



2006年第27卷第14期
(总第275期)
(1980年创刊)

主办单位:
辽宁省农牧业机械研究所
编辑出版:饲料工业杂志社
地址:沈阳市金沙江街16号6门
邮编:110036
电话:总编室(024)86391923
编辑室(024)86391926(传真)
编辑二室(024)86391925(传真)
网络发行部(024)86391237
投稿邮箱:lg@feedindustry.com.cn
网站:www.feedindustry.com.cn

总编:糖震香竹
副总编辑:沈桂宇
责任编辑:高雁
总经理:林勇
副总经理:荣立南 王殿楠
业务内勤:刘占
地址:(110036)沈阳市长江街126号甲
B幢4单元16楼
电话:(024)86276137 86276627
传真:(024)86276127

邮箱:ggbl@feedindustry.com.cn
印刷:辽宁省印刷技术研究所
国内发行:辽宁省报刊发行局
国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京399信箱)
出版日期:每月5日、20日出版
国外代号:M4290
国内统一连续出版物号:CN21-1169/S
国际标准连续出版物号:ISSN1001-091X
邮发代号:8-163
发行范围:国内外发行
广告刊例:辽工附字01-42号
开户行:中信银行沈阳分行阜南支行
帐号:72214101826000548-49
每册定价:6.00元

如蒙赐稿本刊文章及图片,请注明
摘自《饲料工业》杂志,并寄样刊。

饲料

SILIAO GONGYE

(半月刊)

工业

企业标识展示



江北北方
(0412)3343018
(024)88808922



通源集团
(028)85188888



江苏正昌
(0519)7309988



江苏中农
(0514)7848811



布勒(常州)
(0519)7966666



友友
江苏良友
(0519)8309988



和成饲料 引香孜
上海和成
(021)5735544



杭州康德饲料
(0571)86483111



裕达机械
(010)62146105



挑战集团
(010)62146105



江苏华新
(0510)83797866



天福华明
(0510)83791888



北京晏晏
(010)88897342



武汉泛华
(027)83569722



广州海大
(020)84661699



广东智威
(020)61368888

目次

专家论坛

■ 1 母猪维生素营养研究与应用 姚军虎

饲料添加剂

■ 5 一种潜在的饲料添加剂——番茄红素 汪以真

■ 8 和美醇素在畜禽生产上的应用及其作用机理的研究 黄爱霞 邹晓庭 乔欣君

■ 11 功能性寡糖对动物免疫功能的影响 荆向东 易中华 吴兴利等

酶工程

■ 14 不同物候期青苔 POD 同工酶分析 孟凡玲 沙伟 冯昌军

■ 17 植酸酶对提高肉仔鸡日粮中钙、磷利用率的研究 岳端华 李柱

■ 20 植酸酶的研究与应用 王翔 陈代文

水产养殖

■ 23 EM 对鲫鱼生长和血液生理指标的影响 伍莉 陈鹏飞

■ 27 不同剂量甜菜碱对黄鲢存活、生长和免疫能力的影响 冯家斌 阮国良 杨代勤

■ 29 不同饲料对种鳖繁殖效果的影响及甲鱼卵的营养成分分析 吕景才 赵元凤 刘靖等

试验研究

■ 32 糖肽酶对肉仔鸡生产性能、免疫器官和血液生化指标的影响 祁宏伟 杨华明 于维等

■ 38

饲料中锰水平对育成期

蛋鸭血液生化指标和血清 Mn-SOD 活性的影响

..... 王淑梅 王安

营养研究

■ 42 乳果糖的作用及在动物饲养中的应用

..... 冉小波 左福元 曾雄

■ 46 苏氨酸的营养免疫作用及畜禽对其需要量的研究

..... 国春艳 许宗运 刁其玉

■ 49 氨基葡萄糖合锌在动物免疫和抗氧化功能上的研究进展

..... 曹国弟 赵恒寿

检测技术

■ 52 HPLC 法检测饲料预混料中尼卡巴嗪的含量

..... 陈丽 谭宝玲 冯建文

■ 54 京尼平试法测定醇活左

β-葡萄糖苷酶高产菌株筛选中的应用

..... 何平 曾莹 李彦等

资源开发

■ 57 三赖氨酸的免疫生物学和抗病机理研究

..... 陈够芬 詹勇

专题论述

■ 60 外源核苷酸对动物肠道发育和免疫功能的影响

..... 冶双德 王之盛 周国安

母 猪 维 生 素 营 养 研 究 与 应 用

姚军虎

母猪饲养过程中经常会遇到肢蹄病、少乳症、产弱死胎、乳房炎、子宫炎等问题,这些病症的发生和发展与饲养管理水平密切相关,适时足量补充维生素可在一定程度上减轻或避免上述问题的发生。维生素的作用特殊且复杂,它们多以辅酶的形式参与动物体内多种养分的消化、吸收和代谢过程,并调控激素的分泌和影响动物免疫力。维生素作用的方式及大小依赖于其它养分的供应,并与饲养管理水平密切相关。因此,母猪对添加维生素的反应多样且很不一致。相对于其它营养素,目前对母猪维生素的营养研究较少且不够系统和深入,研究主要包括VA、 β -胡萝卜素、VE、叶酸、生物素对母猪繁殖性能的影响,维生素作用的生化机制,维生素的效价,维生素与母猪免疫力间的关系,维生素的需要与供应等方面。本文将综合分析主要维生素的作用机理、饲料中补充维生素的效果、母猪维生素的需要量与供应。

1 维生素对母猪的作用机理及其效果

1.1 VA与 β -胡萝卜素的作用机理及其效果

VA是维持一切上皮组织健全所必需的物质,缺乏VA时,生殖系统等组织的上皮细胞发生鳞状角质变化,引起炎症,并降低动物的免疫力。VA参与母猪卵巢发育、卵泡成熟、黄体形成、输卵管上皮细胞功能的完善和胚胎发育等过程。视黄酸和三碘甲腺原氨酸能促进胎盘催乳激素的合成,以刺激乳腺发育。母猪缺乏VA时,胚胎畸形率、死胎率和仔猪产后死亡率增加。

一般认为母猪排卵数为15~20枚,卵子受精率为90%~95%,因此,母猪怀孕时约有14~18枚胚胎细胞,怀孕初期胚胎死亡率为30%~40%(Anderson, 1978; Pope, 1988, 1990),母猪子宫能支持12~14个胎儿的发育(Christenson等, 1987; Chen等, 1993),但一般母猪窝产仔数平均为10头,可见,仍存在提高母猪窝产仔数的潜力(Pusateri等, 1999)。Pope等(1990)认为,胚胎发育越同步,胚胎成活率越高。Whaley等(1997、

2000)分别对饲喂高能日粮(ME 45.9MJ/d)的母猪,在第二个发情周期的第7d或第15d颈静脉一次注射 1×10^6 IU VA,促进了排卵前卵母细胞发育,改善了早期胚胎发育的一致性,并提高了胚胎成活率。Coffey等(1993)在仔猪断奶时给经产母猪注射200mg β -胡萝卜素,增加了窝产仔数,给断奶时、发情期内或发情期第7d的母猪注射VA或 β -胡萝卜素,窝产仔数增加0.6头。Brief等(1985)研究表明,在改善VA缺乏时胚胎成活率方面颈静脉注射VA或 β -胡萝卜素比口服更有效。

β -胡萝卜素对母猪繁殖性能的影响表现出独立的作用,可能是因为 β -胡萝卜素具有氧化活性或作为VA的局部前体,改变了子宫中维生素的代谢(Antipatis, 2004)。

Tokach等(1994)给断奶时母猪注射 β -胡萝卜素、VA或VA与 β -胡萝卜素的混合物,未观察到对繁殖性能的影响。Pusateri等(1999)研究表明,从仔猪断奶到母猪产仔期间的任何时间给母猪颈静脉注射 1×10^6 IU VA,并不能提高窝产仔数。Pusateri等(1999)认为,VA对胚胎成活率的略微改善,可能在实际饲养环境下很难表现出产仔数的增加;或者VA对妊娠早期胚胎成活率的改善难以维持整个妊娠期;或母猪需要多次注射VA或注射缓释VA或 β -胡萝卜素,才可能维持较高的胚胎成活率。

1.2 VE的作用机理及其效果

VE的功能多样,主要表现在生物抗氧化、维持生物膜结构完整、增强机体免疫力、调节生物活性物质的合成与代谢、防止和减缓动物应激反应。生产中将VE称为抗不育维生素、抗应激维生素、抗氧化维生素、免疫增进型维生素、肉质改良型维生素等。VE是影响母猪繁殖性能的主要维生素之一。

母猪严重缺乏VE和Se,可引起胚胎重吸收(Adamstone等, 1949),降低窝产仔数(Mahan等, 1974),两者的抗氧化性能是其发挥作用的主要机理(Mahan等, 1997)。VE通过胎盘转移至胎儿的速度很慢,因此,新生仔猪体内储存的VE很少;而乳腺组织能有效转移VE,妊娠期增加母猪饲料中VE浓度或

姚军虎,西北农林科技大学,教授,博导,712100,陕西杨凌。

收稿日期:2006-06-18

在妊娠最后 14d 注射 VE, 可提高初乳中 VE 含量 (Chung 等, 1995)。老龄母猪血清中 VE 浓度下降, 表明老龄母猪易在妊娠期发生 VE 缺乏症 (Mahan 等, 1997)。尽管组织内储存的 VE 可被动员以供急用, 但饲料补充应是繁殖母猪、哺乳仔猪和断奶仔猪 VE 的主要来源 (Mahan, 1991)。

VE 作为抗氧化剂, 有助于维持细胞膜的完整性; 同时 VE 参与调节花生四烯酸代谢, 而花生四烯酸是细胞膜的必需脂肪酸和前列腺素的主要前体物质, 母猪发情前添加 VE 可提高排卵率, 降低不发情母猪数 (Antipatis, 2004)。

在母猪饲料中补充 VE, 可预防仔猪 VE 缺乏症, 改善窝产仔数, 增加乳中 VE 含量, 并改善母猪健康状况 (Malm 等, 1976; Mahan, 1994; Wuryastuti 等, 1993)。如果母猪饲料中 VE 含量不足, 窝产仔数和母猪泌乳量就会减少, 致使断奶后第一周仔猪死亡率增加 (Mahan, 1991)。对使用年限较长的母猪, 饲料中必需补充 16IU/kg 以上的 VE, 以维持理想的繁殖性能 (Mahan, 1991)。母猪临产前 2~3 周及哺乳期每千克日粮中添加 60~100IU VE, 可减少乳房炎、子宫炎和泌乳量不足等综合症的发生率, 并增加初乳中 VE 含量 (王耀辉, 1998)。

1.3 叶酸的作用机理及其效果

叶酸是一碳基团的供体和受体, 通过一碳基团的转移而参与嘌呤、嘧啶、胆碱的合成和某些氨基酸的代谢, 而这些物质均是细胞分裂所必需的, 因此, 在细胞分裂较为活跃的组织中叶酸含量较高 (Klab, 2001)。叶酸在 DNA 和 RNA 合成过程中起重要作用, 妊娠早期需要更多叶酸以维持胚胎细胞的快速分化 (Hoffbrand, 1977)。Matte 等 (1994) 研究表明, 母猪妊娠早期血清中叶酸浓度下降, 说明此阶段母猪代谢需要较多的叶酸。叶酸可能通过提高妊娠前 1/3 阶段胚胎成活率而改善母猪的繁殖性能 (Matte 等, 1999)。Rosenquist 等 (2001) 研究表明, 人类和试验动物妊娠早期叶酸不足, 直接通过限制胚胎细胞增殖或通过减少高半胱氨酸转化为蛋氨酸而影响胚胎发育。

在配种时或妊娠期注射叶酸 (Matte 等, 1984; Friendship 等, 1991), 或在玉米-豆粕型饲料中补充 1.0~1.65mg/kg 叶酸 (Lindemann 等, 1989; Thaler 等, 1989) 可增加母猪窝产仔数。Barkow 等 (2001) 和 Stahily 等 (2001) 研究表明, 饲料中补充 8~10mg/kg 叶

酸, 可基本稳定母猪在怀孕和哺乳期间血清中叶酸含量, 并提高窝产仔数 (19.46%), 主要原因是降低了胚胎死亡率, 同时还可通过初乳给仔猪补充更多的叶酸 (Klob, 2000)。非肠道途径给妊娠母猪补充叶酸, 可提高产仔数 10%~15%, 表明妊娠期是补充叶酸的关键时期 (Matte, 1993)。母猪妊娠期补充叶酸, 通过提高胚胎成活率而不是增加排卵数来增加窝产仔数 (Lindemann, 1993)。妊娠早期补充叶酸对增加经产母猪窝产仔数的效果比初产母猪明显, 但在玉米-豆粕型的母猪饲料中补充叶酸并不总是改善繁殖性能 (Harper 等, 2003)。

正常饲养条件下, 每千克饲料中添加 15mg 叶酸, 窝产仔数增加 0.2 头; 短期优饲条件下, 每千克饲料添加等量叶酸平均窝产仔数和产活仔数分别增加 1.3 头和 1.1 头, 其可能原因是优化饲养条件下, 母猪排卵数增加, 使叶酸的作用更能发挥 (李德发, 2003)。

Matte 等 (1993) 从生长期至妊娠前半期在母猪每千克饲料中补充高达 15mg 的叶酸, 可改善母猪性成熟前生长性能和体内叶酸营养状况, 但不影响母猪性成熟年龄和以后的繁殖性能。试验结果推测, 只有高繁殖率的母猪才可能对补充叶酸产生响应。Harper 等 (1994) 从母猪第一次配种前 21d 至哺乳期, 在玉米-豆粕型饲料中 (含叶酸 0.34mg/kg) 补充 0、1、2、4mg/kg 叶酸, 试验结果表明, 补充叶酸可明显减缓妊娠期母猪血清中叶酸浓度的下降, 但不影响繁殖性能。母猪哺乳期补充叶酸, 可明显提高血清、乳及仔猪血液中叶酸浓度, 但不影响母猪体重、仔猪日增重和断奶仔猪数 (Lindemann, 1993)。

叶酸提高窝产仔数的关键是降低了胚胎早期死亡率, 这在排卵数多的母猪上表现尤为明显; 同时应在妊娠早期补充叶酸, 在妊娠后期或哺乳期补充叶酸的效果不明显 (李德发, 2003)。

1.4 生物素的作用机理及其效果

猪缺乏生物素首先表现为脱毛和皮炎, 同时发生皮肤溃疡、口腔粘膜发炎、后肢痉挛、蹄部裂缝等病症。肢蹄病是造成母猪被淘汰的主要原因, 生物素与肢蹄角质化及蹄部完整性有关 (Svendensen, 2004), 补充生物素可减少舍饲青年母猪和繁殖母猪肢蹄病发病率; 在已患病猪群中补充生物素可减少患病猪的数量及其发病频率 (Bryant 等, 1985)。生物素影响母猪窝产仔数、受胎率及发情间隔等繁殖性能 (钟道强,

1999)。生物素可缩短发情间隔,提高第一胎以后胎次的窝产仔数,促进妊娠期子宫扩张和胎盘形成(Scherf等,1989),增加子宫角长度(Simmins,1985)和胎盘表面积,更好地为胎儿提供营养,促进了胎儿的充分发育(Antipatis,2004)。生物素参与能量代谢,并可刺激雌激素的分泌,降低不发情率(Antipatis,2004)。Hamilton等(1984)在妊娠和哺乳母猪日粮中添加0.55mg/kg生物素,断奶窝仔数增加,但母猪淘汰率、

肢蹄和腿的坚实度、发情间隔等不受影响。

2 母猪的维生素需要量与供应

2.1 维生素需要量

NRC(1998)和中国(2004)猪营养需要标准中列出了繁殖母猪对各种维生素的最低需要量(见表1),且两套标准十分接近。目前普遍认为NRC标准明显偏低,难以满足实际生产情况下母猪的维生素需要量。两套标准推荐的饲料中维生素含量母猪明显高于育

表1 母猪维生素需要量(每千克饲料总含量)

生理阶段	VA (IU)	VD ₃ (IU)	VE (IU)	VK (mg)	生物素 (mg)	胆碱 (g)	叶酸 (mg)	烟酸 (mg)	泛酸 (mg)	VB ₁ (mg)	VB ₂ (mg)	VB ₆ (mg)	VB ₁₂ (μg)	资料来源
妊娠母猪	4 000	200	44	0.5	0.2	1.25	1.3	10.0 ^①	12.0	1.0	3.75	1.0	15.0	NRC(1998) ^①
泌乳母猪	2 000	200	44	0.5	0.2	1.00	1.3	10.0 ^①	12.0	1.0	3.75	1.0	15.0	
母猪	3 000	450 ^②	15	-	0.1	0.6	0.6	15.0	10.0	1.5	3.5	1.5	12.0	Rostock(2003)
妊娠母猪	3 620	180	40	0.5	0.19	1.15	1.2	9.05	11.0	0.9	3.4	0.9	14.0	中国(2004)
泌乳母猪	2 050	205	45	0.5	0.21	1.0	1.35	10.25	12.0	1.0	3.85	1.0	15.0	
种猪 ^③	1000-15000	1500-2000	60-80	1.0-2.0	0.30-0.50	0.5-0.8	3.0-5.0	25.0-45.0	18.0-25.0	1.0-2.0	5.0-9.0	3.0-5.0	20.0-40.0	帝斯曼(2004)

注:①NRC(1988)种猪VE为22IU/kg,叶酸为0.3mg/kg;

②妊娠早期饲料VD₃为300IU/kg,妊娠后期及泌乳期为450IU/kg;

③帝斯曼(2004)优选维生素营养(OVN)的标准包括种母猪和种公猪,当所有饲养管理条件良好时采用下限推荐量,处于应激情况下,建议将添加量增至上限,为了获得最佳仔猪健康,建议在妊娠后期和哺乳期每千克日粮中添加的VE总量为250mg,为改善母猪繁殖率,从断奶至受孕期间每头母猪每天饲喂300mgβ-胡萝卜素,应激情况下推荐每千克饲料中添加200~500mgVC;

④指可利用烟酸,玉米、高粱、小麦和大麦中的烟酸不可利用,这些谷物的副产品中烟酸的利用率也很低,但发酵这些副产品或湿法处理可提高其中烟酸的利用率。

肥猪,尤其是VA、VE、生物素、叶酸、胆碱的含量更高。

NRC(1979)第八版猪的营养需要中首次列出了猪对叶酸的需要量,各类猪均为0.6mg/kg;NRC(1988)第九版降至0.3mg/kg,NRC(1998)将母猪的叶酸需要量增加至1.3mg/kg。Matte等(1999)研究认为,为了获得最佳繁殖性能,妊娠早期和其它阶段母猪饲料中应分别补充15mg/kg和10mg/kg人工合成叶酸。

集约化饲养环境下,母猪失去了从牧草中获取VE的机会(Mutetikki等,1993)。所以,从1973年NRC第七版到1998年第十版猪营养需要中将母猪的VE需要量由10IU/kg增至44IU/kg(Mahan等,2000)。

实际饲养过程中(特别是中国),母猪会遇到转群、热冷环境、注射疫苗、病菌侵入、饲料中存在的维生素拮抗物及可能的霉菌毒素等产生的各种应激,以及饲料不合理加工和饲料储存过程中对维生素的破坏。针对上述情况,帝斯曼公司(原罗氏公司)从1997年提出了优选维生素营养(OVN)这一概念,其推荐的母猪维生素供应量(表1)与有关育种公司建议量十分接近,但远高于NRC(1998)和中国(2004)标准,主要目的是确保饲料中维生素可以满足母猪获得最佳

的繁殖性能和最佳免疫力。

2.2 维生素供应

如果饲料中一种或几种维生素含量不足甚至缺乏,动物的代谢过程受阻,最终影响母猪生产及健康。目前仍没有确定在现代生产条件下动物达到最佳健康状况和最佳生产水平的经济有效的维生素添加水平(Svendensen,2004),但可以通过权衡饲料中添加维生素的成本与动物维生素缺乏症,或维生素不足导致的非最佳生产性能及健康状况所造成的风险,来确定实际生产中维生素的添加量。

营养标准中所规定的维生素需要量指饲料原料中的含量与添加的维生素之和,但实际生产中饲料维生素的总供应量一般都高于NRC(1998)的最低推荐量,尤其是种猪更高于NRC标准,其中以脂溶性维生素含量的更高。其主要原因包括:①NRC(1998)标准本身偏低,尚未充分考虑现代种猪的实际需要量、实际饲养管理环境和各种应激;②饲料原料中维生素含量变异很大,且利用率低,如猪几乎不能利用玉米、小麦和高粱中的尼克酸;③中国大多数猪场的饲料要经受不合理加工、较长时间贮存等,对添加的维生素破

坏严重,同时种猪遭受多种应激,特别是高产和疫病应激,在成本允许的范围内超量添加维生素是权宜之策;④饲料平衡度较差(比如能蛋比偏低、氨基酸不平衡),饲料中使用的抗生素抑制了肠道微生物合成维生素,富含维生素的原料(如发酵产物、乳制品、草粉、青草等)使用量减少,饲料中可能出现霉菌毒素及维生素拮抗物等,均迫使维生素添加量的增加。

维生素作用的发挥是以能量、蛋白质、氨基酸、矿物质等充分合理的供应为基础,同时维生素之间也存在一定的相互作用。饲养管理水平、观测指标、动物因素(胎次及繁殖潜力)、饲料组成、环境条件等不同,会明显影响母猪对维生素需要量;同时也会影响维生素添加的实际效果和效益。确定实际情况下母猪维生素的适宜需要量是一项长期而复杂的任务,补充时要突出主要维生素(如VA、β-胡萝卜素、VE、叶酸、生物素、VC、VB₂、VB₁₂、胆碱等),并抓住关键时期(如配种前期、配种早期、妊娠后期、泌乳早期等),同时应与基础日粮、环境条件等相配套。在通常情况下,由于维生素的无毒性 and 特殊作用以及维生素在整个饲料中所占成本很低,因此,生产中超量添加维生素不失权宜之计,并对母猪尤为必要和有显著的经济回报率。

(参考文献作者略)

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

· 作者简介 ·

姚军虎,男,1963年生,动物营养学博士,西北农林科技大学教授、博士生导师,中共党员,中国畜牧兽医学动物营养学会理事,宝鸡市政府农业顾问。曾主持国家自然科学基金项目、科技部农业科技成果转化资金项目、陕西省自然科学基金项目等多项课题。1995年获陕西省农业技术推广成果二等奖(第一位);2000年、2004年分别获国家杨凌示范区科学技术一等奖(均为第一位);已通过教育部和科技部科技成果鉴定各一项(主持人)。主要研究方向包括动物营养原理与方法、调控型饲喂技术与推广、分子营养与动物免疫。近年在家禽氨基酸、微量元素、维生素等营养平衡理论的研究与应用方面有独到的见解,在安全饲料、农业科技成果产业化、高效饲喂技术推广等工作中做出了一定的成绩。探索建立的一次注射同位素检测家禽内源氨基酸损失量的方法,经教育部鉴定认为“达到国际先进水平”,确定的家禽氨基酸高效利用技术达到“国内领先水平”。已在国内外各类期刊上发表专业论文130余篇,主编、参编教材、专著共7部,主讲《动物营养学》、《饲料学》等研究生、本科生课程,主持陕西省精品课程《动物营养学》。已培养研究生18名。

饲用调味剂 路在何方?

饲用调味 点到为止 专于功能 方成正果

康岳浓香

千锤百炼 真正给猪特效调理 多功能调味剂 香有绝招



首创 [5ppm湿香试验]

.....

特效调理 当然皮红毛亮

KANGYUE®



南宁市康岳饲料有限责任公司

饲用调味剂部

地址:南宁市二塘大树脚

电话:0771-5661755

传真:0771-5661819

网址:www.nnkyf.com

E-mail:nnkyf@163.com

一种潜在的饲料添加剂——番茄红素

汪敏 汪以真

番茄红素是一种重要的类胡萝卜素,广泛分布于自然界中。在成熟的红色植物果实中含量较高,如番茄、胡萝卜、西瓜等,番茄红素在番茄中含量最高,每100g中含量可达3~14mg。此外,番茄红素的含量还与植物果实的成熟度有着直接的正相关关系(Willis等,2003)。

番茄红素的相对分子质量为536.85,分子式为 $C_{40}H_{56}$,含有11个共轭双键和2个非共轭双键。易溶于氯仿和苯,可溶于乙醚、丙酮等,难溶于甲醇和乙醇,不溶于水。天然植物中的番茄红素几乎都以反式结构的形式存在,进入动物机体以后番茄红素以异构体的形式存在,但以顺式异构体居多。在动物机体中,番茄红素通过小肠吸收并与血浆中的乳糜微滴结合后进入淋巴管,此后随血液循环分布到全身的组织器官中,但主要积聚在低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白中,同时也较多的存在于肝脏、睾丸、肾上腺等组织器官中(Cohen等,2002)。

1 番茄红素的生物学功能

1.1 抗氧化作用

自由基是一类瞬时形成的含不成对电子的原子或功能基团,普遍存在于生物系统中。动物体内存在的自由基有两种不同的来源:一是环境中的高温、辐射、光解、化学物质等引起的外源性自由基;二是体内各种代谢反应产生的内源性自由基。其中内源性自由基是动物体自由基的主要来源。自由基在低浓度时可以刺激细胞的生长与分化,是细胞免受损伤和感染的保护剂。但是,自由基含有未配对电子,具有高度反应活性,在高浓度时易引发链式自由基反应,引起DNA、蛋白质和脂类,尤其是多不饱和脂肪酸等大分子物质的变性和交联,损伤DNA、生物膜、重要的结构蛋白和功能蛋白。在诸多的类胡萝卜素中番茄红素的抗氧化能力最强,主要原因是由于其分子中含有多个共轭双键以及番茄红素在化学反应过程中的再生效果。

单线态氧和过氧自由基是体内具有很强活性的自由基,番茄红素可以通过物理和化学方式协同作用,猝灭和捕捉体内过多的单线态氧和过氧化自由基。Pan等(2004)研究番茄红素对大鼠机体抗氧化作用的影响,

试验4周后检测大鼠血浆和肝脏中SOD(超氧化物歧化酶)活性、丙二醛(MDA)含量、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力和总抗氧化能力(T-AOC),与对照组相比,试验组大鼠的SOD、GSH-Px和T-AOC活性有显著升高,MDA含量有显著降低趋势,说明番茄红素有显著的抗氧化作用。李辉等(2005)在研究番茄红素对臭氧所致大鼠氧化损伤的保护作用的试验也得出了同样的结果。Matos等(2000)、Velmurugan等(2002)、Balaiya等(2005)、Kazim等(2006)在研究番茄红素对脂质过氧化影响的不同试验中均发现,番茄红素可以显著的降低脂质过氧化程度,保护哺乳动物的生物膜和DNA免受自由基的损伤,可以有效的预防并减少疾病的发生。此外,Rao等(2000)、Takeoka等(2001)研究发现,血清和组织中番茄红素的水平与很多慢性疾病的发生呈显著负相关关系,在动物饲料中添加番茄红素可以有效的预防多种疾病的发生,保护动物机体免受侵害,降低畜牧业的损失。

1.2 预防和抑制癌症的作用

①番茄红素具有强抗氧化作用,猝灭自由基,从源头上保护动物机体免受侵害。②番茄红素能够阻断组织细胞在外界诱变剂的作用下发生基因突变(Seval等,2006)。③降低细胞膜的氧化损伤机制。④诱导间隙连接通讯机制,细胞间隙通讯(GJIC)是细胞间的连接和交流信息的重要方式与结构,大多数肿瘤细胞的GJIC功能微弱或缺失,细胞发生恶性转化后其GJIC功能明显降低或受到抑制。番茄红素能通过GJIC使肿瘤细胞间受到抑制或破坏的通讯功能得到恢复(Karas等,1999)。⑤抑制肿瘤、癌症细胞的增殖(Adetayo等,2005)。早在20世纪50年代,美国医学专家首次报道了番茄红素具有抗癌效应,随后出现了大量相关报道。研究发现,血液中番茄红素的有效浓度与乳腺癌、前列腺癌、食道癌、胃肠癌、胰腺癌等多种癌症的发生呈现负相关关系(Bramley,2000;Livny,2002;Wertz,2004;Nayan,2005)。目前尚没有发现因摄入番茄红素而使癌症发生增加报道。

最近,肿瘤研究部门对家禽、家畜进行了一次肿瘤普查。通过大量的解剖实验发现,畜禽的癌症发生率正在呈现上升的趋势,以消化系统癌症所占比重最大。导致畜禽癌症发生的部分原因是某些抗生素类药物的滥用以及添加剂的使用不当等造成的(Karahan,2005)。番茄红素具有有效预防癌症的作用,在医

汪敏,浙江大学饲料科学研究所,在读硕士,310029,浙江省杭州市秋涛北路164号。

汪以真,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-05-08

药领域有着重要的研究和应用价值。随着番茄红素相关研究的进一步深入,番茄红素将被用于提高动物生产性能,预防和抑制动物癌症的发生,降低畜牧业的经济损失。

1.3 提高机体免疫功能

番茄红素具有提高动物机体免疫能力的功能,其主要机理是:①番茄红素可以发挥其抗氧化作用,保护吞噬细胞免受自身的氧化损伤,促进 T、B 淋巴细胞增殖,增强巨噬细胞、T 细胞的杀伤能力。此外,可以避免增殖过程中 DNA 复制时可能会发生的氧化损伤,以及促进某些白细胞介素的产生 (Porrini 等, 2000)。②间接的促进淋巴细胞之间的相互作用,分泌相关的细胞因子活化细胞,提高动物机体的免疫能力 (Corridan, 2001; 袁墩, 2003)。

Garcia 等 (2003) 做的动物试验表明,添加番茄红素可以促进 T、B 淋巴细胞增殖, T 细胞亚群 (CD4⁺) 增加, CD4⁺ 与 CD8⁺ 比率提高。于文利等 (2005) 研究发现,低剂量的番茄红素已具有显著的抗炎症作用。

1.4 其它相关作用

番茄红素作为一种天然功能性色素,用于水产养殖可使水产动物体色鲜艳,品质提高。Ahmet 等 (2006) 研究发现,番茄红素在改善动物精子的相关性状,如精液浓度、精子活动力和形状等方面有积极的作用。M. Østerlie 等 (2005) 研究发现,在切碎的肉中添加番茄红素可以增强肉类在储藏过程中的稳定性,可以改善肉的风味和保持肉的颜色。

2 番茄红素的制取方法

随着番茄红素生物学功能研究的深入和相关应用领域的拓展,番茄红素的制取也成为了当前研究的热点之一。番茄红素可以通过化学合成、植物提取和微生物发酵 3 种方法来制取。

2.1 化学合成法

依据基本的化学反应,番茄红素的合成可以分为 Witting 合成法和醛-酮合成法。目前采用合成工艺生产番茄红素的企业主要是瑞士 Roche 公司和德国 Bash 公司,番茄红素的合成工艺与 VA 合成工艺类似,一般是以 β -紫罗酮作为初始原料 (王业勤, 1997)。

2.2 植物提取法

2.2.1 有机溶剂提取法

番茄红素可溶于乙醚、乙烷、丙酮,易溶于氯仿、苯等有机溶剂中。在诸多的有机溶剂中,使用氯仿提取番茄红素的效果最好 (范永仙, 2002)。有机溶剂提取法的主要技术步骤包括:原料 (新鲜番茄或番茄皮) → 干燥 → 有机溶剂浸提 → 收集提取液 → 真空浓缩 → 番茄红素粗制品。

2.2.2 酶反应法

酶反应法是利用番茄皮自身的酶反应来提取番茄红素的。在微碱条件下,番茄皮中所含有的酶分解果胶和纤维素使番茄红素的蛋白质复合物从细胞中溶出,从而获得所需的番茄红素 (蔡俊, 2005)。酶反应法的主要步骤包括:原料番茄制浆 → 酶反应 (调节 pH 值为 7.5~9.0、加热至 45~60℃、搅拌 5h 左右) → 过滤除渣、收集滤液 → 滤液静置 (调节 pH 值为 4.0~4.5) → 虹吸除去浑浊液,收集沉淀 → 调节 pH 值后真空干燥浓缩、保存。

2.2.3 超临界 CO₂ 萃取法

超临界流体萃取过程是利用超临界流体 CO₂ 的溶解能力与其密度的关系,即利用压力和温度的变化对超临界 CO₂ 流体溶解能力的敏感性,在超临界状态下,使流体与分离的物质接触,使其有选择地萃取其中某一活性成分,然后利用减压、升温的方法,使 CO₂ 超临界流体变成普通气体,被萃取的活性物质则完全析出,从而达到分离的目的 (左爱仁, 2003)。主要步骤为:原料处理 (微粉碎/酶处理) → CO₂ 萃取 (优化压力,控制温度、CO₂ 流速、萃取时间) → 番茄红素。

2.3 微生物发酵法

能够产生番茄红素的微生物包括:革兰氏阴性菌、三孢布拉霉菌、基因工程菌 (王永生, 2002)。依据三孢布拉霉菌的代谢过程特点,若在发酵过程中,添加适当的阻断剂阻断番茄红素到 β -胡萝卜素的环化途径,就可以用来制备番茄红素 (王永生, 2003)。以三孢布拉霉菌发酵制备番茄红素为例,主要步骤包括:斜面培养 → 种子培养 → 发酵培养 → 抽滤 → 真空干燥 → 石油醚萃取 → 皂化 → 真空浓缩。Minra (1998) 利用产蛋白假丝酵母的重组体培养生产番茄红素,特别是随着近年来转基因技术的迅猛发展,利用基因工程菌生产番茄红素成为研究的热点之一 (陈玉辉等, 2004; Visser 等, 2003)。

3 番茄红素在饲料工业中的应用讨论

目前,番茄红素的应用研究主要集中在医药、食品等领域,国内外尚未看到番茄红素在饲料工业中直接应用的研究。番茄红素可以作为一种潜在的饲料添加剂在饲料工业中应用。

3.1 生物学功能优势

番茄红素所具有的强大抗氧化性,提高机体免疫功能可以从源头上保护动物机体,有效预防和抑制疾病的发生;预防和抑制动物常见癌症的发生,可以降低畜牧业的经济损失。番茄红素作为一种天然的无毒功能性色素,可以广泛的应用于水产饲料中。此外,番茄红素在改善精子的相关性状,改善肉类色泽等方面也

有很大的应用空间。番茄红素的诸多生物学功能决定了其在饲料工业中具有广阔的应用前景。

3.2 时间优势

在动物应用水平的研究我们与国外处于同一起点。番茄红素的开发研究已经受到了高度的重视,已被纳入了国家“863”计划,成为新的“红色产业”。

3.3 资源优势

我国是农业大国,每年仅番茄的产量就多达 1 000 多万吨。如果充分利用资源优势积极开发相关的饲用添加剂产品,其国内外市场潜力将不可估量。

随着番茄红素相关生物学功能及其机理研究的进一步深入,制取方法工艺的优化,番茄红素作为一种绿色环保型的饲料添加剂,可在广阔的饲料工业领域发挥巨大的作用。

参考文献

- 1 蔡俊. 酶在番茄红素提取过程中的应用研究[J]. 湖北工业大学学报, 2005, 20(1): 8~10
- 2 陈玉辉, 许向阳, 李景富. 转基因技术在番茄育种上的应用[J]. 分子植物育种, 2004, 2(1): 133~138
- 3 范永仙, 汪钊. 番茄红素的生产工艺研究进展[J]. 食品科技, 2002, (3): 53~55
- 4 李辉, 张清慧, 潘洪志, 等. 番茄红素抗氧化损伤的实验研究[J]. 实用预防医学, 2005, 12(4): 768~769
- 5 袁曦, 魏大鹏, 廖林川, 等. 番茄红素对非特异性免疫功能的体外实验研究[J]. 营养卫生, 2003, 24(4): 133~135
- 6 于文利, 舒伯, 赵亚平, 等. 番茄红素生理功能的动物实验评价[J]. 无锡轻工大学学报: 食品与生物技术, 2005, 24(1): 99~101
- 7 左爱仁, 范青生, 周洁, 等. 天然番茄红素超临界 CO₂ 萃取和定量研究[J]. 中国食品添加剂, 2003, (5): 36~39
- 8 王永生, 袁其朋. 番茄红素的生产工艺研究进展 [J]. 微生物学通报, 2002, 29(2): 60~64
- 9 王永生, 王见冬, 袁其朋, 等. 菌体形态对发酵法生产番茄红素的影响[J]. 微生物学通报, 2003, 30(6): 47~51
- 10 王业勤. 天然类胡萝卜素的进展、生产、应用[M]. 中国医药科学出版社, 1997
- 11 Adetayo O, Omoni, Rotimi E. Aluko. The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2005, 16(8): 344~350
- 12 Ahmet Ateşşahin, izzet Karahan, Gaffari Türk, et al. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats[J]. Reproductive Toxicology, 2006, 21(1): 42~47
- 13 A.V. Rao, S. Agarwal. Role of anti-oxidant lycopene in cancer and heart disease [J]. Journal of the American College of Nutrition, 2000, 19: 305~323
- 14 Balaiya Velmurugan, Kurapathy V.P. Chandra Mohan, et al. Combination of S-allylcysteine and lycopene protects against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced genotoxicity and oxidative stress in mice[J]. Nutrition Research, 2005, 25(6): 577~586
- 15 Bramley P M. Is lycopene beneficial to human health?[J]. Phytochemistry, 2000, 54(3): 233~236
- 16 Cohen L A. A review of animal model studies of tomato carotenoids, lycopene, and cancer chemoprevention[J]. Experimental Biology and Medicine, 2002, 227(10): 864~868
- 17 Corridan B M, O'Donoghue M, Hughes D A, et al. Low-dose supplementation with lycopene or beta-carotene does not enhance cell-mediated immunity in healthy free-living elderly humans[J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2001, 55(8): 627~635
- 18 Garcia A L, Ruhl R, Herz U, et al. Retinoid- and carotenoid-enriched diets influence the ontogenesis of immune system in mice[J]. Immunology, 2003, 110(2): 180~187
- 19 G.R. Takeoka, L. Dao, S. Flessa, et al. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(5): 3 713~3 717
- 20 Hans Visser, Albert J. J. van Ooyen, Jan C. Verdoes. Metabolic engineering of the astaxanthin-biosynthetic pathway of Xanthophyllomyces dendrorhous[J]. FEMS Yeast Research, 2003, 4(3): 221~231
- 21 i. Karahan, A. Ateşşahin, S. Yılmaz, et al. Protective effect of lycopene on gentamicin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rats[J]. Toxicology, 2005, 215(3): 198~204
- 22 Karas M, Amir H, Fishman D, et al. Lycopene interferes with cell cycle progression and insulin-like growth factor I signal in mammary cancer cells[J]. Nutrition Cancer, 1999, 31(1): 105~112
- 23 Kazim Sahin, Muhittin Onderci, Nurhan Sahin, et al. Effects of lycopene supplementation on antioxidant status, oxidative stress, performance and carcass characteristics in heat-stressed Japanese quail[J]. Journal of Thermal Biology, 2006, 31(4): 307~312
- 24 K.Wertz, U.Siler, R.Goralczyk. Lycopene: modes of action to promote prostate health [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2004, 430(1): 127~134
- 25 Matos H R, Di Mascio P, Medeiros M H. Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2000, 383(1): 56~59
- 26 M. Østerlie, J. Lerfall. Lycopene from tomato products added minced meat: Effect on storage quality and colour [J]. Food Research International, 2005, 38(8/9): 925~929
- 27 Nayan Kumar Mohanty, Sunita Saxena, Uday Pratap Singh, et al. Lycopene as a chemopreventive agent in the treatment of high-grade prostate intraepithelial neoplasia[J]. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations, 2005, 23(6): 383~385
- 28 O. Livny, I. Kaplan, R. Reifen, et al. Lycopene inhibits proliferation and enhances gap-junctional communication of KB-1 human oral tumor cells[J]. Journal of Nutrition, 2002, 132(3): 754~759
- 29 Pan H, Jiang X, Wang L, et al. Experimental studies of lycopene in inhibiting tumor growth in S1180-bearing mice [J]. Wei Sheng Yan Jiu, 2004, 33(4): 456~457
- 30 Porrini M, Riso P. Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption[J]. Journal of Nutrition, 2000, 130(2): 189~192
- 31 Seval Yılmaz, Ahmet Ateşşahin, Engin Sahna, et al. Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity[J]. Toxicology, 2006, 218(2/3): 164~171
- 32 Velmurugan B, Bhuvaneshwari V, Nagini S. Antiperoxidative effects of lycopene during N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced gastric carcinogenesis[J]. FITOTERAPIA, 2002, 73(7/8): 604~611
- 33 Willis M S, Wians F H. The role of nutrition in preventing prostate cancer: a review of the proposed mechanism of action of various dietary substances[J]. CLINICA CHIMICA ACTA, 2003, 330(1/2): 57~83
- 34 Minra Y. Production of lycopene by the food yeast, candida [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1998, 58(2/3): 306~308

(编辑: 高雁, snowyan78@tom.com)

和美酵素在畜禽生产上的应用及其作用机理的研究

黄爱霞 邹晓庭 乔欣君

和美酵素(hemicellulase)是美国 ChemGen 公司研制的一种新型绿色饲料添加剂,是从土壤中分离出来的芽孢杆菌(*Bacillus lentus*)经多次优化突变得到的,该菌产生大量的乙型甘露聚糖酶(β -mannase)以及少量其它酶,包括 α -淀粉酶、木聚糖酶、纤维素酶以及 α -半乳糖酶。和美酵素可以分解饲料中的乙型甘露聚糖抗营养因子,提高能量和蛋白的利用率;有明显的促进畜禽生长、提高饲料利用率、提高经济效益的效果;参与免疫调节,提高免疫力,有效阻止病原菌和寄生虫对肠道的侵袭;具有替代抗生素的作用,可降低机体组织器官中抗生素的残留。和美酵素属于环保型饲料添加剂,可节省饲料资源,符合饲料工业可持续发展的战略原则,而且用后无残留,不影响畜禽产品质量,不影响人类健康。

1 和美酵素在畜禽生产上的作用

1.1 改善畜禽的生长性能

Pettigrew 等(2000)报道,在饲料中添加和美酵素可以显著提高断奶仔猪的日增重。Petty LA 等(2002)报道,日粮中添加和美酵素可以提高仔猪和生长育肥猪的瘦肉率,提高生产性能。Jackson ME (2004)报道,日粮中添加 0.8g/kg 和美酵素可以提高肉鸡增重和饲料转化率。王春林等(2003)报道,以玉米、豆粕为主的低能日粮中添加 0.5g/kg 和美酵素可达到与高能日粮添加金霉素相当的增重效果和饲料报酬。高树东等(2003)报道,日粮中添加和美酵素使肉鸭的瘦肉率改善了 49.36%。

