

网络出版时间:2013-11-21 17:30

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20131121.1730.022.html>

大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼、幼鱼蛋白酶和淀粉酶活力的影响

吴莉芳, 赖红娥, 杨 姘, 邢秀苹, 王洪鹤, 张东鸣, 秦贵信

(吉林农业大学 动物科技学院, 吉林 长春 130118)

【摘 要】 【目的】研究大豆抗原蛋白大豆球蛋白(Glycinin)对鲤稚鱼、幼鱼蛋白酶和淀粉酶活力的影响。【方法】以鱼粉为动物蛋白源,混合油脂(m (玉米油): m (鱼油)=1:1)为脂肪源,糊精、面粉为糖源,分别配制大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量为 0(CK),30,60,90,120 g/kg 的 5 种等氮(稚鱼、幼鱼饲料粗蛋白分别为 400 和 360 g/kg)等能(稚鱼、幼鱼饲料总能分别是 16.9 和 15.2 MJ/kg)的试验饲料。分别以初始体质量为(10.12 ± 0.08) g/尾的鲤稚鱼和(116.89 ± 0.13) g/尾的鲤幼鱼为试验对象,在控温单循环养殖系统中,进行为期 8 周的饲养试验,每组饲料设 3 个重复,探讨大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼、幼鱼蛋白酶和淀粉酶活力的影响。【结果】在鲤稚鱼和幼鱼的配合饲料中,添加不同比例大豆抗原蛋白 Glycinin,导致其肠道和肝胰脏蛋白酶活力不同程度下降。其中,鲤稚鱼大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量为 30,60,90 和 120 g/kg 组的前肠和后肠蛋白酶活力显著低于对照组($P < 0.05$);而 30 和 60 g/kg 组中肠和肝胰脏蛋白酶活力与对照组差异不显著($P > 0.05$),90 和 120 g/kg 组中肠和肝胰脏蛋白酶活力显著低于对照组($P < 0.05$)。在鲤幼鱼配合饲料中,当大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 30 和 60 g/kg 时,前肠和后肠蛋白酶活力与对照组差异不显著($P > 0.05$),90 和 120 g/kg 组前肠和后肠蛋白酶活力显著低于对照组($P < 0.05$);而 30 g/kg 组中肠蛋白酶活力与对照组差异不显著($P > 0.05$),60,90 和 120 g/kg 组显著低于对照组($P < 0.05$);肝胰脏蛋白酶活力各组之间差异不显著($P > 0.05$)。在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道及肝胰脏淀粉酶活力影响不显著($P > 0.05$)。【结论】在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量为 30 g/kg 时,鲤稚鱼前肠和后肠蛋白酶活力显著下降,添加量为 60 g/kg 时,鲤幼鱼中肠蛋白酶活力显著下降,但大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼淀粉酶活力影响不显著。

【关键词】 鲤;稚鱼;幼鱼;蛋白酶;淀粉酶;大豆球蛋白

【中图分类号】 S965.116.31⁺2

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)12-0030-07

Effects of soybean antigen protein glycinin on activities of protease and amylase in larval and juvenile common carps

WU Li-fang, LAI Hong-e, YANG Hua, XING Xiu-ping, WANG Hong-he,
ZHANG Dong-ming, QIN Gui-xin

(College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China)

Abstract: 【Objective】The research investigated the effects of soybean antigen protein glycinin on activities of protease and amylase in larval and juvenile common carps. 【Method】The feeding trial was carried out on the larval and juvenile common carp with the initial weight (10.12 ± 0.08) g and (116.89 ± 0.13) g for eight weeks at controlled temperature in single recirculating system. Five diets with identical isonitrogenous (total crude protein for larval and juvenile were 400 and 360 g/kg, respectively) and isoener-

【收稿日期】 2013-01-21

【基金项目】 吉林省自然科学基金项目(20101577);吉林省教育厅项目(2012043)

