

豆粕对异育银鲫(方正银鲫♀×兴国红鲤♂)生长性能及肠道形态的影响

张伟¹, 王文娟¹, 蔡春芳¹, 夏燕美¹, Åshild Krogdahl², 马红¹, 叶元土¹

(1. 苏州大学 基础医学与生物科学学院, 江苏 苏州 215123; 2. Aquaculture Protein Centre, Norway)

摘要: 以初始体质量约35 g的异育银鲫(*Allogynogenetic silver crucian carp*)(*Carassius auratus gibelio*♀×*Cyprinus carpio*♂)为研究对象,以鱼粉为对照饲料,研究了摄食含30%豆粕饲料8周后的生长性能及实验前(0周)、3周和8周后肠道显微结构的变化。结果表明:1)与对照组相比,30%豆粕显著降低鲫鱼的增重率和特定生长率($P<0.05$);2)组织切片显示:摄食30%豆粕3周后鲫鱼前、中、后肠较0周时黏膜皱襞受损,边缘糜烂,出现缺刻,皱襞间质变宽且有大量淋巴细胞浸润,黏膜上皮细胞核排列紊乱,肌层明显变薄;3)扫描电镜显示:较0周时前肠和后肠黏膜皱襞间距明显变宽,黏膜皱襞间可见脱落组织,中肠黏膜皱襞间距未见明显变化,但黏膜上皮结构糜烂。8周后肠道受损症状却有所减轻。上述结果表明,异育银鲫对豆粕中致敏因子比较敏感,但随着作用时间延长可产生一定的适应性。本研究旨在为异育银鲫人工饲料配方的优化提供科学依据。[中国水产科学,2010,17(4):791-797]

关键词: 豆粕; 异育银鲫; 肠道; 组织切片; 扫描电镜

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)04-0791-07

豆粕是植物蛋白中来源最广泛的饲料原料,蛋白含量比较高,已经在水产饲料中广为应用,过世东等^[1]报道,豆粕部分替代鱼粉、菜籽粕和棉籽粕后,在保持相同蛋白水平的前提下,水产饲料的原料成本可下降3%,并使水产饲料的氨基酸组成更趋合理,饲料蛋白利用率更高;潘庭双等^[2]报道,斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)饲料中豆粕对鱼粉蛋白的适宜替代量最大为17.5%,替代量大于35%时对斑点叉尾鲷生长有抑制作用。还有研究表明,豆粕会引起大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肠道病理性变化^[3-4],症状包括绒毛间质和黏膜下层淋巴细胞浸润,以及后肠相对重量下降^[5-7],但没发现豆粕对比目鱼(*Hippoglossus hippoglossus*)和鲷鱼(*Pampus sinensis*)的肠道产生明显的不良影响^[8-9]。由此可见,饲料中豆粕的适宜替代量因鱼而异。

异育银鲫(*Allogynogenetic silver crucian carp*)是中国淡水渔业的主要养殖对象之一,具有抗应激能力强、市场需求量大、养殖效益高等优点。异育银鲫商品鱼在饲养过程中全程投喂配合饲料,因此配合饲料的成分对其生长和健康均起着决定性作用。关于配合饲料中豆粕替代鱼粉的报道较多,而关于豆粕对异育银鲫肠道健康影响的研究还很少。本实验旨在为研究配合饲料中豆粕替代鱼粉对异育银鲫生长及肠道形态的影响,丰富鱼类营养生理研究内容,为该鱼人工饲料配方的优化提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼及分组

实验用异育银鲫购于苏州市吴江养殖场,为当年池塘养殖鱼种。经1周驯养适应养殖环境后,

收稿日期: 2009-10-29; 修订日期: 2010-01-27.

基金项目: 江苏省社会发展基金资助项目(BS2007140; BS2006021).

