

去皮豆粕对幼建鲤生长性能和肠道的影响

张锦秀, 周小秋, 刘扬

(四川农业大学 动物营养研究所, 四川 雅安 625014)

摘要: 幼建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*) 初始体质量 (10.29 ± 0.10) g, 分别饲喂去皮豆粕蛋白占总蛋白 0、25%、50%、75% 和 100% 的等氮饲料代替白鱼粉蛋白, 进行为期 9 周的生长实验。结果表明, 随去皮豆粕增加, SGR 下降, 饲料系数升高。当替代 50% 时, SGR、肠重和前肠后肠皱襞高度显著降低 ($P < 0.05$), 饲料系数、中肠后肠溶菌酶含量和抗体水平显著升高 ($P < 0.05$); 50%~100% 大豆蛋白组出现肠道皱襞顶端上皮细胞脱落、固有层白细胞数量增多等症状。由本结果可知, 高比例去皮豆粕抑制幼建鲤生长, 并使其肠道生长受阻和结构受损从而导致消化吸收能力下降, 降低饲料利用率; 肠道损伤的原因涉及肠道非特异性和特异性免疫反应; 在饲料总蛋白水平为 33% 时, 去皮豆粕在体质量为 10~35 g 幼建鲤饲料中替代白鱼粉蛋白的适宜比例为 25%。[中国水产科学, 2007, 14 (2): 315-320]

关键词: 幼建鲤; 去皮豆粕; 生长性能; 肠道; 免疫

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)02-0315-06

大豆蛋白源替代鱼粉是近十几年来水产界研究热点之一。目前为止, 已经在多种鱼类中进行了相关研究, 主要集中在考察大豆蛋白源替代鱼粉后对生长性能的影响上, 而对肠道的影响主要以虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[1-4] 和大西洋鲑 (*Salmo salar* L.)^[5-9] 为研究对象并以观察其肠道形态结构变化为主, 对肠道免疫反应研究极少。建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*) 是中国主要淡水养殖品种之一, 目前尚未见相关研究报道。因此, 研究大豆蛋白源对建鲤生长性能和肠道形态结构及免疫的影响, 具有重要的学术意义和生产指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验鱼及分组设计

选择体质量为 (10.29 ± 0.10) g 的健康建鲤 720 尾, 平均分成 5 组, 分别标记为 1、2、3、4 和 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复 48 尾, 初始体质量差异不显著 ($P > 0.05$), 分别饲喂去皮豆粕 (DSBM) 蛋白代替白鱼粉蛋白 0、25%、50%、75% 和 100% 的等氮饲料。

1.2 实验饲料

实验饲料的原料组成及主要营养指标见表 1。主要营养标准选择参照 NRC^[10-11] 鲤鱼营养需要标准, 并且保证各实验饲料中粗脂肪、粗灰份来源基本一致。

1.3 实验条件与饲养管理

本实验在四川农业大学动物营养研究所实验场进行。鱼苗购回后喂养于容积为 80 cm × 55 cm × 30 cm 的玻璃水族箱中, 用 1 号饲料驯化 15 d 后分组, 分组后预饲 1 周开始正式实验。实验期间采取饱食投喂方式, 每日投喂 6 次, 投饲率以 7% 为参考, 保证每次投喂后 40 min 时有残饵, 并于此时迅速将残饵抽出。实验期间平均水温 21 ℃, 溶氧保持 5 mg/L 以上, 定期消毒。实验周期 9 周。

1.4 测定及计算方法

有关指标计算方法如下:

特定生长率 $SGR = (\ln W_t - \ln W_0) \times 100 / t$

饲料系数 $FCE = FI / (W_t - W_0)$

肠体指数 $ISI = 100 \times IW / BW$

肠长指数 $ILI = 100 \times IL / BL$

式中, W_0 和 W_t 分别为各组鱼实验始、末平均

收稿日期: 2006-02-13; 修订日期: 2006-09-26.

基金项目: 四川省“十五”攻关计划课题资助项目 (15-6-09); 四川省教育厅重点项目 (2005A022); 四川省科技厅应用基础项目 (05JY029-031-2).