【作者简介】 吴莉芳(1970—),女,吉林农安人,教授,博士,主要从事水产动物营养与饲料研究。

【通信作者】 秦贵信(1956—),男,吉林长春人,教授,博士,博士生导师,主要从事动物营养与饲料研究。

getic (total energy for larval and juvenile were 16.9 and 15.2 MJ/kg, respectively) and different purified soybean antigen protein glycinin (0 (CK), 30, 60, 90, 120 g/kg) were provided. Fish meal was selected as animal protein source, mixed oil (corn oil : fish oil = 1 : 1) was selected as fat source, and dextrin and flour were selected as carbohydrate source. Each group had three repetitions. The effects of soybean antigen protein glycinin on activities of protease and amylase in larval and juvenile common carps were determined. **【Result】** Adding purified soybean antigen protein glycinin decreased the activities of protease and amylase in intestine and hepatopancreas of larval and juvenile common carps with different degrees. The activities of protease in foregut and hindgut of 30, 60, 90, and 120 g/kg groups in the larval common carps were significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$); while in midgut and hepatopancreas of 30 and 60 g/kg groups there were no significant differences compared to that of the control groups ($P > 0.05$), and that of 90 and 120 g/kg groups were significantly lower ($P < 0.05$). The protease activities of the juvenile common carp in 30 and 60 g/kg groups had no significant differences from that of the control groups ($P > 0.05$), but that of 90 and 120 g/kg groups were significantly lower ($P < 0.05$). In midgut of 30 g/kg group no significant differences were observed compared to the control group ($P > 0.05$), while significant decrease was found in 60, 90, and 120 g/kg groups ($P < 0.05$). No significant differences in activities of protease in hepatopancreas were obtained between all groups ($P > 0.05$). In addition, no significant effects of soybean antigen protein glycinin on activities of amylase in tract and hepatopancreas of the larval and juvenile common carp were observed ($P > 0.05$). **【Conclusion】** The activities of protease in foregut and hindgut of larval common carps were significantly decreased when 30 g/kg purified soybean antigen protein glycinin was added, while the activities in midgut of juvenile common carps were significantly decreased when the ratio was 60 g/kg. No significant effects on activities of amylase in tract and hepatopancreas of the larval and juvenile common carps were observed.

Key words: *Cyprinus carpio*; larval common carp; juvenile common carp; protease; amylase; glycinin

我国水产饲料工业最严峻的挑战是长期缺乏鱼粉等优质饲料蛋白源,因此寻求优质的蛋白源替代鱼粉是水产饲料领域研究的热点。大豆蛋白作为鱼粉的替代蛋白源在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[1]、大西洋鲑(*Salmo salar* L.)^[2]、金头鲷(*Sparus aurata* L.)^[3]、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[4]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[5]、齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)^[6]、杂交罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)^[7]、埃及胡子鲇(*Clarias lazera*)^[8]、石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[9]等鱼类上进行了较多的研究。这些研究发现,过量的大豆蛋白替代鱼粉,不仅会影响鱼类的生长及饲料利用率,而且会影响鱼类的肠道组织结构及肠上皮细胞增生,其最主要原因是大豆蛋白中含有多种抗营养因子(Antinutritional factors, ANF),其中,大豆抗原蛋白是大豆中主要抗营养因子之一。大豆抗原蛋白中的大豆球蛋白(Glycinin)是免疫原性较强的大豆抗原蛋白。大豆抗原蛋白能引起鱼类消化道过敏反应,造成胃、肠道的免疫损伤,进而引起消化吸收障碍,甚至死亡。目前,在大豆抗原蛋白方面,大多

数研究主要集中在犍牛^[10]、仔猪^[11]、羔羊^[12]、鼠^[13]等陆生动物上,而对水产动物研究报道较少,郭林英^[14]研究了大豆β-伴球蛋白提取物对鲤鱼肠上皮细胞增殖及其功能的影响。鲤鱼是我国目前主要养殖的淡水经济鱼类之一,关于鲤鱼消化酶方面已有较多报道,但关于大豆抗原蛋白 Glycinin 对不同发育时期鲤鱼消化酶活力的影响尚未见系统报道。为此,本研究分别以鲤稚鱼和幼鱼为试验对象,将分离纯化的大豆抗原蛋白 Glycinin 以不同比例添加在其配合饲料中,探讨大豆抗原蛋白 Glycinin 对不同发育时期鲤鱼消化酶活力的影响,旨在为合理开发利用大豆蛋白源及大豆抗原蛋白的去除提供依据。

