

读书报告

汇报人：张孟丹 2016-10-29





Effect of dietary graded levels of cottonseed meal and gossypol on growth performance, body composition and health aspects of allogynogenetic silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio*♀ × *Cyprinus carpio*♂

C. CAI¹, E. LI², Y. YE¹, A. KROGDAHL³, G. JIANG¹, Y. WANG¹ & L. CHEN²

¹ School of Basic Medicine and Biological Science, Soochow University, Suzhou, China; ² School of Life Science, East China Normal University, Shanghai, China; ³ Aquaculture Protein Centre, CoE, Norwegian School of Veterinary Science, Oslo, Norway

一

研究背景

二

材料与amp;方法

三

结果与分析

四

结论

五

反思与体会



ONTENS

目录

> 一、研究背景

(一) 异育银鲫 (*alogynogenetic silver crucian carp*)



♀

×



♂



> 一、研究背景

(一) 异育银鲫 (*alogynogenetic silver crucian carp*)

食性广、容易饲养

适应性强，成活率高

生长快，饲养周期短

一、研究背景

（二）鱼粉

优点	缺点
<ol style="list-style-type: none">1. 必须氨基酸和脂肪酸含量高2. 碳水化合物含量低3. 适口性好4. 抗营养因子少5. 利于消化吸收	<ol style="list-style-type: none">1. 资源短缺2. 产量下降3. 价格昂贵

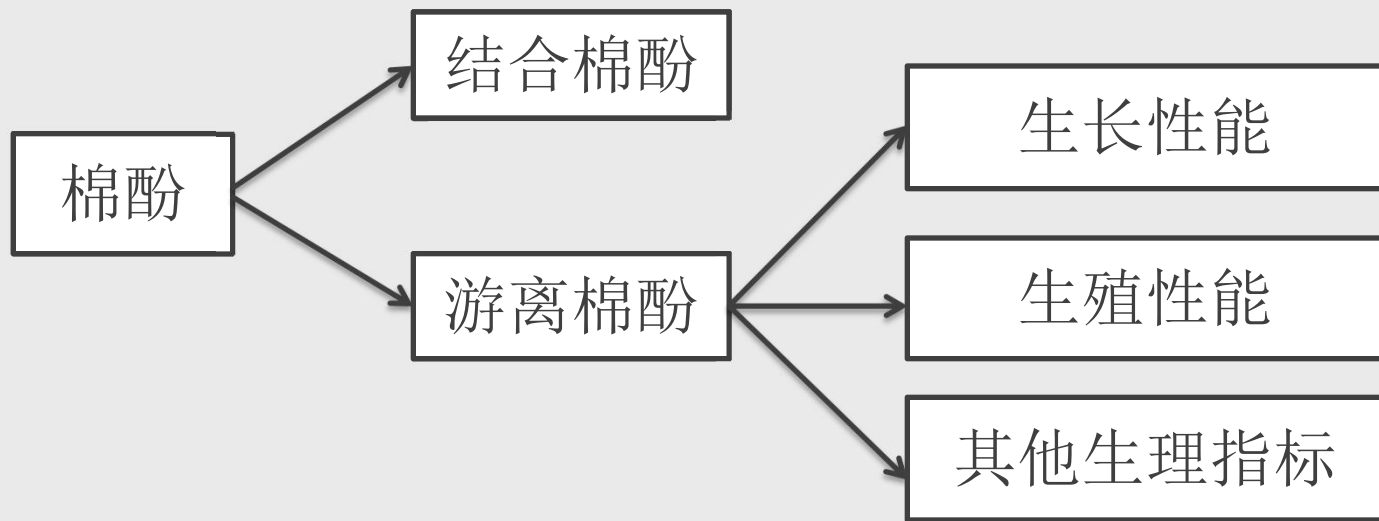
一、研究背景

(三) 棉粕 (CSM)

优点	缺点
<ol style="list-style-type: none">1. 精氨酸和苯丙氨酸含量高2. 富含磷、铁、镁等矿物质元素3. 蛋白含量高4. 产量高，价格较便宜	<ol style="list-style-type: none">1. 赖氨酸含量低，且利用率较低2. 蛋氨酸含量较低3. 棉酚、环丙烯脂肪酸、黄曲霉毒素等影响了其生物学效价