1.2 改善家禽产蛋性能

Jackson ME 等(2004)报道,日粮中添加和美酵素可以增加商品蛋鸡早期的平均蛋重,提高产蛋量,明显延迟产蛋高峰的急剧下降。伍晓雄等(2000)报道,添加和美酵素能显著提高蛋鸡的产蛋率,添加量在 0.03% 就可以达显著水平。宁中华等(2003)报道,在矮小型蛋鸡生产中使用和美酵素代替油脂,可以在非适宜季节提高鸡群的生产性能,饲料中的添加量控制在 0.04%~0.05%,不仅比添加油脂成本低,而且产蛋率有

明显提高趋势。张朝增等(1997)报道,蛋鸡饲料中添加和美酵素后可使蛋鸡料蛋比下降 6.27%;产蛋率上升 5.27%;破蛋率下降 13.5%。

1.3 提高家禽的体重均匀度

王春林等(2003)报道,饲喂添加和美酵素低能量饲料组家禽的体重均匀度比饲喂添加和美酵素高能量饲料组提高了 12.65%。李国胜等(1997)的试验结果表明,和美酵素可以减少家禽体重变异系数,提高其体重均匀度。试验组鸡(基础日粮中添加 0.05% 和美酵素)体重变异系数为 10%;对照组鸡(基础日粮)体重的变异系数为 14%。

1.4 改善畜禽健康状况

Mathis(2000)研究表明, β -甘露聚糖可以有效阻止病原菌和寄生虫对动物肠道的侵袭,提高动物的抗病能力。萨立富等(2005)、黄小文等(2003)报道,日粮中添加和美酵素可以通过改变仔猪肠道微生物菌群数量,抑制有害菌生长来改善仔猪的健康状况,降低仔猪腹泻率,改善仔猪的肤色。

1.5 具有替代抗生素、降低畜产品中抗生素残留的作用

研究发现,在降低日粮能量水平 420kJ/kg 的情况下,日粮中添加 500mg/kg 和美酵素可完全替代正常高能量日粮添加的抗生素饲料添加剂,可有效防止抗生素在肉鸡组织器官中的残留;同时添加金霉素和美酵素,肉鸡肝中金霉素残留量明显降低,并且在肌肉、肾中均无金霉素残留。

韦启鹏等(2004)报道,在仔猪饲料中添加甘露寡糖替代抗生素,可有效提高仔猪的日增重,降低料肉比,还可以提高仔猪的抗病能力。

2 和美酵素作用机理(见图 1)

单胃动物对豆粕中的能量利用率仅为 50%~60%,因为豆粕中含有 22.7% 左右的半纤维素,这是非淀粉多糖。非淀粉多糖中的一种抗营养成分—— β -甘露聚糖,即半乳糖基甘露聚糖,现已证明,即使很低浓度的 β -甘露聚糖也能影响类胰岛素样生长因子(IGF-1)的分泌,从而影响小肠对葡萄糖的吸收,干扰碳水化合物代谢。抗营养因子 β -甘露聚糖对单胃动物的不良作用主要有:① β -甘露聚糖增加消化道内容物的粘度,从而影响营养物质的消化和吸收,易造成后肠道梭菌的繁殖,发病率升高;②影响胰岛素、IGF-1

黄爱霞,浙江大学饲料科学研究所,在读硕士,310029,浙江省杭州市秋涛北路 164 号。

邹晓庭、乔欣君,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-10

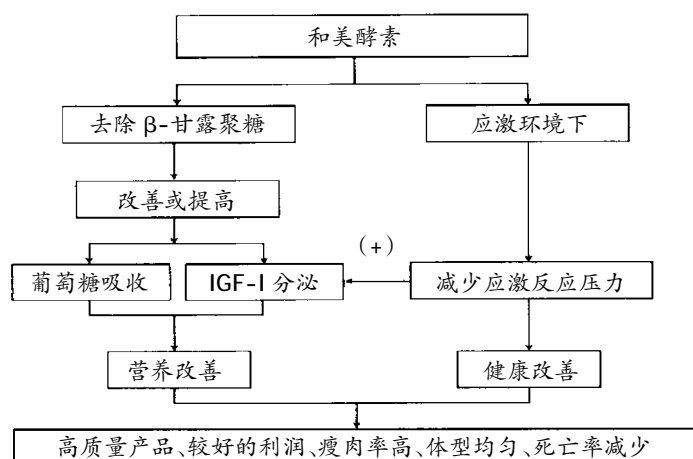


图1 和美酵素的作用机理

的分泌,从而影响畜禽的生产性能;③在动物幼龄或畜禽疾病和应激时,引起机体产生过度免疫反应,造成畜禽采食量大幅度下降。

β-甘露聚糖的抗营养作用的机理:①β-甘露聚糖与水分子相互作用,增加了溶液的粘度,形成网状结构;②β-甘露聚糖具有高亲水性,通过其网状结构的形成吸收大量的水分,从而改变肠内容物的物理特性,增加对肠蠕动的抵抗力;③β-甘露聚糖表面带负电荷,在溶液中易与食物表面相结合,从而影响养分的吸收;④β-甘露聚糖对有机物质和金属离子(如 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Na^{+} 等)具有较强的吸附能力,从而影响这些物质的吸收代谢。

和美酵素是微生物发酵产品,其有效成分是β-甘露聚糖酶,有纤维素和淀粉酶的活性,能降解β-甘露聚糖为甘露寡糖,提高饲料利用率,改善动物的生产性能。它的作用机理为:①降解β-甘露聚糖。β-甘露聚糖酶可以水解高分子β-甘露聚糖中的β-1,4糖苷键,使之降解为低分子,失去亲水性和粘性,降低肠道内容物的粘度,从而有利于消化酶与营养物质的结合,减少胆汁酸的排出。②破坏植物细胞壁结构。β-甘露聚糖是植物细胞壁的成分之一,它与其它非淀粉多糖围绕或缚住细胞中的养分(蛋白质、淀粉和脂肪等),动物的内源性消化酶难于消化这些细胞壁成分,从而降低了日粮的养分利用率。β-甘露聚糖酶和其它纤维素酶或半纤维素酶的添加,则能破坏细胞壁结构,使细胞壁内的营养物质释放出来供动物体利用。③改善肠道微生物群。在日粮中添加一定量的β-甘露聚糖酶,可降解β-甘露聚糖为甘露寡糖,破坏有害菌繁殖的环境,减少肠道内有害微生物的数量,使肠壁变薄,改善营养物质的消化和吸收。

2.1 甘露寡糖改善动物胃肠道微生态环境

甘露寡糖可以防止致病菌在肠道上的聚集,减轻病原菌对机体的毒害作用,增强体内双歧杆菌因子,促进机体生长,提高健康水平。

研究表明,甘露寡糖可调控动物的胃肠道微生态环境,促进有益菌的生长繁殖,抑制有害菌对肠壁的粘附和定植,维持正常的消化道环境。首先,它能选择性促进动物肠道有益菌如双歧杆菌、嗜酸乳杆菌等的大量繁殖,使其在胃肠道中形成微生态竞争优势,直接抑制外源菌和肠内固有腐败菌的生长繁殖,从而发挥正常肠道菌群在屏障、营养和免疫上的功能;其次,甘露寡糖能阻碍细菌表面外源凝集素与肠粘膜上皮细胞特异性的糖分子结合,阻止病原菌在胃肠道的粘附和定植,使其最终随粪便排出体外。据报道,甘露寡糖能够减少大肠杆菌在仔猪肠道的增殖,在仔猪日粮中添加0.2%或0.4%的甘露寡糖能显著增强仔猪各肠道双歧杆菌的浓度。此外,甘露寡糖能够加强猪对沙门氏菌、溶血性大肠杆菌和弯杆菌等感染的免疫应答。

2.2 甘露寡糖增强机体的免疫机能

甘露聚糖降解产生的甘露寡糖具有一定的免疫原性,能够刺激机体免疫应答,而且它能与一定的毒素、病毒和真核细胞的表面结合而作为这些外源抗原的佐剂,减缓抗原的吸收,增加抗原的效价,从而增强动物机体的细胞免疫和体液免疫反应;也可通过刺激肝脏分泌甘露寡糖结合蛋白而影响免疫系统,甘露寡糖结合蛋白能与细菌荚膜相粘附并触发一连串的补体反应,从而使免疫系统产生应答反应。

2.2.1 对体液免疫的影响

研究表明,甘露寡糖能使肉鸡胆汁中免疫球蛋白A(IgA)水平提高14.2%;也可提高火鸡肠粘膜中IgA水平,并显著提高火鸡血液中免疫球蛋白G(IgG)的含量。甘露寡糖也能够显著提高无菌仔猪血清与肠粘

膜中的 IgA、IgG 和 IgM 的含量及血液中白细胞介素-2(IL-2)的水平,增强 T 淋巴细胞功能和小肠原始淋巴细胞的活性,增强小肠内白细胞的吞噬能力和促进激活的淋巴细胞释放干扰素- γ (IFN- γ),所释放的 IFN- γ 可促使巨噬细胞、体液及蛋白质移向感染部位,以及激活感染部位的巨噬细胞,从而使其能杀死吞噬的病原菌。不过对于普通仔猪来说,甘露寡糖只是显著提高了其血清的 IgA 水平,而对 IgG、IgM 没有明显影响。国外也有研究发现,甘露寡糖不能提高小鼠血清 IgG 水平,但可提高 IgA 水平;对犬的研究表明,甘露寡糖能够提高疫苗注射后犬的血清中 IgG 水平。以上研究结果表明,甘露寡糖能有效地提高动物血清 IgA 水平,但对 IgG 的影响不能肯定,这可能与动物受抗原刺激的强度及动物种类有关。

2.2.2 对细胞免疫的影响

甘露寡糖能够显著提高哺乳仔猪 PHA-淋巴细胞转化率和巨噬细胞的吞噬能力(Spring 等,1997、1998;Ocarra,1998;邵良平等,2000);显著提高无菌仔猪血液中白细胞介素-2(IL-2)的水平;显著提高鸡白细胞吞噬能力和 PHA-淋巴细胞转化率,有效改善鸡肠道微生物环境,显著降低大肠杆菌数和盲肠、回肠内容物的 pH 值,极显著地提高鸡血清中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等的活性(李国平,2000)。

甘露寡糖还可以通过与肠绒毛免疫细胞表面蛋白受体相互作用(Chesson,1993)或通过干预存在于淋巴结和粘膜固有层记忆细胞上的信号系统进行免疫调节(Lessard、Brisson,1987)。研究表明,饲料中添加甘露寡糖可以增强巨噬细胞的吞噬能力(Alltech,1994、1995)。甘露寡糖还能有效促进 T 细胞非特异性增殖,提高 T 细胞在外周血中的含量(王权等,2002)。

此外,和美酵素能改善动物的生长性能,其作用机制是通过 IGF-1 发挥作用的。

据报道,和美酵素可显著提高动物胰岛素样生长因子(IGF-1)水平,改善猪和家禽等单胃动物的生长性能,特别是在应激条件下,作用效果更为明显。一般认为胰岛素样生长因子(IGF-1)是畜禽真正的生长调控因子,生长激素(GH)的促进作用是 IGF-1 介导的。IGF-1 作用于生长组织,刺激细胞对氨基酸的利用,从而促进蛋白质的合成,抑制蛋白质的分解,最终导致蛋白质的净增长。和美酵素对动物生长性能改善的作用机制是通过 IGF-1 发挥作用的(见图 1)。

3 小结

β -甘露聚糖广泛存在于各种谷类饲料中,对单胃

畜禽的消化、吸收造成很大的伤害。在日粮中添加重要成分为 β -甘露聚糖酶的和美酵素,可以分解日粮中的 β -甘露聚糖,使动物增加能量利用率,提高动物的免疫力和内分泌水平,从而提高生产性能,而且和美酵素无毒、无害、无残留,可以满足消费者对绿色无公害食品的需求。因此,开发和美酵素作为新型饲料添加剂具有广阔的应用前景。

参考文献

- Pettigrew J E. Bio-Mos effects on pigs performance. Proc. of Allentichs Annual Symp. UK, 2000.16:31~45
- Petty LA, Carter SD, Senne BW, et al. Effects of beta-mannanase addition to corn-soybean meal diets on growth performance, carcass traits, and nutrient digestibility of weanling and growing-finishing pigs[J]. Journal of animal science, 2002,80(4):1 012~1 019
- Jackson ME, Geronian K, Knox A, et al. A dose-response study with the feed enzyme beta-mannanase in broilers provided with corn-soybean meal based diets in the absence of antibiotic [J]. Poultry Science, 2004,83(12):1 992~1 996
- 王春林.和美酵素对肉用仔鸡生产性能及金霉素组织残留的影响[J].中国兽医科技,2003,23(4):51~55
- 高树东.和美酵素对产蛋后期蛋鸡生产性能的效应研究[J].饲料博览,2001(8):39~40
- M.E.Jackson,D.M.Anderson,H.Y.Hsiao, et al. Beneficial effects of β -mannanase feed enzyme on performance of chicks challenged with Eimeria sp. and clostridium perfringens. Avian Diseases, 2004,47(3):759~763
- 伍晓雄.和美酵素对蛋鸡生产的影响[J].湖北畜牧兽医,2000(2):5~6
- 宁中华.和美酵素对矮小型蛋鸡生产性能的影响[J].中国家禽,2003,25(16):11~12
- 张朝增.和美酵素在蛋鸡饲料中的添加效果[J].当代畜牧,1997(4):34~35
- 李国胜.肉鸭饲料中添加和美酵素饲喂效果[J].当代畜牧,1997(2):29~33
- Mathis GE. Southern Poultry Reseach [M]. Georgia, USA: Inc Athens, 2000
- 萨立富.甘露寡糖对断奶仔猪肠道菌群的影响[J].畜禽业,2005(11):54~55
- 黄小文.甘露聚糖酶对小猪生产性能的影响[J].饲料工业,2003,24(1):25~27
- 韦启鹏.果寡糖与甘露寡糖替代抗生素对仔猪生产性能的影响[J].江西饲料,2004(3):4~5
- 岳文斌.甘露寡糖对断奶仔猪肠道主要菌群和免疫机能的影响[J].山西农业大学学报,2002,22(2):97~101
- 尹小平.甘露寡糖对断奶仔猪肠道菌群的影响[J].当代畜牧,2003(6):31
- 贾锦瑞.和美酵素在饲料工业中的应用[J].中国饲料,1995(24):19~21
- 贾锦瑞.乙型甘露聚糖酶对商品肉鸡生产性能的影响[J].饲料与畜牧,1996(2):7~8
- 李国平.日粮中添加复合菌制剂对雏鸡盲肠大肠杆菌数、肠道 pH 值、血液 SOD 和 GSH-Px 影响的研究[J].中国兽医杂志,1999,25(8):7~8
- 王权.甘露寡糖对鸡外周血淋巴细胞免疫功能的影响[J].中国兽医科技,2002,32(1):28~29

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

功能性寡糖对动物免疫功能的影响

荆向东 易中华 吴兴利 张建云

寡糖是由 2~10 个单糖通过糖苷键连接形成的直链或支链糖类,按其生物学功能可分为普通寡糖和功能性寡糖两大类。普通寡糖可被单胃动物小肠消化吸收,包括蔗糖、乳糖等;功能性寡糖包括果寡糖(FOS)、甘露寡糖(MOS)、寡葡聚糖(GOS)、寡乳糖(Gas)、寡木糖(XOS)、棉子糖、大豆寡糖等,这些寡糖在动物消化道前端不被消化,故称为难消化性寡糖(NDO)。功能性寡糖由于难以被动物体内分泌的消化酶分解,在肠道后段可选择性促进双歧杆菌和乳酸杆菌等有益菌群的增殖及抑制大肠杆菌等有害菌的增殖,从而维持了肠道微生态平衡(Gibson 和 Roberfroid, 1995; Houdijk 等, 2002; Bielecka 等, 2002)。国内外的研究表明,功能性寡糖能够提高畜禽生产性能,减少发病率和死淘率(Houdijk, 1998; 杨曙明, 1999; 易中华等, 2004)。但其作用机制,特别是寡糖的免疫促生长作用及其机理的探讨却较少。有研究认为,功能性寡糖是一种免疫促进剂,可提高动物的免疫功能。Sharon 和 Lis(1993)证实,甘露寡糖不仅能连结到细菌上,而且也能与一些毒素、病毒、真核细胞的表面结合,结合后,甘露寡糖作为这些外源抗原的助剂(Adjuvants),能减缓机体对抗原的吸收,增加抗原的效价。通过饲料饲喂动物的途径,功能性寡糖可调节动物的体液免疫和细胞免疫功能,其免疫调节作用可能主要通过调节动物肠道微生态的途径来实现,有益菌群的扩大和有害菌群的减弱有利于肠道黏膜组织的健康,有利于维护较强的黏膜免疫功能和诱导 IgA 的分泌(冯于明, 2004)。另外,免疫系统中许多识别与消除病原体的分子都是糖蛋白,寡糖结合到糖蛋白上,通过单糖残基与受体的多种相互作用来激发生化与免疫功能(Pauline 等, 2004)。

1 功能性寡糖对免疫器官的影响

胸腺、脾脏和法氏囊是禽类的主要免疫器官,参与机体的体液免疫和细胞免疫。法氏囊是家禽特有的体液免疫中枢器官,是 B 细胞分化发育的主要场所,也是免疫球蛋白基因分化及基础基因库形成和扩展

必需的器官,含有 B 细胞、浆细胞、单核巨噬细胞、少量 T 细胞和其它组织细胞,在发育后期,法氏囊还兼有外周免疫器官的功能;胸腺是细胞免疫中枢器官,主要含有 T 细胞、单核巨噬细胞和少量 B 细胞及其它细胞,是 T 细胞分化、发育的主要场所;脾脏是家禽最大的外周免疫器官,参与全身的细胞免疫和体液免疫应答。胸腺指数、法氏囊指数和脾脏指数反映了机体 3 个主要免疫器官的生长发育程度,是从免疫器官发育的角度评价机体免疫状态的主要指标(杨汉春, 1996)。汪莉等(2001)在 0~6 周龄蛋雏鸡日粮中添加 0.15%~0.35%的低聚糖(主要成分为异麦芽糖、异麦芽三糖、潘糖,含量>17%),结果发现,添加 0.15%低聚糖组鸡的胸腺指数极显著高于对照组($P<0.01$),法氏囊指数显著高于对照组($P<0.05$),表明添加 0.15%低聚糖对蛋雏鸡的中枢免疫器官的发育有促进作用,低聚糖充当了免疫刺激的辅助因子。王权等(2002)在鸡饲料中添加 25g/kg 甘露寡糖,与对照组相比,法氏囊重量增加 37.6%,胸腺重量增加 11.5%。王吉潭等(2003)的研究表明,半乳甘露寡糖在肉鸡日粮中的应用效果在一定程度上可以替代饲料中的抗生素,与抗生素组相比,半乳甘露寡糖组鸡的胸腺、脾脏和法氏囊相对重量差异不显著($P>0.05$),但脾脏和法氏囊的相对重量有提高的趋势。瞿明仁等(2003)的研究表明,与金霉素相比,果寡糖显著提高了泰和鸡 5 周龄和 10 周龄时的脾脏指数和胸腺指数($P<0.05$),显著提高了泰和鸡 10 周龄时的法氏囊指数($P<0.05$)。免疫器官指数的增加,预示着机体的细胞免疫和体液免疫得到增强,即整体免疫机能加强,抵抗各种病原微生物感染的能力和抗各种应激的能力得到提高。

2 功能性寡糖对细胞免疫的影响

免疫细胞可大致分为 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和巨噬细胞 3 大类。T 淋巴细胞分为表达 CD4 的辅助 T 淋巴细胞(Th)和表达 CD8 的细胞毒性 T 细胞。静止的 CD4⁺T 淋巴细胞在 IL-12 或 IL-4 的作用下可进一步分化为 Th1 或 Th2 亚群,Th1 分泌 IL-2、IFN- γ 及 TNF- α 等,主要参与细胞免疫;Th2 可分泌 IL-4、IL-10 及 IL-13 等,主要参与体液免疫。Kelly-Quagliana 等(2003)的研究表明,饲喂果寡糖的小鼠在应答 ConA、PHA 等细胞刺激剂时,肠系膜的淋巴结细胞母细胞化增加,CD4⁺T 细胞数量增多;同时乳酸菌能利用果寡糖作为能源,使发酵后产生的短链脂肪酸与丁

荆向东,沈阳市新城子区动物防疫站,副高级畜牧师,110121,沈阳市新城子区。

易中华,江西农业大学动物科技学院。

吴兴利、张建云,中国农业大学动物科技学院。

收稿日期:2006-05-15

酸盐及循环中 $IFN-\gamma$ 、 $TNF-\alpha$ 增加,从而增强细胞免疫反应,降低过敏反应。

B 淋巴细胞通过对全抗原具有特异性的膜表面免疫球蛋白分子与抗原结合,抗原与 B 淋巴细胞结合后在淋巴因子的协同作用下,使细胞分化及克隆扩增,最后分泌免疫球蛋白。寡糖能与一些毒素、病毒、真核细胞的表面结合,然后寡糖作为这些外源抗原的助剂,提高 B 淋巴细胞介导的体液免疫功能。Rina 等(1999)的研究发现,水牛乳汁寡糖可促进 B 淋巴细胞产生分泌性抗体。Nicole 等(2003)研究证实,果寡糖能增加血清与肠系膜淋巴结中分泌性抗体的量。Wang 等(2004)的研究发现,北美人参寡糖可以促进脾细胞产生 $IL-2$, $IL-2$ 具有促进 B 淋巴细胞合成免疫球蛋白和 J 链转录的功能。

巨噬细胞可通过分泌细胞因子,如一氧化氮(NO)、 $IL-1$ 、肿瘤坏死因子 α ($TNF-\alpha$)来杀灭病原,许多细胞因子的分泌是由 $NF-\kappa B$ 调节的。Kelly-Quagliana 等(2003)用含 25%果寡糖的饲料喂养 120 只雌性小鼠 6 周,结果表明,果寡糖能显著增加腹膜巨噬细胞的噬菌活性。Yu 等(2004)将巨噬细胞与壳寡糖一起孵育 12h 后,发现壳寡糖能显著诱导 NO、 $TNF-\alpha$ 的产生。用 $NF-\kappa B$ 的抑制剂 PDTC 处理巨噬细胞,NO、 $TNF-\alpha$ 的产生明显被抑制;而加入壳寡糖后,NO、 $TNF-\alpha$ 的含量显著回升,证明壳寡糖能与 $NF-\kappa B$ 的抑制剂竞争性结合 $NF-\kappa B$ 。

李梅等(2000)在基础日粮中添加 1%异麦芽寡糖,结果使仔猪的植物血凝素(PHA)-淋巴细胞转化率和 E-玫瑰花环率(E-RFCR)极显著高于对照组($P < 0.01$),红细胞 C3b 受体花环率(RBC-CbRR)、红细胞免疫复合物花环率(RBC-ICR)和白细胞吞噬率显著高于对照组($P < 0.05$);许多研究表明,甘露寡糖能够显著提高哺乳仔猪 PHA-淋巴细胞转化率、巨噬细胞的吞噬能力以及 T 淋巴细胞的总数(O'carrca, 1998; Spring 和 Privulescu, 1998; 邵良平等, 2000);显著提高鸡白细胞吞噬能力和 PHA-淋巴细胞转化率(邵良平等, 2000)。

3 功能性寡糖对体液免疫的影响

免疫分子包括免疫球蛋白、细胞因子和补体,它们参与机体免疫应答和免疫调节。免疫球蛋白是主要的免疫分子,与抗体相似,具有抗体活性或化学结构,普遍存在于血液、组织液和外分泌液中,其产生的免疫应答称为体液免疫。免疫球蛋白主要有 3 种,即 IgG 、 IgM 、 IgA 。 IgG 是单体免疫球蛋白,其在血清中浓度远高于其它免疫球蛋白,且维持时间长,是机体抗感染免疫的主要力量。另外,它还参与抗肿瘤、抗寄生

虫及抗某些变态反应等多种免疫过程。 IgM 的分子量在免疫球蛋白中最大,主要分布于血管中。 IgM 产生时间早,其调理、杀菌和凝集作用均强于 IgG ,但半衰期短,作用范围窄,所以,主要在感染早期起先锋免疫作用。 IgA 在所有黏膜表面的分泌物中都有相当高的浓度,尤其是胆汁和肠道,但在血清中的含量较低。

研究发现,甘露寡糖能使肉鸡胆汁中 IgA 水平提高 14.2%(Savage 等, 1996a),也可提高火鸡肠黏膜中 IgA 的水平,并显著提高火鸡血液中 IgG 的含量(Savage 等, 1996b)。Spring(1998)研究发现,甘露寡糖能够显著提高无菌仔猪血清与肠黏膜中 IgA 、 IgG 和 IgM 的含量及血液中白细胞介素-2($IL-2$)的水平,增强 T 淋巴细胞功能和小肠原始淋巴细胞的活性,增强小肠内白细胞的吞噬能力和促进激活的淋巴细胞释放 $I-FY-\gamma$ 细胞素,后者可促使巨噬细胞、体液及蛋白质移向感染部位,以及激活感染部位的巨噬细胞杀死吞噬的病原菌;甘露寡糖只是显著提高了普通仔猪血清 IgA 水平,而对 IgG 、 IgM 没有明显影响。上述结果显示肠道固有菌群可能也会影响仔猪的免疫体系。

4 功能性寡糖对肠道黏膜免疫的影响

黏膜免疫系统是执行局部特异性免疫的主要场所,机体的淋巴细胞组织 50%以上存在于黏膜系统。肠道不仅是吸收、消化和营养物质交换的重要场所,而且存在大量的淋巴样组织,构成完整而普遍的肠道黏膜免疫系统。黏膜表面富含大量功能不同的免疫活性细胞,当细菌与之接触后,增强了肠道派伊尔结(Peyer's patch)对抗原的识别能力,同时活化肠道相关淋巴组织,活化集合淋巴结生发中心的 B 细胞,使其转化为浆细胞。致敏的免疫细胞进入淋巴系统,经胸导管进入血液循环,逐步分化成熟,在全身免疫系统中发挥作用。成熟的免疫细胞在特异的归巢受体介导下,多数免疫细胞归巢到致敏部位的黏膜内,即肠黏膜内,形成肠液中的免疫球蛋白(IgA 、 IgG 、 IgM),发挥免疫效应功能。

分泌型 IgA (sIgA)由黏膜固有层特有的浆细胞所分泌,是黏膜免疫应答过程中的主要体液防御因子。它是由一个蛋白短片联接起来的双体 IgA ,肠黏膜中含量较血清高 6~8 倍,而且能够抵抗蛋白酶的水解作用。它主要具有 3 个方面的作用:①sIgA 可以从空间构象上阻断病毒的附着,并对细菌和宿主黏膜上皮的附着有直接阻断效应;②sIgA 除具有中和病毒、阻止细菌和病毒与黏膜结合的能力外,还具有免疫排斥功能;③血清及分泌液中的 sIgA 可以促进外分泌液中天然抗菌因子的作用(余锐萍, 2002)。

有研究表明,功能性寡糖可促进双歧杆菌的增

殖,而双歧杆菌可提高机体的抗体水平,激活巨噬细胞的吞噬活性,这对提高机体的抗感染能力有重要作用(Reddy, 1999)。Nicole 等(2003)研究证实,果寡糖能增加血清与肠系膜淋巴结中分泌型抗体的量。正常菌群能促进肠道相关淋巴组织发育,有助于维持这些淋巴组织处于高度反应的“准备状态”,这在普通动物与无菌动物中得到了证实。普通动物与无菌动物相比,黏膜基底层细胞增加,出现淋巴细胞、组织细胞、巨噬细胞和浆细胞浸润,细胞吞噬功能增强,机体免疫特别是局部免疫提高,sIgA 的分泌增加,从而增强抗感染能力。Yasui 等(1989,1991,1994)在体外用短双歧杆菌与肠黏膜淋巴组织集合细胞一起培养,能促进产生大量的 sIgA。

5 结束语

目前,有关功能性寡糖在畜禽生产中的应用研究报道很多。众多研究认为,功能性寡糖能够提高畜禽生产性能,减少发病率和死淘率。但是其作用效果及其机制,特别是寡糖的免疫促生长作用及其机理的探讨却较少。研究认为,功能性寡糖是一种免疫促进剂,可提高动物的免疫功能;它还可以结合病原细胞的外源凝集素,降低病菌吸附到肠壁上的几率,防止疾病发生。这是功能性寡糖研究的一个新动向,必将为实际生产中寻求饲用抗生素替代品提供更全面的思路。

参考文献

- 1 冯子明主编. 家禽营养(第二版). 北京:中国农业大学出版社,2004
- 2 李梅,赵桂英,赵国聪,等. 异麦芽寡糖对仔猪细胞免疫功能的影响研究[J]. 饲料研究,2000(11): 7~9
- 3 瞿明仁,宋小珍,游金明. 低聚果糖替代抗生素使用对泰和鸡免疫促进作用的研究[J]. 饲料工业,2003(12): 9~11
- 4 邵良平,周伦江,李国平,等. 甘露寡糖和粪链球菌对鸡细胞免疫和肠道微生态的调节作用[J]. 中国兽医学报,2000,20(1): 58~61
- 5 邵良平,周伦江,费政芳,等. 甘露寡糖对仔猪免疫功能和血液抗氧化酶的影响[J]. 营养学报,2000(1): 82~84
- 6 余锐萍,高齐瑜,王彩虹. 肠相关淋巴样组织研究概况[J]. 动物医学进展,2002,23(4): 29~39
- 7 王吉潭,李德发,龚利敏,等. 半乳甘露寡糖对肉鸡生产性能和免疫机能的影响[J]. 中国畜牧杂志,2003,39(2):5~7
- 8 王权,陈永军,钱应娟,等. 甘露寡糖对鸡外周血液淋巴细胞免疫功能的影响[J]. 中国兽医科技,2002(1): 28~29
- 9 汪莉,苏军,苏宁. 低聚糖对蛋雏鸡生长性能、免疫器官发育及粪臭的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2001(11): 9~11
- 10 杨曙明. 寡聚糖在动物营养研究中的进展[J]. 动物营养学报,1999,11(1):1~91
- 11 易中华,胥传来,马秋刚,等. 果寡糖和益生菌对肉鸡生产性能和腹泻的影响[J]. 饲料工业,2004(5): 49~51
- 12 Bielecka M, E. Biedrzycka, A. Majkowska, et al. Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. Food Res. Intern., 2002,35:139~144
- 13 Gibson G R, Roberfroid M B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J. Nutr., 1995,125:1 401~1 412
- 14 Houdijk J G M, R. Hartemink, M. W. A. Verstegen, et al. Effects of dietary non-digestible oligosaccharides on microbial characteristics of ileal chyme and faeces in weaner pigs. Arch. Anim. Nutr., 2002,56:297~307
- 15 Kelly-Quagliana K A, P. D. Nelson, R. K. Buddington. Dietary oligofructose and inulin modulate immune functions in mice. Nutr. Res., 2003,23(2):257~267
- 16 Nicole M, S. Andreas, B. Helga. Influence of fructooligosaccharides on Peyer's patch lymphocyte numbers in healthy and endotoxemic mice. Nutrition, 2003,19(8):657~660
- 17 Pauline M R, R. W. Mark, A. P. Raymond. Sugar-mediated ligand-receptor interactions in the immune system. Trends in Biotechnology, 2004,10(22):524~530
- 18 Reddy B S. Possible mechanisms by which pro- and prebiotics influence colon carcinogenesis and tumor growth. J. Nutr., 1999,129: 1 478~1 482
- 19 Rina S, D. Desh, K. A. Anakshi. A novel pentasaccharide from immunostimulant oligosaccharide fraction of buffalo milk. Biochem. Biophys. Acta., 1999,1 428(2/3):433~445
- 20 Savage T F, P. F. Cotter, E. I. Zakrzewska. The effect of feeding a mannanoligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgA and bile IgA of Wrolstad MW male turkeys. Poult. Sci., 1996a,75(1):143
- 21 Savage T F, P. F. Cotter, E. I. Zakrzewska. The effect of feeding a mannan oligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG and bile IgA of Wrolstad MW male turkeys. Poult. Sci., 1996b,75(1):S129 (Abstract)
- 22 Sharon N, H. Lis. Carbohydrates in cell recognition. Sci. Am., 1993,268: 82~89
- 23 Spring P, M. Privulescu. Mannan oligosaccharide: its logical role as a natural feed additive for piglets. In: Lyons, T. P., and K. A. Jacques (eds). Alltech's 14th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium. Symposium Proceedings Summaries, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 1998.72~73
- 24 Wang M Q, L. J., Guilbert J Li. A proprietary extract from North American ginseng enhances IL-2 and IFN- productions in murine spleen cells induced by ConA. International Immunopharmacology, 2004,4 (2): 311~315
- 25 Yasui H, A. Mike, M. Ohwaki. Immunogenicity of Bifidobacterium breve and change in antibody production in Peyer's patches after oral administration. J. Dairy Sci., 1989,72: 39~48
- 26 Yasui H, M. Ohwaki. Enhancement of immune response in Peyer's patches cells cultured with Bifidobacterium breve. J. Dairy Sci., 1991,74: 1 187~1 195
- 27 Yasui H, N. Nagaoka, K. Hayakawa. Augmentation of anti-influenza virus hemagglutinin antibody production by Peyer's patch cells with Bifidobacterium breve YIT4064. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1994,1(2): 244~246
- 28 Yu Z J, L. H. Zhao, H. P. Ke. Potential role of nuclear factor- κ B in the induction of nitric oxide and tumor necrosis factor- α by oligochitosan in macrophages. International immunopharmacology, 2004,4(2): 193~200

(编辑:王芳,xfang2005@163.com)

不同物候期苜蓿 POD 同工酶分析

孟凡玲 沙 伟 冯昌军

摘 要 采用垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳技术,对 3 个物候期(返青期、初花期、结荚期)4 个品种苜蓿根进行过氧化物酶(POD)同工酶分析。初步研究表明,随着生长的不断进行所有品种酶带总数呈现递减的趋势,其中返青期酶带数多,酶活性强。表明在不同的生长时期要求有不同的酶类表达。

关键词 苜蓿;POD 同工酶;物候期

中图分类号 Q814.9

A study on isozymes peroxidase of alfalfa in different growth period

Meng Fanling, Sha Wei, Feng Changjun

Abstract The isozyme peroxidase(POD) of three growth periods(green period, flower period, fruit period) in four cultivars of alfalfa was analysed by using polyacrylamide gel electrophoresis .It showed that the POD isozyme bands decreased along with growth and the activity of POD isozyme was also different. The activity of POD isozyme is the highest in green period .The conclusion is different types of isozyme were expressed in different growth period.

Key words alfalfa; isozyme peroxidase(POD); growth period

同工酶是指具有相同催化作用而分子结构不同的酶,是基因表达的直接产物^[1]。过氧化物酶(POD)在植物中普遍存在,作为一种适应酶,能反映体内代谢状况,POD 在研究植物同工酶与植物生长发育的关系中涉及较多,故可以通过对植物不同生长发育时期各器官的 POD 同工酶特性的研究,探究同工酶谱的变化与生长发育的关系,为生长发育的代谢调控提供参考^[2]。Shannon J M^[3](1968)认为,同工酶的存在与植物体生理生化的多变性、可变性及适应性有关。国内外学者曾将 POD 同工酶用于苜蓿种及品种间的鉴定^[4]、抗寒性和抗旱性与生理过程的关系^[5,6]、苜蓿品种与地理分布的相关性^[7]等的研究中,但对苜蓿不同生长时期的同工酶研究未见报道。

本实验以苜蓿为材料,对其不同生长时期过氧化物酶酶谱的变化进行研究比较,以了解苜蓿不同生长时期过氧化物酶的表达机制,为苜蓿的大面积种植和推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

孟凡玲,齐齐哈尔大学生命科学与工程学院,在读硕士,161006,黑龙江省齐齐哈尔市。

沙伟(通讯作者)、冯昌军,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-24

肇东、龙牧 806、Doblone、WI323 苜蓿 4 个品种,编号分别为 P₁、P₂、P₃、P₄,由黑龙江省畜牧所提供。

1.2 方法

1.2.1 取样

分别取苜蓿返青期(A1)、开花期(A2)、结荚期(A3)3 个时期的根部。

1.2.2 制样

将样品用去离子水洗净并吸干水分,剪碎,分别称取 0.2g 放入研钵中,加入电极缓冲液(pH 值为 8.3,20 倍稀释)5ml,在冰浴下研磨至匀浆,1 000r/min 离心 20min,取上清液放在 4℃冰箱中备用。

1.2.3 电泳

采用 DYY-II 型稳压电泳仪,先制胶,分离胶浓度 6%,pH 值 8.9;浓缩胶浓度 4%,pH 值为 6.7。电极缓冲液为 Tris-甘氨酸缓冲液,pH 值为 8.3,进样量 20μl,电泳电压 80~120V,电泳 4h,保持温度 0~4℃,并以 0.25%的溴酚兰作为前沿指示剂,溴酚兰带到距离凝胶末端 1cm 处为止,取下胶板,用去离子水冲洗干净,然后染色。

1.2.4 染色

采用罗光华改良的联苯胺法^[8]。

1.2.5 酶谱带迁移率(Rf)计算

$Rf = \text{酶带迁移距离(cm)} / \text{溴酚兰迁移距离(cm)}$ ^[9]。

2 结果与分析

在返青期、初花期、结荚期分别对 P₁、P₂、P₃、P₄ 等品种苜蓿根进行过氧化物酶同工酶的酶谱分析,结果见表 1。由表 1 可知,随着生长时期的进行,相对应位点迁移率(Rf)变化趋势是先变小后变大;随着生长长期的进程,酶带数有递减的趋势,酶的活性强弱上有不

同程度的差异。

3 个时期 4 个品种苜蓿根 POD 同工酶电泳图谱见图 1。由表 1、图 1 可以看出,3 个时期 4 个品种苜蓿根共分离出 8 条 POD 同工酶带,酶带依次命名 e1~e8,根据主酶带集中部位,按迁移率从负极到正极大

表 1 3 个时期 4 个品种苜蓿根 POD 同工酶迁移率(Rf)值

项目	P ₁			P ₂			P ₃			P ₄		
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
e1	0.159*	/	0.151---	0.159*	/	0.151---	0.159*	0.024-	0.151---	0.159*	0.024-	0.151---
e2	/	/	/	/	0.146*	/	0.178 [#]	0.146*	/	0.178 [#]	0.146 [#]	0.199-
e3	0.222-	0.190---	/	0.222 [#]	/	0.229-	0.222 [#]	/	0.229--	0.222-	0.190 [#]	/
e4	0.326-	0.244 [#]	/	/	0.244-	/	/	0.244 [#]	0.338 [#]	/	0.244 [#]	/
e5	0.359---	/	/	0.359*	0.354-	/	0.359*	/	/	0.359*	0.354--	0.381---
e6	0.411---	0.402*	0.423 [#]	0.411*	0.402---	0.423 [#]	0.411*	0.402*	0.423*	0.411*	0.402-	0.423 [#]
e7	/	0.458*	/	0.463--	0.458*	/	0.463--	0.458*	/	0.463--	0.458 [#]	/
e8	/	/	/	0.522--	/	/	/	/	/	0.522--	/	/
总数	5	4	2	6	5	3	6	5	4	7	7	4

注:* 强带;# 较强带;---中等带;--弱带;-痕迹(最弱)。

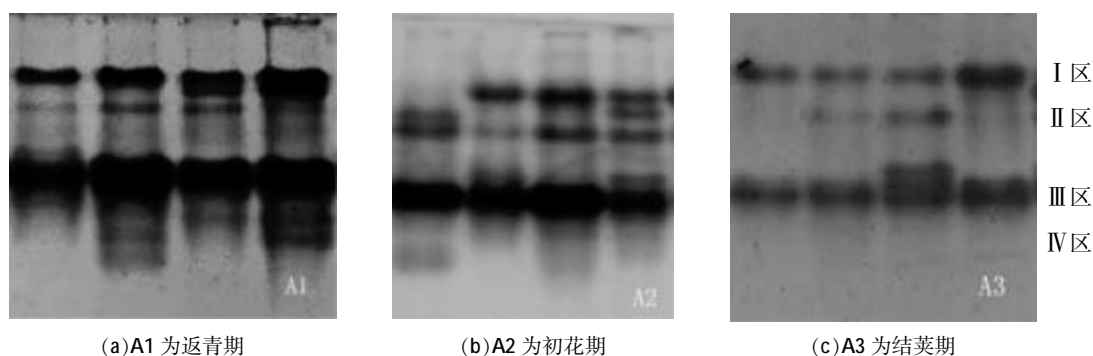


图 1 3 个时期 4 品种苜蓿根 POD 同工酶酶谱

致可分为 I (Rf<0.2)、II (Rf:0.2~0.35)、III (Rf:0.35~0.45)、IV (Rf:0.45~0.55)4 个酶区。

2.1 返青期

I 区有 2 条酶带,Rf 为 0.159、0.178,e1 在品种 P₁、P₂、P₃、P₄ 活性强,e2 只有在品种 P₃、P₄ 表达,活性较强;II 区共有 2 条酶带,Rf 为 0.222、0.326,e3 在 P₂、P₃ 品种活性较强,在 P₁、P₄ 品种活性最弱,e4 只有在 P₁ 品种中有表达,活性最弱;III 区共有 2 条酶带,Rf 为 0.359、0.411,e5、e6 在品种 P₂、P₃、P₄ 活性强;IV 区共有 2 条酶带,Rf 为 0.463、0.522,e7、e8 在品种 P₂、P₄ 均有表达,但是活性弱,P₃ 品种只有 1 条 e7 酶带,且活性弱。

2.2 初花期

I 区有 3 条酶带,Rf 为 0.024、0.146、0.190,e1 在品种 P₃、P₄ 活性最弱,e2 在品种 P₂、P₃ 活性强,P₄ 品种

次之,e3 在品种 P₄ 中较强、P₁ 品种次之;II 区共有 1 条酶带,Rf 为 0.244,e4 在品种 P₁、P₃、P₄ 活性较强,P₂ 品种活性最弱;III 区共有 2 条酶带,Rf 为 0.354、0.402,e5 在品种 P₂、P₄ 活性较弱,在品种 P₁、P₃ 没有表达,e6 在品种 P₁、P₃ 活性强,P₂ 品种活性中等,P₄ 品种活性最弱;IV 区只有 1 条酶带,Rf 为 0.458,在品种 P₁、P₂、P₃ 中活性强,P₄ 品种活性较强。

2.3 结荚期

I 区有 2 条酶带,Rf 为 0.151、0.199,e1 在品种 P₁、P₂、P₃、P₄ 活性中等,e2 在品种 P₄ 活性最弱,其它品种没有表达;II 区有 2 条酶带,Rf 为 0.229、0.338,e3 在品种 P₃ 活性弱,品种 P₂ 活性最弱,其它品种没有表达,e4 只有在品种 P₃ 有表达且活性较强;III 区只有 1 条酶带,Rf 为 0.423,e6 在品种 P₁、P₂、P₄ 活性较强,在

品种 P₃ 活性强; IV区没有酶带表达。

2.4 3个生长时期苜蓿根 POD 同工酶酶谱分析

在 I 区 3 个生长时期均有 2 条或 3 条酶带表达; 在 II 区返青期和结荚期有 2 条酶带表达, 初花期有 1 条酶带表达; 在 III 区返青期和初花期有 2 条酶带表达, 结荚期有 1 条酶带表达; 在 IV 区返青期有 2 条酶带, 初花期有 1 条酶带, 结荚期没有酶带表达, P₁~P₄ 的 4 个品种酶带总数在返青期分别为 5、6、6、7; 初花期分别为 4、5、5、7; 结荚期分别 2、3、4、4, 随着生长时期的进行所有品种的酶带总数有递减的趋势。

4 个品种苜蓿根 POD 同工酶在 III 区 3 个生长时期具有 1 条迁移率几乎一致的酶带始终显现, 即编码 e6 酶带基因的表达时间长, 可能是此酶在维持苜蓿正常生长发育过程中起着重要的作用, 也可能是依赖这种酶消除正常代谢过程中始终产生的某一类过氧化物。Scandalios(1974)指出, 酶是基因表达的产物, 它们的基因表达皆随发育阶段或营养状况而改变^[9]。

3 讨论

过氧化物酶同工酶在质[酶带数目和迁移率(Rf)]和量(酶活性)上的差异, 是可以了解某一植物组织或器官的某些同工酶带在一定发育时期的出现以及在另一发育时期这些酶带则减弱或消失。这一现象是由于植物各器官在发育进程中酶分子的重新合成或酶前体物的活化所致; 另一方面是由于酶分子在发育过程中的降解, 促使某些酶带消失, 归根到底是由于分化基因作用而产生了生理生化差异的缘故^[10]。

4 个品种苜蓿在 3 个时期迁移率、酶带数目均有不同程度的差异, 表明过氧化物酶同工酶酶谱变化的差异在一定程度上受植物器官不同生长时期的影响。同工酶是基因表达的产物, 基因的稳定性决定了同工酶酶谱稳定性。本研究中, 4 个品种苜蓿过氧化物酶在 3 个生长时期内酶带数不同, 返青期酶带数最多, 可能是苜蓿植物为适应温度条件而诱导体内过氧化物酶系统代谢改组的结果。初花期多于结荚期, 可能这些基因所产生的酶类参与生长发育转变期的代谢调控, 与器官分化有关; 或者是由于器官分化前代谢旺盛而产生的过氧化物类型多, 需要较多 POD 同工酶参与清除过氧化物的危害, 从而保持植物体细胞内环境的相对稳定。

参考文献

- 1 周光宇. 同工酶简介[M]. 上海: 上海农业科技出版社, 1979. 26~27
- 2 梅慧生. 植物同工酶研究进展[J]. 植物生理学通讯, 1981(3): 1~7

- 3 Shannon J M. Plan Isoenzyme[J]. Ann. Rev. Plant. Physiol., 1968, 19: 187
- 4 谢雪菊. 中国苜蓿地方品种亲缘关系的研究. 北京: 中国农业大学硕士研究生论文, 1996
- 5 Krasunk M G A. Hydrolytic enzyme differences in cold-tolerant alfalfa. Agron. J., 1978, 70: 579~605
- 6 周瑞莲, 张承烈. 水分胁迫下紫花苜蓿叶片 SOD、CAT 活性与抗逆行的关系[J]. 中国草地, 1991(2): 20~24
- 7 吴永数. 用同工酶分析法鉴定苜蓿品种的探讨[J]. 牧草与饲料, 1988(4): 8~13
- 8 罗光华, 王爱国. 植物的凝胶电泳及活性的染色[J]. 植物生理学通讯, 1983(6): 44~45
- 9 郭尧君. 蛋白质电泳实验技术(第一版)[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 128~131
- 10 Scandalios J G. Ann. rev. Plant Physiol., 1974, 25: 225~258
- 11 胡志昂. 裸子植物的生化系统学(一)——松科植物的过氧化物酶[J]. 植物分类学报, 1983, 21(4): 423

(编辑: 孙崎峰, sqf0452@126.com)

倡议书 端正态度 净化学风

伴随近年来动物养殖和饲料行业的发展, 相关学科领域的研究也呈现出“百家争鸣”、“百花齐放”的良好景象。我们期刊收到的来自各大专院校、研究院(所)以及行业内知名企业作者的文章, 文章内容绝大部分数据翔实、见解独到, 他们在前人的基础上加深了研究的深度并拓宽了研究的广度, 与行业的发展与时俱进, 他们是行业健康快速成长和提升核心竞争力的坚实后盾。

针对每位作者的来稿, 我们编辑都将进行细致的审读, 并结合当前行业研究的动态和相关网站的信息对稿件的信息和试验数据的真实度进行审定。稿件除了进行三审制度外, 我们还约请了专家对稿件的内容进行把关, 所以我们期刊发表的稿件是要经过多人多次审阅的。

但是, 在最近一段时间的来稿中, 我们发现有些作者并不具备一个科技工作者应有的严谨治学态度, 他们的文章或粗制滥造、或抄袭甚至剽窃他人的研究成果, 而这样的文章往往又同时投给多家业内刊物, 情节恶劣, 败坏学风!

