

在无藻粉饲料中添加包膜氨基酸对幼刺参生长、消化和免疫指标的影响

王吉桥¹, 张坤¹, 姜玉声¹, 张剑诚²

(1. 大连水产学院 生命科学与技术学院, 辽宁 大连 116023; 2. 大连太平洋海珍品有限公司, 辽宁 大连 116045)

摘要: 研究了在糊化山药粉全部替代鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)粉的饲料中添加不同方法处理及不同种类包膜氨基酸的饲料对刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)幼参生长、消化及免疫指标的影响。试验 1, 在水温 13.0~18.0℃下, 将平均体质量为 2.27g 的刺参饲养在 18 个 50 L(50 cm×40 cm×30 cm)的塑料水槽中(15 头/槽), 投喂添加淀粉包膜的缬氨酸、苏氨酸、亮氨酸等多种氨基酸的饲料。40 d 的饲养表明, 幼参的特殊增重率(R_{SG})和对饲料蛋白及脂肪的消化率随饲料中添加包膜氨基酸水平的增加而逐渐升高, 其中添加包膜氨基酸水平最高组的幼参显著高于未添加包膜氨基酸的对照组($P < 0.05$)。试验 2, 在水温 10.0~19.0℃下, 给平均体质量 1.55 g 的刺参投喂在山药粉完全替代鼠尾藻粉的对照饲料(S0)中分别添加 0.37%明胶包膜赖氨酸(S1)、0.37%包膜赖氨酸加 0.38%包膜蛋氨酸(S2)和 0.37%包膜赖氨酸、0.38%包膜蛋氨酸加 0.39%包膜苏氨酸(S3)的饲料。60 d 的饲养表明, 幼参的 R_{SG} 随饲料中添加氨基酸种类的增加而显著增高, S3、S2 和 S1 组刺参的 R_{SG} 分别比 S0 组高 154.6%、82.1%和 57.2%。S3 组刺参体腔液超氧化物歧化酶(SOD)和酸性磷酸酶(ACP)活力及对饲料蛋白的消化率(87.26%)均显著高于 S0 组, 说明山药粉替代鼠尾藻, 添加明胶包膜赖氨酸、蛋氨酸和苏氨酸可以显著提高刺参生长速度及免疫能力。

关键词: 刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka); 幼参; 氨基酸; 生长; 免疫

中图分类号: Q493

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)09-0036-08

高效、廉价和安全的饲料是刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)养殖业发展的物质基础。目前常用的刺参饲料中多含有 30%左右采自野生的鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)、马尾藻(*Sargassum* sp.)或其他大型藻类粉^[1]。近年来, 由于刺参养殖业发展迅速, 养殖规模不断扩大, 致使鼠尾藻资源被过度采收, 生物量急剧降低。自然资源已不能满足需求量的增加, 供不应求刺激了鼠尾藻粉等价格不断攀升, 养殖成本不断增加。大型海藻是近海生态修复和“海洋牧场”建设的重要内容和生态恢复的基础环节, 即使将来鼠尾藻能人工育苗和成功养殖, 也不宜大面积采收, 破坏近海天然牧场^[2, 3]。因此, 用来源广、价格适宜的陆生植物淀粉替代鼠尾藻等大型藻粉, 降低刺参饲料成本, 具有重要的经济、生态和环保价值。

陆生植物中氨基酸不平衡, 含有抗营养因子和消化率低, 在饲料中添加的比例过高时, 鱼类生长明显下降。例如, 用豆粕全部替代鱼粉会导致鲤(*Cyprinus carpio*)^[4]、罗非鱼(*Oreochromis nilotica*)^[5]

和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[6]生长下降。但是, 大量研究表明, 利用除去抗营养因子的植物蛋白间氨基酸组成的互补性, 添加晶体或包膜的限制性氨基酸可显著提高替代饲料的效果^[7]。王吉桥等^[8]发现, 刺参摄食添加 0.78%包膜赖氨酸的饲料时, 特殊生长率和对饲料蛋白质的消化率差异显著($P < 0.05$)和差异极显著($P < 0.01$), 高于摄食对照饲料的刺参。但在陆生植物淀粉替代鼠尾藻等大型藻类粉的饲料中添加包膜氨基酸对刺参生长和免疫影响目前尚未见报道。为此, 作者研究了在山药粉全部替代鼠尾藻粉的饲料中添加包膜氨基酸对刺参生长、消化和几种免疫指标的影响, 为合理配制海参饲料, 提高刺参养殖效率, 丰富海参的营养学内容提供依据。

收稿日期: 2009-12-16; 修回日期: 2010-03-23

基金项目: 辽宁省教育厅计划 (No 20060186); 辽宁省海洋与渔业厅资助项目

作者简介: 王吉桥 (1950-), 男, 辽宁瓦房店人, 博士, 教授, 研究方向: 养殖生态学和水产饲料学, E-mail: jqwang1950@163.com

