

配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参(*Apostichopus japonicus*)生长、体组成及免疫指标的影响*

张德瑞¹ 张利民² 马晶晶² 李宝山² 夏斌² 谭清³ 王际英^{2①}

(1. 山东升索渔用饲料研究中心 烟台 265500; 2. 山东省海洋资源与环境研究院
山东省海洋生态修复重点实验室 烟台 264006; 3. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要 在基础饲料中分别添加 0、10%、20%、30%、40% 的玉米干酒精糟及其可溶物(Dried distiller's grains with solubles, DDGS), 配制成 5 种等氮等能的实验饲料(DDGS0、DDGS10、DDGS20、DDGS30 和 DDGS40), 饲喂初始体重为(9.69±0.28) g 的刺参 56 d, 研究玉米 DDGS 作为替代蛋白源对其生长、体成分及免疫指标的影响。结果显示, 随着玉米 DDGS 添加水平的升高, 刺参增重率和特定生长率略有下降, 但各组间差异不显著($P>0.05$)。各实验组刺参体壁指数、肠道指数、肠长比以及体壁水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量均不受玉米 DDGS 添加的影响($P>0.05$)。体腔液中溶菌酶的活性呈先上升后稳定的趋势, 其中, DDGS20 和 DDGS40 组显著高于 DDGS0 和 DDGS10 组($P<0.05$), DDGS30 组与其他各组无显著差异($P>0.05$)。酸性磷酸酶的活性呈先上升后下降的趋势, 在 DDGS20 组达到最大值, 其中, DDGS20 组显著高于其他各组($P<0.05$), DDGS40 组显著高于 DDGS0 组($P<0.05$), 其他各组间无显著差异($P>0.05$)。酚氧化酶的活性随着 DDGS 添加量的增加呈上升趋势, 各添加组均显著高于 DDGS0 组($P<0.05$), DDGS40 组显著高于 DDGS10 组($P<0.05$), 其他各组间无显著差异($P>0.05$)。饲料中添加玉米 DDGS 对体腔液中碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶的活性无显著影响($P>0.05$)。本研究表明, 饲料中添加 0–40% 的玉米 DDGS 均不影响刺参的生长和体壁成分, 且添加 20%–40% 的玉米 DDGS 能提高刺参体腔液中免疫酶的活性。

关键词 刺参; DDGS; 生长性能; 体组成; 免疫

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)06-0115-08

刺参(*Apostichopus japonicus*)自然分布在我国渤海和黄海等水域, 是我国 20 多种食用海参中质量最好的一种, 具有极高的食用及药用价值, 刺参养殖业是中国北方沿海水产养殖的新兴支柱产业之一(李成林等, 2010)。随着刺参养殖业的蓬勃发展, 作为刺参饲料中最重要的原料——鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*), 由于其规模和产量的限制, 价格日益升高, 限制了刺参配合饲料的推广与应用。因此, 开发来源稳定、环境友好的陆生植物蛋白替代藻粉, 是目

前刺参养殖中亟待解决的问题之一。

玉米干酒精糟及其可溶物(Dried distiller's grains with solubles, DDGS)是玉米用于乙醇工业和饮料工业中产生的副产品, 是干酒精糟(DDG, Distillers Dried Grains)和可溶干酒糟(DDS, Distillers Dried Solubles)的混合物(Jie *et al*, 2014), 它保留并浓缩了玉米中除了淀粉以外的其他营养成分, 蛋白质、脂肪含量较高, 氨基酸、维生素和矿物质元素丰富。Ingledeew(1999)认为, DDGS 中酵母的生物量至少占总重的 3.9%,

* 国家海洋生物产业水生动物营养与饲料研发创新平台(201502002)和山东省现代农业产业体系——刺参创新团队建设(SDAIT-22-06)共同资助。张德瑞, E-mail: zhangdr1987@163.com

① 通讯作者: 王际英, 研究员, E-mail: ytwjy@126.com

收稿日期: 2015-08-11, 收修改稿日期: 2015-10-09

酵母蛋白的含量至少占 DDGS 总蛋白的 5.3%。酿酒酵母被认为是一种良好的水生动植物蛋白源,富含核苷酸、甘露寡糖和葡聚糖,在水产饲料中可作为免疫刺激剂(Refstie *et al*, 2010)。同时,由于生产过程中的发酵及水热处理,使玉米 DDGS 几乎不含抗营养因子,可作为一种优质的植物蛋白饲料,其应用对于扩大蛋白饲料的来源,缓解鱼粉、豆粕、藻粉等常规蛋白原料的紧张局面有着十分重要的意义(Refstie *et al*, 2010)。目前,国外有关玉米 DDGS 的研究已经对美国鲶鱼(*Clarias fuscus*)(Webster *et al*, 1992)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)(Øverland *et al*, 2013)、罗非鱼 [*Oreochromis niloticus* (♀) × *Oreochromis aureus* (♂)](Welker *et al*, 2014)进行了大量实验,国内相关研究才刚刚开始,在刺参配合饲料中的应用尚未见报道。因此,本实验旨在研究玉米 DDGS 对刺参生长性能、