为净化学风, 把更多有价值的文章奉献给读者, 为此, 《饲料工业》特向来稿作者提出如下要求: 端正治学态度, 实事求是, 保持独立思考和创新精神, 在科学合理范围内扩展研究空间; 倡导原创, 把握好“参考”的尺度, 在转述他人研究成果时一定要注明, 并融入自己的观点和见解; 有严肃的求证精神, 对于非本人或非本行业来源, 尤其是来自互联网的数据、结论等, 一定要加以认真核实, 不能以讹传讹; 一经发现一稿多投、抄袭、拼凑文章等作者的发稿, 我们将不再发表该作者的文章, 并联手其他兄弟媒体制定行业自律, 共同创建一个健康、良好的行业学风。

《饲料工业》杂志社

植酸酶对提高肉仔鸡日粮中钙、磷利用率的研究

岳增华 李 垚

摘要 将试验肉仔鸡随机分成4组,每组设3个重复,每个重复20只。I组为不添加植酸酶的基础日粮对照组;II组为每千克日粮添加500U植酸酶替代基础日粮中0.09%的无机磷试验组;III组为每千克日粮添加500U植酸酶替代基础日粮中0.11%的无机磷试验组;IV组为每千克日粮添加500U植酸酶替代基础日粮中0.13%的无机磷试验组。试验按0~3周龄和4~6周龄两个阶段进行。试验结果表明:在肉仔鸡玉米-豆粕型日粮中添加0.01%的植酸酶(活性为5000U/g)替代日粮中0.12%的钙和0.11%的无机磷可显著提高肉仔鸡的生长性能,并能取得最佳的经济效益,为最适替代比例。

关键词 植酸酶;钙;磷;日增重;饲料转化率;潜在营养价值

中图分类号 Q814.9

植酸酶是用来消除植物性饲料中的抗营养物质——植酸的专用生物活性酶。植酸学名为肌醇六磷酸,多以植酸盐的形式广泛地分布于植物性饲料中。猪和禽类等单胃动物消化道内缺乏水解植酸的植酸酶,对植物性饲料中磷的利用率较低,必须通过添加磷酸盐或含磷较高的动物性饲料来满足畜禽对磷的需要。植酸酶可以分解日粮中的植酸,释放出无机磷以及络合的钙离子,从而提高鸡对饲料中钙、磷的利用(黄燕华等,2003)。

植酸酶的添加水平与替代无机磷的数量是植酸酶在畜禽日粮中应用的关键和人们关注的焦点问题。在肉仔鸡日粮中添加植酸酶的剂量与所替代无机磷的数量以及适宜的钙磷比,不同试验的结果存在一定差异。而目前对植酸酶的使用上,各厂家的说明也只是笼统地认为每千克日粮添加500U植酸酶可替代日粮中50%~75%的磷酸氢钙用量,同时用石粉补足替换磷酸氢钙中的钙量,而没有针对不同的动物和不同的饲料原料组成给出准确的钙、磷替代量。本试验旨在探讨针对肉仔鸡的玉米-豆粕型日粮中添加适宜的植酸酶对日粮中钙、磷的确切替代量。

1 材料与方 法

1.1 植酸酶

本试验所使用是由高活力产酶菌株通过深层液体发酵生产的高效植酸酶,活性为5000U/g。

1.2 试验动物

选择健康活泼、发育正常的1日龄AA肉仔鸡240只。按体重相近、性别各半的原则,随机分成4组,

每组设3个重复,每个重复20只。

1.3 试验设计

每千克试验组日粮添加500U植酸酶,代替梯度含量的无机磷,从而减少相应的磷酸氢钙的用量。通过肉仔鸡的生长性能的变化和骨骼质量为标准确定植酸酶在玉米-豆粕型日粮中对肉鸡生长性能的改善效果以及日粮中添加植酸酶对钙、磷的最适替代量。

I组为不添加植酸酶的基础日粮对照组;II组为每千克日粮添加500U植酸酶替代日粮中0.09%的无机磷试验组;III组为每千克日粮添加500U植酸酶替代日粮中0.11%的无机磷试验组;IV组为每千克日粮添加500U植酸酶替代日粮中0.13%的无机磷试验组。试验至42日龄结束,按0~3周龄和4~6周龄两个阶段进行。

1.4 日粮组成及营养水平

基础日粮钙与总磷比例为1.5:1,试验组日粮钙磷比例按1.3:1设计后,用植酸酶替代相应比例的磷酸氢钙,其余营养指标不变。日粮组成见表1。

1.5 饲养管理

所有试验鸡均采用网上平养方式饲养,鸡舍初始温度控制在33~35℃,以后每周降低3℃,直到22~24℃为止;以干粉料形式自由采食,并供给充足的饮水;每天定时打扫鸡舍卫生,定期免疫;及时发现病鸡予以治疗和记录,病程严重超过3d者淘汰,并记录淘汰鸡的体重,扣除耗料量。

1.6 测试指标及方法

试验期间按试验组每日记录耗料量,分别于1、21、42日龄早晨空腹逐一称重。以体增重、采食量、饲料利用率反映肉鸡的生产性能。分别于21日龄、42日龄每个重复随机取2只鸡屠宰,取胫骨进行钙、磷及粗灰分的测定。

1.7 试验时间与地点

2005年11月14日~12月25日在佳木斯市佳南

岳增华,黑龙江农业职业技术学院,畜牧师,154007,黑龙江省佳木斯市胜利路52号。

李垚,东北农业大学。

收稿日期:2006-05-21

表 1 试验日粮配方及营养水平

项目	0~3 周龄				4~6 周龄			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
日粮组成(%)								
玉米	60	60	60	60	64	64	64	64
豆粕	31	31	31	31	27	27	27	27
鱼粉	3.5	3.5	3.5	3.5	2.6	2.6	2.6	2.6
大豆油	1.7	1.7	1.7	1.7	2.6	2.6	2.6	2.6
石粉	1.2	1.3	1.373	1.441	1.37	1.326	1.4	1.465
磷酸氢钙	1.1	0.57	0.453	0.335	1	0.47	0.353	0.235
食盐	0.28	0.28	0.28	0.28	0.3	0.28	0.28	0.28
赖氨酸	0.07	0.07	0.07	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06
蛋氨酸	0.11	0.11	0.11	0.11	0.07	0.07	0.07	0.07
植酸酶	-	0.01	0.01	0.01	-	0.01	0.01	0.01
沸石粉	-	0.46	0.504	0.554	-	0.584	0.627	0.68
预混料	1	1	1	1	1	1	1	1
营养水平								
粗蛋白(%)	20.52	20.52	20.52	20.52	18.51	18.51	18.51	18.51
代谢能(MJ/kg)	12.23	12.23	12.23	12.23	12.60	12.60	12.60	12.60
钙(%)	0.945	0.824	0.824	0.824	0.891	0.768	0.768	0.768
总磷(%)	0.634	0.544	0.524	0.504	0.592	0.502	0.482	0.462
非植酸磷(%)	0.45	0.36	0.34	0.32	0.4	0.31	0.29	0.27
盐(%)	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
赖氨酸(%)	1.12	1.12	1.12	1.12	0.981	0.981	0.981	0.981
蛋氨酸(%)	0.454 3	0.454 3	0.454 3	0.454 3	0.381	0.381	0.381	0.381

注:1.预混料向每千克配合饲料提供维生素 A 12 000IU、维生素 D₃ 3 400IU、维生素 E 35IU、维生素 K₃ 3mg、维生素 B₁ 2.4mg、维生素 B₂ 8mg、维生素 B₆ 4.5mg、维生素 B₁₂ 0.022mg、烟酸 50mg、泛酸 12mg、叶酸 1.2mg、生物素 0.2mg、胆碱 1 000mg、Fe 80mg、Zn 40mg、Cu 10mg、Mn 60mg、I 0.35mg、Se 0.35mg。
2.粗蛋白质、钙、磷为分析值,其余为计算值。

养鸡场进行试验,共计 42d。

1.8 结果计算及统计分析

所有数据采用 P 检验进行统计分析。

2 试验结果

2.1 试验鸡的增重(见表 2)

由表 2 可知,对照组全期平均每只鸡增重 2 108.6g,

表 2 试验鸡的增重情况

项目	入舍体重(g)	21 日龄体重(g)	42 日龄体重(g)	0~3 周龄增重(g)	4~6 周龄增重(g)	全期增重(g)
I 组	41.0±1.93	736.6±37.8	2 147.9±59	695.6	1 411.3	2 108.6
II 组	40.9±1.97	758.2±40.2	2 237.2±65	717.3*	1 479*	2 196.3*
III 组	41.1±1.91	755.3±39.1	2 229.8±60	714.2*	1 474.5*	2 188.7*
IV 组	41.0±1.96	713.2±41.1	2 090.4±71	672.2	1 377.2	2 049.4

注:与对照组(试验 I 组)比较,*为差异显著(P<0.05)。

试验 II 组全期平均增重 2 196.3g, 比对照组多增重 87.7g, 增重提高了 4.2%, 差异显著(P<0.05); 试验 III 组全期平均增重 2 188.7g, 比对照组多增重 80.1g, 增重提高了 3.8%, 差异显著(P<0.05); 试验 IV 组全期平

均增重 2 049.4g, 比对照组降低 59.2g, 增重降低了 2.8%, 差异不显著(P>0.05)。

2.2 肉仔鸡采食量和饲料转化率的变化(见表 3)

从表 3 可以看出,与对照组比较,试验全期试验

表 3 试验鸡的采食量和饲料转化率

项目	耗料(g)			料肉比		
	0~3 周龄	4~6 周龄	全期	0~3 周龄	4~6 周龄	全期
I 组	986.2	3168.8	4155	1.418	2.245	1.972
II 组	968.3	3145.4	4113.7	1.35	2.127	1.873
III 组	972.6	3179.4	4152	1.362	2.156	1.897
IV 组	954.5	3160.7	4115.2	1.42	2.295	2.008

II 组的饲料转化率提高了 5.0%, 差异显著(P<0.05); 试验 III 组的饲料转化率提高了 3.8%, 差异显著(P<0.05); 试验 IV 组饲料转化率降低了 1.83%, 差异不显

著(P>0.05)。

2.3 试验鸡胫骨中钙、磷以及粗灰分含量的变化(见表 4)

表 4 试验鸡胫骨中钙、磷、粗灰分含量分析(%)

项目	21 日龄			42 日龄		
	钙	磷	粗灰分	钙	磷	粗灰分
I 组	18.54±0.53	8.37±0.24	48.4±1.02	18.96±0.78	8.87±0.32	49.8±1.36
II 组	18.23±0.45	8.39±0.32	47.9±0.97	18.62±0.57	8.96±0.27	49.1±1.42
III 组	18.06±0.51	8.35±0.28	47.7±1.11	18.31±0.47	8.89±0.25	48.5±1.27
IV 组	17.71±0.74	8.12±0.34	46.6±1.45	17.88±0.84	8.54±0.31	47.6±1.78

从表 4 可以看出,各试验组随着日粮中磷酸氢钙的含量降低,鸡胫骨中钙、粗灰分的含量和对照组相比也相应降低,但差异不显著($P>0.05$)。试验 II、III 组鸡胫骨中磷的含量与对照组相比基本相当;试验 IV 组鸡胫骨中磷的含量与对照组相比有所下降,但差异不显著($P>0.05$)。

2.4 鸡只死淘数

试验全期,试鸡死淘数和健康状况 4 个组相比差别不大。

3 分析与讨论

3.1 植酸酶能提高鸡的日增重和饲料转化率

在猪、禽日粮中添加一定量的植酸酶,能有效消除植物性饲料中植酸的抗营养作用,显著提高植酸磷、蛋白质、氨基酸及矿物质元素等营养物质的消化利用率(张明峰等,1999),改善畜禽生产性能。本试验结果表明,每千克日粮添加 500U 植酸酶替代 0.11% 的无机磷可使日增重提高 3.8%,饲料转化率提高 3.8%,同时经济效益也最佳。在肉鸡饲料中添加植酸酶能显著提高生长速度和饲料转化率,增加日增重,缩短饲养周期。

3.2 植酸酶可提高鸡对磷的利用率

植酸酶可以分解植酸,释放磷酸盐,理论上每克植酸产生 281.6mg 磷(欧秀琼等,2005)。应用植酸酶可以提高肉鸡对磷的利用率 (Simmon 等,1990;Mroz, 1994;Qian 等,1997),保证骨骼的坚硬度(Yi 等,1996;Qian 等,1996)。本试验以每千克试验组日粮添加 500U 植酸酶,分别替代日粮中 0.09%、0.11%、0.13% 的无机磷,从而减少相应的磷酸氢钙的用量,通过肉仔鸡日增重、饲料转化率及骨骼质量等测试指标,结合经济效益分析表明,在肉仔鸡玉米-豆粕型日粮中添加 0.01% 的植酸酶(活性为 5 000U/g)替代日粮中 0.11% 的无机磷为最适替代比例,即每千克肉仔鸡日粮(玉米-豆粕型)中添加 500U 植酸酶可提高磷的利用率 17.4%(前期)和 18.6%(后期)。

3.3 植酸酶可提高其它矿物质元素的利用率以及日粮中适宜的钙与总磷的比率

张若寒(1995)研究报道,植酸与带电荷的矿物质都能形成稳定的络合物,使这些矿物质的可利用性降低,而添加植酸酶增强了磷的代谢和利用,也使其它矿物质元素的吸收率提高。Sebastian 等(1996)在肉鸡玉米-豆粕型日粮中添加植酸酶,不但提高钙、磷的消化率,也提高了锌、铜的消化率。日粮中的钙含量过高,会影响植酸酶的活性。在添加了植酸酶的低磷日粮中降低钙、磷比例,可提高鸡的生产性能和磷的利用率。因此,在植酸酶实际应用中应注意保持日粮适宜钙磷水平和比例,适当降低钙的水平有助于磷的吸收。Qian 等(1997)研究表明,钙磷比和维生素 D 会对植酸酶的作用效果产生影响,钙磷比在 1.1:1 和 1.4:1 之间有利于提高植酸酶的作用效果。本次试验,试验组日粮钙磷比例按 1.3:1 设计后用植酸酶替代相应比例的磷酸氢钙,结果表明,在肉仔鸡玉米-豆粕型日粮中添加 0.01% 的植酸酶(活性为 5 000U/g)替代日粮中 0.12% 的钙是可行的。

4 结论

植酸酶可以提高饲料中钙、磷的利用率,并能显著提高肉仔鸡的生长性能。本次试验表明,在肉仔鸡玉米-豆粕型日粮中添加 0.01% 的植酸酶(活性为 5 000U/g)替代日粮中 0.12% 的钙和 0.11% 的磷可显著提高鸡的生长性能并能取得最佳的经济效益,为最适替代比例。本次试验结果是用植酸酶替代不同比例的磷酸氢钙中的无机磷所获得的,而通常认为磷酸氢钙中磷的利用率为 95%。由此可推断出,在肉仔鸡玉米-豆粕型日粮中植酸酶(活性为 5 000U/g)的潜在营养价值:钙为 1 200%,磷为 1 100%,有效磷为 1 045%。植酸酶的潜在营养价值可以简单地理解为相当于多少可消化养分,其前提是必须有底物存在,植酸酶才能通过直接或间接地释放底物所含的养分来体现其潜在营养价值,同时植酸酶对不同的动物日粮具有不同的潜在营养价值。在进行饲料配方设计时,只需将植酸酶当作一种饲料原料,将其潜在营养价值、添加量和价格输入原料数据库,优化配方即可,使用非常方便。

(编辑:刘敏跃,lm-y@tom.com)

植 酸 酶 的 研 究 与 应 用

王 翔 陈代文

植物性饲料中磷的含量相对较少,而其中约有 60%~75%的磷以植酸的形式存在(Markus 等,1999; Pasamontes 等,1997; Ostanin 等,1968; Nelson 等,1968),饲料植酸中的磷必须在消化道内水解成无机磷酸盐才能被动物利用。反刍动物瘤胃微生物能产生植酸酶,可有效地分解植酸磷并利用释放出的磷,利用率一般为 60%,成年反刍动物可高达 90%;而单胃动物缺乏能水解植酸的酶或其酶的活性极低(Pointillart 等,1984; Markus 等,1999),因而单胃动物对植物饲料中的磷利用率很低。研究表明,猪只能利用玉米中磷的 10%~12%;利用豆粕中磷的 25%~35%(Cromwell, 1993)。典型猪日粮中磷的利用率只有 15%,而 85%的磷随粪便排出。

植酸不仅难以被单胃动物利用,它还影响动物对矿物元素和蛋白质的利用率。植酸与铜可形成稳定络合物而影响铜的生物学效价。在 pH 值为 6 时,植酸同时与多种离子结合,其中以 Zn-Ca-Cu-植酸和 Cu-Ca-植酸形式最多。在肠道 pH 值条件下,饲料中植酸含量高时可使单胃动物对钙的吸收率降低 35%。在酸性或近中性环境中植酸可与蛋白质分子发生很强的螯合作用,形成难溶物。当 pH 值低于蛋白质的等电点时,蛋白质中赖氨酸的 α 或 ϵ 氨基、精氨酸和组氨酸的胍基带正电荷,由于强烈的静电作用,它们易与带负电的植酸形成不溶性植酸——蛋白二元复合物;当 pH 值高于蛋白质等电点时,蛋白质的游离羧基和组氨酸上未质子化的咪唑基带上负电荷,此时蛋白质就以多价阳离子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 等为桥,与植酸形成三元复合物(Nyman 等,1989)。植酸蛋白二元或三元复合物的形成使蛋白质结构改变,溶解度降低,导致其消化率降低。

植酸还能与动物消化道中的胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶等结合,使酶活性降低,它也能抑制 α -淀粉酶和脂肪酶活性(Nyman, 1989),使饲料营养物

质消化利用率降低。

Nelson(1968)首次提出的猪、鸡日粮中添加微生物植酸酶,解决饲料中因植酸盐的存在引起的一系列问题。此后,由于提取植酸酶和大批量生产的技术尚不成熟,该建议暂未能在工业领域实施。进入 20 世纪 90 年代,已经研制成功了商品植酸酶,具有较高的酶活且价格适中,它们的出现,提供了生产中应用植酸酶的可能。

1 植酸酶

1.1 植酸酶的来源和分类

植酸酶最早是由 Suzuki 等(1907)在米糠中发现的,后来又相继在多种微生物(如枯草杆菌和假单孢菌、酵母及曲霉)(Ravindran 等,1995; Power, 1994)以及植物(植物籽实)和动物组织中检测到了植酸酶的存在。自然界存在不同来源的植酸酶,根据它水解植酸第一个磷酸基团的位置,可分为两种类型:3-植酸酶(E.C.3.1.3.8)和 6-植酸酶(E.C.3.1.3.26)。3-植酸酶作用于植酸时,在 Mg^{2+} 的参与下,先从肌醇的第三位碳原子催化植酸释放无机磷,然后依次释放其它碳上的无机磷;而 6-植酸酶,其催化作用始于肌醇的第六位碳原子上的磷。

根据植酸酶基因及氨基酸序列的不同,可将植酸酶大致分为 5 类:PhyA、PhyB 霉菌及部分细菌来源,PhyC(*Bacillus subtilis* 来源)、玉米植酸酶和其它类植酸酶。

1.2 植酸酶的理化性质

植酸酶和其它酶类一样具有酶的共同性质,其活性受温度、环境 pH 值、激活剂、抑制剂、底物及产物浓度等各种因素的影响。不同来源的植酸酶由于分子大小、氨基酸组成、空间结构特点的不同,故最适 pH 值和最适温度范围各不相同。现已研究的各种不同来源植酸酶的最适 pH 值和最适温度见表 1。

大部分微生物来源的植酸酶,特别是真菌植酸酶的最适 pH 值一般在 4.5~7.0。无花果曲霉植酸酶在 pH 值为 2.5 和 5.5 时有两个最适值,但 pH 值为 2.5 时的酶活只有 pH 值为 5.5 时的 48%,因此,无花果曲霉植酸酶的最适 pH 值为 5.5。植物种子中的植酸酶最适 pH 值在 4.0~7.5,大部分在 4.0~5.6。通常在动物胃中

王翔,四川农业大学动物营养研究所,在读硕士,625014,四川雅安。

陈代文,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-06-02

低 pH 值环境下植酸酶活性可能很低,且它的活性可能因为底物过多和分解产物的存在而受到强烈抑制。

表 1 不同来源植酸酶的最适 pH 值和最适温度

植酸酶来源	最适 pH 值	最适温度(°C)	K_m
米曲霉	5.3	50	0.47
黑曲霉	5.5	53	0.48
无花果曲霉	5.5	55	0.013
大肠杆菌	4.5	55	0.13
枯草杆菌	6.0~6.5	60	0.5
酵母	4.6	45	0.21
大豆	4.5~4.8	55	未测定
发芽玉米	4.8	55	未测定

注: K_m 为米氏常数,在一定测定条件下, K_m 越小表明酶对底物亲和力越大。

不同的植酸酶有不同的最适温度,且其活性与存在的温度有关,一般最适温度在 45~60°C。有研究发现,纯化植酸酶在 68°C 条件下放置 10min 后,活性丧失 60%。Simons 等(1990)报道,制粒前后温度分别为 50°C 和 81°C 时,无花果曲霉植酸酶活性损失不超过 6%;当制粒前、后温度分别为 60°C 和 87°C 时,植酸酶活性的损失达 54%。而芽孢杆菌 DSII 菌株植酸酶最适反应温度为 70°C,比一般的植酸酶最适温度高,具有很强的热稳定性,在 $CaCl_2$ 存在的条件下,70°C 温浴 10min 后仍具有 100% 的酶活性,而 90°C 温浴 10min 后,酶活性仍有最初酶活力的 5%;在没有 $CaCl_2$ 存在的条件下,热稳定性在 50°C 时就急剧下降,这表明 Ca 离子对该植酸酶抵抗热变性有着重要的作用。

1.3 影响植酸酶活性的因素

1.3.1 影响植酸酶作用的 pH 值范围

植酸酶有多个最适 pH 值范围,可能是与胃及肠中各段的 pH 值范围相近,而酶活性最适 pH 范围越宽,其在畜禽消化道内的适应性就越强。Simons 等(1990)报道,粗制植酸酶的活性最高峰有两个(见图 1),这两个高峰出现在 pH 值为 2.5~3.0 和 5.5~6.0 范围之内,且前一个 pH 值范围内的峰高要大些。重组黑曲霉酸性植酸酶最适 pH 值高峰有 3 个,依次为 2.8、4.5、6.5。

1.3.2 温度对植酸酶活性的影响

Peers 试验测定,当小麦在 80°C 以上的蒸汽中加热 10min 后,其中的植酸酶活性就会部分丧失,但在 80°C 以下,活性几乎没有损失;将小麦植酸酶在 100°C 下加热 1.5h,其酶活性损失了 25%;加热 3h,酶活性则损失近 90%。Jongbloed 等也发现,用高于 80°C 的蒸汽制粒,会引起小麦中植酸酶活性下降,而冷压制粒却

不会引起酶活的变化。Gibson 等(1990)研究了大豆植酸酶的性质,其适宜的温度是 50°C,在 60°C 时发生变性。韩延明(1995)研究了不同加热温度下麦麸中植酸酶活性的变化,在 60°C 或 80°C 下将麦麸加热 1h,其中的植酸酶活性仅损失了 7%,而在 100°C 时加热 1h,活性损失达到 60%,这说明,在 60~80°C 之间,植酸酶有很好的热稳定性。据 Simons 等(1990)报道,制粒前每千克饲料加入 250U 植酸酶,制粒后颗粒饲料温度分别为 78、81、84、87°C 时,植酸酶活性的存留率分别为 96%、94%、83%、46%,可见 87°C 以上温度制粒时,酶活丧失率为 54%。高温使酶活性下降,而热处理时间过长同样影响酶的活力。因此,冷压制粒、微囊包被、制粒后喷洒、拌入粉料直接饲喂是避免酶失活的 4 种有效措施(霍启光,2002)。

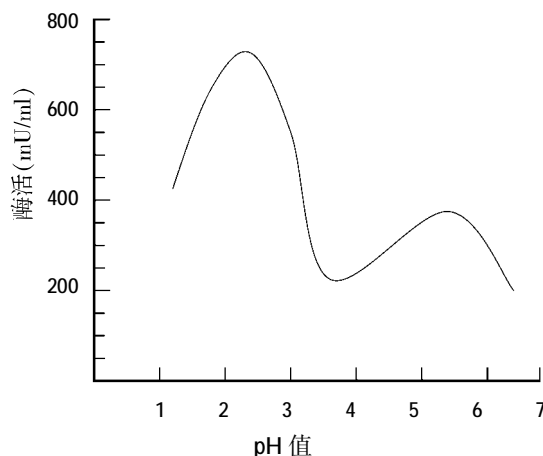


图 1 pH 值对粗制植酸酶活性影响

1.3.3 饲料中钙、磷及钙磷比对植酸酶效果的影响

添加植酸酶能提高饲料中钙、磷利用率,同时动物饲料中钙、磷水平对植酸酶的有效性也有较大影响。Irving 和 Cosgrove(1974)报道,无机正磷酸盐可能是无花果曲霉植酸酶的抑制剂。Sebastian(1996)研究表明,低磷饲料中添加植酸酶能促进肉仔鸡生长,增加矿物质沉积,促进骨骼的生长发育。Simons 等(1990)也发现,在猪、鸡的低磷、高植酸饲料中补充植酸酶,提高了磷的吸收利用,并提出如果大量植酸磷能被利用,那么玉米-豆粕型日粮中所含有的磷足够满足猪、鸡的营养需要,不需要额外添加磷。Qian 等(1996)在不同磷水平、钙磷比值条件下对火鸡应用植酸酶的效果进行了研究,结果表明,磷水平是影响植酸酶活性的关键。饲料植酸酶在低磷水平下效果更好,多余的无机磷会抑制植酸酶活性,饲料无机磷含量为 0.27% 和 0.36% 时使植酸酶活性分别降低 7.5% 和

6.7%。钙水平也影响植酸酶活性,其原因可能有两种:①多余的钙与植酸结合形成不溶性复合物,不利于植酸酶作用;②多余的钙可能竞争酶活性中心,而直接降低植酸酶活性。研究表明,当钙与总磷比值从 1.4 增加到 2.0 时,植酸酶活性分别降低 7.4% 和 14.9%,在钙与磷比值为 1:1~1.4:1 时,植酸酶效率最高。

1.3.4 维生素 D₃ 对植酸酶有效性的影响

维生素 D₃ 能刺激植酸盐的水解,有助于磷和钙的吸收。Edwards(1993)报道,添加 5 μ g/kg 1,25-(OH)₂D₃ 到缺磷的玉米-豆粕型饲料中可使磷存留量从 31% 提高到 68%,补充 75 IU 植酸酶可使磷存留量进一步提高到 79%。Mitchell(1996)研究表明,植酸酶和 1,25-(OH)₂D₃ 在增加植酸磷的利用潜力上是相同的,同时也表明两者可能存在协同作用。在肉仔鸡上,植酸酶和 1,25-(OH)₂D₃ 可综合影响 0~3 周龄肉仔鸡对磷的利用,对处于 4~5 周龄的鸡也有影响作用。植酸酶和 1,25-(OH)₂D₃ 存在相互作用,表明它们是以不同的方式促进磷的利用:当植酸酶将植酸磷水解后,1,25-(OH)₂D₃ 就增加游离磷的吸收;1,25-(OH)₂D₃ 提高钙的利用,也可增加植酸酶活性。

另外,1,25-(OH)₂D₃ 可能刺激小肠植酸酶的产生。有研究表明,维生素 D₃ 增加了雏鸡小肠植酸酶活性和碱性磷酸酶活性。饲料中添加维生素 D₃ 5~10 μ g/kg 可使植酸磷利用率由 30% 提高到 80% (Edwards, 1993)。Mitchell 等(1996)在低磷、低维生素 D₃ 日粮中添加 5 μ g/kg 维生素 D₃ 和添加 600U/kg 植酸酶的效果一致,都可替代 1g 非植酸磷,维生素 D₃ 和植酸酶配合使用可替代 2g 的非植酸磷。

2 植酸酶的应用

近年来,随着发酵工程和生物技术的发展,人们使用 DNA 重组技术,将高活性植酸酶基因转移到高产菌株的基因组,使微生物植酸酶的产量与活性大幅度提高。目前,植酸酶的生产成本大大降低,在畜牧业上的应用越来越广泛。

植酸酶能提高植酸磷的消化利用率,在单胃动物低磷饲料中添加植酸酶可明显提高其生产性能(Newton, 1983; Simons 等, 1990)。Nelson 等(1971)在含总磷 0.3%、植酸磷 0.18% 的鸡全价料中添加无花果曲霉植酸酶,试验鸡的胫骨灰分与添加 0.16% 磷酸二钠组相似,证明试验鸡确实既能利用无机磷,又能利用植酸磷。Shurson 等(1984)在体重 65~100kg 的猪日粮中(含磷 0.35%)添加酵母培养物,改进了猪的生长速度。

2.1 植酸酶在猪和鸡上的应用

Simons 等(1990)报道,1 000U/kg 植酸酶使生长猪磷的表观消化率提高 24%,粪磷减少 35%。Young 等(1993)发现,仔猪日粮中添加 500U/kg、1 000U/kg 植酸酶,显著提高磷吸收和骨生长,猪的生长速度、饲料效率、血清磷、跖骨灰分、跖骨磷含量提高,血清碱性磷酸酶活性下降。Mroz 等(1994)研究发现,800U/kg 黑曲霉植酸酶可使 N、Ca、P 沉积增加,每日粪排出分别减少 5.5、2.2、1.9g;干物质、有机物、粗蛋白、钙、总磷以及除胱氨酸和脯氨酸外的所有氨基酸总消化率都有所提高;总磷、植酸磷、蛋氨酸、精氨酸的回肠表观消化率提高。韩延明等(1995)研究表明,猪日粮中添加微生物植酸酶与天然植酸酶都能达到添加无机磷的效果,粪磷排出量比无机磷组低 55% 和 32%。植酸酶的添加不仅能改善磷的利用,而且能提高氨基酸利用率,对于氨基酸缺乏的日粮,饲料效率提高 6.8%。

植酸酶能够提高肉仔鸡对磷的利用率(Pemey, 1990)及生长速度,肉鸡增重与植酸酶或无机磷酸盐的添加水平呈线性关系(Simom 等, 1990)。Simom 等(1990)报道,在含总磷为 0.45%、无机磷含量为 0.15% 的肉鸡饲料中添加 250~1 500U/kg 微生物植酸酶,可使肉鸡植酸磷利用率提高到 60% 以上,粪中磷排出减少 50%。Broz 等(1994)报道,在低磷肉鸡日粮中添加 50U/kg 粉状或液态植酸酶,两种形式的植酸酶分别使生长速度提高 6.50% 和 13.10%;采食量增加 3.34% 和 9.21%;耗料增重比下降 2.72% 和 3.26%;血磷提高 6.37% 和 25.58%;血钙和粪磷下降 5.59%、4.62% 和 8.7%、10.11%;跖骨灰分显著增加。Pemey 等(1991)在含有有效磷 0.32%、0.38%、0.44% 的肉鸡日粮中添加 0.5%、1.0%、1.5% 的植酸酶,鸡日增重提高 18.5%~39.60%。Sebastian 等(1996)在低磷肉鸡日粮中添加 60U/kg 微生物植酸酶,21 日龄公鸡和母鸡体重分别增加 5.8%、13.2%;血磷浓度都提高 15.7%;P、Ca 等沉积量分别增加 12.50%、12.2%。Cantor(1995)试验发现,在含有 0.27% 有效磷的肉鸡日粮中加入 1 200U 的植酸酶,鸡体重、采食量分别增加 5%、8.44%,血磷升高 17.83%;胫骨灰分、强度分别增加 20.37%、81.92%。

2.2 植酸酶在鸭上的应用

饲料中添加植酸酶后可使其中植酸盐蛋白质复合物分解,从而提高了蛋白质的消化率;同时使一些酶恢复了原有的活力,进而提高饲料代谢能值。蒋守群在蛋鸭上的饲养试验结果表明,饲料中添加 500IU/kg 植酸酶可使磷的存留率提高 36.8%;氮的存留率提

EM对鲫鱼生长和血液生理指标的影响

伍莉 陈鹏飞

摘要 将健康的当年鲫鱼400尾随机分为4组,每组两个重复,每个重复50尾,各组分别饲喂添加0%EM、2%EM、4%EM、6%EM的饵料,试验结束后,测定各组鱼的增重率和血液生理指标,分析在饲料中添加不同浓度的EM后对鲫鱼生长发育和血液生理指标的影响。试验结果显示,添加6%EM试验组鲫鱼的增重和血液生理指标效果最佳。

关键词 EM;血液生理指标;鲫鱼

中图分类号 S965.17

Effect of effective microorganisms (EM)
on the growth and the blood parameters index of carassius auratus

Wu Li, Chen Pengfei

Abstract The healthy 400 carassius auratus in those years were divided into 4 groups at random, each testing includes two repeats, with each of 50 carassius auratus. Then each testing group was fed with feedstuff mixed into 0%EM, 2%EM, 4%EM and 6%EM respectively. We measured the increase on the weight and the blood physiological index of each group and analysed the different concentration of EM to the influence of the growth and blood physiological index of carassius auratus after 40 feeding days. As a result, the best consequence on the increase of the weight and the blood physiological index of crucian appeared in the group of 6% EM.