作者简介: 张伟(1982-),男,硕士研究生,主要从事水产增养殖和水产动物营养研究. E-mail: skyzhang820706@tom.com

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

选取大小均匀、体格健壮,体质量 35 g 左右的鱼种,称重后随机分配到 8 个玻璃钢水族箱中(110 cm×70 cm×65 cm),每缸 15 尾。

1.2 试验饲料
试验饲料由挪威 Aquaculture Protein Centre 的 Mette Sørensen 博士提供,配方及营养物质含量如表 1 所示。

表 1 实验饲料配方和化学组成
Tab. 1 Ingredients and chemical composition of experimental diets g/kg

原料 Ingredient	对照组 Control	豆粕组 SBM
鱼粉 Fish meal	679.9	379.9
小麦粉 Wheat	120	120
豆粕 Soybean meal	0	300
鱼油 Fishoil	115	115
谷朥粉 Wheat gluten	80	80
预混料 Vit and min premix	5	5
氧化钇 Yttrium oxide	0.1	0.1
饲料成分 Analysed composition		
干物质 / % Dry matter (DM)	92.4	91.2
粗蛋白 / % Crude protein (DM)	56.3	49.0
粗脂肪 / % Crude fat (DM)	18.5	16.1

1.3 饲养管理

每种饲料投喂 4 缸异育银鲫,其中 1 缸分别在饲养开始时(0 周)、3 周末和 8 周末采样分析,另 3 缸用于观察生长情况。每天投喂量视鱼的摄食情况而定,适量投喂,投喂时间分别为 8 : 30、12 : 30、17 : 00。详细记录每天的摄食量。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。养殖期间水质条件为:水温(25±2)℃,DO 高于 6.0 mg/L, pH 7.5±0.2, NH₄⁺-N (0.25±0.05) mg/L, NO₂⁻-N (0.04±0.01) mg/L,硫化物低于 0.05 mg/L。

1.4 采样与分析方法

分别于正式饲养开始时(0 周)及饲养 3 周和 8 周末收集实验鱼,使用 MS-222 将鱼麻醉。取出内脏团,分离出肠道,剔除表面脂肪组织,分别取前肠、中肠和后肠各段 1 cm 左右大小的组织 1~2 块,纵向剖开,使肠黏膜暴露于空气中,用生理盐水冲洗 3~4 次,除去其上所带有的血液、粪便等杂质。

组织切片样品置于 4% 中性甲醛中固定、70% 乙醇保存。分别经质量分数为 70%、80%、90%、95% 以

及 100% 的酒精梯度脱水,并置于二甲苯中透明,最后包埋于低熔点石蜡中。使用 KD-2508 型切片机横向连续切片,厚度为 6 μm,而后展片于清洁的载玻片上。采用 H.E 染色,中性树胶封片。

扫描电镜样品置于 2.5% 戊二醛固定液中,超声波洗涤 10 min,更换固定液再次洗涤,更换固定液保存。制样时将其取出,洗涤,适当修剪,1% 锇酸固定 1 h,0.1 mol/L pH 7.2 磷酸缓冲液洗 3 次,叔丁醇系列梯度脱水,真空干燥,喷金, S-4700 型冷场发射扫描电镜观察、拍照。

用于生长实验的鱼于饲养 8 周后捕捞、麻醉,统计各组实验鱼的尾数,计算成活率;称量每缸鱼的总体质量,计算增重率和特定生长率。

成活率(SR, %)=(实验末鱼尾数/实验初鱼尾数)×100;增重率(WGR, %)=(末体质量-初体质量)/初体质量×100;特定生长率(SGR, %)=(ln 末均体质量 - ln 初均体质量)/饲养天数×100

1.5 数据处理

实验结果采用“平均值±标准差”表示,所有统计分析采用 SPSS 16.0 软件,数据经方差分析后用 Duncan's 多重比较,显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 豆粕对异育银鲫生长的影响

从表2可知,实验期间各组鱼的成活率均为100%,从生长性能看,豆粕组的增重率和特定生长率均显著低于对照组($P<0.05$)。

2.2 豆粕对异育银鲫肠道形态的影响

异育银鲫肠道由黏膜层(mucosa)、黏膜下层(submucosa)、肌层(muscularis)和浆膜层(serosa)4个部分组成,黏膜层由单层柱状上皮细胞(columnar epithelial cell)和杯状细胞(goblet cell)组成,黏膜向肠腔突起褶成皱襞(folding),皱襞内的腔隙即皱襞间质(stroma),如图版 I 所示。

石蜡切片结果显示:摄食鱼粉饲料的对照组肠道结构无明显变化(图版 I-1,2,3),而摄食30%豆粕饲料的异育银鲫肠道形态发生了明显变化,表现在:0周时(图版 I-4)异育银鲫肠道黏膜皱襞完整,

