

网络出版时间:2019-03-07 13:33 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2019.09.001
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20190307.1332.002.html

羽毛粉部分替代鱼粉对异育银鲫生长及抗氧化能力的影响

陈秀梅¹,陶青燕²,彭思博¹,李若铭¹,安晨霞¹,
钱爱东¹,王桂芹¹,张东鸣¹

(1 吉林农业大学 动物科学技术学院,动物生产及产品质量安全教育部重点实验室,吉林省动物营养与饲料科学重点实验室,
吉林 长春 130118;2 诺伟司国际贸易(上海)有限公司,上海 200080)

【摘要】【目的】探讨羽毛粉部分替代鱼粉外加角蛋白酶 DP100(DP100)对异育银鲫生长及抗氧化能力的影响。【方法】配制 7 组饲料,Ⅰ组(对照组)以鱼粉为蛋白源(蛋白水平为 317.9 g/kg),Ⅱ~Ⅶ组以羽毛粉蛋白替代 10%的鱼粉蛋白,Ⅲ~Ⅶ组添加Ⅰ组相对短缺的 4 种必需氨基酸并分别添加 0,100,200,300 和 400 mg/kg 的 DP100。用 7 组饲料分别饲喂异育银鲫 83 d,试验结束后根据异育银鲫初始体质量、终末体质量(FBW)以及摄食量计算体质量增加率(BWG)、特定生长率(SGR)、饲料效率(FER)、蛋白质效率(PER),并解剖取肝胰脏和肠道,测定其消化酶(蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶)活力及抗氧化指标(超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力及丙二醛(MDA)含量)。【结果】Ⅱ和Ⅲ组异育银鲫 FBW、BWG、SGR、FER、PER 及肝胰脏和肠道蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、SOD、CAT、GSH-Px 活力均显著低于Ⅰ组($P<0.05$),MDA 含量显著高于Ⅰ组($P<0.05$);在添加 DP100 的各组中,Ⅳ组肠道 SOD 活力和肝胰脏 CAT 活力均与Ⅰ组无显著性差异,MDA 含量显著高于Ⅰ组($P<0.05$),其余指标均显著低于Ⅰ组($P<0.05$),除Ⅶ组肠道蛋白酶活力显著低于Ⅰ组($P<0.05$)外,Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组各项指标均与Ⅰ组无显著性差异。【结论】羽毛粉替代 10%鱼粉外加 200~400 mg/kg DP100 对异育银鲫生长性能、饲料利用和机体抗氧化能力无不良影响。

【关键词】异育银鲫;羽毛粉;角蛋白酶 DP100;抗氧化能力

【中图分类号】S963.32⁺5

【文献标志码】A

【文章编号】1671-9387(2019)09-0001-07

Effects of partial replacement of fish meal with feather meal on growth and antioxidant ability of *Carassius auratus gibelio*

CHEN Xiumei¹,TAO Qingyan²,PENG Sibao¹,LI Ruoming¹,AN Chenxia¹,
QIAN Aidong¹,WANG Guiqin¹,ZHANG Dongming¹

(1 College of Animal Science and Technology,Key Laboratory for Animal Production,Product Quality and Safety of Ministry of Education,Jilin Provincial Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science,Jilin Agricultural University, Changchun,Jilin 130118,China;2 Novus International Trade (Shanghai) Co.,Ltd,Shanghai 200080,China)

Abstract: 【Objective】This study explored the effects of partial replacement of fish meal with feather meal and keratinase DP100 (DP100) supplement in diets on growth and antioxidant ability of *Carassius auratus gibelio*. 【Method】Seven diets were formulated as followed: group I (control group) was designed with fish meal as protein sources (317.9 g/kg protein level), groups II—VII had partial replacement of 10% fish meal protein with feather meal protein, and groups III—VII contained four essential amino acids that

【收稿日期】2018-07-27

【基金项目】吉林省重点科技攻关项目(20170204032NY);国家现代农业(特色淡水鱼)产业技术体系建设专项(CARS-46)