Key words EM; blood physiological index; carassius auratus

伍莉,西南大学荣昌校区动物医学系,讲师,402460,重庆荣昌。

陈鹏飞,西南大学荣昌校区水产学院。

收稿日期:2006-02-27

随着水产养殖业的快速发展,越来越广泛地在饲料中添加各种药物促长剂、抗生素,虽然它们对促进生长、提高饲料利用率有一定帮助,但同时也使正常的养殖生态环境遭到破坏,间接对人类健康造成损害。EM技术的引进对解决这些问题有较好的帮助。

高19.3%;排泄物中氮和磷含量分别降低61.6%和42%;其钙、磷的消化率分别提高10%。Farrell(1993)在基础饲料含磷量接近NRC、钙在NRC正常水平时,每千克日粮中添加850IU的植酸酶,发现添加组较不添加组磷的存留率提高30%~40%。贾振全等(2000)报道,在樱桃谷鸭(3~7周)饲料中添加植酸酶,试验组较对照组磷的存留率提高20%。植酸酶能提高鸭胫骨灰分和钙、磷的沉积,提高鸭的日增重,对饲料报酬也有提高趋势;植酸酶使饲料钙、磷的利用率提高,而粪便中磷的排出量下降(席锋等,2000)。对于蛋鸭,植酸酶能提高其增重,对蛋鸭的产蛋性能有显著影响。

3 存在问题

在实际生产中利用植酸酶,需解决以下几方面的问题:①全面测定饲料常用植酸酶的活性,从中选出

最适宜畜禽消化道内环境的、活性高的植物植酸酶。②酶的稳定性,包括酸稳定性、对高温的稳定性和对胃中强酸性环境的稳定性。这是植物植酸酶能否在饲料中得到广泛应用的关键问题之一。在饲料中添加缓冲剂,使之达到植物植酸酶表现最佳活性所需的pH值,也许能更好地发挥植物植酸酶的作用。③植物植酸酶在畜禽饲料中适宜的添加比例,应依据其活性大小与作用特点而定,如完全比照微生物的植酸酶的添加量,可能不能取得最佳效益。④植酸酶的提纯、包被工艺,如何提高酶的纯度和稳定性。⑤植酸酶在畜禽消化道发挥作用的具体情况,如植酸酶在消化道不同部位的活性、稳定性,为植酸酶的应用提供参考。

(参考文献37篇,刊略,需者可函索)

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

EM是英语 Effective Microorganisms 的缩写^[1],是由日本琉球大学比嘉照夫教授于20世纪80年代初从天然环境中筛选出来的微生物菌体经培养、繁殖后制成的含有大量有益菌的活菌制剂,由光合细菌、乳酸菌、酵母菌、放线菌等10个属80多种微生物复合培养而成。EM不含任何有害化学物质,无毒副作用^[2],无残留和二次污染,使动物不产生抗药性^[3]。目前已在中國、巴西、美国、日本、泰国等40多个国家推广使用,在促进植物生长、增强畜禽抗病能力、增强养殖对象的免疫力、去除粪便恶臭、改善生态环境和提高产品质量等方面都表现出良好的作用^[4]。目前,EM在整个水产养殖中大多是直接施放于水体^[5],EM原露渗入水体后,能抑制病原微生物和有害物质,调节养殖生态环境,提高水中溶氧量,促进养殖生态系统中正常菌群和有益藻类活化生长,保持养殖水体的生态平衡^[6]。EM若拌入饵料投喂,可增强鱼类的吸收功能和防病抗病能力,促进其健康生长^[7]。在鱼类饵料中添加EM已见部分报道,但多限于在鱼类的促生长作用方面,而在鱼类饲料中添加EM对其血液生理指标影响的研究却少见报道,而这方面的研究对于了解鱼类的正常生长、进行人工饲料研究、改良目前的养殖方式和推广健康养殖具有重要的意义。本试验旨在通过对饲喂不同浓度EM原露的鲫鱼血液生理指标进行测定,了解添加EM对其血液生理指标的影响,为合理配制饲料、改善鲫鱼体质、降低养殖成本、提高经济效益、推广养殖新模式提供一定的参考依据。

1 材料和方法

1.1 试验鱼

由西南农业大学(荣昌校区)水产学院实习渔场提供的400尾个体大小相近的当年鲫鱼种,随机分为4组,每组两个重复,每个重复放养50尾鲫鱼。分别统计每组试验鱼的平均始重,各试验组鲫鱼均用(2.3×1.0×0.8)m³水泥池进行微流水养殖,水深0.4m。试验鱼暂养一周,待鱼全部适应环境、正常摄食后开始试验,试验时间30d。

1.2 EM增活及饲喂方法

EM菌液由江西天意技术开发有限公司提供,活菌数不少于10⁸个/ml,pH值≤3.5,棕褐色。将EM原露、红糖、水按(质量)1:10:150比例混合,在30~33℃条件下静置24h增活微生物。4个试验组分别用0%EM、2%EM、4%EM、6%EM原露,喷于饵料上,晾干投喂。上午8:00、下午6:00左右投食,投饵量以鱼

30min内吃完散开并略有剩余为准。

1.3 基础日粮

基础日粮配比(%):鱼粉15.0、蚕蛹5.0、面粉20.0、米皮糠6.0、豆粕12.0、菜粕33.97、玉米蛋白粉5.0、磷酸二氢钙2.0、预混料1.0、粘合剂0.03。经分析,营养水平为(%):粗蛋白38.0、粗纤维6.32、粗脂肪2.19、钙0.89、磷1.15。

1.4 样本处理

试验结束后先停止投食,饥饿1d后计算每个试验组鱼的体重、增重率等生长指标,再与试验前的数据比较,即可得出添加不同浓度EM对鲫鱼生长状况的影响。最后断尾取血,进行红细胞数、白细胞数、血红蛋白含量、红细胞渗透脆性、红细胞沉降率、红细胞压积等血液生理指标的测定^[8,9]。

1.5 血液生理指标测定方法

红细胞数:以赫姆氏液为稀释液,将血样稀释200倍后,用血细胞记数板计数。

白细胞数:以提尔克氏溶液为稀释液,将血样稀释20倍后,用血细胞记数板计数。

血红蛋白含量:采用沙利氏(Sahli)法测定。

红细胞渗透脆性:采用试管稀释法^[10]测定。

红细胞沉降率:用Westergren法测定单位时间内红细胞沉降的毫米数。

红细胞压积:将装有抗凝血的红细胞压积管(温氏压积管)以4000r/min速度离心30min后,计算红细胞压积百分数。

2 结果和分析

2.1 生长对比试验

试验结果见表1。从试验结果不难看出,随EM在饲料中添加量的增加,鲫鱼无论是增重率还是成活率都呈现上升的趋势,其规律是6%EM>4%EM>2%EM>0%EM。试验组IV比对照组平均增重率高82.96%。

2.2 血液生理指标

在血液生理指标上(见表2),红细胞数和白细胞数、血红蛋白含量以及红细胞压积都呈现6%EM>4%EM>2%EM>0%EM的趋势;而红细胞渗透脆性和红细胞沉降率则呈现6%EM<4%EM<2%EM<0%EM的趋势。

3 结论和讨论

3.1 EM对鲫鱼的促生长作用

本试验用不同浓度的EM饲喂鲫鱼,发现添加EM后试验各组鲫鱼无论是增重率或成活率都高于对照组,且呈现规律性变化:6%EM>4%EM>2%EM>0%

表 1 EM 饲养鲫鱼的增重效果

项目	对照组 I (0% EM)		试验组 II (2% EM)		试验组 III (4% EM)		试验组 IV (6% EM)	
	1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]
放养尾数(尾)	50	50	50	50	50	50	50	50
平均始重(g)	30.12	29.89	31.09	31.13	30.17	31.13	31.11	31.96
平均末重(g)	50.91	49.08	56.12	57.21	64.16	65.48	68.76	71.18
平均增重(g)	20.79	19.19	25.03	26.08	33.99	34.35	37.65	39.22
增重率(%)	69.02	64.20	80.51	83.78	112.66	110.34	121.02	122.72
平均增重率(%)	66.61		82.15		111.50		121.87	
成活率(%)	89.0		95.0		96.0		97.0	

注:增重率(%)=(平均末重-平均始重)÷平均始重。

表 2 EM 对鲫鱼血液生理指标的影响

项目	对照组 I (0% EM)	试验组 II (2% EM)	试验组 III (4% EM)	试验组 IV (6% EM)
红细胞数(万个/mm ³)	106.2±12.56	116.4±15.36	119.89±20.45	128.36±24.12
白细胞数(万个/mm ³)	4.95±0.51	5.32±0.58	5.41±0.64	6.10±0.67
血红蛋白含量(g/100ml)	5.23±0.32	5.82±0.38	6.13±0.53	7.15±0.69
红细胞沉降率(mm/h)	2.23±0.16	1.97±0.46	1.83±0.31	1.71±0.26
红细胞压积(%)	28.0±3.1	32.1±3.5	35.4±3.8	38.8±4.3
红细胞渗透脆性(NaCl%)				
开始溶血	0.50~0.44	0.48~0.43	0.45~0.38	0.42~0.32
完全溶血	0.36~0.32	0.34~0.31	0.33~0.29	0.30~0.28

EM。添加 6%EM 试验组鲫鱼平均增重率比对照组高 82.96%，差异极显著($P<0.01$)；成活率提高 8.99%，差异显著($P<0.05$)。这与陈强^[11]等(1996)投喂添加不同浓度光合细菌(EM 物质中的一种微生物)的配合饵料饲养对虾的研究(添加光合细菌量的大小与对虾生长呈明显正相关)有相同的结果。据石传林^[12]等(2000)试验，EM 菌液对罗氏沼虾的防病治病有明显效果，尾扇上有缺损症状的虾占总虾数的比例从 43.0%下降为 22.7%，由于 EM 有效地控制了罗氏沼虾的疾病，因而加快其生长。

用 EM 饲喂畜禽提高了其生产性能和营养物质的利用率，原因可能与 EM 菌群通过竞争排斥机理，竞争有限的营养物质和结合位点，形成保护屏障；酵母菌、乳酸菌等菌群的产酸活动，形成了消化酶活性，有利于改善环境等有关^[13]。在畜禽日粮中直接添加酸制剂，或间接通过肠道微生物发酵或产酸活动均可起到降低肠道内环境 pH 值的作用，从而有利于刺激肠壁消化腺的代谢分泌活动，增加消化酶的分泌量，提高消化酶活力，因而提高动物的生长速度和成活率。

王旭明等^[14](2002)在研究“有效微生物群(EM)对饲料 pH 值及营养价值的影响”时发现，EM 对饲料具有明显的酸化作用，EM 能提高饲料中氨基酸的含量，这可能是 EM 提高蛋白质和氨基酸的利用率，促进动

物生长的另一作用机理。在养殖业上，能提高饲料酸度(pH 值降低)的一类物质称作饲料酸化剂，将饲料酸化后可以改善动物的生产性能^[15]。EM 在饲料发酵过程中，一方面能显著降低饲料的 pH 值，起到酸化剂的作用。饲料酸化后，可使胃内 pH 值下降，从而激活胃蛋白酶原转化为胃蛋白酶，促进蛋白质的分解，这对于消化系统尚未发育完善的幼龄动物来说，作用更明显^[16]。另一方面，酸性物质还能降低胃肠蠕动，减缓排空时间，从而提高消化吸收率；同时，由于酸性物质的配位作用，可促进胃肠道对 Ca、P 等矿物质的吸收^[17]。饲料酸化还是提高日粮适口性的重要因素，日粮中的酸能直接刺激口腔内的味蕾细胞，使唾液分泌增多而增进食欲，而且有机酸具有独特的芳香，可掩盖饲料中的不适气味^[18]。除此之外，胃肠道的酸性环境还可以阻止机体内部大肠杆菌的繁殖，刺激有益菌的生长，该种有益菌进入动物体后可作为一种外来抗原，诱导 T 细胞和 B 细胞的增殖和分化，提高动物的免疫能力^[19]。

3.2 EM 对鲫鱼血液生理指标的影响

由表 2 可见，添加 EM 后试验各组鲫鱼的血液生理指标发生了明显变化，红细胞数、白细胞数、血红蛋白含量以及红细胞压积都呈现 6%EM>4%EM>2%EM>0%EM 的趋势，而红细胞沉降率和红细胞渗透脆性则

呈现相反变化趋势。血液生理指标在一定程度上反映出养殖对象的营养和机能状态,格里内奥等早在1955年就得出在水环境一致的情况下,养殖鱼类的红细胞数和血红蛋白含量与营养状况有密切的关系,营养状况良好,养殖鱼类的红细胞数和血红蛋白含量均有明显升高,反之降低。学者普契科夫及费多洛娃研究认为,食物成分也能对血液生理指标产生影响,以肝脏饲养小河鲑,其红细胞数与血红蛋白含量均会增加。尾崎元雄^[9](1982)也发现,当饵料不充分,鱼类营养不良时,红细胞数和血红蛋白含量偏低。桂远明^[20]等(1989)在比较几种饲料添加剂饲养鲤鱼后进行营养价值评定时,曾经提出红细胞数、血红蛋白含量等可作为评价鱼类营养状况的指标。

本试验中,添加不同浓度 EM 试验组鲫鱼的红细胞沉降率和红细胞渗透脆性都有一定程度的降低,这个结果也正好体现了 EM 在改善鲫鱼机能状态方面的功效。因为红细胞沉降率与血液浓度(粘滞性)有直接关系,当血液中红细胞数量和血浆蛋白浓度增多时,血液粘稠度增加,红细胞沉降率会降低^[21]。从本试验结果可以发现,添加的 EM 原露对饲料具有明显的酸化作用,提高了饲料中氨基酸的含量,使试验组的鲫鱼比对照组具有更快的生长速度,血液中红细胞数量和血浆蛋白浓度大大提高,降低了红细胞沉降率。此外,本试验在 7~8 月进行,夏季营养充足,红细胞数量和红细胞压积增加,红细胞沉降率会相应下降。红细胞渗透脆性大小与机体的营养状态有一定关系,当营养充足,机体活动能力增强时,血液中红细胞数量和血红蛋白浓度呈上升趋势,红细胞的最大抵抗值也越大^[20],即红细胞渗透脆性越小(NaCl%会减小)。

本试验条件下,试验组鲫鱼的血液生理指标明显优于对照组,说明 EM 能够在一定程度上能有效地提高饲料的利用率,增加饲料的营养价值,从而使试验组鲫鱼的日增重率和成活率都高于对照组。

4 小结

本试验添加 EM 后试验各组鲫鱼无论是增重率或成活率都高于对照组,而在血液生理指标方面,红细胞数、白细胞数、血红蛋白浓度以及红细胞压积等都呈现 6%EM>4%EM>2%EM>0%EM 的趋势,而红细胞渗透脆性和红细胞沉降率则呈现 6%EM<4%EM<2%EM<0%EM 的趋势,该结果都与添加 EM 有密切关系。

综合试验结果可以看出:①EM 中的各种有效微

生物不仅含有较多的优良蛋白质、组成齐全的氨基酸,还有丰富的维生素等,从而改善了原有饲料品质,提高了营养价值;②随饲料进入鱼体的 EM 能改善机体的微生态环境,促进鱼类的摄食、消化和吸收,从而具备较高的抵抗力和较快的生长能力。

参考文献

- 1 吴雅玲,高其栋.EM 简介[J].青海畜牧兽医杂志,1998(6):37~39
- 2 比嘉照夫.EM 情报大百科[M].综合 UNICOM 株式会社,1995.358~337
- 3 吴伟.应用复合微生态制剂控制养殖水体水质因子的初探[J].湛江海洋大学学报,1997(1):16~20
- 4 天意生物技术(江西)有限公司.EM 原露正在改变世界[J].江西农业经济,2000(3):70~72
- 5 潘志远.EM 制剂在中华鳖温室养殖中的应用研究[J].江西水产科技,1998(4):33~34,40
- 6 薛恒平.微生态制剂浅析[J].饲料工业,1996(1):30~34
- 7 天意生物技术(江西)有限公司.天意 EM 原露用户使用指南[J].EM 应用指南,1992(1):15~16
- 8 世界卫生组织著,王光清译.医院化验室基本技术手册[M].北京:人民卫生出版社,1980.351~429
- 9 福州部队总医院主编.临床医学检验[M].上海:上海科学技术出版社,1977.3~45
- 10 朱祖康,王艳玲.家畜生理学实验指导[M].北京:中国农业科技出版社,1998.23~24
- 11 陈强,张美婷.人工配合饲料中添加光合细菌养殖对虾的试验[J].中国饲料,1996(16):31~32
- 12 石传林,张兆喜,王会波,等.EM 在养殖中的应用[J].上海饲料,2000,6:27~30
- 13 孔路军,郑雅文,赖长华,等.EM 和酸化剂配合添加对肉仔鸡消化酶活性和血液生化指标及钙磷代谢的影响[J].山东家禽,2003(6):11~14
- 14 王旭明,倪永珍,李维炯.有效微生物群(EM)对饲料 pH 值及营养价值的影响[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2002,28(4):431~434
- 15 石宝明,单安山.饲用酸化剂的作用与应用[J].饲料工业,1999,20(1):3~5
- 16 石宝明,单安山.饲用酸化剂的作用与应用(续)[J].饲料工业,1999,20(2):4~7
- 17 杨清旺,程抱奎.调味剂在饲料工业中的应用[J].饲料研究,1999(1):30~32
- 18 王水明.饲料酸化剂[J].中国饲料,1997(16):14
- 19 尾崎元雄.鱼类血液与循环生理[M].上海科学技术出版社,1982.27~182
- 20 桂远明,吴垠,祝国芹,等.用几种饵料添加剂饲养鲤鱼营养价值的比较[J].水利渔业,1989(3):14~18
- 21 赵维信.鱼类生理学[M].北京:高等教育出版社,1992.67~73

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

不同剂量甜菜碱对黄鳝存活、生长和免疫能力的影响

冯家斌 阮国良 杨代勤

甜菜碱是从甜菜加工副产品中提取的甘氨酸甲基内酯,对鱼类有诱食、促生长、降低饲料系数和促进脂肪代谢等作用^[1,2],现作为诱食剂广泛应用于饲料生产中。但甜菜碱对鱼类存活和免疫机能的影响目前极少报道。为此,我们以黄鳝(*Monopterus albus*)为对象,用不同剂量的甜菜碱投喂黄鳝苗种,研究了其对黄鳝存活、生长和免疫功能的影响,进而得出适宜的甜菜碱添加量,以达到养殖过程中提高黄鳝苗种免疫力和存活率的目的,同时也为鱼类的营养免疫学研究积累一些基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验鱼的饲养

试验用黄鳝取自长江大学黄鳝繁育基地,规格为12~17g。试验共分9组,每组30尾。将黄鳝饲养于55cm×35cm×45cm蓝色塑料饲养箱内,饲养箱水深15cm,在每箱中放入黑色塑料袋,以供黄鳝藏身。待摄食正常后进行投喂试验,每天傍晚19:00时左右以黄鳝体重3%~4%的量进行一次投喂。试验时间是10月5日~12月16日,试验期间用增温棒使水温保持在(25±1)℃,并于每天早上换水排污。

1.2 试验饲料的配制

饵料由1/3的粉状配合饲料加2/3白鲢肉组成。配合饲料选用湖北某品牌幼鳝配合饲料,其中分别添加0.0%、0.1%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%、1.5%、

2.0%的甜菜碱(甜菜碱是由北京挑战饲料公司提供的复合II型甜菜碱,有效含量为36%)。

1.3 试验指标的测定

投喂试验完成后,计算黄鳝成活率和增重率。此外,从每组中随机抽取5尾黄鳝进行如下指标的测定。

1.3.1 吞噬细胞吞噬活性的测定

用装有最小针头的1ml注射器在洁净凹玻片的凹孔内加入0.02ml肝素溶液,然后用血红蛋白吸管吸取黄鳝血液0.04ml,立即放入以上凹孔内,轻轻搅动混匀,再用1ml注射器加入约0.02ml的嗜水气单胞菌悬液,充分混匀。将凹玻片放入铺有数层湿纱布的培养皿或有盖搪瓷盘(先放入37℃温箱)内,放37℃温箱中作用30min,每隔10min摇匀一次。取一小滴血液与嗜水气单胞菌混合液于载玻片上,取另一边缘光滑的玻片用其边缘推液滴成薄片,待干;然后滴加甲醇固定3min,用水冲洗,晾干。用碱性美蓝染液染色1~2min,水冲洗,晾干,最后在油镜下观察。吞噬百分比的计算按文献^[3]介绍的方法进行。

1.3.2 酶活性的测定

溶菌酶活性和超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定参照文献^[4,5]进行。

2 结果与分析

2.1 成活率和增重率(见表1)

除6~8组外,其它各组黄鳝均有不同程度的死

表1 摄食含不同甜菜碱饲料的黄鳝的成活率和增重率

组别	甜菜碱添加量 (%)	存活率 (%)	初始总重 (g)	终末总重 (g)	尾均增重率 (%)
1	0.0	70.0	327	401	75.2
2	0.1	66.7	335	397	77.7
3	0.2	83.3	355	567	92.4
4	0.4	93.3	340	655	107.1
5	0.6	96.6	351	763	124.8
6	0.8	100	355	985	178.0
7	1.0	100	317	885	178.3
8	1.5	100	329	686	108.9
9	2.0	96.6	342	607	83.3

冯家斌,长江大学化学与环境工程学院,助教,434023,湖北荆州市南环路1号。

阮国良、杨代勤,长江大学动物科学学院。

收稿日期:2006-05-08

亡。少量添加甜菜碱对黄鳝的成活率并无多大影响,但随着甜菜碱添加量的增加,死亡率呈逐渐下降趋势,当添加量达到0.8%~1.5%时死亡为0。

当甜菜碱的添加量在0.1%时几乎对黄鳝的生长

没有多大影响。当添加量上升到 0.4% 时,黄鳝的个体增重率与对照组相比提高 30% 以上;当添加量为 0.8% 和 1.0% 时,个体平均增重率则达峰值,与对照组相比提高了 100% 以上;随着添加量的继续增大,增重效果迅速下降。

2.2 血液中吞噬细胞吞噬功能(见图 1)

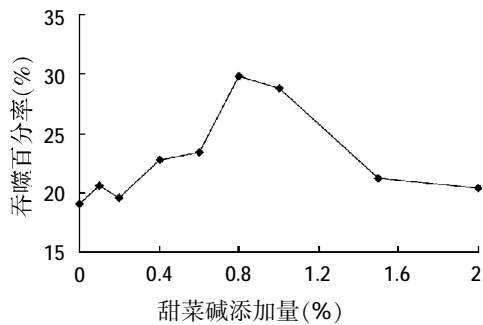


图 1 摄食含不同甜菜碱饲料的黄鳝血细胞吞噬百分率

为减小试验误差,在每组镜检时选择 5 个视野亦即共随机选择了 500 个细胞来测定白细胞的吞噬百分率。从图 1 可以看出,与对照组比较,随着甜菜碱含量的增加,吞噬活性从 19% 逐步上升,当添加量达到 0.8% 时吞噬百分率上升到 29.8%,达最高峰值,比对照组高 10% 以上。随后又迅速下降,添加量 2.0% 时达最低值。说明添加适量的甜菜碱能有效提高黄鳝血液吞噬细胞的吞噬能力。

2.3 溶菌酶活性(见图 2)

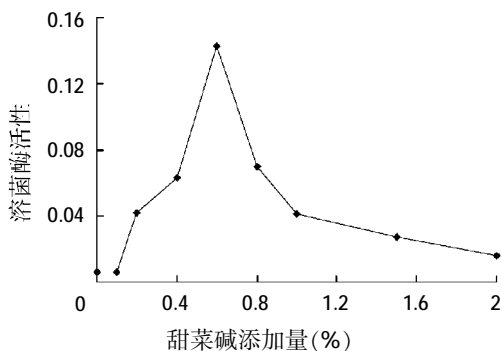


图 2 摄食含不同甜菜碱饲料的黄鳝血清溶菌酶活性

与对照组相比,随着甜菜碱添加量的增加,黄鳝血清溶菌酶活性显著增强,当甜菜碱添加量为 0.6% 左右时其溶菌酶活性达到峰值,随后又迅速下降。图 2 表明添加适量的甜菜碱能有效提高黄鳝血清溶菌酶活性。

2.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性分析(见图 3)

由图 3 可见,随着甜菜碱添加量的增大,SOD 活性逐渐增强,当添加量为 0.8% 左右时其 SOD 活性达到最大值,为对照组的 5 倍以上。此后,随着甜菜碱添加量的继续增加,其 SOD 活性反而迅速下降。图 3 表明添加适量的甜菜碱能有效提高黄鳝血清 SOD 活性。

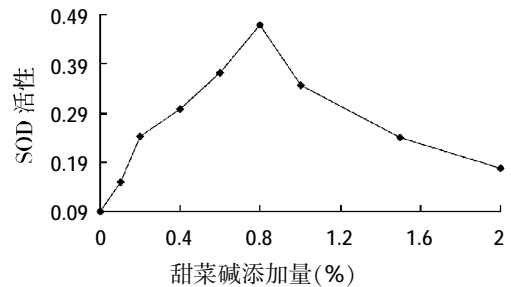


图 3 摄食含不同甜菜碱饲料的黄鳝 SOD 酶活性

3 讨论

关于增重和成活率方面的试验,与陆清儿(2001)对淡水白鲢的试验结果差异较大^[6],但在酶活性方面,与阎希柱(1997)的甜菜碱对尼罗罗非鱼生长和消化率影响的研究结果有一定的相似性,即相关酶活性达到最大时的最适甜菜碱浓度比较接近^[7]。造成这一现象的原因可能同鱼的种类和不同甜菜碱的质量和属性有关。

甜菜碱对水产动物有着广泛的生理效应,如诱食、抗应激、调节渗透压等效应。本试验的结果还表明,添加适量的甜菜碱还可以增强鱼类的免疫能力,特别是非特异性免疫机能,这对于低等脊椎动物的鱼类有着重要的意义,特别是对于黄鳝这样的无鳞鱼尤为重要。因此,甜菜碱已被作为多功能新型饲料添加剂在黄鳝的配合饲料中应用。

参考文献

- 郭玉琴,丁角立.甜菜碱营养机理及在养殖业中的应用[J].国外畜牧科技,1995,22(6):12-141
- 陈芳,杨代勤,阮国良,等.甜菜碱对黄鳝生长及肌肉与肝脏脂肪含量的影响研究[J].湖北农学院学报,2004,24(3):190-192
- 林清华.免疫学实验[M].武汉:武汉大学出版社,1999
- 简纪常,吴灶和.中草药对建鲤非特异性免疫功能的影响[J].大连水产学院学报,2002,17(2):114-119
- 莫照兰,李会荣,俞勇,等.细菌糖蛋白对螯虾免疫因子的影响[J].中国水产科学,2000,7(3):28-32
- 陆清儿,李忠全,周向阳.盐酸甜菜碱对淡水白鲢生长性能、鱼体解剖特性和肉质的影响[J].浙江海洋学报(自然科学版),2001,20(增刊):130-136
- 阎希柱,丘岭泉.饲料中添加甜菜碱对尼罗罗非鱼蛋白酶、淀粉酶活性的影响[J].中国水产科学,1997,4(4):88-93

(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

不同饲料对种鳖繁殖效果的影响及甲鱼卵的营养成分分析

吕景才 赵元凤 刘靖 李世阳 张卫明

摘要 试验从饲料因素影响甲鱼的人工繁殖效果出发,从营养的角度初步探讨了不同饲料的营养价值。同时测定了甲鱼卵的营养成分,通过与禽类蛋比较分析,评定了甲鱼卵的营养价值,也从甲鱼卵的常规营养成分及微量元素等方面的反馈信息来指导种鳖的饲料成分的配制,以求达到更加适宜的营养配给,从而提高甲鱼的产卵率和受精率。

关键词 饲料;繁殖效果;甲鱼卵;营养成分

中图分类号 S947.1

Different animal feed to grow the nourishment composition analysis of the influence of the soft-Shelled Turtle egg and the effect of Trionyx sinensis breeds

Lü Jingcai, Zhao Yuanfeng, Liu Jing, Li Shiyang, Zhang Weiming

Abstract It is fundamental for high quality fry and artificial cultivation of terrapin to nourish parent terrapin. In the paper, the forage affecting the result of cultivation and the nutritive value of different forage were studied primarily. By comparing with chicken eggs, it evaluated the nutritive value of soft-Shelled Turtle eggs, and common nutrition in ingredients and trace elements to direct the ingredients of feed. So we can raise the rate of fertilization and spawn to provide fry with good quality and promote the development of cultivation of terrapin.

Key words feed; effect of reproduce; soft-Shelled Turtle eggs; component of nutrition

甲鱼由于肉质细嫩、味道鲜美、营养丰富,因而具有较高的滋补功效和药用价值,在当今的水产养殖中占有很重要的地位。随着国内外市场的逐步扩大,野生鳖产量的急剧减少,工厂化养鳖得到了迅猛发展。作为人工养殖的基础苗种问题以及如何更能有效的减少投入、增大产出、尽量降低饲料成本,保证其快速生长,提高经济效益,这些问题是养殖生产中亟待解决的问题。

人工养鳖生产过程中,优良苗种的获得是一个中心问题。在目前的大规模现代化养鳖场中,鳖卵的受精率一般为30%~50%,而鳖卵的受精率不仅与外界的环境因素及亲鳖本身因素有关,而且与作为种鳖的营养供给的饲料方面,即其营养成分的全面性和平衡性有着很重要的关系。现今的市售饲料中,常规

的营养成分一般并不缺少,也不易失衡,而作为对生物体生长发育起重要作用的矿物元素,由于需求量少而被人们所忽视,也恰恰因为它的不足影响到动物的生产性能。矿物元素(含微量元素)是鳖身体所必需的组分,有些元素还参与代谢和酶体系等,对生物体的生长、发育及繁殖都起着很重要的作用。如何在常规营养成分满足了种鳖的营养需求的基础上,更有效的补充这些矿物元素,进而降低饲料系数,取得更高的饲料报酬,是目前需解决的问题。

利用鳖场的市售饲料为对照组,自配的饲料为试验组A、B,在各种试验条件都相同的条件下分别进行种鳖投喂试验,分析不同营养成分的饲料对种鳖人工繁殖的影响,分析甲鱼卵的营养成分及利用价值。为种鳖的营养供给提供参考。

1 材料和方法

甲鱼试验在大连金州养鳖场进行,甲鱼取自大连金州养鳖场种鳖室。亲鳖均是选取健康、体重相当、无病、无伤、无残的个体。试验饲料为自配饲料,对照组为市售饲料。

种鳖池面积110m²,水深1m,一般4~5d换水一

吕景才,大连水产学院海洋环境工程学院,教授,116023,辽宁省大连市沙河口区黑石礁街52号。

赵元凤、刘靖、李世阳、张卫明,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-05-22

★ 辽宁省教育厅科学研究计划资助(05L087)

次,3个试验池均保持相同的外界条件,雌雄配比相近。在试验开始前一周分别投喂试验饲料和市售饲料。试验时间从2月8日开始,到4月28日结束,共80d。每天投喂两次,分别为上午8时和下午3时,投喂量为亲鳖体重的3%~5%。另外,不定期投一些鲜饵料,如鸡肝、鸭肝等。保持产卵场的湿润,亲鳖产卵后,取卵间隔期为一周左右,收集卵时,要小心扒取,轻拿轻放,以免弄破。

受精卵的鉴别:动植物极分界线清晰者(对光照后,动物极一端有一白点)为受精卵,两极分界线不整齐或没有的为未受精卵,每次把未受精的卵除掉,不参与孵化。

甲鱼卵的营养成分分析:选取未破甲鱼卵,先将

其洗净,煮熟分成两份,其中测定全卵组的一份不得有破皮和裂痕;卵黄组的一份是将蛋壳清除掉,只分离出卵黄,分离完成后,立即称取湿重(供测定水分),然后经105℃常压烘箱中烘至恒重。粗蛋白测定用凯氏定氮法;脂肪含量用索氏抽提法测定;水分含量测定在105℃下烘干恒重;灰分含量在马弗炉中550℃下焚烧20~24h测定;钙含量用高锰酸钾滴定法测定;磷含量用钼兰比色法测定;铁含量用EDTA滴定法测定;铜、钴含量用原子吸收法测定。

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 饲料对种鳖繁殖效果的影响(见表1)

由表1可见,A组种鳖的产卵量最高,A组的产

表1 饲料对亲鳖繁殖效果的影响

项目	雌鳖数(只)	雌雄比例(雌:雄)	产卵总数(枚)	平均产卵量(枚/只)	受精卵总量(枚)	受精率(%)	均受精卵量(枚)
试验组A	367	4.65:1	9 835	26.8	3 554	36.1	9.7
试验组B	368	4.91:1	5 985	16.3	2 884	48.2	7.8
对照组C	360	4.62:1	6 773	18.8	3 429	50.6	9.5

卵总量比对照组C提高了45.21%,所产受精卵总数为3 554枚,比对照组C的3 429枚提高了3.65%。对于试验组B,其产卵总量还不如对照组。

从平均产卵量上看,投喂A饲料组的亲鳖在试验期内平均产卵量为26.8个,而投喂市售饲料的对照组C平均产卵为18.8个。

在受精率上,A组的受精率明显差于C组,C组相对于A组高出40.2%。B组也与C组有一定差距,

但并不很大,C组比B组高出5.0%。A组的种鳖平均产受精卵9.7枚,B组为7.8枚,C组为9.5枚。由此可见,虽然A组的产卵量较高,但受精率却偏低;在平均产受精卵这一项上考查,A组与C组相差很小;而B组的产卵量较低,但受精率还可以。

2.1.2 饲料的营养成分分析(见表2)

由表2可见,分析A、B、C3组饲料的营养成分,C组的蛋白质略高于A组和B组,但相差并不很大;

表2 各组饲料的营养成分分析

项目	水分(%)	灰分(%)	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)	钙(%)	磷(%)	镁(%)	微量元素(mg/g)		
								铜	钴	铁
试验组A	8.37	11.44	44.98	5.04	2.99	1.67	2.23	8.76	0.724	204.6
试验组B	8.29	11.56	46.63	4.83	3.16	1.72	2.28	0.22	0.343	85.8
对照组C	8.13	16.43	47.53	4.06	5.28	2.66	3.54	4.04	0.361	168.5

脂肪含量上,A、B两组的含量较高;最主要的差异在灰分含量上,C组的灰分比A组高出43.6%,比B组高出42.1%。灰分中的最主要成分就体现在Ca、P、Mg的含量上,C组的Ca含量比A组高出了76.6%,比B组高出了67.1%;在P含量上,C组比A组高出了59.3%,比B组高出了54.7%;而Mg的含量上,C组比A组高出了58.7%,比B组高出了55.3%。对于微量元

素,除B组的3种微量元素含量较低外,A组含量最高,约为C组的2倍。

2.1.3 甲鱼卵的营养成分分析

甲鱼卵与禽类卵的营养成分比较见表3。甲鱼卵的营养成分为带壳情况下的测定值,鸡蛋、鸭蛋的相应数据为可食部分的测定数值。

2.2 讨论

表3 甲鱼卵与禽类卵的营养成分比较

项目	水分 (%)	灰分 (%)	粗蛋白 (%)	粗脂肪 (%)	钙 (%)	磷 (%)	镁 (%)	微量元素(mg/g)		
								铜	钴	铁
鸡蛋	73.3	1.1	12.08	10.5	35.00	174	4.5	0.13	-	4.5
鸡蛋黄	50.6	2.0	16.70	26.4	71.00	422	5.2	0.51	-	5.2
鸭蛋	65.9	1.2	11.07	17.5	67.00	267	1.3	0.12	-	1.3
鸭蛋黄	44.9	2.8	13.24	33.8	123.0	239	4.9	0.16	-	4.9
甲鱼卵	66.73	9.1	10.03	10.77	631.7	485	4.6	1.60	11.7	4.6
甲鱼卵黄	1.91	1.9	16.52	16.51	145.3	444	5.6	0.64	15.3	5.6

2.2.1 饲料对种鳖繁殖效果的影响分析

鳖的营养需求是以其自身的营养成分组成和各生长阶段所需营养为依据的,对于繁殖所需的种鳖,其营养状况直接影响繁殖效果及后代体质,对其饲料必须更加注重营养需求。对表1、2的综合分析来看,加入复合促生长剂的A组饲料对种鳖的产卵率有很大提高。但A组饲料相对于C组而言,蛋白质成分稍低,Ca、P含量相差很大。虽然A组的产卵数量较高,但卵的质量是较差的。C组的高灰分含量和相对较高的蛋白质含量对其卵的质量影响是很明显的,即受精率相对于A组是较高的,C组的受精率比A组高40.2%。因为鳖集中产卵较强,而鳖卵个体较小,相对来说,卵壳的比重较大,故矿物质元素的需求量也较大。因此,种鳖的饲料应加强蛋白质及无机盐组分含量。

综上所述,优质的饲料是鳖繁殖的物质基础,应注意鳖的繁殖阶段比生长阶段要求更高的蛋白质需求量,且这些高蛋白饲料应以动物性饲料为主。在矿物质元素供给上,应注意微量元素与它种需求量较大的矿物元素的对应比例关系。任何一方的过多过少,都会对繁殖产生不利的影响。

由以上3种饲料对种鳖的繁殖效果的影响上看,虽然A组饲料使产卵率增加了,但对真正可以作为衡量繁殖效果的平均产受精卵量上,这一指标与C组则接近,但A组种鳖消耗了更多的营养物质用以产未受精卵,这对种鳖的影响是不利的。所以,C组饲料相对于A组饲料更好,而B组饲料较差。

另外,在养殖生产中,单一的配合饲料喂养中应定期投喂一些鲜活饵料。鲜活饵料因其适口性好,易于消化吸收,且活性蛋白能促进性腺发育和卵细胞的生长发育,对种鳖的繁殖有积极的影响。

2.2.2 甲鱼卵与禽蛋类卵的营养对比分析

由表3可见,甲鱼卵与鸡蛋、鸭蛋的营养成分比较,在水分上,三者相差不大。由于甲鱼的全卵是带

卵壳测定的,与禽蛋类在可食部分测定值不易比较,但就卵黄上粗蛋白的对比,则甲鱼卵黄的粗蛋白含量较鸡蛋黄稍低,而甲鱼卵和鸡蛋的脂类相差也不大。由此表明,单位重量的甲鱼卵的常规营养成分与禽蛋类卵相比差异并不很大。而在矿物质元素上,如P、Ca、Cu、Mg等元素,则高于禽蛋类。从营养学上看,这些矿物质元素(部分为微量元素)才是人体所易缺乏的,虽然所需量较少,但对人身体的生长发育起很大作用。甲鱼卵有对人体有益的矿物质元素且含量高,标志着甲鱼卵的高营养价值。

在养鳖场中,由于卵的受精率较低(一般低于50%),致使大批未受精卵被淘汰。据鳖场介绍,未受精卵曾以最高2元/个,最低0.7元/个的价格出售过。如何在目前人们的营养保健意识愈加浓厚的现状下,是否可以开发这一新项目还有待于进一步探讨。

2.2.3 由甲鱼卵营养成分反馈分析种鳖的营养供给

在表1微量元素对种鳖的产卵率的对应关系中,高含量的微量元素和产卵率是成正相关的。在受精率上,由于甲鱼产卵需消耗大量的Ca、P、Mg等矿物质,因此,灰分含量对受精率的影响是正相关的。值得注意的是,在生物体中,镁对钙的吸收有影响作用,镁的缺乏,也会造成钙吸收和代谢的不利影响。在甲鱼卵中镁含量较高,也就相应的注意钙的补给,同时对钙磷比也应注意。矿物元素在饲料中的含量也不易过高。在蛋白质方面,应保证种鳖饲料的高蛋白含量,粗蛋白含量不应低于42%。注意不饱和脂肪酸的充足供给。在微量元素方面,用复合促生长剂的效果较好,既能很好的补充微量元素,又能提高种鳖的抗病力,已在饲料试验中证明了这一点。

(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

糖肽酮萆素对肉仔鸡生产性能、 免疫器官和血液生化指标的影响

祁宏伟 杨华明 于 维 刘海燕 秦贵信

摘 要 选1日龄艾维茵肉仔鸡600只,随机分成3组(每组4个重复,每个重复50只)。空白对照组饲喂基础日粮(无抗生素添加剂),抗生素对照组饲喂基础日粮+380mg/kg金霉素,试验组饲喂基础日粮+500mg/kg糖肽酮萆素,试验期为49d。饲养试验结果表明:在1~49日龄期间,试验组比空白对照组、抗生素对照组的肉仔公鸡平均日增重分别提高了17.42%($P<0.05$)、0.92%($P>0.05$);而料肉比分别降低了6.06%($P<0.05$)、1.06%($P>0.05$)。对于肉仔母鸡,与空白对照组相比,试验组日增重提高了12.68%($P<0.05$),料肉比降低了7.21%($P<0.05$);日增重及料肉比比抗生素对照组略低,但差异不显著($P>0.05$)。试验结果还表明,饲料中添加糖肽酮萆素可以明显提高免疫器官指数($P<0.05$)。对血清生化指标的测定结果表明,糖肽酮萆素组鸡的血清总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇含量比抗生素对照组和空白对照组均有明显降低($P<0.05$);而高密度脂蛋白胆固醇含量却反映出相反的趋势,试验组比对照组有了明显提高($P<0.05$)。试验组的血氨浓度、尿酸含量显著低于空白对照组($P<0.05$),与抗生素组差别不显著($P>0.05$)。本研究结果证明:糖肽酮萆素完全可以替代抗生素类饲料添加剂。

关键词 糖肽酮萆素;金霉素;替代抗生素;肉仔鸡

中图分类号 S816.32

抗生素作为饲料添加剂的安全问题一直受到国际社会的广泛关注,其焦点主要集中在抗生素的药物残留和耐药性问题上。大量研究表明,长期使用抗生素可能导致三致(致癌、致畸、致突变)以及使病原菌产生抗药性,进而危及到人类健康。因此,研究开发饲用抗生素替代物已成为当今世界高技术研究领域的热点。

天然植物提取物糖肽酮萆素是一种含有包括大豆低聚糖、大豆异黄酮、大豆皂甙和大豆多肽等多种生物活性物质的饲料添加剂,其有效成分 $\geq 30\%$ 。由于含有的多种活性成分能提高畜禽的生产性能,成为研究开发的热点。

本研究以肉仔鸡为试验动物,旨在系统研究新型饲料添加剂产品——糖肽酮萆素对肉仔鸡生长性能、机体免疫器官和血清生理生化指标的影响,在此基础上探讨糖肽酮萆素替代抗生素的可行性,为其在生产

实践中的推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验时间及地点

时间于2004年11月1日至12月19日,试验期为49d(前期1~21d;后期22~49d)。地点在吉林省农业科学院畜牧科学分院饲养场。

1.2 试验动物与试验设计

选择健康状况良好的1日龄艾维茵肉仔鸡600只,按照公母各半的原则随机分为3组,每组设4个重复,每个重复50只。其中一组为空白对照组,只饲喂基础日粮,不添加任何抗生素添加剂;一组为抗生素对照组,饲喂基础日粮+380mg/kg金霉素(15%金霉素预混剂,由内蒙古呼和浩特金河集团提供);一组为试验组,饲喂基础日粮+500mg/kg糖肽酮萆素(吉林省农科院研制)。

1.3 试验日粮组成及营养水平

基础日粮参照NRC(1994)肉仔鸡营养需要配制,基础日粮配方及营养水平见表1。

1.4 饲养管理

1~21日龄育雏期采用笼养方式;22~49日龄采用地面平养方式,每平方米饲养10~12只。试验期间人工控制鸡舍正常的湿度和温度,各组鸡每天光照23h,

祁宏伟,吉林省农业科学院畜牧科学分院,副研究员,136100,吉林省公主岭市东兴华街186号。

杨华明、于维、刘海燕,单位及通讯地址同第一作者。

秦贵信(通讯作者),吉林农业大学动物科技学院。

收稿日期:2006-06-08

★ 项目资金:吉林省科技厅重点项目资助(20050210-3)

表 1 基础日粮组成及营养水平

日粮成分	含量(%)		营养水平	1~21 日龄	22~49 日龄
	1~21 日龄	22~49 日龄			
玉米	58.73	62.41	代谢能(MJ/kg)	12.3	12.7
豆粕	28.5	26.0	干物质(%)	88.31	88.30
鱼粉	7.0	4.0	粗蛋白(%)	21.22	19.05
骨粉	0.6	1.0	粗脂肪(%)	3.24	3.45
磷酸氢钙	1.0	1.0	赖氨酸(%)	1.17	1.01
石粉	0.8	0.8	蛋氨酸(%)	0.55	0.365
食盐	0.17	0.23	蛋+胱(%)	0.84	0.642
蛋氨酸	0.2	0.06	苏氨酸(%)	0.83	0.741
添加剂	1.0	1.0	色氨酸(%)	0.25	0.226
动物油	2.0	3.5	亚油酸(%)	1.86	2.243
			钙(%)	1.1	1.118
			有效磷(%)	0.56	0.526
			NaCl(%)	0.38	0.345

注:添加剂由本研究所自行配制,按每千克饲料添加 VA 1 000IU、VD₃ 300IU、VE 16.5mg、VK 3mg、VB₁ 2mg、VB₂ 7mg、VB₁₂ 0.02mg、叶酸 0.8mg、烟酸 50mg、泛酸 14mg、Mn 60mg、Zn 40mg、Fe 80mg、Cu 8mg、I 0.35mg、Se 0.15mg。

黑暗 1h;全期自由采食和饮水。试验前鸡舍进行充分冲洗和严格消毒,试验期内每周消毒两次。按常规方法防疫程序进行免疫处理(7 日龄时用鸡新城疫 II 系弱毒苗滴鼻;10 日龄和 24 日龄时分别用传染性法氏囊疫苗饮水;35 日龄时用鸡新城疫 II 系毒苗饮水),试验期间不另外使用任何抗生素。

1.5 测定指标及方法

1.5.1 生长性能指标

饲养试验期间每天记录各试验组投料量和剩料量;观察鸡群的健康状况,详细记录鸡只死亡、淘汰和发病情况。并于 1 日龄、21 日龄和 49 日龄时进行空腹称重。根据试验数据计算平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)、料肉比(F/G)和死淘率。

1.5.2 免疫器官指数

分别于 21 日龄和 49 日龄,每组随机选取 6 只鸡(公母各半),称重后进行屠宰,摘取左侧胸腺、脾脏和法氏囊,剔除脂肪后称重,然后计算免疫器官指数(免疫器官相对重量),计算方法如下:

胸腺指数(%)=胸腺重/宰前活重;

脾脏指数(%)=脾脏重/宰前活重;

法氏囊指数(%)=法氏囊重/宰前活重。

1.5.3 血样的采集与制备

每个处理组随机选取 10 只鸡,分别翅静脉采血 5ml,将采集的血液放入装有 0.3ml 的 1%肝素钠的编号试管中,摇匀,试管放入 37℃ 水浴箱中静置 20~30min,然后 3 000r/min 离心 10min,分离出的血清装于 1.5ml 的 eppendorf 管中,置 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.5.4 血清生化指标的测定

把低温保存的血清在室温下解冻,采用 CHEM-5 半自动生化分析仪,按各种试剂盒(试剂盒均由宁波慈城生化试剂厂生产)的使用方法进行各项指标的测定。血糖(GLU)浓度采用邻甲苯胺法测定;总蛋白(TP)浓度采用双缩脲法测定;白蛋白(ALB)浓度采用溴甲酚绿法测定;球蛋白(GLOB)浓度采用 TP-ALB 法测定;总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)和甘油三酯(TG)浓度采用终点法测定;尿酸(URIC)浓度采用磷钨酸显色法测定;血氨(NH₃)浓度采用钨酸法测定。

1.6 数据处理与分析

采用 spss12.0 统计软件的 ANOVA 过程对试验数据进行统计分析,采用 Duncan's 法进行多重比较。试验结果数据以“平均值±标准差”形式表示。

2 试验结果

2.1 糖肽酮萜素对肉仔鸡生长性能的影响

不同试验期间肉仔鸡的平均体增重、平均日采食量、料肉比及死淘率情况见表 2、表 3。

2.1.1 糖肽酮萜素对肉仔公鸡生长性能的影响

1~21 日龄:试验组与空白对照组和抗生素对照组相比,肉仔公鸡平均日增重分别提高了 20.27%($P < 0.01$)、7.34%($P < 0.05$);相应的平均日采食量分别提高了 8.10%($P < 0.05$)、5.95%($P < 0.05$);而料肉比相应降低了 10.12%($P < 0.05$)、1.31%($P > 0.05$)。抗生素对照组与空白对照组肉仔公鸡相比,日增重和日采食量分别提高 12.04%($P < 0.01$)、2.04%($P > 0.05$);料肉比降低了 8.93%($P < 0.05$)。

22~49 日龄:试验组与空白对照组比较,肉仔公

表2 糖肽酮萜素对肉仔公鸡生长性能的影响

项目	空白对照组	抗生素对照组	试验组
1~21 日龄			
平均日增重[g/(只·d)]	25.41±2.32 ^{ab}	28.47±2.75 ^{ab}	30.56±2.05 ^{ab}
平均日采食量[g/(只·d)]	42.69±3.45 ^a	43.56±4.42 ^a	46.15±4.15 ^c
料肉比	1.68±0.12 ^{ab}	1.53±0.14 ^a	1.51±0.11 ^a
22~49 日龄			
平均日增重[g/(只·d)]	60.89±6.21 ^a	67.92±7.02 ^b	66.70±6.18 ^b
平均日采食量[g/(只·d)]	153.44±18.29	153.45±16.68	152.08±13.71
料肉比	2.52±0.23 ^a	2.26±0.19 ^b	2.28±0.21 ^b
1~49 日龄			
平均日增重[g/(只·d)]	44.83±3.02 ^a	52.16±4.23 ^b	52.64±4.25 ^b
平均日采食量[g/(只·d)]	88.76±9.33 ^a	98.06±10.87 ^b	97.91±8.96 ^b
料肉比	1.98±0.13 ^a	1.88±0.22 ^b	1.86±0.11 ^b
死淘率(%)	4	2	1

注:同行肩标注小写字母不同者表示差异显著(P<0.05),大写字母不同者表示差异极显著(P<0.01),字母相同或没有标注者为差异不显著(P>0.05)。下表同。

表3 糖肽酮萜素对肉仔母鸡生产性能的影响

项目	空白对照组	抗生素对照组	试验组
1~21 日龄			
平均日增重[g/(只·d)]	21.88±2.42 ^{ab}	24.15±2.14 ^b	24.23±2.52 ^b
平均日采食量[g/(只·d)]	37.63±3.36	38.88±3.72	38.77±4.23
料肉比	1.72±0.12 ^a	1.61±0.14 ^b	1.60±0.11 ^b
22~49 日龄			
平均日增重[g/(只·d)]	53.60±6.21 ^{ab}	61.37±6.36 ^a	60.81±6.18 ^a
平均日采食量[g/(只·d)]	140.43±15.37	140.54±14.72	139.86±12.58
料肉比	2.62±0.24 ^{ab}	2.29±0.21 ^b	2.30±0.25 ^b
1~49 日龄			
平均日增重[g/(只·d)]	42.43±5.28 ^{af}	47.90±4.81 ^c	47.81±4.37 ^c
平均日采食量[g/(只·d)]	88.25±11.29	91.97±11.31	91.80±9.82
料肉比	2.08±0.29 ^{af}	1.92±0.25 ^b	1.93±0.24 ^b
死淘率(%)	3	1	0

鸡平均日增重提高了 9.54%(P<0.05);比抗生素对照组降低了 1.80%(P>0.05)。各组肉仔公鸡平均日采食量间无显著差异(P>0.05)。试验组肉仔公鸡料肉比比空白对照组改善了 9.52%(P<0.05);与抗生素对照组相比差异不显著(P>0.05)。抗生素对照组与空白对照组相比,平均日增重提高 11.55%(P<0.01);料肉比降低了 10.32%(P<0.01)。

1~49 日龄:试验组与空白对照组和抗生素对照组相比,肉仔公鸡平均日增重分别提高了 17.42%(P<0.05)、0.92%(P>0.05);试验组平均日采食量比空白对照组提高了 10.31%(P<0.05),与抗生素对照组相比没有明显差异(P>0.05);而试验组的料肉比比二者分别降低了 6.06%(P<0.05)、1.06%(P>0.05)。抗生素对照组与空白对照组相比,日增重和日采食量分别提高 16.35%(P<0.05) 和 10.48%(P<0.05);料肉比降低了 5.05%(P<0.05)。

试验期间,统计由于腿部发病而淘汰和死亡的鸡

只数量,得出空白对照组、抗生素对照组和试验组鸡只的死淘率分别为 4%、2%和 1%。

2.1.2 糖肽酮萜素对肉仔母鸡生长性能的影响

1~21 日龄:试验组与空白对照组和抗生素对照组相比,肉仔母鸡日增重分别提高了 10.74%(P<0.05) 和 0.33%(P>0.05);各组平均日采食量间无显著差异(P>0.05);试验组的料肉比比空白对照组降低了 6.98%(P<0.05),比抗生素对照组低 0.62%(P>0.05)。抗生素对照组与空白对照组相比,平均日增重提高 10.37%(P<0.05);料肉比降低了 6.40%(P<0.05)。

22~49 日龄:与空白对照组比较,试验组肉仔母鸡日增重提高了 13.45%(P<0.05),比抗生素对照组降低了 0.91%(P>0.05);各组平均日采食量间无显著差异(P>0.05);试验组料肉比比空白对照组改善了 12.21%(P<0.05),与抗生素对照组相比差异不显著(P>0.05)。抗生素对照组与空白对照组相比,平均日增重提高 14.5%(P<0.05);料肉比降低了 12.6%(P<0.05)。

1~49日龄:与空白对照组相比,试验组肉仔母鸡平均日增重提高了12.68%($P<0.05$),比抗生素对照组略低,但差异不显著($P>0.05$);各试验组平均日采食量间无显著差异($P>0.05$);试验组的料肉比比空白对照组降低了7.21%($P<0.05$),与抗生素对照组相比无显著差异($P>0.05$)。抗生素对照组与空白对照组相比,平均日增重和平均日采食量分别提高12.89%($P<0.05$)和

4.22%($P>0.05$);料肉比降低了7.69%($P<0.05$)。

试验期间,统计由于腿部发病而淘汰和死亡的鸡只数量,得出空白对照组、抗生素对照组的死淘率分别为3%和1%,试验组的存活率为100%。

2.2 糖肽酮萆素对肉仔鸡免疫功能的影响

糖肽酮萆素对肉仔鸡免疫器官指数的影响见表4。

2.2.1 对胸腺指数的影响

表4 糖肽酮萆素对免疫器官指数的影响(g/kg)

项目	胸腺指数		脾脏指数		法氏囊指数	
	21日龄	49日龄	21日龄	49日龄	21日龄	49日龄
空白对照组	2.11±0.15 ^b	1.84±0.31 ^b	1.12±0.21	0.94±0.43	2.41±3.55 ^b	0.69±3.65 ^a
抗生素对照组	2.23±0.35 ^b	1.91±0.23 ^b	1.09±0.32	0.91±0.14	2.52±4.13 ^b	0.65±5.29 ^a
试验组	2.47±0.21 ^a	2.15±0.39 ^a	1.16±0.28	0.99±0.35	2.71±3.56 ^{ab}	0.77±4.41 ^{ab}

注:同列数据肩标小写字母相同者表示差异不显著($P>0.05$),不同者表示相异显著($P<0.05$)。

由表4可见,21日龄时,试验组肉仔鸡的胸腺指数分别比空白对照组和抗生素对照组提高17.06%($P<0.05$)和10.76%($P<0.05$);49日龄时,试验组鸡胸腺指数比二者分别提高16.85%($P<0.05$)和12.57%($P<0.05$),都达到了显著差异水平,而抗生素对照组虽然比空白对照组在数据上都提高,但两阶段都没有统计上差异($P>0.05$)。

2.2.2 对脾脏指数的影响

表4数据显示,试验组的脾脏指数均表现出比空白对照组和抗生素对照组提高的趋势,但均未达到显著差异水平($P>0.05$)。

2.2.3 对法氏囊指数的影响

21日龄时,试验组鸡的法氏囊指数分别比空白对照组和抗生素对照组提高12.45%($P<0.05$)和7.54%($P<0.05$);49日龄时,试验组鸡法氏囊指数比二者分别提高11.59%($P<0.05$)和18.46%($P<0.05$),均达到了显著差异水平。21日龄时抗生素对照组鸡的法氏囊指数高于空白对照组,在49日龄时却低于空白对照组,但没有呈现出统计差异($P<0.05$)。

2.3 糖肽酮萆素对肉仔鸡血清生化指标的影响(见表5)

由表5结果表明,在饲料中添加金霉素和糖肽酮

表5 糖肽酮萆素对肉仔鸡血清生化指标的影响

项目	空白对照组	抗生素对照组	试验组
血糖(mmol/l)	18.71±0.13	18.76±0.49	18.80±0.30
总蛋白(g/l)	34.45±3.42	34.73±4.64	34.89±3.59
白蛋白(g/l)	17.95±1.81 ^b	16.48±1.69 ^a	16.17±1.83 ^a
球蛋白(g/l)	16.50±0.91 ^a	17.25±1.23 ^a	18.72±0.92 ^b
总胆固醇(mmol/l)	4.24±0.27 ^a	4.01±0.33 ^a	3.91±0.25 ^b
甘油三酯(mmol/l)	0.64±0.07 ^b	0.62±0.09 ^b	0.58±0.08 ^a
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/l)	1.04±0.17 ^b	1.06±0.19 ^b	1.12±0.13 ^a
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/l)	2.94±0.17 ^a	2.92±0.23 ^a	2.75±0.16 ^b
血氨(μ mol/l)	189.87±42.54 ^{ab}	178.27±24.61 ^a	172.91±25.38 ^a
尿酸(μ mol/l)	376.42±52.12 ^{ab}	355.35±60.232 ^b	347.68±59.54 ^b

萆素均提高了鸡血清中葡萄糖浓度,但差异不显著($P>0.05$)。血清总蛋白也表现出同血糖一样的趋势;试验组和抗生素对照组的白蛋白水平差异不显著,但二者与空白对照组相比分别低9.92%($P<0.05$)和8.19%($P<0.05$);试验组鸡的球蛋白水平显著高于两个对照组($P<0.05$)。试验组鸡的血清总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇含量与抗生素对照组和空白对照组相

比,均有明显降低趋势($P<0.05$);而高密度脂蛋白胆固醇含量却反映出相反的趋势,试验组比对照组有了明显提高($P<0.05$)。试验组的血氨浓度比抗生素对照组有降低的趋势,但差异不显著($P>0.05$),但二者却分别比空白对照组降低8.93%和6.11%,差异显著($P<0.05$)。试验组鸡的血清尿酸含量表现出较抗生素对照组降低的趋势,但没有统计上的差异($P>0.05$),而二者都显著

低于空白对照组,分别降低 7.64%($P<0.05$)和 5.6%($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 糖肽酮萆素对肉仔鸡生长性能的影响

糖肽酮萆素含有多种生物活性物质,如大豆异黄酮、大豆肽、大豆皂甙、大豆低聚糖等。本试验研究结果表明,糖肽酮萆素作为饲料添加剂可明显促进肉仔鸡的生长,这主要因为糖肽酮萆素中所含的各种上述物质的活性成分叠加协同作用的结果。

大豆异黄酮具有弱的雌激素样作用,它能与下丘脑、垂体等雌激素受体不同程度的结合,影响动物神经内分泌系统的性轴,同时也影响生长轴,增强机体的同化作用。大豆异黄酮可通过内分泌途径,改变动物的内源激素水平及钙、磷代谢,从而提高其生产性能(王国杰等,1994;马得莹等,2004;晏和平等,2004;李莉鸿等,2005)。葛蔚等(2004)指出,大豆异黄酮的促肌肉生长作用机理是肌纤维的营养性肥大,蛋白质合成代谢加强,而不是加速细胞增殖的结果;同时,血清尿素氮含量显著下降,说明蛋白质分解代谢下降,动物体内氮的滞留增加。所以,大豆异黄酮可使雄性动物肌肉蛋白质积累增加,这与蛋白质合成过程加速和蛋白质分解代谢下降有关。

大豆肽具有促进微生物生长发育和活跃代谢的作用,提高机体免疫力(于长青等,2005);同时肽分子可以通过与矿物质形成一些离子型螯合物,保证其可溶状态,有利于机体吸收(崔鸿斌,2001)。

大豆皂甙主要通过提高机体免疫力,清除自由基,提高动物消化酶活性来提高动物生长速度和抗病力(许金新等,2004)。

大豆低聚糖可促进双歧杆菌的生长繁殖,是良好的双歧杆菌增殖因子,可使肠内双歧杆菌的含量提高 2~3 倍以上,改善肠内细菌群的结构,抑制腐败细菌滋长,从而有效地提高营养物质的消化、吸收、利用。

研究还发现,日粮中添加糖肽酮萆素对肉仔公鸡的促生长效果尤为明显,这与王国杰等(1994、1995)和郭晓红等(2004)的研究结果相一致。张荣庆等(1993、1995)、柯叶艳等(2002)、郭慧君等(2002)、赵志辉等(2002)、赵茹茜等(2002)、张响英等(2006)也都验证了这一结论。究其原因,笔者认为这主要是由于大豆异黄酮的影响所致。有关大豆异黄酮促进雄性动物的生长及机理,韩正康(1999)研究认为,大豆异黄酮具有微弱的雌激素活性,能与下丘脑、垂体等雌二醇受体不同程度的结合,影响动物神经内分泌系统的性轴,促进雄性动物睾酮的生成和释放;同时,也影响生长

轴,使垂体的 GH(生长激素)生成和释放增加,刺激肝脏 GH 受体发育和 IGF- I 生成加强。睾酮是促进雄性动物蛋白质合成代谢的激素;GH 也具有直接促进肌肉蛋白质合成的机能,和肝脏 GH 受体结合生成 IGF- I (生长介素)而 IGF- I 是促进动物生长的最终执行因子。此外,韩正康(1999)、王国杰等(1994、1995)研究结果表明,大豆异黄酮对雌性动物的生长性能无明显影响,认为这可能与大豆异黄酮使雌性动物促黄体激素(LH)下降、睾酮水平极显著下降、GH 受体减少有关。本研究结果显示,与空白对照组相比,糖肽酮萆素可显著提高肉仔母鸡的增重(12.68%)和降低饲料利用率(7.21%)。笔者认为这主要是由于糖肽酮萆素中的多活性因子组合产生的正效应比单一因子影响加强的结果。

3.2 糖肽酮萆素对肉仔鸡免疫器官的影响

胸腺、脾脏和法氏囊是禽类的重要免疫器官。本研究表明,日粮中添加糖肽酮萆素对肉仔鸡的胸腺、脾脏和法氏囊指数的影响很大,可显著提高其机体的免疫水平。这主要是和糖肽酮萆素中各种生物活性物质的免疫功能密切相关。

大豆异黄酮类化合物能提高动物机体免疫功能的机制可能有 4 个方面:①直接作用于免疫器官(胸腺和脾脏等)或各种免疫细胞上的雌激素受体;②调节垂体生长激素(GH)和催乳素(PRL)的分泌,通过 GH 和 PRL 间接发挥作用;③降低体内生长抑素(SS)对免疫细胞的抑制作用;④发挥抗雌激素作用、抗氧化作用,或抑制体内某些关键酶的活性,如抑制酪氨酸蛋白激酶(TPK)性活(董淑丽等,2004)。

大豆多肽也具有免疫刺激或免疫增强的功能。Ji Yeon Kim 等(1999)用菠萝蛋白酶水解大豆蛋白,得到的大豆肽片段对小鼠的淋巴瘤细胞具有 70%的细胞毒性,因此可以抑制肿瘤细胞的生长。Park Ahmee 等(2000)研究发现,大豆肽可以有效抑制幽门螺旋杆菌的生长,从而减少因幽门螺旋杆菌引起的胃炎和癌症,但对大肠杆菌没有抑制作用。大豆肽还可以增强巨噬细胞和 B 细胞活力,增强免疫功能。

高英等(2003)指出,佐剂和免疫调节效应是免疫刺激的两个组成部分。大豆寡聚糖能与一定毒素、病毒、真核细菌的表面结合而作为这些外源抗原的佐剂,能减缓抗原吸收的时间,增加抗原的效价。寡聚糖作为佐剂的效用可加强细胞免疫和体液免疫;寡聚糖也具有抗原性,能够产生特异性免疫应答。含甘露糖的寡聚糖可通过刺激肝脏分泌能与甘露糖结合的蛋白,这种糖蛋白可结合侵入机体的细菌,也与细菌荚

膜相联结并发出一连串的补体而影响免疫系统。大量动物试验研究表明,大豆低聚糖能促进双歧杆菌在肠道内大量繁殖,而双歧杆菌能诱导免疫反应,从而增强机体免疫功能。双歧杆菌可增强各种细胞因子和抗体的产生,提高自然杀伤细胞(NK细胞)和巨噬细胞的活性等。同时,双歧杆菌的存在能减少肠道内葡聚糖苷酸酶、硝基还原酶、偶氮还原酶的含量,间接对肠道免疫细胞产生刺激,提高肠道产生免疫球蛋白A浆细胞的能力,诱导免疫反应,增强机体免疫力(Kantha D, 1999;胡刚,2002)。

郁利平等(1992)在研究大豆皂甙对小鼠细胞免疫功能影响的试验中证明,大豆皂甙可以提高淋巴因子激活杀伤性细胞(LAK细胞)、自然杀伤细胞(NK细胞)的活性,增加白细胞介素-2(IL-2)的分泌及增强T、B淋巴细胞对刀豆素(ConA)、脂多糖(LPS)的增殖能力,这些都说明大豆皂甙在体内对小鼠的免疫功能有广泛的调节效应。大豆皂甙对T细胞功能有增强作用,T细胞功能的增强使IL-2的分泌增强,而IL-2可以保持T细胞的存活与增殖,促进T细胞产生淋巴因子,增加诱导杀伤性T细胞和NK细胞分化及提高LAK细胞活性,从而表现出较强的免疫功能。孙学斌等(2000)研究了大豆皂甙对C57和Swiss两种荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫器官的影响,对大豆皂甙的免疫效应进行了探讨,结果发现经大豆皂甙饲喂的荷瘤小鼠脾脏、胸腺明显增生。

3.3 糖肽酮萜素对肉仔鸡血清指标的影响

血清总蛋白含量增加是蛋白质代谢旺盛的表现,有利于家禽对蛋白质的利用和降低饲料消耗,血清中的球蛋白是机体内主要参与免疫反应的蛋白质,它的水平升高说明机体对外界不良反应敏感性增大,致使机体内环境发生了变化。球蛋白含量提高,可能意味着机体体液免疫功能的加强(吴琼,2005)。在试验中,糖肽酮萜素的添加使血清总蛋白和球蛋白的含量有显著增加趋势。试验组均高于对照组。血清总蛋白含量的提高可能与糖肽酮萜素促进鸡对饲料蛋白质利用有关,而血清球蛋白含量的增加,可以提高机体的免疫能力,促进动物生长。总蛋白和球蛋白含量的升高,与糖肽酮萜素促进动物生长和增强免疫力是相互关联的。

蛋白质在动物体内的代谢产物主要是尿酸,其次是氨等,主要通过肾脏排泄。在动物血液中,氨的来源主要有3条途径:一是体内氨基酸的脱氨基作用;二是嘌呤、嘧啶的脱氨基作用(在肌肉及中枢神经组织中有相当量的氨是腺苷酸脱氨基产生的);三是从消

化道吸收的氨,这些氨主要是在消化道中细菌的作用下,由未被吸收的氨基酸脱氨基作用产生的。在动物体内氨是有用的物质,它可通过脱氨基作用的逆反应与 α -酮酸生成氨基酸;而且在嘌呤、嘧啶等含氮化合物的合成中也需要氨。但氨在体内又是有剧毒的,在正常情况下动物体内氨的含量甚少,动物体内氨的浓度不能过高,否则动物健康将受到伤害。动物体清除氨的途径有:①形成无毒的谷氨酰胺,谷氨酰胺是运输和贮存氨的方式;②形成无毒的尿素(哺乳动物的主要排氨方式);③形成尿酸(禽类的主要排氨方式);④直接排出氨等。

尿酸是鸡排氨的主要形式,尿酸主要是由蛋白质和核酸降解生成的。一般而言,蛋白质合成加强,蛋白质分解代谢降低,血清尿酸浓度会下降。本试验结果显示,日粮中添加糖肽酮萜素可以促使血清中尿酸和血氨含量显著下降。这一结果说明糖肽酮萜素可显著促进机体对尿酸以外的含氮化合物的合成。由于采食添加糖肽酮萜素饲料的肉仔鸡的日增重显著增加,同时伴随尿酸含量降低的结果说明,在糖肽酮萜素能降低血氨的机制除有抑制微生物的作用之外,还与其促进机体氮沉积的作用有关。血清中血氨和尿酸含量降低说明蛋白质分解代谢降低,合成加强,这与血清中TP水平相吻合,也很好解释了糖肽酮萜素的促生长机制。

血清中脂肪和胆固醇的含量状况能反映组织器官的脂肪代谢机能和状况,血清胆固醇和甘油三酯含量是高脂血症的重要指标。高密度脂蛋白能转运胆固醇,使胆固醇及甘油三酯含量降低。本研究发现,糖肽酮萜素能够促使血清中的总胆固醇含量、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇含量降低,提高高密度脂蛋白胆固醇的含量。由此说明糖肽酮萜素会降低脂肪的合成,促进脂肪代谢,笔者分析其作用机理应该与其成分的生理功能有密切关系。

王素敏等(1996、1997)对试验性高脂血症大鼠的研究表明,大豆低聚糖有降低大鼠总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量,增加高密度脂蛋白(HDL)含量的作用。杨金兰(2005)指出,大豆多肽一方面能阻碍肠道内胆固醇的再吸收,促使其排出体外;另一方面还能刺激甲状腺激素分泌增加,促进胆固醇的胆汁酸化,起到降低血液胆固醇含量的作用。

大豆皂甙可以抑制血清中脂类物质的氧化,抑制过氧化脂质的生成,并能降低血液中胆固醇和甘油三酯的含量。可能的原因是,脂肪细胞中由肾上腺素诱导的脂质化过程可因大豆皂甙L和LL的存在而受到

饲料中锰水平对育成期 蛋鸭血液生化指标和血清 MnSOD 活性的影响

王淑梅 王安

摘要 试验研究饲料中不同锰水平对育成期蛋鸭血液生化指标和血清 MnSOD (含锰超氧化物歧化酶)活性的影响。试验以玉米-豆粕型饲料为基础饲料,锰的添加水平为 0、30、60、90、120、1 000mg/kg,综合试验结果表明,育成期蛋鸭饲料中锰的适宜添加水平为 90mg/kg。

关键词 锰;蛋鸭;育成期;血液生化指标;MnSOD

中图分类号 S834

矿物元素锰对动植物都有重要作用,Wilgus (1937)首次发现锰能防止动物发生滑腱症。锰元素参与骨骼生长、造血活动;参与 VB₁ 和 VC 合成等一系列过程。锰的主要营养生理作用是在碳水化合物、脂类、蛋白质和胆固醇代谢中作为酶的活化因子或组成部分。饲料中锰含量的缺乏直接影响组织 MnSOD 的

活性,进而造成机体器官的损伤。在植物体内锰分布广泛,但作为饲料常规成分的玉米含锰只有约 5-6mg/kg,豆粕或豆饼含锰约 20-30mg/kg,而且家禽对锰的吸收率低,因此易造成家禽锰缺乏。本试验通过研究饲料中不同锰水平对育成期蛋鸭血液生化指标及血清 MnSOD 活性的影响,总结出育成期蛋鸭饲料中锰的最适宜添加量。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试验设计

本试验选用 108 只 28 日龄的金定母鸭作为试验动物,采用单因素试验设计,试验共分 6 个处理,每个

王淑梅,哈尔滨学院艺术与设计学院,助教,150086,哈尔滨市南岗区学府四道街 9 号。

王安,东北农业大学动物营养研究所。

收稿日期:2006-04-17

★ 哈尔滨学院青年基金项目

抑制。大豆皂甙 L、LL、LLL 可抑制 ACTH(促肾上腺皮质激素)诱导的脂质化过程(Ohinami H, 1981)。

近年来的研究证明,大豆肽不能阻碍脂肪的吸收,但有很强的促进脂肪代谢的效果。大豆多肽具有良好的保健功能(Ken jim. 等, 1991)。大豆多肽与机体中的胆酸结合,具有降低人体血清胆固醇、降血压和减肥等功能。大豆多肽降低胆固醇的作用机理可能在于它能阻碍肠道内胆固醇的再吸收,并能促使其排出体外。

Carroll 首次报道了大豆蛋白有降低血液胆固醇含量的作用,现发现其中起主要作用的成分为大豆异黄酮。尹靖东(2004)等试验表明,日粮中添加 10mg/kg 大豆异黄酮有降低产蛋鸡血浆总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白的作用,并显著降低蛋黄中甘油三酯含量。Tovar 研究表明,大豆异黄酮具有降血脂作用,能显著降低猴血液总胆固醇、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白和载脂蛋白 B(Apo B)水平;提高高密度脂蛋白和载脂蛋白 A(Apo A)等抗动脉硬化成分的水平,通过进一步研究发现,大豆异黄酮能降低肝脏中 Apo A-mRNA 水平,表明大豆异黄酮降血脂作用可能通过影响脂质代谢相关基因表达而影响其代谢。研究大

豆异黄酮降低脂肪沉积的机理表明,大豆异黄酮可通过降低肝脏苹果酸脱氢酶(MD)和血清脂蛋白脂酶(LPL)的活性及升高血浆胰高血糖素的水平而影响禽类的脂肪代谢,降低脂肪的沉积,对大鼠的脂肪代谢也有一定的影响(刘哲洁等, 2003;张桂春等, 2003)。

4 结论

糖肽酮萜素均能显著提高肉仔鸡日增重和降低饲料转化率及死亡率,其促生长效果表现出性别上的差异,对肉仔公鸡的影响大于肉仔母鸡;糖肽酮萜素对肉仔鸡生长性能的影响是通过多种生物活性物质叠加而实现的,其叠加所产生的促生长效果比单一成分的促生长效果有不同程度的改善;糖肽酮萜素可以明显提高肉仔鸡的免疫器官指数,增强抗病力;糖肽酮萜素能提高血清中血糖、总蛋白、球蛋白和高密度脂蛋白胆固醇的含量,并降低尿酸、血氨、甘油三酯、胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇的含量。因此糖肽酮萜素可以替代抗生素类饲料添加剂。

(参考文献 42 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

处理 3 个重复,每个重复 6 只鸭。试验前 1d 以重量为单位,早晨空腹称重后随机分组,各处理间试鸭体重经方差分析差异不显著($P>0.05$),各组鸭在外界环境和饲养管理条件均相同的情况下饲养。

1.2 试验饲料组成及营养成分

参照 NRC(1994)标准,配制玉米-豆粕型基础饲料(锰含量为 18.13mg/kg)。添加剂来源于市购分析纯 $MnSO_4 \cdot H_2O$,基础饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料配方及营养水平

原料	含量(%)	营养水平	
玉米	68.56	代谢能(MJ/kg)	11.7
豆粕	21.35	锰(%)	0.001 8
麦麸	6.0	粗蛋白(%)	16.00
石粉	1.4	钙(%)	0.93
磷酸氢钙	1.7	有效磷(%)	0.39
食盐	0.35	赖氨酸(%)	0.183
蛋氨酸	0.112	蛋氨酸+胱氨酸(%)	0.65
赖氨酸	0.183	食盐(%)	0.35
胆碱	0.12	胆碱(%)	0.12
多维	0.025		
矿物元素	0.20		
合计	100		

1.3 饲养管理

蛋鸭在三层叠式金属笼中饲养,每个小笼 3 只鸭。对试鸭进行常规免疫;人工喂料,自由采食和饮水;每天刷洗水槽、料槽和清理粪便;合理的光照和温度;鸭舍内安装两盏 15W 灯通宵照明。

1.4 检测指标及测定方法

试验进行到第 8 周时,从每个重复中取 2 只鸭,翅下静脉采血 5ml,2 500r/min 离心机离心 10min,取上清液。血清一部分用于测定淀粉酶、碱性磷酸酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、葡萄糖、尿素氮、肌酐、尿酸、甘油三酯、总胆固醇、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量;另一部分血清用于测定 MnSOD 活力。血清生化指标的测定利用美国贝克曼 CX-4 型自动生化分析仪测定;MnSOD 活力的测定利用试剂盒,采用黄嘌呤氧化酶法测定。

1.5 统计分析

用 SAS 8.2 软件对各处理间的数据进行统计分析。

2 试验结果

2.1 锰水平对血清淀粉酶、碱性磷酸酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶的影响(见表 2)

由表 2 可知,随着饲料锰水平的升高血清淀粉酶

表 2 对血清淀粉酶、碱性磷酸酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性的影响(IU/l)

项目	淀粉酶(AMY)	碱性磷酸酶(ALP)	谷丙转氨酶(ALT)	谷草转氨酶(AST)
I	1 029.71±892.75 ^{ab}	256.80±62.50 ^a	24.83±11.37 ^a	38.33±17.11 ^a
II	1 342.74±775.55 ^{ab}	287.50±49.50 ^a	27.50±2.88 ^a	41.17±4.02 ^a
III	1 744.35±146.76 ^{ab}	254.00±53.44 ^a	24.17±0.98 ^a	36.00±6.78 ^a
IV	1 737.25±240.54 ^{ab}	321.00±50.14 ^a	25.00±2.37 ^a	35.00±10.12 ^a
V	1 763.02±134.85 ^{ab}	299.17±48.65 ^a	24.67±4.76 ^a	34.00±5.83 ^a
VI	1 923.05±36.98 ^{ab}	301.00±33.94 ^a	22.00±1.41 ^a	34.50±3.54 ^a

注:1. 在同一列肩标字母相同者表示差异不显著($P>0.05$),不同者表示差异显著($P<0.05$),下表同;

2. I、II、III、IV、V、VI 分别代表添加锰水平 0、30、60、90、120、1 000mg/kg 组,下表同。

活性也升高,补锰组显著高于对照组($P<0.05$)。补锰对血清碱性磷酸酶、谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性的影响不显著,补锰 90mg/kg 组血清碱性磷酸酶活性最高,补锰 30mg/kg 组谷丙转氨酶和谷草转氨酶的活性

最高。

2.2 锰水平对血清葡萄糖、尿素氮、肌酐、尿酸含量和血清 MnSOD 活性的影响(见表 3)

由表 3 可见,补锰 120mg/kg 组血清葡萄糖的含量

表 3 对葡萄糖、尿素氮、肌酐、尿酸含量和血清 MnSOD 活性的影响

项目	葡萄糖(mmol/l)	尿素氮(mmol/l)	肌酐(μ mol/l)	尿酸(μ mol/l)	MnSOD 活性(U/ml)
I	9.94±0.83 ^a	1.12±0.73 ^a	26.50±3.73 ^a	319.00±104.56 ^a	25.71±26.09 ^{ab}
II	9.66±0.57 ^a	0.81±0.25 ^a	25.33±11.92 ^a	209.33±81.36 ^a	31.73±5.43 ^{ab}
III	9.96±0.49 ^a	0.58±0.13 ^a	25.67±5.32 ^a	254.33±73.66 ^a	47.49±7.83 ^{ab}
IV	9.93±0.49 ^a	1.05±0.52 ^a	25.33±3.61 ^a	267.00±133.16 ^a	53.65±5.95 ^{ab}
V	10.21±0.61 ^a	0.74±0.12 ^a	21.67±9.35 ^a	227.33±34.78 ^a	48.85±12.85 ^{ab}
VI	10.04±0.88 ^a	0.65±0.07 ^a	20.00±0.00 ^a	270.00±43.84 ^a	38.20±8.96 ^{ab}

达到最高水平,各组血清葡萄糖的含量组差异不显著 ($P>0.05$)。补锰对血清尿素氮、肌酐和尿酸的含量影响不显著,但随补锰水平的提高血清肌酐含量有降低的趋势。随着锰水平的升高血清 MnSOD 活性先升高

后降低,补锰组血清 MnSOD 活性显著高于对照组 ($P<0.05$),补锰 90mg/kg 组血清 MnSOD 活性最高。

2.3 锰水平对血清甘油三酯、总胆固醇、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量的影响(见表 4)

表 4 对血清甘油三酯、总胆固醇、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量的影响

项目	甘油三酯(mmol/l)	总胆固醇(mmol/l)	总蛋白(g/l)	白蛋白(g/l)	球蛋白(g/l)
I	0.92±0.16 ^a	4.47±0.51 ^a	41.00±3.52 ^a	17.33±1.21 ^{ab}	23.67±4.63 ^a
II	0.96±0.23 ^a	4.78±0.69 ^a	40.67±3.20 ^a	17.50±1.22 ^{ab}	23.17±2.04 ^a
III	1.07±0.18 ^a	4.97±0.67 ^a	40.00±3.79 ^a	15.67±3.98 ^{ab}	24.33±4.08 ^a
IV	1.18±0.37 ^a	4.63±0.35 ^a	41.50±2.59 ^a	17.50±1.38 ^{ab}	24.00±1.41 ^a
V	0.91±0.10 ^a	4.73±0.77 ^a	42.50±5.01 ^a	17.50±0.37 ^{ab}	25.00±3.95 ^a
VI	0.89±0.09 ^a	4.20±0.18 ^a	42.00±2.83 ^a	19.00±0.41 ^{ab}	23.00±1.41 ^a

由表 4 可见,饲料锰水平对血清甘油三酯、总胆固醇、总蛋白和球蛋白的含量影响不显著,饲料补锰对蛋鸭血清白蛋白含量影响显著,但随补锰水平的提高,血清白蛋白含量变化趋势无规律。随饲料锰水平升高,血清甘油三酯和总胆固醇含量有先增加后降低的趋势,补锰 90mg/kg 组甘油三酯含量最高,补锰 60mg/kg 组总胆固醇含量最高。

3 分析与讨论

3.1 锰水平对血清淀粉酶、碱性磷酸酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶的影响

随着饲料锰水平的提高,血清淀粉酶活性也提高,补锰组显著高于对照组 ($P<0.05$)。罗绪刚(1991)认为,这可能与锰使糖异生过程中的两个关键酶——丙酮酸羧化酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的活性升高有关。补锰对血清碱性磷酸酶活性的影响不显著,但补锰 90mg/kg 组血清碱性磷酸酶活性最高。罗绪刚(1991)认为,锰是碱性磷酸酶的一个激活离子,骨中含有多量的碱性磷酸酶,由于它存在于成骨细胞的周围及其表面而极易释入血中,因而当成骨细胞增殖和生长亢进时,即出现血清碱性磷酸酶活性上升。补锰不影响谷丙转氨酶、谷草转氨酶的活性,这与罗绪刚(1992)报道的锰缺乏使雏鸡血浆谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性升高 ($P<0.01$) 的结果不一致。

3.2 锰水平对血清葡萄糖、尿素氮、肌酐和尿酸含量和血清 MnSOD 活性的影响

1962 年 Rubentein 等首先指出锰与糖类代谢有关。Everson(1968)、Mangnall(1976)报道,大鼠缺锰导致葡萄糖利用率下降,葡萄糖量减少,而补锰后都增加,其机理可能有两种:①锰通过胰岛素代谢对糖代谢产生影响;②锰直接影响葡萄糖生成。本试验结果表

明,补锰 120mg/kg 时,蛋鸭血清葡萄糖的含量达到最高水平,这与罗绪刚(1991)报道的肉仔鸡的结果一致,这说明锰对糖类代谢产生了影响。血清中的尿素氮含量主要反映氨基酸在体内的代谢情况,也反映饲料提供的氨基酸是否过量,过量的氨基酸在体内进行脱氨基作用而增加血清中尿素氮的含量。尿酸主要反映肌肉组织中蛋白质分解代谢情况,肌肉中的蛋白质在更新过程中经氨基酸脱氨基作用产生尿酸。血清肌酐主要由肌肉代谢产生。本试验结果表明,补锰不影响血清尿素氮、肌酐和尿酸的含量,但对照组血清尿素氮、肌酐和尿酸的含量均高于补锰组,这可能是由于锰缺乏对蛋白质代谢产生了不利影响。罗绪刚(1992)在肉仔鸡的试验中报道,锰缺乏使血浆尿酸含量升高 ($P<0.01$),本试验结果与其一致。

锰是 MnSOD 的重要组成成分,超氧化物歧化酶是一种广泛存在于动物、植物和微生物中的金属酶,它催化超氧阴离子自由基 (O_2^-) 发生歧化反应而清除 O_2^- ,从而保护生物膜;同时,超氧化物歧化酶也增强机体免疫功能。迄今为止,已发现的 SOD 有 3 种,其一是含 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 的 CuZnSOD,主要存在于真核生物胞浆中;其二是含 Mn^{2+} 的 MnSOD,在真核生物及原核生物的线粒体中皆存在;其三是含 Fe^{2+} 的 FeSOD,主要是存在于原核生物中。在动物营养研究中,发现蛋鸭组织 MnSOD 活性是反映锰营养状况的敏感指标,饲料中锰的缺乏直接影响组织 MnSOD 的活性,进而造成机体器官的损伤,补充锰后 MnSOD 的活性就会迅速恢复。罗绪刚(1992)报道,肉仔鸡锰缺乏对肝脏中 MnSOD 的活性无显著影响 ($P>0.05$),而心脏中 MnSOD 活性却明显降低。郭荣富(1993)报道的雏鸭鲜心肌 MnSOD 酶活性不受饲料锰水平影响 ($P>$

0.05), 而鲜肝 MnSOD 酶活性受饲料锰水平影响 ($P < 0.01$)。马元山等(2004)试验结果表明,在基础饲料中不加锰,各组织中 MnSOD 活性普遍较低;但当在基础饲料中加锰 60mg/kg,组织中 MnSOD 活性几乎全部显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 地提高。将加锰量由 60mg/kg 提高到 120mg/kg 时,各组织中 MnSOD 活性有的增大很小,有的不增大,还有的减小,表明组织中 MnSOD 活性比组织锰含量更能灵敏地反映鸡锰的营养状况。陈寒清(2002)试验表明,无论饲料中添加硫酸锰还是蛋氨酸锰,不同锰水平(0、60、90mg/kg)对产蛋母鸭血清中 MnSOD 活性无显著影响($P > 0.05$)。本试验结果表明,随补锰水平的升高,蛋鸭血清 MnSOD 的活性先升高后降低,补锰 90mg/kg 时血清 MnSOD 的活性达最高水平。说明过量的锰反而降低血清 MnSOD 活性,这与马元山等(2004)试验结果一致。

3.3 锰水平对血清甘油三酯、总胆固醇、总蛋白、白蛋白和球蛋白含量的影响

甘油三酯与动物生长发育及免疫系统有关,它的浓度变化反映了体内膜类代谢情况。本试验结果表明,随饲料锰水平升高,血清甘油三酯含量有先升高后降低的趋势,补锰 90mg/kg 组血清甘油三酯含量最高,罗绪刚等(1991)试验也得出相似结论,认为可能是机体为了弥补缺锰时血液胆固醇浓度的下降而自动调节脂蛋白分解的结果,而来自被分解脂蛋白的甘油三酯使得血浆中的甘油三酯浓度得以提高。胆固醇是细胞膜成分,血中的胆固醇一部分到组织中构成细胞结构成分;另一部分转变为重要的固醇衍生物 VD_3 ,促进钙的吸收或类固醇激素代谢。本试验结果表明,补锰组(除补锰 1 000mg/kg 组外)总胆固醇含量高于对照组,表明锰缺乏使胆固醇的合成作用降低,罗绪刚等(1991)用肉仔鸡的试验也证明了这一点。同时也有学者研究表明,体外肝细胞培养时锰能促进标记 ^{14}C 乙酸合成胆固醇,锰是甲羟戊酸激酶的辅助因子,锰缺乏使甲羟戊酸激酶活性受到抑制,从乙酸盐到甲羟戊酸之间有两个部位需要 Mn^{2+} ;焦磷酸法呢酯合成酶需要 Mn^{2+} ,焦磷酸法呢酯合成受阻会抑制鲨烯的产生而使胆固醇合成受阻。Friedman 等在人上的试验也证明了锰能使肝脏合成胆固醇增加。补锰对总蛋白、球蛋白的影响不显著,说明补锰对蛋白质的代谢未产生显著的影响,这与罗绪刚(1991)报道的一致。

