

文章编号: 1674-5566(2017)03-0383-09

DOI:10.12024/jsou.20160801839

不同蛋白水平下添加抗菌肽对赤点石斑鱼影响的研究

蔡云川¹, 赵书燕^{2,3}, 林黑着², 黄忠², 周传朋², 马志洲¹

(1. 广东省海洋与渔业技术推广总站, 广东 广州 510220; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300; 3. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 评估了不同饲料蛋白水平(44%, 48%, 52%)和抗菌肽浓度(0.01%, 0.02%)对赤点石斑鱼生长性能、血清生化、消化酶和抗氧化能力的影响。实验组分别为: D1(44%, 0.01%), D2(48%, 0.01%), D3(52%, 0.01%), D4(44%, 0.02%), D5(48%, 0.02%), D6(52%, 0.02%)。每组 3 个平行, 养殖 8 周结果如下: 一定范围内, 增重率、特定生长率和饲料转化率随蛋白水平和抗菌肽浓度增加, D5 组显著高于 D1 组($P < 0.05$)。形态学指标, D6 组肝体比(HSI)、脏体比(VSI)和肠系膜脂肪(IPF)显著低于 D5 组($P < 0.05$)。同一蛋白水平下增加抗菌肽浓度可降低肌肉粗脂肪含量, D4 组显著低于 D1 组($P < 0.05$)。血清总蛋白、白蛋白含量随蛋白水平和抗菌肽浓度的增加而升高($P < 0.05$), D3 和 D5 组谷丙转氨酶、谷草转氨酶和血糖显著低于其他组($P < 0.05$)。D5 组胰蛋白酶高于其他组($P < 0.05$), D1 组过氧化物酶显著低于其他组($P < 0.05$)。随着抗菌肽浓度增加, 胃蛋白酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性增加, 且丙二醛含量降低($P > 0.05$)。实验结果表明, 48% 蛋白水平下添加 0.02% 抗菌肽可以提高赤点石斑鱼生长性能, 增强消化酶活性和抗氧化能力, 降低饲料系数。

关键词: 石斑鱼; 抗菌肽; 蛋白; 生长; 血清生化; 抗氧化能力

中图分类号: S 965.3 **文献标志码:** A

赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)俗称红斑, 广泛分布于热带和亚热带海域。近几年来, 除了从自然海区钓捕外, 石斑鱼的人工网箱养殖方兴未艾, 随着集约化养殖程度的提高, 病害频发, 严重制约了石斑鱼养殖业的发展。由于抗生素易残留在体内, 易引起肠道菌群失衡和产生耐药性, 对人类和环境产生了较大的负面影响, 已严禁使用^[1]。因此, 寻找新型、安全的抗生素替代品来防止日益严重的病害并促进鱼类生长, 已成为现代饲料科学研究的重要方向。

抗菌肽(Antibacterial peptides, ABP)是一种动物体内产生的具有对抗外源致病原的阳离子活性多肽, 是先天性免疫的重要组成部分^[2], 与其他添加剂相比具有来源广泛, 相对分子小, 水溶性好, 热稳定高, 抗菌谱广, 绿色环保等特点^[3-4]。还有可提高动物生产性能, 增加肠道有

益菌群的作用^[5], 使用无毒无害的抗菌肽替代传统抗生素受到了广泛的重视^[6]。

蛋白质是所有水产动物有机结构和功能必不可少的营养物质, 是决定鱼类生长和配合饲料性能的首要参数, 是鱼类营养学家长期重视与研究的方向之一。蛋白含量不仅决定鱼类生长也影响饲料成本, 蛋白含量低会阻碍鱼体生长; 含量过高, 饲料成本升高, 且容易污染养殖水体, 不利于鱼体生长和养殖环境的可持续发展^[7-10]。研究表明在机体蛋白合成量变化不大的情况下, 添加一定量的抗菌肽可以减少蛋白的分解, 从而促进生长^[11]。抗菌肽在畜禽研究中较多, 对石斑鱼的影响至今尚未见报道, 该实验旨在研究不同蛋白水平下添加抗菌肽对石斑鱼生长性能、血清生化、消化酶和抗氧化能力的影响, 以为日益发展的石斑鱼工厂化养殖技术推广提供参考。

收稿日期: 2016-08-03 修回日期: 2017-01-13

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费项目(20140311); 广东省海洋渔业科技推广专项项目(B201000B14, B201101B04, B201201B09)

作者简介: 蔡云川(1977—), 男, 高级工程师, 研究方向为水产养殖与水产技术推广。E-mail: caiyc77@163.com

通信作者: 林黑着, E-mail: linheizhao@163.com

1 材料与方 法

1.1 实验用饲料

实验用抗菌肽是由国家饲料工程技术研究中心和北京中农颖泰生物技术有限公司联合开发的天蚕素抗菌肽,主要成分为天蚕素活性多肽,含量 ≥ 100 万单位/g。天蚕素是一种由枯草芽孢杆菌表达,由37个氨基酸残基组成的抗菌活性多肽,分子量为3.8Ku。根据石斑鱼的营养需求配制基础饲料配方^[12],以鱼粉为动物蛋白源,大豆浓缩蛋白为植物蛋白源,饲料组成和营养水平见表1。试验设置3个蛋白质水平(44%, 48%, 52%),每个蛋白水平下添加2种浓度抗菌

肽(0.01%, 0.02%),共6种试验饲料,分别为D1(44%, 0.01%), D2(48%, 0.01%), D3(52%, 0.01%), D4(44%, 0.02%), D5(48%, 0.02%), D6(52%, 0.02%)。所有原料按配方称重、搅拌均匀,微量组分采用逐级扩大混匀的方法加入,各种饲料原料通过40目筛,筛上物经粉碎机粉碎后倒入搅拌机(SZ250,广州旭众食品有限公司)搅拌10 min,加入适量的水(约40%)搅拌10 min,用双螺杆挤条机(F-26,广州华南理工大学)挤压成直径2.5 mm的条形物,经造粒机(G-500,广州华南理工大学)制成沉性颗粒料,晒干后,用封口袋分装,于-20℃冷柜保存备用。

