

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2012.00041

双低菜粕替代豆粕对青鱼幼鱼生长及生理生化指标的影响

黄云¹ 胡毅¹ 肖调义¹ 郇志利¹ 文华² 封福鲜³ 余建波¹

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128; 2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 武汉 430223;

3. 中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 青岛 266003)

摘要:以初始体重(5.77±0.05)g的青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)为研究对象,以双低菜粕蛋白分别替代饲料中0(对照)、25%、50%、75%和100%的豆粕蛋白,配制双低菜粕含量分别为0、11%、22%、33%和44%的5种等氮等能的实验饲料,研究双低菜粕对青鱼生长、消化酶、消化率、体组成和部分生理生化指标的影响。实验在室内养殖系统中进行,每水族箱(300 L)饲喂25尾,每处理组3个重复,以鱼体重3%—5%投喂量,日投喂2次,试验持续8周。实验结果表明,当饲料中双低菜粕含量大于11%时,其特定生长率、干物质和蛋白质表观消化率、肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均显著低于对照组,当双低菜粕含量达到44%时,饲料系数显著高于对照组($P<0.05$),但各处理间成活率差异不显著。双低菜粕对血清溶菌酶、谷丙转氨酶活性和补体C4含量无显著影响,但显著影响了血液中红细胞和白细胞数,其数量随饲料菜粕含量的增加而降低。与对照组相比,当双低菜粕含量达到22%时,血清中总胆固醇、补体C3和总蛋白含量显著下降,当含量达到33%时,过氧化氢酶活性显著降低,谷草转氨酶活性显著升高($P<0.05$)。饲料菜粕对鱼体水分和蛋白含量无显著影响,但鱼体脂肪随菜粕含量的增加而降低,脏体比指数和灰分含量有随菜粕含量的增加而升高的趋势,肝体比指数有随菜粕含量的增加而有先升高后降低的趋势。上述结果表明,青鱼幼鱼饲料中双低菜粕含量以不超过11%为宜。

关键词:青鱼; 双低菜粕; 生长; 消化酶; 表观消化率; 血液生理生化指标

中图分类号: S963.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2012)01-0041-08

菜籽粕是一种价格低廉、氨基酸组成较好、维生素和矿物质含量丰富、来源广泛的植物蛋白源,目前我国菜籽粕年产量超过了700万吨,然而由于含有多种毒素和抗营养因子,如硫代葡萄糖苷、芥酸、植酸、单宁和芥子碱等,限制了在水产饲料中的添加^[1]。研究表明,过量添加将影响鱼类的生长^[2-4]、免疫力下降^[5, 6]、肝功能受损以及体组织异常等现象^[5]。与普通菜粕相比,双低菜粕中赖氨酸、蛋氨酸和精氨酸含量较高,而主要抗营养因子硫代葡萄糖苷和芥酸含量较低^[6]。随着双低油菜的推广应用,双低菜粕作为优质的蛋白源显示出良好的开发价值和应用前景。适量添加双低菜粕对鱼类生长无不良影响,在鲑亚目

鱼类饲料中添加量可达20%^[7, 8],斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[2]和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[5]饲料中添加量可达30%以上,在异育银鲫(*Carassius auratus*)和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[4]饲料中添加量可达50.17%以上。但双低菜粕对青鱼生长、免疫的研究尚未见相关报道。通过研究饲料中不同水平双低菜粕对青鱼幼鱼生长、饲料利用及免疫的影响,为双低菜粕在青鱼幼鱼饲料中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以商品饲料配方为基础,配制一种以鱼粉、豆

收稿日期: 2010-09-19; 修订日期: 2011-06-29

基金项目: 湖南科技厅重点项目(2008NK2004); 中国水产科学研究院淡水生态与健康养殖重点实验室开放课题(2010FEA03018); 湖南农业大学人才引进项目(08YJ01)资助

作者简介: 黄云(1986—),男,湖南株洲人;硕士;研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: DaHuangY@163.com

通讯作者: 胡毅(1974—),男,博士,副教授;研究方向为水产动物营养及免疫;E-mail: huyi740322@163.com; 肖调义, E-mail: Tyx1128@yahoo.com.cn

粕(粗蛋白含量为 45%)为蛋白源的实用饲料作为对照组。以双低菜粕(粗蛋白含量为 37%)蛋白(湘杂油 1 号是湖南农业大学官春云院士等研制出的优质高产杂交油菜品种,其芥酸含量 0.06%,硫代葡萄糖苷含量 $18.33 \mu\text{mol/g}$,已达到当前国际最好水平,是中国长江流域主推油菜品种)分别替代 0(对照)、25%、50%、75%、100% 的豆粕蛋白,配制双低菜粕含量分别为 0、11%、22%、33%、44% 的 5 种等氮等能的实验饲料,饲料中添加 0.5% Cr_2O_3 作为表观消化率测定的指示剂,配方组成(表 1)。饲料原料经粉碎过 40 目筛,微量成分采取逐级扩大法混合均匀,采用双螺旋压条机挤压出 2.0 mm 粒径饲料颗粒,于阴凉处风干后置于 -20°C 冰柜中保存备用。

