

小蚕人工饲料育对蚕卵生理生化及蚕生长发育的影响

王叶元, 霍永康, 陈业林, 毛立明, 徐秋云

(华南农业大学动物科学学院, 广东广州 510642)

摘要: 以家蚕原种为研究材料, 探讨小蚕用人工饲料育及继代中, 蚕生长发育、蚕卵蛋白质质量分数及SOD和CAT活力的变化情况。结果表明: (1)932和芙蓉经过3代的选择, 疏毛率分别从14.6%和9.4%提高到52.4%和53.8%, 存活率从20.5%、19.2%提高到38.2%、32.0%; 而湘晖、7532选择效果不明显。(2)人工饲料育的湘晖和7532的卵蛋白质质量分数都比桑叶育低; 而932和芙蓉三代的卵蛋白质质量分数分别保持在52.50~55.00和41.50~52.50 mg/g, 与桑叶育基本保持不变。(3)蚕卵的SOD和CAT的活力与蚕品种和饲料有关, 人工饲料育蚕卵的SOD和CAT活力比桑叶育高。

关键词: 家蚕; 人工饲料; 蛋白质; 酶

中图分类号: S883.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-411X(2006)02-0104-04

Effect of Artificial Diet for Young Silkworm Rearing on the Physiology
and Biochemistry of Eggs and the Growth and Development of Silkworms

WANG Ye-yuan, HUO Yong-kang, CHEN Ye-lin, MAO Li-ming, XU Qiu-yun

(College of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Using the silkworm parent species as material, young silkworm rearing on artificial diet and their descendants were fed with the same diet. The growth and development of silkworms, mass fraction of the protein of the eggs, the activities of CAT and SOD of eggs, were measured, respectively. The results showed that: (1) 932 and Furong were selected through three generations, and their semi dispersion rates increased from 14.6% and 9.4% to 52.4% and 53.8%, respectively, and the survival rates increased from 20.5%, 19.2% to 38.2%, 32.0%, respectively. But the selection effect of Xianghui and 7532 was not changed significantly; (2) Mass fraction of the egg protein of Xianghui and 7532 fed by diet was lower than those fed with mulberry leaves. While the mass fraction of egg protein of third generations of 932 and Furong were maintained 52.50-55.00 and 41.50-52.50 rag/g, respectively, which were consistent with those fed with mulberry leaves; (3) The activities of CAT and SOD of different eggs were related to the varieties and diets. The activities of CAT and SOD of eggs from four varieties fed by diet were higher than those fed with mulberry leaves.

Key words: silkworm; artificial diet; protein; enzyme

家蚕是以桑叶为主饲料的寡食性昆虫, 蚕造的安全受气候、叶质、病虫害及农业治虫等的影响。而人工饲料育蚕与桑叶育相比具有很大的优越性。日本在20世纪70年代用人工饲料育蚕已进入实用化推广普及阶段^[1], 人工饲料育蚕在我国的研究已有

30多年的历史, 目前华东等地相继研究低成本的人工饲料和一批对人工饲料适应性较强的品种, 也取得了一定的养蚕效果^[2-5], 但离人工饲料养蚕实用化还有很多问题需要解决, 如发育不齐、饲料品质不稳定、经济性状较差等问题, 其中关键问题之一是现行

收稿日期: 2005-09-15

作者简介: 王叶元(1969-), 女, 讲师, 博士研究生, E-mail: yyw@scau.edu.cn

基金项目: 科技部农业科技成果转化资金项目(04EFN214400226); 华南农业大学校长基金(5400-K2600)

品种对人工饲料的适应性差. 尽管日本和我国华东地区在有关人工饲料育方面的研究较为深入, 但因气候、桑蚕品种、饲养技术等方面的差异, 日本或我国华东地区适宜人工饲料育的品种在广东不一定能发挥其优良性状. 本研究在华南地区条件下, 通过小蚕人工饲料育及继代后, 对蚕生长发育情况、蚕卵蛋白质质量分数及 SOD 和 CAT 活性变化的测定, 希望通过几代的选择, 提高其后代对人工饲料的适应性, 以期探讨小蚕人工饲料育对蚕卵生理生化变化的有关机理, 为开展人工饲料育蚕的研究提供理论指导.

1 材料与方法

1.1 供试蚕品种

中系品种 932、芙蓉; 日系品种湘晖、7532.