1 材料与amp;方法

1.1 材料

试验 1 中采用的 1 冬龄刺参来自盘锦市每日集团, 平均体质量 2.27 g, 暂养一周后, 挑选大小匀称、体质健壮的个体 270 头, 随机分成 6 组, 放入容器为 50 L(50 cm×40 cm×30 cm)的硬质塑料水槽中,

每槽 15 头, 槽内放一片 20 cm×30 cm 的波纹板, 分别投喂含不同包膜氨基酸的 6 种饲料(表 1)。每种饲料 3 个重复。

试验 2 采用的刺参来源、暂养、饲养和重复同上, 平均体质量 1.55 g, 挑选 180 头大小匀称、体质健壮的个体, 随机分成 4 组, 分别投喂含不同明胶包膜氨基酸的 4 种饲料(表 2)。

表 1 试验 1 中饲料的配方及营养成分(%)

Tab. 1 Ingredients and approximate compositions of the experimental diets (%)

原料	S0	S1	S2	S3	S4	S5
鼠尾藻(<i>Sargassum thunbergii</i>) ¹	30.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
山药粉 ²	0.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
贝壳粉 ¹	5.0	3.0	2.4	1.7	1.1	0.4
淀粉包膜异亮氨酸	—	0.49	0.59	0.71	0.81	0.93
淀粉包膜亮氨酸	—	0.33	0.45	0.58	0.70	0.83
淀粉包膜苯丙氨酸	—	0.14	0.21	0.28	0.35	0.42
淀粉包膜蛋氨酸	—	0.26	0.30	0.37	0.42	0.48
淀粉包膜苏氨酸	—	0.24	0.30	0.38	0.45	0.53
淀粉包膜缬氨酸	—	0.37	0.47	0.58	0.67	0.80
淀粉包膜赖氨酸	—	0.17	0.28	0.40	0.50	0.61
基础饲料 ³	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0	65.0
营养成分						
粗蛋白	15.91	15.92	15.48	15.71	15.97	15.25
粗脂肪	1.62	1.75	1.79	1.69	1.64	1.68
粗灰分	55.45	55.41	56.10	55.83	55.37	55.59

注: 1. 购自大连太平洋海珍品有限公司; 2. 购自成都天力生物制品有限公司; 3. 基础饲料配方(%): 鱼粉 11.0; 大豆蛋白 7.0; 海泥 40.0; 虾糠 5.0; 酵母 1.0; 黄原胶 0.2; 矿物质 0.8

表 2 试验 2 中饲料配方及营养成分(%)

Tab.2 Ingredients and approximate compositions in the experimental diets(%)

原料	S0	S1	S2	S3
鼠尾藻(<i>Sargassum thunbergii</i>)	30.0	0.0	0.0	0.0
山药粉	0.0	30.0	30.0	30.0
赖氨酸*	0.0	0.37	0.37	0.37
蛋氨酸*	0.0	0.0	0.38	0.38
苏氨酸*	0.0	0.0	0.0	0.39
基础饲料	65.0	65.0	65.0	65.0
营养成分				
粗蛋白	16.01	16.31	15.65	16.04
粗脂肪	1.59	1.61	1.68	1.66
粗灰分	55.47	55.97	55.23	55.12

注: *购自北京拜尔迪生物技术公司;基础饲料配方和来源同表 1

1.2 试验饲料

1.2.1 包膜氨基酸的制作

试验 1 用淀粉包膜氨基酸, 制备方法^[9]: 称取 10 g

氨基酸, 加入到 10 g 食用淀粉中, 搅拌均匀、加水继续搅拌成糊状。恒温水浴锅中加热搅拌 30 min (95℃), 干燥后粉碎, 即为淀粉包膜氨基酸, 4℃冰箱中保存、

待用。

试验 2 用明胶包膜氨基酸, 制备方法依梁治齐^[10]而略有改进。称取 0.75 g 明胶, 加入到 20 mL 55℃ 蒸馏水中, 30 min 后加入 5g 晶体氨基酸, 搅拌均匀, 冷却后, 加入 20% 戊二醛 0.75 mL, 搅拌 2 h, 倒入 20 mL 丙酮溶液, 静置、抽滤除去上清液, 以 10 mL 丙酮洗涤 2 次, 过滤、沉淀、干燥, 粉碎后得明胶包膜氨基酸, 4℃ 冰箱中保存、待用。

1.2.2 山药粉的糊化

为提高山药粉的消化率, 投喂前按下列方法糊化成 α -淀粉^[9, 11]: 称取 30 g 山药粉, 加入 300 mL 蒸馏水, 搅拌成匀浆状, 置于 95℃ 恒温水浴锅中不断搅拌, 加热 30 min, 淀粉呈半透明的糊化状。

