着高水平特色大学的内涵建设的不断深化,需要创建可持续发展的长效机制,增强学报的竞争力和影响力。

6.1 建立使优秀论文成长的机制

学报是高校内外学术交流的平台,在一定程度上反映了本校的科研水平,对高校教学和科研的发展,对高校科研人才的发现和培养,都发挥着不可估量的作用。针对目前高校学报普遍存在优秀稿源不足的现象,创新使优秀论文成长的机制,如在论文审稿过程中,建立作者自我评审机制,这种评审工作并不仅仅是编辑和审稿专家的事情,其中“作者的自我评审其实颇为重要,因为一个严肃的作者是论文所涉及的学术领域的重要专家之一,其所作的关于创新因素与创新水平的自我评定是重要的依据”^[10]。作者在投稿时向编辑部提交自我审稿意见,有助于编辑和审稿专家的审稿。尤其是校名更改后,确定建设高水平特色大学的目标,使新兴学科和交叉学科的出现,有些作者的稿件要寻找真正意义上的同行专家审稿一时还很困难。据介绍,为弥补同行专家评价的局限性,从2000年开始,《美国医学杂志》联合其他一些医学杂志,要求每位作者陈述他们在研究中所作出的贡献^[11]。

6.2 探索编校质量量化考核机制

精编细校,加强编校工作,是提高学报质量的重要关节点。量化考核机制将编校质量纳入编辑人员的年终考核及奖惩,营造编校工作特色化的良好氛围。对每一期稿件由当期责任编辑对每一篇发排稿件建立一份档案,设计并填写编校差错记录表。各校次人员对“交叉校对、差错记录与认定”的互动办法,实行全程、全员监管,最后由责任主编通读定版,核红定稿由当期责任编辑组织实施。刊物出版后编校质量汇总表由编辑部主任公布并保存,作为对每位编辑年终编校质量考核的依据。同时要关注学报编辑的整体合力,这样,一则可以激发内动力,使自身内部

形成强大的凝聚力,发挥其综合实力和整体优势;二则可以产生规模效应,通过组织内有效的管理,充分实现所有成员的价值,发挥每一个体的优势,形成 $1 + 1 > 2$ 的团体竞争力^[12]。

6.3 完善学报与教学科研的互动机制

高校学报是聚焦和展示现代科学理论和科技成果的载体,为本校的教学科研人员赢得了学术发言权,创建了一个与外界进行学术交流的平台,为开展科研学术争鸣提供了园地。反过来,没有教学与科研的成果,就没有学报的正常发展。没有高质量的教学科研成果,就没有高质量的学报。学报与教学科研息息相关,二者的互动是必然的。因此学报编辑人员应眼观六路,耳听八方。积极关注学校发展过程中的各个方面。要主动参与学校教学评比、科研评估、经验介绍等活动,努力收集学校教师获得重大科研项目 and 项目结题的信息,为日后有针对性的约稿和创建特色栏目掌握第一手材料。高校科技成果转化现实生产力,宣传工作是至关重要的,科技成果鉴定会等宣传形式耗资大,传播面窄,而学报是一种既经济又易于保存,宣传面又广的传播媒体^[13]。

改革创新是时代的最强音,同样也贯彻在学报的各项工作中。胡锦涛同志在党的十七大报告中反复强调创新问题,“创新”一词出现多达50次^[14]。“学报是高校开展教学研究的重要信息源,也是各种创新知识信息传播和交流的重要园地。它以一种作为携带大量新知识和信息的特殊商品,通过发行和交流向社会广泛传播,读者从中获得启发,把学报发表的新见解、新观点、新材料、新方法应用到自己的学术研究和教学中,或开展更高层次的科学研究,或对学生加

强新知识、新技术的教育,推动高校的学术创新、知识创新和教育创新”^[15]求实创新,强化特色,为学报带来了良好的发展环境,也为高水平特色大学的新一轮发展作出更大贡献。

参考文献:

- [1] 吕淑珍. 充分发挥高校学报在学科建设中的作用[J]. 长春工业大学学报:高教研究版, 2006, 27 (1):120.
- [2] 杜晓马. 高校学报的作用及社会价值[J]. 华北工学院学报:社会科学版, 2003, 19 (2):98.
- [3] 王维, 吴宏元, 胡艳婷. 现代大学制度中产学研合作的研究与实践[J]. 辽宁教育研究, 2006, (8):6.
- [4] 潘照新. 论网络时代编辑的主体性[J]. 辽宁大学学报:哲学社会科学版, 2004, 32(3):95.
- [5] 刘芳. 论学报编辑的主体意识及其创新[J]. 四川档案, 2006, 131(3):43.
- [6] 袁贵仁. 马克思主义哲学原理[M]. 北京:北京出版社, 1999:155.
- [7] 刘成法. 学报编辑手段现代化滞后原因浅析[J]. 内蒙古师大学报:哲学社会科学版, 2000, 29(6):115.
- [8] 高东娟. 高校学报对科技成果转化的传播媒介作用[J]. 中山大学学报论丛, 2003, 23 (3):181.
- [9] 臧莉娟. 论网络时代高等学校学报责任编辑的学术责任[J]. 沈阳农业大学学报:社会科学版, 2009, 11(4):441 - 443.
- [10] 周露阳. 论审评学术论文创新因素的指标体系 [J]. 编辑学报, 2006, 18(1):68.
- [11] 董秀. 应加强国内医学文章刊出的管理 [J]. 编辑学报, 2006, 18(5):375.
- [12] 张小娟. 机制的创新与人格魅力[J]. 编辑之友, 2000, (6):11.
- [13] 王星, 卢怡. 论新时期高校学报发展的实践与思考[J]. 福建论坛, 2009, (4):112.
- [14] 胡锦涛. 在中国共产党第十七次全国代表大会上的报告 [N]. 人民日报, 2007 - 10 - 25(1).
- [15] 苗相甫. 充分发挥学报功能, 促进科研教学工作[J]. 南都学坛, 2006, 26(4):1.

文章编号: 1674 - 5566(2010)02 - 0284 - 05

论电影 *The Visitor* 的片名翻译

刘略昌^{1,2}, 周永模¹

(1. 上海海洋大学外国语学院, 上海 201306 ;
2. 上海师范大学人文与传播学院, 上海 200234)

摘要:电影融科技和艺术为一体, 电影片名翻译介于实用翻译和文学翻译之间。翻译时需要首先认清电影片名的这一杂合性, 进而在准确传递影片内容的基础上, 使译名满足标题应有的各项功能。从词义来看, 2008 年法国多维尔电影节获奖影片 *The Visitor* 译为“不速之客”, 侧重意想不到的出现或不请自来, 是个瞬间性的动作, 而“过客”则强调短暂出现继而迅速消失, 指的是一过程, 侧重的是结果。“不速之客”和“过客”不同的译名体现了译者在创造性叛逆中不同的翻译选择。“不速之客”琅琅上口, 富有中国传统文化韵味。不过比较而言, “过客”的译名更能传达 *The Visitor* 的主题思想, 且简洁含蓄, 具有较强的感染力, 更好地起到了广告宣传功效。

关键词:电影片名翻译; 杂合; 词义; 创造性叛逆; 不速之客; 过客

中图分类号: H 315.9 **文献标识码:** A

On the translation of movie title —— *The Visitor*

LIU Lue-chang^{1,2}, ZHOU Yong-mo¹

(1. College of Foreign Languages, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. College of Humanities and Communications, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: The movie is the combination of techniques and art. The translation of movie titles is the hybrid of practical translation and literary translation. The translator should get a clear picture of the hybridity of movie titles, thus making the translated name more acceptable as a title based on conveying the theme. As for the translation of the movie —— *The Visitor*, the word meaning of “bu su zhi ke” emphasizes the aspect of being unexpected or uninvited, which is an action; while “guo ke”, a process, stresses the aspect of being transient, which emphasizes the outcome. The different translated terms reveal different translating strategies that the translators apply in the creative treason. “bu su zhi ke” sounds sweet, with a special flavor of Chinese traditional culture. But comparatively speaking, “guo ke”, more concise and fascinating, can better convey the theme of *The Visitor* and produce certain effect in giving publicity to the movie.

