

饲料中添加3种不同投入品对筏式浅海网箱刺参(*Apostichopus japonicus*)养殖生长的影响*

郝继光^{1,2} 王印庚^{2①} 廖梅杰² 李彬² 崔浩²
许燕² 邹安革³ 张振⁴

(1. 大连海洋大学 大连 116023; 2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院
黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 山东安源水产股份有限公司 烟台 265600;
4. 青岛海昌生物科技有限公司 青岛 266400)

摘要 以刺参的存活率、增重率、特定生长率和肠道蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶及肠道组织结构变化为评价指标,通过42 d的养殖实验,研究了在基础饲料(空白组)中添加20%生物胶为粘合剂制备粘性饲料(粘性饲料对照组),通过添加浒苔干粉(浒苔组)、微生态制剂(微生态制剂组)、中草药(中草药组)3种投入品对浅海筏式网箱养殖刺参生理及生长的影响。结果显示,在散失率方面,粘性饲料比空白组饲料散失率降低33.42%,添加浒苔干粉、微生态制剂、中草药对饲料散失率的影响差异不显著($P>0.05$);在生长方面,中草药组的增重率和特定生长率均为最高,分别达到 $(41.50\pm1.39)\%$ 和 $(0.82\pm0.02)\%/d$,显著高于其他4个实验组;在存活率方面,微生态制剂组和中草药组的存活率显著高于空白组和粘性饲料对照组。其中,中草药组存活率最高,达到 $(94.03\pm2.28)\%$;在消化酶活性方面,浒苔组、微生态制剂组和中草药组的淀粉酶活性分别在第10、20、30天达到峰值,峰值分别为 (1.70 ± 0.05) 、 (1.60 ± 0.04) 、 $(1.77\pm0.04)\text{ U/mg prot}$;粘性饲料对照组的蛋白酶活性波动最大,其活性在第10天达到峰值为 $(1.78\pm0.09)\text{ U/mg prot}$;空白组、粘性饲料对照组和浒苔组的纤维素酶活性均呈现先升高后降低的趋势,在实验周期内中草药组的纤维素酶活性表现为持续上升,而微生态制剂组刺参的纤维素酶活性表现出先下降后上升的趋势,最低值为 $(0.14\pm0.01)\mu\text{g/g}\cdot\text{min}$;肠道组织结构方面,粘性饲料对照组的肠道黏膜上皮层厚度显著增加($P<0.05$),浒苔组的肌肉层厚度显著增加($P<0.05$),中草药组和微生态制剂组刺参肠道组织结构完整,上皮细胞分泌旺盛。研究表明,通过添加生物胶所制作的粘性饲料可显著降低饲料散失率,添加微生态制剂和中草药可显著提高网箱养殖刺参的成活率,并显著提高刺参个体的消化酶活力和增重率,添加浒苔对刺参生长影响不显著。

关键词 刺参; 浅海网箱; 生物胶; 浒苔; 微生态制剂; 中草药; 生长

中图分类号 S965 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)05-0102-09

近几年,我国刺参(*Apostichopus japonicus*)养殖呈现迅猛发展趋势,已成为我国北方沿海各省、市、

地区的重要海水养殖品种。目前,刺参养殖主要包括池塘养殖、围堰养殖、工厂化养殖、浅海底播养殖和

* 国家“十二五”“863”项目(2012AA10A412-4)、国家自然科学基金项目(31202016)、山东省农业良种工程重大课题“速生、抗病、耐高温刺参良种选育”、青岛市战略性新兴产业培育计划项目(13-4-1-65-hy)和青岛市民生科技计划项目(14-9-3-3-hy)共同资助。郝继光, E-mail: spade.agh@163.com

① 通讯作者:王印庚,研究员, E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn

收稿日期:2015-05-16, 收修改稿日期:2015-07-13

网箱养殖等养殖方式。其中, 浅海网箱养殖是通过在自然海区中设置网箱, 依托自然环境和人工投饵进行高密度水产养殖的生产方式(王印庚, 2013; 刘潇波等, 2004)。网箱养殖中人工投喂的饵料基本为传统的刺参饲料, 以粉末或颗粒状为主, 存在散失率高的缺点。同时, 大规模高密度的网箱布局及半封闭的海水交换使养殖过程中投喂的饲料及养殖对象的代谢物在养殖区域内积累, 形成污染和海水的富营养化(蒋增杰, 2003), 成为阻碍该种养殖方式进一步发展的瓶颈。因此, 优化投喂和养殖工艺、保护养殖生态环境是目前亟需解决的问题。

本研究以具有良好粘性的生物胶为载体, 探讨了在浅海筏式网箱刺参养殖模式中制备粘性饲料, 并在此基础上添加浒苔、微生态制剂、中草药成分等添加剂对网箱养殖刺参生长和存活的影响, 以期为优化筏式网箱刺参养殖工艺, 减少环境污染和网箱养殖刺参病害防控寻找新的方法和途径。

1 材料与方法

1.1 材料

实验场位于山东省青岛市胶州湾红岛浅海养殖区域($116^{\circ}39'N$, $39^{\circ}93'E$)。养殖方式为浅海筏式网箱养殖, 网箱规格为 $3\text{ m} \times 3\text{ m} \times 2\text{ m}$, 网衣目数为 20。实验用刺参选用该海域网箱养殖的健康的 1 龄刺参, 平均规格为 $(20.0 \pm 5.0)\text{ g/头}$, 平均体长为 $(12.0 \pm 3.0)\text{ cm}$ 。

实验用基础饲料为青岛海昌生物科技有限公司生产的刺参配合饲料, 其主要成分及配比为: 马尾藻粉: 脱胶海带粉: 石莼粉: 发酵豆粕: 鱼粉: 扇贝边粉: 海泥 = 20 : 20 : 10 : 10 : 10 : 10 : 20。