皱襞间质较窄,黏膜上皮细胞核排列整齐,肌层较厚;3周后(图版 I-5),黏膜皱襞受损,边缘糜烂出现缺刻,皱襞间质变宽且有大量淋巴细胞浸润,黏膜上皮细胞核排列紊乱,肌层明显变薄;而8周后(图版 I-6),症状却有所减轻,黏膜皱襞比较完整,黏膜上皮细胞排列整齐。扫描电镜结果显示:0周时(图版 I-7,10,13)异育银鲫前、中、后肠黏膜皱襞排列整齐,肠黏膜上皮结构完整;摄食30%豆粕3周后(图版 I-8,11,14),异育银鲫前肠和后肠黏膜皱襞间距较0周时明显变宽,黏膜皱襞间可见脱落组织,中肠黏膜皱襞间距较0周时未见明显变化,但黏膜上皮结构糜烂;8周后(图版 I-9,12,15),异育银鲫前、中、后肠仍表现出病理性变化,但与摄食3周后相比,症状有所减轻,黏膜皱襞间距较3周时小,黏膜上皮结构也比较完整。而摄食鱼粉饲料的对照组肠道扫描电镜结果也未见明显变化。

表2 30% 豆粕对异育银鲫成活率、增重率和特定生长率的影响
Tab. 2 Effects of 30% Soybean on survival rate, weight gain rate and specific growth rate of *Allogynogenetic silver crucian carp*
n=3; $\bar{x}\pm SD$; %

组别 Group	成活率 Survival rate	增重率 Weight gain rate	特定生长率 Specific growth rate
鱼粉对照组 FM control	100	107±9 ^a	1.12±0.07 ^a
30% 豆粕组 SBM	100	76±10 ^b	0.78±0.09 ^b

注:同一列中具不同上标字母者表示差异显著($P<0.05$)。
Note: Values with different letters in the same column show significant difference ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 豆粕对异育银鲫生长性能的影响

本实验中对对照组鱼粉和鱼油的用量均较高,一方面是因为较高的营养水平可以使鱼的生长潜力得到充分发挥;另一方面是为了避免植物性饲料中各种化学成分之间复杂的协同作用、拮抗作用、化学反应等^[10]。在此基础上,用豆粕代替30%的鱼粉,可以更准确地反映豆粕对鲫鱼生长性能和肠道健康的影响。

与鱼粉相比,豆粕在蛋白质含量、能量含量、氨基酸组成、抗营养因子等方面均处于劣势^[11]。关于豆粕替代鱼粉引起生长不良的报道很多,但也有许多研究表明,在一定范围内豆粕代替鱼粉不会导致

生长性能下降^[12-14]。由于实验饲料中含有37.99%的鱼粉,蛋白质和能量均较高(表1),因此,本实验中添加30%豆粕引起生长速度显著下降的结果远超出实验预期。豆粕对异育银鲫生长抑制的确切的机制尚待进一步研究。

3.2 豆粕对异育银鲫肠道形态的影响

鱼类肠道是营养物质消化吸收的主要场所,黏膜皱襞的高低和疏密、上皮细胞的高低、纹状缘的发达程度以及杯状细胞数量的多少等与消化吸收能力密切相关^[15]。

在大西洋鲑(*Salmo salar*)^[16]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[17]、欧洲真鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[18]的饲料

中添加一定量的大豆产品,后肠绒毛上皮结构会发生形态变化,如黏膜褶皱缩短、黏膜固有层加宽、产生肠黏膜炎症反应等。这可能是大豆中的某些致敏原和小肠壁上皮细胞表面特异受体结合,诱使肠黏膜发生炎症反应,但目前还不清楚究竟是大豆中的哪种成分引起了鱼类这种炎症反应。鱼类对大豆中致敏因子的炎症反应因鱼而异。大西洋大比目鱼饲料中添加18%和36%的豆粕肠道形态与未添加豆粕的对照组无显著差异^[19]。斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[20]、埃及鲷(*Solea aegyptiaca*)^[21]也没有因为摄食含豆粕的饲料而出现肠道形态学变化。从本实验结果看,异育银鲫显然属于对豆粕中致敏因子比较敏感的种类,这可能也是导致其生长性能下降的部分原因。