1.2 饲养与管理

实验青鱼购自湖南省水产科学研究所同一批人工孵化的鱼苗,在室外水泥池中投喂商品饲料培育 28d 后,挑选个体大小均匀、体格健壮的健康青鱼于室内水族箱中投喂基础饲料驯化,1 周后挑选规格均匀的青鱼于室内水族箱(300 L)中进行养殖实验。正

式实验前饥饿 24h,实验青鱼平均初始体重为 $(5.77 \pm 0.05)\text{g}$,随机分成 5 组,每组 3 个重复,每水族箱放养青鱼 25 尾。日投饵量为体质量的 3%—5%,分 2 次投喂(8:00—9:00, 16:00—17:00),以饲料在 30—60min 内基本被摄食完全为宜,日换水 1 次,换水量占总体积的 1/3 并清除箱内粪便,日充气 12h,保证溶氧 5.0 mg/L 以上,水温 $(28 \pm 4)^\circ\text{C}$, pH 7.31 ± 0.4 ,养殖时间持续 8 周。

1.3 样品收集、分析与计算

生长指标 实验起始和结束时分别对各水族箱中青鱼进行记数、称重。

特定生长率(SGR)、饲料系数(FCR)计算公式如下:

$$\text{SGR} = [(\ln W_f - \ln W_i) / T] \times 100\%$$

$$\text{FCR} = W_i / (W_f - W_i)$$

W_f 、 W_i 分别表示平均终体重(g)、平均初体重(g);
 T 表示饲养时间(d); W_i 表示实验期间投入饲料量(g)

表观消化率 养殖实验 5 周后,采用虹吸法收集粪便于筛网上,选取包膜完整的粪便置于称量瓶中,冷冻干燥,置于 -20°C 冰箱保存待测。样品中

表 1 实验饲料组成及成分含量(%干重)

Tab. 1 Ingredients and proximate chemical composition of the experimental diet(% dry weight)

原料 Ingredients	饲料 Diet No.				
	Diet 1 (0)	Diet 2 (11%)	Diet 3 (22%)	Diet 4 (33%)	Diet 5 (44%)
鱼粉 Fish meal	20	20	20	20	20
豆粕 Soybean meal	36	27	18	9	0
双低菜粕 Canola meal	0	11	22	33	44
米糠 Rice bran	7	7	7	7	7
面粉 Wheat meal	20	20	20	20	20
次粉 Wheat middling	11.86	9.86	7.86	5.86	3.86
鱼油 Fish oil	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
胆碱 Choline	1	1	1	1	1
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
多维 ⁺ Vitamin mixture	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
多矿 ⁺ Mineral mixture	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
抗氧化剂 Antioxidants	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
防霉剂 Mold inhibitor	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
维生素 C Vitamin C	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
三氧化二铬 Cr_2O_3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
营养组成 Proximate analysis(% DW)					
粗蛋白 Crude protein	36.95	36.32	36.66	37.29	36.42
粗脂肪 Crude lipid	4.22	4.23	4.27	4.33	4.46
粗灰分 Crude ash	9.63	10.08	10.12	10.00	10.15
总能 (kJ/g) Gross energy	18.2	18.1	17.8	17.9	17.8

注: *青岛玛斯特生物技术有限公司提供

Note: * Provided by Master Bio-Tech Co. Ltd (Qingdao, Shandong, China)

铬含量测定参照 GB/T13088-2006 方法。干物质和粗蛋白表观消化率计算公式如下:

干物质表观消化率(%)=(1-饲料中铬含量/粪便中铬含量)×100%

粗蛋白表观消化率(%)=[1-(饲料中铬含量×粪便中粗蛋白含量)/(粪便中铬含量×饲料中粗蛋白含量)]×100%

肠道消化酶 养殖实验结束后, 每水族箱中随机取 5 尾青鱼, 取其肠道。去除肠道粪便及附着物, 用冰双蒸水清洗肠道、滤纸吸干, 称重, 捣碎后移入匀浆器内冰水浴匀浆, 在 4℃下离心 15min (10000 r/min), 取上清液备用, 于 24h 分析完毕。胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定:

胰蛋白酶活性单位定义为: 在 pH 8.0, 37℃条件下, 每毫克蛋白中含有的胰蛋白酶每分钟使吸光度变化 0.003 即为 1 个酶活力单位。

淀粉酶活性单位定义为: 组织中每毫克蛋白在 37℃与底物作用 30min, 水解 10 mg 淀粉定义为 1 个酶活力单位。

脂肪酶活性单位定义为: 在 37℃条件下, 每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应 1min, 每消耗 1 μmol 底物为 1 个酶活力单位。