【作者简介】陈秀梅(1989—),女,山东临沂人,博士,主要从事水生动物营养与免疫研究。E-mail:chenxiumei523@126.com

【通信作者】王桂芹(1968—),女,吉林东辽人,教授,博士生导师,主要从事水生动物营养与免疫研究。E-mail:wgqjlau@alyun.com

were relatively lacking in group I at DP100 levels of 0, 100, 200, 300, and 400 mg/kg, respectively. Based on the initial body weight, finally body weight (FBW) and feed intake, the body weight gain rate (BWG), specific growth rate (SGR), feed efficiency (FER) and protein efficiency (PER) were calculated after 83 days. Then hepatopancreas and intestine were dissected to measure activities of digestive enzymes (protease, lipase and amylase) and antioxidant indexes (activities of SOD, CAT, GSH-Px and content of MDA). **【Result】** FBW, BWG, SGR, FER, PER, and protease, lipase, amylase, SOD, CAT and GSH-Px activities of hepatopancreas and intestine in groups II and III of *Carassius auratus* gibelio were significantly lower than those in group I ($P < 0.05$), while MDA contents were significantly higher than that in I group ($P < 0.05$). Among the DP100 supplemented groups, intestine SOD activity and hepatopancreas CAT activity of group IV had no significant difference in comparison to group I, MDA contents were significantly higher than that in I group ($P < 0.05$), and the rest indexes were significantly lower than those in I group ($P < 0.05$). All the indexes in groups V, VI and VII had no significant difference with group I except intestine protease activity of group VII was significantly lower than that in group I ($P < 0.05$). **【Conclusion】** Growth, feed utilization and antioxidant ability of *Carassius auratus* gibelio were not affected by supplementing 200–400 mg/kg DP100 in diet when 10% fish meal protein was replaced by feather meal protein.

Key words: *Carassius auratus* gibelio; feather meal; keratinase DP100; antioxidant capacity

蛋白质作为鱼类配合饲料中重要的营养物质,不仅能够提供鱼体合成蛋白质所需的氨基酸,还能提供鱼体生长和代谢所需的能量,是影响鱼类生长的关键养分^[1]。鱼粉由于蛋白质含量高、氨基酸平衡、适口性好、抗营养因子少、利于消化吸收等优点,被认为是水产饲料不可缺少的优质蛋白源,在水产饲料配方中占有重要比例^[2]。在集约化养殖业迅猛发展的趋势下,水产品饲料市场旺盛的需求与生产鱼粉的渔业资源短缺的矛盾导致鱼粉价格飙升,这已成为全球水产饲料行业的巨大难题。因此为了行业的持续发展,用其他蛋白源替代鱼粉,解决鱼粉短缺问题已成为当前的研究热点^[3-5]。

近些年来,羽毛粉作为一种具有较高营养价值和可靠、经济的饲料蛋白资源广泛应用于水产养殖业^[6]。但由于羽毛粉蛋白结构中含有较多的二硫键分子,结构高度稳定,在一般条件下不易水解而不利于水产动物消化吸收,利用率很低^[7]。二硫键是影响羽毛粉消化的主要化学键,若能找到合适的加工条件(包括添加物(酶或化学试剂等)、加工时间、温度和压力等),破坏其紧密结构而提高羽毛粉的消化吸收率,就能实现在饲料中添加替代鱼粉的目的。研究表明,用羽毛粉蛋白部分替代其他蛋白是可行的,但替代水平因羽毛粉的品质、加工方法、鱼的种类和大小及养殖条件而存在差异^[6,8]。新型饲料用角蛋白酶 DP100 因具有二硫键还原酶和多肽水解酶活性,可极大地提高鱼类对饲料蛋白质的可利用范围,且大量试验证明了 DP100 分解活性要强于大

多数已知的角蛋白酶^[9]。本试验选用异育银鲫(*Carassius auratus* gibelio)作为试验对象,探讨羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫生长性能、饲料利用及机体抗氧化能力的影响,以提高羽毛粉在水产饲料中的添加量,缓解我国蛋白质饲料资源缺乏问题,旨在为开发新的蛋白源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验用饲料

本试验采用鱼粉为主要蛋白源,以鱼油、大豆油、糊精为能源,纤维素为填充物配制的半精制饲料为 I 组(对照组,蛋白水平为 317.9 g/kg),各试验组(II~VII 组)饲料用羽毛粉蛋白替代 10% 的鱼粉蛋白,以鱼体所需的 10 种必需氨基酸(EAA)模式(苏氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸+胱氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸、赖氨酸、组氨酸、色氨酸和精氨酸)为标准,向 III~VII 试验组饲料中添加 I 组饲料相对短缺的 EAA(苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和赖氨酸),以调整 EAA 的相对平衡。异育银鲫‘中科 3 号’对 10 种 EAA 需要量以实测的肌肉 EAA 组成为依据。在添加氨基酸的各试验组(III~VII 组)中分别添加不同剂量的 DP100 0, 100, 200, 300, 400 mg/kg。I~VII 组饲料的配方及营养水平见表 1。所需原料经粉碎机粉碎后过 0.246 mm(60 目)筛,按表 1 配方设计均匀搅拌后挤压成颗粒配合饲料(直径 1.50 mm),晾干后-20℃冰箱保存备用。