Key words: translation of movie title; hybrid; word meaning; creative treason; “bu su zhi ke”; “guo ke”

电影是当代社会最具影响力的艺术形式之一, 它能广泛地普及文化, 影响不同层次的受众。

译制片作为特殊的电影品种, 为千千万万苦于不懂外语、但却渴望更好地了解异域文化的人们打

收稿日期: 2009-10-22

基金项目: 上海海洋大学人文社科基金(A-0211-08-0360)

作者简介: 刘略昌(1978-), 男, 讲师, 在职博士, 主要从事英美文学、比较文学和翻译方面的研究。E-mail: lcliu@shou.edu.cn

开了一扇窗户。无论是汉译片还是外译片,语言的翻译问题都无法避免。而在其中,电影片名的翻译是“重中之重,起到了关键性的导视作用”^[1]。

然而,在引进外来电影蔚然成风的今天,片名翻译的整体状况却不容乐观。电影片名的翻译不是没有引起学术界的重视,许多学者纷纷撰文发表评论,这些探讨无疑对人们深入了解电影片名翻译起到了筚路蓝缕之功。但这些剖析却往往受制于特定翻译理论的偏颇,凸现了电影片名翻译中的某一纬度而不及其余,或大多更为侧重从技巧层面来探讨电影片名的翻译,而对电影片名的独特性质语焉不详。电影片名的翻译依旧存在巨大的研究空间。本文仅以 2008 年法国多维尔电影节获奖影片 *The Visitor* 为例,认为要想更好地从事电影片名翻译,译者需要首先认清电影以及电影片名翻译独特的杂合性,进而在准确传达影片内容的基础上,使片名翻译满足标题应有的各项功能。

1 电影和电影片名翻译的杂合性

“‘杂合’系由英语中 hybrid 一词翻译而来,表示由于两方或多方相互影响、相互作用而形成的新的一方。这个新的一方具有原来各方的一些特点,但也有一些新的特点,与原来各方既有千丝万缕的联系,又有显著的区别”^[2]。杂合作为一种现象,在自然和社会科学的许多领域极为常见。从杂合这一视阈出发,叩问何为电影、电影片名翻译性质为何的时候,一些看来不是问题的问题却猛然浮现于水面,引起人们更多的深刻思考。

1.1 电影的杂合性

电影“是一门综合艺术,是科技与艺术的混血儿”^[3]。在所有的艺术样式中,电影和电视诞生得最晚。其它艺术诞生在科学技术尚不发达的时代,而影视艺术诞生的时候,科学技术已经比较发达了。更确切地说,倘若科学技术没有发展到一定的阶段,影视艺术是不可能产生的。根据周星主编的《电影概论》,关于电影“我们可以从物质和美学两个方面来加以界定。物质上的电影是根据‘视觉暂留’原理,运用照相(以及录音)手段,把外界事物的影像(以及声音)摄录在胶片上,通过放映(以及还音),在银幕上造成活

动影像(以及声音),以表现一定内容的技术。而美学上的电影则指电影艺术,即以电影技术为手段,以画面和声音为媒介,在银幕上运动的时间和空间里创造形象,再现和反映生活的一门艺术”^[4]。作为艺术的电影,物质基础是技术。电影艺术与技术,如同互为表里的双生面貌而并肩存在,难以割离。

1.2 电影片名翻译的杂合性

如同电影融科技和艺术于一身一样,电影片名的翻译也是一种杂合。它既不完全是实用翻译,也不完全是文学翻译,而是实用翻译背后隐藏着文学翻译。关于实用翻译,法国翻译理论家让·德利尔(Jean Delisle)说道,实用翻译是“以传达信息为目的,运用语用学的原则来翻译实用性文本。它特别区别于传达有较强情感意义和美学意义的文学翻译”^[5]。而文学翻译的目的则是“彰显不同的艺术原创风格和异语文化色彩,提倡文化的多元发展,但应用翻译绝非亦然”^[6]。

从表面来看,实用翻译与文学翻译似乎泾渭分明,水火不容。但两者之间毕竟存在一些交叉的模糊地带:“应用文本类型多样,问题跨度很大,它一头可以与文学文体相连接,另一头接近严谨的法律体”^[6]。电影片名翻译恰恰就横跨在应用翻译和文学翻译之间,它仿佛是产品的商标、个人的名片、文章的标题,对于电影往往起到画龙点睛的作用。在谈到标题翻译时,方梦之认为,“标题是篇章的‘眼睛’……标题凌驾于篇章之上,但植根于篇章之中。只有以篇章为翻译单位,把整个篇章作为翻译思维的基点,标题翻译才能臻以完善”^[7]。

由此可以看出,电影片名翻译应植根于整个电影故事的深厚土壤中,同时又要顾及片名的风格特征以及承担的各项功能:电影片名是“对电影内容及主题思想的浓缩概括,片名字数不应过多。文字要求优美、生动、言简意赅,具有强烈的感染力和吸引力,同时应满足目的语多层次文化背景的需求”^[1]。电影片名具有四大功能:“第一,信息传播功能。也就是凸显影片内容,帮助观众更好地理解原片。第二,表情功能。奠定影片感情基调,以强烈的抒情、惊险或喜剧氛围感染观众。第三,审美功能。以语言的优美流畅、生动形象打动观众,造成观众审美愉悦。第四,