生物胶购自青岛海昌生物科技有限公司, 从海带等海藻中提取的多糖类物质。

微生态制剂购自青岛中仁动植物药业有限公司, 主要菌株为: 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和萎缩芽孢杆菌(*Bacillus*

atrophaeus)。

中草药为青岛汉河动植物药业有限公司生产的刺参抗病免疫双效中草药, 主要成分为: 穿心莲、大青叶、黄芪、板蓝根等。

簇状投喂器采用 4 mm 孔径的无结聚乙烯网片裁成 $2000\text{ mm} \times 600\text{ mm}$ 的网片, 折叠后用绳约束成球状, 下端固定一颗 200 g 的纺锤形水产养殖专用陶瓷网坠。

1.2 方法

1.2.1 饲料制备 根据饲料中各组成成分的不同, 共制作了 8 种饲料, 各种饲料配比见表 1。饲料制作过程按表 1 中配方将饲料干粉混合均匀, 过 100 目网筛后加入 15.6 kg 清水搅拌至糊状, 均匀涂抹在聚乙烯材料制成的簇状投喂器上, 晾干后投放到相应的网箱中, 进行投喂实验。

1.2.2 实验设计 饲料散失率(Scatter ratio, ScR , %)测定共分两大类, 添加 20% 生物胶的粘性饲料(Adhesive feed, AF)和未添加生物胶的普通饲料(Control feed, CF), 根据饲料中所含投入品的不同, 将实验组分为 8 个组: 含有生物胶的粘性基础饲料组(AF-b)、浒苔粘性饲料组(AF-en)、微生态制剂粘性饲料组(AF-mi)和中草药粘性饲料组(AF-h), 以及不含生物胶的基础饲料组(CF-b)、浒苔饲料组(CF-en)、微生态制剂饲料组(CF-mi)和中草药饲料组(CF-h), 各组饲料组成见表 1。在实验海域未投放刺参苗种的空网箱中投放携带有不同饲料种类的投喂器, 共设 3 个平行, 浸泡 120 h 后计算各投喂器携带饲料的散失率。

投喂实验: 取 CF-b(空白组)、AF-b(粘性饲料对照组)、AF-en(浒苔组)、AF-mi(微生态制剂组)和 AF-h(中草药组) 5 组进行投喂实验, 每组设 3 个平行; 实验共设置 15 个网箱, 随机将刺参苗种分组, 每个网箱放养 15 kg, 数量为 720 头。

1.2.3 养殖管理 实验时间为 2014 年 5 月 3 日~6 月 13 日, 共 42 d。实验期间, 水温为 17~22℃, 盐

表 1 各实验组饲料的组分
Tab.1 Diet composition of the 8 feed groups

组分 Ingredients	粘性饲料对照组 Adhesive feed				普通饲料组 Control feed				
	AF-b	AF-en	AF-mi	AF-h	CF-b	CF-en	CF-mi	CF-h	
基础饲料	Traditional feed(%)	80	60	78	76	100	80	98	96
浒苔	Enteromorpha(%)	—	20	—	—	—	20	—	—
微生态制剂	Microecologics(%)	—	—	2	—	—	—	2	—
中草药	Chinese herbal medicine(%)	—	—	—	4	—	—	—	4
生物胶	Adhesive(%)	20	20	20	20	—	—	—	—

度为 30 ± 2 ，溶氧为 5.0 mg/L 以上，pH为 $7.6\text{--}8.1$ ，透明度为 $30\text{--}50\text{ cm}$ 。

每5d投喂1次，每10d倒网箱1次，倒网箱时及时挑出化皮及排脏个体并消除敌害生物和杂物。

1.2.4 散失率的测算 未涂抹饲料的投喂器单独称重记为 m_0 ，涂抹有饲料并干燥后的投喂器称重记为 m_s ，在相应海域未投放刺参的空网箱浸泡120h干燥后称重记为 m_e 。计算散失率公式如下：

$$ScR(\%) = (m_s - m_e)/(m_s - m_0) \times 100\%$$

1.2.5 增重率(Weight gain rate, WGR, %)和特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)的测算 分别在实验开始和结束时，从每个网箱中随机抽取50头刺参，按照廖梅杰等(2011)的方法，测量其总重，分别记为 W_0 和 W_T ，计算实验开始和结束时刺参个体平均体重分别为 $w_0 = W_0/50$ ，和 $w_T = W_T/50$ ，由此计算增重率和特定生长率，公式如下：

$$WGR = (w_T - w_0)/w_0 \times 100\%;$$

$$SGR = (\ln w_T - \ln w_0)/t \times 100\%;$$

式中， t 为实验时间。

1.2.6 存活率(Survival rate, SR, %)的测定 分别在实验开始和实验结束时，称量各网箱内刺参总重，分别记为 WW_0 和 WW_T ，由此可计算，实验开始时各网箱刺参个体数目 $N_0 = WW_0/w_0$ 和实验结束时各网箱刺参个体数目 $N_T = WW_T/w_T$ ，计算各实验组刺参的存活率，计算公式如为： $SR = N_T/(N_0 - 25) \times 100\%$ ，不含用于肠道消化酶测定抽出的25头的数目。

1.2.7 肠道消化酶活性测量 在实验期间，每10d从各实验网箱中随机抽取5头刺参，剖取获得其肠道组织，用灭菌海水冲洗去除肠道内含物，取其前肠用于测定肠道淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶的活性。淀粉酶活性、蛋白酶活性、纤维素酶活性以及样品蛋白质浓度的测定均使用南京建成生物工程研究所的试剂盒，测定方法及酶活计算公式参照试剂盒说明书。

1.2.8 刺参肠道组织结构观察 实验结束时，剪取1.2.7中所获得的前肠组织，用Davidson's AFA固定液固定24h，后转入70%乙醇固定36h，经脱水、浸蜡、包埋、切片后进行H.E.染色，使用Nikon公司的Eclipse E800 Olympus显微镜观察，用Nikon DS-Fi1摄像头结合Nikon NIS-Elements图像分析软件对组织进行显微拍照和标定。显微观察各组刺参肠道黏膜上皮层纹状缘的完整性、肠绒毛多寡及排列、结缔组织和肌纤维的结构等，显微测量肠道总厚度 H_0 、肠道黏膜上皮层(Mucosa)厚度 H_{mu} 、黏膜下皮层(Sub mucosa)厚度 H_{su} 、肌肉层(Muscular layer)厚度 H_{ml} 。计算各层