表 1 饲料组成及营养水平
Table 1 Feed omposition and nutrient levels

项目 Item	成分 Component	I	II	III	IV	V	VI	VII
配方 Feed composition	鱼粉/(g·kg ⁻¹) Fish meal	492.8	420.0	420.0	420.0	420.0	420.0	420.0
	羽毛粉/(g·kg ⁻¹) Feather meal	0.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
	苏氨酸/(g·kg ⁻¹) Thr	0.0	0.0	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	异亮氨酸/(g·kg ⁻¹) Ile	0.0	0.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
	亮氨酸/(g·kg ⁻¹) Leu	0.0	0.0	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
	赖氨酸/(g·kg ⁻¹) Lys	0.0	0.0	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3
	鱼油/(g·kg ⁻¹) Fish oil	26.0	27.0	27.0	27.0	27.0	27.0	27.0
	大豆油/(g·kg ⁻¹) Soybean oil	26.0	27.0	27.0	27.0	27.0	27.0	27.0
	氯化胆碱/(g·kg ⁻¹) Choline chloride	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	磷酸二氢钙/(g·kg ⁻¹) Ca(H ₂ PO ₄) ₂	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	预糊化淀粉/(g·kg ⁻¹) Pregelatinized starch	365.0	383.0	383.0	383.0	383.0	383.0	383.0
	预混料/(g·kg ⁻¹) Premix	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
营养水平 Nutrient level	纤维素/(g·kg ⁻¹) Microcrystalline	72.0	83.0	83.0	83.0	83.0	83.0	83.0
	DP100/(mg·kg ⁻¹)	0.0	0.0	0.0	100.0	200.0	300.0	400.0
	粗蛋白质/(g·kg ⁻¹) Crude protein	317.9	305.3	316.6	316.6	316.6	316.6	316.6
	粗脂肪/(g·kg ⁻¹) Crude fat	77.1	82.3	80.2	78.9	81.2	78.7	81.5
	粗灰分/(g·kg ⁻¹) Crude ash	87.3	85.2	82.1	80.9	80.5	82.2	83.7
	总能/(MJ·kg ⁻¹) Gross energy	16.22	16.81	16.86	16.69	16.68	16.74	16.86

1.2 试验方法

选取同一批次、规格一致(平均体质量约 7 g/尾)、体态健康的异育银鲫‘中科 3 号’幼鱼,在实验室养殖环境驯化 15 d 后,选取 630 尾鱼,分为 7 组,每组 3 个重复,每个重复 30 尾鱼,分别饲喂上述 7 种饲料,养殖周期为 2016-08-15 至 2016-11-05,共计 83 d。养殖期间每天饱食投喂 2 次(08:30, 16:30),每次投料前观察鱼的活动,投喂 1 h 后观察残饵情况,用虹吸法吸出残饵并及时调整投喂量,每天记录水温、投喂量。试验期间水温为(23±3)℃,pH 为 7.1±0.1,溶解氧大于 9.0 mg/L,氨氮小于 0.1 mg/L,亚硝酸盐小于 0.005 mg/L。

1.3 样品采集

取样前停食 24 h,称量每个桶内的异育银鲫总质量,清点并记录每桶鱼的尾数。然后,每桶随机取 10 尾鱼,采用 MS-222(Sigma, 10 mg/L)麻醉后,在吸干鱼体表的水分后称体质量,冰上操作解剖分离其肝胰脏和肠道样品,液氮速冻后转入-80℃超低温冰箱保存、待测。

1.4 指标测定

1.4.1 生长指标检测 根据异育银鲫初始体质量、终末体质量以及摄食量计算体质量增加率(BWG)、特定生长率(SGR)、饲料效率(FER)、蛋白质效率(PER)。计算公式如下:

$$BWG=(m_t-m_0)/m_0\times 100\%,$$
$$SGR=(\ln m_t-\ln m_0)/t\times 100\%,$$

$$FER=(m_t-m_0)/m_I\times 100\%,$$
$$PER=(m_t-m_0)/(m_I\times m_p)\times 100\%。$$

式中: m_0 、 m_t 分别表示初始体质量和终末体质量(g/尾), t 表示试验时间(d), m_I 表示摄入干饲料质量(g/尾), m_p 表示饲料粗蛋白质含量(%)。

1.4.2 消化酶、抗氧化酶活力及丙二醛(MDA)含量的测定 肝胰脏和肠道样品在 4℃条件下匀浆后,采用冷冻离心机 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液待测。蛋白酶活力测定采用福林酚法;淀粉酶、脂肪酶、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力及 MDA 含量采用试剂盒(南京建成生物工程研究所)测试。