1 材料与方法

1.1 大豆抗原蛋白 Glycinin 的分离纯化

本试验在鲤稚鱼和幼鱼配合饲料中添加的大豆抗原蛋白 Glycinin 是在实验室采用简化膜中间试验方法^[15]获得。该法较好地去除了其他大豆抗原蛋白的干扰,制备的 Glycinin 的纯度达到 85% 以上。

1.2 饲料的制备

以鱼粉为动物蛋白源,混合油脂(m (玉米油): m (鱼油)=1:1)为脂肪源,糊精、面粉作为饲料糖源,分别配制成Ⅰ(CK)、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ5种等氮(鲤稚鱼和幼鱼饲料粗蛋白分别为400和360 g/kg)等能(鲤稚鱼和幼鱼饲料总能分别为16.9和15.2

MJ/kg)的试验饲料,其大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量分别为0(CK),30,60,90,120 g/kg。各原料经粉碎过孔径0.246 mm的筛,按配方准确称其质量,用电动绞肉机制成粒径1.5 mm和2.5 mm的颗粒饲料,晒干后置于-20℃冰箱中保存备用。试验饲料组成及营养成分见表1和表2。

表 1 鲤稚鱼饲料配方及营养水平(风干基础)

成分 Ingredients	饲料 Diet				
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
糊精/(g·kg ⁻¹) Dextrin	138.6	148.5	158.4	159.8	166.7
鱼粉/(g·kg ⁻¹) Fish meal	620.0	580.0	530.0	495.0	450.0
玉米油/(g·kg ⁻¹) Corn oil	27.5	22.5	22.5	23.5	24.0
鱼油/(g·kg ⁻¹) Fish oil	27.5	22.5	22.5	23.5	24.0
氯化胆碱/(g·kg ⁻¹) Choline chlorde	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
预混料/(g·kg ⁻¹) Premix	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
微晶纤维素/(g·kg ⁻¹) Microcrystalline cellulose micro-crystalline	27.8	28.0	28.2	28.4	28.6
面粉/(g·kg ⁻¹) Flour	138.6	148.5	158.4	159.8	166.7
聚粘保/(g·kg ⁻¹) Poly sticky	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Glycinin/(g·kg ⁻¹)	—	30.0	60.0	90.0	120.0
营养组成 Nutrient content					
粗脂肪/(g·kg ⁻¹) Crude lipid	90.0	90.0	90.1	90.0	89.9
粗蛋白/(g·kg ⁻¹) Crude protein	399.9	400.0	401.0	400.0	400.1
粗纤维/(g·kg ⁻¹) Crude fiber	28.1	28.0	28.0	28.0	28.0
粗灰分/(g·kg ⁻¹) Ash	43.7	47.6	43.8	43.7	48.0
总能/(MJ·kg ⁻¹)Gross energy	16.9	16.9	16.9	16.9	16.9

表 2 鲤幼鱼饲料配方及营养水平(风干基础)

成分 Ingredients	饲料 Diet				
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
糊精/(g·kg ⁻¹) Dextrin	197.5	186.0	187.0	191.0	197.0
鱼粉/(g·kg ⁻¹) Fish meal	510.0	510.0	475.0	434.0	390.0
玉米油/(g·kg ⁻¹) Corn oil	14.0	10.5	11.5	13.0	14.0
鱼油/(g·kg ⁻¹) Fish oil	14.0	10.5	11.5	13.0	14.0
氯化胆碱/(g·kg ⁻¹) Choline chlorde	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
预混料/(g·kg ⁻¹) Premix	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
微晶纤维素/(g·kg ⁻¹) Microcrystalline cellulose micro-crystalline	47.0	47.0	48.0	48.0	48.0
面粉/(g·kg ⁻¹) Flour	197.5	186.0	187.0	191.0	197.0
聚粘保/(g·kg ⁻¹)Poly sticky	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Glycinin/(g·kg ⁻¹)	—	30.0	60.0	90.0	120.0
营养组成 Nutrient content					
粗脂肪/(g·kg ⁻¹) Crude lipid	50.2	50.1	50.3	50.3	50.2
粗蛋白/(g·kg ⁻¹) Crude protein	360.0	359.9	360.3	360.1	360.2
粗纤维/(g·kg ⁻¹) Crude fiber	44.9	45.0	45.6	45.4	45.2
粗灰分/(g·kg ⁻¹) Ash	58.1	58.1	54.2	49.4	44.6
总能/(MJ·kg ⁻¹)Gross energy	15.2	15.2	15.3	15.2	15.3