与肠壁总厚度的比值。

肠道黏膜上皮层厚度 H_{mu} 与肠壁总厚度 H_0 的比值： $h_{mu}(\%) = 100 \times H_{mu}/H_0$ 。

肠道黏膜下皮层厚度 H_{su} 与肠壁总厚度 H_0 的比值： $h_{su}(\%) = 100 \times H_{su}/H_0$ 。

肠道肌肉层厚度 H_{ml} 与肠壁总厚度 H_0 的比值： $h_{ml}(\%) = 100 \times H_{ml}/H_0$ 。

1.2.9 数据统计与分析 运用SPSS 17.0对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA)，当组间差异显著时($P < 0.05$)用Duncan检验进行多重比较分析。各实验数据以平均值±标准误(Mean±SE)表示。

2 结果

2.1 饲料散失率

各实验组的饲料在网箱中的自然条件下浸泡120h后，添加20%生物胶的粘性基础饲料组(AF-b)、浒苔粘性饲料组(AF-en)、微生态制剂粘性饲料组(AF-mi)和中草药粘性饲料组(AF-h)的散失率为47.46%–48.18%，且粘性饲料各组间差异不显著($P > 0.05$) (图1)；而未添加生物胶的基础饲料组(CF-b)、浒苔饲料组(CF-en)、微生态制剂饲料组(CF-mi)和中草药饲料组(CF-h)的饲料在网箱中的自然条件下浸泡120h后，散失率高达81.60%–82.17%，四组间无显著差异($P > 0.05$)，但与添加20%生物胶的粘性饲料组差异极显著($P < 0.01$)。由此可知，以生物胶作为粘合剂制备的粘性饲料可以显著减少浅海筏式网箱养殖过程中饲料的散失率。

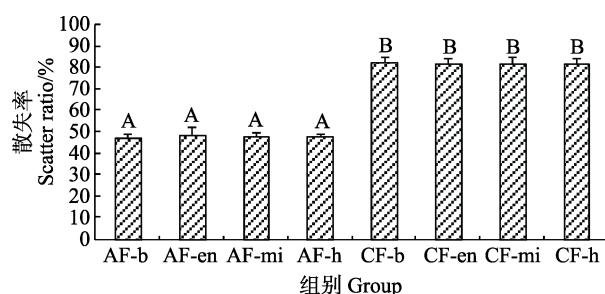


图1 各组饲料的散失率

Fig.1 The scatter ratio (ScR) in different experimental groups

不同上标字母表示组间有极显著差异($P < 0.01$)
Different superscript capital letters represent highly significant difference among groups ($P < 0.01$)

2.2 增重率和特定生长率

经过为期42d的养殖实验，粘性饲料对照组

(AF-b)、浒苔组(AF-en)、微生态制剂组(AF-mi)和中草药组(AF-h)刺参个体平均体重分别达到(27.94±0.19)、(27.80±0.30)、(28.83±0.38)、(29.60±0.31) g/头, 显著高于空白组(CF-b)($P<0.05$)(表2); 这四组的增重率和特定生长率等方面也显著高于空白组(CF-b) ($P<0.05$), 在研究结束时, 中草药组(AF-h)刺参特定生长率达到(0.82±0.02)%/d, 显著高于粘性饲料对照组(AF-b)和浒苔组(AF-en)($P<0.05$), 而与微生态制剂组(AF-mi)仅在增重率上表现出显著差异($P<0.05$)。粘性饲料对照组(AF-b)、浒苔组(AF-en)和微生态制剂组(AF-mi)之间的刺参个体平均体重、增重率和特定生长率差异不显著($P>0.05$)。

2.3 存活率

至实验结束时, 粘性饲料对照组和浒苔组网箱中的刺参数量以及存活率与空白组之间无显著差异($P>0.05$, 表3), 但微生态制剂组和中草药组的刺参数量和存活率与空白组和粘性饲料对照组之间均存在显著差异($P<0.05$)。其中, 中草药组的存活率达到(94.03±2.28)%, 为各组最高。

2.4 肠道消化酶活性测量

本研究测定了不同实验组刺参肠道淀粉酶、蛋白酶和纤维素酶活性的变化。结果显示, 各组之间淀粉酶活性的比较: 空白组(CF-b)的淀粉酶活性在(1.10±0.05)–(1.5±0.04) U/mg prot 范围内波动, 研究周期内酶活性差异不显著($P>0.05$)(图2); 粘性饲料对照组(AF-b)的淀粉酶活性逐渐下降, 由(1.55±0.07)降至(1.11±0.08) U/mg prot; 浒苔组(AF-en)的淀粉酶活性波动幅度较大, 最大值为(1.70±0.050) U/mg prot; 微生态制剂组(AF-mi)的淀粉酶活性呈现先上升后下降的趋势, 实验进行到第20天时达到最大值(1.60±0.04) U/mg prot, 在研究结束时下降至(1.18±0.04) U/mg prot, 低于同期的空白组; 中草药组(AF-h)的淀粉酶活性20 d之前变化不显著($P>0.05$), 30 d后淀粉酶活性升高达到(1.77±0.04) U/mg prot, 显著高于其他各组($P<0.05$)。

各组之间蛋白酶活性的比较: 粘性饲料对照组(AF-b)蛋白质酶活性在10 d时迅速升高至(1.78±0.09) U/mg prot, 显著高于其他各组($P<0.05$)(图3), 后迅速下降至(1.06±0.11) U/mg prot; 浒苔组(AF-en)

