

大豆低聚糖对牙鲆营养效应的研究: 摄食、生长和代谢酶活性

邓君明^{1,2} 麦康森¹ 艾庆辉¹ 张文兵¹

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003; 2. 云南农业大学动物科学学院, 昆明 650201)

摘要: 本试验比较研究了不同蛋白源 (鱼粉, FM; 大豆分离蛋白, SPI) 基础饲料中添加大豆低聚糖 (SBOS) 对牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 摄食率、生长性能和代谢酶活性的影响。分别以 FM、SPI 作为主要蛋白源, 配制了 4 种等氮等能饲料。其中, 饲料 FM、SPI 分别以 FM、SPI 作为主要蛋白源; 饲料 FMO、SPD 分别在饲料 FM、SPI 基础上添加 10% SBOS (水苏糖: 2.61%; 棉籽糖: 0.61%)。试验表明: 饲料中添加 SBOS 对牙鲆前两周摄食率无显著影响 ($p > 0.05$); 而显著降低了整个养殖周期 FMO 组牙鲆总摄食率, 提高了 SPD 组牙鲆总摄食率 ($p < 0.05$); FM 基础饲料中添加 SBOS 对牙鲆特定生长率 (SGR)、饲料效率 (FER) 和蛋白质效率 (PER) 均无显著影响 ($p > 0.05$), 但均呈明显下降趋势; SPI 基础饲料中添加 SBOS 对 FER 和 PER 无显著影响, 却显著提高了 SGR ($p < 0.05$); FM 基础饲料中添加 SBOS 提高了牙鲆血浆谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (AKP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和 γ -L-谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 的活性, 但仅 AST 差异显著 ($p < 0.05$), 而对肝脏 AST、ALT、AKP、LDH 和 γ -GT 活性无显著影响 ($p > 0.05$); SPI 基础饲料中添加 SBOS 显著提高了血浆 ALT 和 LDH 活性, 而对 AST、AKP 和 γ -GT 活性无显著影响; 同时, SPI 基础饲料中添加 SBOS 显著提高了肝脏 AST 和 ALT 活性, 而对 AKP、LDH 和 γ -GT 活性无显著影响; 饲料中添加 SBOS 对牙鲆血浆中尿素氮和游离氨基酸浓度均无显著影响。试验结果表明, 不同蛋白源基础饲料中添加 SBOS 表现出不同的生长效应; 其中, FM 基础饲料中添加 SBOS 表现出一定的抑制生长效应, 而 SPI 基础饲料中添加 SBOS 却表现出促生长效应。

关键词: 牙鲆; 大豆低聚糖; 营养效应; 摄食; 生长; 代谢酶

中图分类号: S963.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)01-0007-08

近年来, 由于受到过度捕捞、环境污染等的影响, 鱼粉 (FM) 资源日益减少; 而当今世界水产养殖业却以每年平均 11% 的速度增长^[1]。因此, 世界 FM 供应已不能满足日益增长的水产养殖需求, 寻求 FM 蛋白替代源成为亟待解决的问题。在众多 FM 蛋白替代源中, 大豆蛋白因其供应稳定、价格低廉和氨基酸相对平衡等优点已成为水产养殖业最常用的 FM 蛋白替代源。然而, 一些研究表明, 大豆蛋白并不能有效替代 FM 蛋白, 其原因主要有: (1) 随着大豆蛋白的添加, 饲料的摄食率下降; (2) 氨基酸组成不平衡; (3) 饲料利用率降低^[2]。其中, 引起饲料利用率降低的原因也是多方面, 一方面是氨基酸不平衡导致饲料利用率降低^[2]; 另一方面是大豆蛋白中存在的非蛋白组分, 如大豆低聚糖 (Soybean oligosaccharides, SBOS) 和非淀粉多糖 (NSP) 降低了饲料的消化利用率^[3,4]。同时, 本实验室研究还发现,

摄食以大豆浓缩蛋白 (SPC) 为主要蛋白源饲料的牙鲆, 其摄食率和生长性能均显著低于摄食大豆分离蛋白 (SPI) 组^[5]。SPC 和 SPI 中蛋白质的氨基酸组成基本一致。因此, 氨基酸组成不是影响牙鲆摄食率和生长性能差异的主要因素^[4]; 导致其差异的原因可能与 SPC 中存在的非蛋白组分 (如 SBOS 和 NSP) 有关^[6]。

SBOS 是大豆中含 2—10 个单糖基低聚糖的总称, 主要包括蔗糖 (Sucrose)、棉籽糖 (Raffinose) 和水苏糖 (Stachyose)。蔗糖在小肠中蔗糖酶的作用下分解为葡萄糖和果糖, 并被吸收利用。棉籽糖和水苏糖属于 α -半乳糖苷寡糖, 分子中的 α -1, 6 半乳糖苷键需要在 α -1, 6 半乳糖苷酶的作用下才能发生降解^[7]。由于单胃动物和鱼类小肠黏膜中缺乏 α -1, 6 半乳糖苷酶, 致使棉籽糖和水苏糖在小肠内几乎不能分解, 直接进入后段消化道^[8]。消化道中寄生

收稿日期: 2008-03-14; 修订日期: 2008-07-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 30371120) 资助