4 结语

NRC(1994)在雏鸭日粮中推荐的添加量为 50mg/kg,加拿大为 66mg/kg,西欧为 100mg/kg, Pan(1995)报

道,蛋鸭最适锰含量为 79.8mg/kg。

本试验结果表明,育成期蛋鸭补锰水平 90mg/kg 为宜。随着畜牧业的高速发展,集约化养殖已成为养鸭业的发展趋势。集约化饲养的蛋鸭对饲料品质要求更高,蛋鸭基础饲料中锰的含量低,生物学利用率就低,尤其是植物饲料中的离子锰和螯合锰在家禽消化道中的溶解度又低,使饲料中锰的吸收只占食入量的 2%~5%,极易造成锰的缺乏。本试验提供了有关矿物元素锰对笼养蛋鸭血液生化指标影响的一些基础数据,为进一步的研究奠定了基础。

参考文献

- 1 罗绪刚,苏琪,等.实用饲料中锰的添加水平对肉用仔鸡组织中其它矿物元素浓度的影响[J].动物营养学报,1991,3(1):17-20
- 2 罗绪刚,苏琪,黄俊纯,等.实用饲料锰缺乏对肉仔鸡组织含锰超氧化物歧化酶活性及其线粒体超微结构的影响[J].畜牧兽医学报,1992,23(2):97-101
- 3 郭荣富,刘学洪,等.雏鸭饲料锰适宜水平的研究[J].中国动物营养学报,1993,5(2):54-57
- 4 马元山,周明.缺锰及饲料锰水平对鸡组织生化参数与生长性能的影响[J].安徽农业大学学报,2004,31(2):232-235
- 5 卜友泉,罗绪刚,等.动物锰营养中含锰超氧化物歧化酶研究进展[J].动物营养学报,2002,14(1):1-7
- 6 陈寒青,吴晋强.锰源及锰水平对产蛋母鸡生理生化指标的影响[J].粮食与饲料工业,2002,(6):31-33
- 7 朱泽远,包承玉,等.雏鸭(0-3周)日粮锰适宜水平的研究[J].饲料研究,1999(3):1-2
- 8 袁建敏,芮于明,等.日粮锰水平对蛋鸡生产性能的影响[J].中国畜牧杂志,2000,36(1):14-16
- 9 彭秀丽,邓千臻,赵辉.日粮钙、锰水平对蛋鸡生产性能及蛋品质的影响[J].中国兽医学报,2002,22(3):311-314
- 10 王安,单安山.微量元素与动物生产.黑龙江科学技术出版社,2003.75-89
- 11 Wilgus H S Jr. The Role of Manganese and Certain Other Trace Elements in the Prevention of Perosis.Nutr.,1937(14):155-167
- 12 Curtiss Hunt, Susan L Meacham. Aluminum, boron, calcium, cooper, iron, magnesium, manganese, molybdenum, phosphorus, potassium, sodium and zinc: Concentrations in common western foods and estimated daily, 2001,101(9): 1 058-1 060
- 13 J L Greger. Dietary standards for manganese. The Journal of Nutrition, 1998,128(2):368-371
- 14 D J Farrell, E A Martin. Strategies to improve the nutritive value of rice bran in poultry diets. The addition of inorganic phosphorus and a phytase to duck diets. British Poultry Science, 1998,39(5): 601-611
- 15 I Mabe, C Rapp, M M Bain, et al. Supplementation of a Corn-Soybean Meal Diet with Manganese, Copper and Zinc from Organic or Inorganic Sources Improves Eggshell Quality in Aged Laying Hens. Poultry Science. Savoy, 2003,82(12):1 903-1 904

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

乳果糖的作用及在动物饲养中的应用

冉小波 左福元 曾雄

半个多世纪以来,抗生素的应用为畜牧业的飞速发展起了极大的推动作用,但其副作用也日益明显。大量使用抗生素会引起动物内源性感染或二重感染,使动物免疫功能下降,甚至会通过食物链对人类健康造成威胁。寡聚糖(Oligosaccharides)又称低聚糖或寡糖,是指2~10个单糖通过糖苷键连接形成直链或支链的一类低度聚合糖,作为一种新型饲料添加剂,它可以特异地被动物体内有益菌利用而抑制有害菌,起到类似抗生素的作用。寡聚糖通常被称为“化学益生菌”、“益生元”等,它克服了所有抗生素、活菌益生菌、酸化剂等的不足,用量少、纯天然、无残留并且稳定性强,对制粒、膨化、氧化等恶劣环境条件都具有很高的耐受性,能抵抗胃酸的灭活作用,克服了活菌制剂在肠道定植难的缺陷,在未来动物营养和改善机体健康状况方面有重要的作用。

寡聚糖分为功能性寡聚糖和普通性寡聚糖,目前作为饲料添加剂的主要是功能性寡聚糖,主要有甘露寡糖(MOS)、果寡糖(FOS)、乳果糖等。作为其中一员的乳果糖是乳糖异构的衍生物,现在主要用作药物治疗慢性便秘。

1 乳果糖的理化性质

乳果糖(Lactulose, 4-O- β -D-吡喃半乳糖基-D-果糖),又名乳酮糖、杜秘克,被人们称为“双歧杆菌增殖因子”,是由半乳糖和果糖以 β -1,4糖苷键结合的二糖(见图1)。乳果糖成品为淡黄色澄明粘稠体,味甜,其晶体为白色不规则的粉末,相对密度1.35,熔点169℃,易溶于水,其甜度为蔗糖的48%~60%,带有清凉醇和的感觉,黏度低、热值低、安全性高、稳定性好,不发生美拉德反应。乳果糖不被人 and 单胃动物胃肠道的酶分解,在小肠中很少吸收。它在到达结肠前基本没有改变,在结肠内可被厌氧菌分解成乙酸和乳酸,使结肠pH值降至6以下。动物急慢性毒性试验证

实,乳果糖几乎没有毒性,一般剂量未见有致畸现象,偶有腹胀、腹痛、恶心等副作用,也可引起电解质紊乱。

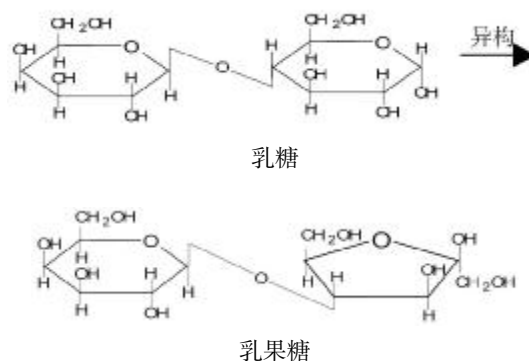


图1 乳果糖的分子式及合成反应式

乳果糖是Montgomery(1929)用乳糖在石灰碱液中使葡萄糖部分经异构化而转来。Petuey(1957)发现,乳果糖对双歧杆菌有显著的促进作用。Mayerhofer(1959)和Petuey(1959)报道,乳果糖具有治疗便秘的作用。Hoffman等(1964)研究了乳果糖在肠道中的细菌代谢,证明了乳果糖是一种双歧杆菌的促进因子,但它又不同于母乳中双歧乳酸杆菌生长因子(N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷)。

世界上最早进行商业化生产乳果糖的厂家是苏威制药集团,其生产历史已达40年,到今天,他们占有全球50%的乳果糖市场。1984年初,辽宁省商业科学研究所研制出异构化乳糖,并投入生产,填补了国内空白。中国药典(1995年版)增加乳果糖口服液为新品种,目前其主要作为药物治疗便秘、血内毒素、肝性脑病等临床疾病。由于乳果糖对人体没有不良作用(其毒性只相当于蔗糖),所以被广泛添加到奶粉、面包、饮料中作为人们日常生活的健康食品。但因价格较为昂贵,动物饲养中现多用于宠物料中,畜牧生产中较少运用。

出生前的动物在母体内处于一种水生、恒温、无菌状态,在出生后2h就可以在其肠道内发现微生物;生后2d,动物肠道即被微生物完全定植。最初肠道微生物来源于母体产道、粪便以及饲料、饮水和空气。肠

冉小波,西南大学动物科技学院,400716,重庆北碚。

左福元,单位及通讯地址同第一作者。

曾雄,重庆市畜牧科学研究所。

收稿日期:2006-05-22

道中微生物大多数是有益的,它们与动物间存在共生关系(Symbiosis)。这种共生关系表现为:动物为肠道微生物提供生长所必需的适宜环境;肠道微生物为动物提供有益物质。健康的动物肠道内有益菌和有害菌处于生理性动态平衡,而处于断乳、转栏、密集饲养、气候异常、分娩等应激因素作用下的动物,该平衡将发生变化,有害菌会成为优势菌,动物呈亚健康状态,生产性能下降。

动物体内建立的肠道菌系,虽然相当稳定,但它仍然受日粮或环境因素影响,其中主要是应激、口服抗生素和过度卫生 3 个因素,在受这些不利于动物健康的影响条件下均可使用乳果糖等益生元,它可以使动物重新建立完整的肠道微生物群系,如图 2 所示。

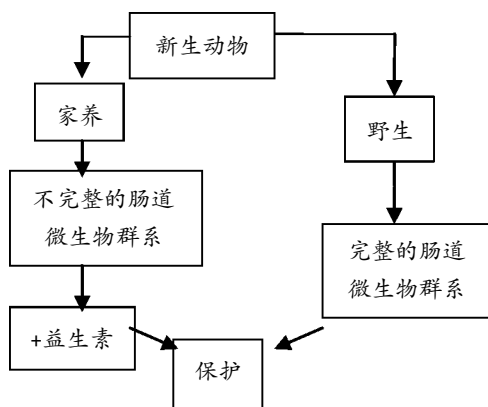


图 2 动物肠道保护性微生物群系的获得(Fuller, 1988)

2 乳果糖在动物体中的作用

2.1 促进双歧杆菌增殖,调整肠道菌群平衡

口服乳果糖在人和单胃动物小肠内不被吸收,进入结肠后能被双歧杆菌产生的 β -半乳糖苷酶分解而成为双歧杆菌生长的碳源,促进双歧杆菌增殖。双歧杆菌作为人体生理性优势菌,代谢生成乳酸和乙酸,酸化肠道环境,降低肠道还原电位,抑制有害菌生长。MacGillivray(1959)首次在婴儿食品中添加乳果糖以促进其肠道双歧杆菌增殖。法国南希大学Ballongue等学者发现,人早、晚各服用10g乳果糖就能使粪便的pH值保持在5.8~6.9范围内,这正是肠道有益菌群的最佳pH值。史漱石等报道,用含乳果糖的奶粉喂养鼠2个月后发现鼠便中的双歧杆菌增殖100倍。Feilim等(2004)将从不同年龄段的猪粪中提取的双歧杆菌与乳果糖等寡聚糖共同培养,其中繁殖最好的是含有乳果糖的培养基。Hoffman(1975)

报道,乳果糖做为载体与沙门氏菌结合,使沙门氏菌在肠道内很难存活。

2.2 增强机体免疫作用

乳果糖属于寡聚糖,而寡聚糖的免疫增强作用可概括为:刺激有益菌的增殖及营养成分的吸收,发挥间接免疫作用;抑制病原菌繁殖与定植,增强抗感染免疫能力;降低不利于内环境的植物凝集素等因子的作用;对免疫因子可能有直接刺激或保护作用。

2.2.1 间接免疫增强作用

双歧杆菌的增殖,能增强机体的免疫力。史俊华等(1995)分别用死、活双歧杆菌和生理盐水经口服喂给小鼠,10d后分别检测小鼠对耐寒、耐热、耐疲劳的时间和对胸腺、脾脏的刺激作用。结果表明,活双歧杆菌可明显提高小鼠的耐寒、耐热、耐疲劳时间和免疫力,胸腺、脾脏指数分别为0.449和0.713;死双歧杆菌仅能提高小鼠的耐疲劳能力和免疫力。王立生(1998)报道,双歧杆菌能刺激裸鼠腹腔巨噬细胞产生IL-1和IL-6。项明洁等(2002)报道,服用乳果糖可使血液患儿肠道内双歧杆菌数量比服用前极显著增加($P<0.01$),从而刺激机体免疫系统分泌SlgA,增加肠道局部免疫力。Schumann(1997)报道,双歧杆菌还有抗癌作用。

2.2.2 直接免疫增强作用

尽管绝大部分乳果糖都不能被吸收而转运到肝脏参加全身大循环,但一小部分(0.25%~2%)被吸收便足以产生免疫反应。Liehr和Greve等报道,在静脉注射或体外培养的条件下,乳果糖同样表现出了免疫作用,它几乎能完全阻止肝脏细胞的坏死和肝脏组织的炎症。体外试验中乳果糖抗内毒素的作用被限制了,但内毒素诱导单核细胞产生的肿瘤坏死因子(TNF- α)却显著地减少。还有报道认为,乳果糖能明显激活C3、C6、C9等补体,而降低病理球蛋白,抑制病理性免疫反应。这些报道都证明乳果糖有直接的免疫增强作用,而不仅仅是通过增殖双歧杆菌起间接免疫效应。

2.3 影响营养物质代谢

乳果糖对动物糖、脂肪、微量元素的吸收和代谢均有影响。Genovese等(1993)报道,非胰岛素依赖性糖尿病患者口服乳果糖后血液中葡萄糖含量显著小于未服用者。Hosaka等(1972)报道,在隔离的空肠环中,乳果糖减少了40%的葡萄糖吸收而没影响氨基酸的利用。Piloquet等报道,乳果糖与抗胰岛素物质

合用能减少血浆中挥发性脂肪酸的浓度。对于微量元素吸收,结论尚不一致。Suzuki 等(1986)用富含乳糖、乳果糖、山梨醇和淀粉的食物饲喂小鼠 46d, 结果发现, Ca、Mg、Cu、Fe、Zn 的吸收和在体内的存留时间皆高于对照组, 盲肠 pH 值变低, 而盲肠重量和其中的双歧杆菌含量均大于对照组。Robert 等(1993)研究了乳果糖对肠道 Ca 吸收的影响时发现, 乳果糖对 Ca 吸收的促进作用比乳糖强, 尤其是对 5~38 周龄的小鼠。Nagendra 等(1994)用含乳果糖的奶粉饲喂断奶后的小鼠发现, N、P、Ca、Fe 的吸收和在体内的存留时间试验组与对照组之间无显著性差异, 小鼠的生长性能、血液生化指标以及肝脏的组织病理学调查与普通水平接近。其实, 以上试验结果差异的存在很正常, 动物年龄、环境等因素对乳果糖作用效果的影响很大。按照益生菌使用的一般规则, 动物年龄越小(微生物区系尚未成熟)、所处环境越差, 其效果便越好。

2.4 影响内分泌

乳果糖既然能影响机体的营养代谢、免疫等, 那么它也一定会影响动物的内分泌机能, 因为营养-内分泌-免疫之间是相互影响、相互促进的。各种激素调控着机体的营养代谢, 如胰岛素具降低血糖的作用; 而胰高血糖素的作用与胰岛素刚好相反; 甲状腺素则具有使组织分解代谢增强, 耗氧量、产热量和形成 ATP 量增多的作用。营养与免疫也是相互影响、相互制约的, 营养物质摄入过多或过少均会造成机体免疫力下降, 而免疫水平的降低会使动物易受感染, 对营养物质的摄入减少。免疫系统在体内与内分泌、神经系统之间存在多重双向交流的关系, 它并不是孤立的。Cornell 认为, 内毒素可能会降低胰腺生成胰岛素的能力, 而减少内毒素的物质(如乳果糖)则具有抗糖尿病的作用。

2.5 影响胆汁酸循环

乳果糖有降低胆固醇的作用。Conte 等 (1977)报道, 患高血脂的病人服用乳果糖后, 血清胆固醇比服用前降低了 17%, 而且停药后 4 周也未见胆固醇升高。随后 Rotstein 等(1981)发现, 饲喂乳果糖的小鼠血清中胆固醇和可致结石的胆汁酸显著小于未饲喂乳果糖组。Thornton 和 Van 等更进一步研究证实, 乳果糖能减少人患胆结石的风险。乳果糖影响胆汁酸循环的机理可简单概括为: 增加中性固醇的排出; 减少胆固醇的吸收; 减少次级胆汁酸和其它毒素的生成; 保护

丁酸盐的作用。

2.6 降低血内毒素水平

乳果糖降低血内毒素的机理一般认为是服用乳果糖降低了肠道 pH 值, 抑制产生内毒素的有害菌繁殖, 减少毒素来源与吸收。由于肠道 pH 值降低, 使肠道中的氨变成铵离子随粪便排出体外, 阻断氨的肝肠循环, 从而降低血氨, 这样减轻了肝脏的解毒负担, 有利于肝脏恢复, 也可以有效地防止肝性昏迷的发生。血氨的降低, 使尿素合成减少, 减少肾脏的代谢负担, 使肾功能得以恢复。Magliulo 等(1979)发现, 乳果糖能治疗内毒素血症, 并可用于病毒性肝炎的内毒素血症治疗。侯瑞兴等(1991)在临床体外实验中定量地测定到了 55mg 乳果糖能使 0.01mg 内毒素在鲎试验中失去凝絮活性。王永丽等认为, 其控制内毒素的机制分为 3 种形式: 加速内毒素排泄; 抑制细菌生长, 减少内毒素的产生; 对内毒素的直接中和作用。

2.7 防治便秘

乳果糖在小肠内不被水解吸收, 其渗透性使水和电解质保留于肠腔, 在结肠中细菌将其分解成乳酸、醋酸, 使肠内的渗透压进一步增高, 产生导泻作用, 故能防治便秘。

另外, 乳果糖与甘露糖等合用可以监视肠壁通透性, 它还能用做氢气呼吸试验等其它用途。Rehman, H U(1999)报道, 乳果糖还有防治鱼臭综合症的作用。

3 乳果糖在猪生产上的应用

母猪产前使用乳果糖可减少母猪体内毒素, 减少仔猪死胎率和生后发病率, 增加其胃肠有益微生物的繁殖, 这些有益微生物通过初乳或产道、体表接触等方式传递给仔猪, 且仔猪食入的乳果糖也能促进自身肠道微生物的形成, 进而使其免疫力提高, 使日增重和存活率提高。M. Krueger 等(2002)对处于围产期的母猪(产前、产后 10d)饲喂 30~45ml 的乳果糖, 仔猪断奶时饲喂每千克含 15ml 乳果糖的日粮, 结果仔猪断奶重和日增重显著大于对照组, 试验组仔猪和母猪血浆中 IgG 浓度均显著大于对照组。Bird 等(1990)报道, 试验用小型猪对乳果糖的代谢能值为 9.0kJ/g。

Kamphues 等 (2003) 用乳果糖占干物质浓度为 27~29g/kg 的半流体食物饲喂仔猪和育肥猪, 乳果糖的摄取并没有影响粪便中干物质含量和 pH 值, 加大剂量用 55~140g/kg 的相应食物饲喂母猪, 也没造成母猪腹泻, 只是稍微减少了粪便中干物质的含量。乳果糖的摄取并没造成小肠中乳酸和挥发性脂肪酸含

量的改变,但结肠和回肠中存在高浓度的挥发性脂肪酸(仔猪存在显著性差异,母猪只呈现出上升现象);小肠和大肠中氨的含量减少,同时结肠中脂多糖浓度增大。Van 等报道,用含乳果糖的蛋白质食物饲喂 20kg 左右的仔猪,瓜氨酸和谷氨酸的利用量减少, α -氨基氮的吸收也减少,这可能都与肠道中氨的生成减少有关。

4 乳果糖在反刍动物中的应用

4.1 初生反刍动物的生理特点及乳果糖的使用

初生反刍动物的瘤、网胃很不发达,其体积只有真胃体积的 30%~50%。初生反刍动物并不会反刍,随着日龄的增加和粗硬饲料的刺激,瘤胃和网胃渐渐发达,两个月左右才发育为大于真胃。出生后约 6 个月,胃各部分的大小比例才接近成年反刍动物。

初生反刍动物瘤胃微生物群系尚未形成,还没有消化粗纤维的能力,其前胃(瘤胃、网胃、瓣胃)的容积很小,机能也很不健全;初生反刍动物的食管沟反射明显,犊牛所吮的母乳经过食管沟直接进入皱胃,由皱胃分泌的凝乳酶等消化酶进行消化。所以该阶段只有皱胃起作用。随着日龄的增长和采食植物性饲料的增加,前胃的容积逐渐增大。大约 3~4 周后,瘤胃迅速发育,才开始出现反刍活动。此后,皱胃凝乳酶的分泌逐渐减少,其它消化酶逐渐增多,从而对饲草的消化、分解能力开始加强。到 6 周时,前胃的容积可达胃总容积的 60%。根据这一特点,对出生后 7~10d 的反刍动物,应开始补饲容易消化的精料和优质干草,以促进瘤胃发育,增强其对饲料的消化能力。

根据新生反刍动物的生理特点,使用益生菌的目的是刺激瘤胃微生物的生长,促进肠道建立有益于健康的微生物区系,避免腹泻,提早断奶,促使幼龄反刍动物早日采食纤维性日粮。

关于将乳果糖添加到犊牛料中的研究还很少,国内尚未见报道。W Schroedl 等(2003)用乳果糖[10g/(头·d)]添加到初生犊牛乳料中,会使实验组血浆 CRP(C 反应蛋白)比对照组显著升高;其实验同时证明 CRP 与血液中免疫球蛋白浓度呈正相关关系,受犊牛从初乳中获得被动免疫的影响(牛 CRP 在机体清除某些种类细菌方面起着重要作用,并且可能是牛免疫防御的另一重要因子,特别对于初生犊牛)。在体外犊牛血细胞和血浆样品抗菌的实验中,添加乳果糖组的牛对摩氏摩根菌的抵抗力极显著高于对照组。因此认为乳果糖有益于犊牛健康,尤其是对体内微生物

区系的形成和免疫防御方面。但他们同时也发现,10g/(头·d)的乳果糖添加量对犊牛胃肠失调和其它疾病没有太大的临床治疗意义,而且此量并没引起血浆中 IgG 和乳铁蛋白含量与对照组相比的差异显著变化。

4.2 乳果糖在成年反刍动物上的使用

反刍动物的瘤胃微生物区系建立完善,使用益生菌的目的是提高动物采食量以及阻止酸中毒的发生。因此,成年反刍动物使用的益生菌应不同于幼龄,主要是啤酒酵母、丝状真菌和米曲霉。在反刍动物瘤胃内,益生菌可使丙酸等挥发性脂肪酸增加,并维持正常 pH 值,降低血清中胆固醇含量。

有关用乳果糖饲喂成年反刍动物的研究尚未见报道,对其使用应按照益生菌的使用原则进行。

5 乳果糖在宠物料中的应用

在日本和欧洲,乳果糖被较多地运用在宠物饲料中,以减少便秘的发生和增加内毒素的排出。Beynen 等(2001)在 6 头成年狗饲料中按每兆焦食物代谢能添加 0、1、3g 的乳果糖,结果发现,添加乳果糖的试验组粪便 pH 值显著下降,粪中铵和氮的排出量呈上升趋势,Ca 和 Mg 的吸收增加,而 P 无显著性差异。日本学者 Matsuoka 等(1990)报道,对小猎犬口服每千克体重 2.1g 的乳果糖,能降低粪便的 pH 值,增加铵离子的排除,并使血氨浓度下降。他们所用的乳果糖剂量(2.1g/kg)与德国学者 Jürgen 报道的能引起狗腹泻的量(2.0g/kg)相似。乳果糖可用于治疗猫的巨结肠症。

6 小结

乳果糖作为治疗便秘、血内毒素、肝性脑病的运用已很广泛,但在动物饲养中的应用还处于起步阶段,这与它提取工艺的复杂和较高的价格有关。今后对其研究应多注重生产工艺的优化或从其它途径合成以降低生产成本,同时多进行其有效性的饲养试验,从营养代谢、神经、内分泌、免疫甚至是分子水平进行全面研究。当然,最好能与活菌制剂和其它寡聚糖联合使用,以更好地发挥其替代抗生素的作用。乳果糖所具有的促进动物健康的作用,表明它在动物饲养和畜牧生产中必将起到如其它寡聚糖一样的作用。这方面的研究也会成为今后畜牧生产研究的热点。

(参考文献 42 篇,刊略,需者可函索)

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

苏氨酸的营养免疫作用及畜禽对其需要量的研究

国春艳 许宗运 刁其玉

摘要 苏氨酸作为畜禽的第二或第三限制性氨基酸,对机体有重要的营养免疫作用,在日粮氨基酸的平衡中也起重要作用。不同生长阶段的畜禽对苏氨酸的需要量不同。此外,其它一些氨基酸如赖氨酸、蛋氨酸、色氨酸、甘氨酸等均对苏氨酸的需要量有影响。

关键词 苏氨酸;氨基酸平衡;需要量

中图分类号 S816.7

Research on the effects of dietary threonine on nutrition and immune function of animal and its different requirement

Guo Chunyan, Xu Zongyun, Diao Qiyu

Abstract Threonine has great effects on nutrition and immune function of animal, as second-limit or third-limit amino acid. It also plays an important role in the amino acid balance. The different requirements needed by different growth period of animal. Furthermore, other amino acids, such as Lys, Met, Trp, Gly and so on, they have also an effect on requirement of threonine.

Key words threonine; amino acid balance; requirement

W.C.rose(1935)从纤维蛋白水解产物中分离出来的苏氨酸(Thr),目前已被认为是动物体第二或第三限制性氨基酸,对动物体具有极其重要的生理作用。

虽然苏氨酸在氨基酸的发现历程中居于最后,但是随着对蛋白质氨基酸营养研究的深入,苏氨酸在日粮氨基酸平衡中的作用日益重要,日粮中苏氨酸缺乏会限制畜禽最大生长潜力的发挥,即使增加赖氨酸或蛋氨酸或两者同时按需要量添加,也难使生长性能得到进一步提高,这就是缺乏苏氨酸造成的氨基酸不平衡的结果。所以对苏氨酸的研究成为热点之一。

目前,关于苏氨酸的研究多集中在猪和家禽上,研究已具有一定的深度和广度。关于添加苏氨酸在日

粮氨基酸平衡中的作用,不仅包括苏氨酸本身的作用,还涉及到苏氨酸对蛋氨酸、赖氨酸、甘氨酸、色氨酸等其它氨基酸的协同作用,以及整体必需氨基酸对非必需氨基酸的影响作用等。

1 苏氨酸在体内的代谢途径

苏氨酸是动物体内唯一不需要经过脱氨基和转氨基作用进行降解的氨基酸。它在家禽体内主要通过 Thr 脱水酶(TDH)进行代谢,在猪体内通过 Thr 脱氢酶(TDG)以及 Thr 醛缩酶催化转变为其它物质,主要代谢产物有乙酰 CoA、氨基丙酮、甘氨酸、丙酸和 2-氨基丁酸等(见图 1)。

2 苏氨酸在动物体内的生物学作用

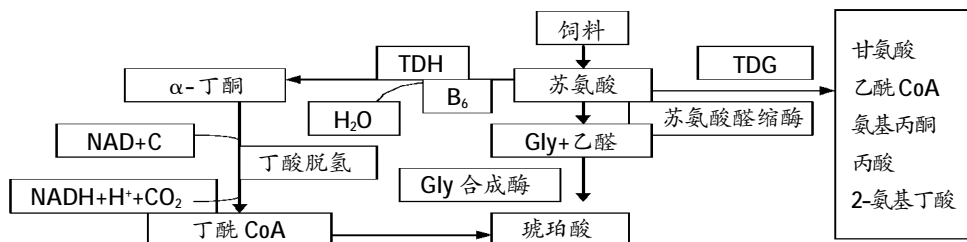


图 1 苏氨酸在体内的代谢途径

苏氨酸在谷物中有不同程度的缺乏。在玉米型日粮中的研究发现,苏氨酸是生长绵羊的第二限制性氨

基酸(王洪荣,1998);当代谢蛋白主要由微生物蛋白提供时,苏氨酸是生长牛的第三限制性必需氨基酸(Richardson,1978);苏氨酸也是家禽日粮中继蛋氨酸、赖氨酸后的第三限制性氨基酸(乔伟,2003)。苏氨酸作为畜禽的一种必需的限制性氨基酸,具有降低饲养成本、促进生长、提高日增重和饲料转化率、改善胴体品质、增强机体免疫力等作用。

2.1 平衡氨基酸,促进蛋白质合成

国春艳,中国农业科学院饲料研究所,在读硕士,100081,北京市海淀区中关村南大街12号。

许宗运,天津正大有限公司。

刁其玉,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-05

Thr 的一个重要作用是平衡氨基酸,促进蛋白质合成。日粮中不同的氨基酸水平及比例会影响动物体内氮的利用。添加苏氨酸可平衡整体氨基酸水平,使苏氨酸与赖氨酸保持适当的比例对生产性能的影响尤为明显。侯永清(2000)研究表明,不同苏氨酸水平影响肝脏中蛋白质水平,但不影响肌肉中蛋白质的含量。Zimmerman(1987)认为,添加高于正常生长需要的苏氨酸(提高12%)有利于猪瘦肉的最大沉积。同时使用Lys和Thr可以在不影响动物生产性能的前提下,降低日粮蛋白质水平,节约蛋白质资源,有利于防止仔猪的下痢(张常明,1999)。

2.2 影响机体脂肪代谢

在动物日粮中添加苏氨酸对机体脂肪代谢有明显的影响。Westermeier在动物日粮中添加苏氨酸,导致血清甘油三酯和低密度脂蛋白(LDL)浓度下降,这说明苏氨酸对脂肪代谢的影响可能是由于促进脂肪分解而使体脂减少。日粮中不同苏氨酸与赖氨酸比例对生长肥育猪内脏器官未产生显著影响。伍喜林(1994)报道,日粮苏氨酸水平为0.68%时,抗脂肪肝的效果较强。

2.3 具有神经调节作用

苏氨酸有降低大脑中色氨酸和5-羧吲哚乙酸的作用,从而影响动物的神经调节。这可能与苏氨酸阻碍色氨酸进入大脑的调控作用有关。

2.4 影响血液、尿液生理生化指标

通过提高日粮中苏氨酸的添加水平,能使肝糖原浓度增加、血清 β -脂蛋白和游离脂肪酸浓度降低(Sidransky,1969)、血浆糖皮质激素上升(Yokogoshi和Yoshida,1985)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性上升、血浆游离限制性氨基酸浓度降低(Clark等,1966)、尿液中尿素排出增加、尿囊素排出降低等(Kiriyama等,1967;Fuwa等,1964)。

2.5 影响免疫调节

在机体的免疫系统中,抗体、免疫球蛋白都是蛋白质,苏氨酸缺乏会抑制免疫球蛋白及T、B淋巴细胞的产生,从而影响免疫功能。在禽类免疫球蛋白分子中,苏氨酸是主要的限制性氨基酸,添加苏氨酸可提高雏鸡对新城疫病毒的抗体效价;缺乏苏氨酸,动物表现出对肿瘤和疟原虫敏感。Kelley等(1987)的研究认为,动物对苏氨酸需要量较高,可能与其在免疫球蛋白中含量高有关。苏氨酸在禽类 γ -球蛋白分子中的数量占主导地位,是禽类免疫球蛋白生成的主要限制性氨基酸,提高日粮苏氨酸水平有助于增强特异性免疫力,降低死亡率(Kenenhouse,1996)。

胡倡华(2000)报道,苏氨酸在免疫系统中的重要作用可能与苏氨酸能促进抗体合成有关。苏氨酸对妊

娠母猪的体液免疫起主导作用,在含高粱的日粮中添加苏氨酸,可以防止母猪血浆中IgG含量的减少。

在试验动物的日粮中添加苏氨酸和赖氨酸,胸腺重量增加,并且增强皮肤对异源移植的排斥和对绵羊红细胞的抗体效价。侯永清(2000)研究表明,不同蛋氨酸水平影响胸腺占体重的比例,而不同苏氨酸水平则影响脾脏占体重的比例,且两种氨基酸均显著影响血液中IgG的含量及半数溶血值,说明这两种氨基酸与免疫机能有关。

郑春田等(2000)报道,提高日粮苏氨酸水平有助于迅速提高生长猪血清球蛋白和IgG含量($P<0.05$),但不影响最终含量,血清抗牛血清白蛋白抗体水平随日粮苏氨酸水平升高而升高。

3 不同氨基酸影响苏氨酸在畜体内发挥生物学作用

由于苏氨酸与其它氨基酸之间存在协同或拮抗的关系,因此,其它氨基酸的含量也会影响苏氨酸的需求量。尤其是苏氨酸与赖氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、色氨酸之间的相互影响,在许多研究中均已得到证实。

3.1 蛋氨酸对苏氨酸的影响

不同水平的蛋氨酸不影响血浆尿素氮及血清总蛋白的含量,但影响血清游离蛋氨酸及苏氨酸水平。日粮蛋氨酸水平较高时,血清游离蛋氨酸及苏氨酸水平也较高。侯永清(2000)研究表明,在早期断奶仔猪日粮中,当蛋氨酸维持在0.39%时,苏氨酸适宜的添加水平为0.68%。

3.2 赖氨酸对苏氨酸的影响

苏氨酸需要量在很大程度上与赖氨酸的需要量相关,当日粮中的赖氨酸或蛋氨酸过量时,苏氨酸的需求量增大。添加适量的苏氨酸可消除因赖氨酸或蛋氨酸过量造成的畜禽体增重下降;使肝脏、肌肉组织中的蛋白质和DNA含量、RNA与DNA比值降低;也可减轻色氨酸或蛋氨酸过量引起的生长抑制(罗华文等,2003)。理想蛋白质概念提出的最佳日粮氨基酸比例为(百分含量)Thr:Lys=62~75:100。冯杰、许梓荣(2003)报道,饲料在保证赖氨酸需要量的基础上,苏氨酸与赖氨酸的比例保持在0.72可以促进生长肥育猪的生长,改善猪胴体组成,但对内脏器官无显著影响。

3.3 甘氨酸对苏氨酸的影响

对理想氨基酸的研究表明,饲料中苏氨酸用于沉积的效率比赖氨酸低。苏氨酸沉积过程中的氧化率比赖氨酸沉积时的氧化率高。饲料中的苏氨酸至少有30%转化成甘氨酸,占体内整个甘氨酸合成的10%~50%(杨禄良,1995)。由此可见,苏氨酸需要量高、沉积率低的重要原因之一是饲料中甘氨酸供给不足或通过其它途径合成的甘氨酸太少。许多学者的研究表明,日粮中适当水平的甘氨酸是获得断奶仔猪最大生

长效率的前提保证,而苏氨酸可用于补充甘氨酸的需要。另外,维生素、激素、脂肪类型均可影响苏氨酸在体内的利用,在添加苏氨酸时必须全面考虑,以配制出高效且又经济的日粮。

4 不同畜禽对苏氨酸的需要量

苏氨酸的需要量受畜禽的品种类型、性别、生长阶段、环境温度及日粮氨基酸平衡情况等多种因素影响。畜禽缺乏苏氨酸时表现为采食量下降、生长受阻、饲料利用率下降、发生脂肪肝,并引起机体内一系列生理生化指标的变化。蛋白质水平是影响 Thr 需求参数的一个重要因素,在高蛋白日粮中添加苏氨酸对动物没有效果,而在低蛋白日粮中添加,则可显著提高动物的生长率和饲料利用率 (Cuca Garcla 等,1982; Falkowsk1 等,1983)。

4.1 家禽对苏氨酸的需要量

家禽对苏氨酸的需要量受品种、年龄、性别、生产性能及日粮类型、环境温度等的制约,即使是同一品种、不同生长阶段、不同性别的家禽也有不同苏氨酸需求,不同种类的家禽在不同日龄时对苏氨酸的需要量也不同。表 1 给出了鸡、鸭对苏氨酸需要量的推荐量。

表 1 家禽苏氨酸需要量(%)

家禽	生长阶段	可消化苏氨酸量	
		公	母
肉用仔鸡	1~22 日龄	0.73	0.62
	23~42 日龄	0.57	0.57
	43~56 日龄	0.56	0.56
蛋鸡	32~42 周龄	0.56	
雏鸭	0~3 周	0.67	

注:数据来源于王芬(2003)。

4.2 猪对苏氨酸的需要量

众多研究表明,快速生长的瘦肉型猪比普通猪对饲料氨基酸需要量(相对于能量)更高,母猪比去势公猪对氨基酸的缺乏敏感。日粮蛋白质来源或日粮类型的不同,猪对 Thr 需要量也有差异。林映才等(2000)对 3.8~9kg 体重超早期断奶仔猪日粮中 Lys 与 Thr 最适比例研究后认为,Lys 与 Thr 的比(百分含量)为 100 : 68 时最为适宜,这一结果与 Breke(1994)所得结果相一致。伍喜林等(1994)报道,日粮中 Thr 水平为 0.748% 时,仔猪采食量、体增重、血清谷丙转氨酶活性最高,但饲料转化率和血清尿素氮水平最低;碱性磷酸酶活性在 0.68% 时最高,而血清胆固醇和甘油三酯水平此时最低,抗脂肪肝效果较强。

5 小结

添加苏氨酸可改善氨基酸平衡,从而提高动物生长性能。补加苏氨酸可适当降低日粮粗蛋白水平,从而降低氮排泄量,而这将对环境保护具有积极作用。

目前关于苏氨酸在反刍动物体内的代谢情况的研究资料较少,这可能是因为瘤胃中种类繁多的瘤胃微生物对蛋白质的分解和合成作用,对苏氨酸的消化代谢产生了影响,不会因日粮中的缺乏而在其它生理生化指标上有所反应。但是由于对苏氨酸进行调控可以对生产性能产生影响,因此,苏氨酸在反刍动物体内的代谢情况也有必要进行研究探讨。此外,苏氨酸对机体体液免疫和细胞免疫都起着相当重要的作用,由免疫应激引起的影响畜禽对苏氨酸营养需要量方面的研究有待进一步深入。

参考文献

- 1 罗文华,蒋雨,赵子华,等.苏氨酸在畜禽营养中的研究进展[J].饲料广角,2003(9):38-41
- 2 冯杰,许梓荣.苏氨酸与赖氨酸不同比例对猪生长性能和胴体组成的影响[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2003,29(6):661~664
- 3 杨禄良.赖氨酸、色氨酸、苏氨酸平衡与生长猪采食量的关系(下)[J].国外畜牧科技,1995,22(1):4-6
- 4 乔伟,周安国,等.苏氨酸与动物免疫[J].猪世界,2003(10):10-11
- 5 Wester meier C.Feedintake and body weights of suck-ling sows and piglets independence of dietary threonine supplementation. Contribution about the threonine requirement of suckling pigs [J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,1998,79(1):33-45
- 6 N. Warnants, M.J. Van Oeckel, M. De Paepe. Response of growing pigs to different levels of ileal standardised digestible lysine using diets balanced in threonine, methionine and tryptophan [J]. Live-stock Production Science ,2003,82:201~209
- 7 Carsten Pedersen , Jan Erik Lindberg, Sigurd Boisen. Determination of the optimal dietary threonine:lysine ratio for finishing pigs using three different methods [J]. Livestock Production Science, 2003,82:233-243
- 8 M.T. Kidda,P.D. Gerard, J. Heger, et al. Threonine and crude protein responses in broiler chicks [J]. Animal Feed Science and Technology, 2001, 94:57-64
- 9 Julie C. Keene, Richard E. Austic. Dietary supplements of mixtures of indispensable amino acids lacking threonine, phenylalanine or histidine increase the activity of hepatic threonine dehydrogenase, phenylalanine hydroxylase or histidase, respectively, and prevent growth depressions in chicks caused by dietary excesses of threonine, phenylalanine, or histidine [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2001,12: 274-284
- 10 Li Defa, Xiao Changting, Qiao Shiyun, et al. Effects of dietary threonine on performance, plasma parameters and immune function of growing pigs. Animal Feed Science and Technology,1999,78:179-188
- 11 Yoritaka Aoyama, Takako Inaba, Akira Yoshida. Dietary Cystine and Liver Triacylglycerols in Rats: Effects of Dietary Lysine and Threonine [J]. Comp. Biochem. Physiol., 1998,119(2): 543-546
- 12 J.C. de Blas, E. Taboada, N. Nicodemus, et al. Performance response of lactating and growing rabbits to dietary threonine content [J]. Animal Feed Science Technology ,1998,70:151-160
- 13 O.M. Millamena, M.N. Bautista,O.S. Reyes, et al. Threonine requirement of juvenile marine shrimp Penaeus monodon [J].Aqua-culture, 1997, 51:9-14

(编辑:高 雁,snowyan78@tom.com)

氨基酸螯合锌在 动物免疫和抗氧化功能上的研究进展

曹国弟 赵恒寿

氨基酸螯合锌是第三代微量元素添加剂。国外从20世纪60年代开始研究,我国研究此类产品起步于20世纪80年代中期。根据美国饲料管理委员会(AAFCO)(2000)^[1]的定义,金属氨基酸螯合物(Metal amino acid chelate)是由可溶性金属盐中的金属离子与氨基酸按(物质的量比)1:1~3的比例而形成的共价化合物,它是一类具有独特环状结构的螯合物,集氨基酸与微量元素于一体,是一种类似动物体内吸收形式和生物功能形式的微量元素添加剂^[2]。

1 氨基酸螯合物的特性

1.1 可溶性强

金属离子与氨基酸分子通过配位键结合后,使其分子内电荷趋于中性,形成了稳定的化学结构,避免了无机盐易在机体形成难以吸收的物质的缺点^[2]。

1.2 吸收率高

与无机盐相比,以氨基酸螯合物形式吸收进入血液的微量元素仍然是原封不动的氨基酸或小肽的螯合微量元素,比无机盐明显少了一步化学过程,被微生物利用的机会也减少了,只待被转运到目标组织,在目标组织中氨基酸螯合物则容易解离释放出微量元素而被利用(Power, 2000)^[3]。

1.3 稳定性好

氨基酸螯合物在小肠中动态分布,容易被小肠粘膜吸收进入血液。由于金属离子与氨基酸形成稳定的螯合离子,能防止金属离子在消化道内与胃酸作用形成不溶化合物,避免与饲料中植酸、草酸等形成难以吸收的螯合物,受其它无机离子和拮抗物的影响较小,能够阻止不溶性胶体的吸附作用,具有良好的化学稳定性和生化稳定性^[4]。

2 氨基酸螯合锌的生物学利用率

许多研究证明,氨基酸螯合锌的生物学利用率高于无机锌和有机酸锌源,并能有效促进动物生长^[5]。Wedekind等(1992)^[6]在肉仔鸡上的试验报道,以生长

速度和胫骨中锌含量作为评价指标,在纯合日粮、半纯合日粮和玉米-豆粕型日粮中添加的蛋氨酸锌,其生物学效价相对于一水硫酸锌(生物学效价设为100%)分别是117%($P<0.05$)、177%($P<0.01$)和206%($P<0.05$)。虞泽鹏等(2002)^[7]分别以肉仔鸡的胰脏锌含量、胫骨锌含量和血清磷酸酶(AKP)为敏感指标,测得蛋氨酸锌的生物学效价分别是硫酸锌的133.93%、108.35%和105.94%。周锦兰等(2002)^[8]报道,用氨基酸螯合物作为有机锌源添加剂饲喂肉鸡时,其生物学利用率较无机锌源高。徐学明等(2002)^[9]报道,氨基酸螯合物在预混料中具有较好的稳定性,对维生素E和维生素C的破坏作用明显小于无机盐。但有研究表明,蛋氨酸锌、赖氨酸锌与硫酸锌对断奶仔猪、羔羊具有相同的生物学利用率(Ahn, 1998^[10]; Cheng, 1998^[11])。