作者简介: 张锦秀 (1972-), 女, 博士生, 从事水生动物营养研究. E-mail: zjxlj31@yahoo.com.cn

通讯作者: 周小秋. Tel: 0835-2885065. E-mail: zhouxq@sicau.edu.cn

个体质量(g), t 为实验时间(d), FCE 为饲料系数, BW 为体质量(g), ILI 为肠长指数, IL 为肠长
FI 为采食量(g), ISI 为肠体指数, IW 为肠重(g), (mm), BL 为体长(mm)。

表1 实验饲料的组成及主要营养指标

Tab.1 Formulation and proximate nutrient composition of experimental diets

组成 Composition	饲料编号 Diet No.				
	1	2	3	4	5
DSBM 蛋白水平(%日粮蛋白) DSBM protein level(% dietary protein)	0	25	50	75	100
原料/(g·kg ⁻¹) Ingredients					
白鱼粉 White fish meal	490.4	365.5	242.2	120.2	0.0
去皮豆粕 Dehulled soybean meal	0.0	174.5	347.0	517.8	685.8
α-淀粉 α-Starch	186.0	186.0	186.0	186.0	186.0
玉米淀粉 Corn starch	274.3	204.6	135.5	67.2	0.0
豆油 Soybean oil	18.3	16.7	15.2	13.6	12.1
鱼油 Fish oil	14.7	20.9	27.1	33.2	39.2
鱼骨粉 Fish bone meal	0.0	11.1	22.0	32.8	43.4
磷酸二氢钙 Calcium dihydrogen phosphate	7.1	7.9	8.7	9.5	10.3
L-盐酸赖氨酸 L-lysine monohydrochloride	0.0	0.9	1.8	2.7	3.5
DL-蛋氨酸 DL-methionine	0.0	0.9	1.7	2.5	3.4
L-苏氨酸 L-threonine	0.0	0.3	0.6	0.8	1.1
食盐 Iodized salt	0.0	1.5	3.0	4.5	6.0
其他 ¹⁾ Others ¹⁾	9.2	9.2	9.2	9.2	9.2
主要营养指标/(g·kg ⁻¹) ²⁾ Proximate nutrient composition					
粗蛋白 Crude protein	330.0	330.0	330.0	330.0	330.0
粗脂肪 Crude fat	57.5	57.5	57.5	57.5	57.5
粗灰份 Crude ash	104.2	104.1	104.1	104.2	104.2
有效磷 Available phosphorus	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
赖氨酸 Lysine	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0
蛋氨酸+胱氨酸 Methionine + cystine	12.8	12.9	12.9	12.8	12.9
苏氨酸 Threonine	13.6	13.7	13.7	13.6	13.6
ω3 必需脂肪酸 ω 3-Essential fatty acids	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
ω6 必需脂肪酸 ω 6-Essential fatty acids	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
总能/(MJ·kg ⁻¹) Gross energy	17.06	17.06	17.06	17.06	17.06

注:1)每千克饲料含其他:微量元素预混料 5 g, 维生素预混料 3 g, 氯化胆碱 1 g, 抗氧喹粉 0.2 g.

2)粗蛋白(CP)、粗脂肪(EE)和粗灰份(ASH)根据白鱼粉实测值(CP67.32%, EE5.0%, ASH18.8%)和 DSBM 实测值(CP46.97%, EE0.9%, ASH6.1%)计算;其他营养指标根据 NRC^[11]饲料成份及营养价值计算.

Note:1)Others contains(g·kg⁻¹diet): trace premix 5, vitamin premix 2, choline chloride 1, ethoxyquin 0.2.

2)Diet crude protein, crude fat and crude ash were calculated based on chemical analyses of white fish meal (CP67.32%, EE5.0%, ASH18.8%) and DSBM (CP46.97%, EE0.9%, ASH6.1%). Other nutrients are calculated according to ingredients and nutrition value of feedstuff in NRC^[11].