肠道酶液蛋白含量以牛血清蛋白为标准, 用考马斯亮蓝法测定。

血液指标测定 实验结束后饥饿 24h, 用 1 mL 无菌注射器, 参考邵燕等^[9]的方法, 按照血液与肝素钠体积比 1:2 的比例, 由每个水族箱中随机取 5 尾青鱼, 从尾静脉采血, 用于白细胞和红细胞计数。红细胞(RBC)用红细胞稀释液作 200 倍稀释, 白细胞(WBC)用白细胞稀释液作 20 倍稀释, Neubauer 计数板计数。其余血液指标的测定方法为: 用 1 mL 无菌注射器自青鱼尾静脉采血, 每水族箱取 10 尾青

鱼血液合并置于无菌离心管中 4℃静置过夜后, 以 3500 r/min 离心 15min, 取上层血清置于-80℃超低温冰箱保存备用。

总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、血糖(GLU)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)采用全自动生化分析仪测定; 过氧化物酶(CAT)、溶菌酶(LSZ)采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定; 补体 C3、C4 采用浙江伊利康生物技术有限公司的试剂盒测定。

体组成 实验结束后, 每箱随机取 5 尾-20℃冰冻作全鱼样品, 饲料、粪便及鱼体常规成分测定参照 AOAC^[10]的方法。其中水分的测定采用 105℃烘箱干燥恒重法, 粗蛋白的测定采用凯氏定氮法, 粗脂肪的测定采取索氏抽提法, 粗灰分的测定采用 550℃灼烧法。总能的测定参照氧弹式热量计法。取 5 尾供内脏指数和肝胰脏指数测定。内脏指数(VR)和肝胰脏指数(HSI)计算公式如下:

$$HSI = 100 \times W_h / W_q$$

$$VR = 100 \times W_v / W_q$$

W_h 、 W_v 和 W_q 分别表示肝胰脏质量(g)、内脏质量(g)和鱼体质量(g)

1.4 数据统计分析

实验结果以平均值±标准差表示, 用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析, 当差异显著时($P < 0.05$), 则采用 Duncan 进行多重比较。

2 结果

2.1 生长

由表 2 可知: 饲料中不同水平双低菜粕对青鱼成活率无显著影响, 但随饲料中双低菜粕含量增加, 青鱼特定生长率有下降的趋势, 饲料系数有上升的趋势, 当双低菜粕含量大于 11%时, 青鱼的特定生长率显著低于对照组($P < 0.05$)。当双低菜粕含量大于 44%时, 青鱼的饲料系数显著高于对照组($P < 0.05$)。

表 2 不同水平双低菜粕对青鱼生长和饲料利用的影响 (平均值±标准差, $n = 3$)^{*}

Tab. 2 Effects of canola meal levels on growth and feed utilization of the juvenile black carp (mean ± SD, $n = 3$)^{*}

实验饲料 Diet No.	初始均重 Initial weight (g)	末期均重 Final weight (g)	成活率 Survival rate (%)	特定生长率 SGR (%/d)	饲料系数 FCR
Diet 1 (0)	5.81 ± 0.32	23.17 ± 0.97 ^c	98.67±2.31	2.44±0.15 ^c	1.63±0.10 ^a
Diet 2 (11%)	5.74 ± 0.22	23.01 ± 0.82 ^c	100.00±0.00	2.44±0.08 ^c	1.59±0.11 ^a
Diet 3 (22%)	5.80 ± 0.10	21.30 ± 0.67 ^b	96.00±4.00	2.33±0.03 ^b	1.74±0.14 ^{ab}
Diet 4 (33%)	5.70 ± 0.06	21.29 ± 0.97 ^b	98.67±2.31	2.34±0.05 ^b	1.73±0.11 ^{ab}
Diet 5 (44%)	5.82 ± 0.17	19.24 ± 0.01 ^a	100.00±0.00	2.13±0.05 ^a	1.88±0.04 ^b

注: *同一列据右上角不同上标字母代表有显著差异 ($P < 0.05$); 下同

Note: *Values in each column without a common superscript are significantly different ($P < 0.05$); The same as bellow

2.2 消化酶与表观消化率

由表 3 可知, 随饲料中双低菜粕含量的升高, 干物质表观消化率和蛋白质表观消化率有下降的趋势, 当双低菜粕添加量大于 11% 时, 干物质和粗蛋白表观消化率显著低于对照组 ($P<0.05$)。

饲料中双低菜粕对青鱼肠道胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶影响显著 (表 4), 随着饲料中双低菜粕含量的升高, 肠道胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶均有下降的趋势, 当双低菜粕含量大于 11% 时, 肠道胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶均显著低于对照组 ($P<0.05$)。