一、研究背景

（四）棉酚



二、材料与amp;方法

实验一

日粮添加不同水平的棉粕对异育银鲫的影响

实验二

日粮添加不同水平的棉酚对异育银鲫的影响

二、材料与amp;方法

(一) 材料准备

1. 实验动物：异育银鲫
2. 实验设备：250 L养鱼池，循环水控温系统，28个5 m³玻璃纤维池
3. 水体控制：流速为2.5 L/min，温度为25.0-27.5 °C，溶氧量大于6 mg/L, pH为7.4-7.7，光照时间参照自然规律
4. 饲料投喂：按体重3%进行投喂，每天分3次（08：30、12：30和16：00）投喂，以后根据摄食情况自行调整投喂量

二、材料与amp;方法

(二) 实验设计

购鱼 ($19.5\pm0.97\text{g}$)



驯化 (2个周)



分组 ($7\times4\times20$)

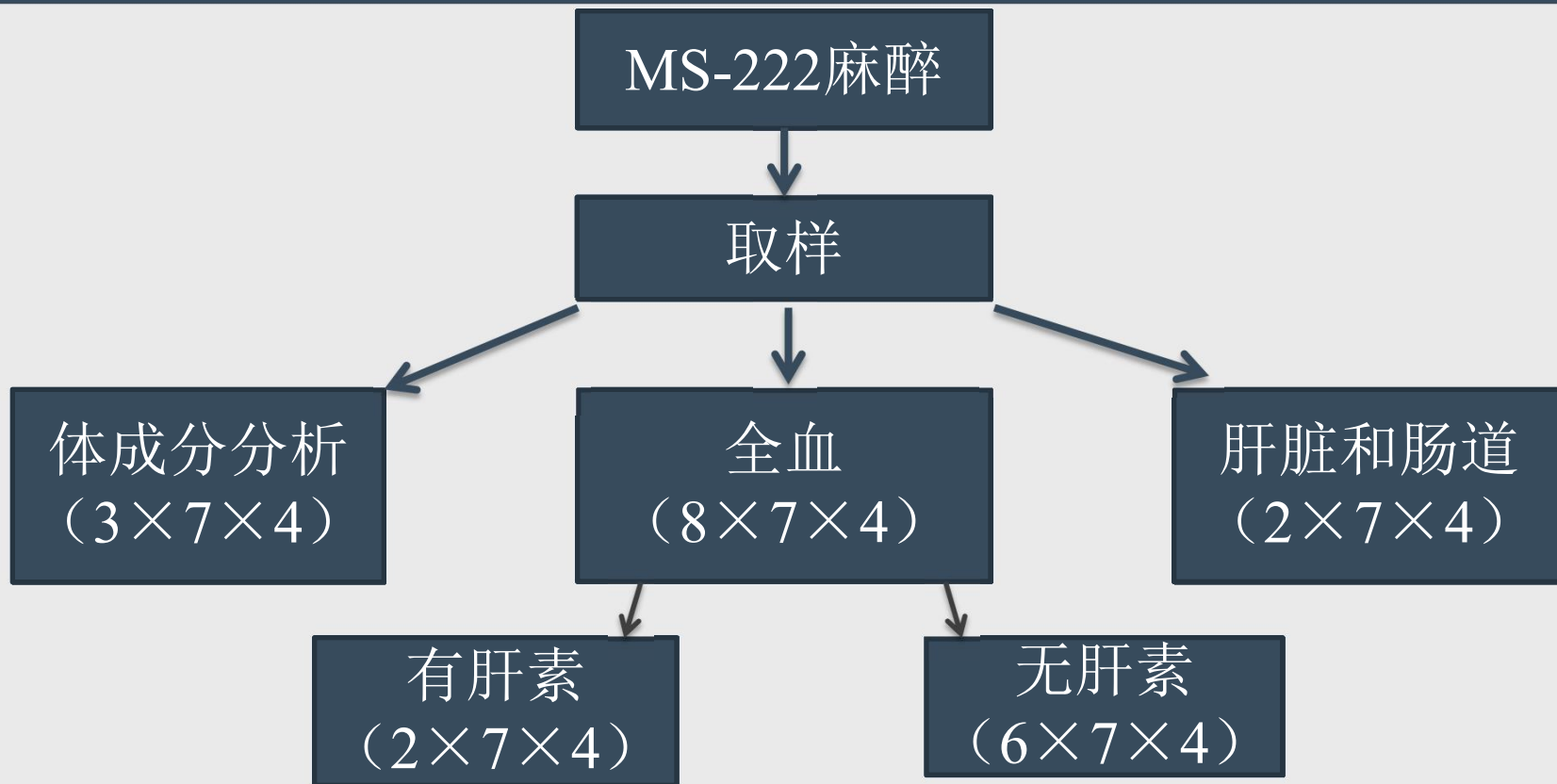


饲养 (6个月)



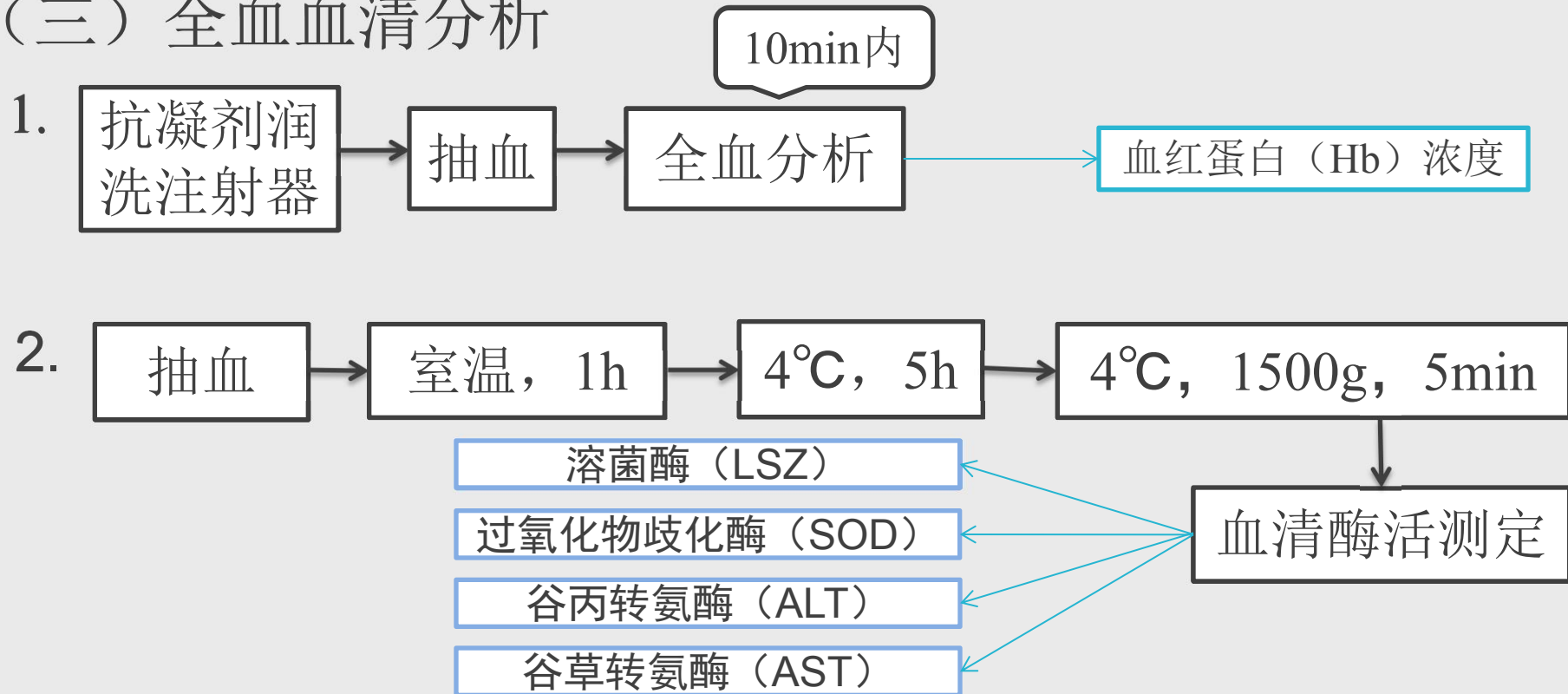
取样 (24h饥饿处理)

