

豆粕替代不同水平的鱼粉对黄颡鱼饲料利用、ATP酶活性和免疫功能的影响

杨严鸥 张艳 潘宙 张峰

摘要：用豆粕分别替代饲料中0%(对照组)、30%、50%和70%的鱼粉，配制成4种等氮等能的饲料投喂黄颡鱼。结果显示，生长率、饲料转化率和蛋白质储积率随豆粕替代水平的增加显著降低，但30%试验组与对照组无显著差异 ($P>0.05$)；试验组的ATP酶活性、超氧化物歧化酶(SOD)和溶菌酶活性显著低于对照组 ($P<0.05$)，但各试验组的ATP酶活性无显著差异 ($P>0.05$)，70%试验组的SOD活性和溶菌酶活性显著最低 ($P<0.05$)。

关键词：豆粕；ATP酶活性；免疫功能；黄颡鱼

鱼粉是饲料中重要的蛋白质来源，由于鱼粉价格昂贵，所以选择其他蛋白源替代鱼粉已成为一种必要。已有研究探讨了植物蛋白质对鱼粉的替代，其中大豆粉、豆饼、豆粕等大豆制品蛋白质营养价值高、氨基酸组成相对合理，目前已成为替代试验的研究重点(Reigh等, 1992; 艾庆辉等, 2002; 叶元土等, 2005)。以往的替代蛋白质研究中，一般只实际涉及鱼体的生长和饲料利用指标，鲜见将酶的活性和免疫功能指标纳入评判标准内。近年来，鱼类免疫学研究取得了长足的进展，为研究营养与免疫的相关关系提供了可能(聂品, 1997)。

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvdraco*)是我国重要的特种养殖鱼类，目前尚未发现有关该种鱼类饲料中替代蛋白质的相关研究，因此，本试验研究豆粕替代不同水平的鱼粉对黄颡鱼饲料利用的影响，探讨在替代试验中ATP酶活性和部分非特异性免疫指标的变化趋势，以期能为鱼类的营养生理学研究提供新的资料，并为生产实践提供有意义的指导。

1 材料与方法

1.1 饲养设备及试验鱼

试验在循环水养鱼系统中进行，使用12只单个体积为70cm×55cm×36cm的循环水水族箱，水深20cm。自然光照，水温 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，空调控制。试验鱼采自湖北省荆州市水产研究所，用高锰酸钾溶液消毒后在实验室暂养。

表1 试验饲料配方及化学组成

成分	含量/%			
	0%	30%	50%	70%

豆饼	0.00	29.00	47.00	69.90
白鱼粉	59.00	43.50	31.00	17.00
小麦	22.00	11.00	8.90	0.00
植物油	4.00	4.00	4.00	4.00
矿物盐预混物1	4.50	4.50	4.50	4.50
维生素预混物2	0.39	0.39	0.39	0.39
维生素C	0.11	0.11	0.11	0.11
氯化胆碱	0.10	0.10	0.10	0.10
三氧化二铬	1.00	1.00	1.00	1.00
α -淀粉	3.00	3.00	3.00	3.00
纤维素	5.90	3.40	0.00	0.00
化学组成(干物质组成)/%	95.23	94.58	94.26	93.25
干物质	43.46	44.21	43.05	43.58
粗蛋白质	8.70	7.52	8.10	8.31
粗脂肪	18.50	17.65	17.50	17.30
能值/(kJ/g)				

1维生素预混物(g/100g预混物): VA 550IU; VD3 100IU; VE 5IU; VK 1; 胆碱 55; 尼克氨酸 10; 核黄素 2; 吡哆醇 2; 硫胺素 2; 泛酸钙 5; 生物素 0.01; 叶酸 0.5; VB12 2; 抗坏血酸 10; 肌醇 10。

2矿物盐预混物(g/100g预混物): 氯化钠 1; 硫酸镁 15; 磷酸二氢钠 25; 磷酸二氢钾 32; 磷酸二氢钙 20; 柠檬酸铁 2.5; 乳酸钙 3.5; 硫酸锌 0.353; 硫酸锰 0.162; 硫酸铜 0.031; 氯化钴 0.001; 碘酸钾 0.003; 纤维素 0.45。