实验结束后,各处理组分别停食 24 h 开始取样。取样时将每组 3 个重复的鱼混在一起,进行随机取样^[9]。每处理取 5 尾鱼,分离前肠和后肠,按常規程序进行组织切片,观察微观形态结构并测定皱

襞高度,每个样品切 3 张切片,每张切片测 10 个完整皱襞的高度;同时,各组随机取 24 尾,称取体质量和测定体长后,分离肠道并测量长度,用镊子去除其中明显残留物后称重,用于计算肠长指数和肠体指

数;分离中肠和后肠,2尾鱼合为1个样品。溶菌酶活力测定按1:5质量体积比加入pH 7.4的磷酸盐缓冲液,匀浆,4℃ 10 000 r/min离心20 min,取上清液用比浊法测定;抗体水平测定按1:4质量体积比加入pH 9.6的碳酸盐缓冲液,匀浆,4℃ 10 000 r/min离心30 min,取上清液用酶联免疫吸附法测定中肠和后肠的抗体水平,其相对高低用吸光度(OD)乘100表示^[2]。

1.5 统计处理

实验数据采用平均数±标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,对数据进行单因素方差分析,结合Duncan法做多重比较,对有关指标进行相关分析。当 $P < 0.05$ 时,认为差异显著。

2 结果与分析

观察前肠和后肠组织切片发现,第1、2组上皮细胞排列整齐完好,第3、4、5组出现皱襞顶端上皮

细胞脱落,固有层变宽且其中白细胞数量增多,第4组和第5组更严重(图版I)。

从表2、表3、表4可知,第3、4、5组末重和SGR显著低于第1组($P < 0.05$),饲料系数显著高于第1组($P < 0.05$),SGR与饲料系数呈显著负相关($r = -0.9910, P < 0.05$);第4、5组肠重和肠长显著低于第1、2、3组($P < 0.05$),第5组肠体指数和肠长指数显著低于第2、3组($P < 0.05$),前肠皱襞高度第5组显著低于其他组($P < 0.05$),后肠皱襞高度第4、5组显著低于第1、2组($P < 0.05$),饲料系数分别与肠重和肠长呈显著负相关($r_1 = -0.9420, P < 0.05; r_2 = -0.9610, P < 0.05$);第3组中肠溶菌酶含量和后肠抗体水平显著高于1、2、5组($P < 0.05$),且后肠溶菌酶含量显著高于其他组($P < 0.05$),中肠抗体水平第2、3组显著高于第1、5组($P < 0.05$)。

表2 去皮豆粕对幼建鲤生长性能的影响

Tab.2 Effects of DSBM on growth performance of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian* $n=3; \bar{X} \pm SD$

项目 Item	饲料编号 Diet no.				
	1	2	3	4	5
初体质量/g Initial body weight	10.33±0.12 ^a	10.31±0.19 ^a	10.27±0.10 ^a	10.26±0.08 ^a	10.28±0.08 ^a
末体质量/g Final body weight	32.51±0.71 ^a	31.50±0.08 ^{ab}	30.01±1.45 ^b	24.44±0.87 ^c	20.09±0.51 ^d
增重/(g·ind ⁻¹) Weight gain	22.18±0.83 ^a	21.19±0.12 ^{ab}	19.74±1.37 ^b	14.18±0.90 ^c	9.81±0.47 ^d
特定生长率 SGR	1.82±0.05 ^a	1.77±0.03 ^{ab}	1.70±0.06 ^b	1.38±0.07 ^c	1.06±0.04 ^d
饲料系数 Feed coefficient	1.48±0.07 ^d	1.52±0.02 ^{cd}	1.66±0.12 ^c	2.05±0.12 ^b	2.74±0.07 ^a

注:同一行内不同字母上标表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Significant differences are indicated by different superscript letters within a row ($P < 0.05$).

表3 去皮豆粕对幼建鲤肠道生长指标的影响

Tab.3 Effects of DSBM on intestinal growth parameters of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian* $\bar{X} \pm SD$

