

实验藏酋猴日粮蛋白质营养水平研究

凌 娟,姚 方,钟 浩

(四川省医学科学院·四川省人民医院实验动物研究所,成都 610212)

【摘要】目的 本试验旨在研究不同蛋白水平对实验藏酋猴生长性能和血液生化指标的影响并确定幼年实验藏酋猴的蛋白营养需要量。**方法** 选用 15 只幼年实验藏酋猴随机分为 5 个处理组,每个处理 3 个重复,分别饲喂蛋白水平为 11.1%、16.1%、20.5%、24.5% 和 29.8% 的日粮,试验期 90 d。**结果** 随着日粮中蛋白水平的提高,实验藏酋猴的增重、血清白蛋白、球蛋白、天门冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶和尿素氮含量显著增加($P < 0.05$),而血清总蛋白、甘油三酯、 γ -谷氨酰胺转移酶和碱性磷酸酶无显著差异。应用折线法确定幼年实验藏酋猴的蛋白营养需要量为 23.69%。**结论** 日粮蛋白水平对实验藏酋猴生长性能有显著影响,从生物学和经济学角度考虑,初步认为在本试验条件下,未成年实验藏酋猴日粮蛋白水平以 23.69% 最合适。

【关键词】 实验藏酋猴; 蛋白质; 营养需要; 血液生化指标

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)09-0036-05

doi: 10.3969.j.issn.1671.7856.2012.001.002

Effect of Dietary Protein Levels on Juvenile Tibetan macaque (*Macaca thibetana*)

LING Juan, YAO Fang, ZHONG Hao

(Institute of Laboratory Animals of Sichuan Academy of Medical Sciences &
Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of protein on growth and serum biochemical indexes of juvenile Tibetan macaque by a ninety-day feeding trial. **Method** Diets with five levels of protein (11.1%, 16.1%, 20.5%, 24.5% and 29.8%) were fed to Tibetan macaque. The results showed that: weight gain, serum albumin, globulin increased with the increasing protein levels ($P < 0.05$). **Results** Activities of serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and urea nitrogen were significantly improved in response to the increasing levels of dietary protein. But there was no significant difference in serum total protein, triglycerides, Gamma-irradiation glutamine shift enzyme and alkaline phosphates among these groups. The dietary protein requirement for weight gain of juvenile Tibetan macaque estimated by brokenline model was 23.69%. **Conclusion** Under the cage conditions the 23.69% protein is the best choice considering animal biology and feed expense.

[Key words] Tibetan macaque (*Macaca thibetana*); Protein; Requirement; Serum biochemical indexes

藏酋猴(*Macaca thibetana*)属于猕猴属,是我国的特色物种。与其他猕猴属实验动物相比,藏酋猴在两方面具有明显优势:一是藏酋猴体型大,成年

动物达 10 kg 以上,较其他猕猴属动物大三分之一到一半,实验操作方便;二是藏酋猴的进化程度更接近于人类,在眼科、肥胖、代谢性疾病、感染性疾

[基金项目] 四川省科研院所科技成果转化资金项目(10010119);四川省科技基础条件平台项目《实验藏酋猴膨化饲料蛋白质的营养需要研究》。

[作者简介] 凌娟(1983-),女,助理研究员,硕士,从事实验动物营养研究。

病等多个领域展现了极大的潜在应用价值。到目前为止,有关实验藏酋猴蛋白营养需要的研究还属空白,但在恒河猴上有零星报道。田中利男^[1]研究发现,恒河猴每日的蛋白质需要量为 27%,Jha 和 Ramalingwami^[2]认为体重在 1.6~3.6 kg 的恒河猴,蛋白质的含量在 15~20% 就可满足需要,而我国季维智等^[3]认为日粮蛋白质含量以 20% 较为合适恒河猴的生长和发育,周维官等^[4]在试验中认为未成年恒河猴日粮粗蛋白含量以 17.1% 最合适。

由于实验藏酋猴生活环境、生物和进化特性与恒河猴有明显的差异,不能完全参考恒河猴的饲养标准来饲喂藏酋猴,因此,研究藏酋猴的蛋白质需要及其对生长发育、血液生化指标的影响具有重要的理论意义。本试验通过研究日粮中不同蛋白质水平对实验藏酋猴生长、血液生化指标的影响,确定出实验藏酋猴蛋白质营养需要量,为实验藏酋猴的科学饲喂提供理论依据。