作者简介: 邓君明 (1977—), 男, 江西宁都人; 博士; 主要从事水产动物营养生理研究。E-mail: djunming@163.com

通讯作者: 麦康森, 教育部“长江学者奖励计划”特聘教授; E-mail: kmcai@ouc.edu.cn

的厌氧微生物如双歧杆菌和乳酸杆菌等能降解棉籽糖和水苏糖,产生挥发性脂肪酸、氢气、二氧化碳和少量的甲烷^[9]。因此,棉籽糖和水苏糖被视为难消化性糖。一般认为,棉籽糖和水苏糖在消化道的前段仅少量被微生物降解,大部分随食糜到达后段消化道,在微生物作用下降解为挥发性脂肪酸和乳酸等,并部分被吸收进入血液循环,参与机体代谢^[9]。

目前,有关大豆蛋白源中非蛋白组分 SBOS对鱼类营养效应影响的研究相对较少^[10-12],且至今未有不同蛋白源基础饲料中添加 SBOS对鱼类营养效

应的报道。本研究是“大豆低聚糖对牙鲆营养效应的研究”系列之一,探讨不同蛋白源(FM, SPI)基础饲料中添加 10% SBOS(水苏糖: 2.61%;棉籽糖: 0.61%)对牙鲆摄食率、生长性能和部分代谢酶活性的影响。

1 材料与方法

1.1 大豆低聚糖 SBOS由山东东营万得福植物蛋白科技有限公司提供,是以生产 SPC的乳清液为原料提取所得白色粉末状产品,其成分组成见表 1。

表 1 大豆低聚糖组分含量 (%干物质)

Tab. 1 Analytical composition of soybean oligosaccharides (% , dry weight)

组分 Composition	水分 Moisture	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude lipid	粗灰分 Ash	水苏糖 Stachyose	棉籽糖 Raffinose	蔗糖 Sucrose	其他糖类 Other sugar	其他 Others
含量 Content (%)	3.07	1.05	1.7	7.8	26.1	6.1	45.0	7.2	1.98

1.2 试验饲料 分别以 FM(粗蛋白, 71.2%)、SPI(粗蛋白, 91.0%)作为主要蛋白源,鱼油和大豆卵磷脂作为脂肪源,面粉(粗蛋白, 15.2%)作为碳水化合物源,配制了 4种等氮等能(粗蛋白, 49%;总能, 19 kJ/g)饲料(表 2)。饲料 FM、SPI分别以 FM、SPI作为主要蛋白源;饲料 FMO、SPD 分别在饲料 FM、SPI基础上添加 10% SBOS(水苏糖: 2.61%;棉籽糖: 0.61%,其中棉籽糖和水苏糖含量相当于 60%豆粕所含量)。

配制饲料前,饲料原料经粉碎机粉碎全部过 60 目筛。原料按表 2 饲料配方混合均匀,然后再加入鱼油和大豆卵磷脂(先溶解于鱼油中),手工将油脂微小颗粒搓散,于混合机中混合均匀,最后再加入大约 30%蒸馏水形成硬团,于双螺杆压条机中将饲料挤压成直径 3.0mm 的条状,在 40℃ 恒温下干燥 12h,破碎,置 -20℃ 冰箱保存。

1.3 试验动物及饲养管理 试验用牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)幼鱼为当年人工培育的同一批苗种。试验前,幼鱼用商业饲料暂养 2周以适应养殖环境。每天饱食饲喂 2次(08:00, 16:00)。试验用养殖桶(总体积 100L,水体体积 80L)均为玻璃纤维桶。养殖用海水为沙滤水,采用流水系统,每桶进水量为 1.5L/min。试验期间 24h连续充氧,自然光照。

试验开始前牙鲆禁食 24h。选择大小均匀((1.92 ±0.02)g)、体格健壮的幼鱼,随机分配于 12 个养殖桶(4个试验处理组,每组 3个重复),每桶 30尾。每天早晚饱食投喂 2次(08:00, 16:00)。投

喂结束后 30min,吸出残饵及粪便。试验共进行 8 周,养殖期间海水水温 22.0—25.0℃, pH 7.7—7.9,海水盐度 30‰—33‰。

1.4 样品收集及分析 养殖试验结束时,投喂 3h 后从牙鲆尾静脉采血以测定血浆游离氨基酸(FAA)含量。随机从每桶中抽取 5—7尾鱼采血,迅速将血液注入肝素钠抗凝管中,离心分离(8000r/min, 15min),取上清液放于 -70℃ 冰箱中保存。同时,投喂 24h后按照同样方法再采集一份血浆以测定尿素氮浓度和各种酶活性。养殖试验结束后,停止喂食 24h,收集牙鲆。分别称量每桶鱼体总重,记录鱼体个数。每桶取 5—7尾鱼用于体组成常规分析,其余鱼体放置于 -70℃ 超低温冰箱中保存备用。

鱼体和饲料常规成分分析均采用 AOAC 法。其中,水分的测定为 105℃ 烘干恒重法(24h);粗蛋白的测定为凯氏定氮法,采用瑞典 TECATOR 公司 1030型蛋白质自动分析仪分析;粗脂肪的测定为索氏抽提法;粗灰分的测定为箱式电阻炉 550℃ 灼烧法(16h)。总能采用氧弹式热量计(Parr 1281,美国)测定。血浆 FAA 含量采用日立 L-8800型氨基酸自动分析仪分析。血浆和肝脏中蛋白质含量的测定采用考马斯亮兰法,尿素氮(UN)浓度采用二乙酰肼比色法,谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)活性采用赖氏法,碱性磷酸酶(AKP)活性采用金氏法,乳酸脱氢酶(LDH)活性采用比色法,γ-L-谷氨酰转肽酶(γ-GT)活性参照 Szaasz法^[13]测定。