形体指标和免疫功能的影响,探求玉米 DDGS 在刺参配合饲料中的适宜添加量,对玉米 DDGS 在刺参配合饲料中的应用进行科学评价。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验以鱼粉、发酵豆粕和藻粉为主要蛋白源配制基础饲料并作为对照组(DDGS0),采用等蛋白替代方式,在饲料中分别添加 10%、20%、30%、40%的玉米 DDGS 等蛋白替代基础饲料中的藻粉和发酵豆粕,玉米油调节脂肪平衡,配制 5 种等氮等能饲料(分别命名为 DDGS10、DDGS20、DDGS30 和 DDGS40)。实验饲料配方及其基本成分见表 1。所有原料经超微粉碎过 200 目标准筛,按配比称重,加入玉米油及适量

表 1 实验饲料配方及其基本成分

Tab.1 Formula and proximate composition of the experimental diets (%)

项目 Items	替代水平 Replacement level				
	DDGS0	DDGS10	DDGS20	DDGS30	DDGS40
鱼粉 Fish meal	5	5	5	5	5
发酵豆粕 FSBM ¹	11.2	8.4	5.6	2.8	0
藻粉 Algae powder ²	40	30	20	10	0
玉米干酒精糟及其可溶物 DDGS ³	0	10	20	30	40
海泥 Sea mud	22	22	22	22	22
微晶纤维素 CMCC	0	3.7	7.4	11.1	14.8
虾粉 Shrimp powder	5	5	5	5	5
α-淀粉 α-starch	10	10	10	10	10
玉米油 Corn oil	3.6	2.7	1.8	0.9	0
多维 Vitamin premix ⁴	2	2	2	2	2
多矿 Mineral premix ⁵	1	1	1	1	1
抗氧化剂 Antioxidant	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
合计 Total	100	100	100	100	100
基本成分(干重)Proximate composition (DM)					
粗蛋白 Crude protein	21.63	21.46	21.74	21.10	21.57
粗脂肪 Crude lipid	5.34	5.34	5.49	5.24	5.33
粗灰分 Crude ash	35.22	32.81	29.97	25.84	22.82
总能 Gross energy(MJ/kg)	12.24	12.35	12.64	12.51	12.78

注: 1. 购自山东日照东维饲料有限公司, 粗蛋白为 50.56%(干重)

2. 由山东升索渔业饲料研究中心提供, 脱胶海带粉与马尾藻粉等量混合, 粗蛋白含量为 17.1%(干重)

3. 购自 Adkins Energy LLC-Lena, Illinois, 美国, 粗蛋白为 31.27%, 粗脂肪为 12.37%(干重)

4、5. 维生素预混料及矿物质预混料组成见文献(王际英等, 2014)

Notes: 1. Purchased from Shandong Rizhao Dongwei Co., Ltd. China, containing 50.56% crude proteins (DM basis)

2. Provided by Shengsuo Fishery Feed Research Centre of Shandong Province, China, the mixture of degumming kelp powder and sargassum powder with equal quantity, containing 17.1% crude proteins (DM basis)

3. Purchased from Adkins Energy LLC-Lena, Illinois, USA, containing 31.27% crude proteins and 12.37% crude lipids (DM basis).

4, 5. Same contents of vitamin and mineral premix as reference Wang *et al* (2014)

蒸馏水混匀,用小型颗粒饲料挤压机制成颗粒,60℃烘干后小型粉碎机破碎,筛选粒度在80–100目之间的颗粒备用。饲料于–20℃冰箱保存。

1.2 实验动物与饲养管理

实验用刺参取自山东省海洋资源与环境研究院东营实验基地当年繁育的同一批参苗,饲养实验在该基地循环水养殖系统中进行。实验开始前,实验用刺参在循环水系统中暂养14 d,期间饲喂基础饲料。暂养结束后,挑选体质健康、初始体重为(9.69±0.28)g的刺参450头,平均放养于15个深蓝色圆柱形养殖水桶(直径75 cm,水深80 cm)中,内放置海参养殖筐1个,内嵌波纹板20张,控制水深为50 cm,随机分为5组,每组3个重复。实验在微流水环境中进行,采用充气增氧,保证溶氧>7 mg/L,水温控制在18–20℃之间,pH为7.8–8.2,盐度为24–26,亚硝酸氮、氨氮均<0.05 mg/L。养殖实验持续56 d,每天投喂2次(08:00和16:30),日投喂量为刺参体重的2%,根据实验刺参摄食情况及时调整投喂量。每隔2 d换水1次,换水时用虹吸法将残饵及粪便吸出。