1.3 试验鱼及饲养管理

本次养殖试验在吉林农业大学动物室控温单循环养殖系统中进行,试验前预饲15 d,期间饱食投喂对照组饲料。预饲试验结束后,挑选规格整齐、鳍鳞完整、体质健壮、无畸形,体质量(10.12±0.08)

g/尾的鲤稚鱼450尾及体质量(116.89±0.13)g/尾的鲤幼鱼300尾,分别随机放养在15个水族箱中(鲤稚鱼每箱30尾,鲤幼鱼每箱20尾)。放养前鱼体用20 mg/L的高锰酸钾水溶液药浴10 min,随机安排每3个水族箱为一个试验组。每天投饵2次

(上午 09:00,下午 16:00),投饵方式为人工手撒,日投饵率为体质量的 3%~5%,每天记录各水族箱摄食饲料质量。在整个试验过程中,水质保持稳定,水温 24~26 ℃,溶解氧 5.0~8.0 mg/L,氨氮指标小于 0.3 mg/L。养殖试验持续 8 周。

1.4 样品的采集与测定

1.4.1 样品的采集与处理 饲养试验结束前停食 24 h 后,每缸活体解剖 10 尾鱼,取出肝胰脏和其他内脏,称其质量(精确到 0.01 g)。取出肠道和肝胰脏,剔除附着物,用去离子水冲洗肠道内容物,滤纸吸干,-20 ℃ 冰箱保存待测。肠道从第一个回折点以前为前肠,最后一个回折点以后为后肠,其间为中肠。

1.4.2 粗酶液的制备 称样品质量,加入 10 倍体积的高纯水匀浆,在 4 ℃ 冰箱中静置过夜,5 000 r/min 离心 10 min,取上清液即为粗酶液,4 ℃ 冰箱保存、待测。粗酶液需在 24 h 内测定完毕。

1.4.3 消化酶活力的测定 1)蛋白酶活力。采用福林-酚试剂法(Folin-phenol)测定。1 个蛋白酶的比活力单位定义为:在 pH 7.0,底物酪蛋白质量浓度为 20 mg/mL,37 ℃ 条件下,保温 10 min,每 mg 酶蛋白每 min 产生 1 μg 酪氨酸的酶量。

2)淀粉酶活力。采用淀粉酶试剂盒(南京建成

科技有限公司)测定。1 个淀粉酶的比活力单位定义为:在 pH 7.0 和 37 ℃ 条件下保温 30 min,每 mg 酶蛋白能完全水解 10 mg 淀粉时的淀粉酶量。

1.5 数据统计分析

采用 SPSS(17.5)软件对所有指标进行方差分析,若方差分析显著,进一步进行 LSD 和 Duncan’s 多重比较,分析组间差异显著性。显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。试验数据用“平均值 ± 标准差 (Mean ± SD)”表示。

2 结果与分析

2.1 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼蛋白酶活力的影响

从表 3 可以看出,在本试验条件下,随着大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量的增加,鲤稚鱼前肠、中肠、后肠及肝胰脏蛋白酶活力均呈下降趋势。其中,大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量为 30,60,90 和 120 g/kg 组的前肠和后肠蛋白酶活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$);而 30 和 60 g/kg 组中肠和肝胰脏蛋白酶活力与对照组差异不显著 ($P > 0.05$),90 和 120 g/kg 组中肠和肝胰脏蛋白酶活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$)。