2.3 血液生理生化指标

各试验组血清溶菌酶、补体 C4 和谷丙转氨酶差异不显著, 但双低菜粕显著影响了血液中白细胞、红细胞数量和补体 C3 水平, 随饲料中菜粕含量的升高而降低 ($P<0.05$) (表 5)。当饲料中双低菜粕含量达到 22% 时, 青鱼血清总蛋白 (TP) 和总胆固醇 (TC) 含量显著低于对照组, 当饲料中双低菜粕含量 33% 时, 过氧化氢酶 (CAT) 活性显著低于对照组 ($P<0.05$)。谷草转氨酶活性随着饲料中双低菜粕含量的增加而升高, 当双低菜粕组含量 33% 时, 谷草转氨酶活性显著高于对照组 ($P<0.05$)。

2.4 体组成

由表 6 可知, 饲料中双低菜粕对鱼体水分和粗

蛋白含量无显著影响, 但显著提高了鱼体灰分含量 ($P<0.05$), 而鱼体脂肪含量随饲料中双低菜粕含量的增加有下降的趋势, 当双低菜粕添加量超过 33%

表 3 不同水平双低菜粕对青鱼饲料表观消化率的影响 (平均值 \pm 标准差, $n=3$)

实验饲料 Diet No.	干物质表观消化率 ADC of dry matter (%)	蛋白质表观消化率 ADC of protein (%)
Diet 1 (0)	77.57 \pm 0.23 ^a	88.27 \pm 0.59 ^a
Diet 2 (11%)	76.13 \pm 0.42 ^{ab}	87.81 \pm 0.21 ^{ab}
Diet 3 (22%)	75.24 \pm 0.30 ^{bc}	86.75 \pm 0.16 ^{bc}
Diet 4 (33%)	73.85 \pm 0.28 ^c	86.35 \pm 0.14 ^c
Diet 5 (44%)	70.74 \pm 1.69 ^d	83.85 \pm 0.94 ^d

表 4 不同水平双低菜粕对青鱼肠道消化酶的影响 (平均值 \pm 标准差, $n=3$)

实验饲料 Diet No.	胰蛋白酶 Protease (U/mg)	淀粉酶 Amylase (U/mg)	脂肪酶 Lipase (U/g)
Diet 1 (0)	54.03 \pm 8.76 ^a	0.89 \pm 0.11 ^a	32.27 \pm 1.98 ^a
Diet 2 (11%)	47.61 \pm 4.11 ^{ab}	0.70 \pm 0.09 ^{ab}	28.98 \pm 2.15 ^{ab}
Diet 3 (22%)	37.68 \pm 1.38 ^b	0.58 \pm 0.10 ^b	27.66 \pm 1.44 ^{bc}
Diet 4 (33%)	41.99 \pm 6.25 ^b	0.56 \pm 0.12 ^b	24.18 \pm 2.00 ^{bc}
Diet 5 (44%)	40.61 \pm 0.07 ^b	0.53 \pm 0.06 ^b	25.50 \pm 1.84 ^c

表 5 不同水平双低菜粕对青鱼部分血液生理生化指标的影响 (平均值 \pm 标准差, $n=3$)

Tab. 5 Effects of canola meal levels on some blood physiological-biochemical index of the juvenile black carp (mean \pm SD, $n=3$)

实验饲料 Diet No.	Diet 1 (0)	Diet 2 (11%)	Diet 3 (22%)	Diet 4 (33%)	Diet 5 (44%)
红细胞数 RBC ($\times 10^{12}/L$)	2.70 \pm 0.28 ^a	2.13 \pm 0.12 ^b	1.90 \pm 0.05 ^{bc}	1.78 \pm 0.09 ^c	1.40 \pm 0.11 ^d
白细胞数 WBC ($10^{10}/L$)	4.62 \pm 0.49 ^a	3.19 \pm 0.17 ^b	2.48 \pm 0.22 ^c	2.24 \pm 0.13 ^{cd}	2.08 \pm 0.05 ^d
血清总蛋白 TP (g/L)	40.83 \pm 1.63 ^a	37.90 \pm 1.27 ^a	30.23 \pm 2.74 ^b	32.27 \pm 3.02 ^b	31.45 \pm 1.77 ^b
总胆固醇 TC (mmol/L)	3.95 \pm 0.39 ^a	3.42 \pm 0.16 ^{ab}	3.05 \pm 0.07 ^b	3.01 \pm 0.57 ^b	3.00 \pm 0.41 ^b
过氧化氢酶 CAT (U/mL)	6.66 \pm 0.10 ^a	6.48 \pm 0.20 ^a	5.91 \pm 0.76 ^a	3.88 \pm 0.71 ^b	3.53 \pm 0.48 ^b
溶菌酶 LSZ (U/mL)	51.77 \pm 9.06	50.74 \pm 0.16	60.21 \pm 4.93	55.19 \pm 5.67	61.42 \pm 4.08
补体 Complement C3 (g/L)	0.16 \pm 0.03 ^a	0.11 \pm 0.04 ^b	0.05 \pm 0.00 ^c	0.05 \pm 0.01 ^c	0.03 \pm 0.01 ^c
补体 Complement C4 (g/L)	0.14 \pm 0.01	0.15 \pm 0.04	0.16 \pm 0.01	0.15 \pm 0.01	0.16 \pm 0.01
谷草转氨酶 AST (U/L)	253.68 \pm 10.32 ^a	265.17 \pm 9.20 ^a	289.33 \pm 14.31 ^a	391.76 \pm 7.43 ^b	437.73 \pm 26.57 ^c
谷丙转氨酶 ALT (U/L)	49.80 \pm 9.59	58.35 \pm 1.05	57.50 \pm 16.80	58.07 \pm 17.64	63.63 \pm 8.27