1.2 人工饲料的制备

基本配方: $w(\text{桑叶粉}) = 36\%$ 、 $w(\text{大豆粉}) = 35\%$ 、 $w(\text{玉米粉}) = 16\%$ 、 $w(\text{蔗糖}) = 6\%$ 、 $w(\text{无机盐混合物}) = 2\%$ 、 $w(\text{柠檬酸}) = 2.5\%$ 、 $w(\text{抗坏血酸}) = 1.0\%$ 、 $w(\text{没食子酸}) = 0.5\%$ 、 $w(\text{防腐剂}) = 0.25\%$ 、 $w(\text{微生物B族混合物}) = 0.3\%$ 、 $w(\text{氯霉素}) = 0.2\%$ 、 $w(\text{氯化胆碱}) = 0.15\%$ 、 $w(\text{胆固醇}) = 0.1\%$ 、水 220 mL. 将各种饲料原料混匀, 制成平板状, 灭菌消毒, 待用.

1.3 试验区的设置

用同一配方的人工饲料育 4 个不同蚕品种, 以桑叶育为对照, 每个品种作为一个处理, 每个处理 3 个重复, 每个重复 0.2 g 蚁量. 1~2 龄用人工饲料育, 3 龄转到桑叶育.

1.4 小蚕人工饲料育蚕品种的继代培养

待各品种的蚕结茧化蛾后, 将同一品种的雌蛾与雄蛾交配, 制种后按目的要求将蚕卵冷藏保存. 蚕

卵孵化后 1~2 龄继续用人工饲料育.

1.5 蚕卵蛋白质质量分数测定

取催青第 5 d 的蚕卵, 每样 6 个重复, 蚕卵按 1:5 体积加入磷酸缓冲液 (pH7.2) 研磨, 6 000 r/min、4 ℃ 离心 20 min, 上清液作为可溶性蛋白质溶液. 用考马斯亮蓝 G-250 法^[6]测定蛋白质质量分数.

1.6 蚕卵 SOD、CAT 活性测定

参照李金玉^[7]方法, 取催青期第 5 d 的蚕卵, 每样 6 个重复, 取蚕卵 0.5 g, 加入 2.5 mL、pH 6.8、0.05 mol/L 磷酸缓冲液在冰浴中研磨, 研磨液经 10 000 r/min、4 ℃ 离心 20 min, 取上清液作为酶液.

参照文献^[7]方法, 测定 SOD 活性; 参照文献^[7-8]方法, 测定 CAT 活性.

2 结果

2.1 小蚕人工饲料育继代选择效果

从表 1 可知, 4 个品种经过 3 代小蚕人工饲料育选择, 不同品种间的摄食性存在差异, 而在同一品种中, 不同个体对人工饲料的摄食性差异明显. 932 和芙蓉的疏毛率、存活率随着继代的增加, 均有显著提高, 第三代的疏毛率分别比第一代约提高 3.6 和 5.7 倍, 存活率分别约提高 1.9 和 1.6 倍. 而湘晖、7532 的继代选择效果不明显, 对该饲料的适应性差. 故认为某些中系品种可以通过后代个体选择, 可提高其对人工饲料的适应性. 从本试验结果看, 通过后代个体选择, 对 932、芙蓉 2 个蚕品种收到了初步的效果. 说明通过小蚕人工饲料育的后代个体选择对提高饲育成绩有一定的效果.

2.2 蚕卵蛋白质质量分数的比较

表 2 结果表明, 不同品种、饲料的蛋白质质量分数有差异, 小蚕人工饲料育的湘晖和 7532 的卵蛋白

表 1 小蚕人工饲料育的继代选择效果¹⁾

Tab. 1 The descended selection effect of artificial diet feeding on the young silkworm %

饲养型式 rearing mode	疏毛率 the setal dispersion rate				存活率 the survival rate			
	湘晖 Xianghui	932	7532	芙蓉 Furong	湘晖 Xianghui	932	7532	芙蓉 Furong
小蚕人工饲料育第一代	45.7	14.6	16.1	9.4	22.3	20.5	6.3	19.2
F ₁ young silkworm	±1.4 a	±0.5c	±1.1b	±0.5c	±1.3a	±1.7c	±1.8a	±0.8c
rearing on artificial diet								
小蚕人工饲料育第二代	37.1	43.8	31.8	39.5	19.0	29.7	5.7	27.7
F ₂ young silkworm	±1.3 b	±3.7b	±4.2a	±2.9b	±1.5b	±0.9b	±1.2a	±1.5b
rearing on artificial diet								
小蚕人工饲料育第三代	33.2	52.4	0	53.8	5.3	38.2	0	32.0
F ₃ young silkworm	±1.2 c	±2.9a		±6.1a	±2.9c	±1.3a		±1.2a
rearing on artificial diet								

1) 标准蚁量为 2 016 头/g; 同列数据后字母相同表示在 5% 水平差异不显著 (DMRT 法); 数据为 0 表示在发育后期死亡或产不受精卵, 没能继代.