表1 实验基础原料及营养组成(%干重)

Tab.1 Formulation and nutrient composition of basal diet(% dry matter)

成分 Ingredient	饲料蛋白质水平/% Dietary protein level					
	D1(44%)	D2(48%)	D3(52%)	D4(44%)	D5(48%)	D6(52%)
鱼粉 Fish meal	50	55	60	50	55	60
大豆浓缩蛋白 Soy protein concentrate	5	8	12	5	8	12
花生粕 Peanut meal	5	5	5	5	5	5
面粉 Wheat flour	25.79	17.99	9.39	25.78	17.98	9.38
鱿鱼内脏粉 Squid viscera powder	3	3	3	3	3	3
啤酒酵母 Beer yeast powder	2	2	2	2	2	2
鱼油 Fish oil	5.6	5.4	5	5.6	5.4	5
大豆卵磷脂 Soy Lecithin	1	1	1	1	1	1
矿物质预混料 Mineral premix	1	1	1	1	1	1
维生素预混料 Vitamin premix	1	1	1	1	1	1
氯化胆碱 Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
抗菌肽 ABP	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02
总计 Total	100	100	100	100	100	100
营养成分 Proximate composition						
干物质 Dry matter	87.93	88.22	88.52	87.93	88.22	88.52
粗蛋白 Crude protein	43.31	47.40	52.05	43.31	47.40	52.05
粗脂肪 Crude fat	10.41	10.51	10.40	10.41	10.51	10.40
粗灰分 Ash	9.38	10.32	11.33	9.38	10.32	11.33
能量 MJ/kg, Energy	17.70	17.81	17.87	17.70	17.81	17.87

注:维生素预混料为每千克饲料提供 Vitamin premix provides the following per kg of diet: V_{B1} 25 mg, V_{B2} 45 mg, V_{B6} 20 mg, V_{B12} 0.1 mg, V_{K3} 10 mg, 肌醇 inositol 800 mg, 泛酸 pantothenic acid 60 mg, 烟酸 nicotinic acid 200 mg, 叶酸 folic acid 1.2 mg, 生物素 biotin 32 mg, V_A : 20mg, V_{D3} 5 mg, V_E 120 mg, V_C 2.0 g, 氯化胆碱 choline chloride 2.0 g, 乙氧基喹啉 ethoxyquin 150 mg, 粗小麦粉 manna-croup 14.52 g

矿物质预混料为每千克饲料提供 Mineral premix provides the following per kg of diet: NaF 4 mg, KI 1.6 mg, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (1%) 100 mg, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 20 mg, $FeSO_4 \cdot H_2O$ 160 mg, $ZnSO_4 \cdot H_2O$ 100 mg, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 120 mg, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.4 g, $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ 6.0 g, NaCl 200 mg, 沸石粉 zeolite power 30.90 g

1.2 实验设计与管理

赤点石斑鱼购自广东省海洋渔业试验中心,随机挑选270尾大小均匀的石斑鱼于18个圆形玻璃纤维桶(500 L),每桶15尾[平均体质量(41.58 ± 0.33) g],该实验共6个处理,每个处理3个平行。石斑鱼养殖实验在中国水产科学研究

院南海水产研究所深圳试验基地室内海水养殖系统中进行。实验开始前对石斑鱼进行饲料投喂驯化,以商品料饱食投喂一周,使之逐渐适合人工配合饲料和养殖环境。每天饱食投喂2次(8:00和16:00),投喂1 h后虹吸法去除残饵和粪便。

实验周期 8 周,期间流水养殖,每天定时观察石斑鱼摄食情况,玻璃纤维桶每周清洗一次,连续充气,水温 27.0 ~ 30.0 °C, pH 7.5 ~ 8.0,盐度 32 ~ 34,溶解氧 6.9 ~ 7.3 mg/L,氨氮总量低于 0.1 mg/L。

1.3 样品采集与指标检测

1.3.1 样品采集

养殖实验结束后,饥饿 24 h,将石斑鱼全部捞出,称体质量、计数。从每个桶中随机取 3 尾鱼测量其体质量、体长,测量完成后,用抗凝剂(1%的肝素钠,购于上海医疗器械股份有限公司)润过的注射器从尾静脉采血,放入 1.5 mL 的离心管中,4 °C 静止 4 h 后离心(3 000 r/min, 10 min, 4 °C),收集的血清分装于 0.5 mL 的离心管中,然后于 -80 °C 的冰箱中保存以测生化指标。取血后的石斑鱼分离肝脏、肠道、胃,分别称内脏和肝脏重量,用于形态学指标分析和酶活测定,去鱼皮分离背部侧线以上肌肉,于 -80 °C 的冰箱中保存,用于肌肉常规成分分析。

$$W_{GR}(\%) = 100 \times (W_t - W_0) / W_t \quad (1)$$

式中: W_{GR} 为增重率; W_t 为末质量; W_0 为初始质量。

$$S_{GR}(\%) = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / D \quad (2)$$