表 6 不同水平双低菜粕对青鱼体组成的影响 (占鲜重的百分数) (平均值 \pm 标准差, $n=3$)

Tab. 6 Effects of canola meal levels on body composition of the juvenile black carp (mean \pm SD, $n=3$)

实验饲料 Diet No.	水分 Moisture (%)	粗蛋白 Crude protein (%)	粗脂肪 Crude lipid (%)	灰分 Ash (%)	脏体比 VR (%)	肝体比 HIS (%)
Diet 1 (0)	75.51 \pm 1.43	15.58 \pm 0.18	2.50 \pm 0.07 ^a	3.11 \pm 0.01 ^a	7.26 \pm 0.21 ^a	1.35 \pm 0.03 ^a
Diet 2 (11%)	76.46 \pm 1.28	15.55 \pm 0.10	2.17 \pm 0.35 ^a	3.38 \pm 0.10 ^b	7.62 \pm 0.24 ^{ab}	1.65 \pm 0.09 ^{cd}
Diet 3 (22%)	76.12 \pm 1.13	15.74 \pm 0.10	2.08 \pm 0.13 ^a	3.33 \pm 0.01 ^b	7.96 \pm 0.04 ^{bc}	1.77 \pm 0.04 ^d
Diet 4 (33%)	76.41 \pm 0.95	15.53 \pm 0.08	1.85 \pm 0.21 ^b	3.44 \pm 0.08 ^b	8.06 \pm 0.08 ^c	1.54 \pm 0.05 ^{bc}
Diet 5 (44%)	74.95 \pm 1.53	15.51 \pm 0.32	1.80 \pm 0.25 ^b	3.45 \pm 0.04 ^b	8.05 \pm 0.12 ^c	1.47 \pm 0.01 ^{ab}

时, 鱼体脂肪含量显著低于对照组。菜粕对青鱼脏体比和肝体比有显著影响, 随饲料中菜粕含量的增加, 青鱼脏体比呈上升趋势, 当双低菜粕添加量达到 22% 时, 脏体比显著大于对照组 ($P < 0.05$), 而肝体比则有先升高后降低的趋势 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 双低菜粕对青鱼生长的影响

本实验结果显示, 当饲料中双低菜粕含量达到 22% 时, 对青鱼生长产生负面影响, 而添加量达到 44% 时, 饲料系数显著高于对照组, 这与肉食性鱼类如鲈 (*Lateolabrax japonicus*)^[6]、大马哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*)^[11] 的研究结果相似。青鱼特定生长率的降低可能与饲料中菜粕降低了青鱼营养物质的表观消化率以及肠道消化酶活性有关。本研究表明, 青鱼干物质和蛋白质的表观消化率随饲料中菜粕含量的升高而降低, 与大菱鲆 (*Psetta maxima*)^[12] 和鲈^[6] 的研究结果相似。消化率的降低可能与菜粕中高含量的纤维、植酸、芥子碱及单宁等有关^[13]。青鱼肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性大小与生长表现为一定的相关性, 其活性随饲料中菜粕含量的增加而降低, 这与 Cheng, et al.^[6] 在鲈中的研究结果相似。这可能与菜粕中单宁以及其他抗营养因子有关^[14]。另外, 菜籽粕中存在的致甲状腺肿素原、白芥子酸或鞣酸等有毒及抗营养物质能影响饲料的适口性, 导致摄食量下降^[4, 15-17], 被认为是降低鱼类生长的主要原因^[18]。但也有研究^[6, 15] 表明, 随饲料中菜粕含量增加, 鱼类摄食量呈上升趋势, 其原因可能是在一定程度上鱼类须摄食更多食物以平衡饲料低消化率所带来的营养损失。而在本实验中, 未观察到饲料中高含量的菜粕影响青鱼摄食的现象。

但在一些杂食性和草食性鱼类中, 高含量菜粕对生长及饲料利用无影响。在草鱼^[5] 及斑点叉尾鲷^[2] 饲料中可以分别添加 30% 和 36% 的菜粕, 而在异育银鲫和团头鲂饲料中, 双低菜粕添加量高于 50.17% 时, 其特定生长率、饲料利用率和摄食率才显著下降^[3]。青鱼属肉食性鱼类, 一般认为, 鱼类在水体中所处营养级越高, 其食谱越窄, 适应较高植物蛋白水平的饲料越难。另外, 不同品质的菜粕及加工方式也会影响鱼类对菜粕的利用能力^[7, 11, 12]。