二、材料与amp;方法



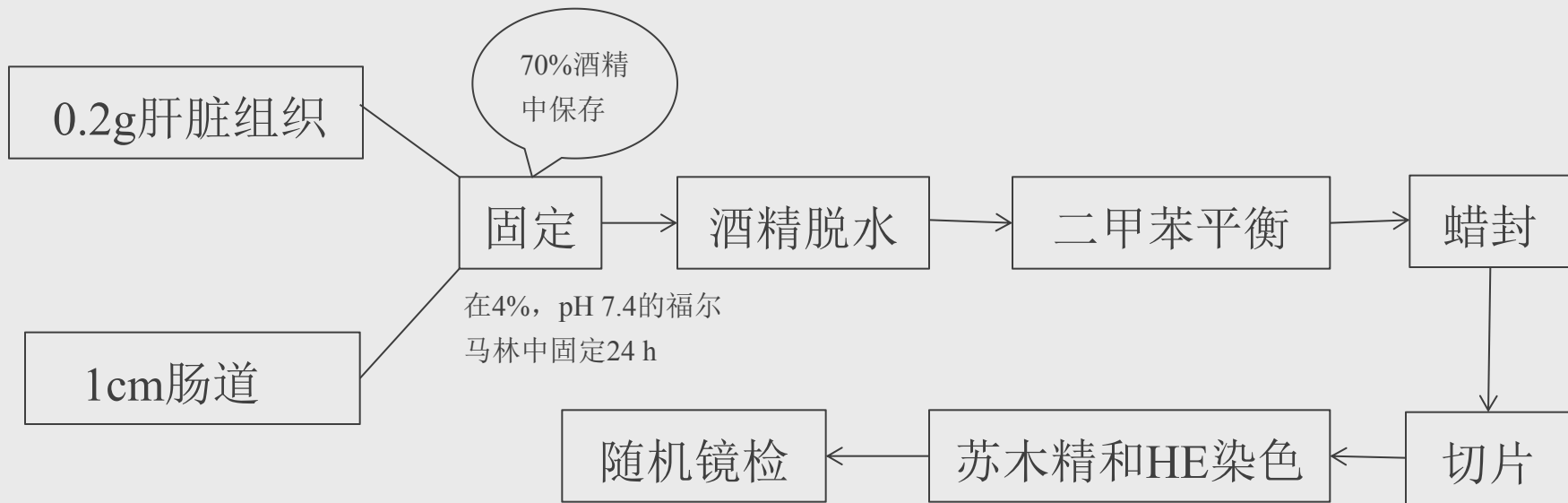
二、材料与amp;方法

(三) 全血血清分析



二、材料与方法

(四) 肝脏组织和肠道的组织学分析



二、材料与amp;方法

(五) 生长性能分析

生存率 (SR,%)=100 × 最终鱼的数目/初始鱼的数目

增重率 (WG,%)=100 × (末体重-初体重) /初体重

特定生长率 (SGR, % d⁻¹)=100 × (ln 末体重-ln 初体重)/实验天数

饲料系数 (FCR) =总干物质摄食量/鱼体总增重

蛋白质效率 (PER, %) =100 × 鱼体增重/蛋白质摄入量

二、材料与amp;方法

(六) 免疫学分析

血红蛋白浓度的检测：上海荣盛生物技术有限公司提供试剂盒

酶活性检测：南京建成生物工程研究所提供的试剂盒

二、材料与amp;方法

(七) 饲料处理

1. 所有饲料原料均需要经过60目筛子
2. 维生素预混料和矿物质预混料需要先跟小麦粉混匀后再加入其他成分
3. 所有原料混匀后加入水
4. 用绞肉机的1.5mm孔制作，电扇吹干，室温放置12h
5. 切饲料，存放于冰箱中

二、材料与amp;方法

(八) 饲料成分分析

水份：105°C烘干至恒重

粗蛋白：酸分解后利用凯式定氮法

粗脂肪：乙醚萃取法

粗灰分：550°C氧化灼烧至恒重

总能：氧弹热量计 (Oxygen Bomb Calorimeter)