表 2 试验饲料配方及营养组成 (%干重)

Tab. 2 Formulation and proximate composition of experimental diets (% dry weight)

原料 Ingredients	饲料 Diets			
	FM	FMO	SPI	SPD
鱼粉 Fish meal ¹	65.0	65.0	0	0
大豆浓缩蛋白 Soy protein concentrate ²	0	0	51.0	51.0
大豆低聚糖 Soybean oligosaccharides ²	0	10.0	0	10.0
面粉 Wheat flour	18.0	18.0	18.0	18.0
鱼油 Fish oil ¹	2.0	2.0	8.0	8.0
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	2.0	2.0	2.0	2.0
α-纤维素 α-Cellulose	10.0	0	16.0	6.0
糊精 Dextrin	0	0	1.0	1.0
胆固醇 Cholesterol	0	0	1.0	1.0
矿物质预混料 Mineral premix ³	1.0	1.0	1.0	1.0
维生素预混料 Vitamin premix ³	1.0	1.0	1.0	1.0
氯化胆碱 Choline chloride (50%)	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素 C Vitamin C ⁴	0.2	0.2	0.2	0.2
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.3	0.3	0.3	0.3
成分分析 Proximate composition				
干物质 Dry matter (%)	93.6	94.1	92.9	89.9
粗蛋白 Crude protein (%)	48.7	49.1	47.8	48.2
粗脂肪 Crude lipid (%)	9.0	8.6	8.1	8.3
总 能 Gross energy (kJ/g)	19.5	19.4	20.1	19.9

1由山东六和饲料有限公司提供,粗蛋白 71.2%,粗脂肪 12.5%;2由山东东营万得福植物蛋白生物科技有限公司提供,大豆浓缩蛋白,粗蛋白 91.0%,粗脂肪 2.0%;大豆低聚糖,粗蛋白 1.05%,粗脂肪 1.7%,水苏糖 26.1%,棉籽糖 6.1%,其他 52.2%;3由青岛马斯特生物科技有限公司提供;4维生素 C多聚磷酸酯

1Supplied by Liuhe Feed Co., Ltd. (Shandong, China), crude protein, 71.2% dry matter; crude lipid, 12.5% dry matter; 2Supplied by Dong Ying Wonderful Vegetable Protein Science and Technology Co., Ltd. (Shandong, China); soy protein concentrate, crude protein, 91.0% dry matter, crude lipid, 2.0% dry matter; soybean oligosaccharides, crude protein, 1.05% dry matter, crude lipid, 1.7% dry matter, stachyose, 26.1% dry matter, raffinose, 6.1% dry matter, others, 52.2% dry matter; 3Supplied by Qingdao marine science & technology bio-tech Co., Ltd., Shandong, China; 4L-Ascorbate-2-polyphosphate (35%)

1.5 计算及统计分析

摄食率 (g/fish · d) = $\frac{\text{摄食干饲料重 (g)} / \text{饲喂天数 (d)}}{(\text{鱼体总末重 (g)} + \text{鱼体总初重 (g)}) / 2}$

特定生长率 (SGR, % / d) = $\frac{\text{Ln末重 (g)} - \text{Ln初重 (g)}}{\text{饲喂天数 (d)}} \times 100$

饲料效率 (FER) = $\frac{\text{鱼体湿增重 (g)}}{\text{摄食干饲料重 (g)}}$

蛋白质效率 (PER) = $\frac{\text{鱼体湿增重 (g)}}{\text{摄食蛋白重 (g)}}$

采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析。所有数据均表示为平均值 ±标准误 ($\bar{x} \pm \text{S.E.M.}$),并用 t 检验进行同一蛋白源基础饲料组间差异分析,显著性水平为 $p < 0.05$ 。

2 结 果

2.1 牙鲆摄食率

试验表明,饲料中添加 10% SBOS 对牙鲆前两周摄食率均无显著影响 ($p > 0.05$),但显著影响了

整个养殖周期牙鲆总摄食率(表 3)。饲料中添加 SBOS 显著降低了 FMO 组牙鲆总摄食率,而提高了 SPD 组牙鲆总摄食率 ($p < 0.05$)。

2.2 牙鲆生长性能

不同处理组牙鲆成活率差异较大 (83.4%—97.8%),但饲料中添加 SBOS 对牙鲆成活率均无显著影响 ($p > 0.05$) (表 3)。饲料中添加 SBOS 显著提高了 SPD 组牙鲆 SGR ($p < 0.05$),而对 FMO 组无显著影响。饲料中添加 SBOS 对 FER 和 PER 均无显著影响,但 FMO 组呈下降趋势,而 SPD 组呈上升趋势。

2.3 鱼体体组成

试验表明,FM 基础饲料中添加 SBOS 对牙鲆鱼体水分、粗蛋白和粗脂肪含量均无显著影响 ($p > 0.05$),而显著提高了鱼体粗灰分含量 ($p < 0.05$) (表 4)。SPI 基础饲料中添加 SBOS 对牙鲆鱼体水分、粗脂肪和粗灰分含量均无显著影响,而显著提高了鱼体粗蛋白含量。