表2 不同投入品对刺参增重率及特定生长率的影响

Tab.2 The influence of different inputs on weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of sea cucumbers

评价指标 Evaluation index	空白组 (CF-b) Blank group	粘性饲料对照组 (AF-b) Adhesive feed	浒苔组 (AF-en) Enteromorpha	微生态制剂组 (AF-mi) Microecologics	中草药组(AF-h) Chinese herbal medicine
起始体重 Initial body weight w_0 (g)	20.84±0.15	20.85±0.10	20.78±0.07	21.10±0.06	20.92±0.09
最终体重 Final body weight w_t (g)	26.68±0.59 ^a	27.94±0.19 ^b	27.80±0.30 ^{ab}	28.83±0.38 ^{bc}	29.60±0.31 ^c
增重率 WGR(%)	27.98±1.99 ^a	34.00±1.31 ^b	33.74±1.51 ^b	36.60±1.37 ^b	41.50±1.39 ^c
特定生长率 SGR(%/d)	0.59±0.03 ^a	0.69±0.03 ^b	0.69±0.02 ^b	0.74±0.02 ^{bc}	0.82±0.02 ^c

注: 同一行中, 不同上标字母表示组间有显著性差异($P<0.05$)

Note: Different superscript letters within each row represent significant difference among groups ($P<0.05$)

表3 不同投入品对刺参存活率的影响

Tab.3 The influence of different inputs on survival rate (SR) of sea cucumbers

项目 Items	空白组 (CF-b) Blank group	粘性饲料对照组 (AF-b) Adhesive feed	浒苔组 (AF-en) Enteromorpha	微生态制剂组 (AF-mi) Microecologics	中草药组(AF-h) Chinese herbal medicine
起始刺参总数 N_0 (头) Initial number	721±3.21	722±7.57	720±9.54	720±5.51	723±5.13
最终刺参总数 N_T (头) Final number	657±10.44 ^{ab}	649±5.00 ^a	658±6.25 ^{ab}	669±11.00 ^{bc}	677±13.23 ^c
存活率 Survival rate (%)	91.01±1.06 ^{ab}	89.93±0.40 ^a	91.34±0.24 ^{ab}	92.92±0.93 ^{bc}	94.03±2.28 ^c

注: 同一行中, 不同上标字母表示组间有显著性差异($P<0.05$)

Note: Different superscript letters within each row represent significant difference among groups ($P<0.05$)

蛋白酶活性略有上升，并在实验结束时活性显著高于起始值($P<0.05$)；微生态制剂组(AF-mi)的蛋白酶活性呈先上升后下降的趋势，在20 d达到最大值(1.45 ± 0.07) U/mg prot，后显著下降($P<0.05$)；中草药组(AF-h)的蛋白酶活力在10 d后持续升高，并在研究结束时达到(1.48 ± 0.10) U/mg prot，显著高于其他各组($P<0.05$)。

各组之间纤维素酶活性的比较：空白组(CF-b)纤维素酶活性呈波动状态，平均酶活力为(0.26 ± 0.02) $\mu\text{g/g}\cdot\text{min}$ (图4)；粘性饲料对照组(AF-b)和浒苔组(AF-en)的纤维素酶活性呈上升再下降的趋势，无显著差异($P>0.05$)；微生态制剂组(AF-mi)的纤维素酶活性逐渐下降，最低值为(0.14 ± 0.01) $\mu\text{g/g}\cdot\text{min}$ ，但养殖过程不同测定时间

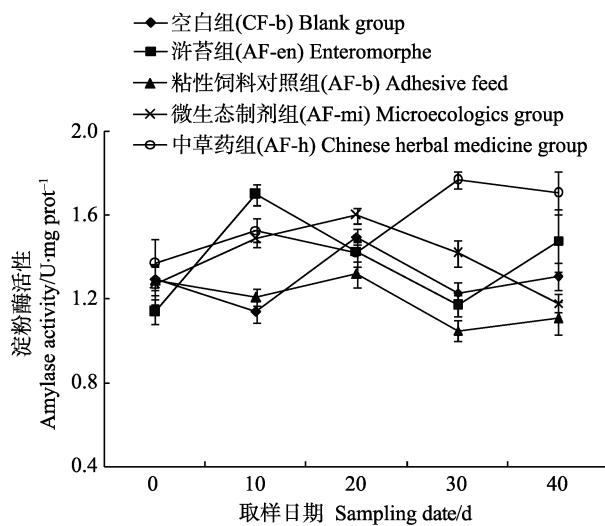


图2 不同投入品对刺参肠道淀粉酶活性的影响
Fig.2 The influence of different inputs on gut amylase activities of sea cucumbers

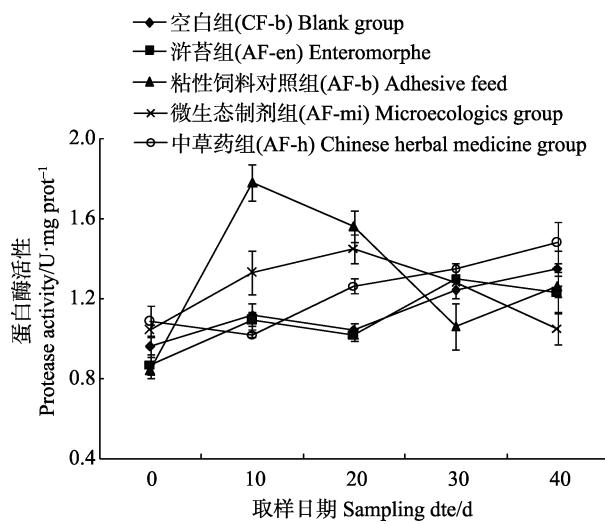


图3 不同投入品对刺参肠道蛋白酶活性的影响
Fig.3 The influence of different inputs on gut protease activities of sea cucumbers