1 材料和方法:

1.1 实验动物及实验设计:

随机选择初始体重为 2.0~4.0 kg,年龄 2~3 岁的幼年实验藏酋猴 15 只,平均分成 5 个处理,每个处理 3 个重复,每个重复 1 只实验藏酋猴,组间初始体重差异不显著($P > 0.05$)。

实验所需动物由四川省医学科学院·四川省人民医院实验动物研究所藏酋猴养殖研究室提供(国家野生动物驯繁证 2004 驯繁(21-01)号)。

表 1 试验设计方案

Tab. 1 The design of experiment

处理号(N) NO.	1	2	3	4	5
饲料蛋白水平(%) Protein levels	11.33	16.01	19.40	23.30	27.11
每个处理重复数 Duplicate number	3	3	3	3	3
每个重复试验数 Test animal number	1	1	1	1	1

1.2 实验日粮

日粮参照国家标准中实验动物配合饲料营养成分标准:以玉米、鱼粉、大豆、豆粕、小麦等为主要原料,并添加单体矿物质和复合维生素。蛋白设计水平为 11.33%、16.01%、19.40%、23.30%、27.11%。饲料经混合机混匀后进行加工调制,膨化后的制成圆筒状,-20℃保存。各处理饲料实测蛋白含量分别为:11.1%、16.1%、20.5%、24.5% 和 29.8%。饲料及原料中蛋白质测定方法参考 AOAC(1995)^[5]。5 个处理的饲料除蛋白质含量不同外,其他各种营养物质的含量相近,其营养成分含量见表 2。

表 2 近似成分

Tab. 2 Proximate analysis of experimental diets

处理号(N)	1	2	3	4	5
饲料蛋白水平(%) Protein levels	11.33	16.01	19.40	23.30	27.11
消化能(kJ/kg) ² DM	13.40	13.36	13.83	13.51	13.46
粗脂肪 EE	3.42	4.06	4.20	4.09	4.47
粗纤维 CF	2.40	2.43	2.54	2.30	2.49
灰分 Ash	2.38	3.29	3.92	4.88	5.59

注:²参照猪消化能计算^[6]

Note: ² calculations refer to DM of pig

1.3 实验条件和饲养管理

实验在四川省医学科学院·四川省人民医院实验动物研究所藏酋猴养殖基地进行。观察期 7 d,单笼饲养,自由采食、饮水。正式试验期 90 d,专人饲养,做好清洁卫生工作,饲喂时间固定(上午 10:00;下午 17:00),早上先称重好每个饲养笼饲料并做好记录,再投喂,记录每个饲养室试验猴的日采食量。饲养室应通风良好,采光好。自由饮水,每天观察各种动物的毛色、体态、粪便状况,做好记录。

1.4 样品采集及指标测定

正式实验开始后,每 30 天空腹称重一次并做好记录。实验结束后对实验藏酋猴进行空腹采血,测定血清总蛋白(TP)、血清白蛋白(ALB)和血清球蛋白(GLO)、天门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT),甘油三酯(TG)、甘油三酯(TG)、γ-谷氨酰胺转移酶(γ-GT)、碱性磷酸酶(ALP)和尿素氮等指标。

1.5 数据处理

试验数据采用平均值±标准差表示,用统计软件 SPSS17 对数据进行单因素方差分析(ANOVA),并进行显著性检验;实验藏酋猴蛋白质需要量用折线法确定。

2 结果

2.1 不同蛋白水平对实验藏酋猴生长性能的影响

在历时 3 个月的实验过程中,每隔 30 d 对实验藏酋猴称重一次,观察不同蛋白水平对实验藏酋猴增重的影响(结果见表 3)。

2.2 不同蛋白水平对实验藏酋猴血液生化指标的影响

在实验结束时,空腹对每个处理的实验藏酋猴采血,测定其血清总蛋白(TP)、血清白蛋白(ALB)和血清球蛋白(GLO),结果见表 4。

由表可知,不同蛋白水平对实验藏酋猴血清总蛋白(TP)没有显著影响($P > 0.05$),但是随着饲料

表3 不同蛋白水平对实验藏酋猴生长的影响

Tab.3 Initial body weight, final body weight and weight gain of Tibetan macaque (*Macaca thibetana*) fed diets containing graded levels of protein