表 3 不同蛋白源基础饲料中添加大豆低聚糖对牙鲆生长性能的影响

Tab. 3 Growth performance of Japanese flounder fed various protein source-based diets with or without soybean oligosaccharides					
饲料 Diet		FM	FMO	SPI	SPD
初重 Initial weight (g)		1.96 ±0.04	1.89 ±0.02	1.94 ±0.06	1.93 ±0.04
末重 Final weight (g)		25.16 ±0.91	20.48 ±0.29 [†]	4.67 ±0.02	5.36 ±0.07 [†]
摄食率 Feeding rate (FR, g/fish · d)		0.42 ±0.01	0.37 ±0.01 [†]	0.13 ±0.01	0.15 ±0.00 [†]
前两周摄食率 First two weeks FR (g/fish · d)		0.18 ±0.00	0.18 ±0.01	0.11 ±0.01	0.12 ±0.01
特定生长率 SGR (%/d)		4.55 ±0.10	4.25 ±0.04	1.57 ±0.06	1.83 ±0.04 [†]
饲料效率比 FER		0.99 ±0.05	0.91 ±0.03	0.38 ±0.02	0.40 ±0.01
蛋白质效率比 PER		2.04 ±0.09	1.83 ±0.05	0.79 ±0.05	0.81 ±0.01
成活率 Survival (%)		87.8 ±4.0	97.8 ±2.2	83.4 ±6.7	83.4 ±3.4

注:表中数据为平均值±标准误(n=3);[†]p<0.05,同 FM组相比;[†]p<0.05,同 SPI组相比;下同
Note: Values are presented as means ±S.E.M., n=3; [†]p<0.05, compared with FM group; [†]p<0.05, compared with SPI group; The same as follows

表 4 不同蛋白源基础饲料中添加大豆低聚糖对牙鲆体组成(%湿重)的影响

Tab. 4 Proximate composition (% wet weight) of the whole body of Japanese flounder fed various protein source-based diets with or without soybean oligosaccharides					
饲料 Diet		水分 Moisture	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude lipid	粗灰分 Ash
初始 Initial		78.8	14.1	2.1	4.2
FM		75.8 ±0.3	17.8 ±0.2	2.9 ±0.0	3.5 ±0.1
FMO		76.0 ±0.3	17.2 ±0.2	2.7 ±0.2	4.1 ±0.1 [†]
SPI		80.4 ±0.2	15.1 ±0.2	1.7 ±0.0	2.8 ±0.1
SPD		79.7 ±0.3	16.2 ±0.3 [†]	1.2 ±0.2	3.0 ±0.1

2.4 血浆和肝脏转氨酶活性

FM基础饲料中添加 SBOS显著提高了牙鲆血浆 AST活性(p<0.05),而对 ALT活性和 AST/ALT 比值无显著影响(p>0.05),但 ALT活性呈明显上升趋势(表 5)。然而,FM基础饲料中添加 SBOS对肝脏 AST、ALT活性及 AST/ALT比值均无显著影

响。SPI基础饲料中添加 SBOS显著提高了血浆 ALT活性,而对 AST活性无显著影响,从而显著降低了 AST/ALT比值。然而,SPI基础饲料中添加 SBOS显著提高了肝脏 AST、ALT活性,但对 AST/ALT比值无显著影响。

表 5 不同蛋白源基础饲料中添加大豆低聚糖对牙鲆血浆及肝脏中血浆谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)活性及 AST/ALT比值的影响

Tab. 5 Activities of AST and ALT, and ratio of AST/ALT in liver and plasma of Japanese flounder fed various protein source-based diets with or without soybean oligosaccharides						
饲料 Diet	谷草转氨酶 AST		谷丙转氨酶 ALT		AST/ALT	
	血浆 (U/mL)	肝脏 (U/g protein)	血浆 (U/mL)	肝脏 (U/g protein)	血浆	肝脏
FM	210.12 ±12.52	71.57 ±5.96	6.14 ±0.83	114.48 ±5.26	35.13 ±3.86	0.62 ±0.02
FMO	350.56 ±33.34 [†]	74.21 ±1.74	16.00 ±4.06	118.93 ±23.64	24.99 ±6.27	0.66 ±0.15
SPI	334.47 ±18.21	28.14 ±2.23	10.22 ±0.92	101.25 ±3.66	32.50 ±0.14	0.28 ±0.01
SPD	315.20 ±8.03	53.99 ±2.04 [†]	21.30 ±2.18 [†]	182.25 ±9.39 [†]	15.00 ±1.92 [†]	0.30 ±0.01

2.5 血浆和肝脏 γ-GT、AKP和 LDH活性

FM基础饲料中添加 SBOS对牙鲆血浆和肝脏 γ-GT、AKP和 LDH活性均无显著影响(p>0.05),但血浆 γ-GT、LDH活性和肝脏 AKP活性呈明显上升趋势(表 6)。SPI基础饲料中添加 SBOS显著提高了牙鲆血浆 LDH活性(p<0.05),而对肝脏 LDL活性无显著影响。相反,SPI基础饲料中添加 SBOS

对牙鲆血浆和肝脏 γ-GT、AKP活性均无显著影响,但血浆 γ-GT、AKP活性呈下降趋势,而肝脏 AKP活性呈上升趋势。

2.6 血浆 UN和 FAA浓度

饲料中添加 SBOS均提高了牙鲆血浆中 UN浓度,但差异均不显著(p>0.05)(表 6)。类似地,FM基础饲料中添加 SBOS提高了牙鲆血浆中 FAA含

量,但统计上差异均不显著(除 Val外)(表 7);SPI 基础饲料中添加 SBOS对血浆 FAA均无显著影响。

表 6 不同蛋白源基础饲料中添加大豆低聚糖对牙鲆血浆及肝脏中乳酸脱氢酶(LDH)、碱性磷酸酶(AKP)和 γ -L 谷氨酰转肽酶(γ -GT)活性以及血浆中尿素氮浓度的影响

