

文章编号:1004-7271(2004)01-0036-05

饲料中添加 β -葡聚糖和低聚果糖对中华鳖幼鳖生长和血清 SOD、溶菌酶活力的影响

季高华, 刘至治, 冷向军

(上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090)

摘要: 在基础饲料中分别添加 0.2%、0.3% β -葡聚糖和 0.15%、0.25% 低聚果糖, 饲喂中华鳖幼鳖 100d, 测定中华鳖的生长和血清超氧化物歧化酶(SOD)、溶菌酶的活力。结果表明, 添加 0.25% 低聚果糖显著提高了幼鳖增重率($P < 0.05$)和成活率($P < 0.05$)。添加 0.3% β -葡聚糖也有提高幼鳖增重率和成活率的趋势, 但不显著($P > 0.05$)。在血清酶活力方面, 添加 0.25% 低聚果糖组 SOD 酶活力比对照组高 31.3% ($P < 0.05$), 而添加 0.3% β -葡聚糖组的 SOD 酶活力比对照组高但无显著差异($P > 0.05$)。对照组、0.3% β -葡聚糖组和 0.25% 低聚果糖组间溶菌酶活力无显著差异($P > 0.05$)。

关键词: 中华鳖; β -葡聚糖; 低聚果糖; 生长; 超氧化物歧化酶; 溶菌酶

中图分类号: S917 文献标识码: A

Effects of dietary betaglucan and fructooligosaccharides on the growth and activities of superoxide dismutase and lysozyme of *Trionyx sinensis*

Ji Gao-hua, Liu Zhi-zhi, Leng Xiang-jun

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The growth and activities of superoxide dismutase and lysozyme of soft-shelled turtle were measured and compared through feeding with 0.2%, 0.3% of betaglucan and 0.15%, 0.25% of fructooligosaccharides in basal formulated diet on the 100th feeding day. The results showed that the weight and survival rate of 0.25% fructooligosaccharides group were significantly higher than control group ($P < 0.05$). The weight and survival rate of 0.3% betaglucan showed a trend of higher than that of control group, but not significant ($P > 0.05$). The activity of superoxide dismutase of 0.25% fructooligosaccharides group was 31.3% higher than that of control group ($P < 0.05$). The activity of superoxide dismutase of 0.3% betaglucan was higher than that of control group but not significant ($P > 0.05$). There was no significant difference on the activities of lysozyme among the groups of 0.25% fructooligosaccharides, 0.3% betaglucan group and control group ($P > 0.05$).

Key words: *Trionyx sinensis*; betaglucan; fructooligosaccharides; growth; superoxide dismutase; lysozyme

收稿日期: 2003-09-01

基金项目: 上海市水产办“中华鳖养殖业持续发展研究”项目(科 0095)

作者简介: 季高华(1977-)男, 湖北钟祥人, 上海水产大学 2001 级硕士研究生, 从事水产动物医学研究。Tel: 021-65710348, E-mail:

jigaohua@hotmail.com

生产者在养殖过程中,为控制鳖病,往往在饲料中添加各种抗生素药物,细菌产生耐药性和鳖体中药物残留等问题日益突出,这不仅不利于鳖的健康养殖,而且会对消费者的健康产生影响^[1-3]。使用新型添加剂以减少使用抗生素药物,增强鳖体自身免疫力,是预防鳖病的有效途径。 β -葡聚糖属于植物细胞壁中的结构性非淀粉多糖,是自然合成的多聚糖含量较多的糖类。低聚果糖(Fructooligosaccharides, FOS)又称寡果糖、果寡低聚糖、蔗果三糖族低聚糖等,分子式为 G-F-Fr(G 葡萄糖, F 果糖, $n=1\sim 3$), 目前作为饲料添加剂的主要为寡果三糖(GF₂)、寡果四糖(GF₃)和寡果五糖(GF₄)。近年来 β -葡萄糖和低聚果糖在畜禽方面研究报道较多^[4-5],而在水产动物上研究较少。本试验通过在饲料中添加 β -葡聚糖和低聚果糖,考查其对中华鳖生长和血清 SOD、溶菌酶活力的影响,为中华鳖绿色饲料的研制提供理论依据。

1 材料与方方法

1.1 材料

基础饲料采用宁波天邦饲料科技股份有限公司生产的幼鳖料,成分见表 1。 β -葡聚糖和低聚果糖购自广州智特奇公司,纯度均为 20%。试验中华鳖购自崇明东泰鳖业有限公司,选择外塘养殖的体重基本一致的健康一龄幼鳖 1500 只,平均体重 57.2 ± 9.1 g。