1.3 样品采集与计算

养殖实验结束后,禁食48 h,统计各桶刺参的数量并称重。每桶随机取10头刺参置于托盘中,待其自然舒展后测量体长,滤纸轻轻吸干体表水分后分别称重。采集体腔液后,置冰盘上分离体壁与肠道,分别称重,并测量肠道长度。体腔液离心(3000 r/min,4℃,15 min)后取上清液分装于2 ml的离心管中,–80℃保存。

存活率(Survival rate, SR, %)=实验末刺参总数/实验初刺参总数×100

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=(实验末刺参总重–实验初刺参总重)/实验初刺参总重×100

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)=(ln 实验末平均刺参重–ln 实验初平均刺参重)/实验天数×100

体壁指数(Body wall index, BI, %)=体壁重/体重×100

肠道指数(Intestine index, II, %)=肠重/体壁重×100

肠长比(Intestine length ratio, ILR)=肠长/体长

1.4 样品测定

1.4.1 饲料及体壁营养成分的测定 饲料及体壁营养成分含量采用常规方法测定:水分采用105℃烘干至恒重(GB/T6435–2006);粗蛋白质采用杜马斯燃烧法(Leco FP528);粗脂肪采用索氏抽提法(GB/

T6433–1994);粗灰分采用550℃马福炉灼烧法(GB/T6438–2007);能量采用燃烧法(PARR, 6100)。

1.4.2 免疫酶活力的测定 溶菌酶(LZM)活性采用空白对照比浊法测定,超氧化物歧化酶(SOD)采用羟胺法测定,碱性磷酸酶(AKP)活性采用磷酸苯二钠法测定,酸性磷酸酶(ACP)采用化学比色法,以上指标均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

酚氧化酶(PO)活性的测定参考 Hernández-López 等(1996)的方法,略有改动。在96孔酶标板中加入100 μl 体腔液上清液,再加入50 μl 左旋多巴(L-DOPA)溶液(3 mg/ml),立刻放入酶标仪(Biotek, Epoch)中,每隔5 min 测定波长为492 nm处的OD值,共测定10个点,实验设3个平行。以实验条件下每分钟每毫升样品吸光度值每增加0.001定义为1个酶活力单位(U/ml)。

1.5 数据统计

实验数据采用SPSS 13.0软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),若差异显著($P<0.05$),用Duncan's 检验进行多重比较分析,结果以平均值±标准差(Mean±SD)表示。

2 结果

2.1 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参生长性能的影响

配合饲料中添加玉米DDGS对刺参生长性能的影响见表2。饲料中玉米DDGS的添加量对各组刺参的存活率无显著影响,且各组存活率均高于90%。随着玉米DDGS添加水平的升高,刺参增重率与对照组相比分别降低了10.53%、12.56%、11.06%和6.23%,但各组之间无显著差异($P>0.05$)。与增重率趋势相似,各实验组末体重、特定生长率、比肠重、比肠长和壁体比均与对照组无显著差异($P>0.05$)。

2.2 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参体壁营养成分的影响

配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参体壁营养成分的影响见表3。配合饲料中添加玉米 DDGS 后,刺参体壁中水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分的含量各组之间均无显著差异($P>0.05$)。

2.3 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参免疫指标的影响

配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参免疫指标的

表 2 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参生长性能的影响
Tab.2 Effects of dietary DDGS on the growth performance of sea cucumber *A. japonicus*

项目 Items	替代水平 Replacement level				
	DDGS0	DDGS10	DDGS20	DDGS30	DDGS40
初体重 Initial body weight (g)	9.67±0.05	9.69±0.10	9.78±0.03	9.66±0.07	9.65±0.12
末体重 Final body weight (g)	15.30±0.51	14.73±0.94	14.75±0.57	14.64±0.73	14.90±0.67
增重率 WGR (%)	58.11±5.02	51.99±8.13	50.81±5.79	51.68±8.36	54.49±8.50
特定生长率 SGR (%/d)	0.82±0.06	0.75±0.10	0.73±0.10	0.74±0.10	0.78±0.10
体壁指数 BI (%)	67.16±2.06	66.97±1.34	65.75±1.75	66.61±1.11	67.22±2.29
肠道指数 II (%)	4.28±0.30	4.52±0.17	4.61±0.40	4.26±0.14	4.22±0.30
肠长比 ILR	3.17±0.13	3.30±0.10	3.18±0.30	3.18±0.16	3.06±0.14
存活率 SR (%)	96.00±4.00	96.00±4.00	94.00±2.00	95.33±1.15	93.33±7.02