广告功能。就是吸引观众,增加票房收入”^[8]。所以,优秀的电影片名应简洁凝练地概括影视片内容,言简意赅地揭示主题思想,并能隽永深长地激发受众的丰富联想。电影以及电影片名特有的杂合性,为我们批判性地认识电影 *The Visitor* 的片名翻译提供了思维的指南。

2 “不速之客”翻译的缺失及“过客”翻译的补足

2008年9月,由美国著名导演托马斯·麦卡锡(Thomas McCarthy)执导的影片 *The Visitor* 轻而易举地将第34届法国多维尔电影节的桂冠收入囊中。该片随之引发了我国的密切关注,许多影迷网友更是发出了如潮的好评。目前国内一般将该电影的片名译为“不速之客”,这似乎多少有些不妥,将其译成“过客”更为切合电影的主旨。

2.1 “不速之客”、“过客”词义辨析

关于“visitor”一词,*The New Oxford Dictionary of English* 将其解为“a person visiting a person or place, especially socially or as a tourist.”^[9]; *Webster's New World College Dictionary* 也指出,“Visitor is the general term for one who comes to see a person or spend some time in a place, whether for social business, or professional reasons, or for sightseeing, etc.”^[10]。两本影响较大的英语词典对“visitor”的解释大同小异,比较类似于汉语的中性词“访客”。

让我们再来分别看看几本比较权威的汉语词典对“不速之客”和“过客”两词的释义。

《汉语大辞典(1)》指出:“不速——未受邀请而突然来临,不速之客——没有邀请而自己来的客人”^[11];《中华成语大词典》对“不速之客”的解释为:“不速之客——速:邀请。不请自来的客人,指意想不到或突然到来的客人”^[12]。对于“过客”,《汉语大辞典(10)》将其解释为:“过客——过路的客人;旅客”^[13]。《汉英辞典(新世纪版)》则将“过客”和“不速之客”用英语分别阐释为“casual visitor; chance comer [visitor]; gatecrasher; sb. who calls without an invitation; self-invited [uninvited; unexpected] guest; unwelcome person”; “passing traveler; transient guest.”^[14]

从以上词典的解释可以看出,“不速之客”和

“过客”拥有一个共核词汇“(访)客”,也就是对应于英语的“visitor”。不过,两个词语却都在共同意义的基础上各有自己的附加意义“不速”——未受邀请或突然来临(uninvited or unexpected);“过(客)”——过路的或短暂出现的(passing or transient)。“不速之客”侧重意想不到的出现或突然来临,是个瞬间性的动作,而“过客”则强调短暂出现继而迅速消失,指的是一过程,侧重的是结果。究竟是动作还是结果?哪个译名更为适宜?“不速之客”和“过客”不同的译名体现了译者不同的主动选择。

2.2 “不速之客”翻译的缺失

法国文学社会学家埃斯卡皮(Robert Escarpit)曾提出“创造性叛逆”(creative treason)一说,认为“翻译总是一种创造性的叛逆”^[7]。叛逆,从表层的意思来看,就是要把一种语言翻译成另一种语言,在形式和内容上或多或少跟原文有出入,这是译者对原作的背叛。从积极意义上理解,这一警句要求译者不要机械地照搬原文,而要发挥创造性。电影片名的翻译也是“创造性叛逆”的结果,是翻译主体能动地操纵原本,转换原本,使其本质力量在翻译行为中外化。电影片名的译名因此带有鲜明的译者风格:对原文理解上流露出个性特点和语言转换时显现出语言习惯和语言特点。

将 *The Visitor* 译为“访客”自然不会出错,但机械的形式对等却使译名变得寡淡无味,翻译效果大打折扣。“访客”的译名自然不在考虑之列。那么,“不速之客”的译名又体现了译者怎样的主动选择和创造性叛逆呢?