表 3 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼蛋白酶活力的影响

Table 3 Effects of soybean antigen protein glycinin on activities of protease in larval common carps U/mg				
大豆抗原蛋白 Glycinin 的 添加量/(g · kg ⁻¹) Supplementation of soybean antigen glycinin	前肠 Fore intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Hind intestine	肝胰脏 Hepatopancrea
0(CK)	23.40±0.07 b	20.20±0.58 b	19.05±0.91 c	23.16±0.14 b
30	21.63±1.26 a	18.93±0.64 ab	17.51±0.83 b	22.98±0.14 b
60	21.43±1.02 a	18.84±1.10 ab	17.35±0.95 ab	22.58±0.39 b
90	21.17±0.57 a	18.25±0.80 a	16.47±0.52 ab	21.53±0.94 a
120	20.44±0.10 a	17.60±0.07 a	15.89±0.72 a	21.45±0.67 a

表 4 表明,在鲤幼鱼配合饲料中,当大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 30 和 60 g/kg 时,前肠和后肠蛋白酶活力与对照组差异均不显著 ($P > 0.05$),当其添加量为 90 和 120 g/kg 时,前肠和后肠蛋白酶活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$);30 g/kg 组

中肠蛋白酶活力与对照组差异不显著 ($P > 0.05$),60,90 和 120 g/kg 组中肠蛋白酶活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$);肝胰脏蛋白酶活力各组之间差异均不显著 ($P > 0.05$)。

表 4 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤幼鱼蛋白酶活力的影响

Table 4 Effects of soybean antigen protein glycinin on activities of protease in juvenile common carps U/mg				
大豆抗原蛋白 Glycinin 的 添加量/(g · kg ⁻¹) Supplementation of soybean antigen glycinin	前肠 Fore intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Hind intestine	肝胰脏 Hepatopancrea
0(CK)	22.96±0.10 c	22.67±0.07 c	17.71±1.15 b	22.49±1.26 a
30	22.29±0.66 c	22.17±0.71 c	17.20±1.04 ab	22.44±0.34 a
60	22.10±0.52 c	20.05±0.17 b	16.38±0.48 ab	22.40±0.60 a
90	21.13±0.07 a	19.94±0.15 b	16.17±0.04 a	21.22±0.74 a
120	19.35±0.17 a	18.95±0.11 a	15.96±0.10 a	20.78±1.21 a

2.2 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼淀粉酶活力的影响

由表 5 可知,在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 0,30,60,90,120 g/kg 时,对鲤稚鱼前肠、中肠、后肠和肝胰脏淀粉酶活力影响均

不显著($P>0.05$)。表 6 表明,在鲤幼鱼配合饲料中,当大豆抗原蛋白 Glycinin 含量为 0,30,60,90,120 g/kg 时,鲤幼鱼前肠、中肠、后肠和肝胰脏淀粉酶活力差异均不显著($P>0.05$)。

表 5 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼淀粉酶活力的影响

Table 5 Effects of soybean antigen protein glycinin on activities of amylase in larval common carps U/mg				
大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量/(g·kg ⁻¹) Supplementation of soybean antigen glycinin	前肠 Fore intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Hind intestine	肝胰脏 Hepatopancrea
0(CK)	0.38±0.01 a	0.40±0.01 a	0.45±0.01 a	0.52±0.01 a
30	0.38±0.01 a	0.40±0.01 a	0.45±0.01 a	0.52±0.01 a
60	0.37±0.02 a	0.39±0.01 a	0.44±0.01 a	0.53±0.02 a
90	0.37±0.01 a	0.39±0.01 a	0.43±0.01 a	0.51±0.01 a
120	0.36±0.02 a	0.39±0.01 a	0.42±0.01 a	0.53±0.02 a