Tab. 6 Activities of LDH, AKP and γ -GT in liver and plasma, and urinary nitrogen level in plasma of Japanese flounder fed various protein source-based diets with or without soybean oligosaccharides

饲料 Diet	乳酸脱氢酶 LDH		碱性磷酸酶 AKP		γ -L 谷氨酰转肽酶 γ -GT		血浆尿素氮 UN (mg/L)
	血浆 (U/100mL)	肝脏 (U/g protein)	血浆 (U/100mL)	肝脏 (U/g protein)	血浆 (U/100mL)	肝脏 (U/g protein)	
FM	175.8 $\pm$ 44.9	658.8 $\pm$ 126.2	12.9 $\pm$ 1.3	81.5 $\pm$ 0.9	3.5 $\pm$ 1.1	0.15 $\pm$ 0.02	52.32 $\pm$ 3.60
FMO	235.2 $\pm$ 63.7	763.5 $\pm$ 49.2	13.5 $\pm$ 2.5	126.2 $\pm$ 12.1	7.4 $\pm$ 0.3	0.14 $\pm$ 0.01	61.15 $\pm$ 6.01
SPI	34.2 $\pm$ 0.0	568.7 $\pm$ 155.4	28.4 $\pm$ 5.7	66.5 $\pm$ 1.4	25.7 $\pm$ 8.0	0.04 $\pm$ 0.01	87.07 $\pm$ 3.65
SPD	398.4 $\pm$ 4.4 [†]	419.3 $\pm$ 67.5	15.4 $\pm$ 0.5	123.2 $\pm$ 14.6	10.8 $\pm$ 0.1	0.04 $\pm$ 0.01	101.77 $\pm$ 5.96

表 7 不同蛋白源基础饲料中添加大豆低聚糖对牙鲆血浆游离氨基酸组成(mg/mL)的影响

Tab. 7 Free amino acid concentration (mg/mL) in plasma of Japanese flounder fed various protein source-based diets with or without soybean oligosaccharides

氨基酸 Amino acid	饲料 Diets			
	FM	FMO	SPI	SPD
天冬氨酸 Asp	0.10 $\pm$ 0.00	0.14 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.03
苏氨酸 Thr	0.39 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.04	0.29 $\pm$ 0.06	0.38 $\pm$ 0.01
丝氨酸 Ser	0.23 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.06	0.24 $\pm$ 0.03	0.27 $\pm$ 0.02
谷氨酸 Glu	0.18 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.01
甘氨酸 Gly	0.07 $\pm$ 0.01	0.10 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.00
丙氨酸 Ala	0.28 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.08	0.35 $\pm$ 0.07	0.37 $\pm$ 0.02
半胱氨酸 Cys	0.07 $\pm$ 0.05	0.11 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.01	0.12 $\pm$ 0.03
缬氨酸 Val	0.27 $\pm$ 0.01	0.36 $\pm$ 0.02 [†]	0.28 $\pm$ 0.06	0.34 $\pm$ 0.05
蛋氨酸 Met	0.27 $\pm$ 0.02	0.45 $\pm$ 0.05	0.27 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.02
异亮氨酸 Ile	0.08 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.03	0.14 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.03
亮氨酸 Leu	0.48 $\pm$ 0.03	0.79 $\pm$ 0.17	0.63 $\pm$ 0.10	0.74 $\pm$ 0.03
酪氨酸 Tyr	0.17 $\pm$ 0.04	0.54 $\pm$ 0.30	0.34 $\pm$ 0.16	0.19 $\pm$ 0.07
苯丙氨酸 Phe	0.39 $\pm$ 0.03	0.54 $\pm$ 0.11	0.44 $\pm$ 0.13	0.41 $\pm$ 0.19
赖氨酸 Lys	0.54 $\pm$ 0.05	0.79 $\pm$ 0.14	0.38 $\pm$ 0.01	0.50 $\pm$ 0.08
组氨酸 His	0.11 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.02	0.13 $\pm$ 0.02
精氨酸 Arg	0.21 $\pm$ 0.09	0.54 $\pm$ 0.08	0.57 $\pm$ 0.06	0.79 $\pm$ 0.04
脯氨酸 Pro	0.39 $\pm$ 0.04	0.04 $\pm$ 0.04	0.02 $\pm$ 0.02	0.00 $\pm$ 0.00
总氨基酸 Total	4.19 $\pm$ 0.02	6.20 $\pm$ 1.27	4.88 $\pm$ 0.43	5.72 $\pm$ 0.50

3 讨 论

3.1 饲料中添加 SBOS对牙鲆摄食率的影响

一般认为,与草食性鱼类相比,肉食性鱼类对碳水化合物的利用受到从消化吸收到体内代谢的一系列限制^[14]。牙鲆属肉食性鱼类,其天然摄食饵料中碳水化合物含量很少。本试验表明,无论是以 FM 还是以 SPI为主要蛋白源的饲料中添加 10% SBOS 对前两周牙鲆摄食率均无显著影响。然而,整个养殖周期摄食率因基础饲料不同,添加 SBOS表现出不同抑制或促摄食效应,且这种影响趋势与生长性能相一致。因此,本研究认为 SBOS对摄食率没有直接影响,可能是因为添加 SBOS降低或提高了牙