从语言形式来看,“不速之客”属于四字词组,这是一种约定俗成的语言形式,它具有言简意赅、朗朗上口的修辞效果,富有中国传统文化韵味。“如把电影 *Blood and Sand* 译为《碧血黄沙》就给人一种震撼人心的视觉效果,类似的片名翻译还有 *Moonlight*《披星戴月》。这些译名简洁流畅、雅俗共赏,很好地传达了原片的思想意境,给观众带来美的享受”^[15]。“不速之客”的译者在进行片名翻译时,很可能受到这种创造动机的驱使。

在语言形式上从 *The Visitor* 转化为“不速之客”,自然无可厚非。但涉及到影片的主题思想和片名应有的导引作用,“不速之客”却似乎多少

有些疲软。*The Visitor* 讲述的内容是:年老的大学教授沃特·韦尔在妻子过世之后,一个人过着孤独沉闷的生活,生活缺乏激情。一次偶然的纽约之行,沃特惊讶地发现纽约的寓所之内闯入了不速之客……如果采用“不速之客”的译名,电影情节似乎可以进行上述概括:不速之客突然闯入老教授死气沉沉的生活,这好比是抛出了一个悬念,可以引发人们的丰富联想。但接下来发生了什么?故事怎样发生转折变化?最终的结局如何?电影意欲表达什么主题思想?“不速之客”的译名对此却无法作出令人满意的回答,片名翻译中信息传播功能的缺失显而易见。

2.3 “过客”翻译的补足

既然“不速之客”的译名存在如此的缺失,就需要译者另觅其它名称进行弥补。从整体来看“过客”似乎是个更为妥当的选择。我们还是回到电影本身来进行分析。*The Visitor* 之所以能一举摘得多维尔电影节大奖,自然与电影本身丰富的内涵有关。

The Visitor 是一个包含了关爱、温暖、理解、融合的平凡故事,涉及到“9·11”事件之后美国的移民政策、文化冲突和人性关怀,但影片重心还是落到了老教授的心理层面:一对年轻情侣突然闯进了白人老教授原本了无生气的独居寓所,教授出于善意收留了这对无处可去的情侣。为了表达谢意,来自叙利亚的青年塔瑞克教沃特如何敲击非洲鼓,还带教授参加少数族裔举办的演奏会,去公园和其他少数族裔人士一起参加音乐狂欢。在颇有音乐才华的塔瑞克的鼓励带动下,沃特脸上第一次露出了灿烂的笑容。但好景不长,塔瑞克却无缘无故被抓进了非法移民拘留中心。出于对这对情侣的同情和强烈的责任心,沃特积极出面进行营救。而塔瑞克的母亲莫娜由于许久没有得到儿子的消息,也在此时从密歇根来到了纽约。他们有了共同的奋斗目标,那就是要让塔瑞克重获自由。两个人在这个过程中互相鼓励,两颗心也渐渐感受到了彼此的温暖。但不幸的是,最终塔瑞克还是被驱逐出境,莫娜也飞回叙利亚寻找儿子。于是,沃特又回到了孤身一人的生活。

从上述故事梗概可以看出,无论是塔瑞克还是莫娜,他们无疑都是沃特教授生命中的匆匆过客。从突然出现到迅速退场,总共不过十多天的

时间。老教授的生活貌似又回到了起点,但实际上即使是惊鸿一瞥般的闪现,他们还是在沃特的生命中留下了深深的印痕。塔瑞克(当然包括其女友、来自塞内加尔的赞娜布)还有莫娜的确是非常突然意外地闯进了老教授的生活,并有短暂的停留,但这十多天的时间已经足以改变沃特原本寂寞无趣的生活。在非洲鼓动人的旋律中,沃特感到了异域文化的奇特魅力,心中的孤独才得以排遣。在和莫娜联手营救塔瑞克的过程中,沃特在塔瑞克母亲身上找到了久违的情感,原本压抑良久的性情也得以复苏。在某种意义上不妨可以说,在和塔瑞克以及莫娜的交往中,沃特渐渐打开封闭的心胸,尝试着去嗅闻生活的气息,并最终走出了前妻去世给自己带来的心理阴影(前妻擅长弹钢琴,影片最后沃特卖掉钢琴就是向过去生活告别的标志),体会到了帮助关怀别人给自己带来的温暖。犹如片尾那呼啸而来又呼啸而去的地铁一样,塔瑞克和莫娜不过是沃特红尘生涯中的匆匆过客,但老教授的生活却由此发生了质的变化。正如在电影后半部分沃特所说的那样,以后的日子可能还会一如既往的平淡无聊:“二十年来一直在教授同一门课程,每年就是用修改液把教学大纲从去年改为今年”,但非洲鼓那奇特的旋律却会在岁月的流逝中愈发激昂。正是因了这样的甜美,人们才能抛开过往的忧伤,才不会“一直假装自己很忙,但其实什么都没做”,才能把日子一天天过下去,在平淡阴郁中找到生命的意义。