注：表中数据以平均值±标准差表示($n=3$)，下同

Note: Values were presented as Mean±SD ($n=3$), the same as below

表 3 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参体壁营养组成的影响
Tab.3 Effects of dietary DDGS on proximate composition of the body wall of sea cucumber *A. japonicus*

项目 Items	替代水平 Replacement level				
	DDGS0	DDGS10	DDGS20	DDGS30	DDGS40
水分 Moisture	90.99±0.29	91.31±0.36	91.06±0.45	91.19±0.39	90.85±0.25
粗蛋白 Crude protein	4.42±0.23	4.21±0.20	4.26±0.30	4.23±0.01	4.46±0.16
粗脂肪 Crude lipid	0.22±0.02	0.21±0.03	0.22±0.01	0.20±0.01	0.24±0.04
灰分 Ash	3.00±0.21	2.91±0.08	2.93±0.12	2.96±0.11	3.01±0.07

影响见表 4。随着饲料中 DDGS 替代水平的升高，刺参体腔液中 LZM 活性呈先升高后平稳的趋势，其中，DDGS20 和 DDGS40 组显著高于 DDGS0 和 DDGS10 组($P<0.05$)，DDGS30 组 LZM 活性与其他各组无显著差异($P>0.05$)。ACP 的活性呈先上升后下降的趋势，在 DDGS20 组达到最大值，其中，DDGS20 组显著高于其他各组($P<0.05$)，DDGS40 组显著高于 DDGS0 组($P<0.05$)，其他各组间无显著差异($P>0.05$)。PO 的活性随着 DDGS 添加量的增加呈上升趋势，DDGS0 组显著低于其他各组($P<0.05$)，DDGS40 组显著高于 DDGS10 组($P<0.05$)，其他各组间无显著差异($P>0.05$)。饲料中添加玉米 DDGS 对体腔液中 AKP

和 SOD 的活性无显著影响($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参生长性能的影响

玉米 DDGS 是在生产燃料乙醇的过程中，微生物对玉米进行发酵产生乙醇，蒸馏后，大量微生物连同玉米中的剩余成分经干燥形成的一种新型的饲料蛋白质原料。因此，玉米 DDGS 并不仅仅是玉米制酒精后剩余物的浓缩，还有发酵过程中产生的未知因子以及糖化曲、酵母成分(赵红霞, 2009)。研究表明，

表 4 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参免疫指标的影响
Tab.4 Effects of dietary DDGS on immune enzyme indices of sea cucumber *A. japonicus*

项目 Items	替代水平 Replacement level				
	DDGS0	DDGS10	DDGS20	DDGS30	DDGS40
溶菌酶 LZM (U/ml)	41.23±3.69 ^a	44.98±3.18 ^a	54.09±4.84 ^b	48.95±5.11 ^{ab}	57.00±4.15 ^b
碱性磷酸酶 AKP (King unit/dL)	1.79±0.10	1.89±0.17	2.10±0.18	2.07±0.29	2.18±0.22
超氧化物歧化酶 SOD (U/ml)	68.09±2.31	73.17±5.58	68.23±1.73	72.81±2.89	72.63±6.01
酸性磷酸酶 ACP (U/dL)	4.42±0.74 ^a	4.79±0.74 ^{ab}	10.31±0.52 ^c	5.65±0.77 ^{ab}	6.02±0.56 ^b
酚氧化酶 PO (U/ml)	62.5±4.01 ^a	79.26±7.12 ^b	89.86±7.09 ^{bc}	91.90±6.22 ^{bc}	98.07±10.72 ^c

注：同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Values in the same row with different superscripts were significantly different ($P<0.05$)