Baeverfjord 和 Krogdahl^[5]发现,饲喂大西洋鲑含有豆粕的饲料1周便出现非感染性肠炎症状,改喂对照饲料(鱼粉)3周后,豆粕诱导的肠道损伤症状可消失。本实验研究发现,异育银鲫摄食含豆粕的饲料3周后前、中、后肠均表现出明显的病理性变化,但在饲养8周后肠道受损症状又有所减轻,这在以前的文献中未见报道,表明异育银鲫对豆粕中的致敏因子具有一定的适应性。

4 结论

异育银鲫摄食含30%豆粕的饲料后,生长性能显著下降。并在饲养3周后肠道黏膜出现明显的病理学变化,饲养8周后症状有所减轻,表明异育银鲫对豆粕中致敏因子比较敏感,同时又具有一定的适应能力。但目前尚不清楚大豆中的哪种成分引起鱼类这种炎症反应,对其作用因子、原理及机制有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 过世东,胡建伟,赵娟,等. 豆粕部分替代鱼粉、菜籽粕、棉籽粕对水产饲料的影响[J]. 粮食与饲料工业,2003,12: 48-50.
- [2] 潘庭双,程玉冰,侯冠军,等. 斑点叉尾鲷配合饲料中豆粕替代部分鱼粉的研究[J]. 安徽农学通报,2008,14(21): 196-197.
- [3] Bureau D P, Harris A M, Cho C Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 1998, 161 (1-4): 27-43.
- [4] 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]. Veterin Immunol Immunopathol, 1999, 72, (3-4): 277-288.
- [5] Baeverfjord G, Krogdahl 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: 375-387.
- [6] Refstie S, Sahlstrom S, Brathen E, et al. Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture, 2005, 246: 331-345.
- [7] Nordrum S, Bakke-McKellep A M, Krogdahl A, et al. Effects of soybean meal and salinity on intestinal transport of nutrients in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Compar Biochem Physiol, Part B: Biochem Molec Biol, 2000, 125 (3): 317-335.
- [8] Grisdale-Helland B, Ruyter B, Rosenlund G, et al. Influence of high contents of dietary soybean oil on growth, feed utilization, tissue fatty acid composition, heart histology and standard oxygen consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) raised at two temperatures [J]. Aquaculture, 2002, 207 (3-4): 311-329.
- [9] Ostaszewska T, Dabrowski K, Palacios M E, et al. Growth and morphological changes in the digestive tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and pacu (*Piaractus mesopotamicus*) due to casein replacement with soybean proteins [J]. Aquaculture, 2005, 245 (1-4): 273-286.
- [10] Francis G, Harinder P S M, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish [J]. Aquaculture, 2001, 199: 197-227.
- [11] 王桂芹,周洪琪,陈建明,等. 翘嘴红鲌对饲料蛋白的营养需求及豆粕对鱼粉的适宜替代量[J]. 中国水产科学, 2006, 13 (2): 277-285.
- [12] 曹玲,王卫民,杨承泰. 水产饲料中大豆蛋白替代鱼粉的应用研究[J]. 饲料工业, 2007, 28 (4): 57-61.
- [13] 程成荣,刘永坚. 杂交罗非鱼饲料中发酵豆粕替代鱼粉的研究[J]. 广东饲料, 2004, 13 (2): 26-27.
- [14] 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: 57–65.
- [15] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 101–104.
- [16] Kroghdahl A, Bakke-Mckellep M. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aqu Nutr, 2003, 9: 361–371.
- [17] Refstie S, Storebakken T, Baeverfjord G, et al. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level [J]. Aquaculture, 2001, 193: 91–106.
- [18] Ksudhik S J, Coves D, Dutto G. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax* [J]. Aquaculture, 2004, 230: 391–404.
- [19] Grisdale-Helland B, Helland S J, Baeverfjord G., et al. Full-fat soybean meal in diets for Atlantic halibut: growth, metabolism and intestinal histology [J]. Aqu Nutr, 2002, 8: 265–270.
- [20] Evans J J, Pasnik D J, Peres H, et al. No apparent differences in intestinal histology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed heat-treated and non-heat-treated raw soybean meal [J]. Aquaculture Nutrition, 2005, 11: 123–129.
- [21] Bonaldo A, Roem A J, Pecchini A, et al. Influence of dietary soybean meal levels on growth, feed utilization and gut histology of Egyptian sole (*Solea aegyptiaca*) juveniles [J]. Aquaculture, 2006, 261: 580–586.