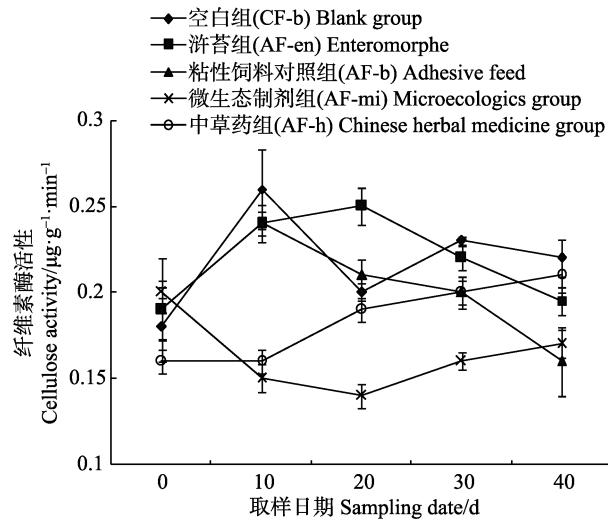


图4 不同投入品对刺参肠道纤维素酶活性的影响
Fig.4 The influence of different inputs on gut cellulose activities of sea cucumbers

点之间差异不显著($P>0.05$)；中草药组(AF-h)的纤维素酶活性逐渐上升，最高达到(0.21 ± 0.01) $\mu\text{g/g}\cdot\text{min}$ 。

2.5 不同投入品饲料对刺参肠道组织结构的影响

由各实验组所采集刺参肠道组织的显微观察可以看出，空白组(CF-b)黏膜上皮层褶皱均匀分布，纹状缘完整，细胞核清晰，染色为蓝紫色，位于柱状细胞的基部或偏细胞中部，胞质染色较浅；黏膜下层的结缔组织细胞数量少，分布均匀；肌肉层肌纤维纤细，纹路清晰，纵肌略不明显(图5-A)。粘性饲料对照组(AF-b)黏膜上皮层和肌肉层有明显增厚的现象，环肌纤维较空白组更粗(图5-B)。浒苔组(AF-en)环肌纤维增粗，纹路清晰(图5-C)。微生态制剂组(AF-mi)和中草药组(AF-h)与空白组相比较，除中草药组(图5-E)黏膜上皮层细胞数目增加，环肌纤维略有增粗之外无其它无组织结构的明显差异，但微生态制剂组和中草药组的肠道组织染色较深，细胞核体积增加(图5-D)，表明这两组刺参肠道细胞分泌活动旺盛。

通过对肠道各组织层厚度的测量(表4)得知，粘性饲料对照组为 $h_{mu}=(46.24\pm2.41)\%$ ，显著高于其他各组($P<0.05$)，说明粘性饲料对照组的前肠黏膜上皮层厚度显著增加。各组结缔组织层厚度虽有差异，但差异不显著($P>0.05$)。浒苔组 $h_{ml}=(13.46\pm0.61)\%$ 与其他各组存在显著差异($P<0.05$)，说明浒苔组刺参前肠肌肉层有显著增厚的现象。

3 讨论

3.1 新式投喂方式与生物胶的应用

刺参营底栖生活，以所附着载体上的沉积物为

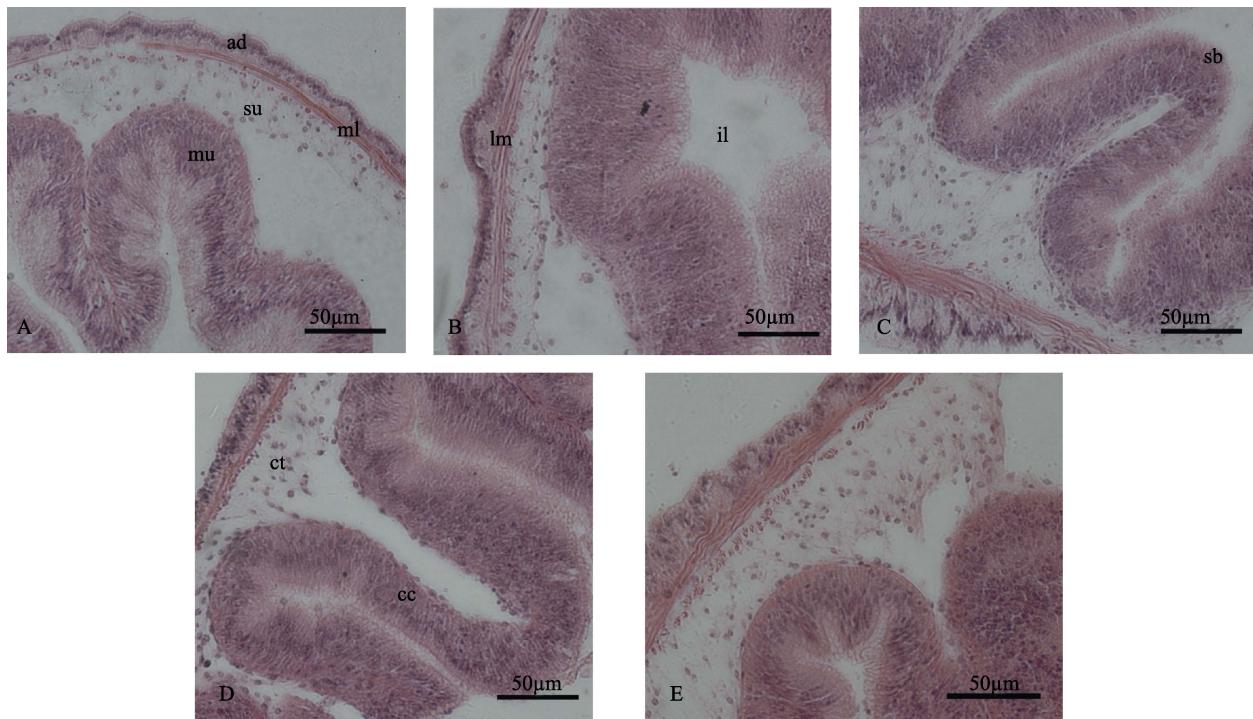


图5 不同投入品对刺参前肠组织结构影响的显微观察(横切)