1.2.3 饲料的配制和投喂

试验饲料以山药粉完全替代鼠尾藻粉, 适当添加包膜氨基酸。氨基酸添加量按联合国粮农组织 (FAO) 的必需氨基酸推荐模式^[12]和王吉桥等^[8]推算饲料中氨基酸的总量。配制前, 将饲料原料粉碎过 200 目筛。原料按表 1 饲料配方混合均匀, 然后加入到已糊化的山药粉中, 手工混合均匀, 压制成薄片状, 置 -20℃ 冰箱保存。饲料中氨基酸含量采用日立 L-8800 型氨基酸自动分析仪、依据 GB/T5009.124-2003 标准以酸水解法测定, 各试验饲料中氨基酸组成基本相似。投喂前称取适量冰冻饲料, 在室温下放置成松软适度的膏状, 均匀涂抹在波纹板上, 置于水槽中。

1.3 饲养管理

试验 1 在大连水产学院水产动物繁育营养实验室进行。每日上午观察摄食情况, 以确定投饵量。下午用虹吸法清除残饵和粪便, 换水 2/3, 然后投喂, 连续充气。养殖用水为经沉淀、曝气 2 d 的天然海水。水温 13.0~18.0℃, 盐度 29~32, pH7.5~8.1, 溶解氧 > 7.0 mg/L。每 20 d 测一次刺参体质量。试验 2 水温为 10.0~19.0℃。其他同试验 1。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 饲料消化率的测定

在试验饲料中掺入 0.5% Cr₂O₃, 采用 SC/T1089-2006 提供的方法测定。连续投喂后用虹吸法收集粪便及残饵。早、中、晚各收集一次, 直至足量。粪便及残饵经鼓风干燥箱处理后, 冷藏保存。

试验饲料中蛋白质、脂肪、干物质的表观消化

率计算公式为:

蛋白质表观消化率(%)=

$$\left[1 - \frac{\text{粪便中蛋白质含量}}{\text{饲料中蛋白质含量}} \times \frac{\text{饲料中 Cr}_2\text{O}_3 \text{含量}}{\text{粪便中 Cr}_2\text{O}_3 \text{含量}} \right] \times 100$$

脂肪表观消化率(%)=

$$\left[1 - \frac{\text{粪便中脂肪含量}}{\text{饲料中脂肪含量}} \times \frac{\text{饲料中 Cr}_2\text{O}_3 \text{含量}}{\text{粪便中 Cr}_2\text{O}_3 \text{含量}} \right] \times 100$$

干物质表观消化率(%)=

$$\left[1 - \frac{\text{饲料中 Cr}_2\text{O}_3 \text{含量}}{\text{粪便中 Cr}_2\text{O}_3 \text{含量}} \right] \times 100$$

1.4.2 生长指标的测定

在养殖的第 20、40、60 天用电子天平称量(精确至 0.01g)各水槽中刺参的总体质量, 刺参的特殊增长率(specific growth rate, R_{SG})计算公式为:

$$R_{SG}(\%/d) = [(\ln \text{末体质量} - \ln \text{初体质量}) \times 100] / \text{饲养天数}$$

1.4.3 体壁常规营养成分的测定

试验 1 和试验 2 结束后, 将各组所有刺参解剖, 去除内脏, 用过滤海水冲洗后, 烘干、研磨后放入干燥器内备用。采用凯氏定氮法、105℃ 常温干燥法、索氏抽提法(以无水乙醚为抽提液)和高温灼烧法测定粗蛋白质、水分、粗脂肪和灰分含量。

1.4.4 酶活性的测定

体腔液提取: 用 1 mL 注射器从刺参体后部抽取体腔液后, 迅速注入已放置在冰盒中的 0.5 mL 离心管中, 于冷冻离心机(0~1℃)、3 000 r/min 条件下, 离心 15 min, 取上清液备用。

酸性磷酸酶(ACP)活性采用磷酸苯二钠法测定; 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用黄嘌呤氧化酶法测定, 每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50% 时对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)^[13]。

粗酶液提取: 在冰盘中解剖取出刺参肠道, 挤出其内容物, 用去离子水冲洗干净后用滤纸吸干, 迅速称量质量, 冰浴(0~4℃)条件下匀浆, 稀释 10 倍制成匀浆液。-4℃ 离心(3 000 r/min)30 min, 取上清液备用。

蛋白酶活性采用福林-酚法测定; 淀粉酶活性采用碘-淀粉比色法测定。

1.5 数据处理

数据均以平均值±标准误差表示, 用 SPSS16.0 软件包进行单因素方差分析, 用 Duncan's 多重比较法比较各组间平均值的差异显著性, 以 P < 0.01 为差异极显著, P < 0.05 为差异显著。

2 结果

2.1 刺参摄食添加不同包膜氨基酸饲料时的成活和生长

在试验 1 和试验 2 中, 各组刺参的成活率均为 100%, 说明以山药粉完全替代鼠尾藻粉, 适当添加包膜氨基酸对幼参的成活率无显著影响($P > 0.05$), 但饲料中添加包膜氨基酸的种类对刺参生长却有所不同。