式中: S_{GR} 为特定生长率; W_t 为末质量; W_0 为初始质量; D 为实验天数。

$$V_{SI}(\%) = 100 \times W_v / W \quad (3)$$

式中: V_{SI} 为脏器比; W_v 为内脏质量; W 为体质量。

$$H_{SI}(\%) = 100 \times W_H / W \quad (4)$$

式中: H_{SI} 为肝体比; W_H 为肝脏质量; W 为体质量。

$$C_F(\%) = 100 \times W / L^3 \quad (5)$$

式中: C_F 为肥满度; W 为体质量; L 为体长。

$$F_{CR} = W_F / (W_T - W_0) \quad (6)$$

式中: F_{CR} 为饲料系数; W_F 为消耗的饲料总质量; W_T 最终鱼的质量; W_0 为起初放养鱼的质量。

$$I_{PF}(\%) = 100 \times W_I / W \quad (7)$$

式中: I_{PF} 为肠系膜脂肪比; W_I 肠系膜脂肪质量; W 体质量。

1.3.2 样品分析

取赤点石斑鱼背部肌肉,用于测定肌肉水分、粗蛋白、粗脂肪及灰分^[13]。烘箱 105 °C 常压干燥法测定水分;马弗炉 550 °C 灼烧法测定灰分(FO610C, Yamato Scientific Co., Ltd., Tokyo, 日本);凯氏定氮法测定粗蛋白(FOSS 2300,

Hoganas, 瑞士);索氏抽提法测定粗脂肪(以丙酮为抽提剂;Soxtec Avanti 2050, Foss Tecator AB, 瑞士)。

血清生化指标(总蛋白、白蛋白、球蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、甘油三酯、胆固醇、血糖)送至广州金域检测中心(广州,广东)采用 ROCHE-P800 全自动生化分析仪(Roche, Basel, 瑞士)分析。

胃蛋白酶、肠道淀粉酶、肠道胰蛋白酶按照南京建成试剂盒样品处理方法制作组织匀浆,然后用试剂盒配套的试剂检测消化酶活含量。

肝脏抗氧化指标丙二醛、过氧化物酶和过氧化氢采用南京建成试剂盒(江苏,中国)分析。

1.3.3 数据处理与分析

采用 Excel 2013 和 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计分析,用单因素方差分析法(one-way ANOVA, LSD)比较各组间的显著性,当有显著性差异时,进行 Duncan's 多重比较,3 个重复的所有数值均以平均值 ± 标准差来表示, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果

2.1 生长性能

蛋白质水平和抗菌肽添加浓度对石斑鱼生长性能的影响见表 2。低 ABP 浓度下,增重率和特定生长率随蛋白水平的增加而逐渐增加,高浓度下先升高后降低,D5 显著高于 D1 ($P < 0.05$),与其他组无显著性差异($P > 0.05$)。低 ABP 浓度下,FCR 随蛋白水平增加而逐渐减低,高 ABP 下,FCR 先降低后升高,D5 组显著低于 D1 组 ($P < 0.05$)。各组间成活率无显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 形态学指标

不同蛋白水平和抗菌肽浓度对石斑鱼形态学指标影响不同(表 3)。0.01% ABP 浓度下,随蛋白水平增加肥满度显著增加,D3 组显著高于 D1 组 ($P < 0.05$);0.02% ABP 浓度下,组间差异不显著($P > 0.05$)。同一蛋白水平下,随 ABP 浓度增加肥满度降低($P > 0.05$)。0.01% ABP 浓度下,D1-D3 组 HSI 差异不显著;0.02% ABP 浓度下,HSI 随蛋白水平逐渐降低,D4, D5 组显著高于 D6 组 ($P < 0.05$);同一蛋白水平下各组 HSI 差异不显著($P > 0.05$)。在 0.01% ABP 浓度下,组间

VSI 和 IFP 差异不显著 ($P > 0.05$); 0.02% ABP 浓度下, 均随蛋白水平先增加后降低, D5 组显著

表 2 不同蛋白水平和抗菌肽浓度对石斑鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effect of ABP supplementation in different protein level diets on the growth performance of grouper

ABP Concentrations	蛋白水平 Protein levels	组别 Groups	初始体质量/g IBW	末终体质量/g FBW	增重率/% WGR	特定增长率/% SGR	饲料系数 FCR	成活率/% Survival
0.01%	44%	D1	41.21 ± 0.51	70.22 ± 4.52 ^a	76.69 ± 14.34 ^a	0.94 ± 0.14 ^a	1.56 ± 0.04 ^b	91.1 ± 15.42
	48%	D2	41.81 ± 0.59	81.77 ± 11.77 ^{ab}	85.56 ± 24.86 ^{ab}	1.03 ± 0.17 ^{ab}	1.52 ± 0.20 ^{ab}	100
	52%	D3	41.78 ± 0.73	83.08 ± 4.51 ^{ab}	99.00 ± 13.72 ^{ab}	1.14 ± 0.11 ^{ab}	1.35 ± 0.07 ^{ab}	100
0.02%	44%	D4	41.24 ± 0.50	71.65 ± 2.10 ^a	85.58 ± 19.23 ^{ab}	1.02 ± 0.22 ^{ab}	1.41 ± 0.09 ^{ab}	100
	48%	D5	41.99 ± 0.42	89.23 ± 6.55 ^b	112.62 ± 17.62 ^b	1.25 ± 0.14 ^b	1.29 ± 0.08 ^a	100
	52%	D6	41.43 ± 0.34	80.31 ± 5.38 ^{ab}	93.84 ± 13.02 ^{ab}	1.10 ± 0.11 ^{ab}	1.35 ± 0.08 ^{ab}	100

注: 平均值 ± 标准差 n=3, 表中同一列不同字母表示差异显著, 后表同此

Note: Values are means ± SD of three replications. Means in the same line with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$), there are same in the following tables; IBW. Initial body weight; FBW. final body weight

表 3 不同蛋白水平下添加抗菌肽对石斑鱼形态学指标的影响

Tab. 3 Effect of ABP supplementation in different protein level diets on the morphological indexes of grouper