1.5 生物统计

试验数据采用“平均值±标准差”表示,采用 SPSS(20.0)软件进行方差分析,若方差分析显著,进一步进行 Duncan’s 多重比较,分析试验组间差异显著性,显著水平设定 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫生长性能及饲料利用的影响

表 2 表明,本试验条件下,羽毛粉替代鱼粉外加 DP100 处理可显著影响异育银鲫生长性能和饲料利用效能。与 I 组相比,羽毛粉蛋白替代 10% 鱼粉蛋白的 II 组异育银鲫终末体质量、体质量增加率、特定生长率、饲料效率和蛋白质效率显著下降($P<$

0.05);在羽毛粉蛋白替代 10% 鱼粉蛋白基础上添加氨基酸的Ⅲ组异育银鲫上述 5 项指标仍显著低于 I 组($P<0.05$);DP100 添加处理各组上述 5 项指标有上升的趋势,其中Ⅳ组仍显著低于 I 组($P<0.05$),Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组与 I 组相比差异不显著,且这 3 组之间差异不显著。

表 2 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫生长性能及饲料利用的影响

Table 2 Effects of partial replacement of fish meal with feather meal with DP100 supplement on growth performance and feed utilization of *Carassius auratus* gibeilo

组别 Group	初始体质量/ (g·尾 ⁻¹) Initial body weight	终末体质量/ (g·尾 ⁻¹) Final body weight	体质量增加率/% Body weight gain rate	特定增长率/% Specific growth rate	饲料效率/% Feed efficiency ratio	蛋白质效率/% Protein efficiency ratio
I	7.21±0.88	30.19±2.82 c	319.85±24.67 c	1.73±0.07 c	76.58±6.87 c	2.41±0.22 c
II	7.65±0.75	24.37±1.94 ab	221.52±47.00 a	1.40±0.18 a	51.12±7.19 a	1.61±0.23 a
III	6.82±0.27	22.16±2.40 a	224.37±23.73 a	1.42±0.09 a	55.76±7.87 ab	1.83±0.26 ab
IV	6.92±0.38	23.47±1.78 a	240.15±32.50 ab	1.47±0.12 ab	55.19±6.18 ab	1.74±0.20 ab
V	7.76±0.53	28.35±2.73 bc	267.85±57.83 abc	1.56±0.19 abc	68.64±10.67 bc	2.17±0.34 bc
VI	7.72±0.31	28.16±1.93 bc	264.96±27.60 abc	1.56±0.09 abc	68.12±6.45 bc	2.15±0.20 bc
VII	7.04±0.27	27.94±2.29 bc	296.51±17.64 bc	1.66±0.05 bc	69.67±6.77 bc	2.20±0.21 bc

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note:Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same below.

2.2 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫
消化酶活力的影响

由表 3 可知,Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ组肝胰脏和肠道蛋白酶活力显著低于 I 组($P<0.05$);随着 DP100 添加量的增加,肝胰脏和肠道蛋白酶活力上升,Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组肝胰脏蛋白酶活力与 I 组相比无显著性差异,肠道蛋白酶活力Ⅴ和Ⅵ组与 I 组无显著差异,但Ⅶ组

仍显著低于 I 组($P<0.05$)。

由表 3 可知,Ⅱ和Ⅲ组肝胰脏和肠道脂肪酶、淀粉酶活力显著低于 I 组($P<0.05$);添加 DP100 的Ⅳ~Ⅶ组肝胰脏和肠道脂肪酶、淀粉酶活力升高,但Ⅳ组仍显著低于 I 组($P<0.05$),而Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组与 I 组相比差异不显著。

表 3 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫消化酶活力的影响

Table 3 Effects of partial replacement of fish meal with feather meal with DP100 supplement on activities of digestive enzymes of *Carassius auratus* gibeilo U/g

组别 Group	蛋白酶 Protease		脂肪酶 Lipase		淀粉酶 Amylase	
	肝胰脏	肠道	肝胰脏	肠道	肝胰脏	肠道
	Hepatopancreas	Intestine	Hepatopancreas	Intestine	Hepatopancreas	Intestine
I	803.08±15.72 c	407.04±13.12 c	28.69±1.53 c	14.01±1.01 c	1 004.00±13.45 b	502.11±9.85 b
II	698.67±10.02 a	299.68±11.93 a	21.34±2.08 a	8.16±0.76 a	944.32±9.02 a	445.32±7.51 a
III	710.33±18.58 a	308.35±18.77 a	22.01±1.73 a	8.35±0.59 a	949.65±12.06 a	449.01±10.15 a
IV	716.67±15.28 a	316.65±14.29 a	23.65±1.53 ab	10.32±1.50 b	952.31±10.97 a	453.08±9.85 a
V	782.11±12.12 bc	382.45±12.13 bc	26.56±1.54 c	12.73±1.42 c	984.57±9.39 b	485.31±8.15 b
VI	783.09±17.78 bc	383.51±19.68 bc	27.31±1.51 c	14.17±0.76 c	991.76±10.58 b	493.36±8.03 b
VII	775.67±16.81 bc	375.34±14.20 b	26.11±1.33 bc	12.55±0.87 c	985.66±11.51 b	487.21±9.17 b