上述研究表明,氨基酸螯合锌的生物学利用率可因不同的动物或者同种动物的不同阶段而有所不同,其原理仍需要进一步的研究。

3 氨基酸螯合锌的作用机理

目前,对氨基酸螯合微量元素的作用模式尚不清楚,被研究者较为接受的是氨基酸或肽的吸收机制。Ashmead等(1996)^[12]证明,氨基酸螯合微量元素的吸收是利用氨基酸或小肽的吸收机制,不同于小肠中普通金属的吸收机制。Found(1974)^[13]研究表明,位于具有五元环或六元环中心的金属离子可以直接通过小肠绒毛刷状缘,以胞饮的形式吸收。此理论的根据是金属离子以共价键和离子键与氨基酸的配位体键合,被保护在复合物的核心,避免了一些理化因子的攻击,而且金属螯合物被肠粘膜吸收,使得所携带的金属离子得到更有效的吸收。对所有动物来说,有证据表明,氨基酸以肽的形式吸收和以游离氨基酸的形式吸收同样重要,甚至更重要(Webb等,1992)^[14],因为小肽能完整地吸收,通过肠粘膜细胞进入体循环(Bronk等,1993)^[15]。

4 氨基酸螯合锌对动物免疫功能的影响

适量的锌可提高血粒细胞和腹腔吞噬细胞的杀菌作用。淋巴细胞特别是T淋巴细胞对缺锌特别敏感。高锌使动物出现生理紊乱,胸腺重量减轻,胸腺肽含量及活性降低,胸腺激素活性受到抑制,从而抑制

曹国弟,山西农业大学动物科技学院,在读硕士,030801,山西太谷山西农业大学动物科技学院333#。

赵恒寿,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-24

了T淋巴细胞的增殖和分化功能,使T淋巴细胞的分化出现了障碍。动物在缺锌的条件下,免疫脏器明显萎缩,T细胞亚群、淋巴因子活性发生变化^[16]。

4.1 氨基酸螯合锌对动物免疫力的影响

氨基酸螯合锌具有增强抗菌能力、提高免疫应答反应、促进动物细胞和体液免疫力的功效,对某些肠炎、皮炎、痢疾和贫血也有治疗作用^[16]。

Nockels (1994)^[17]在比较蛋氨酸锌对动物免疫功能影响的试验中发现,与等量的氧化锌相比,蛋氨酸锌可提高雏鸡、断奶仔猪和绵羊的免疫力。

其它研究表明,蛋氨酸锌可提高蛋鸡的IgG、IgM水平和T淋巴细胞转化率(TLR)(赵波等,2005)^[18]。在肉种鸡饲料中添加40mg/kg ZnMet来增强后代免疫力(Kidd等,1994)^[19],蛋氨酸锌可通过改善蛋鸡的免疫系统来提高免疫功能,增强对疾病的抵抗能力,从而可保证蛋鸡发挥最大生产潜力(Khajaren,2002)^[20]。因此,蛋氨酸螯合物替代无机盐能改善蛋鸡的免疫功能(王希国,2002)^[21]。

此外,氨基酸螯合锌还具有良好的抗应激功能,在接种、去势、气温过高和变更日粮等应激条件下,有良好的作用效果。

4.1.1 对细胞免疫的影响

研究表明,动物缺锌影响中性粒细胞功能(Vruwink等,1993)^[22],并会降低中性粒细胞的趋化性(Fletcher等,1988)^[23]。在体内试验的研究表明,降低锌水平会影响NK细胞活性以及巨噬细胞和中性细胞的细胞吞噬功能(Keen等,1990)^[24];另外,锌缺乏时粒细胞的数目减少(Prasad,2000)^[25]。Kidd(1992,1994)^[19,26]试验表明,蛋氨酸锌可提高肉种鸡和肉鸡对雏白痢沙门氏菌抗原的原发性抗体滴度,增加后代鸡的细胞免疫水平,蛋氨酸锌能提高单核巨噬细胞的存活率及细胞完整性,并提高其吞噬活性。

4.1.2 对体液免疫的影响

氨基酸螯合锌主要是通过提高动物初次免疫应答和再次免疫应答的主要体液免疫物质含量来提高动物免疫反应的。

B细胞是参与体液免疫的主要细胞,B细胞激活后可以分化成生成抗体的浆细胞,产生抗体。Flynn(1984)^[27]研究表明,B细胞增殖对锌的依赖性不及T淋巴细胞,因此缺锌对B细胞发育的影响也不如T细胞(Fraker等,1997)^[28]。在产蛋鸡日粮中,添加氨基酸锌与添加硫酸锌相比,55~59周龄期间添加氨基酸锌组鸡的死亡率较低且抗体水平较高(杨人奇等,2003)^[29]。成廷水(2004)^[30]的试验表明,添加氨基酸锌可显著提高

一免和二免牛血清白蛋白(BSA)第7d的抗体反应,同时也降低了蛋鸡的死淘率。Ahn等(1998)^[31]也报道,与ZnO添加量相同时,蛋氨酸锌能提高仔猪血清IgG含量。Ferket等(1992)^[32]在公火鸡基础日粮中添加ZnMet和MnMet(0、40mg/kg)试验的结果表明,ZnMet和MnMet能增加IgG的水平。

4.2 氨基酸螯合锌对动物抗病力的影响

王洪荣(1994)^[33]指出,蛋氨酸锌饲喂奶牛可降低奶牛乳房患病率,减少腐蹄病的发生。Dudley-Cash(1997)^[34]报道,给肉鸡补充蛋氨酸锰和蛋氨酸锌可减少肉鸡球虫病的发生,降低因球虫病所致的死亡率。

5 氨基酸螯合锌对动物抗氧化功能的影响

成廷水等(2004)报道,添加氨基酸锌可显著提高45周龄蛋鸡肝脏组织的总抗氧化能力(TOAC)和谷胱甘肽(GSH)含量,降低组织脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的生成;显著提高脾脏组织SOD活性和GSH含量,降低丙二醛(MDA)的含量。虞泽鹏等(2005)^[35]对小鼠进行试验,结果表明,饲料中添加氨基酸锌可显著提高碱性磷酸酶(AKP)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性;添加氨基酸锌可显著提高总抗氧化能力(TAOC)、总SOD(TSOD)、铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活性。

CuZnSOD是一种锌依赖酶,对抗氧化防御系统非常重要。Kraus等(1997)^[36]试验证明,缺锌大鼠血清锌含量和AKP活性降低,红细胞谷胱甘肽S转移酶水平升高,谷胱甘肽浓度下降,红细胞抗氧化功能不全。Oteiza等(1995)^[37]在大鼠的试验中发现,严重和中度锌缺乏导致蛋白质、脂肪和DNA的氧化损伤,可能是由于Zn依赖性抗氧化功能的下降而引起的。另外,Shaheen等(1995)^[38]的研究还表明,缺锌显著降低血液和肝脏GSH含量和SOD活性,增加MDA的含量,补锌显著减少内源MDA的形成。

可见,氨基酸螯合锌对于维持动物机体的抗氧化系统是不可缺少的营养素添加剂。

6 锌缺乏症对动物的影响

中枢免疫器官和外周免疫器官的功能有不可替代的作用。当动物机体缺锌时,会严重影响这些免疫器官的生长发育以及正常功能的发挥。如鸡缺锌,对生长、免疫器官发育以及细胞免疫功能、体液免疫功能造成广泛的抑制效应,T或B淋巴细胞转化率显著降低,在较低水平维持抗体的产生而降低体液免疫功能(张日俊等,1997)^[39]。同时,缺锌鸡胸腺、脾脏及腔上囊等淋巴器官萎缩,免疫抗病力下降。

动物机体缺锌还会影响到机体正常的抗氧化功

能的发挥,当机体缺锌时,会造成锌依赖性酶如CuZnSOD等的活性明显下降,同时也会导致蛋白质、脂肪和DNA的氧化损伤等。

7 高锌对动物的影响

动物日粮中添加高剂量的锌也会造成动物生长受阻、免疫力下降和抗氧化功能降低。较为明显的是对其免疫力的影响。在家禽中锌中毒的鸡T淋巴细胞转化率和B淋巴细胞对LPS(脂多糖)的反应性降低^[40]。雏鸭锌中毒时,淋巴器官生长指数、淋巴细胞增殖指数以及红细胞免疫功能显著下降^[41]。高锌可使肉鸡的淋巴器官发育和外周血淋巴细胞的分裂增殖受抑,外周血T淋巴细胞的成熟率显著降低,并引起其亚群CD4、CD8数量和组成的变化,导致机体细胞免疫和体液免疫功能的降低,日粮高锌可致雏鸡免疫功能受损(赵翠燕等,2004)^[42]。

8 结论

综上所述,饲料中适量(高锌、低锌同样对动物造成不利影响)添加氨基酸螯合锌可以促进生长、降低饲料消耗、提高饲料转化率;增强动物免疫功能;提高动物抗氧化能力;还可以减少环境污染。可见,氨基酸螯合锌在畜牧业上具有明显效果,有广阔的应用前景。可以通过改进生产工艺,降低生产成本,提供优质价廉产品,了解理想添加水平和影响因素,加强推广应用,促进畜牧业发展。

参考文献

- 1 AAFCO, Official publication. Atlanta, GA, 2000
- 2 刘瑞生. 氨基酸微量元素螯合物研究应用概况[J]. 江西饲料, 2004(1):9~12
- 3 Power S R. The antioxidant properties of zinc [J]. J. Nutr., 2000, 130:1 447~1 454
- 4 苏振光. 氨基酸螯合锌对肉鸡生物学效价及对生产性能和免疫功能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2004
- 5 Cao J, Henry PR, Guo R, et al. Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants[J]. J. Anim. Sci., 2000, 78:2 039~2 054
- 6 Wedekind H J, A. E. Hortin, D. H. Baker. Methodolrassessing Zinc bioavailability: efficacy estimates for zinc -methionine, zinc sulfate and zinc oxide[J]. J. Anim, Sci., 1992, 70:178~187
- 7 虞泽鹏, 吴晋强. 饲喂 ZnMet 水平对肉用仔鸡生产性能及组织器官锌含量和碱性磷酸酶(AKP)活性的影响[J]. 饲料博览, 2002(5):1~3
- 8 周锦兰, 俞开潮, 吴灵英, 等. 蛋氨酸锌螯合物合成的改进及饲喂肉鸡的生物学效价的对比研究[J]. 粮食与饲料工业, 2002(7):35~36
- 9 徐学明, 张晓鸣, 袁信华, 等. 微量元素氨基酸锌络合物在预混合饲料中理化性质的研究[J]. 中国粮油学报, 2002(3):31~33
- 10 Ahn S H, J.S. Um, D.H. Kim, et al. Effects of the source and levels of supplemental zinc on the performance of weanling pigs [J]. J. Anim. Sci., 1998, 40(1):9~20
- 11 Cheng J, E.T. Kornegay, T. Scholl. Influence of dietary lysine on the utilization of zinc from zinc sulphate and zinc-lysine complex by young pigs[J]. J. Anim. Sci., 1998, 76:1 064~1 074
- 12 Ashmead H D. Unlocking reproductive potential in the sow with amino acid chelated elements. Proceedings of the anaporcsympo-sium, Spain, 1996
- 13 Found M T. The Physiochemical role of chelated minineral in maintaining optimal body biological functions [J]. Journal of Applied Nutrition, 1974, 28:5
- 14 Webb K E, J.C. Mattbews, D.B. Dirianzo. Peptid absorption: A review of current concepts and future Perspective [J]. J. Anim. Sci., 1992, 70: 3 248~3 257
- 15 Bronk J R, N. Lister, R. A. Helliwell. Stereospecificity of dipeptide transport in rat small intestine in vitro[J]. J. Physiol., 1993, 467:189
- 16 吴玉臣, 杨国宇, 王艳玲, 等. 氨基酸螯合锌的应用效果[J]. 饲料博览, 2004(6):28~30
- 17 Nockels C F. Micronutrients and the immune response. In: Montana Nutrition Conference proceedings. Montana State Univesity, 1994. 3:1
- 18 赵波, 丁雪梅, 张克英, 等. 蛋氨酸微量元素螯合物对产蛋鸡蛋品质及生理功能的影响[J]. 四川农业大学学报, 2005, 23(2):238~243
- 19 Kidd M T, M. A. Qureshi, P.R. Ferkel, et al. Blood clearance of Escherichia coli and evaluation of mononuclear-phagocytic system as influenced by supplemented dietary zinc methionine in young turkeys[J]. Poult. Sci., 1994, 73:1 381
- 20 Khajaren J, Ratananethakul, Khajaren S, et al. Effect of zinc and manganese amino acid complexes (Availa R Z/M) on broiler breeder production and immunity [C]. Poult. Sci. Assian 91st annual meeting, 2002, 11~14
- 21 王希国. 蛋氨酸锌对产蛋后期母鸡生产与非特异免疫性能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2002
- 22 Vruwink K G, Keen C L, Gershwin M E, et al. The effect of experimental zinc deficiency on development of the immune-system. In: Nutrient Modulation of Immune response (Ed. Cunningham-Rundles, S.), Marcel Dekker Inc, New York, 1993. 263~279
- 23 Fletcher M P, M. E. Gershwin, C.L. Keen, et al. Trace element deficiencies and immune responsiveness in human and animal models. In: Nutrition and Immunology. R. K. Chandra, ed. Alan R. Liss, Inc., New York, NY. 1988. 215~239
- 24 Keen C L, Gershwin M E. Zinc deficiency and immune function. annu. Rev. Nutr., 1990, 10:415~431
- 25 Prasad A S. Effects of zinc deficiency on immune functions. J. Trace. Elem. Exp. Med., 2000, 13:1~20
- 26 Kidd M T, N. B. Anthony, S.R. Lee. Progeny performance when dams and chicks are fed supplemental zinc[J]. Poult. Sci., 1992, 71: 1 201~1 206
- 27 Flynn A. Control of in vitro lymphocyte proliferation by copper, manganesium and zinc deficiency[J]. J. Nutr., 1984, 114:2 034~2 042
- 28 Fraker P. J, Telford W G. A reappraisal of the role of zinc in life and death decisions of cells [J]. Proc. Exp. Biol. Med., 1997, 215: 229~236
- 29 杨人奇, 冯于明. 氨基酸锌应用于产蛋鸡的效果研究[J]. 中国饲料, 2003, (5):17~18
- 30 成廷水, 冯于明. 氨基酸锌对产蛋鸡性能及免疫反应的影响[J]. 饲料研究, 2004(4):1~5
- 31 Ahn S H, J.S. Um, D.H. Kim, et al. Effects of the source and levels of supplemental zinc on the performance of weanling pigs[J]. J. Anim.

HPLC法检测饲料预混料中尼卡巴嗪的含量

陈丽 谭宝玲 冯建文

摘要 利用 HPLC 法检测饲料预混料中尼卡巴嗪的含量。采用 C₁₈ 柱, 甲醇-水(80-20)为流动相, 波长 265nm。线性回归方程为 $Y=2\ 828.4X+1\ 548.7$ ($R^2=0.999\ 7$), 在尼卡巴嗪浓度 10~50 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性良好。

关键词 HPLC; 尼卡巴嗪; 预混料

中图分类号 S816.17

尼卡巴嗪(双硝苯脲二甲嘧啶醇)是一种可在饲料中添加的药物添加剂, 具有较强的抗原虫作用, 同时对球虫病也有一定的防治作用。尼卡巴尤其对于盲肠球虫和肠内球虫, 如柔嫩、堆型、巨型、毒害和褐色等艾美耳球虫效果显著^[1]。国外大量试验证明, 它是一种高效、无毒、性能稳定、抗药性小、不降低家禽免疫功能的较理想的抗球虫饲料添加剂。

尼卡巴嗪的抗药性产生相当缓慢, 是目前较少受到球虫抗药性困扰的几种药物之一^[2,3]。在防治鸡球虫病的同时, 它还能促进鸡的生长发育, 节约饲料, 提高养鸡的经济效益。但要掌握好用药剂量, 过多或过少都会影响防治效果与生产效益。有试验证明, 尼卡巴嗪有导致鸡热应激加重的作用^[4], 当尼卡巴嗪在饲料中含量过高时, 会造成家禽易产生热应激, 使死亡率急速上升^[5]。

本文建立了 HPLC 法检测饲料预混料中尼卡巴

嗪的含量, 结果表明该方法处理简单, 具有快速准确的特点。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters1525 高效液相色谱仪(Waters2487 紫外检测器及化学色谱工作站)、超声波发生器 AS1320。

1.2 试剂

尼卡巴嗪对照品(含量 99.5%)、甲醇(色谱纯)、超纯水、N,N-二甲基甲酰胺(DMF, 分析纯)。

2 色谱条件

色谱柱: WatersXTerra™ RP C₁₈(5 μm , 39mm \times 150mm);

流动相: $V_{\text{甲醇}} : V_{\text{水}} = 80 : 20$;

流速: 1ml/min;

检测波长(λ): 265nm;

进样量: 20 μl ;

柱温: 室温。

在上述色谱条件下, 对照品和预混料样品的色谱图见图 1、图 2。

3 标准曲线的制作

3.1 标准储备液

准确称取标准品 10.0mg 于 10ml 容量瓶中, 用 N,

陈丽, 广东温氏食品集团有限公司营养部质检中心, 527439, 广东省新兴县。

谭宝玲、冯建文, 单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期: 2006-05-15

Sci., 1998, 40(1):9~20

32 Ferket P R, M.A. Qureshi. Effect of level of inorganic and organic zinc and manganese on the immune function of turkey toms [J]. Poultry Sci., 1992, 71(1):60(Abstr.)

33 王洪荣, 卢德勤. 金属氨基酸螯合物的应用前景 [J]. 饲料研究, 1994 (9):19~21

34 Dudley-Cash W A. Organic farms of zinc may provide additional benefits in poultry [J]. Feedstuffs, 1997(11):10~11

35 虞泽鹏, 乐国伟, 施用晖, 等. 不同锌源对断奶小鼠生长及机体抗氧化能力的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(4):1~3

36 Kraus A, Roth H R, Kirchgessner M. Influence of vitamin C, vitamin E and beta-carotene, on the osmotic fragility and the primary antioxidant system of erythrocytes in zinc-deficient rats. Archives fur tierernahrung, 1997, 50:257~269

37 Oteiza P L, Olin K L, Fraker C Q, et al. Zinc deficiency causes ox-

idative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes [J]. J. Nutr., 1995, 125:823~829

38 Shaheen A A, ABD EL-Fattah, A.A. Effect of Dietary zinc on lipid peroxidation, Glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in tissues. Int J, Biochem, Cell Biol., 1995, 27(1):89~95

39 张日俊. 锌对肉鸡免疫器官发育及免疫功能调节作用的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1997, 30(6):504~512

40 张日俊, 周毓平, 黄燕, 等. 锌对肉仔鸡免疫器官生长发育及免疫功能调节作用的研究 [J]. 畜牧兽医学报, 1999, 30(6):504~512

41 方静, 崔恒敏, 彭西, 等. 锌中毒对雏鸭免疫系统结构及其功能影响的研究 [J]. 营养学报, 2003, 25(2):79~84

42 赵翠燕, 崔恒敏. 高锌对雏鸡红细胞免疫功能的影响 [J]. 中国兽医科技, 2004, 34(11):66~69

(编辑: 高雁, snowyan78@tom.com)

N-二甲基甲酰胺溶解并定容,作为标准储备液。该溶液浓度为 1mg/ml。

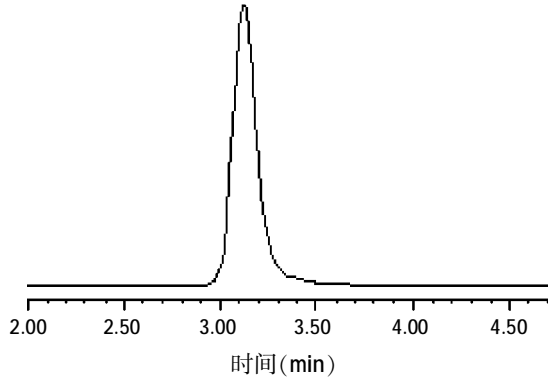


图1 尼卡巴嗪对照品液相色谱

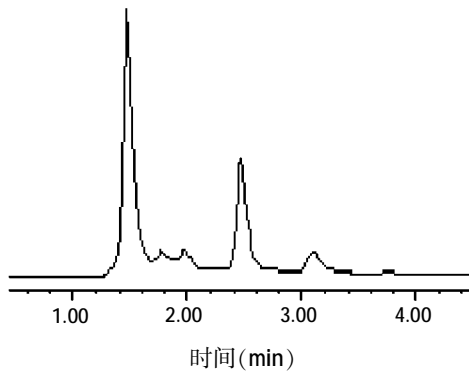


图2 预混料样品液相色谱

3.2 工作液

分别取标准储备液 1、1.5、2、2.5、3、4、5ml 于 10ml 棕色容量瓶中,用流动相定容至刻度。该系列溶液含尼卡巴嗪浓度分别为 10、15、20、25、30、40、50 $\mu\text{g/ml}$ 。

分别取工作液按照色谱条件进样,以峰面积为纵坐标,尼卡巴嗪浓度为横坐标,进行直线回归,求得回归方程 $Y=2\ 828.4X+1\ 548.7$ ($R^2=0.999\ 7$)。

由此可知,回归方程在尼卡巴嗪浓度为 10~50 $\mu\text{g/ml}$ 范围内线性良好。

4 样品前处理

称取预混料样品 2.0g 左右(25%的饲料级原料尼卡巴嗪预混剂 0.1g 左右)于 100ml 棕色容量瓶中,加入 80ml N,N-二甲基甲酰胺于 60 $^{\circ}\text{C}$ 超声溶解 20min,静置,冷却后用 N,N-二甲基甲酰胺定容,然后过滤,弃去初滤液,滤液再用 0.45 μm 的滤膜过滤。滤液进行 HPLC 分析。

5 回收率试验

2 水平 3 重复的回收率试验见表 1。

表 1 样品添加尼卡巴嗪回收率情况

添加量(μg)	检出量(μg)	平均值(μg)	回收率(%)	变异系数(%)
30	24.66	23.99	98.64	2.49
	23.52		94.08	
	23.78		95.12	
50	48.49	48.58	96.98	1.68
	47.81		95.62	
	49.44		98.88	

6 讨论

6.1 提取剂的选择

本试验比较了用乙腈和 N,N-二甲基甲酰胺作提取剂,发现乙腈未能很好的将尼卡巴嗪从载体中溶解出来,致使检测量偏低;而 N,N-二甲基甲酰胺能很好的使样品完全溶解。因此采用 N,N-二甲基甲酰胺作提取剂。

6.2 检测波长的选择

溶剂 N,N-二甲基甲酰胺在波长 245nm 处有最大吸收,虽然尼卡巴嗪在此波长处也有出峰,但吸收较小;而在波长 265nm 处,N,N-二甲基甲酰胺的吸收明显减小许多,尼卡巴嗪在此处波长有最大吸收峰,受溶剂 N,N-二甲基甲酰胺的影响干扰很小。因此选择 265nm 为饲料中尼卡巴嗪的检测波长。

6.3 超声溶解提取温度的选择

本试验发现在常温下超声溶解,样品中的尼卡巴嗪溶出度很低。而在 60 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴超声条件下,尼卡巴嗪能更好的从载体中溶解出来。

综上所述,选择 N,N-二甲基甲酰胺提取饲料中的尼卡巴嗪,免去了以往使用过碱性氧化铝柱子的净化,操作简便易行,回收率高,是测定饲料中尼卡巴嗪的可行方法。

参考文献

- 1 谢明权,吴惠贤,张健骅,等.抗球虫剂对 Eimeriatenella 裂殖体的效力试验[J].中国兽医寄生虫病,1994,2(1):22~25
- 2 李安兴,谢明权,蔡建平,等.广东省肉鸡柔嫩艾美耳球虫(E. tenella)抗药性调查.中山大学学报(自然科学版),2000,39(6):138~144
- 3 陈兵,唐光武,刘金松,等.尼卡巴嗪对鸡球虫的生物活性及对鸡生长的影响[J].浙江农业学报,2003,15(2):73~77
- 4 欧斌烈,陈芬儿,等.抗球虫药尼卡巴嗪的应用及合成工艺研究[J].湖北化工,1991(1):21~24
- 5 周荣琼,聂奎,王娟,等.马杜霉素和尼卡巴嗪不同组分驱球虫效力的对比[J].中国兽药杂志,1997,31(3):33~34

(编辑:孙崎峰,sqf0452@126.com)

京尼平甙法测定酶活在 β-葡萄糖苷酶高产菌株筛选中的应用

何平 曾莹 李彦 陈茂彬

摘要 在筛选β-葡萄糖苷酶高产菌株过程中用京尼平甙作底物来测定β-葡萄糖苷酶的活力,在对产物进行显色时,具有显色稳定、重现性好、试剂价格较低等优点。通过水杨苷法作葡萄糖标准曲线,能得到相对酶活与绝对酶活的换算公式,进而得到绝对酶活。实验采用京尼平甙作底物来测定β-葡萄糖苷酶的活力,即京尼平甙法,并从实验室保藏菌和豆豉分离菌中筛选出一株适合β-葡萄糖苷酶产量高的菌株O₃。

关键词 京尼平甙法;β-葡萄糖苷酶;酶活;水杨苷法

中图分类号 Q939.99

The application of lobster saucos deniposide enzyme activity to select the strain which has the high yield of β- glucosidase

He Ping, Zeng Ying, Li Yan, Chen Maobin

Abstract During the selection of the strain which has the high yield of β- glucosidase the deniposide was used as the substrate to check the enzyme activity .The production which is colourated has some merits such as steady colouration, high repetition rate and low price of the reagent. Making standard curve by salicin enzyme activity ,we can get the formula of relative and absolute enzyme activity ,then transform into absolute enzyme activity of glucose. The method of using deniposide as the substrate laboratory was adopted to select the strain O₃ which has the high yield of β-glucosidas, of which were chosen from the preserved enzyme and the losbster saucos enzyme.

Key words lobster saucos deniposide;β-glucosidase;enzyme activity;salicin enzyme activity

京尼平甙经β-葡萄糖苷酶水解后生成京尼平,京尼平与谷氨酸反应生成蓝色色素——桅子蓝,用分光光度计检测蓝色色素吸收值来判断是否存在产β-葡萄糖苷酶或筛选β-葡萄糖苷酶产量高的菌株,称为京尼平甙法或京尼平甙水解法。此法具有快捷、准确、筛选量大的特点。

β-葡萄糖苷酶是一类水解酶类,具有族专一性,其水解底物中的β-葡萄糖苷键,要求键的一边是β-D-葡萄糖,对键的另一边,即糖苷的配基或称甙元则要求不严。用不同配基的β-葡萄糖苷作底物测该酶酶活时有不同的Km值,Km值最小的底物才是该酶的最适底物,此时酶的活力最大。用京尼平甙作底物

来测定β-葡萄糖苷酶的活力,在对产物进行显色时,具有显色稳定,重现性好,且试剂价格较低等优点。本文在筛选β-葡萄糖苷酶高产菌株的试验中用了两种方法来测定该酶的活力,经比较发现,用京尼平甙法测酶活更好。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 豆豉

由广东阳东县合山兴华豆豉厂提供。

1.1.2 培养基

活化(保存)菌种培养基:真菌为土豆培养基;细菌为肉汤培养基。

分离培养基:细菌组成为α-纤维素 2%、蛋白胨 2%、酵母膏 1%、琼脂 2%,pH值 7.0~7.2;霉菌组成为α-纤维素 1%、蛋白胨 0.5%、KH₂PO₄ 0.1%、MgSO₄ 0.05%、1/3 000 孟加拉红 100ml、琼脂 2%,自然 pH 值,用前加 pH 值为 6.5 的 0.03%链霉素稀释液100ml。

发酵培养基:真菌组成为麸皮 2%、α-纤维素

何平,湖北工业大学工程学院,在读硕士,430068,湖北省武汉市南湖湖北工业大学生物工程学院 928 信箱。

曾莹、李彦、陈茂彬(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-03-27

1%、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2%、 KH_2PO_4 0.2%、 CaCl_2 0.04%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04%、自然 pH 值;细菌组成为麸皮 2%、 α -纤维素 1%、 KH_2PO_4 1%、 NaCl 0.2%、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02%、蛋白胨 1%、pH 值 7.0。

1.1.3 主要试剂与仪器

α -纤维素(Sigma 公司)、栀子蓝砒水(武汉绿孚生物制品有限公司)、谷氨酸钠(加加酱业有限公司)、3,5-二硝基水杨酸(北京金龙化学试剂有限公司)、722s 分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)、恒温电热培养箱(上海浦东跃欣科技仪器厂)、旋转式摇床(中科院武汉科学仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 现有菌株初筛

将本实验室保藏的 23 株现有菌株进行两次活化,对活化的菌株进行平板快速检测,观察菌落形成的透明圈大小并测量其直径,选出透明圈大的菌株。

1.2.2 复筛(京尼平砒法)

将初筛筛选的菌株制成菌悬液,按 10%的接种量接到发酵培养基上,30℃ 150r/min 摇床培养 65h,取发酵液,滤纸过滤,收集上清液即为酶液。取 2%的栀子蓝砒水作为底物,5%谷氨酸钠溶液作为显色助剂,再加入酶液和 pH 值为 4.6 的醋酸缓冲溶液,50℃下保温 24h,于 722s 分光光度计 590nm 处测 OD 值,选出 OD 值较高的菌株。

1.2.3 豆豉菌分离筛选及 OD 值的测定

取 1g 豆豉样于无菌水中制成菌悬液涂平板上,挑取单菌落接斜面培养后接于发酵培养基。将保藏菌与豆豉菌统一接入摇瓶培养基,按上述培养。用京尼平砒法测相对酶活,选出酶活最高的菌株。

1.2.4 酶活的测定(水杨苷法)

水杨苷法测酶活参照顾卫民等(2001)介绍的方法。

2 实验结果

2.1 平板快速检测法初筛

对现有的 23 种菌进行平板快速检测法初筛,观察菌落形成的透明圈并测量其直径,并算出 Hc 值,见表 1(Hc 值为 3 次的平均值)。

表中未提及的菌种均在初筛平板上不能产生透明圈,故被淘汰。

选出了 3.042A、3.042G、 A_{03} 、 O_3 、 $\text{A}_{02\text{N}4}$ 、黑 x、 n_1 、 n_2 、 n_4 、 An_5 、 An_6 、 An_7 这 12 株菌进行摇瓶复筛。虽然表中 An_3 的 Hc 值较大,但产生的透明圈较模糊所以舍去, $\text{F}_{27.22.1}$ 在初筛平板上透明圈为红色晕圈,且较模糊因此也舍去,把 n_2 加入,进行发酵复筛。

表 1 保藏菌种初筛

项目	编号	Hc	项目	编号	Hc
1	3.042A	2.664	9	An_7	1.345
2	3.042G	2.855	10	$\text{A}_{02\text{N}4}$	1.365
3	O_3	1.737	11	$\text{F}_{27.22.1}$	1.207
4	A_{03}	1.836	12	n_2	1.177
5	An_2	1.096	13	n_4	1.236
6	An_3	1.345	14	n_1	1.219
7	An_5	1.238	15	黑 x	3.369
8	An_6	1.214			

2.2 产酶发酵培养进行复筛

将从初筛平板上所选的 12 种菌进行摇瓶复筛。将初筛所得菌株以 10%的接种量接摇瓶培养,培养 65h 后取发酵液用京尼平砒法测相对酶活,测 OD 值。保藏菌种的复筛结果见表 2。

表 2 保藏菌种复筛

编号	第一次 OD 值	第二次 OD 值	第三次 OD 值	平均值 OD 值
3.042A	1.217	1.279	1.271	1.256
3.042G	1.219	1.219	1.231	1.227
A_{03}	1.178	1.178	1.297	1.158
O_3	1.285	1.285	1.260	1.245
$\text{A}_{02\text{N}4}$	1.255	1.255	1.330	1.242
黑 x	1.371	1.371	1.259	1.128
n_1	1.156	1.156	1.030	1.079
n_2	0.784	0.784	0.860	0.881
n_4	1.208	1.200	1.049	1.152
An_5	1.004	0.900	1.158	1.021
An_6	0.990	0.935	1.049	0.991
An_7	1.160	1.330	1.080	1.19

结合 3 次复筛的结果,以及初筛的结果和生长速度,选出 3.042A、3.042G、 $\text{A}_{02\text{N}4}$ 、 A_{03} 、 O_3 5 株菌。

2.3 豆豉菌分离筛选,OD 值的测定

通过以 α -纤维素为唯一碳源的分离培养基,对豆豉中的 β -葡萄糖苷酶产生菌的分离纯化的培养,共分离得到 12 株菌,将这 12 株菌接入复筛培养基中,进行发酵培养,再用京尼平砒法测相对酶活,结果见表 3。

表 3 豆豉菌筛选

编号	OD 值	编号	OD 值
1	-0.029 0	7	-0.021 5
2	0.007 5	8	-0.004 5
3	0.000 0	9	0.378 5
4	0.043 0	10	0.091 0
5	-0.049 5	11	-0.009 5
6	0.080 0	12	0.031 0

表 3 中数值为两次复筛的平均值,经过比较挑出

相对酶活较高的5株菌:9号、10号、6号、4号、12号(表中出现负值的原因可能是由于空白对照中含有某些还原性物质能够使显色助剂显色,使酶活较低的OD值出现负值)。

2.4 二次复筛培养

将选出的相对酶活较高的5株实验室保藏菌和5株豆豉分离菌接摇瓶复筛培养65h后,用京尼平武法测相对酶活,测OD值进行二次复筛。结果见表4。

表4 保藏菌与豆豉分离菌二次复筛

实验室保藏菌	OD值	豆豉分离菌	OD值
3.042A	1.191	4	0.039
3.042G	1.311	6	0.767
A ₀₃	1.161	9	1.066
A _{02N4}	1.118	10	1.200
O ₃	1.333	12	0.048

由二次复筛来的结果来看,O₃的OD值最大,由此可判断其酶活最高。

2.5 葡萄糖标准曲线的制作

配制浓度范围为0~40μg/ml的葡萄糖标准溶液,加入DNS试剂,充分混合后使其在沸水浴中保持10min,于722s分光光度计510nm处测其吸光度,并作标准曲线,见图1。

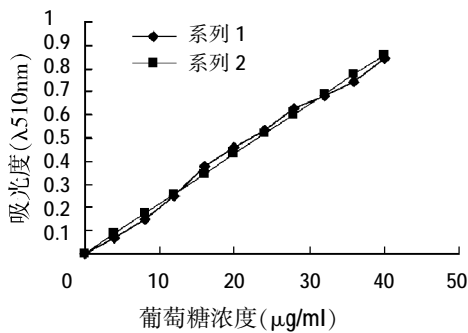


图1 葡萄糖标准曲线

根据标准曲线计算线性回归方程为 $y=0.0214652x+0.00206667$ 。

2.6 京尼平武法与水杨苷法测酶活比较(见表5)

表5 京尼平武法与水杨苷法测酶活比较

项目	京尼平武法	水杨苷法	相关系数
1	1.176	0.377	0.3206
2	0.867	0.366	0.4221
3	1.308	0.526	0.4021
4	1.071	0.345	0.3221

由相关系数,求得平均相关系数为0.3667,即 $OD_{(水)}=0.3667 \times OD_{(京)}$,即通过公式可得出筛选菌株的

绝对酶活。

3 讨论

经实验比较,用京尼平武法测酶活更方便、快捷,瓶子蓝武水价格便宜,在测多组菌发酵液酶活时更经济,显色稳定,操作简单,而且在722s分光光度计上测相对酶活值重复性好,适合于菌种筛选。但京尼平武法因为用空白为对照,因此只能测得相对酶活,在测绝对酶活时还需用水杨苷法作葡萄糖标准曲线,才能得到相对酶活与绝对酶活的换算公式,进而得到绝对酶活。

参考文献

- 1 顾卫民,郭海风,沈爱光.β-葡萄糖苷酶产生菌发酵条件的优化、粗分离及其特征[J].江苏食品与发酵,2001(4):12~16
- 2 梁华正,乐长高,廖晓峰.京尼平武水解物与谷氨酸钠反应生成栀子蓝色素最佳条件的研究[J].食品工业科技,2004,25(7):110~112
- 3 吴志梅,梁华正,李佳春,等.产β-葡萄糖苷酶菌株的筛选及发酵栀子蓝色素的研究[J].现代食品科技,2005,21(3):53~57
- 4 李平,宛晓春,丁宵霖,等.黑曲霉β-葡萄糖苷酶的活力测定和酶学性质[J].安徽农业大学学报,1998,25(3):304~307
- 5 傅向阳,李世杰,方尚铃.杆菌发酵栀子黄废液产栀子蓝色素的摇瓶发酵优化[J].中国食品添加剂,2002(3):33~36
- 6 王兆梅,李琳,郭祀远,等.大豆异黄酮分离特性及其检测的初步探讨[J].食品与发酵工业,2002,27(8):24~27
- 7 沈萍,范秀容,李广武主编.微生物学实验[M].高等教育出版社,2001

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)

· 广告 ·

争做稳定性VC系列优秀供应商——

**富阳市优派特
生物技术有限公司**

**L-抗坏血酸-2-磷酸酯 35%(2000吨/年)
包衣VC、VC钙、VC钠**

农业部生产许可证号:饲添(2003)1542
公司地址:杭州富阳市凤浦路86号(311400)
生产基地:富阳市灵桥镇工业小区2号
电话:0571-63349309
传真:0571-63340623
http://www.fyupdate.com
E-mail:sale@fyupdate.com
联系人:陈先生(13806517850)

三萜皂甙的免疫生物学和抗病毒机理研究

陈够芬 詹 勇

摘 要 三萜皂甙是天然药物中的一种重要活性成分,具有多种药理活性,能提高机体T淋巴细胞转化率和IL-2活性,增加IgG含量和ACTH含量,提高抗体水平。许多研究表明,三萜皂甙还具有抗肿瘤、抗疲劳和抗病毒等作用。就近年来天然药物中三萜皂甙结构、免疫生物学作用和抗病毒机理研究作一综述,并阐述目前三萜皂甙在的研究中存在的问题和研究进展。

关键词 三萜皂甙;结构;免疫生物学;抗病毒机理

中图分类号 S816.7

皂甙是一类比较复杂的甙类化合物,根据配体骨架不同分为甾体皂甙和三萜皂甙,广泛分布于高等植物及其产品中,这些产品对于人类和动物营养起着重要作用。皂甙的生物学作用已被大量研究,现已深入到皂甙的膜渗透性、免疫刺激性、降低胆固醇和抗癌作用等方面。研究发现,皂甙可以显著影响动物的生长和繁殖以及对饲料营养成分的吸收;可以杀死病原微生物,具有抗氧化作用;可以削弱内脏中蛋白质、维生素和矿物质的吸收,引起低血糖症;也可作为抗真菌剂和抗病毒剂。因此,皂甙对动物既有积极作用,又有负面影响。

三萜皂甙作为皂甙的一种,是天然药物中的一类活性成分,具有多种药理活性,如对免疫细胞、细胞因子、脑皮层神经元均有不同程度的调节作用,在一定的范围内能增强机体的特异性和非特异性免疫功能,

促进某些细胞因子的分泌,活化免疫细胞,增强机体抗肿瘤、抗衰老、抗疲劳能力,对脑皮层神经元损伤亦有保护作用。三萜皂甙作为免疫佐剂已经用于疫苗的研制(如口蹄疫疫苗、伪狂犬疫苗、HIV疫苗等)^[1-9]。

1 三萜皂甙的结构

三萜皂甙是由三萜皂甙元和糖、糖醛酸及其它有机酸组成,结构类型为四环三萜和五环三萜,根据它们的基团不同命名为不同的三萜皂甙。五环三萜皂甙以齐墩果烷型在植物界分布最广,主要有伞形科柴胡皂甙、商陆科商陆皂甙、豆科甘草皂甙和合欢皮皂甙、犀科女贞子齐墩果酸、山茶科油茶皂甙;其它两种为乌苏烷型和羽扇豆烷型(见图1),还有一些是以它们为基础的变形结构^[6]。近年来研究比较多的还有四环三萜达玛烷型三萜皂甙,如五科植物人参的根、茎、叶中均含有多种人参皂甙和葫芦科绞股蓝皂甙。

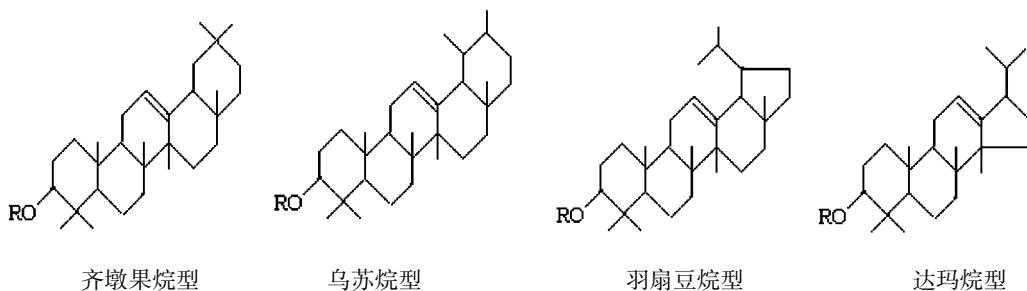


图1 四种类型三萜皂甙元结构

2 三萜皂甙的免疫生物学作用

2.1 三萜皂甙对免疫细胞的调节作用

三萜皂甙可以增强细胞免疫功能,促进抗体和补

体的生成,促进淋巴细胞转化等。从南美皂的树皮中提取到的Quil A能激发细胞毒T淋巴细胞(CTL)产生,抵制外生抗原,提高动物机体对抗原的特异性抗体水平,提高抗体亚类IgG3、IgG2b和IgG2a产生,Th1免疫反应显著产生IL-2、 β -肿瘤坏死因子(TNF- β)和 γ -干扰素^[7]。Quil A中单体成分QS-21明显增强疏螺旋体外膜蛋白A、B(OspA、OspB)的免疫原性,提高IgG反应,在增强对OspA、OspB的体液免疫反应方面比氢氧化铝更有效^[8]。以500mg/kg人参皂甙给小鼠

陈够芬,浙江大学动物科学学院,在读硕士,310029,浙江大学华家池校区西大楼151办公室。

詹勇,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-10

★ 国家十五高技术发展计划(863计划)(2003AA246090)