饲料编号 Diet no.	肠重/g Intestine weight $n=24$	肠长/mm Intestine length $n=24$	肠体指数/% Intestine body weight index $n=24$	肠长指数/% Intestine body length index $n=24$	前肠皱襞高/ μm Proximal intestine fold height $n=5$	后肠皱襞高/ μm Distal intestine fold height $n=5$
1	1.63±0.35 ^a	182.60±24.61 ^a	3.55±0.60 ^{abc}	164.16±20.43 ^{ab}	607.05±23.76 ^a	382.41±7.03 ^a
2	1.51±0.40 ^{ab}	180.55±18.56 ^a	3.78±0.86 ^{ab}	164.31±18.33 ^{ab}	646.65±20.15 ^a	298.58±10.58 ^b
3	1.38±0.22 ^b	175.45±18.94 ^a	3.85±0.56 ^a	167.92±17.86 ^a	509.82±8.59 ^b	266.49±15.57 ^{bc}
4	0.95±0.12 ^c	145.80±13.95 ^b	3.42±0.47 ^{bc}	154.88±14.89 ^{bc}	601.34±35.05 ^a	229.91±12.19 ^c
5	0.78±0.18 ^c	132.80±18.47 ^c	3.23±0.61 ^c	146.07±21.31 ^c	401.02±23.83 ^c	245.03±14.78 ^c

注:同一列中不同字母上标表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Significant differences are indicated by different superscript letters within a column ($P < 0.05$).

表4 去皮豆粕对幼建鲤肠道免疫指标的影响

Tab.4 Effects of DSBM on intestinal immune parameters of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian* $n=6; \bar{X} \pm SD$

饲料编号 Diet no.	溶菌酶含量 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Lysozyme content		抗体水平 / ($\text{OD} \times 100$) Antibody level	
	中肠 Mid-intestine	后肠 Distal intestine	中肠 Mid-intestine	后肠 Distal intestine
1	12.45 $\pm$ 2.64 ^c	14.22 $\pm$ 3.75 ^b	4.55 $\pm$ 0.71 ^{bc}	6.73 $\pm$ 0.73 ^{bc}
2	13.30 $\pm$ 3.02 ^{bc}	15.16 $\pm$ 1.55 ^b	5.48 $\pm$ 0.56 ^a	6.35 $\pm$ 0.43 ^c
3	20.22 $\pm$ 2.32 ^a	21.99 $\pm$ 4.68 ^a	5.80 $\pm$ 0.46 ^a	8.07 $\pm$ 1.63 ^a
4	16.97 $\pm$ 4.31 ^{ab}	16.04 $\pm$ 3.62 ^b	5.28 $\pm$ 0.74 ^{ab}	7.73 $\pm$ 0.86 ^{ab}
5	14.26 $\pm$ 3.74 ^{bc}	16.42 $\pm$ 3.07 ^b	3.92 $\pm$ 0.81 ^c	6.25 $\pm$ 0.58 ^c

注:同一列中不同字母上标表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Significant differences are indicated by different superscript letters within a column ($P < 0.05$).

3 讨论

从本实验结果可知,饲料中高比例 DSBM 降低幼建鲤生长速度和饲料利用率,且 SGR 与饲料系数呈显著负相关,说明 DSBM 抑制幼建鲤生长且与饲料利用率降低有关,这与许多相关报道结果一致^[2,12-13]。同时,与第1组相比,第5组肠重、肠长、肠体指数、肠长指数和前、后肠皱襞高度均显著下降 ($P < 0.05$),且饲料系数分别与肠重和肠长呈显著负相关;第3、4、5组出现皱襞顶端上皮细胞脱落,上皮完整性受到破坏。说明 DSBM 引起幼建鲤饲料利用率下降与肠道生长发育受阻和上皮完整性受损导致黏膜功能性表面积减少有关,与虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[1,3-5]和大西洋鲑 (*Salmo salar* L.)^[6-9]中的研究结果相似。

本研究中第3、4、5组前肠、后肠黏膜固有层白细胞数量明显增多,说明高比例 DSBM 诱发了幼建鲤肠道炎症反应从而导致肠黏膜受损,这与虹鳟^[1-3]和大西洋鲑^[7-9]中研究结果一致。同时,第3组中肠、后肠溶菌酶含量和抗体水平达到最高 ($P < 0.05$),说明此时肠道非特异性和特异性免疫应答最强,与大西洋鲑^[8-9]中研究结果相似。而当替代比例进一步升高,溶菌酶含量和抗体水平下降,说明此时可能引起了肠道免疫相对抑制或免疫耐受。高比例大豆蛋白引起水生动物肠道免疫抑制或耐受的现象未见报道,但有研究表明高水平大豆蛋白能抑制虹鳟的系统非特异性免疫^[2]。由此推测,大豆蛋白引起鱼类肠道损伤的原因涉及肠道非特异性和特异性免疫反应的变化。由于目前为止涉及肠道免疫的相关报道很少,所以有待进一步研究验证。