在试验 1 中, 40 d 的饲养表明, 幼参的 R_{SG} 随饲

料中添加包膜氨基酸水平的增加而逐渐升高, 其中 S5 组刺参的 R_{SG} 显著高于未添加包膜氨基酸的对照组(S0 组)($P < 0.05$), 比 S0 组高 23.39%, 而其他组幼参的 R_{SG} 则显著低于 S0 组(表 3)。

在试验 2 中, 60 d 的饲养表明, 幼参的 R_{SG} 随饲料中添加氨基酸种类的增加而逐渐升高。当饲料中添加 0.37%包膜赖氨酸、0.38%包膜蛋氨酸和 0.39%包膜苏氨酸(S3 组)时, R_{SG} 值最大。试验结束时, 各试验组 R_{SG} 差异显著, S3 组、S2 组、S1 组刺参的 R_{SG} 分别比对照组(S0 组)高 154.6%、82.1%和 57.2%(表 4)。

表 3 试验 1 中刺参摄食添加不同包膜氨基酸饲料时的生长 (平均值±标准误差, $n=2$)

Tab. 3 Growth of the sea cucumber fed the diets containing different coated amino acids in trail 1 (mean ± SD, $n=2$)

组别	初体质量(g)	末体质量(g)	特殊生长率(%/d)
S0	2.2471±0.1067	2.8156±0.1123	0.2369±0.0151b
S1	2.2853±0.1065	2.5529±0.1099	0.1115±0.0173e
S2	2.2789±0.1028	2.5196±0.2143	0.1003±0.0157f
S3	2.2722±0.1083	2.8167±0.1130	0.2269±0.0124c
S4	2.2644±0.1108	2.6507±0.1367	0.1609±0.0207d
S5	2.2784±0.1015	2.9800±0.1153	0.2923±0.0186a

注: 同一列中标有不同字母的平均值间差异显著($P < 0.05$), 标有相同字母的平均值间差异不显著($P > 0.05$), 下同

表 4 试验 2 中刺参摄食添加不同包膜氨基酸饲料时的生长 (平均值±标准误差, $n=3$)

Tab. 4 Growth of the sea cucumber fed the diets containing different coated amino acids in trail 2 (mean ± SD, $n=3$)

组别	初体质量(g)	末体质量(g)	特殊生长率(%/d)
S0	1.5511±0.1597	2.3027±0.2720	0.1879±0.0158 ^d
S1	1.5529±0.1428	2.5242±0.2198	0.2953±0.0095 ^c
S2	1.5569±0.1339	2.9258±0.2072	0.3422±0.0251 ^b
S3	1.5520±0.1463	3.4656±0.1405	0.4784±0.0154 ^a

在试验 2 中, 摄食对照饲料的刺参(S0)的 R_{SG} 低而稳, 始终慢于摄食添加包膜氨基酸饲料的刺参(图 1, A)。但摄食添加不同包膜氨基酸饲料的幼参在不同饲养阶段生长速度不同。试验的头 20 天时, 摄食添加赖氨酸和蛋氨酸饲料刺参(S1 和 S2 组)的 R_{SG} 低于摄食对照饲料的刺参(图 1, B); 试验的第 40 天和 60 天时, 摄食添加赖氨酸和蛋氨酸饲料刺参(S1 和 S2 组)的 R_{SG} 显著高于摄食对照饲料的刺参; 而摄食添加三种包膜氨基酸饲料刺参(S3 组)的 R_{SG} 始终显著高于摄食对照饲料的刺参(图 1, B), 而且随饲养时间的延长 R_{SG} 值增加越显著, 表明添加这 3 种氨基酸极显著地优于不添加和只添加一、二种氨基酸。

方差分析也证明了上述观点: 第一阶段(0 ~ 20 d), 以 S3 组和 S0 组 R_{SG} 值较大, 显著高于 S2、S1 组; 而 S3 组又显著高于 S0 组; S1 组和 S2 组差异不显著。第二阶段(20 ~ 40 d), 各组 R_{SG} 均显著高于 S0 组, 而

S1 组又显著高于 S2、S3 组; S3 组和 S2 组差异不显著。第三阶段(40 ~ 60 d), 以 S3 组和 S2 组 R_{SG} 值较大, 显著高于 S1、S0 组; 而 S3 组又显著高于 S2 组; S1 组和 S0 组差异不显著。

2.2 幼参摄食添加不同包膜氨基酸饲料时的表观消化率和体成分

试验 1 中, 刺参对饲料蛋白质消化率随饲料中氨基酸添加水平的增加而有所升高。S5 组显著高于其他各组, S3 组、S4 组显著高于 S0 组、S1 组($P > 0.05$)(表 5)。摄食含不同包膜氨基酸饲料的刺参对饲料脂肪消化率差异不显著($P > 0.05$)。S5、S0 和 S1 组刺参对干物质消化率显著高于 S2、S4、S3 组。