质量分数,比桑叶育低;相反,小蚕人工饲料育的932和芙蓉经过后代的个体选择,其蛋白质质量分数基本保持不变或有所提高.蚕卵蛋白质质量分数的

测定结果,和实际饲养中的摄食性、存活率变化是基本相吻合.

表2 全龄桑叶育与小蚕人工饲料育蚕卵蛋白质质量分数的测定结果¹⁾

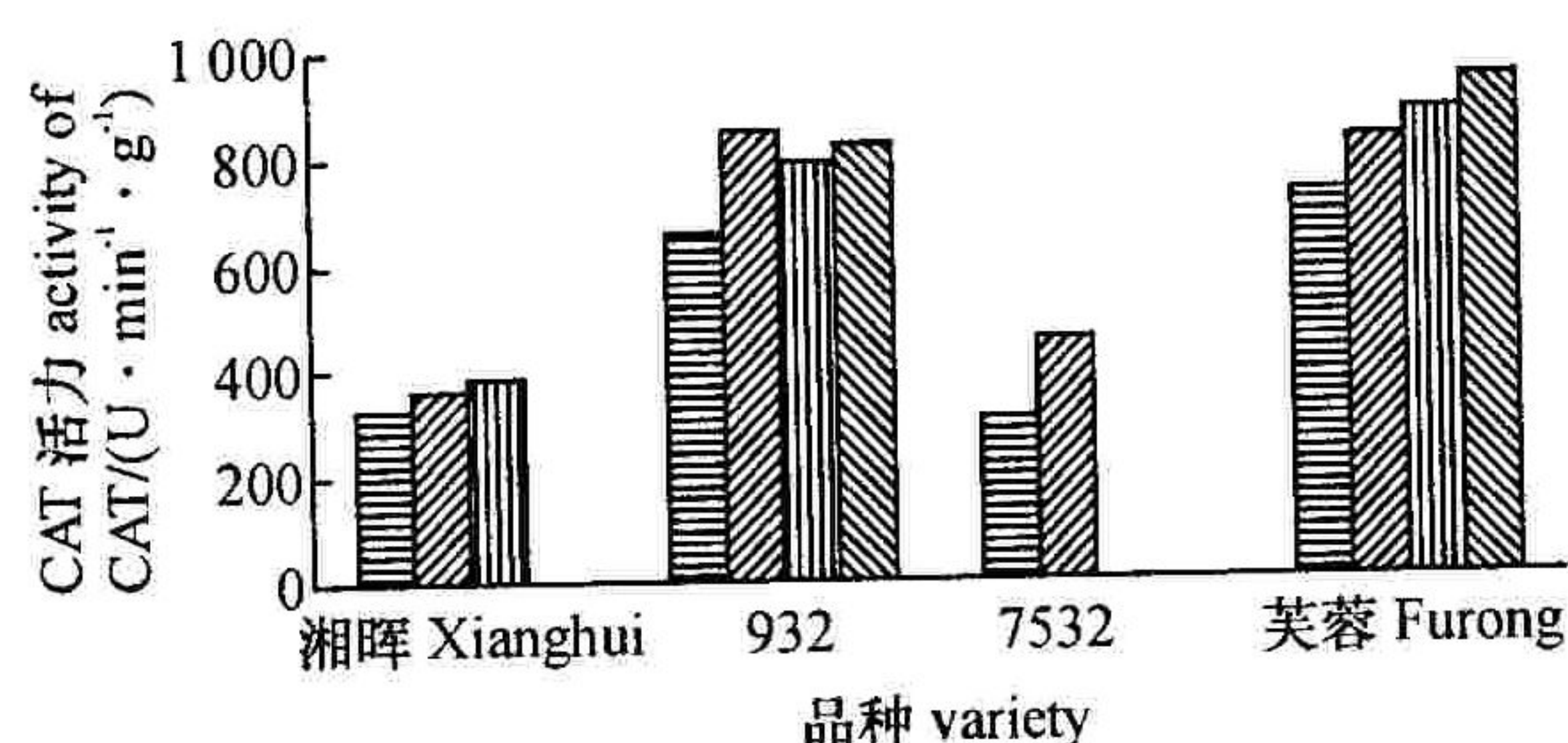
Tab.2 Mass fraction of protein of eggs produced by young silkworm rearing on artificial diet or mulberry mg/g