综上,本实验条件下,在总蛋白水平为33%时,DSBM在体质量为10~35g的幼建鲤饲料中代替白鱼粉蛋白的适宜比例为25%。

参考文献:

- [1] Rumsey G L, Siwicki A K, Anderson D P, et al. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1994, 41 (3-4): 323-339.
- [2] Burrells C, Williams P D, Southgate P J, et al. Immunological, physiological and pathological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1999, 72 (3-4): 277-288.
- [3] Refstie S, Korsoen O J, Storebakken T, et al. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 2000, 190 (1-2): 49-63.
- [4] Buttle L G, Burrells A C, Good J E, et al. The binding of soybean agglutinin (SBA) to the intestinal epithelium of Atlantic salmon, *Salmo salar* and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed high levels of soybean meal [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2001, 80 (3-4): 237-244.
- [5] Ingh T S G A M Van den, Kroghdahl A, Olli J J, et al. Effects of soybean-containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a morphological study [J]. *Aquaculture*, 1991, 94 (4): 297-305.
- [6] Ingh T S G A M Van den, Olli J J, Kroghdahl A. Alcohol-soluble components in soybeans cause morphological changes in the distal intestine of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. *J Fish Dis*, 1996, 19 (1): 47-53.
- [7] Baeverfjord G, Kroghdahl A. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., distal intestine: a comparison with the intestines of fasted fish [J]. *J Fish Dis*, 1996, 19 (5): 375-387.
- [8] Bakke-McKellep A M, Press C M L, Baeverfjord G, et al. Changes in immune and enzyme histochemical phenotypes of cells in the intestinal mucosa of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with soybean meal-induced enteritis [J]. *J Fish Dis*, 2000, 23 (2): 115-127.
- [9] Kroghdahl A, Bakke-McKellep A M, Roed K H, et al. Feeding Atlantic salmon *Salmo salar* L. soybean products: effects on disease

- resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa[J]. *Aquac Nutr*, 2000, 6 (2): 77–84.
- [10] National Research Council. Nutrient requirements of fish [M]. Washington D C: National Academy Press, 1983.
- [11] National Research Council. Nutrient requirements of fish [M]. Washington D C: National Academy Press, 1993.
- [12] Kim J D, Kim K S, Song J S, et al. Effects of dietary full-fat soybean levels on growth performance and feed utilisation and phosphorus excretion of carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Asian Austral J Anim Sci*, 1995, 8 (6): 587–594.
- [13] 艾庆辉, 谢小军. 南方鲇的营养学研究: 饲料中大豆蛋白水平对生长的影响 [J]. *水生生物学报*, 2002, 26 (1): 57–64.

Effects of dehulled soybean meal on growth performance and intestine of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian*