3.2 对血液生理生化指标的影响

鱼类依靠非特异性的细胞免疫和体液免疫防御

外来病原菌入侵^[19]。血细胞是反映鱼类免疫能力的一个重要指标, 在鱼类防御反应中发挥重要作用^[20]。TP 是血淋巴的主要化学物质之一, 其含量变化与机体的生理活力密切相关, 能在某种程度上反应动物的健康状态^[20]。CAT 是重要的抗氧化酶, 能够清除 H_2O_2 , 减少自由基对正常细胞的伤害, 可反映鱼类的抗应激能力^[21]。溶菌酶是一种水解酶, 具有抗菌活性, 通过破坏细胞壁使细胞裂解^[22], 其活性的高低是衡量机体免疫状态的指标之一。补体是抵抗微生物感染的重要成分, 激活后具有细胞溶解、黏附、调理、免疫调节、介导炎症反应、中和毒素、免疫复合物溶解和清除等重要生物学效应, C3 和 C4 是补体系统的主要成分, 鱼类的 C3 具有比哺乳动物较多的活性形式^[23]。研究表明, 植物蛋白中一些抗营养因子, 比如棉酚, 可使机体红细胞脆性增加, 血细胞比容及血细胞数量下降^[24, 25]。但菜粕对水产动物血细胞的影响未见相关报道。本实验结果显示, 双低菜粕使红细胞数呈显著下降趋势。其原因可能包括两方面: 第一, 菜粕中抗营养因子螯合作用降低了铁的吸收而造成机体贫血症状; 第二, 菜粕中有毒成分使红细胞脆性增加, 产生自溶现象, 从而使红细胞数降低。在细胞免疫中, 白细胞起着重要的作用, 菜粕能降低异育银鲫血液白细胞吞噬活性和杀菌活力^[26], 而对血液中白细胞数量的影响未见相关研究。在本实验中, 双低菜粕降低了血液中白细胞数量, 说明双低菜粕可通过降低血液中白细胞数量而影响青鱼的免疫功能。此外, 双低菜粕还显著降低了血清补体 C3 含量, 超过 22% 时, 血清总蛋白下降, 超过 33% 时, 过氧化物酶活性也显著下降, 这与赵飞^[26]、伍代勇^[27] 研究结果相似。而双低菜粕对血清溶菌酶、补体 C4 含量无影响, 与菜粕能降低异育银鲫^[26] 血清中补体 C4 含量和鲈鱼^[6] 血清中溶菌酶活力不一致, 这可能与双低菜粕品质、鱼的种类及规格有关。青鱼的血液免疫指标在摄食不同菜粕饲料时表现出不同的剂量—效应反应, 可能与机体对不同免疫指标的应答敏感程度及不同的免疫指标对菜粕的反应存在差异有关。胆固醇是皮质类激素和性激素的前体, 对机体糖代谢、蛋白质代谢和脂肪代谢有着重要的作用^[28]。青鱼血清总胆固醇含量下降, 可能与菜粕使鱼体基础代谢降低有关。

AST 和 ALT 广泛存在于以肝脏为主的细胞线粒

体中的重要氨基转移酶,参与氨基酸代谢,当组织受到损伤时,细胞膜渗透增大,细胞内的转氨酶大量释放进入血液,使得血清中转氨酶的活性升高,血清中 AST 和 ALT 可以作为鱼类评价肝脏损伤程度的主要指标^[29, 30]。在本实验中,添加量超过 22% 时,血清中转氨酶活力显著提高,表明此添加量下青鱼肝功能受到一定程度的损伤。而菜粕损伤肝组织的现象在草鱼^[5]和鲈鱼^[6]的研究中也得到证实。这可能是由于菜粕中硫代葡萄糖甙等有毒物质的破坏了肝细胞结构^[31]。

3.3 对体组成的影响

本实验结果显示,随着饲料中双低菜粕含量的升高,青鱼鱼体脂肪含量下降,而灰分含量增加,这与红鲮鱼(*Clione limacina*)^[32]、异育银鲫和团头鲂^[30]的研究结果一致。但菜粕对鱼体蛋白含量影响存在差异,在斑点叉尾鲷和红鲮鱼饲料中添加双低菜粕能使鱼体蛋白含量增加^[2, 32]。而在异育银鲫和团头鲂^[33]的研究中表明,双低菜粕会造成鱼体蛋白含量下降。在本实验中,双低菜粕对鱼体蛋白质含量无影响,这可能与鱼的品种及菜粕品质有关。双低菜粕显著提高了青鱼脏体比,这可能与硫代葡萄糖苷的水解产物破坏消化道的表皮,并造成肝、肾等损伤有关。肝体比呈先升高后降低趋势,可能由于低含量菜粕使肝细胞肿大,而随着菜粕含量升高,肝细胞膜破裂,细胞核浓缩或溶解消失,肝细胞坏死等所致。