饲养型式 rearing mode	湘晖 Xianghui	932	7532	芙蓉 Furong
桑叶育 feeding on mulberry	43.00 ± 0.38a	53.45 ± 0.46a	37.00 ± 0.80a	44.75 ± 0.91bc
小蚕人工饲料育第一代	36.53 ± 0.60b	53.00 ± 0.57a	34.00 ± 0.69b	41.50 ± 0.74c
F ₁ young silkworm rearing on artificial diet				
小蚕人工饲料育第二代	31.50 ± 0.39c	52.50 ± 0.87a	0	50.50 ± 0.57a
F ₂ young silkworm rearing on artificial diet				
小蚕人工饲料育第三代	0	55.00 ± 0.59a	0	52.50 ± 0.59a
F ₃ young silkworm rearing on artificial diet				

1) 标准卵量为1630粒/g; 同列数据后字母相同表示在5%水平差异不显著(DMRT法); 数据为0表示在发育后期死亡或产不受精卵, 没能继代

2.3 蚕卵SOD、CAT活力的测定结果

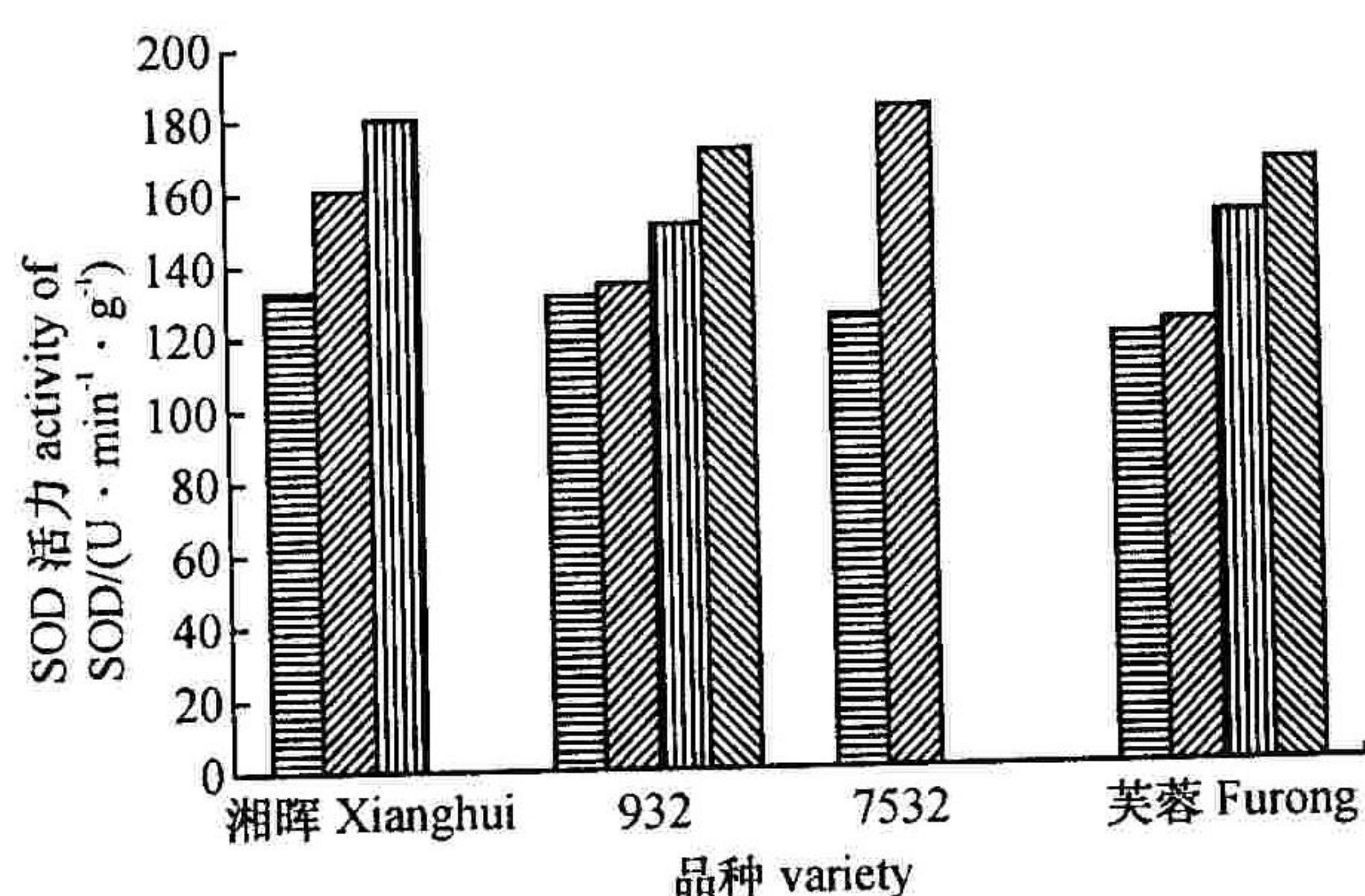
图1、2的结果表明,不同品种蚕卵的SOD、CAT



■ 桑叶育 feed on mulberry
▨ 小蚕人工饲料育第一代 F₁ young silkworm rearing on artificial diet
▩ 小蚕人工饲料育第二代 F₂ young silkworm rearing on artificial diet
▪ 小蚕人工饲料育第三代 F₃ young silkworm rearing on artificial diet

图1 全龄桑叶育与小蚕人工饲料育CAT活力比较

Fig.1 Comparison of the activity of CAT between the mulberry leaves and young silkworm rearing on artificial diet