表 1 基础饲料成分

Tab.1 Main composition of basal diet

组分	水分	粗蛋白	粗脂肪	粗纤维	粗灰分	食盐	钙	总磷
百分含量	≤ 10.0	≥ 46.0	≥ 3.0	≤ 2.0	≤ 17.0	≤ 2.0	≤ 4.6	≥ 1.5

1.2 方法

1.2.1 试验设计

在基础饲料中添加 0.2%、0.3% β -葡聚糖或 0.15%、0.25% 低聚果糖,共 4 个试验组;以基础鳖饲料为对照组。采用完全随机区组设计,每组设三个平行,共 15 个池。试验前放养于室外水泥池(3.5m \times 3.5m \times 0.4m),每池放养幼鳖 100 只。每池设充气头一个,24h 充气,饵料台一块,晒背台一个。正式试验前驯食 10d。

1.2.2 饲养管理

投喂前按 1:1 的重量比向试验饲料加水,同时加入 1% 玉米油,人工揉成饼状。投喂时将饼状饲料固定在投料台上。日投饵量按体重的 2% 投喂,上午 8 时 30 分、下午 4 时各一次,1h 后收集残饵,称重,并按比例换算为干粉重。饲养期间,水体每个月用生石灰消毒一次。水中 DO > 1.2 mg/L, $\text{NH}_3 < 2$ mg/L, pH 8.4 ~ 9.05,水温 17.0 ~ 34.0 $^{\circ}\text{C}$,饲养 100d。

1.2.3 生长测定

100d 后逐只测定各组鳖的体重,计算增重。

1.2.4 血清制备

从 β -葡聚糖和低聚果糖中各试验浓度组中分别选出生长较好的一组(分别是 0.3% β -葡聚糖和 0.25% 低聚果糖),连同对照组共三组;从每组中随机取鳖 30 只,断头取血,室温放置 1h,3000r/min 离心 15min,取血清, -20°C 保存备用。

1.2.5 血清超氧化物歧化酶(SOD)活力测定

采用南京建成生物工程研究所的超氧化物歧化酶测定试剂盒测定。按说明书配制好 1、2、3、4 号试剂和显色剂,测定时测定管和对照管平行加入:1 号试剂 1.0mL \rightarrow 测定管加血清 8 μL 、对照管加蒸馏水 8 μL \rightarrow 2 号试剂 0.1mL \rightarrow 3 号试剂 0.1mL \rightarrow 4 号试剂 0.1mL \rightarrow 用旋涡混匀器充分混匀,置 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴

40min→加入显色剂 2mL 混匀→10min 后倒入 1cm 光径比色杯中,蒸馏水调零,波长 550nm 处比色。血清中 SOD 活力计算如下:

定义:每 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位(NU)。

计算公式:

$$\text{SOD 活力 NU/mL} = \frac{\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度}}{\text{对照管吸光度}} \div 50\% \times \text{稀释倍数}$$

公式中稀释倍数包括样本测试前的稀释倍数及测试反应体系中稀释倍数。本试验总稀释倍数为 413.5。

1.2.6 血清溶菌酶活力测定

溶菌酶测定采用南京建成生物工程研究所的溶菌酶测定试剂盒(比浊法)。按说明书配制好应用菌液和标准应用液,测定时先将 0.25mg/mL 应用菌液、0.1mg/mL(即 2000U/mL)的标准应用液及待测样本均放入冰水浴中预冷 5min 以上。然后比色在 530nm 处,1cm 光径比色皿,蒸馏水调透光度后,将标准应用液及待测样本 0.2mL 加入洗净的比色皿的底部,快速将预冷的应用菌液 2.0mL 加入比色皿中,同步按下秒表,于反应 5s 时读透光度 T_0 值,28℃准确水浴 15min,立即取出倒入 1cm 光径比色皿中,530nm 处以蒸馏水调透光度 100%,比色,测各管的透光度 T_{15} (T_{15} 即 28℃水浴 15min 后的透光度值)。按下面公式计算溶菌酶含量:

$$\text{溶菌酶含量}(\mu\text{g/mL}) = \frac{\text{测定管透光度 } UT_{15} - \text{测定管透光度 } UT_0}{\text{标准管透光度 } ST_{15} - \text{标准管透光度 } ST_0} \times 100\mu\text{g/mL}(2000\text{U/mL})$$

1.3 数据处理

采用统计软件 SPSS11.0 软件处理。差异显著性采用 ANOVA、LSD 检验。

2 结果

2.1 生长差异

随着 β -葡聚糖和低聚果糖浓度的升高,中华鳖的体重和成活率都有增高的趋势。0.25% 低聚果糖组增重高出对照组 9.5%,成活率高出对照组 17.8%,差异均显著($P < 0.05$)。其它各组增重与对照组间无显著差异($P > 0.05$),成活率均比对照组高但差异不显著($P > 0.05$),详见表 2。