试验 2 中, 摄食添加三种包膜氨基酸饲料的刺参(S3 组)对饲料蛋白质消化率显著高于其他组。各组刺参对饲料蛋白质消化率与各组试验刺参的特殊

生长率变化趋势基本相吻合(表 6)。在饲料中添加不同种类的包膜氨基酸诱导幼参肠道蛋白酶的活力增加,促进了对饲料中蛋白质的消化和吸收。摄食含不同包膜氨基酸饲料的刺参对饲料脂肪消化率及干物质消化率均差异不显著($P > 0.05$)。刺参摄食含不同氨基酸饲料时体成分也差异不显著($P > 0.05$)(表 7,表 8)。

2.3 刺参摄食含不同包膜氨基酸饲料时几种免疫酶的活性

试验 2 中,幼参体腔液中 ACP 活力随饲料中添加氨基酸种类的增加而增强(图 2)。摄食含三种包膜氨基酸饲料的 S3 组刺参体腔液中 SOD 和 ACP 活力最高,与 S0 组差异显著,与其他各组差异不显著(图 3)。

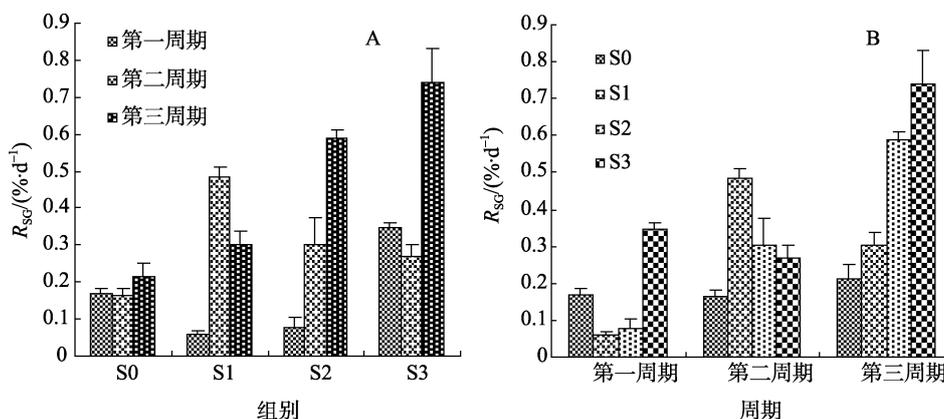


图 1 试验 2 中各试验组幼参在不同饲养阶段生长速度

Fig. 1 Growth of the sea cucumber fed the experimental diets during various periods in trail 2

表 5 试验 1 中刺参摄食含不同包膜氨基酸饲料的表观消化率(% , n=2)

Tab. 5 Apparent digestibility of the sea cucumber fed the experimental diets in trail 1 (% , n=2)

组别	蛋白质	脂肪	干物质
S0	64.4422±5.5265c	96.0941±3.9533a	41.3181±4.2207a
S1	65.4560±6.1211c	69.9474±2.5303b	27.1368±1.0027a
S2	61.7770±4.0490d	75.5538±3.2843a	24.5455±3.2584b
S3	67.4237±0.3054b	80.1534±4.3090a	18.9658±2.3840b
S4	67.0859±0.8488b	76.9180±2.7601a	23.7617±1.0958b
S5	70.3316±4.3979a	81.3948±2.8920a	42.6182±1.4958a

表 6 试验 2 中刺参摄食含不同包膜氨基酸饲料的表观消化率(% , n=4)

Tab. 6 Apparent digestibility of the sea cucumber fed the experimental diets in trail 2 (% , n=4)

组别	蛋白质	脂肪	干物质
S0	73.7503±12.3276 ^b	91.3201±3.5133	58.3692±15.2355
S1	81.1542±6.1723 ^b	83.7448±9.1466	70.8084±13.0113
S2	78.2306±1.5254 ^b	80.0702±9.8017	52.9903±9.0708
S3	87.2606±4.1825 ^a	85.3907±5.6563	55.7909±12.8995

表 7 试验 1 中刺参摄食含不同包膜氨基酸饲料的体成分(% , n=3)

Tab. 7 Approximate composition of the sea cucumber fed the experimental diets in trail 1 (% , n=3)

组别	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分	水分
S0	38.8833±0.7140	5.0660±0.9910	36.16±0.46	90.74±0.62
S1	39.9162±0.6755	5.9787±0.8703	35.97±0.28	90.48±0.30
S2	38.9365±0.5238	5.2613±0.8317	35.74±0.30	91.03±0.23
S3	37.3483±0.8009	4.8082±0.8862	35.93±0.47	90.51±0.57
S4	37.4210±0.5162	6.1957±0.9881	35.68±0.22	90.43±0.68
S5	37.1981±0.6193	6.4700±1.0073	35.88±0.63	90.77±0.41

表 8 试验 2 中刺参摄食含不同包膜氨基酸饲料的体成分(% , n=3)

Tab. 8 Approximate composition of the sea cucumber fed the experimental diets in trail 2 (% , n=3)