ABP Concentrations	蛋白水平 Protein levels	组别 Groups	肥满度/% CF	肝体比/% HSI	脏体比/% VSI	肠系膜脂肪比/% IFP
0.01%	44%	D1	2.30 ± 0.10 ^a	1.38 ± 0.31 ^{ab}	6.44 ± 0.63 ^a	1.73 ± 0.34 ^a
	48%	D2	2.35 ± 0.11 ^{ab}	1.43 ± 0.45 ^{ab}	6.72 ± 1.15 ^a	2.13 ± 0.64 ^{ab}
	52%	D3	2.48 ± 0.08 ^b	1.19 ± 0.17 ^a	6.80 ± 0.89 ^a	2.26 ± 0.72 ^{ab}
0.02%	44%	D4	2.27 ± 0.09 ^a	1.69 ± 0.30 ^b	6.85 ± 0.52 ^a	1.84 ± 0.41 ^a
	48%	D5	2.36 ± 0.12 ^{ab}	1.60 ± 0.38 ^b	7.74 ± 0.68 ^b	2.54 ± 0.51 ^b
	52%	D6	2.39 ± 0.14 ^{ab}	1.20 ± 0.33 ^a	6.49 ± 0.65 ^a	1.91 ± 0.54 ^a

2.3 肌肉常规成分

饲料蛋白水平和抗菌肽浓度对石斑鱼肌肉粗蛋白和灰分没有显著影响 ($P > 0.05$, 表 4)。肌肉水分随蛋白水平增加而逐渐减低, D4 显著低

于 D6 ($P < 0.05$)。ABP 浓度对各组间肌肉脂肪含量无显著影响 ($P > 0.05$); 同一蛋白水平下增加抗菌肽浓度, 肌肉脂肪含量逐渐降低, D4 组显著低于 D1 组 ($P < 0.05$)。

表 4 不同蛋白水平下添加抗菌肽对石斑鱼肌肉常规成分的影响

Tab. 4 Effect of ABP supplementation in different protein level diets on muscle composition of grouper %

ABP Concentrations	蛋白水平 Protein levels	组别 Groups	水分/% Moisture	粗蛋白/% Crude protein	粗脂肪/% Crude lipid	灰分/% ash
0.01%	44%	D1	76.50 ± 0.23 ^b	90.12 ± 0.25	7.24 ± 0.47 ^b	5.63 ± 0.17
	48%	D2	76.21 ± 0.19 ^{ab}	89.57 ± 0.97	5.97 ± 0.98 ^{ab}	5.63 ± 0.07
	52%	D3	76.19 ± 0.25 ^{ab}	90.26 ± 1.24	5.80 ± 1.52 ^{ab}	5.62 ± 0.02
0.02%	44%	D4	76.51 ± 0.45 ^b	90.79 ± 0.34	4.79 ± 0.33 ^a	5.76 ± 0.14
	48%	D5	76.17 ± 0.08 ^{ab}	89.24 ± 0.96	5.85 ± 1.17 ^{ab}	5.63 ± 0.10
	52%	D6	75.84 ± 0.28 ^a	89.76 ± 0.74	5.59 ± 0.81 ^{ab}	5.63 ± 0.03

2.4 血清生化指标

蛋白水平和抗菌肽浓度对血清生化的影响见表 5。血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量随抗菌肽浓度增加而逐渐升高。0.01% ABP 浓度下, 各组血清总蛋白差异不显著 ($P > 0.05$), 0.02% ABP 浓度下, 总蛋白含量显著增加, D6 显著高于 D4 ($P < 0.05$)。蛋白水平和抗菌肽浓度显著影响血清白蛋白, 同一抗菌肽浓度下, 52% 蛋白水

平下血清白蛋白显著高于 44% 蛋白水平 ($P < 0.05$); 同一蛋白水平下, 白蛋白含量随抗菌肽浓度增加而升高, D6 显著高于 D3 (52% 蛋白水平) ($P < 0.05$), 其他组间差异不显著 ($P > 0.05$)。0.01% ABP 浓度下, 谷草转氨酶随蛋白水平增加而显著降低; 0.02% ABP 浓度下, 谷草转氨酶先降低后增加, D5 显著低于 D4 和 D6 ($P < 0.05$); 48% 蛋白水平下, 谷草转氨酶随抗菌肽浓度增加

而显著降低 ($P < 0.05$), 谷丙转氨酶随抗菌肽浓度增加而降低, 未达到显著水平 ($P > 0.05$); 52% 蛋白水平下, 谷丙、谷草转氨酶随抗菌肽浓度增加而显著升高, D6 显著高于 D3 ($P < 0.05$); 44% 蛋白水平下差异不显著 ($P > 0.05$)。D3、D6 胆固

醇含量显著高于 D4 ($P < 0.05$), 其他组差异不显著 ($P > 0.05$)。48% 蛋白水平下, 随抗菌肽浓度增加, 血糖含量显著降低 ($P < 0.05$), 52% 蛋白水平下显著升高, D6 显著高于 D3 ($P < 0.05$)。

表 5 不同蛋白水平下添加抗菌肽对石斑鱼血清生化指标的影响

Tab. 5 Effect of ABP supplementation in different protein level diets on plasma biochemical indexes of grouper