表 2 试验 100d 各组增重与成活率

Tab.2 Weight and survival rates of soft-shelled turtle in each group during the 100th testing day

组别	初重(g)	末重(g)	平均增重(g)	成活率(%)
对照组	57.1 ± 8.7	125.7 ± 29.7	^a 68.6	^a 66.7
0.2% β -葡聚糖组	55.5 ± 9.3	124.9 ± 28.9	^a 69.4	^{ab} 75.0
0.3% β -葡聚糖组	58.0 ± 6.6	128.0 ± 26.9	^a 70.0	^{ab} 76.5
0.15%低聚果糖组	58.8 ± 8.5	129.0 ± 29.0	^a 70.2	^{ab} 78.5
0.25%低聚果糖组	56.5 ± 8.9	131.6 ± 29.8	^b 75.1	^b 84.5

注:表中小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

2.2 血清超氧化物歧化酶(SOD)活力

从两组 β -葡聚糖试验组中选出 0.3% β -葡聚糖,从低聚果糖试验组中选出 0.25% 低聚果糖组,以及一个对照组,各随机抽取 30 只鳖,测定血清超氧化物歧化酶。0.25% 低聚果糖组 SOD 活力显著高于对照组($P < 0.05$),如表 3。

表 3 试验 100d 三组血清 SOD 活力

Tab.3 Activity of SOD in serum in three groups during the 100th testing day

组别	对照组	0.3% β -葡聚糖	0.25%低聚果糖
SOD 活力(NU)	^a 896.3 \pm 320.9	^a 926.3 \pm 225.6	^b 1176.9 \pm 446.1

注: 表中小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

2.3 血清溶菌酶活力

各组间血清溶菌酶活力无显著差异($P > 0.05$)如表 4。

表 4 试验 100d 三组血清溶菌酶活力

Tab.4 Activity of lysozyme in serum in three groups during the 100th testing day

组别	对照组	0.3% β -葡聚糖	0.25%低聚果糖
溶菌酶活力($\mu\text{g/mL}$)	^a 0.780 \pm 0.150	^a 0.668 \pm 0.182	^a 0.728 \pm 0.185

注: 表中小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

3 讨论

β -葡聚糖可促进鱼、虾的生长,提高增重率、降低饲料系数^[6]。而在本试验中,添 β -葡聚糖对鳖的生长和成活率影响不显著($P > 0.05$);对鳖的溶菌酶活力和超氧化物歧化酶活力也无显著影响($P > 0.05$)。这与其它研究结果不同^[7]。其原因可能有 3 点:一是浓度。如表 2 所示,0.2%和 0.3%浓度组的平均增重和成活率虽无显著差异,但 0.3%组的增重和成活率比 0.2%组稍高,显示本试验的浓度可能较低;二是可能与本试验用的 β -葡聚糖化学性质有关。 β -葡聚糖是由葡萄糖单元通过 $\beta(1-3)(1-4)$ 糖苷键连接而成的 D 型葡萄糖聚合物。葡萄糖的结构对葡聚糖的活性影响很大:① $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖的活性与其分支度和分子大小有关。分支度为 0.20~0.33 的 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖的生物活性最强。高分子组分为 $10^5 \sim 2 \times 10^5$ 的葡聚糖具有较强的活性。② β -葡聚糖生物活性还同主链连接方式有关。有活性的 β -葡聚糖主链连接方式为 $\beta(1-3)$,而连接方式为 $\beta(1-4)$ 的则无活性。③葡聚糖侧链基团的性质也会影响葡聚糖的活性。 $\beta(1-3)$ -D-葡聚糖的活性源于葡聚糖骨架的螺旋构象,但螺旋结构的外表面的亲水基团也起着重要作用。本试验所用 β -葡聚糖是商业成品,具体成分不详,其结构可能是限制其活性的原因;三可能是与试验对象有关。现已报道的研究对象为畜禽和鱼虾,而本试验对象是中华鳖。在哺乳动物 β -葡聚糖增强非特异性防御能力的机理是巨噬细胞、粒细胞和 NK 细胞上的特异性受体与 β -葡聚糖相互作用并被直接激活,释放的细胞素又激活 T 细胞和 B 细胞^[4]。在中华鳖,是否存在特异性受体与 β -葡聚糖作用诱发免疫反应尚不清楚。

本试验中,随着低聚果糖添加浓度的增加,鳖的体重增加,成活率提高。这与在猪、鸡和虾上的试验结果一致^[5,8,9]。本试验中最高添加浓度 0.25%组幼鳖增重显著高于对照组($P < 0.05$),如果浓度再增加,体重变化还待于进一步试验。