2.3 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫
抗氧化指标的影响

由表 4 可知,与 I 组相比,Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ组肝胰脏和肠道 MDA 含量显著上升($P<0.05$);随着 DP100 添加量的增加,Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组肝胰脏和肠道 MDA 含量下降,与 I 组差异不显著。与 I 组相比,Ⅱ和Ⅲ组肝胰脏 SOD 活力显著下降($P<0.05$);添加 100 mg/kg DP100 的Ⅳ组肝胰脏 SOD 活力有上升的趋势,但仍显著低于 I 组($P<0.05$),肠道 SOD 活力与 I 组相比差异不显著;随着 DP100 添加水平的增加,Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组肝胰脏和肠道 SOD 活力进一步升

高,均与 I 组差异不显著。与 I 组相比,Ⅱ和Ⅲ组肝胰脏 CAT 活力显著下降($P<0.05$);添加 100 mg/kg DP100 的Ⅳ组肝胰脏和肠道 CAT 活力有上升的趋势,肝胰脏 CAT 活力与 I 组差异不显著,肠道 CAT 活力仍显著低于 I 组($P<0.05$);随着 DP100 添加水平的增加,Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组肝胰脏和肠道 CAT 活力进一步升高,均与 I 组差异不显著。与 I 组相比,Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ组肝胰脏和肠道 GSH-Px 活力显著下降($P<0.05$);随着 DP100 添加量的增加,Ⅴ、Ⅵ和Ⅶ组肝胰脏和肠道 GSH-Px 活力上升,与 I 组差异不显著,且 3 组之间差异亦不显著。

表 4 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫抗氧化指标的影响

Table 4 Effects of partial replacement of fish meal with feather meal with DP100 supplement in diets on antioxidant indexes of <i>Carassius auratus gibelio</i>				
组别 Group	MDA 含量/(nmol · mg ⁻¹) MDA content		SOD 活力/(U · mg ⁻¹) SOD activity	
	肝胰脏	肠道	肝胰脏	肠道
	Hepatopancreas	Intestine	Hepatopancreas	Intestine
I	10.40±1.12 a	62.56±4.11 a	302.67±14.01 a	114.68±12.06 a
II	13.79±0.52 b	72.59±4.45 b	244.00±14.11 b	73.12±15.10 b
III	13.03±0.83 b	71.87±3.82 b	247.33±11.51 b	76.37±13.32 b
IV	12.63±1.10 b	70.83±3.49 b	255.35±10.69 b	87.54±13.43 ab
V	10.82±0.59 a	66.90±3.50 ab	291.57±15.18 a	109.70±14.11 a
VI	10.48±0.66 a	64.96±4.45 ab	290.69±15.50 a	109.63±17.24 a
VII	10.42±0.63 a	65.99±5.09 ab	286.31±14.19 a	103.31±15.04 a

组别 Group	CAT 活力/(U · mg ⁻¹) CAT activity		GSH-Px 活力/(U · mg ⁻¹) GSH-Px activity	
	肝胰脏	肠道	肝胰脏	肠道
	Hepatopancreas	Intestine	Hepatopancreas	Intestine
I	77.31±8.74 a	9.25±0.87 a	198.65±12.76 a	144.00±6.56 a
II	54.07±6.25 b	5.14±0.56 c	153.70±15.15 c	100.61±9.29 c
III	55.57±5.86 b	5.65±0.62 bc	165.31±13.05 bc	107.17±6.66 c
IV	68.49±9.07 ab	6.76±1.01 b	174.02±10.15 bc	116.32±7.02 bc
V	75.00±9.85 a	8.27±1.09 a	186.71±12.66 ab	134.54±11.02 a
VI	74.64±9.07 a	8.45±0.55 a	189.11±13.23 ab	133.09±10.58 a
VII	71.66±9.61 a	8.21±0.58 a	182.58±8.27 ab	129.31±9.29 ab