组别	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分	水分
S0	34.7997±0.8395	5.0384±0.9929	36.86±0.62	90.46±0.28
S1	36.3514±0.7880	6.1346±0.6191	36.80±0.71	91.32±0.63
S2	37.5007±0.8209	4.7840±1.0177	37.25±0.19	90.96±0.71
S3	38.2026±0.2937	5.4334±1.3696	36.93±0.54	91.01±0.24

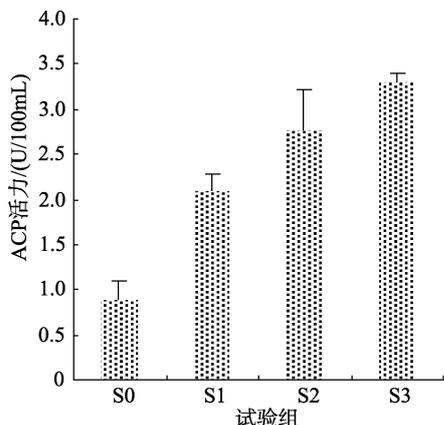


图 2 试验 2 中各试验组刺参 ACP 的活性

Fig. 2 Acid phosphatase activity in sea cucumber fed different diets in trail 2

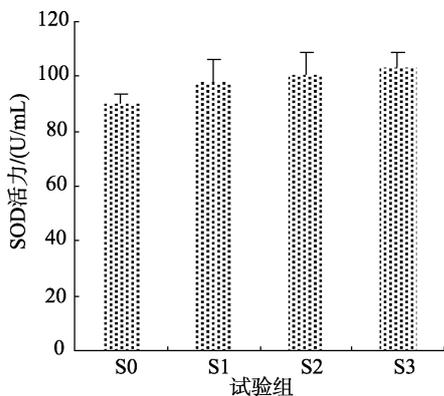


图 3 试验 2 中各试验组刺参 SOD 的活性

Fig. 3 Superoxide dismutase activity in the serum of sea cucumber fed different diets in trail 2

2.4 刺参摄食含不同包膜氨基酸饲料时几种消化酶的活性

试验 1 中, 刺参摄食含不同数量包膜限制性氨基酸饲料, 消化道中淀粉酶活力最高, 其中 S2、S3 组的淀粉酶活力最高, 为 S0 组的 1.88、1.93 倍。对蛋白酶的分析表明, S5 组与 S0 组差异不显著, 可能是存在一定试验误差所导致, 其他各组均显著高于 S0 组(图 4)。

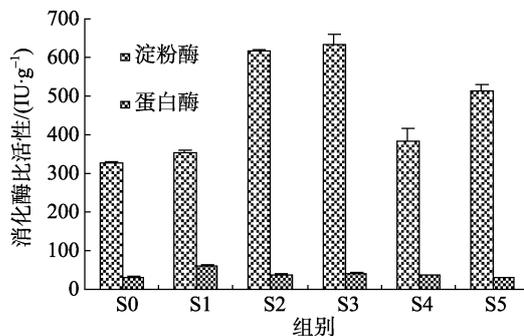


图 4 试验 1 中各试验组幼参几种消化酶的活性

Fig. 4 Activities of digestive enzymes in the sea cucumber fed the experimental diets in trail 1

3 讨论

目前, 在水产饲料中补充限制性氨基酸, 通常仅添加 1~3 种氨基酸, 添加量也相对较小。本试验添加了多种氨基酸, 添加量在 0~4.6% 之间, 以探讨在刺参饲料中添加多种氨基酸对刺参生长的影响。

本实验室研究了用马铃薯、小麦、玉米、山药等淀粉取代 20% 鼠尾藻的饲料对刺参幼参生长的影响, 结果表明山药淀粉组及马铃薯淀粉组显著高于鼠尾藻粉组, 说明山药淀粉及马铃薯淀粉能够有效替代鼠尾藻粉, 在满足刺参生长需要的同时显著提高了其生长。但是陆生植物淀粉添加到水产饲料中投喂时, 其不溶于冷水, 凝沉性大等, 导致养殖水体出现起泡、混浊, 影响摄食。本试验所用淀粉为预糊化淀粉, 与天然原淀粉的明显区别是能够在冷水中溶解, 溶胀后具有一定黏度, 与饲料中其他成分混合均匀后, 可以较好地依附在养殖网片上, 避免了养殖水体起泡、混浊, 影响摄食。

在试验 1 中, 仅 S5 组的 R_{SG} 显著高于 S0 组。但 S0 组却显著高于 S4、S3、S2、S1 组。这说明在饲料中添加多种氨基酸能够促进刺参的生长, 但其利用效率并不高。这可能与包膜方法有关。在加工的湿热反应环境下, 饲料所含的氨基化合物(蛋白质、氨基酸及醛、酮等)与羰基化合物(糖类)反应生成褐