大量试验表明,低聚果糖作为一种新型饲料添加剂,在动物消化道内不被消化,但可被肠道内的有益微生物充分利用,能促进肠道内双歧杆菌及乳酸杆菌等有益微生物的增殖,同时抑制沙门氏菌与大肠杆菌等病原菌的增殖,从而改善肠道微生态,消除消化道内的病原菌和激活机体免疫系统,最终提高动物的增重率和饵料转化率,增强机体的免疫力,提高成活率^[10-12];它还可以影响脂质和蛋白质代谢^[13,14];同时,它也可以促进日粮中矿物元素的吸收^[15];另外,它还可以为肠粘膜细胞提供能源,增进肠粘膜细胞的增殖,促进肠道发育^[11,12]。本实验中对中华鳖的生长促进作用可能是以上综合作用的结果。在畜牧上对低聚果糖研究较多,而在水产方面研究较少。低聚果糖作为一种绿色的饲料添加剂,具有无毒副作用、无残留及抗药性优点且结构稳定,不存在贮藏、加工过程中的失活问题,在水产动物饲料领域具有广阔的应用前景。

超氧化物歧化酶(SOD)对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,此酶能消除超氧阴离子自由基(O_2^-),保护细胞免受损伤。溶菌酶在机体防护中也起着极其重要的作用。本试验中,添加0.25%低聚果糖组的超氧化物歧化酶活力显著高于对照组($P < 0.05$),但对溶菌酶的活力却无显著影响,其原因有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 丁晓明.中华鳖养殖业生产形式及对策[J].中国水产,2000,1:12.
- [2] 郝玉江,杨振才,贾艳菊,等.我国中华鳖产业面临的问题及对策[J].河北渔业,2001,4:38-39,43.
- [3] 徐寿山.中华鳖养殖生产现状及有关问题探讨[J].水产科技情报,2000,27(1):25-27.
- [4] 齐莉莉,许梓荣.免疫增强剂对单胃动物及鱼类的作用[J].饲料世界,2001(12):34-36.
- [5] 许梓荣,胡彩虹.寡果糖对肥育猪生长性能、肠道菌群和免疫功能的影响[J].中国兽医学报,2003,23(1):69-71.
- [6] 陈云波,周洪祺,华雪铭,等.饲料中添加 β -葡聚糖对南美白对虾的生长存活及饲料系数的影响[J].淡水渔业,2002,32(5):55-56.
- [7] 刘栋辉,阳会军. β -葡聚糖和维生素C对斑节对虾生长和抗病力的效果[J].中山大学学报(自然科学版),2002,41(4):59-62.
- [8] 高峰,江芸,周光宏,等.寡果糖对断奶仔猪生长、代谢和免疫的影响[J].畜牧与兽医,2001,33(6):8-9.
- [9] 高峰,周光宏,韩正康.寡果糖对雏鸡生产性能、免疫功能和内分泌的影响[J].动物营养学报,2001,13(2):51-55.
- [10] Roberfroid M B, Vanloo J A E, Gibson G R. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products[J]. J Nutr, 1998, 128: 11-19.
- [11] Howard M D, Gordon D T, Garleb K A, et al. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic microbiota and epithelial cell proliferation in mice and rat[J]. J Nutr, 1995, 125: 2604-2609.
- [12] Campbell J M, George G C, Wolf B W. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats[J]. J Nutr, 1997, 127: 130-136.
- [13] Agheli N, Morvarid K, Sibilla B C, et al. Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats[J]. J Nutr, 1998, 128: 1283-1288.
- [14] Levart M A, Remesy C, Demigne C. High propionic acid fermentation and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin[J]. J Nutr, 1991, 121: 1730-1737.
- [15] Ohta A M, Ohtsuki S, Baba S, et al. Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides[J]. J Nutr, 1995, 125: 2417-2424.

《中国常见海洋红藻超微结构》内容简介

由王素娟、裴鲁青、段德麟教授合编的《中国常见海洋红藻超微结构》一书由浙江宁波出版社正式出版。

本书研究了中国常见海洋红藻门中的7个目、15科22属46种的超微结构,共计128图版,128页文字记述,中文图版说明520条,中英文对照图版说明520条,本书大小为28.5cm×21cm(大16开),用156克纸铜版纸印刷,精装本外加护封。全书定价80元。邮费为定价的10%。

本书内容丰富详实,为中国最近用电子显微镜研究海藻超微结构的专著,可供大专院校的植物学、藻类学教师和研究生以及有关科研工作者教学及研究用参考书。

欲购买者请与《水产学报》编辑部联系。

编辑部地址:上海市军工路334号《水产学报》编辑部 邮编200090

联系电话 021-65710232 021-65680965(传真)

联系人 伍稷芳

E-mail jfc@shfu.edu.cn; scxuebao@online.sh.cn