■ 桑叶育 feed on mulberry
▨ 小蚕人工饲料育第一代 F₁ young silkworm rearing on artificial diet
▩ 小蚕人工饲料育第二代 F₂ young silkworm rearing on artificial diet
▪ 小蚕人工饲料育第三代 F₃ young silkworm rearing on artificial diet

图2 全龄桑叶育与小蚕人工饲料育SOD活力比较

Fig.2 Comparison of the activity of SOD between the mulberry leaves and young silkworm rearing on artificial diet

的活力不同,其中桑叶育932和芙蓉的CAT活力分别比湘晖高2.02、2.23倍,比7532高2.15、2.38倍.同一品种不同饲料育的SOD、CAT的活力也不同,人工饲料育蚕卵的SOD、CAT活力比桑叶育的高,932的SOD活力随继代增加依次比桑叶育高1.03、1.15、1.31倍,芙蓉依次比桑叶育高1.03、1.29、1.41倍.而且,通过用小蚕人工饲料育后代选择,同一品种的SOD活力有上升的趋势.推测SOD、CAT活力的差异可能由于家蚕是以桑叶为主食的寡食性昆虫,当改用小蚕人工饲料育时,食物发生改变,蚕卵内机体的分解代谢速度不同,因而代谢过程产生的有害超氧自由基的量不同,机体为维持自身的正常生理状况,促使酶活力加强,与蚕的抗逆性变化有关.

3 讨论与结论

蚕卵蛋白质质量分数的测定结果,与蚕对人工饲料的摄食性有关,小蚕人工饲料育蚕卵蛋白质质量分数比桑叶育低,则在小蚕人工饲料育继代饲养中,其疏毛率和存活率降低,甚至死亡;而蛋白质质量分数保持不变或有所提高,则存活率提高,存活的个体对人工饲料的适应能力强.蚕卵蛋白质质量分数可能是蚕卵对人工饲料适应性强弱的指标之一.推测不同饲料蛋白质质量分数的差异,造成不同品种间经济性状的差异,从而产生了继代中品种间的摄食性、存活率及茧丝质的差异,这种差异由品种本身的特点所决定.另外,品种间摄食性、存活率及茧丝质的差异还受到气候条件、饲料营养条件的影响.