4 结论

本研究结果表明,饲料中双低菜粕添加量超过 11% 时,显著降低了青鱼特定生长率、干物质和蛋白质表观消化率以及肠道消化酶活性,同时造成机体免疫机能下降,肝功能受损。因此,青鱼幼鱼饲料中双低菜粕含量以不超过 11% 为宜。

致谢:

衷心感谢何蓝波、马晓、毛小伟和巫旗生等同学在饲料制作、养殖及样品采集和检测过程中提供热心的帮助。

参考文献:

[1] Zhou Q C, Mai K S, Liu Y J, *et al.* Advances in animal and plant protein sources in place of fish meal [J]. *Journal of*

Fisheries of China, 2005, **29**(3): 404—410 [周歧存, 麦康森, 刘永坚, 等. 动、植物蛋白源替代鱼粉研究进展. 水产学报, 2005, **29**(3): 404—410]

- [2] Webster C D, Tiu L G, Tidwell J H, *et al.* Growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal [J]. *Aquaculture*, 1997, **150**: 103—112
- [3] Buchanan J, Sarac H Z, Poppi D, *et al.* Effects of enzyme addition to canola meal in prawn diets [J]. *Aquaculture*, 1997, **151**: 29—35
- [4] Gao G Q, Xiong B X, Zhao Z S, *et al.* Effects of different canola meal levels on growth in fish [J]. *Reservoir Fisheries*, 2004, **24**(3): 55—57 [高贵琴, 熊邦喜, 赵振山, 等. 不同水平双低菜粕替代蛋白对鱼类生长的影响. 水利渔业, 2004, **24**(3): 55—57]
- [5] Ma L, Huang F, Wu J K, *et al.* Effects of different canola meal levels on growth, serum biochemical indices and toxins residues in *Ctenoparyngodon idellus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, **29**(6): 798—803 [马利, 黄峰, 吴建开, 等. 不同菜粕水平对草鱼生长、血清生化指标和毒素残留的影响. 水产学报, 2005, **29**(6): 798—803]
- [6] Cheng Z Y, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2010, **305**: 102—108
- [7] Higgs D A, Fagerlund U H M, McBride J R, *et al.* Protein quality of Altex canola meal for juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) considering dietary protein and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine content [J]. *Aquaculture*, 1983, **34**: 213—238
- [8] Hardy R W, Sullivan C V. Canola meal in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) production diets [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1983, **40**: 281—286
- [9] Shao Y, Wu Z Q, Wang J W, *et al.* Studies on the haematological indices of gobiochpris rarus [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(2): 232—235 [邵燕, 吴志强, 王剑伟, 等. 稀有鱼句血液指标的研究. 水生生物学报, 2006, **30**(2): 232—235]
- [10] AOAC. Association of Official Analytical Chemists [A]. In: Williams S (Eds.), Official Methods of Analysis [M]. 14th ed, Washington. 1984, 152—163
- [11] Higgs D A, McBride J R, Markert J R, *et al.* Evaluation of Tower and Candle canola (canola) meal and Bronowski canola protein concentrate as protein supplements in practical dry diets for juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *Aquaculture*, 1982, **29**: 1—31
- [12] Burel C, Boujard T, Kaushik S J, *et al.* Potential of plant protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilization and thyroid status [J]. *Aquaculture*, 2000, **188**: 363—382
- [13] Mwachireya S A, Beames R M, Higgs D A, *et al.* Digestibility of canola protein products derived from the physical, en-