鲆生长性能,从而反过来降低或提高了摄食率。同时,蔡英华^[12]报道,随着饲料中水苏糖含量(0%—1.5%)的增加,牙鲆摄食率呈上升趋势,其中 0.8%和 1.5%水苏糖组摄食率显著高于对照组(0%水苏糖组);然而,随着饲料中棉籽糖含量(0%—1.5%)的增加,牙鲆摄食率差异不显著。由此可知,豆粕中含有的非蛋白组分 SBOS并不是鱼类对其摄食率低的主要原因。豆粕适口性差的原因可能与蛋白质组分(如游离氨基酸含量低)和其他非蛋白组分(如凝集素、NSP等抗营养因子含量高)有关^[2]。

3.2 饲料中添加 SBOS对牙鲆生长性能的影响

众所周知,与陆生脊椎动物相比,鱼类对碳水化合物的需求及利用能力相对较低。一方面是由于鱼

类,特别是肉食性鱼类的 α 淀粉酶缺乏且消化道短^[14],对碳水化合物的消化吸收能力差;尤其对于SBOS而言,其通过 α -1,6糖苷键与半乳糖联接而成,鱼类消化道内又缺乏相应的 α 半乳糖苷酶,因此很难为鱼类消化酶所降解;另一方面是由于鱼类代谢较多依赖蛋白质和脂肪提供能量,碳水化合物的脂肪转化能力较差,糖异生酶类摄食碳水化合物后不能产生适应性调节等原因,会对鱼体生理功能造成影响^[15]。本试验表明,以FM为主要蛋白源饲料中添加10%SBOS普遍降低了SGR、FER和PER,但差异均不显著。这表明在FM基础饲料中添加一定量的SBOS对牙鲈的生长率及饲料转化率没有显著的负面影响。类似地,蔡英华^[12]报道,以FM为主要蛋白源饲料中添加0.8%水苏糖或1.5%棉籽糖对牙鲈生长率无显著影响,但添加1.5%水苏糖显著降低了牙鲈的生长率和饲料转化率。Krogdahl, et al.^[11]研究也发现,以FM为主要蛋白源的饲料中添加SBOS对大西洋鲑(*Salmo salar*)生长率无显著影响。然而,一些研究表明,SBOS对鱼类的生长有明显抑制作用^[3,16]。SBOS对鱼类的负面营养效应主要表现为:(1)干扰其他营养素的消化利用;(2)SBOS在小肠中的渗出性影响;(3)SBOS的厌氧性发酵作用产生气体^[8]。Refstie, et al.^[3]报道,去SBOS豆粕处理组大西洋鲑的生长率和饲料转化率均显著高于未经过加工处理豆粕组。由此可知,不同研究者针对不同研究对象,SBOS的营养效应不太一致。这些研究结果之间的差异可能与不同鱼种对SBOS的耐受力 and 利用率有关。同时,也可能与SBOS的来源和试验条件有关^[17]。

同时,本研究还发现,不同蛋白源基础饲料中添加SBOS表现出不同的生长效应。以FM为主要蛋白源的饲料中添加SBOS降低了牙鲈生长率和饲料转化率;而以SPI为主要蛋白源的饲料中添加SBOS却显著提高了牙鲈生长率。不同蛋白源基础饲料中添加SBOS表现出的不同生长效应可能与SBOS对牙鲈脂肪代谢影响不一致有关^[5,18]。Deng, et al.^[18]研究发现,FM基础饲料中添加SBOS对牙鲈脂质代谢无显著影响,而SPI基础饲料中添加SBOS降低了牙鲈“脂肪肝”发病率,保护了肝脏功能。

3.3 饲料中添加SBOS对牙鲈代谢酶活性的影响

转氨酶是催化氨基酸氧化分解时氨基转移到 α 酮酸的酶。正常情况下,AST和ALT都主要存在于肝细胞中,在血清中的酶活性低而且含量相对稳定^[19]。当肝脏功能受到损伤时,肝脏中的AST和

ALT大量释放进入血液,从而导致血液中AST和ALT浓度大幅度提高^[19,20]。因此,血浆AST和ALT活性被认为是反应肝脏功能是否正常的指标之一^[20]。同时,AST、ALT是体内重要的转氨酶,参与体内转氨基作用,在非必需氨基酸的合成和蛋白质分解代谢中起重要的中介作用。因此,肝脏中转氨酶活性的升高表明氨基酸代谢旺盛^[21]。本试验表明,FM基础饲料中添加SBOS明显提高了牙鲈血浆AST和ALT活性,其中AST差异显著。SPI基础饲料中添加SBOS显著提高了血浆ALT活性,而对AST活性无显著影响。由此可知,以FM为主要蛋白源饲料中添加SBOS造成了鱼体内蛋白质和氨基酸代谢紊乱,细胞内外转运氨基酸的速度加快,致使肝脏发生病变。同时,本研究还表明,FM基础饲料中添加SBOS对肝脏AST和ALT活性均无显著影响;SPI基础饲料中添加SBOS显著提高了肝脏AST和ALT活性。此结果与生长性能结果相一致。

LDH是与能量代谢过程密切相关的酶。在无氧条件下,LDH催化丙酮酸还原成乳酸,从而完成葡萄糖的无氧酵解过程;同时释放少量ATP分子,为缺氧状态下的机体生命活力提供一定的能量。血浆LDH活性同AST、ALT活性一样,也是反映鱼体肝脏功能是否正常的重要指标^[19];而肝脏中LDH活性的升高可能预示着糖代谢酵解作用的加强^[22]。本试验表明,饲料中添加SBOS明显提高了牙鲈血浆LDH活性,而对肝脏LDH活性无显著影响。由此可知,饲料中添加SBOS致使肝脏功能受到损伤,而对鱼体糖代谢的酵解作用无影响。