处理号(N)	1	2	3	4	5
蛋白水平(%)	11.1	16.1	20.5	24.5	29.8
Protein levels					
初始重(g)	2823.33 ^{Aa}	2860.00 ^{Aa}	2846.67 ^{Aa}	2536.67 ^{Aa}	2876.67 ^{Aa}
Initial weight					
末重(g)	2780.00 ^{Aa}	3073.33 ^{Aa}	3073.33 ^{Aa}	3013.33 ^{Aa}	3243.33 ^{Aa}
final weight					
增重(g)	-43.33 ^{Aa}	213.33 ^{Ab}	226.67 ^{Ab}	476.67 ^{Ab}	366.67 ^{Ab}
weight gain					

注：同行肩注不同字母间表示差异显著性，小写字母表示 $P < 0.05$ ，大写字母表示 $P < 0.01$

Note: Mean values with the different superscripts in the same row by small letter mean $P < 0.05$, and mean values with the different superscripts in the same row by capital letter mean $P < 0.01$

中蛋白水平的提高，实验藏酋猴的血清白蛋白(ALB)和血清球蛋白(GLO)有极显著($P < 0.01$)提高。

不同蛋白水平对实验藏酋猴天门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)，甘油三酯(TG)的影响见表5。

由表可知，不同蛋白水平对实验藏酋猴血清天门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和甘油三酯(TG)没有极显著影响($P > 0.01$)，但是

表5 不同蛋白水平对实验藏酋猴天门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、甘油三酯(TG)的影响

Tab.5 Activities of serum aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and triglycerides of Tibetan macaque (*Macaca thibetana*) fed diets containing graded levels of protein

处理号 NO.	蛋白水平(%) Protein levels	天门冬氨酸转氨酶 AST	丙氨酸氨基转移酶 ALT	甘油三酯 TG
1	11.10	27.50 ± 0.62 ^{Aa}	23.07 ± 10.02 ^{Aa}	0.81 ± 0.40 ^{Aa}
2	16.20	32.77 ± 0.42 ^{Aa}	69.70 ± 15.20 ^{Ab}	0.85 ± 0.03 ^{Aa}
3	20.50	44.73 ± 9.34 ^{Ab}	145.23 ± 69.17 ^{Ab}	0.70 ± 0.09 ^{Aa}
4	24.50	44.23 ± 3.65 ^{Ab}	149.70 ± 106.08 ^{Ab}	0.67 ± 0.12 ^{Aa}
5	29.80	68.47 ± 32.40 ^{Ab}	178.27 ± 113.48 ^{Ab}	0.70 ± 0.05 ^{Aa}

注：同行肩注不同字母间表示差异显著性，小写字母表示 $P < 0.05$ ，大写字母表示 $P < 0.01$

Note: Mean values with the different superscripts in the same row by small letter mean $P < 0.05$, and mean values with the different superscripts in the same row by capital letter mean $P < 0.01$

表6 不同蛋白水平对实验藏酋猴γ-谷氨酰胺转移酶(γ-GT)、碱性磷酸酶(ALP)和尿素氮(BUN)的影响

Tab.6 Activities of serum Gamma-irradiation glutamine shift enzyme(γ-GT), alkaline phosphates(ALP) and urea nitrogen(BUN) of Tibetan macaque (*Macaca thibetana*) fed diets containing graded levels of protein

处理号(N)	蛋白水平(%) Protein levels	γ-GT	ALP	BUN
1	11.10	86.13 ± 11.27 ^{Aa}	710.50 ± 137.33 ^{Aa}	15.74 ± 2.74 ^{Aa}
2	16.20	112.70 ± 59.41 ^{Aa}	581.40 ± 152.64 ^{Aa}	20.11 ± 2.49 ^{ABab}
3	20.50	132.37 ± 33.18 ^{Aa}	506.47 ± 202.95 ^{Aa}	23.11 ± 4.64 ^{ABbc}
4	24.50	133.23 ± 21.38 ^{Aa}	560.23 ± 184.05 ^{Aa}	24.04 ± 3.92 ^{ABbc}
5	29.80	134.36 ± 29.34 ^{Aa}	670.40 ± 151.64 ^{Aa}	27.45 ± 0.38 ^{ABbc}