3 讨 论

3.1 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫生长的影响

羽毛粉直接部分替代鱼粉是不可行的,这在很多研究中得到证明^[10],本试验也获得了相同的结论。本试验Ⅲ组添加部分氨基酸,调整 EAA 的相对平衡与对照组一致,但Ⅲ组的特定生长率与Ⅱ组没有显著性差异,且均显著低于对照组,表明添加氨基酸并未明显改善羽毛粉替代鱼粉的不利影响,这可能是由于鱼粉和羽毛粉中含有一些未知的因子,并不仅仅是调整氨基酸平衡就能解决问题。目前,随着人们对羽毛粉原材料(鸡羽、鸭羽及猪毛等)分类加工的实施及加工工艺的优化(高温高压水解法、酶解法和微生物发酵法),羽毛粉的消化率显著上升,从 67%上升到 87%^[11-13]。添加外源蛋白酶是目前羽毛粉应用于生产上的一种常用方法,蛋白酶可以打断多肽链的肽键,有效分解蛋白质,进而释放出氨基酸供机体利用^[14]。羽毛粉中含有大量的难降解角蛋白和纤维蛋白,而本试验添加的 DP100(来源于地衣芽孢杆菌 PWD-1),不仅可以特异性分解角蛋白,还对酪蛋白、胶原蛋白、弹性蛋白具有消化作用^[15]。李元凤等^[16]研究表明,仔猪日粮蛋白水平降低 1%,添加 500 g/t 角蛋白酶可显著提高终末体质量、平均日增重和饲料转化效率。Wang 等^[9]研究表明,日粮中添加 0.1%角蛋白酶可提高肉鸡的增

重率,改善饲料利用率,提高肉鸡生长性能,尤其在低蛋白日粮中角蛋白酶的促生长作用更为显著。本试验中,DP100 添加量为 200~400 mg/kg 时,试验鱼生长指标与对照组差异不显著。表明当 DP100 添加量为 200~400 mg/kg 时,在调整 EAA 相对平衡的条件下,在生产中用 10%羽毛粉蛋白替代鱼粉蛋白是可行的。

3.2 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫消化酶活力的影响

肝胰脏和肠道是分泌消化酶的主要器官,主要分泌蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶,参与糖、脂类、蛋白质等的代谢活动,促进机体对饲料的消化吸收^[17]。大量研究表明,消化酶活性高低在一定程度上反映出营养物质的消化程度,饲料营养物质成分及水平的改变极易引起消化酶活性的变化^[18]。本试验中,羽毛粉蛋白替代 10%鱼粉蛋白后,不添加氨基酸的Ⅱ组和添加部分氨基酸调整 EAA 到鱼粉组(对照组)水平的Ⅲ组异育银鲫肝胰脏和肠道蛋白酶活力显著低于对照组,这表明羽毛粉直接替代鱼粉,其中含有的角蛋白和纤维蛋白不能被鱼体消化吸收利用^[19],会降低鱼体对饲料中蛋白质的消化吸收。同样,羽毛粉的添加也抑制了肝胰脏和肠道中脂肪酶及淀粉酶活力,这可能是因为羽毛粉本身含有的不能降解的蛋白(抗原蛋白)引起肠道损伤,进而导致其他消化酶类活性的降低,这与 Wang 等^[20]对鲢状黄姑鱼(*Nibea miichthioides*)的研究结果类似。本

试验Ⅲ组仍不能改善羽毛粉替代鱼粉所产生不利影响的原因可能是,补充的氨基酸并不完善,不能完全弥补羽毛粉替代鱼粉带来的不足,进而不能满足异育银鲫的正常需要,但具体有那些氨基酸不足需进行相关生长代谢试验来确定。

在本试验中,DP100 的添加有效降解了羽毛粉中存在的大量角蛋白和纤维蛋白,提高了蛋白质消化率,增加可消化蛋白含量,进而提高异育银鲫肝脏和肠道蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活力,增加机体对饲料的消化和吸收。张益奇等^[21]研究表明,经过汽爆处理后羽毛角蛋白的胃蛋白酶消化率大幅度提高。Poppi 等^[22]研究发现,虹鳟能够有效利用水解羽毛粉中的营养物质。Li 等^[23]在斑点叉尾鲷上的研究表明,在使用 5% 水解羽毛粉的情况下,通过添加晶体赖氨酸能够提高鱼类对水解羽毛粉的利用率。以上研究结果说明,羽毛粉经过相关处理(水解、酶解、微生物处理等)后才能被鱼体消化吸收,而且羽毛粉替代后,还需添加相关的氨基酸补充,才能达到替代鱼粉的目的。水产动物中羽毛粉替代和晶体氨基酸添加及其效果的研究值得进一步关注。