The Visitor 充满了淡淡的哀伤、暖暖的情谊和深深的关怀。“过客”的译名似乎更能贴近原作的主题思想,在电影宣传中对观众更能形成一种强烈的视觉冲击作用,进而对影片产生增值效应。这既有利于实现影片的艺术价值,发挥其文化传播的功能,也有利于实现其商业价值。

3 杂合视阈下的电影片名翻译展望

曹聪孙曾经指出:“正确的译名,总是要靠对全书的了解,‘字面译法’总不是最好的,(好的)译名是对全书有较深的了解之后才能译得出的”^[16]。曹先生的提法完全可以运用到电影片名的翻译当中。而所谓的理解,通常要经历以下阶段:(1)字面的理解水平;(2)解释的水平;(3)批判性阅读;(4)创造性阅读。对影片内容进行深

人的理解和分析是从事电影片名翻译不可或缺的前提条件。

电影片名独特的杂合性决定了译者进行翻译时,既不能完全遵循实用翻译理论的指导,也不能原封不动地挪用文学翻译原则,而是要在两者之间求取一种平衡。片名翻译不是机械地对号入座,译者需要首先充分准确地把握影片的思想内容,了解电影片名的风格特征和具有的各项功能,在顾及多种因素的杂和状态下,认真进行批判性的思考,积极发挥自己的艺术创造才华,从而使得片名翻译寥寥几个词成为整部电影译制片的精髓。从事翻译工作好比是带着枷锁跳舞,而电影片名翻译更是方寸之地见功夫,译者侧身其中的是一块荆棘丛生的方寸之地,脚下布满了陷阱,稍不留神,就容易出现失误。《天演论》的译者严复曾不无感慨地宣称,一名之立,旬月踟躇。以严谨的态度进行电影片名的翻译,精雕细琢,才能有脍炙人口的经典佳译。具体到电影 *The Visitor* 的片名翻译而言,“不速之客”的译名自然并非一无是处,它富有中国传统文化韵味的优点。但在片名翻译与原片内容的吻合程度以及片名应有的广告宣传功能方面,言简意赅的“过客”似乎更胜一筹。

参考文献:

- [1] 阮红梅,李娜. 电影片名翻译的文化适应 [J]. 中国青年政治学院学报, 2006, (4): 138 - 142.
- [2] 韩子满. 文学翻译杂合研究 [M]. 上海: 上海译文出版社, 2005: 1.
- [3] 电视艺术辞典编辑委员会. 电视艺术辞典 [M]. 北京: 学苑出版社, 1991: 16.
- [4] 周星. 电影概论 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 3.
- [5] 方梦之. 实用文体汉译英 [M]. 青岛: 青岛出版社, 2003.
- [6] 贾文波. 应用翻译功能论 [M]. 北京: 中国对外翻译出版公司, 2004: 2.
- [7] 方梦之. 译学辞典 [M]. 上海: 上海外语教育出版社, 2004: 125, 8.
- [8] 贺莺. 电影片名的翻译理论和方法 [J]. 外语教学, 2001, 22(1): 56 - 60.
- [9] Pearsall J. The new Oxford dictionary of English [M]. Shanghai: Shanghai Foreign Language Education Press, 2005: 2066.
- [10] Agnes M. Webster's new world college dictionary [M]. Shenyang: Liaoning Education Press, 2001.
- [11] 罗竹风. 汉语大辞典(1) [M]. 上海: 上海辞书出版社, 1986: 433 - 434.
- [12] 任超奇. 中华成语大词典 [M]. 武汉: 湖北长江出版集团, 2006: 85.
- [13] 罗竹风. 汉语大辞典(10) [M]. 上海: 上海辞书出版社, 1986: 965.
- [14] 吴光华. 汉英辞典 [M]. 新世纪版. 上海: 上海交通大学出版社, 2001: 105, 490.
- [15] 熊启煦, 王春艳. 电影片名翻译的现状分析与对策 [J]. 西南民族大学学报: 人文社科版, 2003, 24(8): 349 - 351.
- [16] 曹聪孙. 关于翻译作品的译名 [C] // 罗新璋. 翻译论集. 北京: 商务印书馆, 1984: 994.