注：同行肩注不同字母间表示差异显著性，小写字母表示 $P < 0.05$ ，大写字母表示 $P < 0.01$

Note: Mean values with the different superscripts in the same row by small letter mean $P < 0.05$, and mean values with the different superscripts in the same row by capital letter mean $P < 0.01$

表4 不同蛋白水平对实验藏酋猴血清总蛋白(TP)、血清白蛋白(ALB)和血清球蛋白(GLO)的影响

Tab.4 serum total protein(TP), albumin(ALB) and globulin(GLO) of Tibetan macaque (*Macaca thibetana*) fed diets containing graded levels of protein

处理号	蛋白水平(%)	血清总蛋白	血清白蛋白	血清球蛋白
(N)	Protein levels	TP	ALB	GLO
1	11.10	70.27 ± 3.52 ^{Aa}	35.50 ± 3.39 ^{Aa}	34.77 ± 0.60 ^{Aa}
2	16.20	80.50 ± 5.37 ^{Aa}	50.47 ± 3.12 ^{Bb}	30.03 ± 2.34 ^{ABab}
3	20.50	75.27 ± 8.30 ^{Aa}	49.87 ± 5.56 ^{Bb}	25.40 ± 2.78 ^{Bb}
4	24.50	77.53 ± 6.31 ^{Aa}	48.40 ± 5.11 ^{Bb}	29.13 ± 3.65 ^{ABb}
5	29.80	80.63 ± 6.45 ^{Aa}	52.43 ± 3.56 ^{Bb}	28.20 ± 2.90 ^{ABb}

注：同行肩注不同字母间表示差异显著性，小写字母表示 $P < 0.05$ ，大写字母表示 $P < 0.01$

Note: Mean values with the different superscripts in the same row by small letter mean $P < 0.05$, and mean values with the different superscripts in the same row by capital letter mean $P < 0.01$

随着饲料中蛋白水平的提高，实验藏酋猴的血清天门冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)显著($P < 0.05$)提高。

不同蛋白水平对实验藏酋猴γ-谷氨酰胺转移酶(γ-GT)、碱性磷酸酶(ALP)和尿素氮的影响见表6。

由表可知，不同蛋白水平对实验藏酋猴血清γ-谷氨酰胺转移酶(γ-GT)、碱性磷酸酶(ALP)的影响差异不显著($P > 0.05$)，但是随着饲料中蛋白水

由表可知，不同蛋白水平对实验藏酋猴血清γ-谷氨酰胺转移酶(γ-GT)、碱性磷酸酶(ALP)的影响

平的提高,实验藏酋猴尿素氮(BUN)显著提高($P < 0.05$)。

2.3 实验藏酋猴蛋白质需要量

生产中,要求饲料中包含适宜的蛋白水平以经济地满足动物的最大生长。而动物的蛋白质需要量是指满足动物最佳生长的最低蛋白质含量,因此,动物的增重能够直观、准确的反映动物对蛋白质的需要量。本实验根据增重用折线法确定的幼年实验藏酋猴蛋白营养需要量是23.69%,其线性方程是 $Y = 29.23X - 332.60$ ($R^2 = 0.816$), $Y_{max} = 356.67$ (图1)。

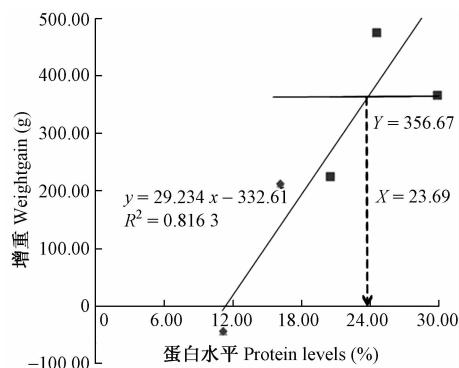


图1 幼年实验藏酋猴蛋白质需要量

Fig. 1 Broken-line analysis of weight gain for juvenile Tibetan macaque (*Macaca thibetana*) fed diets containing graded levels of protein for 90 days.