Fig.5 Microscopic observation of different inputs influence on foregut of sea cucumbers (Transverse sections)

A. 空白组($\times 200$); B. 粘性饲料对照组($\times 200$); C. 浒苔组($\times 200$); D. 微生态制剂组($\times 200$); E. 中草药组($\times 200$)

A. Blank group ($\times 200$); B. Adhesive feed group ($\times 200$); C. Enteromorpha group ($\times 200$); D. Microecologics group ($\times 200$);
 E. Chinese herbal medicine group ($\times 200$)
 mu. 黏膜上皮层 Mucosa; su. 黏膜下皮层 Sub mucosa; ml. 肌肉层 Muscular layer; ad. 外膜层 Adventitia; il. 肠腔 Intestine lumen; lm. 纵肌 Longitudinal muscle; cm. 环肌 Circular muscle; sb. 纹状缘 Striated border; cc. 柱状细胞 Columnar cell;
 ct. 结缔组织 Connective tissue

表4 不同投入品对刺参前肠各组织层相对厚度的影响

Tab.4 The influence of different inputs on relative thickness of component layers of sea cucumber foregut

评价指标 Evaluation index	空白组 (CF-b) Blank group	粘性饲料对照组 (AF-b) Adhesive feed	浒苔组 (AF-en) Enteromorpha	微生态制剂组 (AF-mi) Microecologics	中草药组(AF-h) Chinese herbal medicine
黏膜上皮层的相对厚度 $h_{mu}(\%)$	25.40 ± 2.75^a	46.24 ± 2.41^b	31.10 ± 2.52^a	26.29 ± 2.16^a	25.62 ± 3.03^a
黏膜下皮层的相对厚度 $h_{su}(\%)$	28.54 ± 5.28	32.19 ± 2.40	27.97 ± 4.07	23.56 ± 3.08	22.42 ± 3.72
肌肉层的相对厚度 $h_{ml}(\%)$	8.74 ± 0.66^a	10.26 ± 1.10^a	13.46 ± 0.61^b	9.81 ± 0.87^a	9.62 ± 0.79^a

注: 同一行中, 不同上标字母表示组间有显著性差异($P < 0.05$)Note: Different superscript letters within each row represent highly significant difference among groups ($P < 0.05$)

食。对于浅海筏式网箱养殖, 刺参所栖息的网衣上附着的天然饵料较少, 无法满足高密度保苗或养成过程中刺参的营养需求, 而传统的刺参饲料以粉末饲料为主, 直接应用于网箱养殖存在散失率高的问题。虽然后来也有研究学者探讨了颗粒饲料或片状饲料在刺参养殖中的应用, 但固体饲料沉积到网箱底部易被水流冲击到边角, 造成饲料的堆积, 而且饲料在水中浸泡溶解后, 小粒径的饲料易漏出网箱, 不仅存在饲料散失率高的不足, 也对海洋环境造成影响(蔡惠文等,

2006)。

本研究探索性的以生物胶为载体, 将基础干粉饲料、生物胶粉与水按照一定比例混合, 制成糊状粘性饲料, 然后均匀地粘合在网衣材料制成的簇状投喂器上, 投放在养殖网箱中供刺参附着摄食。散失率研究表明, 生物胶具有良好的粘附效果, 饲料的散失率降低 33.42%以上, 证明添加了生物胶的饲料在水中粘合在簇状投喂器上更为稳定、不易松散, 可以将饲料有效的保留在刺参投喂器上, 在为刺参提供更丰富的

饵料源的同时可以降低对海域环境的污染。42 d 的养殖结果显示，在投喂粘性饲料的网箱中，刺参可以大量附着在投放的投喂器上，且带有粘性饲料的投喂器上可观察到明显的摄食斑块，刺参的增重率和特定生长率也显著高于对照组，这表明通过制备粘性饲料可以显著提高饲料的利用率。在本研究中，只添加生物胶的粘性饲料组的蛋白酶活力显著高于空白组，其原因可能是由于生物胶中的蛋白含量较高，刺参需要通过提高自身体内蛋白酶的活力来进行食物中蛋白的消化(吴永恒等, 2012)。粘性饲料组的刺参前肠黏膜上皮层厚度有明显增厚的现象，且肌肉层厚度也略有增加，推测所添加的生物胶成分对刺参肠道结构产生了一定的影响，使肠道黏膜上皮层增厚(王霞等, 2007)，肌纤维增粗，从而增加消化系统的消化能力。因此，通过制备粘性饲料可有效降低饲料损失，提高饲料利用率，这为浅海刺参网箱高效养殖提供了新思路。

3.2 在粘性饲料中添加浒苔对养殖刺参的生长影响

刺参养殖中广泛采用的饲料是以马尾藻、鼠尾藻为主要成分制成的干粉饲料。但随着刺参养殖规模的不断扩大，饲料需求量与日俱增，马尾藻、鼠尾藻的天然资源日益枯竭，饲料价格上涨，养殖成本增加。而近几年，浒苔绿潮的连续发生，如何在短时间内处理掉大量的浒苔也成为各相关行业人士所面对的棘手问题。有研究者尝试用浒苔替代传统饲料或添加剂中使用的藻类作为水产养殖用饲料或添加剂，梁萌青等(2009)使用添加了5%浒苔干粉的配合饲料养殖大菱鲆，发现大菱鲆的摄食率和特定生长率分别得到不同程度提高。朱建新等(2009)利用蛋白酶、纤维素酶、甲酸及自然发酵等方法处理浒苔并作为饲料投喂刺参，发现浒苔可以作为刺参的良好饲料；廖梅杰等(2011)研究表明，浒苔是一种高蛋白、低脂肪、矿物元素含量丰富的安全藻类食品，可作为替代马尾藻、鼠尾藻、海带等作为一种优质的刺参养殖用饲料。郭娜(2011)¹⁾研究表明，投喂鼠尾藻饲料、浒苔饲料和动物性饲料的刺参特定生长率并无显著差异。本研究在粘性饲料中添加浒苔投喂浅海网箱养殖的刺参，与对照组相比，添加浒苔组的特定生长率和增重率虽然略小但差异不显著，推测出现该现象的原因可能是养殖刺参对饲料的变更存在一个适应过程(朱建新等，