大量的研究表明^[9-10],生物在逆境条件下,存在着保护酶体系,它们与生物的自我保护、抵御外界侵害具有密切联系,家蚕体内也存在着SOD、CAT等保

护酶系. SOD 具有清除有害活性氧自由基的能力, 在维持昆虫体内超氧化阴离子自由基产生与清除的动态平衡中起着重要作用. CAT 等能将昆虫体内 SOD 催化 O_2^- 产生的毒性 H_2O_2 清除掉. 吴小锋^[11-12]的研究发现 5 龄家蚕血液 SOD、CAT 活性桑叶育比人工饲料育的低. 有关家蚕 CAT 的研究, 曾有一些的报道, 胡家恕^[13-14]认为 CAT 活力可以作为家蚕抗逆性的指标之一, 即 CAT 活力高, 抗逆性强; 并随蚕体的生理生化代谢而升高或减弱. 黄燊^[15]认为酶的活力与经济性状呈正相关. 从本试验可见, 932 与芙蓉的 CAT 活力比湘晖和 7532 高得多, 它们的抗逆性强, 随着小蚕人工饲料育继代选择, 其对人工饲料的适应性亦强, 故继代选择的效果好. 本研究测定了小蚕人工饲料育三代蚕卵中 SOD、CAT 的活力, 发现其都比桑叶育的高. 这一结果可能与家蚕食物条件发生改变有关. 家蚕几千年来一直是以桑叶为主食的寡食性昆虫, 当改用人工饲料育时, 食物还不能完全满足其口味, 就好比处于逆境. 家蚕机体为了维持自身的正常生理状况, 启动 SOD、CAT 等保护酶系统, 使酶的活性升高. 蚕卵合成的营养物质主要来自大蚕期所取食的饲料, 为何小蚕用人工饲料育及其继代中表现 SOD、CAT 活性比桑叶育增加的趋势, 采用小蚕人工饲料育与蚕卵内酶活性的变化机理有待进一步的研究. 至于 SOD 活性与蚕体的抗性关系, 还不能以活性高低作为判断, 尚待进一步研究.

参考文献:

- [1] 伊藤智夫. 人工飼料育用蚕品種の育成[J]. 蚕糸科学と技術, 1985, 24 (9): 52-54.
- [2] 繆云根, 徐俊良, 洪国延, 等. 桑蚕人工饲料配方的改进研究[J]. 浙江农业大学学报, 1996, 22(5): 511-514.
- [3] 程安玮, 崔为正. 家蚕对颗粒人工饲料的摄食性及若干物质添加效果的研究[J]. 蚕业科学, 2002, 28(2): 134-137.
- [4] 张国政, 邵宁文, 杨仁政, 等. 家蚕原种人工饲料适应性及稚蚕饲料实用化研究[J]. 蚕业科学, 1994, 20(2): 80-85.
- [5] 张亚平, 姜齐年, 李化秀. 家蚕低成本稚蚕人工饲料对比试验[J]. 江苏蚕业, 2003(1): 14-16.
- [6] 赵亚华, 高向阳. 生物化学实验技术教程[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 40-42.
- [7] 李金玉, 林健荣, 廖富蘋, 等. 催青温湿度与家蚕胚胎发育中抗氧化酶活力的关系[J]. 湖北农业科学, 2003(1): 62-63.
- [8] GAIINNOPLITIS C N, RISE S K. Superoxide dimutase: occurrence in higher plant[J]. Plant Physio, 1977, 59: 399-414.
- [9] FRIDOVICH I. Free radical in biology[M]. New York: Academic Press, 1976: 239.
- [10] FRIDOVICH I. Oxygen is toxic[J]. Bioscience, 1977, 27(7): 462.
- [11] 吴小锋, 徐俊良, 崔为正. 家蚕血液超氧化物歧化酶活力及其影响因素[J]. 蚕业科学, 1997, 23(1): 38-41.
- [12] 吴小锋, 徐俊良, 崔为正. 家蚕血液过氧化氢酶活力及其与蚕体抗逆性的关系[J]. 昆虫学报, 1998, 41(2): 124-129.
- [13] 胡家恕, 张耀洲. 家蚕血液中超氧化物歧化酶的研究[J]. 浙江农业大学学报, 1996, 22(4): 338-340.
- [14] 胡家恕, 王毓琴. 家蚕血液中 H_2O_2 活性的性别差异及其与抗逆性的关系[J]. 蚕桑通报, 1991, 22(3): 43-44.
- [15] 黄燊, 俞小华. 桑蚕血液中某些酶与经济性状相关性的测定[J]. 蚕桑通报, 1986, 17(2): 24-26.

【责任编辑 柴 焰】