色聚合物的现象称为褐变反应,也称为 Maillard 反应^[14]。动物缺乏水解这类缩合物的酶,使赖氨酸的利用率下降,影响了蛋白质的消化利用。最常见的是用褐变的大豆粕、棉籽粕、菜子粕和葵花籽粕等植物性高蛋白油粕作为饲料主要蛋白源,其危害更为明显^[15,16]。试验表明,赖氨酸最易在褐变反应中损失,色氨酸、组氨酸、苏氨酸等在加热过程中也会参与反应而失去功能,室温条件下氨基与羰基共存时都会引起 Maillard 反应,当加热后特别是 60℃ 以上时反应速度加剧^[17]。在本试验 1 中,包膜氨基酸壁材为淀粉,糊化温度为 95℃,加工过程为实验室自行制备,加工条件受到较大限制导致加工过程中出现 Maillard 反应,使添加的氨基酸在加工过程中损失,整体氨基酸含量降低,刺参有效摄入量也随之减少,这是导致仅 S5 组 R_{SG} 显著高于 S0 组的原因之一。另一方面, Maillard 反应时间太长,反应过度,容易产生过度的焦糖化反应,产生苦味,使产品整体风味较差^[18]。本次试验糊化反应时间为 30 min,糊化完成后需在鼓风干燥箱中干燥。反应时间过长,干燥温度过高,饲料的适口性降低,刺参不喜摄食,可能是仅 S5 组 R_{SG} 显著高于 S0 组的另一原因。

本试验 2 中添加用明胶包膜的氨基酸显著提高了刺参的生长性能,表明刺参能够有效利用氨基酸,这与王吉桥等^[8]先前的试验结果相一致。明胶可能是较好的包膜材料。它使氨基酸在水中的溶失率降低,在消化道中需先降解包膜材料后才可被吸收,吸收速度能与结合蛋白同步,在消化过程中释放游离氨基酸的速率几乎和蛋白质释放氨基酸的速率相同,因此提高了包膜氨基酸的营养价值和利用效率。

酸性磷酸酶是动物体内巨噬细胞内溶酶体的标志酶和最有代表性的水解酶之一。在动物体内如果某一种酶缺失或活性降低,就会影响细胞的代谢而发生疾病。研究表明,山药多糖可明显提高环磷酰胺引起的免疫功能低下的小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数^[19]。本试验中,摄食用山药粉替代鼠尾藻粉添加包膜氨基酸饲料的刺参幼参,体腔液中 ACP 活性大幅度提高,其中 S3 组 ACP 活性是对照组刺参的 3.7 倍。其原因可能是山药促进了刺参的摄食,使包膜氨基酸的摄入量增加,而氨基酸摄入量的增加又诱导幼参蛋白酶及淀粉酶的分泌量增加,活性增强,提高饲料蛋白质的利用率,加速了生长。

SOD 是生物体内一种重要的抗氧化酶。罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*) 受莫格球拟酵母感

染致病后,肝胰脏中的 SOD 活力显著降低,表明病虾的代谢功能和免疫功能明显衰退和紊乱^[20]。南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*) 摄食免疫多糖后,血淋巴中的 SOD 活性有一定的提高^[21]。山药中的黏液多糖可刺激和调节人体免疫系统,使被抑制的细胞免疫功能部分或全部恢复正常^[22]。山药糖蛋白能清除羟自由基,随着浓度的增加,清除作用增强^[23]。山药多糖能清除黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶体系产生的超氧自由基及 Fenton 反应体系产生的羟自由基,明显提高衰老型小鼠体内红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活力及血过氧化氢酶(CAT)活力^[24]。本试验中,S3 组幼参体腔液中 SOD 活力是对照组(S0 组)的 1.14 倍。经核算,各试验组饲料成本分别为 S0 组 7.67 元/kg、S1 组 6.55 元/kg、S2 组 6.68 元/kg、S3 组 6.79 元/kg。S3、S2 和 S1 组饲料成本分别比 S0 组降低了 11.47%、12.90% 和 14.60%。可见,用山药粉替代鼠尾藻并添加包膜氨基酸不仅提高了幼参体内免疫因子的活性,增强了机体的抗氧化能力,还能降低刺参饲料成本,减轻了对海洋环境修复起重要作用的植被的压力。

参考文献:

- [1] 杨娟,于凯先,郭相平. 刺参池塘养殖技术[J]. 齐鲁渔业, 2004, 11: 6-9.
- [2] 许妍,董双林,金秋. 几种大型海藻对赤潮异弯藻生长抑制效应的初步研究[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(3): 475-477.
- [3] Jeong J H, Jin H J, Sohn C H, *et al.* Algicidal activity of the seaweed *Corallina pilulifera* against red tide microalgae [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, 12: 37-43.
- [4] Violas S, Mokad Y, Arieli Y S. Effect of soybean proceeding methods on the growth of carp [J]. *Aquaculture*, 1983, 32: 27-38.
- [5] Wilson R P, Poe W E, Robinsin H. Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish [J]. *J Nutr*, 1980, 110: 627.
- [6] Chhom L. Effect of dietary pH on amino acid by shrimp [A]. 编者. *Advance of the Studies on Nutrition of Fish and Shellfish* [C]. Guangzhou: Zhong Shan University Publishing House, 1995. 287-300.
- [7] Aoe H, Matsuda I, Abe T, *et al.* Nutrition of protein in young carp: nutrition value of free amino acids [J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1970, 37: 407-413.
- [8] 王吉桥,蒋湘辉,姜玉声,等. 在饲料中添加包膜赖氨酸对仿刺参幼参生长、消化和体成分的影响[J]. 水