γ -GT是一种质膜结合黏蛋白,它能催化 γ 谷氨酰基团的转移,参与“ γ 谷氨酰循环”和氨基酸的跨细胞膜转运,为 γ 谷氨酰循环中的关键酶^[23]。本试验表明,饲料中添加SBOS对牙鲈血浆和肝脏 γ -GT活性均无显著影响。

AKP广泛存在于动物体内,在骨骼肌、肝脏、肠黏膜中含量较高,血清中的AKP即来源于上述组织。AKP是一种重要的非特异性磷酸水解酶,能直接参与有机磷的代谢,亦与DNA、蛋白质及脂类的代谢有关^[24]。它对水生动物钙质的吸收、骨骼的形成具有重要作用^[25]。许多研究表明,运用多糖类物质可提高生物体AKP活性^[26]。类似地,本试验表明饲料中添加SBOS明显提高了牙鲈肝脏AKP活性。AKP水平的提高,可以加速牙鲈相应组织的物质代谢,为ADP磷酸化形成ATP提供所需的无机

磷,积累更多能量,从而促进牙鲆生长,也间接增强了其非特异性免疫能力^[24]。

许多研究者认为,血浆 UN 和 FAA 可以反映饲料蛋白质利用率的高低^[27]。本试验表明,饲料中添加 SBOS 对牙鲆血浆 UN 和 FAA 浓度均无显著影响。由此说明,饲料中添加 10% SBOS 并不会导致血浆氨基酸浓度的显著改变,对血浆中必需氨基酸的平衡不会产生影响。

参考文献:

- [1] Tidwell J H, Allan G L. Fish as food: aquaculture's contribution [J]. *EMBO Rep* , 2001, 2: 958—963
- [2] Deng J M, Mai K S, Ai Q H, *et al* Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 258: 503—513
- [3] Refstie S, Størebakken T, Roem A J. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens [J]. *Aquaculture*, 1998, 162: 301—312
- [4] Refstie S, Svihus B, Shearer K, *et al* Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soyabean products [J]. *Anim. Feed Sci Tech* , 1999, 79: 331—345
- [5] Deng J M. Effects of animal and plant protein sources on feed intake, growth and protein and lipid metabolism of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [D]. Thesis for Doctor of Science. Ocean University of China, Qingdao, 2006 [邓君明. 动植物蛋白源对牙鲆摄食、生长和蛋白质及脂肪代谢的影响. 博士学位论文, 中国海洋大学, 青岛, 2006]
- [6] Størebakken T, Shearer K D, Roem A J. Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon *Salmo salar* fed diets with fish meal and soy protein concentrate as the main sources of protein [J]. *Aquac Nutr* , 2000, 6: 103—108
- [7] Gitzelmann R, Auricchio S. The handling of soy alpha-galactosides by a normal and galactosemic child [J]. *Pediatrics*, 1965, 36: 231—235
- [8] Gdala J, Jansman A J M, Buraczewska L, *et al* The influence of α -galactosidase supplementation on the ileal digestibility of lupin seed carbohydrates and dietary protein in young pigs [J]. *Anim. Feed Sci Technol* , 1997, 67: 115—125
- [9] Li D F. Antinutritional factors in soybean meal [M]. Beijing: Science and Technology Press of China, 2003 [李德发. 大豆抗营养因子. 北京: 中国科学技术出版社, 2003]
- [10] van den Ingh T S G A M, Krogdahl 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: 297—305
- [11] Krogdahl A, Roem A, Bæverfjord G. Effects of soybean saponin, raffinose and soybean alcohol extract on nutrient digestibilities, growth and intestinal morphology in Atlantic salmon [A]. In: Svennevig N, Krogdahl A (Eds.), *Quality in aquaculture* [C]. Proc. Intl Conf Aquaculture'95 and the satellite meeting Nutrition and Feeding of Cold Water Species, Trondheim, Norway, August 9—12. Eur Aquacult Soc. Spec. Publ. No. 23, Gent, Belgium, 1995, 118—119
- [12] Cai Y H. Effects of antinutritional factors in soybean on the growth performance and digestive physiology of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [D]. Thesis for Master of Science. Ocean University of China, Qingdao, 2006 [蔡英华. 几种大豆抗营养因子对牙鲆生长和消化生理的影响. 硕士学位论文, 中国海洋大学, 青岛, 2006]
- [13] Szasz G. A kinetic photometric method for serum gamma glutamyl transferase [J]. *Clin. Chem.* , 1969, 15: 124—136
- [14] Spannhof L, Plantikow H. Studies on the carbohydrate digestion in rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 1983, 30: 95—108
- [15] Suarez M D, Sanz A, Bazco J, *et al* Metabolic effects of changes in the dietary protein: carbohydrate ratio in eel (*Anguilla anguilla*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquac Int* , 2002, 10: 1—14
- [16] Glencross B D, Boujard T, Kaushik S J. Influence of oligosaccharides on the digestibility of lupin meals when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2003, 219: 703—713
- [17] 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
- [18] Deng J M, Mai K S, Ai Q H, *et al* Effects of soybean oligosaccharides on lipid metabolism of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus* Temminck et Schlegel) fed animal or plant protein source-based diets [J]. *Front Agric China*, 2007, 1(3): 1—9
- [19] Jin S, Wang G L, Zhao Q S, *et al* Preliminary studies on pathogen and hemopathology of the white cloud disease in *Micropterus salmoides* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 29(2): 184—188 [金珊, 王国良, 赵青松, 等. 加州鲈白云病的病原及血液病理的初步研究. 水生生物学报, 2005, 29(2): 184—188]
- [20] Zhou Y, Guo W C, Yang Z G, *et al* Studies on the blood biochemical indices of "mad swim disease" eel, *Anguilla anguilla* L. [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, 26(3): 314—316 [周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 欧洲鳗鲡“狂游病”血液生化指标研究. 水生生物学报, 2002, 26(3): 314—316]
- [21] Zhou X J, Xie S Q, Xie C X, *et al* The utilization and requirement of dietary lysine for juvenile gibel carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(3): 247—255 [周贤君, 解爱启, 谢从新, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料中赖氨酸的利用及需要量研究. 水生生物学报, 2006, 30(3): 247—255]
- [22] Sastry V, Shukla V. Influence of protective agents in the toxicity of cadmium to a freshwater fish (*Channa punctatus*) [J]. *Bull Environ. Contam. Toxicol* , 1994, 53: 711—717
- [23] Meister A. On the cycles of glutathione metabolism and transport [J]. *Curr Top Cell Regul* , 1981, 18: 21—58