1.2 试验步骤

试验饲料为豆粕添加比例不同的4种配合饲料, 配方见表1。试验开始前, 将鱼饥饿24h, 然后随机取样称重。设4个梯度, 分别以豆粕替代鱼粉蛋白质用量的0%、30%、50%和70%, 每一梯度含3个平行箱, 每箱放入30尾鱼。4个梯度试验鱼的初始体重分别为 $8.34 \pm 0.06\text{g}$ 、 $8.38 \pm 0.04\text{g}$ 、 $8.37 \pm 0.03\text{g}$ 和 $8.39 \pm 0.04\text{g}$, 彼此之间无显著差异。另取样3份, 每份7条, 称重后 70°C 烘干至恒重, 用以分析初始躯体生化组成。养殖试验持续28d, 每天于9:00和15:00各过量投喂饲料1次, 1h后回收残饵, 70°C 烘干。残饵量通过饲料溶失率校正。测定溶失率时, 随机在4只无鱼的箱中各放入1份已称重的饲料, 1h后回收, 70°C 烘干至恒重后称重。

试验结束时, 将鱼饥饿24h后称量每缸鱼的总重, 再从每缸中随机取样5尾, 测量体重; 取肝脏, 用以测定ATP和SOD酶活性; 取血清, 用以测定溶菌酶活性。将鱼体 70°C 烘干至恒重, 用以分析终末鱼体蛋白质含量。

1.3 生化成分、ATP酶活性及免疫指标的测定

测定鱼样的干物质(%) 和粗蛋白质(%) 含量。测定饲料样品的干物质(%)、粗蛋白质(%)、脂肪(%) 和能量含量(kJ/g)。

干物质测定: 在 105°C 下干燥样品至恒重; 蛋白质测定: 用凯氏定氮法测定含氮量, 再乘以6.25; 脂肪测定: 采用索氏抽提法; 能值测定用弹式能量计。

使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定ATP酶活性、SOD活性和溶菌酶活性, 测定方法参见试剂盒说明。

1.4 结果计算

$$\text{湿重特定生长率(SGRW)} = 100(\text{LnWt} - \text{LnWo}) / t$$

$$\text{蛋白质特定生长率(SGRP)} = 100(\text{LnWPt} - \text{LnWPo}) / t$$

$$\text{摄食率(FR)} = 200I\text{Td} / t \times (\text{Wt} + \text{Wo})$$

$$\text{饲料转化效率(FCE)} = 100(\text{Wt} - \text{Wo}) / I\text{Td}$$

$$\text{蛋白质摄食率(IP)} = 200I\text{TP} / t \times (\text{Wt} + \text{Wo})$$

$$\text{蛋白质储积率(RP)} = 100(\text{WPt} - \text{WPo}) / I\text{TP}$$

上式中Wt为最终湿重, Wo为最初湿重, WPt为最终体蛋白质重量, WPo为最初体蛋白质

重量, t 为试验周期(28d), ITP为试验期间的总饲料消耗(干重), ITP为试验期间的总蛋白质消耗(干重)。所有试验数据平均数用方差分析后进行组间差异的多重比较(Duncan's procedure)。

2 结果

2.1 生长和饲料利用

由表2可知, 随着豆粕替代水平上升, 湿重特定生长率和蛋白质特定生长率显著下降, 但30%组与对照组无显著差异($P>0.05$), 50%与70%组无显著差异($P>0.05$); 摄食率和蛋白质摄食率显著上升, 试验组均显著高于对照组, 其中70%试验组显著最高; 饲料转化效率和蛋白质储积率显著下降, 30%组与对照组无显著差异($P>0.05$)。

表2 不同替代水平对黄颡鱼生长和饲料利用的影响*

替代水平	湿重特定生长率 /(%/d)	蛋白质特定生长率 /(%/d)	摄食率/%	饲料转化率 /%	蛋白质摄食率 /%	蛋白质储积率 /%
0%	1.52±0.16a	1.75±0.15a	2.85±0.06a	52.26±5.23a	1.25±0.03a	22.13±1.56a
30%	1.59±0.21a	1.86±0.24a	3.07±0.10b	50.92±5.46a	1.38±0.06b	20.97±2.09a
50%	1.21±0.06b	1.50±0.08b	3.12±0.12b	39.06±3.33b	1.40±0.09b	17.06±1.25b
70%	1.10±0.10b	1.37±0.10b	3.50±0.04c	31.20±3.10c	1.58±0.02c	13.66±1.13c