2007)。添加浒苔组的淀粉酶活力波动较大，蛋白酶活力略有上升，与实验开始时组内的淀粉酶、蛋白酶活力存在显著差异；而纤维素酶活力与其他组相比无显著差异，这可能与浒苔中蛋白含量高有关。组织学观察表明，添加浒苔组的肠道组织结构与其他组相比，肌肉层厚度明显增加，特别是环肌纤维变粗，证明添加浒苔后刺参肠道消化能力增加。因此，粘性饲料中添加浒苔投喂刺参可在一定程度上提高刺参前肠内的淀粉酶和蛋白酶活力，且不会对刺参的健康状况造成影响，证明浒苔可以作为替代品应用于刺参浅海网箱养殖中。

3.3 微生态制剂和中草药在网箱养殖中的应用效果

微生态制剂以微生态学理论为依据，具有调整微生态失调、保持微生态平衡、有助于改善宿主健康状况的作用(贾治超, 2014)²⁾。袁成玉等(2006)、阳钢(2012)³⁾的研究表明，在刺参饲料中添加微生态制剂，能够起到改善刺参肠道内环境，提高肠道内蛋白酶、淀粉酶的活性，促进消化吸收和个体生长的作用。随着养殖环境恶化、病原种类增加，网箱养殖模式中刺参疾病也时有发生，由于针对网箱养殖模式的病害防控手段缺乏，网箱养殖成活率不高。本研究借助粘性饲料载体，探讨了通过粘性饲料携带微生态制剂和中草药，达到“口服”用药效果，探索相应手段在网箱养殖病害防控中的可行性。本研究利用中国水产科学院黄海水产研究所海水养殖与生态研究室开发的微生态制剂产品进行了网箱刺参养殖实验(王亚敏等, 2008)，研究表明，添加微生态制剂组的存活率和增重率均显著高于对照组，且淀粉酶活力和蛋白酶活力在实验中得到了显著提升，前肠黏膜上皮层结构完整，组织内分泌旺盛，说明实验组中所添加的微生态制剂提高了养殖刺参肠道内消化酶的活力，对刺参的生长和健康有一定的助益作用。而在实验后期，刺参前肠内消化酶活力有降低现象，纤维素酶活力明显低于其他各组，且该组的特定生长率有所下降，该现象可能与微生态制剂的使用频率和使用工艺有关，有待进一步研究。

中草药应用在水产养殖中主要以植物类中草药，如大黄、黄连、黄芪、苍术、大蒜、板蓝根等；在养殖用饲料中添加或单独对养殖对象使用中草药，可起

1) 郭娜. 不同饲料对刺参生长、消化生理和能量收支的影响. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2011

2) 贾治超. 微生态制剂对刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参生长、养殖水质及氮、磷收支的影响. 天津农学院硕士研究生学位论文, 2014

3) 阳钢. 几种微生态制剂对刺参养殖水体及刺参肠道菌群结构的影响. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2012

到改良养殖环境, 调动激发养殖对象机体内抗病因子(Santiago-cardona *et al.*, 2002), 提高器官组织功能, 增强抗御病原菌侵害的作用(王亮等, 2005), 并能促进养殖对象生长(樊英等, 2014)。目前, 中草药成分促进生长的作用机理尚不完全清楚, 本研究所选用的中草药为本实验室研发的具有抗菌、免疫双效中草药。添加中草药组在实验中的增重效果好于其他各组, 特定生长率保持较高水平, 前肠内淀粉酶、蛋白酶及纤维素酶活力有一定程度提升, 前肠黏膜上皮层结构完整、健康, 组织分泌旺盛, 可推断在粘性饲料中添加适量中草药成分, 对刺参生长和健康状态有积极效果。

另外, 在研究进行以及实际生产过程中, 投喂以基础干粉饲料制成的片状饲料的部分养殖刺参出现饵料易从肠道内滑落、粪便不成形等现象, 但粘性饲料对照组、浒苔组以及微生态制剂组和中草药组该现象较少, 可能是粘性饲料中的生物胶成分对刺参肠道结构产生了一定的影响, 使肠道黏膜上皮层增厚, 肌纤维增粗, 促进肠道蠕动, 从而减少刺参滑肠的发生。

综上所述, 与传统的片状饲料相比, 使用簇状投喂器的粘性饲料应用于浅海筏式网箱养殖刺参的生长效果得到提升, 浒苔、微生态制剂以及中草药成分对刺参生长也起到了助益效果。以本研究为基础, 今后还需从两个方面开展进一步的研究工作: 一是严格养殖实验, 延长实验周期, 根据1龄保苗刺参的营养和免疫需求, 科学配比, 完善饲料配方; 二是探究微生态制剂和中草药对养殖刺参肠道菌群结构的影响机制, 以期更好地将微生态制剂和中草药应用在浅海网箱养殖过程中。