二、材料与amp;方法

Table 1 Ingredient composition and estimated nutrient content of experimental diets containing different levels of cottonseed meal and free-gossypol from gossypol acetic acid

	CSM-0	CSM-200	CSM-400	CSM-560	FG-214	FG-428	FG-642
Ingredients (g kg ⁻¹)							
Cottonseed meal		200	400	560			
Rapeseed meal	200	170	70	00	200	200	200
Soybean meal	200	120	50		200	200	200
Peanut cake	150	50	30		150	150	150
Fish meal	100	100	100	104	100	100	100
Blood meal	20	30	30	30	20	20	20
Wheat bran	40	40	34	50	40	40	40
Rice bran	53	53	23	11	53	53	53
Corn	20	40	70	70	20	20	20
Feed yeast	30	30	30		30	30	30
Wheat gluten			10	20			
Flour	100	100	100	100	100	100	100
Salt (NaCl)	3	3	3	3	3	3	3
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	20	20	20	20	20	20	20
Soybean oil	14	14	10	12	14	14	14
Zeolite powder	30	10			30	30	30
Vitamin premix ¹	10	10	10	10	10	10	10
Mineral premix ²	10	10	10	10	10	10	10
Gossypol acetic acid (mg kg ⁻¹)	-	-	-	-	240	480	720
Chemical composition (g kg ⁻¹ as fed state)							
Moisture	102	104	106	104	104	106	104
Crude protein	351	357	363	365	353	352	355
Fat	37	36	33	34	38	36	37
Ash	137	124	114	106	131	134	132
Gross energy (kJ g ⁻¹)	18.4	18.5	18.3	18.6	18.5	18.3	18.4
Free gossypol (mg kg ⁻¹)	Nd	168	341	473	214 ³	428 ³	642 ³

游离棉酚的计算公式:

$$m_{\text{GAA}} \times 89.62\% \times 99.5\%$$

m_{GAA} : 实验中实际添加的醋酸棉酚 (GAA) 的质量

89.62%: 醋酸棉酚 (GAA) 中游离棉酚所占比例

99.5%: 醋酸棉酚 (GAA) 纯度

三、结果与分析

Table 2 Growth performance of crucian carp fed diets containing different levels of cottonseed meal

	CSM-0	CSM-200	CSM-400	CSM-560
Survival rate (%)	100	100	100	100
WG (%)	296 ± 23 ^a	413 ± 50 ^b	525 ± 33 ^c	495 ± 47 ^{b,c}
SGR (% d ⁻¹)	0.74 ± 0.03 ^a	0.88 ± 0.05 ^b	0.99 ± 0.03 ^c	0.96 ± 0.04 ^{b,c}
PER	1.64 ± 0.05 ^a	1.89 ± 0.08 ^b	1.97 ± 0.10 ^b	1.91 ± 0.06 ^b
FCR	1.73 ± 0.12 ^b	1.50 ± 0.14 ^{a,b}	1.44 ± 0.08 ^a	1.47 ± 0.09 ^a

实验一

三、结果与分析

Table 2 body composition, haemoglobin, serum enzyme activities of crucian carp fed diets containing different levels of cottonseed meal

	CSM-0	CSM-200	CSM-400	CSM-560
Whole body composition				
Protein (mg kg ⁻¹)	166 ± 8	159 ± 10	159 ± 8	157 ± 7
Lipid (mg kg ⁻¹)	99 ± 7	88 ± 10	89 ± 7	93 ± 8
Ash (mg kg ⁻¹)	35 ± 3	34 ± 3	36 ± 4	33 ± 3
Moisture (mg kg ⁻¹)	687 ± 13	700 ± 9	700 ± 8	707 ± 11
Biochemical parameters				
Hb (g L ⁻¹)	95 ± 11	98 ± 9	90 ± 6	93 ± 5
LSZ (U 100 mL ⁻¹)	31 ± 1	31 ± 3	32 ± 4	30 ± 2
SOD (U 100 mL ⁻¹)	182 ± 26	208 ± 19	190 ± 22	211 ± 25
ALT (U 100 mL ⁻¹)	29 ± 3	30 ± 2	27 ± 3	32 ± 3
AST (U 100 mL ⁻¹)	95 ± 5	95 ± 2	97 ± 4	100 ± 4