3 讨论

蛋白质是灵长类动物必需的大量营养物质,缺乏通常会引起生长受阻,从本实验表3可知,日粮总蛋白水平显著影响藏酋猴生长($P < 0.01$),当日粮蛋白含量为11.1%时(缺乏组),藏酋猴的生长显著下降,并且伴随有毛发粗糙、脱毛等现象。随着日粮蛋白水平的逐渐提高,增重也显著提高。国外在其他的灵长类动物上的研究也有类似的报道,Mundy^[7]研究发现,给大猩猩饲喂3年低蛋白食物后,动物出现秃顶和体重下降。

当蛋白质不足时,动物会出现血浆总蛋白浓度下降、血氨基酸浓度下降、白蛋白浓度下降、贫血等一系列症状^[8]。本实验研究发现,日粮蛋白质水平显著或极显著影响藏酋猴ALB和GLO,当日粮蛋白质含量高于11.1%时,血清中的ALB和GLO极显著上升。Mundy^[7]在大猩猩的饲喂实验中得出了相似的结论,当给大猩猩饲喂3年低蛋白食物后,动物白蛋白减少,血清中的氨基酸和蛋白质浓度下降,

低于正常值。

肝脏是蛋白质代谢的重要部位,肝脏中转氨酶活力可反映蛋白质代谢状况。高蛋白水平下肝脏转氨酶活性的提高,说明机体内氨基酸氧化分解加强了,相应有更多的氮排出体外。本研究发现,无论是AST还是ALT活性都随着蛋白水平的提高而有提高的趋势,但在11.1%~24.5%的蛋白水平下,活性差异并不显著。而在29.8%水平组,其活性分别较之11.1%组提高了2.5和7.7倍,这可能是因为在高蛋白水平下,日粮中的淀粉含量减少造成非蛋白能不足,因此日粮中的蛋白质被大量用于脱氨基功能。

血清尿素氮的形成来源于氨基酸的脱氨基作用。血清尿素氮是动物体内蛋白质代谢和日粮氨基酸平衡状况较为准确的反映指标^[9],当日粮中含氮物质增高,或体内氨基酸代谢旺盛,或组织遭受破坏,核蛋白清除量增加,或肾功能障碍,血中的尿素得不到正常排除时均会使血清尿素氮浓度增高^[10,11]。本实验研究结果表明,在11.1%~24.5%的蛋白水平下,血清尿素氮的含量差异不显著,而当日粮中蛋白水平达到29.8%时,其血清尿素氮的含量显著上升,这可能是因为实验藏酋猴摄入了过多的蛋白质而造成的。

对灵长类动物的蛋白需求,最近的一些研究采用了量-效实验(dose-response experiment)来确定,即以蛋白浓度不同的日粮饲喂动物,通过测定其体重变化、尿便中含氮物、机体氮平衡及血清蛋白等指标,确定动物的蛋白需求量。本实验采用的是动物的增重来确定幼年实验藏酋猴的蛋白营养需要量是23.69%,其回归方程为: $Y = 29.23X - 332.60$ ($R^2 = 0.816$), $Y_{max} = 356.67$ (图1)。此值与Ordy^[12]的报道接近,而高于Jha和Ramalingwami、季维智等和周维官等的研究结果。出现差异的主要原因可能是藏酋猴与恒河猴的生活环境、生物和进化特性等都存在较大的差异。

参考文献:

- [1] 田中利男. 实验动物学各论[M]. 朝仓书店,田嶋嘉雄编集, 1972, 252-256.
- [2] Jha, G. J., Ramalingaswami, V. Amer. J. Pathol. 1968, 53:1111.
- [3] 季维智,陆锦明,邹如金,等. 恒河猴日需蛋白质量的研究[J]. 动物学研究, 1986, 7(4): 331-338.
- [4] 周维官等. 未成年猕猴最低蛋白质平衡日粮的研究[J]. 广西科学院学报, 1999, 15(4): 156-158.