2.2 ATP酶活性和免疫功能

表3 不同替代水平对黄颡鱼ATP酶活性和免疫功能的影响

替代水平	ATP酶活性 /($\mu\text{mol Pi}/\text{mgprot}/\text{h}$)	SOD酶活性 /(U/mgprot)	溶菌酶活性 /($\mu\text{g}/\text{mL}$)
0%	2.32±0.08a	17.54±0.85a	13.50±1.25a
30%	2.01±0.05b	15.47±0.94b	11.28±0.69b
50%	1.98±0.05b	14.53±1.26bc	10.28±1.02bc
70%	1.96±0.03b	14.03±0.42c	10.04±0.48c

由表3可知, 与对照组相比, 试验组中ATP酶活性、SOD和溶菌酶活力显著降低($P<0.05$); ATP酶活性在各试验组之间无显著差异($P>0.05$), SOD活性和溶菌酶活性在70%试验组显著最低($P<0.05$)。

3 分析与讨论

本试验显示, 饲料中添加一定量的豆粕(30%)对黄颡鱼的生长及饲料转化没有负面影响, 但过量添加时黄颡鱼生长及饲料转化指标会降低, 该结果与对眼斑拟石首鱼的研究结果相似(Reigh等, 1992)。另有研究显示, 在饲料中添加大豆蛋白质时, 试验组的生长及饲料转化率均会低于对照组(全鱼粉组), 且随着添加量的提高, 生长率及饲料转化率呈直线下降(Webster等, 1992; Elangovan等, 2000)。豆粕中的氨基酸相对不平衡以及豆粕中含有较多的抗胰蛋白酶、血球凝集素等抗营养因子, 都会影响鱼类对营养物质的消化, 从而影响鱼的生长(Krogdahl等, 1994; Storebakken等, 1998)。在黄颡鱼的养殖生产中, 可在饲料中添加部分蛋氨酸, 或者对豆粕进行进一步的加工, 尽量去除抗营养因子, 这样可以提高豆粕的替代水平。

ATP酶在营养物质如葡萄糖、氨基酸等的吸收过程中, 起着重要的作用(杨秀萍, 2002)。目前有关蛋白质替代对ATP酶活性的研究还没有报道过。本试验显示, 试验组ATP酶活力均显著低于对照组, 表明黄颡鱼对添加豆粕后的饲料的营养吸收没有对照组效果好, 这可能是由于豆粕中的抗营养因子、氨基酸不平衡等缺点影响了黄颡鱼对营养物质的吸收。

SOD能阻止并消除自由基的连锁反应, 以保护机体免受损害。血清溶菌酶是单核-巨噬细胞分泌的一种破坏细菌细胞壁的水解酶, 其活性大小在一定程度上反映出鱼体抵抗细菌

侵袭的能力。与对照组相比，试验组的SOD和溶菌酶活力显著降低，即免疫力显著降低，而且豆粕添加量越大，免疫力就越低。张锦绣（2003）也发现，豆粕能使建鲤的肠道发生病变，使建鲤的免疫力下降。这可能也是由于饲料豆粕中的抗营养因子及氨基酸的不平衡等因素，降低了鱼类对饲料的消化、吸收，而鱼体在得不到良好的营养条件时免疫力会下降。不过，同样的饲料原料，其加工方法不同，对鱼体免疫力的影响也有很大差异。例如，陈萱等（2005）发现，用经过发酵的豆粕制成饲料饲养异育银鲫，试验鱼SOD和溶菌酶的活性显著高于普通豆粕饲料饲养的异育银鲫。因此，在饲料原料的加工过程中，可以考虑用鱼类的部分非特异性免疫指标来评价饲料原料营养价值的改善状况。

（参考文献略）