ABP Concentrations	蛋白水平 Protein levels	组别 Groups	总蛋白 / (g/L) TP	球蛋白 / (g/L) GLB	白蛋白 / (g/L) ALB	谷草转氨酶 / (U/L) AST	谷丙转氨酶 / (U/L) ALT	甘油三酯 / (mmol/L) TG	胆固醇 / (mmol/L) CHO	血糖 / (mmol/L) GLU
0.01%	44%	D1	26.0 ± 0.99 ^a	22.37 ± 1.42	4.40 ± 0.28 ^a	33.67 ± 10.02 ^b	525.67 ± 133.67 ^a	2.20 ± 0.17	2.57 ± 0.28 ^{ab}	2.96 ± 0.53 ^a
	48%	D2	27.87 ± 1.36 ^a	23.03 ± 1.33	4.83 ± 0.12 ^{ab}	31.67 ± 7.03 ^b	605.0 ± 63.20 ^a	2.20 ± 0.21	3.23 ± 0.72 ^{ab}	4.10 ± 0.64 ^b
	52%	D3	30.3 ± 0.57 ^{ab}	23.33 ± 2.56	5.53 ± 0.12 ^c	15.50 ± 4.58 ^a	605.33 ± 102.92 ^a	2.19 ± 0.70	3.35 ± 0.65 ^b	2.72 ± 0.08 ^a
0.02%	44%	D4	27.3 ± 0.00 ^a	23.07 ± 1.15	4.93 ± 0.03 ^{abc}	35.33 ± 3.79 ^b	613.33 ± 138.87 ^a	1.98 ± 0.42	2.44 ± 0.04 ^a	2.64 ± 0.55 ^a
	48%	D5	29.4 ± 0.14 ^{ab}	23.40 ± 0.61	5.35 ± 0.49 ^{bc}	15.00 ± 5.57 ^a	366.33 ± 143.20 ^a	2.04 ± 0.04	3.08 ± 0.04 ^{ab}	2.71 ± 0.11 ^a
	52%	D6	34.5 ± 5.52 ^b	26.1 ± 5.20	6.15 ± 0.64 ^d	43.33 ± 4.16 ^b	896.67 ± 279.53 ^b	1.88 ± 0.35	3.30 ± 0.26 ^b	4.34 ± 0.87 ^b

Note: TP. Total protein; ALB. Albumin; GLB. Globulin; AST. Aspartate aminotransferase; ALT. Alanine aminotransferase; TG. Triglyceride; CHO. Cholesterol; GLU. Glucose

2.5 消化酶和抗氧化能力

各组间胃蛋白酶活性无显著性差异 ($P > 0.05$)。随蛋白水平的增加, 肠道胰蛋白酶先升高后降低, D5 显著高于 D3 ($P < 0.05$), 其他组差异不显著 ($P > 0.05$)。肠道淀粉酶随着蛋白水平升高而逐渐降低, 同一蛋白水平酶活随着抗菌肽

增加而升高, D4 显著高于 D2 ($P < 0.05$)。44% 蛋白水平下, 过氧化物酶活性随着抗菌肽浓度的增加而显著升高 ($P < 0.05$), 其他蛋白水平下差异不显著 ($P > 0.05$)。随着蛋白水平和抗菌肽浓度的增加, 肝脏丙二醛含量逐渐降低 ($P > 0.05$), 肝脏过氧化氢酶活性逐渐升高 ($P > 0.05$, 表 6)。

表 6 不同蛋白水平下添加抗菌肽对石斑鱼消化酶和抗氧化能力的影响

Tab. 6 Effect of ABP supplementation in different protein level diets on digestive enzymes, antioxidant abilities of grouper

ABP Concentrations	蛋白水平 Protein levels	组别 Groups	胃蛋白酶 / (U/mgprot) Pepsin	肠道淀粉酶 / (U/mgprot) Amylase	肠胰蛋白酶 / (U/mgprot) Trypsase	肝脏过氧化物酶 / (U/mgprot) POD	肝脏丙二醛 / (nmol/gprot) MDA	肝脏过氧化氢酶 / (U/mgprot) CAT
0.01%	44%	D1	1.49 ± 0.41	1.18 ± 0.04 ^{ab}	1084.48 ± 87.69 ^{ab}	0.38 ± 0.12 ^a	1.00 ± 0.28	0.25 ± 0.12
	48%	D2	1.51 ± 0.24	0.96 ± 0.15 ^a	1280.21 ± 31.12 ^b	0.51 ± 0.13 ^{ab}	0.82 ± 0.18	0.33 ± 0.15
	52%	D3	1.64 ± 0.33	1.10 ± 0.14 ^{ab}	1001.47 ± 137.12 ^a	0.64 ± 0.35 ^{ab}	0.83 ± 0.08	0.42 ± 0.23
0.02%	44%	D4	1.50 ± 0.48	1.32 ± 0.33 ^b	1209.46 ± 190.78 ^{ab}	1.05 ± 0.29 ^b	0.90 ± 0.07	0.45 ± 0.12
	48%	D5	1.74 ± 0.41	1.16 ± 0.03 ^{ab}	1324.72 ± 202.17 ^b	0.95 ± 0.27 ^{ab}	0.74 ± 0.08	0.45 ± 0.33
	52%	D6	1.64 ± 0.18	1.08 ± 0.19 ^{ab}	1083.48 ± 101.46 ^a	0.79 ± 0.60 ^{ab}	0.81 ± 0.07	0.63 ± 0.33

3 讨论

本研究表明适宜蛋白水平下增加抗菌肽浓度可促进赤点石斑鱼生长和提高饲料利用率。这与水产动物湘云鲫 (*Carassius auratus Triploid*)^[14] 和鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)^[15] 等的研究结果相似。研究表明抗菌肽能促进胰岛素样生长因子, 加速营养物质的合成, 促进动物生长^[11]; 适宜浓度抗菌肽可以通过抑制肠道致病细菌的生长, 改善肠道绒毛结构来提高营养物质的利

用^[16]。而罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[17] 研究中表明抗菌肽对生长无显著影响, 但是高剂量的抗菌肽可以增加罗非鱼的肥满度, 促进脂肪的积累。抗菌肽在不同动物中效果不同, 这主要与动物的品种、规格、养殖环境、抗菌肽的种类和添加量有关。

鱼类的消化能力是决定消化吸收和生长速度的关键, 消化能力与消化道结构和营养水平有关^[18]。本研究中随着蛋白质水平增加胰蛋白酶活性升高, 胃蛋白酶活性随蛋白水平先增加后降