水产养殖动物饲料中可以添加适量的 DDGS 作为蛋白源。在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)饲料中使用 25% 玉米 DDGS 等蛋白替代由葵花籽粕、菜粕和全豌豆粉组成的混合蛋白源可以显著提高其增重率, 同时, 50% 添加组与对照组在增重率上无显著差异(Øverland *et al.*, 2013)。斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)饲料中使用豆粕和 DDGS 组合替代鱼粉, 对实验各组的增重率、特定生长率、饲料转化率及存活率均无显著影响(Webster *et al.*, 1992)。与上述研究结果相似, 在本研究中, 玉米 DDGS 部分替代藻粉后对各实验组刺参的增重率、特定生长率等生长指标均无显著影响, 表明刺参能够较好地利用发酵副产品玉米 DDGS 作为其蛋白源。研究表明, 发酵后植物原料可以作为水产养殖动物饲料中良好的蛋白源(Sun *et al.*, 2007; Mostafizur *et al.*, 2015; Molina-Poveda *et al.*, 2004)。Seo 等(2011)发现刺参能够较好地利用发酵豆粕和 DDG, 姜燕等(2012)在以海带粉和豆粕为主要原料的刺参饲料中加入水产诱食酵母进行发酵, 发酵饲料组刺参的增重率显著高于普通饲料组。玉米 DDGS 中氨基酸组成与发酵豆粕相近, 但赖氨酸相对缺乏(王晶等, 2009), 这可能影响其在刺参配合饲料中的应用效果。发酵过程中会产生大量的微生物包括有益的细菌和真菌, 这些微生物及其产生的酶能够降解原料中的部分营养物质, 使其更易被动物吸收和利用, 提高了发酵基底的营养质量(Jones, 1975), 进而提高水产饲料利用效率, 促进实验动物的生长。发酵过程中微生物的活性还可以部分或全部消除原料中的抗营养因子, 进而提高原料在动物饲料中的应用比例(Wee, 1991; Refstie *et al.*, 2005)。海参在自然条件下通常摄取植物或动物的碎屑以及有机物的沉积物为生, 谷物原料经发酵后的风味与自然食物相近, 刺激了刺参的食欲和摄食活动, 进而促进了刺参的生长性能(Seo *et al.*, 2011)。Seo 等(2011)研究发现, 在刺参饲料中使用 10% 大米 DDG 替代鼠尾藻藻粉可以显著提高其生长性能, 但 40% 替代组生长性能显著降低。在本研究中, 添加 40% 的玉米 DDGS 并未影响刺参的生长性能, 这可能是因为 DDGS 中含有 DDS, 而 DDS 中包含了玉米中一些可溶性营养物质及发酵过程产生的未知生长因子、糖化物、酵母等, 可以促进刺参对玉米 DDGS 的利用,

进而提高其生长性能。

3.2 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参体成分的影响

养殖动物的体成分随配合饲料组成的不同发生变化, 包括粗蛋白、粗脂肪、水分、灰分等, 因而被用作评定配合饲料优劣的一个指标。一般来说, 优质蛋白源中的蛋白质易被饲养动物消化吸收, 并及时用于机体的生长和组织的更新, 对机体成分, 尤其是粗蛋白和水分含量的影响不大(李二超等, 2009)。已有研究表明, 使用 HP-DDG 替代黄金鲈鱼(*Perca flavescens*)饲料中的鱼粉, 对其肌肉基本组成无显著影响(Eschen, 2014)¹⁾。饲料中添加玉米 DDGS 对斑点叉尾鲷(Webster *et al.*, 1993)和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*) (钟广贤, 2013)²⁾ 体成分均无显著影响, 对草鱼幼鱼蛋白、脂肪和糖类代谢影响也不显著(黄文庆等, 2012)。在刺参饲料中添加不同水平(Seo *et al.*, 2011)及不同来源(Jin *et al.*, 2013)的大米 DDG 对刺参的体组成均无显著影响。与上述研究结果一致, 在本研究中刺参体壁的基本营养成分并未随饲料中玉米 DDGS 的增加发生显著性差异, 说明刺参能够较好地利用玉米 DDGS 进行营养物质的代谢与累积, 这可能是因为发酵过程中产生的大量微生物及产生的酶类能降解原料中的部分营养物质, 使其更易被刺参吸收和利用, 提高了发酵基底的营养质量(Wee, 1991)。

3.3 配合饲料中添加玉米 DDGS 对刺参免疫指标的影响

刺参属于棘皮动物, 缺少获得性免疫体系, 因此, 其防御体系更多依赖天然免疫反应。刺参的非特异性免疫防御系统包括体壁防御和体内免疫, 在体内免疫中各种酶类包括 LZM、SOD、ACP、AKP 和 PO 等, 均为重要的免疫因子, 在机体中担负着防御的重要功能, 对刺参的抗病力和抗应激能力有不同程度的促进作用, 因此, 被作为评价刺参免疫功能的主要指标(孙永欣, 2008)³⁾。刺参吞噬细胞中具有溶酶体酶, 由 LZM、ACP 和 AKP 等组成, 其重要功能是在吞噬完成后对外源性物质进行降解(Canicatti, 1990; Cheng, 1992)。LZM 能够破坏溶解细菌细胞壁中的肽聚糖成分, 从而使细菌的细胞壁破损, 细胞崩解(刘晨光等,

1) Eschen AV. Evaluation of plant-based proteins as fish meal replacements in yellow perch diets. Natural Resource Management Department, South Dakota State University, 2014