- zymatic and chemical processing of commercial canola meal in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) held in fresh water [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1999, **5**: 73—82
- [14] Bell J M. Factors affecting the nutritional value of canola meal: a review [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 1993, **73**: 679—697
- [15] Gomes E F, Corraze G, Kaushik S. Effects of dietary incorporation of a co-extruded plant protein (canola and peas) on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1993, **113**: 339—353
- [16] Lim C, Klesius P H, Higgs D A. Substitution of canola meal for soybean meal in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1998, **29**: 161—168
- [17] Burel C, Boujard T, Tulli F, *et al.* Digestibility of extruded peas, extruded lupin, and canola meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*) [J]. *Aquaculture*, 2000, **188**: 285—298
- [18] Hilton J W, Slinger S J. Digestibility and utilization of canola meal in practical type diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1986, **43**: 1149—1155
- [19] Ai Q H, Mai K S. Advance on nutritional immunity of fish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(3): 425—430 [艾庆辉, 麦康森. 鱼类营养免疫研究进展. 水生生物学报, 2007, **31**(3): 425—430]
- [20] Yildirim M, Lima C, Wanb Peter J, *et al.* Growth performance and immune response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing graded levels of gossypol-acetic acid [J]. *Aquaculture*, 2003, **219**: 751—768
- [21] Sies H. Strategies of antioxidant defense [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1993, **215**: 213—219
- [22] Tort L, Balasch J C, Mackenzie S. Fish health challenge after stress. Indicators of immunocompetence [J]. *Contributions to Science*, 2004, **2**: 443—454
- [23] Mori K, Nakanishi T, Suzuki T, *et al.* Defense mechanisms in invertebrates and fish [J]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 1989, **34**: 214—223
- [24] El-Saidy D M S D, Gaber M M A. Use of cottonseed meal supplemented with iron for detoxification of gossypol as a replacement of fish meal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets [J]. *Aquaculture Research*, 2004, **35**: 859—869
- [25] Yue Y R, Zhou Q C. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. Aureus* [J]. *Aquaculture*, 2008, **284**: 185—189
- [26] Zhao F. Effects of rapeseed meal on the immune function of *Carassius auratus gibelio* [D]. Thesis for Master of Science. Huazhong Agricultural University, Wuhan. 2005 [赵飞. 菜籽粕对异育银鲫免疫机能的影响. 硕士学位论文, 华中农业大学, 武汉. 2005]
- [27] Wu D Y. Effect of four plant protein source on the growth performances, amino acid retention and non-specific immunity of shrimp *Litopenaeus vannamei* [D]. Thesis for Master of Science. Suzhou University, Suzhou. 2007 [伍代勇. 四种植物蛋白源对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长、氨基酸沉积和非特异性免疫力的影响. 硕士学位论文, 苏州大学, 苏州. 2007]
- [28] Shen T, Wang J Y. Biochemical (The 2nd edition) [M]. Higher Education Press. 1996, 193—201 [沈同, 王镜岩. 生物化学(第二版). 高等教育出版社. 1996, 193—201]
- [29] Jeney G, Nemcsok J, Jeneyz, *et al.* Acute effect of sublethal ammonia concentrations on common (*Cyprinus carpio* L.): II Effect of ammonia on blood plasma transaminases (GOT, GPT), GIDH enzyme activity, and ATP value [J]. *Aquaculture*, 1992, **104**: 149—156
- [30] Lee S M. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. *Aquaculture Research*, 2001, **32**(S-1): 8—17
- [31] Francis G, Makkar H P S, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish [J]. *Aquaculture*, 2001, **199**: 197—227
- [32] Takii K, Kita E, Nakamura M. Evaluation of canola protein concentration as protein source of diet for red sea bream [J]. *Fisheries Science*, 1999, **65**: 150—154
- [33] Gao G Q, Xiong B X, Zhao Z S, *et al.* Effects of different canola meal levels on bogy composition in fish [J]. *Reservoir Fisheries*, 2004, **24**(4): 8—11 [高贵琴, 熊邦喜, 赵振山, 等. 双低菜粕对异育银鲫和团头鲂体组成的影响. 水利渔业, 2004, **24**(4): 8—11]

INFLUENCE OF DIETARY CANOLA MEAL LEVELS ON GROWTH AND BIOCHEMICAL INDICES IN JUVENILE *MYLOPHARYNGODON PICEUS*

HUANG Yun¹, HU Yi¹, XIAO Tiao-Yi¹, HUAN Zhi-Li¹, WEN Hua², FENG Fu-Xian³ and YU Jian-Bo¹

(1. College of Animal Technology, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China; 2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China; 3. The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: An 8-week feeding experiment was conducted to evaluate the effect of dietary canola meal (CM) levels on growth, feed utilization and some blood physiological-biochemical indices in juvenile black carp [initial average weight of (5.77 ± 0.05) g]. The inclusion levels of CM were 0 (control), 11%, 22%, 33% and 44%, to replace 0, 25%, 50%, 75% and 100% of soybean meal (SBM), respectively. Each diet was randomly fed to triplicate groups of 25 fishes per tank (300 L). Fish were fed twice daily by hand at a rate of 3%–5% of body weight during eight weeks. The results showed that fish fed the diet with CM levels more than 11% showed relatively lower *SGR*, the activities of protease, amylase, lipase in intestine and apparent digestibility coefficients of dry matter and protein than those fed the control diet ($P < 0.05$), however, no significant differences in survival were observed among dietary treatments. *LSZ*, *C4* and *ALT* in serum were not affected by dietary levels of CM, but the number of RBC and WBC in blood significantly decreased with increasing of dietary CM levels ($P < 0.05$). Fish fed the diet with CM levels up to 22% showed lower serum total cholesterol (TC), *C3* and total protein (TP) concentration than those fed the control diet ($P < 0.05$); Fish fed the diet with CM levels up to 33% showed lower serum CAT activity than those fed the control diet ($P < 0.05$), *AST* in serum were significantly higher in fish fed diets with CM level up to 33% and 44% levels than those fed control diet. No significant differences in body moisture and protein contents were observed among dietary treatments. Declining body lipid content and increasing body ash content were observed with increasing dietary CM level. The *VR* increased with the increasing dietary CM level and *HSI* first significantly increased and then reduced. Based on these observations above, more than 11% dietary CM level could decrease growth, immunity and liver function for juvenile black carp.

Key words: *Mylopharyngodon piceus*; Canola meal; Growth; Digestive enzyme; Apparent digestibility coefficients; Blood physiological-biochemical index