表 6 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤幼鱼淀粉酶活力的影响

Table 6 Effects of soybean antigen protein glycinin on activities of amylase in juvenile common carps U/mg				
大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量/(g·kg ⁻¹) Supplementation of soybean antigen glycinin	前肠 Fore intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Hind intestine	肝胰脏 Hepatopancrea
0(CK)	0.38±0.02 a	0.46±0.01 a	0.46±0.01 a	0.47±0.01 a
30	0.37±0.01 a	0.46±0.01 a	0.46±0.01 a	0.46±0.01 a
60	0.37±0.01 a	0.45±0.01 a	0.45±0.01 a	0.46±0.01 a
90	0.37±0.01 a	0.45±0.01 a	0.45±0.01 a	0.45±0.03 a
120	0.36±0.01 a	0.45±0.01 a	0.44±0.01 a	0.44±0.03 a

3 讨 论

3.1 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼蛋白酶活力的影响

鱼类消化酶活性的高低,直接关系到鱼类对营养物质的吸收和利用,从而影响鱼类的生长和发育速度。鱼类的食性与消化器官组织结构和消化机能是相适应的,消化器官组织结构不同,所承担的消化机能不同,因而消化酶的活性也有明显差异。本研究结果表明,随着大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量的增加,鲤稚鱼和幼鱼的前肠、中肠、后肠及肝胰脏蛋白酶活力呈下降趋势,说明大豆抗原蛋白 Glycinin 对不同发育时期鲤鱼蛋白酶活力具有一定的影响。这可能是由于大豆抗原蛋白 Glycinin 损伤鱼类消化道结构,引起蛋白酶活力降低。Krogdahl 等^[16]研究发现,与鱼粉组相比,豆粕能够引起虹鳟中肠和后肠上皮刷状缘胞外酶碱性磷酸酶、亮氨酸氨肽酶以及麦芽糖酶、乳糖酶、蔗糖酶活性下降。本研究发现,大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量不同,鲤稚鱼和幼鱼肠道和肝胰脏蛋白酶活力下降程度不同,对鲤稚鱼而言,大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量为 30,60,90 和 120 g/kg 组的前肠和后肠蛋白酶活力显著低于对

照组($P<0.05$);而在鲤幼鱼配合饲料中,当大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 30 和 60 g/kg 时,前肠和后肠蛋白酶活力与对照组差异不显著($P>0.05$),当其添加量为 90 和 120 g/kg 时,前肠和后肠蛋白酶活力显著低于对照组($P<0.05$)。这主要是由于鲤稚鱼和幼鱼消化道结构发育程度不同,对大豆抗原蛋白 Glycinin 的敏感性不同所致。鲤稚鱼消化器官和免疫器官功能不发达,消化系统发育尚不成熟,消化机能不完善,消化道中酶的分泌量不足,正常的肠道微生态系统尚未建立,使大量未消化的营养物质流入肠道,大豆抗原蛋白也随之大量进入肠道,在获得免疫耐受力之前,经过一段过敏时期,引起肠道的损伤,蛋白酶活力下降。在虹鳟的饲料中添加一定量的大豆蛋白,会引起后肠结构形态变化,并降低刷状缘的酶活性^[17]。吴莉芳等^[18]研究了大豆蛋白对鲤鱼消化酶活力的影响,结果表明,当用去皮豆粕替代鱼粉蛋白 45%时,鲤鱼后肠和肝胰脏的蛋白酶活力显著低于对照组。关于不同添加量的大豆抗原蛋白 Glycinin 引起不同发育时期鲤鱼肠道组织结构的变化,需进一步通过组织学方法进行研究。另外,从不同部位蛋白酶活力来看,鲤稚鱼和幼鱼肠道蛋白酶活力从前肠到后肠逐渐下降,这与

周兴华等^[19]对华鲮(*Sinilabeo rendahli*)、倪寿文等^[20]对鲤鱼、鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙(*Aristichthys nobilis*)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)等的研究结果相一致。鲤鱼肠道蛋白酶活力高于肝胰脏,而以前肠活力最强,这与周兴华等^[19]对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)的研究结果相一致。