低,淀粉酶活性不断降低。这与卵形鲳鲅 (*Trachinotus Ovatus*)^[19]、瓦氏黄颡鱼 (*Pseudobagrus vachelli*)^[20]等研究中随蛋白水平增加胃蛋白活性增加,淀粉酶活性降低的结论相似。在低蛋白水平下增加抗菌肽可以提高胃蛋白酶和胰蛋白酶的活性,这可能与抗菌肽能有效地改善水产动物胃肠粘膜结构,杀灭有害微生物,保证胃肠粘膜结构和功能完整,提高了胃肠道的消化吸收能力^[21]有关。也有研究表明在蛋白质合成量不变的情况下,增加抗菌肽浓度可以减少机体组成蛋白分解代谢,从而促进生长速度的提高^[22]。高蛋白水平下酶活性降低,表明增加抗菌肽抑制了赤点石斑鱼的生长,可能抗菌肽抑制了肠道有益菌群的生长,影响了石斑鱼的消化吸收^[23]。实验中 D5 (48%, 0.02%) 特定生长率和饲料效率高于 D3 (52%, 0.01%) 和 D6 (52%, 0.02%),说明适宜蛋白水平下增加抗菌肽浓度可以促进生长,降低饲料系数。

在形态指标中,适宜蛋白水平下增加抗菌肽可以降低脏体比和肠系膜脂肪比,与湘云鲫研究结果相似^[14]。肌肉常规成分分析中,同一蛋白水平下增加抗菌肽浓度可降低肌肉粗脂肪含量,可以看出增加抗菌肽可促进脂肪分解,增加肌肉品质,与添加抗菌肽可以降低湘云鲫^[24]脂肪含量的研究结果一致,这可能与抗菌肽通过影响一系列酶的活性,加强肌肉脂肪分解代谢,抑制脂肪酸合成速度,降低了体脂肪的沉积^[25]有关,还可能与抗菌肽可促进甲状腺激素 T₄ 向 T₃ 的转化,增加机体的代谢,加强体内脂肪的分解,提高机体的瘦肉率^[4]有关。研究表明高蛋白水平下肌肉粗蛋白含量增加,脂肪含量降低^[26],但本研究中差异不显著,这与饲料蛋白质水平和鱼的种类有关。

血糖、甘油三酯和总蛋白反映了机体对碳水化合物、脂肪和蛋白质代谢的情况^[27],血清总蛋白、白蛋白反映了蛋白质代谢和营养水平^[28],球蛋白反应了机体免疫水平。本研究表明适宜蛋白和抗菌肽水平可以提高蛋白质在体内的吸收、沉积和利用,提高机体非特性免疫水平。有研究表明抗菌肽可以提高血清免疫球蛋白 A 和 G 含量,增加脾脏白介素-2mRNA 表达^[29]。血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶反应机体肝功能状况,高蛋白水平下谷丙转氨酶含量高于其他蛋

白水平,谷草转氨酶没有显著影响,这与罗非鱼^[30]的研究结果相似。同一蛋白水平下增加抗菌肽浓度可以降低血清甘油三酯、胆固醇和血糖含量,这可能与添加适宜浓度的抗菌肽可以促进蛋白质的代谢和利用,降低其他物质的代谢,导致肠系膜脂肪比和脏体比增加有关。

鱼类与脊椎动物一样,也易受到氧自由基的影响,MDA 反映了机体过氧化和自由基水平,抗氧化酶系统主要依靠超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 等^[31]。研究表明,添加 0.015% 抗菌肽可以提高锦鲤 (*Cyprinus. carpio var. Jian*) 血清 CAT、溶菌酶活性^[32],增强鲤鱼血清溶菌酶和补体旁路途径活性^[33],添加 0.015% 和 0.02% 的天蚕素抗菌肽可以提高湘云鲫血清 CAT 活性,降低 MDA 的含量^[14]。本研究同一蛋白水平下增加抗菌肽浓度可以降低 MDA,增加 POD 和 CAT 活性,说明添加抗菌肽可以诱导石斑鱼抗氧化系统的激活,增强机体消除抗氧化自由基的能力。

由实验可以看出,适宜蛋白水平下添加抗菌肽,可以促进赤点石斑鱼生长、降低脂肪积累、增加肠道消化酶活性和肝脏抗氧化能力,D5 (48%, 0.02%) 组生长性能、消化酶活力和抗氧化能力较高。

参考文献:

- [1] 朱勇,徐建雄. 抗菌肽饲料添加剂的研究进展[J]. 饲料工业, 2006, 27(3): 14-16.
ZHU Y, XU J X. Research advance of the Antimicrobial Peptides as Feed Additive[J]. Feed Industry, 2006, 27(3): 14-16.
- [2] 赵蕾,王志祥,李占伟,等. 抗菌肽的作用机制及作为饲料添加剂的应用[J]. 饲料研究, 2007(11): 12-14.
ZHAO L, WANG Z X, LI Z W, et al. Mechanism and application of antibiotic peptides as feed additive[J]. Feed Research, 2007(11): 12-14.
- [3] 张兵,魏荣荣,邢智华. 抗菌肽用作饲料添加剂代替抗生素的优势和效果[J]. 养殖与饲料, 2013(11): 34-37.
ZHANG B, WEI R R, XING Z H. Advantage and effect of Antibacterial peptide used as feed additive instead of antibiotics[J]. Animals Breeding and Feed, 2013(11): 34-37.
- [4] 李希,关静姝,李波,等. 天蚕素抗菌肽 CAD 研究进展及其在畜牧生产中的应用[J]. 饲料与畜牧, 2012(2): 56-59.
LI X, GUAN J S, LI B, et al. Progress of Cecropins and the application in animal production [J]. Feed and Husbandry,