3.3 羽毛粉部分替代鱼粉外加 DP100 对异育银鲫抗氧化能力的影响

目前,水产养殖集约化程度越来越高,鱼类固有的行为、营养、生理等生物学需求受到严峻挑战,极易受到环境因子、饲料、饲养管理等方面的影响发生应激。大量研究证明:在众多应激中,氧化应激是尤为重要的一种方式,任何一种较为强烈的应激均会伴随着氧化应激的发生^[24]。氧化应激危害巨大,长期或过强的氧化应激会造成鱼体免疫机能下降、激素水平及代谢紊乱,最终导致生产性能下降^[25-26]。抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-Px 等可通过阻碍和清除自由基来发挥抗氧化作用,进而减少 MDA 的水平^[27-29]。

本试验条件下,羽毛粉蛋白替代 10% 鱼粉蛋白后,不添加氨基酸的Ⅱ组和添加部分氨基酸调整 EAA 到鱼粉组(对照组)水平的Ⅲ组异育银鲫肝脏和肠道抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力显著下降,MDA 含量显著上升;添加 DP100 后抗氧化酶活力下降和 MDA 含量上升的趋势得到了改善,当 DP100 添加量为 200~400 mg/kg 时,异育银鲫肝脏和肠道抗氧化酶活力和 MDA 水平均与对照组无显著性差异。这表明,羽毛粉的直接添加对异育银鲫造成了一定程度的应激,这与刘峰等^[30]在探究不同工艺羽毛粉对黑鲷生长性能及血液生化指标

的影响研究中得出的结论类似。羽毛粉因为含有较多的二硫键不易被异育银鲫吸收,而 DP100 是一种强效蛋白酶,能够分解包括羽毛粉在内的大多数动植物来源的蛋白质^[31]。在羽毛粉替代鱼粉饲料中外加 DP100 后,能够有效提高蛋白质消化率,提高可消化蛋白含量,进而减少其他不可消化成分对异育银鲫造成的应激,这与在黑鲷^[30]上的研究结果类似。综上所述,DP100 可提高羽毛粉蛋白的利用率,降低鱼类对鱼粉的依赖。

[参考文献]

- [1] National Research Council (NRC). Nutrient requirements of fishes [M]. Washington D C: National Academic Press, 1993: 57-63.
- [2] Hardy R W, Dabrowski K, Hardy R. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal [J]. Aquaculture Research, 2010, 41(5): 770-776.
- [3] 黄燕华, 文远红, 曹俊明, 等. 蝇蛆粉替代鱼粉对黄颡鱼肌肉品质的影响 [J]. 中国水产科学, 2013, 20(2): 392-401.
Huang Y H, Wen Y H, Cao J M, et al. Effects of replacing fish meal with maggot meal on meat quality of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(2): 392-401.
- [4] 高荣兵, 庄平, 章龙珍, 等. 豆粕替代鱼粉对点篮子鱼生长性能的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(10): 1534-1540.
Gao R B, Zhuang P, Zhang L Z, et al. Effects of replacament of fish meal by soybean meal on growth characters of siganidae (*Siganus guttatus*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(10): 1534-1540.
- [5] Mozaffarian D, Lemaitre R N, Kuller L H, et al. Cardiac benefits of fish consumption may depend on the type of fish meal consumed [J]. Acc Current Journal Review, 2003, 12(3): 29-30.
- [6] Bureau D P, Harris A M, Bevan D J, et al. Feather meals and meat and bone meals from different regions as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets [J]. Aquaculture, 2000, 181(3/4): 281-291.
- [7] Moritz J S, Latshaw J D. Indicators of nutritional value of hydrolyzed feather meal [J]. Poultry Science, 2001, 80(1): 79-86.
- [8] Fowler L G. Feather meal as a dietary protein source during parr-smolt transformation in fall chinook salmon [J]. Aquaculture, 1990, 89(3): 301-314.
- [9] Wang J J, Garlich J D, Shih J C H. Beneficial effects of ver-sazyme, a keratinase feed additive, on body weight, feed conversion, and breast yield of broiler chickens [J]. Journal of Applied Poultry Research, 2006, 15(4): 544-550.
- [10] González-Rodríguez Á, Celada J D, Carral J M, et al. Evaluation of a practical diet for juvenile tench (*Tinca tinca* L.) and substitution possibilities of fish meal by feather meal [J]. Animal Feed Science and Technology, 2014, 187(1): 61-67.