- 产科学, 2009, **28**(5): 241-245.
- [9] 胡友军, 周安国, 杨凤, 等. 饲料淀粉糊化的适宜加工工艺参数研究[J]. 饲料工业, 2002, **23**(12): 5-8.
- [10] 梁治齐. 微胶囊技术及其应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. 255-256, 348-350.
- [11] 曹卫东. 饲料糊化技术的意义、目的及应用[J]. 渔业现代化, 2002, 3: 29-30
- [12] 黄涛, 陈喜斌, 蔡江. 螺旋藻的生物活性成分分析及其在饲料中的应用[J]. 饲料工业, 2003, **24**(7): 21-23.
- [13] 桂远明. 水产动物机能学实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004. 113-212.
- [14] 李淑媛. 美拉德反应产物抑制冷冻甘薯片的褐变[J]. 食品与生物技术学报, 2006, **25**(3): 46-51.
- [15] 王之盛, 周安国, 陈德. 加工对配合饲料蛋白质营养价值的影响[J]. 四川农业大学学报, 2000, **18**(1): 57-61.
- [16] 马得. 饲料褐变的危害及对策[J]. 饲料与畜牧, 2005, 6: 16-17.
- [17] 兰云贤, 陈代文, 林鹏. 美拉德反应对养分消化代谢影响的研究现状[J]. 饲料工业, 2005, **26**(9): 12-16.
- [18] 蔡培钿, 白卫东, 钱敏. 美拉德反应在肉味香精中的研究进展[J]. 中国酿造, 2009, 5: 7-10.
- [19] 苗明三. 怀山药多糖对小鼠免疫功能的增强作用[J]. 中药药理与临床, 1997, **13**(3): 25-26.
- [20] 蔡完其. 罗氏沼虾莫格球拟酵母病的病理研究[J]. 水产学报, 1996, **20**(1): 13-17.
- [21] 刘恒, 李光友. 免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究[J]. 海洋与湖沼, 1998, **29** (2) : 113-118.
- [22] 王蕊. 山药的营养保健功能与贮藏加工技术[J]. 江苏食品与发酵, 2006, 3: 34-37.
- [23] 邵海, 龚钢明, 管世敏. 山药糖蛋白微波辅助提取及抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2009, 4: 131-133.
- [24] 詹彤, 陶靖, 王淑如. 水溶性山药多糖对小鼠的抗衰老作用[J]. 药学进展, 1999, **23**(6): 356-360.

Effects of dietary supplementation of coated amino acids as sea weed meal substitution on the growth, dietary digestibility and immune indices of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka

WANG Ji-qiao¹, ZHANG Kun¹, JIANG Yu-sheng¹, ZHANG Jian-cheng²

(1. Life Science and Technology Institute, Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China; 2. Dalian Pacific Seafood Co., Ltd, Dalian 116045, China)

Received: Dec., 16, 2009

Key words: *Apostichopus japonicus* Selenka; juvenile sea cucumber; amino acid; growth; immune

Abstract: The effects of supplementation of coated amino acids in the diets replacement of sea weed *Sargassum thunbergii* meal on the growth, dietary digestibility and immune indices of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka were studied. In trail 1, sea cucumber juveniles averaging 2.27g were stocked into the plastic tanks (45cm×31cm×30cm) at a density of 15/tank and fed with the diets replacement of yam meal for the sea weed meal (as a control) supplemented with the amino acids coated by starch according to the supplementation of essential amino acids in aquaculture recommended by FAO in triplicates for 40 days with water temperature varying from 13.0 to 18.0 °C. The results showed that there were gradual increase in specific growth rate (R_{SG}), and digestibilities of dietary protein and fat for sea cucumber juveniles fed the diets containing gradual increase of the coated amino acid; significant increase was seen in the diets containing maximum level of amino acid ($P < 0.05$). In trail 2, under similar conditions sea cucumber juveniles (1.55 g) were fed with coated lysine(S1), coated lysine plus arginine (S2) and coated lysine, arginine and threonine (S3) and S0 (control) in triplicates for 60 days with water temperature varying from of 10.0 to 19.0 °C. The results showed that the sea cucumber had increase in SGRas they fed the diet containing more and more types of coated amino acids, i.e. the peak SGR was observed in group S3, 154.6%, 82.1%, and 57.2% higher than that in the S0. There were significantly higher serum superoxide dismutase (SOD) and acid phosphatase, and dietary digestibility(87.26%) than those (73.75%)of the group S0($P < 0.01$), indicating that sea weed meal-free diets supplemented with coated amino acids improve the growth, digestibility and immune in the sea cucumber.

(本文编辑: 梁德海)