Effects of soybean meal on growth and intestinal morphology of Allogynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* ♀ × *Cyprinus carpio* ♂)

ZHANG Wei¹, WANG Wenjuan¹, CAI Chunfang¹, XIA Yanmei¹, Åshild Kroghdahl², MA Hong¹, YE Yuantun¹

(1. College of Basic Medical Science and Biology Science, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2. Aquaculture Protein Centre, Norway)

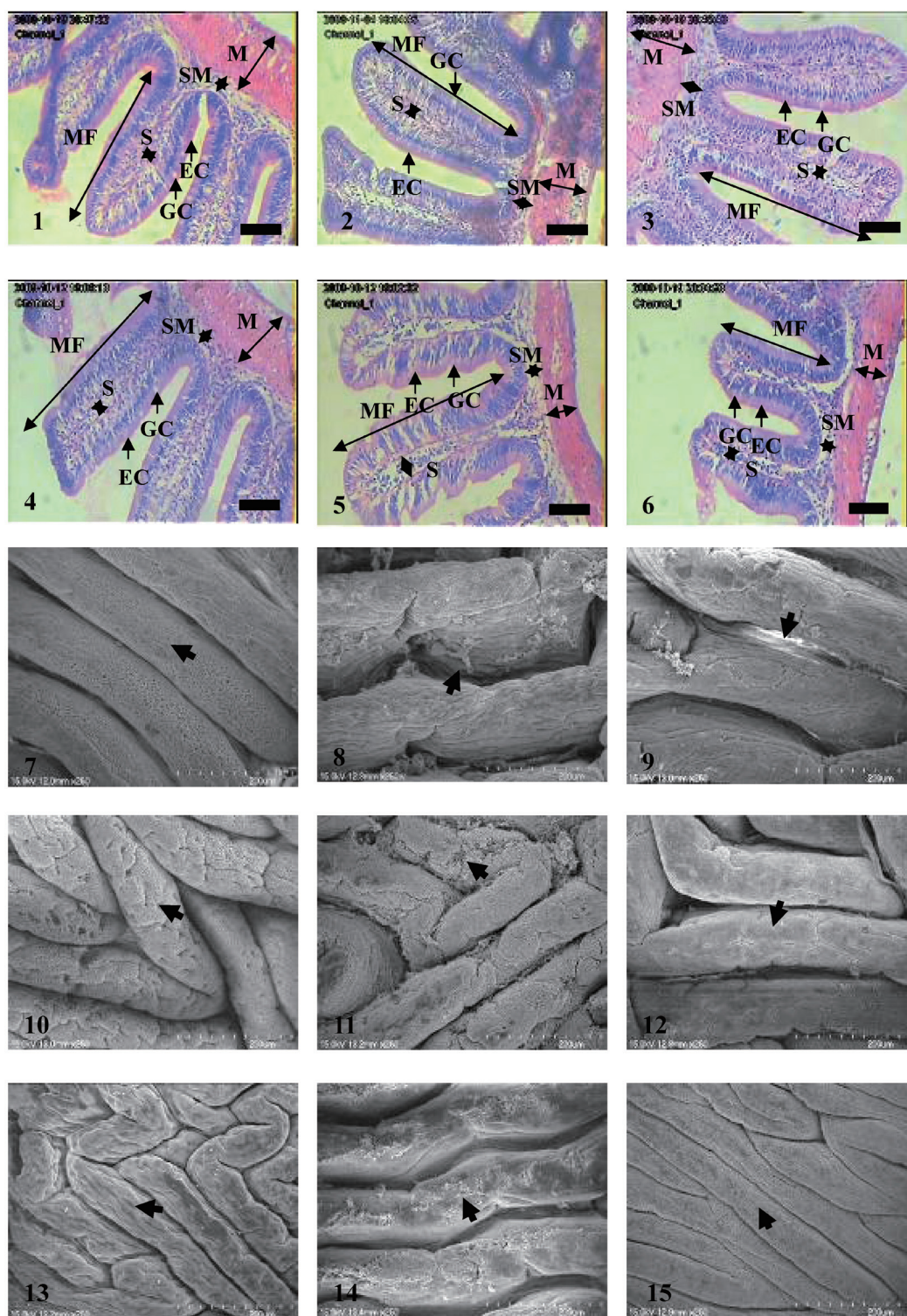
Abstract: Growth performance and intestinal morphology of *Allogynogenetic silver crucian carp* (*Carassius auratus gibelio* ♀ × *Cyprinus carpio* ♂), initial body weight 35 g, were studied. The fish were fed diets with fish meal (FM diet) and 30% soybean meal (SBM diet) respectively during an 8-week feeding trial, while gut was sampled at 0 weekend, 3rd weekend and 8th weekend for histology analysis. The results showed that weight gain rate (WGR) and special growth rate (SGR) in fish fed SBM diet were significantly lower than fish fed FM ($P < 0.05$); a serious symptom of non-infectious enteritis of foregut, midgut and hindgut were noticed in fish fed SBM diet after 3 weeks' feeding. Histological results showed that compared with that of 0 week, mucosal folds were damaged, and the edge of erosion presented notch and a qualitative change in width between the stromas and there was a large number of lymphocyte infiltration, columnar epithelial cells are irregularly arranged, and the thickness of muscle decreased; scanning electron microscopy showed that compared with 0 weeks, intestinal folds spacing was widened in foregut and hindgut, desquamated tissues were observed between the folds, no significant changes were observed in spacing of folds in midgut; and the fish were able to adapt to SBM after 8 weeks. This study was designed to provide the scientific basis for the optimization of feed formula of *Allogynogenetic silver crucian carp*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(4): 791–797]