每天灌胃 1 次,连续 7d 可使血清补体含量明显增高,还可使血清中特异性抗体水平明显升高,促进小鼠血清 IgG、IgA、IgM 的生成,同时对免疫受到抑制的动物也有促进免疫恢复作用^[9]。在肉鸡饲料中添加 500mg/kg 糖萜素(糖萜素的主要有效成分为三萜皂甙和糖),红细胞 C₃b 受体花环率提高 21.70%(P<0.05),白细胞介素-2(IL-2)活性提高 32.70%~66.09%(P<0.05),免疫球蛋白 G(IgG)含量提高 115.40%(P<0.05),促肾上腺皮质激素(ACTH)提高 36.44%~122.79%,抗体效价提高 47.57%,NDV 抗体水平提高 16.66%(内部研究饲料),究竟哪种成分在起作用还需进一步研究证实。

2.2 三萜皂甙对细胞因子的调节作用

细胞因子是由一些免疫细胞或非免疫细胞合成分泌的小分子蛋白类物质,它们能够调节细胞生理功能,参与多种生物学效应。近年来研究发现,中药三萜皂甙能促进细胞因子产生,调节机体免疫机能,维持机体生理平衡。

Quil A 诱导疟原虫抗原产生 IL-2、IL-4、IL-10 等细胞因子^[10]。Erdem 等从土耳其的 3 种黄芪属(*Astragalus cephalotes*, *Astragalus oleifolius* 和 *Astragalus trojanus*)植物中分离出环艾烷型三萜皂甙和齐墩果烷型三萜皂甙,对受细菌脂多糖(LPS)刺激的白细胞介素(IL-1、IL-8)、肿瘤坏死因子(TNF- α)及受 PHA(phorbolacetate)刺激的 IL-2、IL-4 和 INF- α 的活性进行酶联免疫吸附试验。结果显示,三萜皂甙可以使白细胞介素 IL-2 活性显著提高(35.9%~139.6%),20、24 碳和 20、25 碳环氧-环艾烷对 IL-2 活性的提高显著高于无环-环艾烷衍生物对 IL-2 活性的提高,齐墩果烷型三萜皂甙也显著提高 IL-2 活性。IL-2 由 T 淋巴细胞产生,具有很强的免疫作用和抗肿瘤作用。此外,三萜皂甙对 IL-2 活性的提高可能与黄芪属植物的免疫调控和抗癌机制有关^[11]。

2.3 三萜皂甙对脑皮层神经元的保护作用

研究发现,毛茛碱皂甙(SGP)对谷氨酸(Glu)介导的神经毒作用及缺糖、缺氧损害具有保护作用。Glu 是中枢神经系统中含量最高的一种重要的兴奋性氨基酸,在维持神经元正常信号传递过程中起重要作用。Glu 大量释放后,激活 Glu 受体,进而导致一系列病理变化,最终导致神经细胞肿胀、代谢紊乱而死亡。慢性神经元退行性疾病(如老年性痴呆)及脑缺血时的病理变化均与 Glu 的神经毒作用有关^[12,13]。2mg/l 和 10mg/l 的 SGP 对 Glu 介导的神经毒性有保护作用;2mg/l SGP 对神经细胞的缺糖、缺氧损害具有直接保护作用^[14]。

2.4 三萜皂甙促进小鼠巨噬细胞产生一氧化氮(NO)

Jeong 等(2002)研究发现,18- β -甘草次酸(GA)可促进巨噬细胞生成 NO 和 iNOS mRNA 表达。由于 iNOS 转录是在转录因子 NF- κ B 控制下进行的,可推测 GA 对 NF- κ B 活性有影响。荧光分析试验表明,GA 提高 iNOS mRNA 表达水平是由 NF- κ B 转录因子复合物调控的,利用含有 NF- κ B 基因序列的 DNA 片段,GA 可刺激含有 NF- κ B 的蛋白质和 DNA 到同类位点,和电泳试验检测结果一致。整个试验结果表明,GA 可刺激巨噬细胞中 NO 的产生,而且可以通过 NF- κ B 反激活作用正向调控 iNOS 的表达^[15]。鲍建芳等(2001)研究发现,在小鼠饲料中添加 1 000mg/kg 糖萜素,小鼠 NK 细胞活性提高 48.9%(P<0.05),且使其稳定维持在高水平^[16]。免疫抑制状态下,NO 含量提高 131.1%(P<0.05)^[17]。

2.5 三萜皂甙对神经内分泌免疫网络的调节

免疫系统在发挥功能时,也受到其它系统的调节,其中最重要的是神经内分泌系统。病原体侵入机体后,下丘脑-垂体-肾上腺轴可发挥调节作用,促进特异性免疫。在肉鸡饲料中添加 500mg/kg 糖萜素能明显提高(P<0.05)56 日龄肉鸡血液中睾酮含量。糖萜素刺激促肾上腺皮质激素(ACTH)分泌,对皮质酮、促甲状腺素、三碘甲腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)未产生明显影响。结果表明,糖萜素对睾酮和促肾上腺皮质激素具有调节作用,ACTH 在糖萜素调节神经内分泌网络中起桥梁作用。

3 三萜皂甙抗病毒机理研究

近年来国内外一些学者研究发现,三萜皂甙具有抗病毒作用,如牛痘病毒、带状疱疹病毒、流感病毒、肝炎病毒、日本脑炎病毒、HIV 及 HSV-1 等^[18]。然而,不同植物的三萜皂甙抗病毒机理也不同。甘草甜素能明显抑制单纯疱疹病毒 I 型的复制,其抑制作用主要发生在病毒穿入细胞后的阶段,而不能阻止病毒对细胞的吸附,也不能直接灭活病毒^[19]。Fabio 等(2002)在体外用 HIV-1 感染 PBSC(外周血造血干细胞),自然感染 PBSC 和单核细胞或巨噬细胞(M/M),然后用齐墩果酸接种,结果显示,齐墩果酸可以抑制 HIV-1 复制(EC₅₀ 分别为 22.7、24.6、57.4 μ mol/l)和 HIV-1 蛋白酶活性,同时发现齐墩果酸可抑制 HIV-1 p24 抗原产生^[20]。据报道,齐墩果烷型皂甙可以抑制 HSV- I DNA 合成,乌苏烷型皂甙可以抑制 HSV- I 病毒壳蛋白合成^[21]。从 *Tieghemella heckelii* 果实中分离的皂甙经细胞融合试验证明可强烈抑制 HIV 进入细胞,而且对 HeLa-CD₄ 细胞没有明显的细胞毒性^[22]。Hayashi 等(1999)报道,茶籽皂甙可以使甲、乙型人流感病毒失活,但是这些皂甙对宿主细胞有毒性,具体机理有待进

一步研究证实^[23]。从 *Maesa lancrolata* Forssk. (Myrsinaceae) 中分离到的皂甙混合物具有抗 HSV-1 和甲型脊髓灰质炎病毒活性功能, 当皂甙混合物浓度为 100 μ g/ml 时, 能够降低 HSV-1 感染性, 浓度为 250 μ g/ml 时抑制 HSV 活性^[24]。从 *Aesculus chinensis* Bunge (Hippocastanaceae) 种子中分离的七叶树皂甙有抑制 HIV-1 蛋白酶活性作用, 这种皂甙浓度为 100 μ mol/l 时对 HIV-1 蛋白酶活性抑制达 (86.1 \pm 0.2)%, 七叶树皂甙 Ia 和 Ib 浓度在 100 μ mol/l 时对 HIV-1 蛋白酶抑制活性达到 (89.9 \pm 1.1)%, IC₅₀ 分别为 35、50 μ mol/l^[25]。

4 目前研究中存在的问题和发展前景

三萜皂甙广泛分布于天然植物的根、茎、叶、树皮和花中, 资源丰富, 可预防和治疗多种疾病, 对开发利用天然药物资源具有广阔的发展前景; 同时也为研制、开发新型疫苗佐剂提供了新的思路和途径。但三萜皂甙也具有一定的负面影响, 如一定的毒性, 其毒性与使用剂量和利用方式有关; 而且三萜皂甙易与铁、锌、钙形成难溶的复合盐, 有研究表明, 皂甙静脉注射时是有毒性的, 具有溶血现象^[26]。Sun XY 等 (2004) 研究证明, 人参皂甙低剂量 (100 μ g) 使用是安全的, 没有溶血现象, 与卵清蛋白组相比, 能明显提高小鼠血清中 IgG、IgG I 和 IgG2b 特异性抗体水平 (P<0.025)^[27]。因此, 为了更好的开发利用三萜皂甙为人类造福, 还需要进行深入研究。

参考文献

- O'agan DT, ackichan ML, Singh M. Recent developments in adjuvants for vaccines against infectious diseases. *Biomol. Eng.*, 2001,18(3): 69~85
- Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvants designed for veterinary and human vaccines. *Vaccine*, 2001,19(17/19): 2 666~2 672
- Barr IG, Sjolander A, Cox JC. ISCOMs and other saponin based adjuvants. *Advanced drug delivery reviews*, 1998,32(3): 247~271
- Shigeji Katayama, Kenji Oda, Toshiaki Ohgitani, et al. Influence of antigenic forms and adjuvants on the IgG subclass antibody response to Aujeszky's disease virus in mice. *Vaccine*, 1999,17:2 733~2 739
- Wu JY, Gardner B, Murphy CI, et al. Saponin adjuvant enhancement of antigen-specific immune responses to an experimental HIV-1 vaccine. *J. Immunol.*, 1992,148:1 519~1 525
- Shashi B. Mahato, Sucharita Sen. Advances in triterpenoid research, 1990~1994. *Phytochemistry*, 1997,44 (7):1 185~1 236
- D.J.Marciani, J.B.press, R.C.Reynolds, et al. Development of semisynthetic triterpenoid saponin derivatives with immune stimulating activity. *Vaccine*, 2000,18:3 141~3 151
- Ma J N, Bulger P A, Dante S, et al. Characterization of canine hrmoral immune responses to outer surface protein subunit vaccines and to natural infection by lyme disease spirochetes. *Journal of infectious diseases*, 1995,171(4): 909~915
- Lee Y S, Chung I S, Lee I R, et al. Activation of multiple effector pathways of immune system by the antimeoplastic immunostimulator acidicpolysaccharide ginsan isolated from *Panax ginseng*. *Anticancer Res.*, 1997,17: 323
- James M, Burns JR, Patrici DD, et al. Protective immunity against plamodium yoelii malaria induced by immuniztation with particulate blood-stage antigens. *Infection and immunity*, 1997,65(8):3 138~3 145
- Erdem Yesilada, Erdal Bedir, Blhsan Calis, et al. Effects of triterpene saponins from *Astragalus* species on in vitro cytokine release. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005,96: 71~77
- Koh JY, Goldberg MP, Hartley DM, et al. Non-NMDA receptor mediated neurotoxicity in cortical culture. *J. N. eurosci*, 1990,10(2):693~705
- Tamura Y, Sato Y, Yokota T, et al. If enprodiil prevents glutamate cytotoxicity via polyam inemodulatory sites of N-M ethyl -D -A spartate receptors in cultured cortical neurons. *J P harm acol Exp Ther.*, 1993,265(2): 1 017~1 025
- Cheng B, Mttson MP. IGF I and IGF II protect cultured hippocampal and septal neurons against calcium mediated hypoglycemic damage. *J. N. eurosci*, 1992,12(4):558~566
- Jeong HG, Kim JY. Induction of inducible nitric oxide synthase expression by 18 beta -glycyrrhetic acid in macrophages. *FEBS LETTERS*, 2002,513(2/3): 208~212
- 鲍建芳, 邵传森, 沈建根, 等. 糖萜素对小鼠 NK 细胞活性影响的研究[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2001, 30(6):261~263
- 沈建根, 鲍建芳, 邵传森, 等. 糖萜素对小鼠腹腔巨噬细胞产生一氧化氮的影响[J]. *中国现代应用医学杂志*, 2002, 19(5):353~356
- Kemph J P, Braley RO, Ciotola PV. A comparison of youthful inmates who have committed violent versus nonviolent crimes [J]. *J. Am. Acad. Psychiatry Law*, 1998,26(1): 67~74
- 赵高年, 谢鹏, 李平. 甘草甜素对 HSV-1 抑制作用的实验研究. *重庆医科大学学报*, 2005, 30(2):243~345
- Fabio Mengoni, Miriam Lichtner, Lucia Battinelli, et al. In vitro anti-HIV activity of oleanolic acid on infected human mononuclear cells. *Planta. Med.*, 2002,68:111~114
- Simões C M O, Amoros M, Girre L. Mechanism of antiviral activity of triterpenoid saponins. *Phytotherapy Research*, 1999,13:323~328
- Gosse B, Gnabre J, Bates R B, et al. Antiviral saponins from *Tieghemella heckelii*. *Journal of Natural Products*, 2002,65:1 942~1 944
- Hayashi K, Sagesaka Y M, Suzuki T, et al. Inactivation of human type A and B influenza viruses by tea-seed saponins. *Bioscience Biotechnology and Biotechnology*, 1999,63:184~186
- Sindambiwe J B, Calomme M, Geerts S, et al. Evaluation of biological activities of triterpenoid saponins from *Maesa lanceolata*. *Journal of Natural Products*, 1998,61:585~590
- Yang X W, Zhao J, Cui Y X, et al. Anti-HIV-1 protease triterpenoid saponins from the seeds of *Aesculus chinensis*. *Journal of Natural Products*, 1999,62:1 510~1 513
- J Milgate, D.C.K. Roberts. The nutritional and biological significance of saponins. *Nutr. Res.*, 1995,15:1 223~1 248
- Sun XY, Ye YP, Pan HJ, et al. Adjuvant effect of *Panax notoginseng* saponins on the immune responses to ovalbumin in mice, *VACCINE*.2004,22(29/30):3 882~3 889

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

外源核苷酸对动物肠道发育和免疫功能的影响

冶双德 王之盛 周安国

核苷酸(NT)是组成细胞的主要成分,是DNA和RNA的基本组成单位,在细胞结构、代谢、能量和功能调节等方面起重要作用。过去人们认为,动物机体能由内源从头合成各种核苷酸,而且又没有特异性的缺乏症,所以一直将其视为非必需营养素。但近年来对大鼠、小鼠的研究表明,机体许多生长代谢旺盛的组织(小肠、大肠、淋巴)和细胞(红细胞、白细胞、骨髓细胞)从头合成的核苷酸能力有限,尤其当动物处在受到免疫应激、肝损伤、饥饿及快速生长的情况下,内源合成的核苷酸不能满足机体的需要,需要补充外源核苷酸。研究发现,日粮核苷酸对维持免疫系统的正常功能、胃肠道的生长发育有重要作用。

1 核苷酸的吸收与代谢

1.1 外源核苷酸的消化

日粮中的核苷酸只有一小部分以游离核苷酸的形式被吸收,大部分是以核蛋白的形式存在。

研究发现,动物肠道有消化外源核苷酸的能力。食物中的核蛋白在肠道蛋白水解酶的作用下水解为蛋白质和核酸,核酸被胰核酸酶降解成单核苷酸、双核苷酸、三核苷酸及多聚核苷酸的混合物,其中核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶分别特异性地水解RNA和DNA。外源核苷酸混合物进一步在核酸酶和脱氧核糖核酸酶以及肠道多聚核酸酶和磷酸酯酶的辅助作用下,被降解成单核苷酸,释放出的核苷酸再被碱性磷酸酶及核苷酸酶水解成核苷,并可进一步被核苷酶降解成嘌呤或嘧啶碱基(Sanderson,1994)^[1]。

1.2 外源核苷酸的吸收

Ho(1979)研究表明,在肠道中90%的核苷及碱基可以被吸收^[2]。核苷酸的吸收主要在小肠上段进行。根据大鼠试验表明,核苷酸在肠道内的吸收主要有3种形式:即可逆的被动转运、自由扩散和依赖钠离子的主动运输(Griffith等,1990;Wang等,1997)^[3,4]。当核苷浓度较低时,依赖Na⁺离子的载体转运机制与核苷的

浓度呈线性相关;高浓度的核苷抑制这种载体的吸收,此时主要靠自由扩散来运输核苷,空肠刷状缘膜存在不同的核苷载体(Patil等,1997)^[5]。

1.3 外源核苷酸的代谢

核苷酸的代谢与其碱基组成有关。体内嘌呤核苷酸的分解代谢主要是在肝脏、小肠及肾脏中进行,黄嘌呤氧化酶在这些组织中的活性较强,嘌呤碱经过一系列转化最终变成黄嘌呤,又在黄嘌呤氧化酶作用下生成尿酸;嘧啶碱的降解主要在肝脏中进行,胸腺嘧啶降解成 β -氨基异丁酸,而胞嘧啶和尿嘧啶最终生成NH₃、CO₂及 β -丙氨酸,可直接随尿排出或进一步分解。

1.4 核苷酸的合成

核苷酸在生物体内不断进行合成和降解过程,其合成的途径主要有两条:一是从头合成途径(De novo synthesis),即在机体内以一些氨基酸——谷氨酰胺、天冬氨酸、甘氨酸、甲酸盐和二氧化碳等为原料从头合成;二是补救途径(salvage),即有机体内的磷酸核糖与外源核酸、核苷酸水解产生的自由碱基发生磷酸核糖化作用,从而合成相应的核苷酸。

机体从头合成核苷酸的主要部位是肝脏,而其它一些组织,如小肠、淋巴细胞从头合成核苷酸的能力有限。正常情况下,其核苷酸代谢池的维持依赖于肝脏中从头合成的核苷酸或利用食物中降解的核苷或碱基进行补救合成。

2 外源核苷酸对肠道发育的影响及其机理

快速生长的动物肠道细胞周转较快,对核苷酸需求较多,但是体内和体外试验发现,¹⁴C标记的甘氨酸不能整合进小鼠小肠细胞的核苷酸池,表明小肠细胞缺乏利用氨基酸从头合成核苷酸的能力(Savaiano等,1981)^[6],并且肠道缺乏嘌呤从头合成所需要的一种关键酶——谷氨酸核糖转移酶(Lekeiko等,1987),但在小肠中的嘌呤补救合成(Salvage)途径的酶含量较肝脏和盲肠多。Witte等(1991)^[7]的一项研究表明,初生小鼠胃肠道前端5'-核苷酸酶、碱性磷酸酶、腺嘌呤降解酶、嘌呤核苷磷酸化酶等的表达强和产量高,这表明在进化过程中,肠道核苷酸补救合成途径较从头合成途径具优势,所以应补充外源核苷酸。

冶双德,四川农业大学动物营养研究所,在读硕士,625014,四川雅安。

王之盛、周安国,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-04-10

2.1 对肠道微生物菌群的影响

研究发现,在核苷酸降解过程中,核苷酶作用于核苷,使其释放出糖并暴露出游离氮,而这一混合物影响了肠道内微生物的形态和生长。

Barness 等(1994)^[8]用添加核苷酸的配方乳喂养婴儿,其粪便中双歧杆菌占优势,和母乳喂养婴儿的粪便相似;而用未加核苷酸的配方乳喂养婴儿,粪便菌群则以肠道杆菌为主。Tanaka 和 Mutai(1980)^[9]的体外试验表明,添加了核苷酸的培养基可以促进双歧杆菌的生长。

这些结果表明,日粮中的核苷酸可能有助于在肠道微生物群落增殖中,使粪中双歧杆菌数量占优势。双歧杆菌对婴儿有许多潜在的益处,它们能将糖水解为乳酸,降低结肠的 pH 值,从而抑制肠道病原微生物的增殖,减少婴儿腹泻的发生。

2.2 对肠道的保护及促进肠道受伤后的恢复

消化道是营养物质吸收的场所,同时又有免疫作用,其功能的正常性对于机体是十分重要的。研究发现,核苷酸对肠道具有保护作用,能够改善肠的屏障作用,维持肠壁的完整性,减少细胞的死亡率以及细菌、脂多糖引起的细菌易位,减少腹泻的发生,加速饥饿应激和感染后损伤的肠道恢复。

2.2.1 外源核苷酸可促进小肠受伤后的恢复

Iijima 等(1996)^[10]研究表明,在切除 80%肠道的小鼠中,在其全胃肠外营养物(total parenteral nutrition, TPN)中添加 OGVI(一种核苷酸标准混合物),术后 7d,残余空肠总重和粘膜重量以及小肠蛋白质、DNA、RNA 含量明显高于没添加 OGVI 组,补充 OGVI 增进了残余小肠从粘膜萎缩中的恢复,说明外源嘧啶核苷酸和嘌呤核苷酸有助于肠道切除术后早期阶段维持肠粘膜的完整性,减轻粘膜的萎缩和增加小肠细胞的周转。

Mary 等(2005)^[11]给切除 80%空肠和回肠的大鼠饲喂含 1%尿嘧啶的日粮,7d 后屠宰,结果发现,饲喂尿嘧啶的大鼠与对照组相比,其剩余空肠粘膜绒毛高度提高 14%,隐窝深度提高 18%。

2.2.2 日粮核苷酸对缓解肠道炎症起积极的作用

Nunez 等(1990)^[12]对刚断奶的大鼠用乳糖致其腹泻,并用乳糖持续饲喂两周后随机分为两组,对照组饲喂无核苷酸饲料,试验组饲喂补充 0.15%核苷酸的同样饲料,4 周后试验组大鼠血清的乳糖酶、蔗糖酶和麦芽糖酶活性都高于对照组,而且肠组织学和超微结构的分析表明:试验组的绒毛高度和隐窝深度均比对照组增高,线粒体基质密度和嵴也接近正常大鼠,

说明外源核苷酸改善了大鼠腹泻病的状况。

Quan (1992)报道,在射线照射 10d 后,无核苷酸纯合日粮组大鼠的死亡率明显高于添加 0.8%核苷酸的对照组大鼠,对照组大鼠肠道组织的炎症、红肿现象很少发生;添加核苷酸组大鼠在肠损伤 5d 后麦芽糖酶和蔗糖酶的特异性活性也显著升高;两组动物的死亡率差异显著。补充核苷酸,大鼠存活率提高的原因可能是核苷酸促进受射线辐射的大鼠肠道淋巴系统和其它免疫功能复原。

但有些研究得出不同的结果。Sukumar 等(1999)^[13]报道,在用葡聚糖-硫酸钠(Dextran Sulfate Sodium)介导的前端结肠炎小鼠中,添加 NT 反而导致炎症加重,并促进 IL-1(白细胞介素-1)的分泌。Michelle(2003)^[14]研究 RNA 对甲氨喋啶(MTX)和日粮剥夺造成小鼠肠道损伤的影响,结果发现,添加 RNA 组平均体增重显著低于其它组($P < 0.001$),而髓过氧化物酶(MPO)活性在小肠近端和中段都显著高于其它组(MPO 是组织炎症的标识物,是嗜中性粒细胞的主要成分,它可与过氧化氢和氯离子反应生成次氯酸和游离氯,而次氯酸是强的氧化剂,能够破坏细胞活性因子,导致细胞死亡)。Adjei 等(1996)^[15]研究发现,注射三硝基苯磺酸的大鼠,饲喂含 0.5%的混合核苷酸后其结肠重量及肉眼和显微镜观察的结肠损害程度与对照组相比都显著增强($P < 0.05$)。由于肠道溃疡造成的多形核白细胞、巨噬细胞、淋巴细胞和成纤维细胞的渗透,试验组显著高于对照组。这表明,添加核苷酸可能加剧大鼠结肠炎的发生。

因此可以推测,日粮核苷酸对小肠炎症恢复的作用可能与炎症的性质有关。

2.3 对肠道的生长发育和成熟的影响

大量研究结果表明,外源核苷酸能够加速肠细胞的分化、生长与成熟,提高动物肠粘膜 DNA、蛋白含量以及麦芽糖酶、乳糖酶及蔗糖酶的活性。

He 等(1993)^[16]用体外培养小鼠小肠上皮细胞(IEC-6)的方式来观察外源核苷酸对肠细胞分裂及分化的影响。在体外正常培养条件下添加核苷酸,能促进正常小鼠小肠上皮细胞(IEC-6)的增殖、分化,且当谷氨酰胺或谷氨酰胺和必需氨基酸缺乏时,添加核苷酸能促进小肠上皮细胞的增殖,提高细胞内 ATP 水平。

Holen 等(2004)^[17]考察核苷酸对小肠上皮细胞株的增殖发育的影响,结果表明,RNA 和脱氧核苷酸 dAMP、dGMP、dCMP 有促进肠细胞增殖的功能,并且可以弥补因谷氨酰胺不足和肠局部缺血带来的影响。

当饲喂动物无核苷酸的日粮时,即使饲料中蛋白

质充足,其体内 RNA 的含量也很低。动物机体虽缺乏蛋白质,但只要饲料中有充足的核苷酸存在,都可维持小肠滤泡细胞的生长。Uauy 等(1990)^[19]用纯化的无核苷酸饲料和添加了 0.18%核苷酸的饲料分别喂养刚断奶的大鼠两周,两组热量摄入相等,结果发现,增补组大鼠的粘膜蛋白和近端肠的 DNA 含量与无核苷酸的纯化饲料组(对照组)相比,分别提高了 50%和 77%;肠绒毛高度提高了 25%。小肠中的麦芽糖酶活性也显著增高,提高幅度最大的是小肠近端,提高了 87%;但乳糖酶和蔗糖酶活性所受影响甚微。

邬小兵等(2001)^[19]研究表明,纯合日粮能显著消耗雏鸡肠粘膜中的 RNA,纯合日粮中添加 0.2%核苷酸使雏鸡肠道粘膜核酸及蛋白含量比对照组显著增加,并能促进肠绒毛的生长。

王兰芳等(2003)^[20]研究表明,日粮核苷酸能够促进断奶小鼠小肠生长发育,小鼠空肠前段绒毛高度随着时间的延长显著升高($P<0.01$),其中试验组(0.25%核苷酸)小鼠在第 10d 时空肠绒毛高度显著高于第 4d ($P<0.05$);腺窝深度在第 2d 最高,第 4d 最低,其中采食核苷酸的小鼠的腺窝深度在第 4d 显著低于第 2d 的所有小鼠($P<0.01$),第 10d 又略有增高;试验第 4d 空肠肠壁厚度显著下降($P<0.01$),第 10d 有所恢复。核苷酸的添加量对肠壁厚度没有显著影响;随着时间的延长绒毛高度及腺窝深度逐渐升高,第 10d 试验组显著高于第 2d 时所有小鼠($P<0.01$)。

Tsujinaka 等(1999)^[21]研究发现,与全胃肠外营养组(PN 组)相比,添加核苷酸-核苷混合物组(OG 组)的小鼠空肠粘膜重量、蛋白质和 DNA 浓度都有明显提高,OG 组的肠绒毛高度和二元胺氧化酶活性也都显著高于 PN 组,说明补充核苷酸能促进肠细胞的增殖功能。

日粮核苷酸能提高幼鼠的小肠黏膜的麦芽糖酶、乳糖及蔗糖酶活性,对十二指肠及空肠近端的酶活性影响较大。肠道酶活性的变化与 mRNA 含量变化相一致,许多试验发现,当日粮中缺少核苷酸时,肠碱性磷酸酶、亮氨酸氨基肽酶、麦芽糖酶、蔗糖酶和乳糖酶活性降低,补充核苷酸或核苷混合物后,提高了这几种酶的活性(Nunez 等,1990^[12];Uauy 等,1990^[19]),而这些酶是肠细胞成熟的标志。

2.4 作用机理

2.4.1 清除体内自由基

核苷酸除了自身的碱基氮氧原子能够捕捉机体氧化过程中形成的自由基外,与其相关物质,如嘌呤的代谢产物尿酸也是体内一些有害活性物质的有效

清除剂,其清除内源自由基和抗氧化的能力最强,在生理浓度和各种 pH 值条件下,具有保护红细胞膜脂质过氧化及由过氧化损伤造成的红细胞破裂作用。动物血浆中尿酸盐的含量远高于 VC 含量,是体内重要的抗氧化剂(Ames 等,1981)^[22]。

尿酸能防止超氧化物歧化酶(SOD)的降解。SOD 是超氧负离子(O_2^-)变成 H_2O_2 的重要催化剂, H_2O_2 又经过氧化氢酶、谷胱甘肽酶的作用分解,从而对机体起到保护作用。 O_2^- 能使 NO 失活,SOD 可消除 O_2^- ,保护细胞不受损伤(Hink 等,2002)。

另外,硝基过氧化物是 NO 与过氧化阴离子结合的产物,能使蛋白的酪氨酸硝基化损害细胞,而尿酸能阻断硝基化的反应过程(Squadrito,2002)^[23]。

虽然在核苷酸代谢过程中黄嘌呤能氧化生成自由基,但 Bustanante 等(1994)用小肠的局部缺血及重灌试验模型来研究核苷酸对小肠炎症的影响,结果表明,生理浓度的日粮核苷酸有保护小肠细胞免受自由基的攻击、降低小肠炎症发生的作用。

饮水中添加 DNA 能显著提高老年小鼠血中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性(刘润芝,2002)^[24],而 GSH-Px 能够在体内催化下反应清除自由基。

2.4.2 促进小肠上皮细胞迁移

肠上皮损伤修复可能包括两个不同的过程。首先是损伤的肠上皮细胞脱落,邻近区域的完好细胞向损伤区迁移,然后细胞通过增殖补偿损伤脱落的细胞使肠上皮维持正常的厚度。因此,细胞迁移对肠上皮损伤修复具有重要意义。

转化生长因子 TGF- β 是潜在的单核细胞和成纤维细胞的化学诱导剂,也能促进这些细胞流入伤口。无活性 TGF- β 与潜伏相关肽(LAP)或潜伏相关 TGF- β 结合蛋白结合,当发生炎症时,在某些蛋白酶如纤溶酶、金属蛋白酶的作用下转化成有活性的 TGF- β ,而后者可与细胞受体结合,从而激发 Smads 蛋白传导信号,诱发胶原纤维增生、细胞迁移。

Dignass 等(1998)^[25]研究发现,腺苷酸可促进小肠上皮细胞株 IEC-6 细胞的迁移,为了验证腺苷酸促进细胞迁移是否由 TGF- β 介导的,就向培养液中加入抗 TGF- β 抗体,结果发现,加入抗 TGF- β 抗体并没有阻止细胞迁移,表明腺苷酸是通过非 TGF- β 依赖途径促进小肠上皮细胞的迁移。

陈祥贵等(2003)^[26]体外研究结果表明,外源核苷酸可促进小肠上皮细胞株 IEC-6 细胞的迁移,但是对照组和试验组均未明显表达转移生长因子 TGF- β ,说明核苷酸混合物能通过非 TGF β 依赖的途径促进小

肠上皮细胞株 IEC-6 细胞的迁移,这可能是机制之一。

2.4.3 加强细胞周期素 D1 的表达,促进 DNA 合成

细胞周期的发生和发展过程受细胞周期生物钟的控制,它的功能状态决定细胞继续增殖还是退出细胞周期。细胞周期生物钟的核心部分是有细胞周期素和周期素依赖蛋白激酶(CDK)。

研究发现,添加外源核苷酸可促进 IEC-6 细胞周期素 D1 的表达,G1 期细胞减少,而 S 期细胞增多(陈祥贵,2003)^[26]。

细胞周期素 D1 与细胞周期素依赖蛋白激酶 4/6 结合成复合物,该复合物使 E2F-Rb 去磷酸化,释放出转录因子 E2F,E2F 具有转录活性,激活 S 期转录基因,促进 DNA 的合成,细胞进入 S 期,从而加速细胞的增殖和分化。

3 外源核苷酸对肠道免疫功能的影响及其机理

日粮中的核苷酸与免疫之间的关系最初源于临床观察。Van Buren 等在 Texas 大学医学院发现接受肾脏移植手术的病人在接受非肠道营养物时,器官移植更易成功,免疫排斥反应明显减少。尽管这些患者在一段时间内降低了免疫反应,但在随后的正常饮食中,免疫反应得以恢复。

研究发现,添加外源核苷酸显著提高细胞因子 IL-2、IL-4、IL-8 的基因表达和 Th2、IL-5 的分泌(Gil, 2002)^[27],从而促进免疫细胞分化与成熟和免疫球蛋白的分泌,提高机体肠道免疫力。

3.1 对免疫细胞的影响

3.1.1 对淋巴细胞的影响

Manzano 等(2003)^[28]做的外源核苷酸对肠道免疫影响的试验发现,外源核苷酸促进断奶小鼠 B 淋巴细胞和 Th 细胞抗原的表达,进而促进肠淋巴细胞的分化和成熟。

3.1.2 NK 细胞和巨噬细胞

Adjei 等(1996)和 Navarro 等(1996)的试验结果证明,外源核苷酸能促进 T 淋巴细胞的增殖反应以及 IL-2、IL-4、IL-8 或 IFN 的分泌,提高 NK 细胞和巨噬细胞活性,促进迟发性超敏反应。

添加外源核苷酸能提高机体抗细菌感染能力。Kulkarni 等(1994)^[29]曾用金黄色葡萄球菌对小鼠进行感染试验,结果表明,外源 NT 缺乏时,巨噬细胞吞噬力降低,尤其巨噬细胞噬菌后的杀菌活力显著下降,因而其死亡率比对照组有明显的提高。Adjei 等(1993)^[30]证实饲喂无核苷酸饲料时,降低了小鼠对金黄色葡萄球菌的抵抗力,饲喂含核酸日粮或静脉注射 NT/NS 时,小鼠对金黄色葡萄球菌和抗青霉素金黄色葡萄球

菌的抵抗力增强。

Cordle 等(2002)^[31]研究发现,补充核苷酸可显著提高婴儿 CD57+NKT 细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞和 Th2 的生成。

3.2 影响机体体液免疫应答

Jyonouchi 等(1994)发现,在体外,酵母 RNA 能促进成人外周血单核细胞 (HPBM-NC) 在 T 依赖刺激和 T 依赖抗原(TD-Ag) 作用下 IgM 和 IgG 的产生,并呈剂量依赖关系,而对非 T 依赖刺激和非 T 依赖抗原 (TI-Ag) 作用下 IgM 和 IgG 的产生无明显的影响,说明外源核苷酸缺乏影响 T 细胞依赖型抗原的体液免疫应答,主要影响抗原在呈递过程中辅助性 T 细胞的活化。

Jyonouchi 等(2000)^[32]研究发现,缺乏核苷酸时,体内、外 T 依赖抗原的抗体形成明显下降,NF 组 Th 细胞诱导产生 T 依赖抗体的能力比 NT 组低,补充核苷酸有利于恢复受损的 IFN- γ 和 IL-5 的形成,以及 Th 细胞功能和 T 依赖抗体的产生。在钥孔戚血兰素 (KLH,一种 T 依赖肿瘤抗原蛋白)初次激发后,NT 组的 IFN- γ 和 IL-5 数量和 mRNA 表达水平比 NF 组高,经 KLH 再次激发后,NT 组的抗 KLH IgG2a 和 IgG2b 抗体水平比 NF 组高。

Yau 等(2003)^[33]研究发现,用含核苷酸配方乳喂养的婴儿与对照配方组的婴儿相比,腹泻率显著降低,而免疫球蛋白 IgA 含量显著升高。

3.3 作用机理

3.3.1 外源核苷酸分化成 Th2 时分泌 IL-4、IL-2 和 IL-8,而 IL-4 可间接促进 B 细胞分化,使分泌性 IgA 分泌增加。IL-2 和 IL-8 可直接促进 B 细胞分化,从而促进 IgM、IgA、IgG 分泌增加,提高机体免疫力。

3.3.2 外源核苷酸可调节细胞核苷酸池而影响蛋白质的合成和细胞因子的释放

Gil(2002)报道,日粮核苷酸可促进新生胎儿小肠移植体中 IL-6 和 IL-8 的产生和基因表达,同时认为外源核苷酸通过作用于其受体影响蛋白质合成和细胞膜信号传导从而影响基因表达,其中一些基因直接影响了小肠细胞因子水平^[27]。

但是,外源核苷酸传导信号和调节基因表达的分子机理还不清楚,需要进一步研究。

4 小结

补充外源核苷酸对于动物维持胃肠道发育及其免疫功能有重要的影响,但其作用机理和应用有待进一步研究。将来研究主要有以下几方面:①应用分子生物学手段如原位杂交、mRNA 差异显示技术等方法

阐明核苷酸在体内影响肠道发育和免疫功能的具体机制;②研究不同生理阶段及生理条件下动物对核苷酸的需要量;③NT中各组分(核酸、核苷酸、核苷、碱基)对生物效应的相对贡献;④各种核苷酸在机体内相互作用关系。

参考文献

- Sanderson IR, He Y. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cell[J]. *J. Nutr.*, 1994, 124:131s-137s
- Ho CY, Miller KV, Savaiano DA, et al. Absorption and metabolism of orally administered purines in fed and fasted rats [J]. *J. Nutr.*, 1979, 11:101-108
- Griffith DA, Conant AR, Jarvis SM. Differential inhibition of nucleoside transport systems in mammalian cells by a new series of compounds related to lidoflazine and mioflazine[J]. *Biochem. Pharmacol.*, 1990, 40:2 297-2 303
- Wang J, Giacomini KM. Molecular determinants of substrate selectivity in Na⁺-dependent nucleoside transporters [J]. *J. Biol. Chem.*, 1997, 272:28 845-28 848
- Patil S D, J. D. Unadkat. Sodium-dependent nucleoside transport in the human intestinal brush-border membrane [J]. *Am. J. Physiol.*, 1997, 272:G1 314-G1 320
- Savaiano DA, Clifford AJ, Adcinc. The Precursor of Nucleic Acids in Intestinal Cells Unable to synthesize Purines De Novo [J]. *J. Nutr.*, 1981, 111:1 816-1 822
- Witte DP, Wiginton DA, Hutton JJ, et al. Coordinate development regulation of purine catabolic enzyme expression in gastrointestinal and post-implantation reproductive tracts[J]. *J. Cell Biol.*, 1991, 115: 179-90
- Barnes LA. Dietary sources of nucleotides from breast milk to weaning[J]. *Journal of Nutrition*, 1994, 124(1):128-130
- Tanaka R, Mutai M. Improved medium for selective isolation and enumeration of bifidobacterium[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980, 40: 866-886
- Iijima S, Tsujinaka T, Kishibuchi M, et al. A total parenteral nutrition solution supplemented with a nucleoside and nucleotides sustains in testinal integrity, but does not stimulate in testinal function after massive bowel resection in rats[J]. *J. Nutr.*, 1996, 126:589-595
- Mary E. Evans, PhD, Junqiang Tian, et al. Dietary Supplementation With Orotate and Uracil Increases Adaptive Growth of Jejunal Mucosa After Massive Small Bowel Resection in Rats[J]. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 2005, 29(5):315-321
- Nunez MC, MV Ayudarte, D Morales, et al. Effect of dietary nucleotides on intestinal repair in rats with experimental chronic diarrhea [J]. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 1990, 14(6): 598-604
- Sukumar Prabha, Alice Loo, Renald Adolphe, et al. Dietary Nucleotides Augment Dextran Sulfate Sodium-Induced Distal Colitis in Rats[J]. *Journal of Nutrition*. 1999, 129:1 377-1 381
- Michelle weiner. Dietary RNA Supplementation Increases Signs of Intestinal Inflammation Following Administration of an Anticancer Drug[J]. *Journal of Undergraduate Research*, 2003, 4(12)
- Adjei AA, Morioka T, Ameho CK, et al. Nucleoside-nucleotide free diet protects rat colonic mucosa from damage induced by trinitrobenzene sulphonic acid[J]. *Gut*, 1996, 39:428-433
- He Y, Chu S W, Walker W A. Nucleotide supplements alter proliferation and differentiation of cultured human (Caco-2) and Rat (IEC-6) intestinal epithelial cells[J]. *J. Nutr.*, 1993, 123:1 017-1 027
- Holen E, Jonsson R. Dietary nucleotides and intestinal cell lines: I. modulation of growth[J]. *Nutrition Research*, 2004, 24(3): 197-207
- Uauy R, Stringel G, Thoms, et al. Effect of dietary nucleotides on growth and maturation of the developing gut in the rat [J]. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 1990, 10(4):497-503
- 鄒小兵, 乐国伟, 施用晖. 肉仔鸡日粮外源核苷酸营养作用初探[J]. *中国畜牧杂志*, 2001, 37(5):15-17
- 王兰芳, 乐国伟, 施用晖, 等. 日粮核苷酸对早期断奶小鼠生长发育的影响[J]. *无锡轻工大学学报*, 2003, 22(4):18-22
- Tsujinaka T, Kishibuchi M, Iijima S, et al. Nucleotides and intestine[J]. *J. Parenter. Enteral. Nutr.*, 1999, 23(5):74-77
- Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis[J]. *Proc. Natl. Sci. USA*, 1981, 78(11): 6 858-6 862
- Squadrito GL, Cueto R, Splenser AE, et al. Reaction of uric acid with peroxynitrite and implications for the mechanism of neuroprotection by uric acid [J]. *Arch. Biochem. Biophys*, 2002, 15, 376(2): 333-337
- 刘润芝. 脱氧核糖核酸对谷胱甘肽过氧化物酶活性影响的初步研究[J]. *激光生物学报*, 2002, 11(4):254-256
- Dignass A U, Becker A, Spiegler S, et al. Adenine nucleotides modulate epithelial wound healing in vitro [J]. *European Journal of Clinical Investigation*, 1998, 28:554-561
- 陈祥贵, 王瑞淑, 邓茂先, 等. 外源核苷酸对肠上皮细胞增殖和迁移的作用[J]. *四川工业学院学报*, 2003(2):81-85
- Gil A. V. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, 56(3):1-4
- Manzano M, Abadia-Molina AC, Olivares EG, et al. Dietary nucleotides accelerate changes in intestinal lymphocyte maturation in weanling mice[J]. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2003, 37(4):453-461
- Kulkarni A D, Rudolph F B, Van Buren CT. The role of dietary sources of nucleotides in immune function: a review [J]. *J. Nutr.*, 1994, 124
- Adjei A, Takamine F, Yokoyama H, et al. The effect of oral RNA and intestinal raperitoneal nucleoside-nucleotide administration on methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in mice[J]. *Parenter. Enteral Nutr.*, 1993(2):119-127
- Cordle CT, Winship TR, Schaller JP, et al. Immune status of infants fed soy-based formulas with or without added nucleotides for 1 year: part 2: immune cell populations[J]. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2002, 34(2):145-53
- Jyonouchi H, Sun S, Abiru T, et al. Dietary nucleotides modulate antigen-specific type 1 and type 2 T-cell responses in young C57Bl/6 mice[J]. *Nutrition*, 2000, 16(6):442-446
- Yau KI, Huang CB, Chen W, et al. Effect of nucleotides on diarrhea and immune responses in healthy term infants in Taiwan[J]. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 2003, 36(1):37-43

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)