2) 钟广贤. 玉米 DDGS 对草鱼、鲤鱼生长性能及体成分的影响. 湖南农业大学硕士研究生学位论文, 2013

3) 孙永欣. 黄芪多糖促进刺参免疫力和生长性能的研究. 大连理工大学博士研究生学位论文, 2008

2000)。ACP 在刺参免疫系统中起着调理素作用,能诱导阿米巴细胞对外来物质进行吞噬和包囊(Bertheussen, 1982)。在本研究中,饲料中添加适量的玉米 DDGS 可以显著提高刺参体腔液中 LZM 和 ACP 的活性,推测是由于玉米 DDGS 中所富含 β -葡聚糖,刺激了刺参体内的免疫系统。研究表明,饲料中添加 β -葡聚糖可以提高刺参(Chang *et al*, 2010)、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)(Mai *et al*, 2007)和凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)(Zhao *et al*, 2012)体内 LZM 的活性,同时, β -葡聚糖还可提高奥尼罗非鱼(迟淑艳等, 2006)¹⁾、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)(孙虎山等, 2002)和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)(王雪良, 2008)²⁾体内 ACP 的活性。

SOD 是生物体内一种以自由基为底物的抗氧化酶,其活性可间接反映机体清除氧自由基的能力(孙虎山等, 2000)。研究发现,饲料中添加玉米 DDGS 对草鱼幼鱼(黄文庆等, 2012)和奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*♀×*O. aureus*♂)(何晓庆, 2010)³⁾血清中 SOD 均无显著影响。与上述研究结果一致,在本研究中,各组刺参体腔液中 SOD 的活性无显著差异,表明刺参饲料中添加玉米 DDGS 对其抗氧化性能无不利影响。

酚氧化酶(PO)和酚氧化酶原(proPO)激活系统在无脊椎动物先天免疫的识别和防御中发挥重要作用(Haug *et al*, 2002)。研究表明,饲料中添加葡聚糖能够显著提高刺参(张琴, 2010)⁴⁾和中国对虾(汪小锋等, 2005)体内 PO 的活性。与上述研究结果一致,在本研究中,饲料中添加玉米 DDGS 显著提高了刺参体腔液中 PO 的活性,这可能归因于 DDGS 富含 β -葡聚糖等免疫调节剂。PO 一般以无活性的 proPO 形式存在,外界的刺激和信号,如 β -葡聚糖、脂多糖和微生物多糖(Cárdenas *et al*, 1997)等,可程序性地激活 proPO 成为有活性的 PO(Söderhäll *et al*, 1998),激活后产生的黑色素及其中间产物醌可抑制病原体胞外蛋白和几丁质酶的活性,从而杀死微生物和寄生虫(Vargas-Albores *et al*, 2000)。

在本研究中,刺参饲料中添加玉米 DDGS 显著

提高了刺参体腔液中 LZM、ACP 和 PO 的活性,这可能是由于玉米 DDGS 不仅为刺参提供了蛋白质、脂肪等营养物质,同时在发酵过程中融入了大量酵母细胞和酵母细胞成分(李华磊, 2014)⁵⁾。酵母细胞富含的 β -葡聚糖、甘露醇二酸和角质素有刺激巨噬细胞吞噬的作用;酵母细胞壁的甘露寡糖和 1,3/1,6- β -葡聚糖等成分可调节免疫性能,促进肠道微生物菌群的发育和生长(Mehdi *et al*, 2012)。

在本实验条件下,配合饲料中添加 0–40%的玉米 DDGS 未对刺参的生长性能和体壁组成产生显著影响,同时,添加 20%–40%的玉米 DDGS 能提高刺参体腔液中相关免疫酶的活性。在本研究中,虽然刺参对玉米 DDGS 作为其主要蛋白源表现出良好的适应性,但不同生长阶段刺参对玉米 DDGS 的利用效果及长时间使用玉米 DDGS 是否会对刺参的生长性能产生影响,仍需进一步研究。