Key words: soybean; *Allogynogenetic silver crucian carp*; intestine; histology; scanning electron microscope

Corresponding author: CAI Chunfang. E-mail: szcfcai@yahoo.com.cn

张伟等：豆粕对异育银鲫（方正银鲫♀×兴国红鲤♂）生长性能及肠道形态的影响

ZHANG Wei et al: Effect of soybean meal on growth and intestinal morphology of *Allogynogenetic silver crucian carp* (*Carassius auratus gibelio* ♀ × *Cyprinus carpio* ♂)



图版 I Plate I

张伟等：豆粕对异育银鲫（方正银鲫♀×兴国红鲤♂）生长性能及肠道形态的影响

ZHANG Wei et al: Effect of soybean meal on growth and intestinal morphology of *Allogynogenetic silver crucian carp* (*Carassius auratus gibelio* ♀ × *Cyprinus carpio* ♂)

图版 I 说明

1. 鱼粉对照0周中肠, HE; 2. 鱼粉对照3周中肠, HE; 3. 鱼粉对照8周中肠, HE;
4. 30% 豆粕0周中肠, HE; 5. 30% 豆粕3周中肠, HE; 6. 30% 豆粕8周中肠, HE;
7. 30% 豆粕0周前肠, SEM; 8. 30% 豆粕3周前肠, SEM; 9. 30% 豆粕8周前肠, SEM;
10. 30% 豆粕0周中肠, SEM; 11. 30% 豆粕3周中肠, SEM; 12. 30% 豆粕8周中肠, SEM; 13. 30% 豆粕0周后肠, SEM; 14. 30% 豆粕3周后肠, SEM; ; 15. 30% 豆粕8周后肠, SEM.

(图版 I -1 ~ 6 标尺均为 100 μm, 图版 I -7 ~ 15 标尺均为 200 μm)

EC—上皮细胞, GC—杯状细胞, M—肌层, MF—黏膜皱襞, S—皱襞间质, SM—黏膜下层;

Explanation of Plate I

1. HE photograph of FM control midgut after 0 week; 2. HE photograph of FM control midgut after 3 weeks; 3. HE photograph of FM control midgut after 8 weeks; 4. HE photograph of 30% soybean midgut after 0 week; 5. HE photograph of 30% soybean midgut after 3 weeks; 6. HE photograph of 30% soybean midgut after 8 weeks; 7. SEM photograph of 30% soybean foregut after 0 week; 8. SEM photograph of 30% soybean foregut after 3 weeks; 9. SEM photograph of 30% soybean foregut after 8 week; 10. SEM photograph of 30% soybean midgut after 0 week; 11. SEM photograph of 30% soybean midgut after 3 week; 12. SEM photograph of 30% soybean midgut after 8 week; 13. SEM photograph of 30% soybean hindgut after 0 week; 14. SEM photograph of 30% soybean hindgut after 3 week; 15. SEM photograph of 30% soybean hindgut after 8 week.

(Bar in Figs.1-6: 100 μm ; Bar in Figs. 7-15: 200 μm)

EC—epithelial cell, GC—goblet cell, M—muscularis, MF—mucosal folding, S—stroma, SM—submucosa