实验一

三、结果与分析

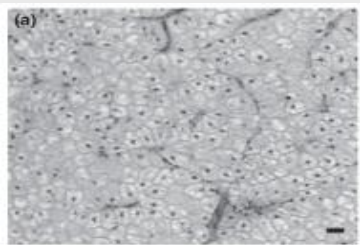
Table 3 Growth performance, body composition, haemoglobin, serum enzyme activities of crucian carp fed diets containing different levels of free-gossypol for 6 months

	CSM-0	FG-214	FG-428	FG-642
Survival rate (%)	100	100	100	100
WG (%)	296 ± 23	311 ± 54	278 ± 20	284 ± 29
SGR (% d ⁻¹)	0.74 ± 0.03	0.76 ± 0.07	0.72 ± 0.03	0.72 ± 0.04
PER	1.64 ± 0.05	1.66 ± 0.11	1.68 ± 0.07	1.59 ± 0.07
FCR	1.73 ± 0.12	1.69 ± 0.11	1.64 ± 0.08	1.72 ± 0.13
Whole body composition				
Protein (g kg ⁻¹)	166 ± 8	170 ± 9	168 ± 7	162 ± 9
Lipid (g kg ⁻¹)	99 ± 5	89 ± 10	91 ± 6	92 ± 8
Ash (g kg ⁻¹)	35 ± 3	36 ± 3	32 ± 4	33 ± 3
Moisture (g kg ⁻¹)	687 ± 13	692 ± 12	688 ± 13	693 ± 12
Biochemical parameters				
Hb (g L ⁻¹)	95 ± 11	97 ± 4	95 ± 5	95 ± 5
LSZ (U 100 mL ⁻¹)	31 ± 1	27 ± 4	29 ± 5	28 ± 4
SOD (U 100 mL ⁻¹)	182 ± 26	178 ± 11	175 ± 20	184 ± 20
ALT (U 100 mL ⁻¹)	29 ± 3	26 ± 3	29 ± 3	27 ± 2
AST (U 100 mL ⁻¹)	95 ± 5	93 ± 3	96 ± 2	94 ± 2

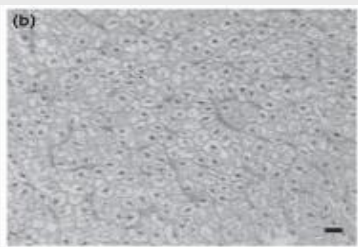
实验二

三、结果与分析

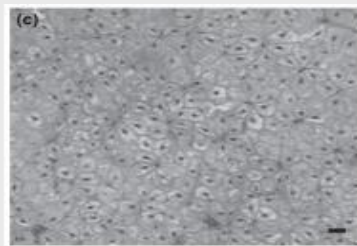
Figure 1 Histological sections of the hepatic tissue and midgut for crucian carps that were fed the control diet (a and d); diet containing 642 mg/kg free-gossypol (b and e) and diet containing 560 mg/kg cottonseed meal (c and f). No significant difference was observed in the size of hepatic cells and their nuclei and lipid droplets (a, b and c). The villous tips and the brush border of midgut appear normal in the midgut of all individuals. Intraepithelial lymphocytes were usually located near the basal lamina, and increased numbers of lymphocytes were not observed in fish that were fed diets containing 642 mg/kg freegossypol (e) and diets with 560 mg/kg cottonseed meal (f). Bar = 20 μ m.