- [11] Bureau D P, Harris A M, Cho C Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 1999, 180(3): 345-358.
- [12] Davies S J, Gouveia A, Laporte J, et al. Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot) [J]. Aquaculture Research, 2009, 40(15): 1759-1769.
- [13] Cheng Z J, Hardy R W, Huige N J. Apparent digestibility coefficients of nutrients in brewer's and rendered animal by-products for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)) [J]. Aquaculture Research, 2004, 35(1): 1-9.
- [14] Wang D, Zeng Z K, Piao X S, et al. Effects of keratinase supplementation of corn-soybean meal based diets on apparent ileal amino acid digestibility in growing pigs and serum amino acids, cytokines, immunoglobulin levels and loin muscle area in nursery pigs [J]. Archives of Animal Nutrition, 2011, 65(4): 290-302.
- [15] Gupta R, Ramnani P. Microbial keratinases and their prospective applications: an overview [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 70(1): 21-33.
- [16] 李元凤, 何健, 张波, 等. 角蛋白酶对仔猪生长性能、血清生化指标及抗氧化指标影响的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(18): 66-71.
- Li Y F, He J, Zhang B, et al. Effect of keratinase supplementation on growth performance, serum profiles and antioxidant capacity in weanling pigs [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2016, 52(18): 66-71.
- [17] Das K M, Tripathi S D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, (Val.) [J]. Aquaculture, 1991, 92(1): 21-32.
- [18] 刘泓宇, 毛义波, 谭北平, 等. 饲料糖水平对不同食性鱼类生长及葡萄糖耐受能力的影响 [J]. 水产学报, 2015, 39(12): 1852-1862.
- Liu H Y, Mao Y B, Tan B P, et al. Effects of different dietary carbohydrate levels on growth and glucose tolerance ability in fishes of different feeding habits [J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(12): 1852-1862.
- [19] 裴敏雅, 张洋, 靳伟刚, 等. 复合酶降解羽毛粉的效果研究 [J]. 福州大学学报(自然科学版), 2007, 35(1): 142-146.
- Pei M Y, Zhang Y, Jin W G, et al. Study on the effect of compound enzyme to hydrolyze feather meal [J]. Journal of Fuzhou University (Natural Science Edition), 2007, 35(1): 142-146.
- [20] Wang Y, Guo J L, Bureau D P, et al. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients in feeds for cuneate drum (*Nibea miichthioides*) [J]. Aquaculture, 2006, 252(2): 476-483.
- [21] 张益奇, 赵伟, 金妙仁, 等. 采用汽爆技术提高羽毛角蛋白生物效价的研究 [J]. 食品与机械, 2011, 27(2): 35-37.
- Zhang Y Q, Zhao W, Jin M R, et al. Study on bioavailability improving of feather keratin by steam explosion [J]. Food & Machinery, 2011, 27(2): 35-37.
- [22] Poppi D A, Quinton V M, Hua K, et al. Development of a test diet for assessing the bioavailability of arginine in feather meal fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2011, 314(1): 100-109.
- [23] Li M H, Robinson E H, Bosworth B G, et al. Evaluation of hydrolyzed poultry feathers as a dietary ingredient for pond-raised channel catfish [J]. North American Journal of Aquaculture, 2013, 75(1): 85-89.
- [24] Lushchak V I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals [J]. Aquatic Toxicology, 2011, 101(1): 13-30.
- [25] Ansaldo M, Najle R, Luquet C M. Oxidative stress generated by diesel seawater contamination in the digestive gland of the antarctic limpet *Nacella concinna* [J]. Marine Environmental Research, 2005, 59(4): 381-390.
- [26] Dong G F, Huang F, Zhu X M, et al. Nutriphysiological and cytological responses of juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to dietary oxidized fish oil [J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(6): 673-684.
- [27] Carochi M, Ferreira I C F R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 51(1): 15-25.
- [28] Irshad M, Chaudhuri P S. Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 2002, 40(11): 1233-1239.
- [29] Poljšak B, Jamnik P, Raspor P, et al. Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution [J]. Encyclopedia of Environmental Health, 2011: 300-306.
- [30] 刘峰, 申旭红, 李婷婷, 等. 不同工艺羽毛粉对黑鲟生长性能及血液生化指标的影响 [J]. 饲料工业, 2017(24): 20-25.
- Liu F, Shen X H, Li X X, et al. Effect of feather meal from different technology on growth performance and blood biochemical indices of black sea bream [J]. Feed Industry, 2017(24): 20-25.
- [31] 谭权, 孙得发. 蛋白酶在体外对豆粕球蛋白和 β -伴球蛋白降解效果的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(8): 71-74.
- Tan Q, Sun D F. Study on the hydrolysis ability of different protease on glycinin and β -conglycinin of SBM in vitro [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2017, 53(8): 71-74.