- 2012(2): 56-59.
- [5] 刘莉如, 滑静, 王晓霞, 等. 抗菌肽对蛋用仔公鸡血液免疫指标和肠道菌群的影响[J]. 动物营养学报, 2012, 24(9): 1812-1818.
- LIU L R, HUA J, WANG X X, et al. Antimicrobial peptides: effects on blood immune indices and intestinal microflora of young roosters for egg production[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(9): 1812-1818.
- [6] 李冠楠, 夏雪娟, 隆耀航, 等. 抗菌肽的研究进展及其应用[J]. 动物营养学报, 2014, 26(1): 17-25.
- LI G N, XIA X J, LONG Y H, et al. Research progresses and applications of antimicrobial peptides [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(1): 17-25.
- [7] SHAPAWI R, EBI I, YONG A S K, et al. Optimizing the growth performance of brown-marbled grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsk.) , by varying the proportion of dietary protein and lipid levels [J]. Animal Feed Science and Technology, 2014, 191: 98-105.
- [8] TIBBETTS S M, LALL S P, ANDERSON D M. Dietary protein requirement of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) fed practical diets [J]. Aquaculture, 2000, 186(1/2): 145-155.
- [9] TIDWELL J H, WEBSTER C D, COYLE S D. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) raised in ponds [J]. Aquaculture, 1996, 145(1/4): 213-223.
- [10] SHYONG W, HUANG C, CHEN H. Effects of dietary protein concentration on growth and muscle composition of juvenile *Zacco barbata* [J]. Aquaculture, 1998, 167(1/2): 35-42.
- [11] 陈晓生, 刘为民, 周庆国, 等. 饲料中添加抗菌肽对肉鸭血清代谢激素及生理生化指标的影响[J]. 兽药与饲料添加剂, 2005, 10(2): 4-6.
- CHEN X S, LIU W M, ZHOU Q G, et al. Effect of antibacterial peptide supplementation in diets on serum hormone metabolism and physiological and biochemical indexes of meat duck [J]. Veterinary Pharmaceuticals & Feed Additives, 2005, 10(2): 4-6.
- [12] 陈学豪, 林利民, 洪惠馨. 赤点石斑鱼人工配合饵料中蛋白质最适含量的研究[J]. 应用海洋学学报, 1995(4): 407-412.
- CHEN X H, LIN L M, HONG H X. Optimum content of protein in artificial diet for *Epinephelus akaara* [J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 1995(4): 407-412.
- [13] AOAC. Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis [M]. 18th edition. Arlington, Virginia, VA: AOAC, 2005.
- [14] 王自蕊, 谯仕彦, 李波, 等. 饲料中添加天蚕素抗菌肽对湘云鲫生长性能、非特异性免疫功能及抗病力的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(7): 1856-1863.
- WANG Z R, QIAO S Y, LI B, et al. Cecropin: Effects on growth performance, non-specific immunity and disease resistance of Triploid Crucian Carp [J]. Animal Nutrition, 2014, 26(7): 1856-1863.
- [15] 贾滔, 王冬冬, 李波. 天蚕素抗菌肽对网箱养殖鲤鱼生长性能的影响[J]. 河南水产, 2015(2): 26-28.
- JIA T, WANG D D, LI B. Effects of Cecropins on the growth performance of common carp cultured in cages [J]. Henan Fisheries, 2015(2): 26-28.
- [16] WEN L F, HE J G. Dose-response effects of an antimicrobial peptide, a cecropin hybrid, on growth performance, nutrient utilisation, bacterial counts in the digesta and intestinal morphology in broilers [J]. British Journal of Nutrition, 2012, 108(10): 1756-1763.
- [17] 黄沧海, 李波, 王冬冬, 等. 抗菌肽对罗非鱼幼鱼生长性能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2009, 45(23): 53-56.
- HUANG C H, LI B, WANG D D, et al. Effect of antibacterial peptides on growth performance of Juvenile tilapia [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2009, 45(23): 53-56.
- [18] 张琴, 许明珠, 童潼, 等. 饲料中不同糖源对方格星虫稚虫日增重和消化酶的影响[J]. 南方水产科学, 2014, 10(1): 21-26.
- ZHANG Q, XU M Z, TONG T, et al. Effect of different carbohydrate sources on daily weight growth and digestive enzyme activities of larval peanut worm (*Sipunculus nudus*) [J]. South China Fisheries Science, 2014, 10(1): 21-26.
- [19] 唐媛媛. 饲料蛋白质水平对卵形鲳鲹消化酶、非特异性免疫和肠道内容物细菌的影响[D]. 厦门: 厦门大学, 2014.
- TANG Y Y. Effects of dietary protein levels on digestive enzyme, non-specific immunity and intestinal contents bacteria of *Trachinotus ovatus* (Linn) [D]. Xiamen: Xiamen University, 2014.
- [20] 孙翰昌, 徐敬明, 庞敏. 饲料蛋白水平对瓦氏黄颡鱼消化酶活性的影响[J]. 水生态学杂志, 2010, 3(2): 84-88.
- SUN H C, XU J M, PANG M. Effects of dietary protein levels on digestive enzyme activities of Yellow Catfish *Pelteobagrus vachelli* [J]. Journal of Hydroecology, 2010, 3(2): 84-88.
- [21] 杨丽莉. 抗菌肽在水产养殖中应用效果分析[J]. 福建农业, 2015(7): 179, 221.
- YANG L L. Analysis of Antimicrobial Peptides application in aquaculture [J]. Fujian Agriculture, 2015(7): 179, 221.
- [22] 陈晓生, 张辉华, 罗竞彪, 等. 饲料中添加抗菌肽对肉鸭增重及血清尿素氮、总蛋白水平的影响[J]. 中国饲料, 2005(10): 21-23.
- CHEN X S, ZHANG H H, LUO J B, et al. The effects of antibiotic peptide addition in feed on the body weight gain, serum urea nitrogen and total protein level in meat duck [J]. China Feed, 2005(10): 21-23.
- [23] 陈冰, 曹俊明, 陈平洁, 等. 家蝇抗菌肽对凡纳滨对虾生长性能及免疫相关指标的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(2): 258-266.
- CHEN B, CAO J M, CHEN P J, et al. Effects of