ZHANG Jin-xiu, ZHOU Xiao-qiu, LIU Yang

(Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

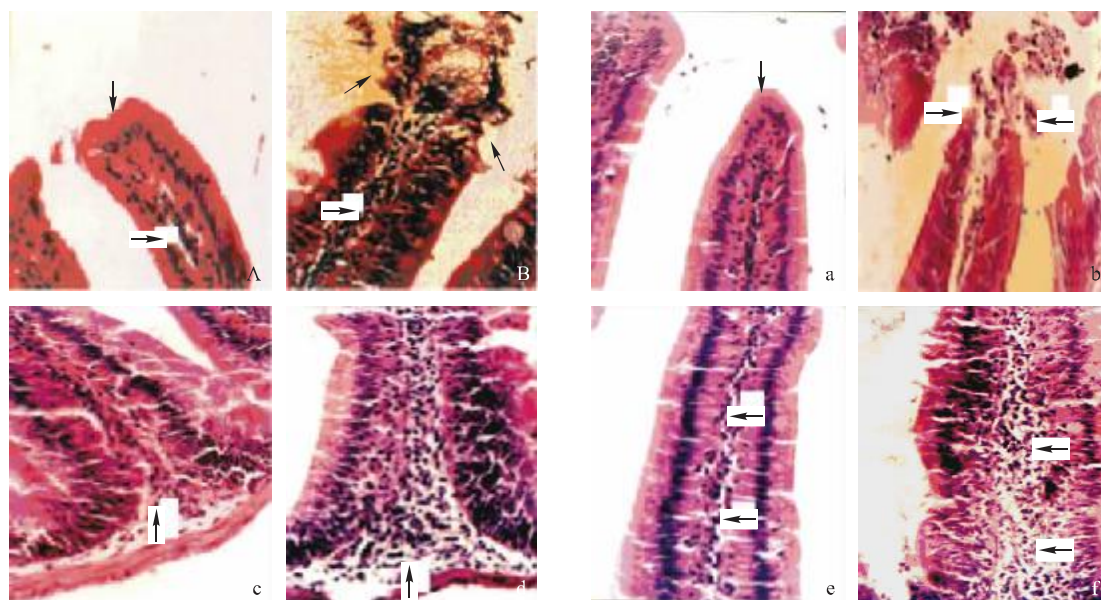
Abstract: In the growth trial, 720 juvenile Jian carps (*Cyprinus carpio* var. *jian*) with initial body weight of (10.29 ± 0.10) g were averagely allocated to 5 groups with 3 replications each, fed isonitrogenous ($330.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ diet) diets with white fish meal protein replaced by 0, 25%, 50%, 75% and 100% dehulled soybean meal (DSBM) protein for 9 weeks, respectively. The results showed that DSBM suppressed SGR and feed conversion rate. SGR, intestine weight, height of proximal and distal intestinal folds significantly decreased at 50% substitution ($P < 0.05$), while feed coefficient, lysozyme content and antibody level of mid and distal intestine increased at the same time ($P < 0.05$). At 50%–100% replacement, pathological disruption of the proximal and distal intestine was seen, characterized by sloughing of epithelium cell, widening of lamina propria and increasing amounts of leukocytes in it. It was suggested that high level dietary DSBM impaired growth and feed utilization of juvenile Jian carps, relating to suppression of intestine digestible ability through decreasing intestine growth and disruption of the mucosal. The mucosal disruption involved change of intestinal non-specific and specific immune induced by DSBM. In a diet with total protein level of 33%, DSBM can be used by replacing 25% of white fish meal protein without negative effect on growth performance of juvenile Jian carp at body weight 10–35 g. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 315–320]

Key words: juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian*; dehulled soybean meal; growth performance; intestine; immune

Corresponding author: ZHOU Xiao-qiu. E-mail: zhouxq@sicau.edu.cn

张锦秀等: 去皮豆粕对幼建鲤生长性能和肠道的影响

ZHANG Jin-xiu et al: Effects of dehulled soybean meal on growth performance and intestine of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian*



图版 I 去皮豆粕对幼建鲤前肠和后肠微观形态结构的影响 (× 400)

A, a, c, e: 示饲喂全鱼粉蛋白组前肠 (A) 和后肠 (a, c, e) 上皮结构, 皱襞顶端完整 (A, a), 固有层窄且其中白细胞分布较稀疏, 细胞排列整齐 (A, c, e). B, b, d, f: 示饲喂全大豆蛋白组前肠 (B) 和后肠 (b, d, f) 上皮结构, 皱襞顶端上皮细胞脱落 (B, b), 固有层变宽且其中白细胞数量明显增多 (B, d, f).

Plate I Effects of dehulled soybean meal on proximal and distal intestine morphological structure of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian* (× 400)

A, a, c, e: Showing proximal (A) and distal (a, c, e) intestine epithelium of sole fishmeal protein treatment with integrited fold tip (A, a) and narrow lamina propria with rare leukocytes (A, c, e). B, b, d, f: Showing proximal (B) and distal (b, d, f) intestine epithelium of sole soybean protein treatment with sloughing epithelium of fold tip (B, b) and widening lamina propria with increasing amounts of leukocytes (B, d, f).