参 考 文 献

- 王际英, 宋志东, 李培玉, 等. 饲料添加半乳甘露寡糖对刺参幼参生长、体壁营养组成及免疫力的影响. 中国水产科学, 2014, 21(2): 310–319
- 王晶, 王加启, 卜登攀, 等. DDGS 的营养价值及在动物生产中的应用研究进展. 中国畜牧杂志, 2009, 45(23): 71–75
- 刘晨光, 刘成圣, 刘万顺, 等. 海洋生物酶的研究和应用. 海洋科学, 2000, 24(7): 24–26
- 孙虎山, 李光友. 硒化卡拉胶和酵母葡聚糖对栉孔扇贝血淋巴中两种水解酶活力的影响. 海洋与湖泊, 2002, 33(3): 245–249
- 李二超, 陈立侨, 顾顺樟, 等. 水产饲料蛋白源营养价值的评价方法. 海洋科学, 2009, 33(7): 113–117
- 李成林, 宋爱环, 胡炜, 等. 山东省刺参养殖产业现状分析与可持续发展对策. 渔业科学进展, 2010, 31(4): 126–133
- 汪小锋, 樊廷俊, 丛日山, 等. 几种免疫促进剂对中国对虾血细胞数量、形态结构以及酚氧化酶产量和活性的影响. 水产学报, 2005, 29(1): 66–73
- 赵红霞. 玉米 DDGS 的研究及在水产饲料中应用. 现代渔业信息, 2009(1): 12–14
- 姜燕, 王印庚, 薛太山, 等. 刺参池塘养殖系统中发酵饲料的制作与投喂. 渔业科学进展, 2012, 33(1): 66–71
- 1) 迟淑艳, 周歧存, 周健斌, 等. β -葡聚糖对奥尼罗非鱼生长性能及抗嗜水气单胞菌感染的影响. 世界华人鱼虾营养学术研讨会, 2006: 767–774
- 2) 王雪良. 酵母 β -葡聚糖对中华绒螯蟹免疫功能的影响. 苏州大学硕士研究生学位论文, 2008
- 3) 何晓庆. 玉米 DDGS 在奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*♀×*O. aureus*♂)饲料中的应用研究. 华南农业大学硕士研究生学位论文, 2010
- 4) 张琴. 刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)高效免疫增强剂的筛选与应用. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2010
- 5) 李华磊. 玉米酒糟及其可溶物对免疫抑制肉鸡肉品质、抗氧化性能和免疫功能的影响. 西北农林科技大学硕士研究生学位论文, 2014

- 黄文庆, 王国霞, 罗志锋, 等. 玉米 DDGS 替代豆粕对草鱼生长性能血清化指标和免疫指标的影响. 饲料工业, 2012(16): 33–36
- Bertheussen K. Receptors for complement on echinoid phagocytes. II. Purified human complement mediates echinoid phagocytosis. *Dev Comp Immunol*, 1982, 6(4): 635–642
- Canicatti C. Lysosomal enzyme pattern in *Holothuria polii* coelomocytes. *J Invert Pathol*, 1990, 56(1): 70–74
- Cárdenas W, Dankert JR. Phenoloxidase specific activity in the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Fish Shellfish Immun*, 1997, 7(5): 283–295
- Chang J, Zhang WB, Mai KS, *et al.* Effects of dietary β -glucan and glycyrrhizin on non-specific immunity and disease resistance of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus* Selenka) challenged with *Vibrio splendidus*. *Journal of Ocean University of China*, 2010, 9(4): 389–394
- Cheng TC. Selective induction of release of hydrolases from *Crassostrea virginica* hemocytes by certain bacteria. *J Invertebr Pathol*, 1992, 59(2): 197–200
- Haug T, Kjuul AK, Styrvoid OB, *et al.* Antibacterial activity in *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucumaria frondosa* (Holothuroidea), and *Asterias rubens* (Asteroidea). *J Invertebr Pathol*, 2002, 81(2): 94–102
- Hernández-López J, Gollas-Galván T, Vargas-Albores F. Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes). *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 1996, 113(1): 61–66
- Ingledeew WM. Yeast-could you base a business on this bug? *Biotechnology in the feed industry*. Nottingham: Nottingham University Press, 1999, 27–47
- Jie YZ, Zhang JY, Zhao LH, *et al.* The correlation between the metabolizable energy content, chemical composition and color score in different sources of corn DDGS. *J Animal Sci Biotech*, 2014, 4(3): 1–8
- Jones ID. Effect of processing by fermentation of nutrients. In: *Nutritional Evaluation of Food Processing* (Harris RS & Karmas E eds), Avi Publishing Co. Inc, Westport, Connecticut, 1975, 324
- Jin C, Rahman MM, Lee SM. Distillers dried grain from makgeolli by-product is useful as a dietary ingredient for growth of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fish Aquat Sci*, 2013, 16(4): 279–283
- Mai KS, Zhang L, Tan B, *et al.* Effects of dietary beta-1, 3-glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Fish Shellfish Immun*, 2007, 22(4): 394–402
- Mehdi A, Hasan G. Immune response of broiler chicks fed yeast derived mannanoligosaccharides and humate against new castle disease. *World Appl Sci J*, 2012, 18(6): 779–785
- Molina-Poveda C, Morales ME. Use of a mixture of barley-based fermented grains and wheat gluten as an alternative protein source in practical diets for *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquacult Res*, 2004, 35(12): 1158–1165
- Mostafizur RM, Choi J, Lee SM. Influences of dietary distillers dried grain level on growth performance, body composition and biochemical parameters of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquacult Res*, 2015, 46(1): 39–48
- Øverland M, Krogdahl Å, Shurson G, *et al.* Evaluation of distiller's dried grains with solubles (DDGS) and high protein distiller's dried grains (HPDDG) in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 2013, 416–417: 201–208
- Refstie S, Baeverfjord G, Seim RR, Elvebø O. Effects of dietary yeast cell wall β -glucans and MOS on performance, gut health, and salmon lice resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed sunflower and soybean meal. *Aquaculture*, 2010, 305(1): 109–116
- Refstie S, Sahlström S, Bråthen E, *et al.* Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 2005, 246(1): 331–345
- Seo JY, Shin IS, Lee SM. Effect of dietary inclusion of various plant ingredients as an alternative for *Sargassum thunbergii* on growth and body composition of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Aquacult Nutr*, 2011, 17(5): 549–556
- Söderhäll K, Cerenius L. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Curr Opin Immunol*, 1998, 10(1): 23–28
- Sun M, Kim YC, Okorie OE, *et al.* Evaluation of fermented soybean curd residues as an energy source in diets for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J World Aquacult Soc*, 2007, 38(4): 536–542
- Vargas-Albores F, Yepiz-Plascencia G. Beta-glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquaculture*, 2000, 191(1–3): 13–21
- Webster CD, Tidwell JH, Goodgame LS, *et al.* Growth, body composition, and organoleptic evaluation of channel catfish fed diets containing different percentages of distillers' grains with solubles. *Progressive Fish-Culturist*, 1993, 55(2): 95–100
- Webster CD, Tidwell JH, Goodgame LS, *et al.* Use of soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 1992, 106(3): 301–309
- Wee KL. Use of nonconventional feedstuffs of plant origin as fish feeds—is it practical and economically feasible? In: *Fish Nutrition Research in Asia. Proceedings of the Fourth Asian Fish Nutrition Workshop* (DeSilva SS ed), Asian Fish Soc, Manila, Philippines, 1991, 13–31
- Welker TL, Lim C, Klesius P, *et al.* Evaluation of distiller's dried grains with solubles from different grain sources as dietary protein for hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* (♀) \times *Oreochromis aureus* (♂). *J World Aquacult Soc*, 2014, 45(6): 625–637
- Zhao HX, Cao JM, Wang AL, *et al.* Effect of long-term administration of dietary β -1, 3-glucan on growth, physiological, and immune responses in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquacult Int*, 2012, 20(1): 145–158