- [5] AOAC (Association of Official Analytical Chemists) Official Methods of Analysis of the AOAC International, 16th ed [M]. AOAC International, Gaithersburg, MD, 1995.
- [6] Nutrient Requirements of Nonhuman Primates, 2th ed [M]. National Research Council of National Academies, 2003.
- [7] Mundy, n. i., M. Ancrenaz, E. J. Wickings, et al. Protein deficiency in a colony of western low-land gorillas (*Gorilla g. gorilla*) [J]. Zoo Wildl. Med. 1998, 29:261–268.
- [8] Knapka, J. J., D. E. Barnard, K. A. L. Bayne, et al. Nonhuman Primates in Biomedical Research: Biology and Management [M]. New York: B. T. Bennett, C. R. Abebe, and R. Henrickson, Eds. 1995. Academic Press.
- [9] 刘会君. N-79LaSota 系统苗对肉鸡的免疫试验 [J]. 中国兽医杂志, 1989, 15(7):22–29.
- [10] Stanley C. C., Jenny B. F., Fenrandez JM. Effect of feeding milkreplacer once versus twice daily on glucose metabolism in Holstein and Jersey calves [J]. Journal of Dairy Science. 2002, 85(9):2335–2343.
- [11] 张宏福, 顾宪红. 仔猪营养生理与饲料配制技术研究 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2001, 234–239.
- [12] Ordy L. M. Effects of postnatal protein deficiency on weight gain, serum, proteins, enzymes, cholesterol, and liver ultrastructure in a subhuman primate (*Macaca mulatta*) [J]. Amer J. Pathol, 1966, 48: 76.

〔修回日期〕2012-08-25

(上接第 30 页)

- [9] Ding J, Ding N, Wang N, et al. Determination of conventional protein kinase C isoforms involved in high intraocular pressure-induced retinal ischemic preconditioning of rats [J]. Vision Res, 2009, 49(3): 315–321.
- [10] Stenmark KR, Mecham RP. Cellular and molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling [J]. Annu Rev Physiol, 1997, 59: 89–144.
- [11] Jeffery TK, Wanstall JC. Pulmonary vascular remodeling: a target for therapeutic intervention in pulmonary hypertension [J]. Pharmacol Ther, 2001, 92(1): 1–20.
- [12] Littler CM, Wehling CA, Wick MJ, et al. Divergent contractile and structural responses of the murine PKC-epsilon null pulmonary circulation to chronic hypoxia [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 289(6): L1083–L1093.
- [13] Barnett ME, Madgwick DK, Takemoto DJ. Protein kinase C as a stress sensor [J]. Cell Signal, 2007, 19(9): 1820–1829.
- [14] Kurkinen K, Bustos R, Goldsteins G, et al. Isoform-specific membrane translocation of protein kinase C after ischemic preconditioning [J]. Neurochem Res, 2001, 26(10): 1139–1144.
- [15] Liao DF, Monia B, Dean N, et al. Protein kinase C-zeta mediates angiotensin II activation of ERK1/2 in vascular smooth muscle cells [J]. J Biol Chem, 1997, 272(10): 6146–6150.
- [16] Das M, Stenmark KR, Ruff LJ, et al. Selected isozymes of PKC contribute to augmented growth of fetal and neonatal bovine PA adventitial fibroblasts [J]. Am J Physiol, 1997, 273 (6 Pt 1): L1276–L1284.
- [17] Hayashida K, Fujita J, Miyake Y, et al. Bone marrow-derived cells contribute to pulmonary vascular remodeling in hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. Chest, 2005, 127(5): 1793–1798.
- [18] Chakravarthy BR, Wang J, Tremblay R, et al. Comparison of the changes in protein kinase C induced by glutamate in primary cortical neurons and by *in vivo* cerebral ischaemia [J]. Cell Signal, 1998, 10(4): 291–295.
- [19] Weissmann N, Voswinckel R, Hardebusch T, et al. Evidence for a role of protein kinase C in hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. Am J Physiol, 1999, 276(1 Pt 1): L90–L95.
- [20] Robertson TP, Aaronson PI, Ward JP. Hypoxic vasoconstriction and intracellular Ca^{2+} in pulmonary arteries: evidence for PKC-independent Ca^{2+} sensitization [J]. Am J Physiol, 1995, 268(1 Pt 2): H301–H307.

〔修回日期〕2012-08-25