- antibacterial peptides of musca domestica on growth performance and immune-related indicators in *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fishery Science of China, 2010, 17(2): 258-266.
- [24] 王自蕊, 譙仕彦, 李波, 等. 饲料中添加天蚕素抗菌肽对湘云鲫生长性能、非特异性免疫功能及抗病力的影响(二)[J]. 饲料与畜牧, 2015(1): 65-68.
WANG Z R, QIAO S Y, LI B, et al. Cecropin: Effects on growth performance, non-specific immunity and disease resistance of Triploid Crucian Carp [J]. Feed and Husbandry, 2015(1): 65-68.
- [25] 覃志彪, 梁静真, 龙苏, 等. 抗菌肽对凡纳滨对虾生产性能及机体成分的影响[J]. 南方农业学报, 2016, 47(4): 674-678.
QIN Z B, LIANG J Z, LONG S, et al. Effects of antibacterial peptides on growth performance and body composition of *Penaeus vannamei* [J]. Journal of Southern Agriculture, 2016, 47(4): 674-678.
- [26] SHIAU S Y, LAN C W. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*) [J]. Aquaculture, 1996, 145(1/4): 259-266.
- [27] 唐玲, 徐奇友, 王常安, 等. 不同水温 and 饲料蛋白质水平对镜鲤血清生化指标的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(1): 41-46.
TANG L, XU Q Y, WANG C A, et al. Effects of dietary protein levels on blood biochemical parameters in mirror common carp (*Cyprinus specularis*) at different temperatures [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2011, 26(1): 41-46.
- [28] 王国霞, 刘群芳, 黄文庆, 等. 复合酶制剂对黄颡鱼生长性能、血清生化及免疫指标的影响[J]. 南方水产科学, 2013, 9(6): 84-89.
WANG G X, LIU Q F, HUANG W Q, et al. Effects of complete enzyme preparation on growth performance, serum biochemical and immune indices of juvenile yellow catfish (*Peltobagrus fulvidraco*) [J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(6): 84-89.
- [29] 吕尊周, 袁肖笑, 蔡兆伟, 等. 抗菌肽对蛋鸡血清免疫指标及脾脏白细胞介素2 mRNA表达量的影响[J]. 动物营养学报, 2011, 23(12): 2183-2189.
LÜ Z Z, YUAN X X, CAI Z W, et al. Effects of antimicrobial peptides on serum immune indices and IL-2 mRNA expression in spleen of laying hens [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23(12): 2183-2189.
- [30] ABDEL-TAWWAB M, AHMAD M H, KHATTAB Y A E, et al. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. Aquaculture, 2010, 298(3/4): 267-274.
- [31] 付贵权, 韩婷婷, 巩秀玉, 等. 重金属 Cu²⁺ 胁迫对半叶马尾藻生长及生理生化特性的影响[J]. 南方水产科学, 2015, 11(4): 34-39.
FU G Q, HAN T T, GONG X Y, et al. Effect of Cu²⁺ stress on growth and physiological biochemical characteristics of *Sargassum hemiphyllum* [J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(4): 34-39.
- [32] 林鑫, 毛述宏, 杨阳, 等. 饲料中添加抗菌肽对锦鲤生长、非特异性免疫力和抗病力的影响[J]. 动物营养学报, 2013, 25(8): 1860-1865.
LIN X, MAO S H, YANG Y, et al. Effects of Antimicrobial Peptides supplementation on growth, non-specific immunity and disease resistance of Koi (*Cyprinus carpio koi*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(8): 1860-1865.
- [33] ZHOU X X, WANG Y B, LI W F. Effect of feeding apidaecin on common carp (*Cyprinus carpio*) growth performances and immune function [J]. Aquaculture, 2008, 279(1/4): 108-112.

Effect of antibacterial peptides supplementation in different protein level diets on grouper (*Epinephelus akaara*)

CAI Yunchuan¹, ZHAO Shuyan^{2,3}, LIN Heizhao², HUANG Zhong², ZHOU Chuanpeng², MA Zhizhou¹

(1. Guangdong Ocean and Fishery Technology Extension Center, Guangzhou 510220, Guangdong, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment; Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, Guangdong, China; 3. School of Life Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: This experiment was conducted to assess the effects of dietary protein (44%, 48% and 52%) and antibacterial peptide (0.01% and 0.02%) on growth performance, serum biochemistry, digestive enzyme and antioxidant abilities of grouper (*Epinephelus akaara*). The experimental diets were named as: D1 (44%, 0.01%), D2 (48%, 0.01%), D3 (52%, 0.01%), D4 (44%, 0.02%), D5 (48%, 0.02%) and D6 (52%, 0.02%). Each diet was fed to 3 replicates and the experiment lasted for 8 weeks. The results show as follows: In certain range, Weight gain (WG), specific growth rate (SGR) and feed conversion ratio increased with protein level and ABP concentration increasing, and D5 was significantly higher than D1 ($P < 0.05$). The morphological indexes, Hepatosomatic index (HSI), Viscerosomatic index (VSI) and Intra-peritoneal fat index (IPF) of D6 were significantly lower than D5 ($P < 0.05$). Crude fat content of fish fed diet D4 was significantly lower than D1 ($P < 0.05$). Serum total protein (TP) and albumin (ALB) increased with protein and ABP increasing ($P < 0.05$), glutamic-pyruvic transaminase (ALT), glutamic oxalacetic transaminase (AST) and glucose (GLU) were lower in D3 and D5 ($P < 0.05$). Trypsase of D5 was higher than other groups ($P < 0.05$), and Peroxidase (POD) of D1 was significantly lower than other groups ($P < 0.05$). ABP could increase Pepsin, Catalase (CAT), POD and decrease Malondialdehyde (MDA) content ($P > 0.05$). The result shows 0.02% ABP supplementation at 48% protein level can improve growth, increase digestive enzyme activities and antioxidant abilities, and decrease FCR.

Key words: grouper; antibacterial peptides; protein; growth; serum biochemical indices; antioxidant abilities