参考文献

- 王印庚. 刺参健康养殖与病害防控技术丛解. 北京: 中国农业出版社, 2013, 66-67
- 王亚敏, 王印庚. 微生态制剂在水产养殖中的作用机理及应用研究进展. 动物医学进展, 2008, 29(6): 72-75
- 王亮, 吴立新. 中草药添加剂在水产养殖中的应用及存在问题. 中国饲料, 2005, (2): 28-29
- 王霞, 李霞. 仿刺参消化道的再生形态学与组织学. 大连水产学院学报, 2007, 22(5): 340-346
- 朱建新, 曲克明, 李健, 等. 不同处理方法对浒苔饲喂稚幼刺参效果的影响. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 108-112
- 朱建新, 刘慧, 冷凯良, 等. 几种常用饵料对稚幼参生长影响的初步研究. 海洋水产研究, 2007, 28(5): 48-53
- 刘潇波, 郑志勇, 高殿森. 网箱养鱼对水环境影响研究及展望. 北方环境, 2004, 29(4): 50-52
- 吴永恒, 王秋月, 冯政夫, 等. 饲料粗蛋白含量对刺参消化酶及消化道结构的影响. 海洋科学, 2012, 36(1): 36-41
- 袁成玉, 张洪, 吴垠, 等. 微生态制剂对幼刺参生长及消化酶活性的影响. 水产科学, 2006, 25(12): 612-615
- 梁萌青, 辛福言, 常青, 等. 以绿藻浒苔作为大菱鲆诱食剂的制备方法. ZL 200810249651.9, 2008
- 蒋增杰. 鱼类网箱养殖对水环境的影响. 现代渔业信息, 2003, 18(7): 3-5
- 蔡惠文, 孙英兰, 张学庆. 象山港网箱养殖对海域环境的影响及其养殖环境容量研究. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(11): 71-76
- 廖梅杰, 王印庚, 郝志凯, 等. 活体刺参体重测量方法. ZL 201010100781.3, 2010
- 廖梅杰, 郝志凯, 尚德荣, 等. 浒苔营养成分分析与投喂刺参试验. 渔业现代化, 2011, 38(4): 32-36
- 樊英, 于晓清, 李乐. 不同免疫增强剂对仿刺参肠道消化酶活性及组织结构的影响. 水产学杂志, 2014(4): 46-51, 59
- Santiago-cardona PG, Berrios CA, Ramirez F, *et al.* Lipopolysaccharides induce intestinal serum amyloid expression in the sea cucumber holothuria glaberrima. Dev Comp Immunol, 2002, 27(2): 105-110

(编辑 陈严)

The Effects of Three Types of Feed Supplements on the Growth of *Apostichopus japonicus* Cultured in Cages

HAO Jiguang^{1,2}, WANG Yingeng^{2①}, LIAO Meijie², LI Bin², CUI Hao², XU Yan²,
ZOU Ange³, ZHANG Zhen⁴

(1. Dalian Ocean University, Dalian 116023; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. AnYuan aquatic Products co., Ltd, Yantai 265600; 4. Haichang Biological Technology co., Ltd, Qingdao 266400)

Abstract High scatter ratio (*ScR*) of feed diets and the lack of effective disease prevention and control method have been hindering the cage culture of sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*). In this study we used adhesive feed with bio-gel and 3 types of feed supplements (Enteromorpha, microecologics and Chinese herbal medicine) to evaluate their effects on the growth and survival of the cultured sea cucumbers. We designed two categories of feed (adhesive feed with 20% bio-gel and control feed without bio-gel), and divided them into eight groups including the blank adhesive feed (AF-b), the enteromorpha adhesive feed (AF-en), the microecologics adhesive feed (AF-mi), the Chinese herbal medicine adhesive feed (AF-h), the blank control feed (CF-b), the enteromorpha control feed (CF-en), the microecologics control feed (CF-mi), and the Chinese herbal medicine control feed (CF-h). The survival rates (*SR*), the weight gain rates (*WGR*), the specific growth rates, the activities of protease, amylase, cellulose, and the microstructure of foregut were measured as the indicators of the effects of feed supplements during the 42-day feeding experiment. The average *ScR* of the adhesive feed groups (AF-b, AF-en, AF-mi, and AF-h) was reduced by 33.42% compared to the control groups (CF-b, CF-en, CF-mi, and CF-h). There was no significant difference between the 3 groups with food supplements ($P>0.05$). The *WGR* and *SGR* of AF-h were $(41.50\pm1.39)\%$ and $(0.82\pm0.02)\%/\text{d}$ respectively, which were the highest among all groups and the values were significantly different from other 4 groups (CF-b, AF-b, AF-en, and AF-mi) ($P<0.05$). The *SR* of AF-h $(94.03\%\pm2.28\%)$ was the highest among all groups. The *SRs* of AF-h and AF-mi were significantly higher than that of CF-b and AF-b ($P<0.05$). The activity of amylase of AF-en, AF-mi and AF-h reached the maximum on the 10th, 20th and 30th day during the experiment, and the peak values were $(1.70\pm0.05)\text{ U}\cdot\text{mg prot}^{-1}$, $(1.60\pm0.04)\text{ U}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ and $(1.77\pm0.04)\text{ U}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ respectively. Compared to the other 4 groups, the activity of protease of AF-b fluctuated tremendously and reached $(1.78\pm0.09)\text{ U}\cdot\text{mg prot}^{-1}$ on the 10th day during the experiment. The activity of cellulose of CF-b, AF-en and AF-b first increased during the early stage and decreased later; the activity of cellulose of AF-h continued to increase during the entire experiment; the activity of cellulose of AF-mi decreased during the first 20 days and then increased in the later 20 days. The microstructures of the foregut of the 5 groups (CF-b, AF-b, AF-en, AF-mi, and AF-h) were normal. The microscopic observation revealed an intense secretion activity of the epithelial cells in AF-mi and AF-h. The relative thickness of the mucosa of AF-b and the muscular layer of AF-en increased significantly ($P<0.05$). These results indicated that the adhesive feed with bio-gel could effectively decrease *ScR* of feed diets, and that *WGR*, *SR* and digestion activities could be increased with the addition of microecologics and Chinese herbal medicine. Furthermore, Enteromorpha did not affect the growth of cage-cultured sea cucumbers, which indicated that it could be used as a substitute in the feed diets for sea cucumbers.

Key words *Apostichopus japonicus*; Cage-culture; Bio-gel; Enteromorpha; Microecologics; Chinese herbal medicine; Growth

① Corresponding author: WANG Yingeng, E-mail: wangyg@ysfri.ac.cn