- [24] Zhou J, Song X L, Huang J, *et al* Effect of A3 α peptidoglycan (PG) on SOD, ACP and AKP activities in different tissues of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, **11** (4): 296—301 [周进, 宋晓玲, 黄健, 等. A3 α 肽聚糖对牙鲆不同组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响. 中国水产科学, 2004, **11** (4): 296—301]
- [25] Tengjarenkul B, Smith B J, Cacaci T, *et al* Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. [J]. *Aquaculture*, 2000, **182**: 317—327
- [26] Meng F L, Ma G R, Kong J. Immunologic competence of peptidoglycan of *Streptococcus lactis* in *Penaeus Chinese* [J]. *J. Shandong University*, 1999, **34** (1): 88—93 [孟凡伦, 马桂荣, 孔健. 乳链球菌 SB900肽聚糖对中国对虾免疫功能的影响. 山东大学学报 (自然科学版), 1999, **34** (1): 88—93]
- [27] Brown J A, Cline T R. Urea excretion in the pig: An indicator of protein quality and amino acid requirements [J]. *J. Nutr*, 1974, **104**: 542—545

EFFECTS OF SOYBEAN OLIGOSACCHARIDES ON NUTRITIONAL CHARACTERS OF JAPANESE FLOUNDER (*PARALICHTHYS OLIVACEUS*): FEEDING RATE, GROWTH AND METABOLIZE ENZYME ACTIVITIES

DENG Jun-Ming^{1,2}, MAI Kang-Sen¹, AI Qing-Hui¹ and ZHANG Wen-Bing¹

(1. Key Laboratory of Mariculture, Education Ministry of China, Ocean University of China, Qingdao 266003;

2. College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract: A feeding trial was conducted to investigate the effects of soybean oligosaccharides (SBOS) on feeding rate, growth and metabolize enzyme activities of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Four isonitrogenous and isocaloric practical diets (crude protein 49%, gross energy 19 kJ/g) including only fish meal (FM) or soy protein isolate (SPI) as a sole protein source with (Diets FMO and SPD) or without (Diets FM and SPI) supplemented SBOS (stachyose, 2.61%; raffinose, 0.61%) were formulated. Each diet was randomly designed to triplicate aquaria stocked with 30 fish (initial body weight 1.93 ± 0.02 g) each. Fish were maintained in a flow-through system with water temperature ranging from 22.0 to 25.0 and fed twice (08:00 and 16:00) daily to apparent satiation for 8 weeks. Dietary SBOS supplementation did not significantly affect the feeding rate in the first two-week ($p > 0.05$), but significantly decreased the gross feeding rate of fish fed FM-based diets, increased the gross feeding rate of fish fed SPI-based diets ($p < 0.05$). Supplementation with SBOS generally depress the specific growth rate (SGR), feed efficiency ratio (FER) and protein efficiency ratio (PER) of fish fed FM-based diets, but the differences were not significant ($p > 0.05$). However, dietary SBOS supplementation generally increased the SGR, FER and PER of fish fed SPI-based diets, and the difference in SGR was significant ($p < 0.05$). Supplemental SBOS generally increased the aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH) and γ -glutamyltranspeptidase (γ -GT) activities in plasma of fish fed FM-based diets, but only the difference in AST activity was significant ($p < 0.05$). However, the activities of AST, ALT, AKP, LDH and γ -GT in liver of fish fed FM-based diets were not significantly affected by supplemental SBOS ($p > 0.05$). SBOS supplementation significantly increased the activities of ALT and LDH in plasma ($p < 0.05$), but did not significantly affect the activities of AST, AKP and γ -GT in plasma of fish fed SPI-based diets ($p > 0.05$). At the same time, supplemental SBOS significantly increased the activities of AST and ALT in liver ($p < 0.05$), but not the activities of AKP, LDH and γ -GT in liver of fish fed SPI-based diets ($p > 0.05$). The urinary nitrogen and free amino acid concentration in plasma of fish were not affected by supplemental SBOS regardless of dietary protein source ($p > 0.05$). These results indicate that there are different effects of SBOS on growth performance of Japanese flounder fed different protein source based diets; dietary SBOS supplementation generally depresses the growth of Japanese flounder fed FM-based diets, but increases that of fish fed SPI-based diets.

Key words: Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*); Soybean oligosaccharides; Nutritional characters; Feeding rate; Growth; Metabolize enzyme activity