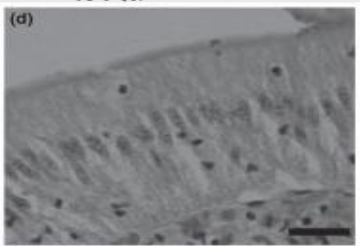
肝脏 CM-0



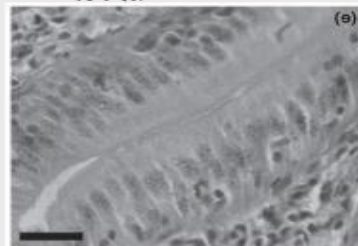
肝脏 FG-642



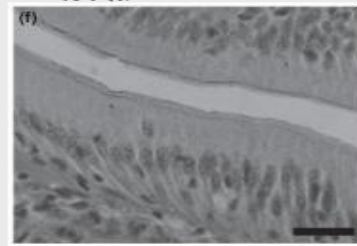
肝脏 CM-560



中肠 CM-0



中肠 FG-642



中肠 CM-560

四、结论

对于异育银鲫来说，日粮添加高达642 mg/kg的游离棉酚的饲料或者添加高达560 g/kg的棉粕的饲料对其生长性能，体成分以及免疫指标均没有负面影响。

五、心得体会

（一）不清楚的地方

1. 每个小池子另外的7尾鱼，作者并未提及
2. 投喂时间间隔不同
3. 并未提及血液从哪个部位抽取
4. 作者提到的实验前先随机取20尾鱼，用于生化分析，但结果中并未体现
5. 每两周测量一下鱼的容重，后文并未提及

五、心得体会

（二）心得与体会

1. 血液处理方式，血清与血浆区别
2. 特定生长率，饲料系数以及蛋白利用率的计算方法
3. 游离棉酚的计算方法
4. 饲料中添加棉酚并不能准确反应饲料中添加棉粕的作用，因为棉粕里面成分错综复杂，可能是其他物质的作用或者是几种物质相互作用的结果



请 各 位 老 师 批 评 指 正

谢 谢!

棉酚作用机理：

- (1) 棉籽在榨油的过程中，受湿热影响，棉酚的活性醛基可与赖氨酸的 ϵ 氨基结合，发生美拉德反应 (maillard reaction)，从而使赖氨酸失效，在一定程度上降低了棉粕中赖氨酸的有效性。
- (2) 棉酚的活性羟基和醛基可与蛋白质结合，降低蛋白质的利用率，也可与铁离子结合，干扰血红蛋白的合成，引起缺铁性贫血。
- (3) 游离棉酚是细胞、血管和神经性的毒物，当大量棉酚进入消化道后，会刺激胃肠粘膜，引起胃肠炎，并且进入血液后会损害心、肝和肾等器官。
- (4) 棉酚还可溶于磷脂，在神经细胞中积累，使神经细胞的功能发生紊乱。

血清

血液凝固析出的淡黄色透明液体。如将血液自血管内抽出，放入试管中，不加抗凝剂，则凝血反应被激活，血液迅速凝固，形成胶冻。凝血块收缩，其周围所析出之淡黄色透明液体即为血清，也可于凝血后经离心取得。在凝血过程中，纤维蛋白原转变成纤维蛋白块，所以血清中无纤维蛋白原，这一点是与血浆最大的区别。而在凝血反应中，血小板释放出许多物质，各凝血因子也都发生了变化。这些成分都留在血清中并继续发生变化，如凝血酶原变成凝血酶，并随血清存放时间逐渐减少以至消失。这些也都是与血浆区别之处。但大量未参加凝血反应的物质则与血浆基本相同。为避免抗凝剂的干扰，血液中许多化学成分的分析，都以血清为样品。

血浆

相当于结缔组织的细胞间质。是血液的重要组成成分，呈淡黄色液体（因含有胆红素）。血浆的化学成分中，水分占90~92%，溶质以血浆蛋白为主。血浆蛋白是多种蛋白质的总称，用盐析法可将其分为白蛋白、球蛋白和纤维蛋白原三类。血浆蛋白质的功能有：维持血浆胶体渗透压；组成血液缓冲体系，参与维持血液酸碱平衡；运输营养和代谢物质，血浆蛋白质为亲水胶体，许多难溶于水的物质与其结合变为易溶于水的物质；营养功能，血浆蛋白分解产生的氨基酸，可用于合成组织蛋白质或氧化分解供应能量；参与凝血和免疫作用。血浆的无机盐主要以离子状态存在，正负离子总量相等，保持电中性。这些离子在维持血浆晶体渗透压、酸碱平衡、以及神经-肌肉的正常兴奋性等方面起着重要作用。血浆的各种化学成分常在一定范围内不断地变动，其中以葡萄糖、蛋白质、脂肪和激素等的浓度最易受营养状况和机体活动情况的影响，而无机盐浓度的变动范围较小。血浆的理化特性相对恒定是内环境稳态的首要表现。