Effect of Dietary Dried Distiller's Grains with Solubles (DDGS) on the Growth, Body Composition, and Immune Enzymes Activities of Sea Cucumber (*Apostichopus japonicus*)

ZHANG Derui¹, ZHANG Limin², MA Jingjing², LI Baoshan², XIA Bin², TAN Qing³, WANG Jiying^{2①}

(1. Shengsuo Fishery Feed Research Centre of Shandong Province, Yantai 265500; 2. Key Laboratory of Marine Ecological Restoration, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006; 3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract Dried distiller's grains with solubles (DDGS) is the primary corn co-product of dry-grind fuel ethanol plants. It consists of distiller's grains combined with condensed solubles from yeast fermentation, and typically contains about 27% crude proteins, 7% starch, 42% neutral detergent fibers, and 0.6% phosphorus. DDGS has gained increasing interest as a potential feed ingredient for aquaculture animals due to the low cost and enrichment in proteins, vitamins, and minerals. This research was carried out to investigate the effects of DDGS level on the growth performance, body composition, and immune enzyme activities of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. Five isonitrogenous and isocaloric diets were formulated that contained 0, 10%, 20%, 30%, and 40% DDGS, designated as DDGS0 (control), DDGS10, DDGS20, DDGS30, and DDGS40 groups respectively. Three replicates of sea cucumber weighing (9.69 ± 0.28) g were fed in one dietary group till apparent satiety two times every day for 56 days. The weight gain (WG) and the specific growth rate (SGR) were decreased along with the increase in DDGS level but there was no significant difference between experimental groups ($P > 0.05$). The body wall index (BI), the intestine index (II), the intestine length ratio (ILR), and the composition of body wall were not affected by the addition of dietary DDGS ($P > 0.05$). The activities of lysozyme (LZM) and acid phosphatase (ACP) in coelomic fluid were higher in the DDGS20 and DDGS40 groups than in the control group ($P < 0.05$). The activities of phenol oxidase (PO) in coelomic fluid were raised along with the increase in the level of DDGS, and were significantly higher than that of the DDGS0 group ($P < 0.05$). The activity of alkaline phosphatase (AKP) was not affected by dietary DDGS ($P > 0.05$). These results indicated that corn DDGS could be a potential dietary ingredient and could be used at a concentration of 20% to 40% to improve the growth and immunity of sea cucumbers.

Key words Sea cucumber *Apostichopus japonicus*; Dried distiller's grains with solubles; Growth performance; Body composition; Immunity

① Corresponding author: WANG Jiying, E-mail: ytwjy@126.com