3.2 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼淀粉酶活力的影响

鱼类的淀粉酶是碳水化合物水解酶类的一种,活性比较低,本研究结果也证明了这一点。淀粉酶的活性会随着不同消化器官或同一消化器官的不同部位而有所差异,淀粉酶活性也会随着鱼类年龄的增加而发生改变。在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量对鲤稚鱼和幼鱼的前肠、中肠、后肠和肝胰脏淀粉酶活力影响不显著。这主要是由于鱼类的消化酶对食物类型和饲料组成有明显的适应性^[21]。鲤鱼属于杂食性鱼类,在天然的食谱中存在一定量的植物蛋白源,大豆抗原蛋白 Glycinin 属于植物蛋白源。因此,鲤鱼肠道和肝胰脏淀粉酶对大豆抗原蛋白 Glycinin 具有一定的适应性。钱曦等^[22]研究报道,在翘嘴红鲌的饲料中,当用豆粕替代鱼粉蛋白的 13% 和 27% 时,对其肝胰脏和肠道淀粉酶活力影响不显著。吴莉芳等^[23]研究了不同大豆蛋白源(全脂豆粉、去皮豆粕)替代鱼粉对鲤鱼蛋白酶和淀粉酶活力的影响,结果表明,不同大豆蛋白源对鲤鱼淀粉酶活力影响不显著。

〔参考文献〕

- [1] Venold F F, Penn M H, Krogdahl Å, et al. Severity of soybean meal induced distal intestinal inflammation, enterocyte proliferation rate, and fatty acid binding protein (Fabp2) level differ between strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2012, 364/365: 281-292.
- [2] Bakke-Mckellep A M, Sanden M, Danieli A, et al. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Parr fed genetically modified soybeans and maize: Histological, digestive, metabolic, and immunological investigations [J]. Research in Veterinary Science, 2008, 84(3): 395-408.
- [3] Kokou F, Rigos G, Henry M, et al. Growth performance, feed utilization and non-specific immune response of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed graded levels of a bioprocessed soybean meal [J]. Aquaculture, 2012, 364/365: 74-81.
- [4] 张锦秀, 周小秋, 倪学勤, 等. 分离大豆蛋白对幼建鲤生长及肠道的影响 [J]. 水产学报, 2008, 32(1): 84-89.
Zhang J X, Zhou X Q, Ni X Q, et al. Effects of soybean protein isolate on growth performance and intestine of *Cyprinus carpio* Var. jian juveniles [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(1): 84-89. (in Chinese)
- [5] 吴莉芳, 王洪鹤, 张东鸣, 等. 饲料中大豆蛋白对草鱼生长及饲料利用的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2009, 30(2): 78-81.
Wu L F, Wang H H, Zhang D M, et al. Effects of different levels of dietary soybean protein on growth performance and feed utilization in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Journal of South China Agricultural University, 2009, 30(2): 78-81. (in Chinese)
- [6] 向 泉, 周兴华, 陈 建, 等. 饲料豆粕蛋白替代鱼粉蛋白对齐口裂腹鱼生长性能、体成分及血液生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2012, 36(5): 723-731.
Xiang X, Zhou X H, Chen J, et al. Effect of dietary replacement of fish meal protein with soybean meal protein on the growth, body composition and hematology indices of *Schizothorax prenanti* [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(5): 723-731. (in Chinese)
- [7] Lin S M, Luo L. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. Animal Feed Science and Technology, 2011, 168: 80-87.
- [8] 吴莉芳, 安丽影, 秦贵信, 等. 不同大豆蛋白源对埃及胡子鲇生长、饲料利用及体成分的影响 [J]. 水生生物学报, 2009, 33(6): 1214-1218.
Wu L F, An L Y, Qin G X, et al. Effects of different dietary soybean protein sources on growth, feed utilization and body composition in *Clarias lazera* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(6): 1214-1218. (in Chinese)
- [9] 罗 智, 刘永坚, 麦康森. 石斑鱼配合饲料中发酵豆粕和豆粕部分替代鱼粉的研究 [J]. 水产学报, 2004, 28(2): 175-181.
Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Partial replacement of fish meal by soybean protein in diets for grouper *Epinephelus coioides* juveniles [J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(2): 175-181. (in Chinese)
- [10] Seegraber J, Morrill J L. Effect of protein source in calf milk replacers on morphology and absorptive ability of the small intestine [J]. Journal of Dairy Science, 1986, 69(2): 460-469.
- [11] Zhao Y, Qin G X, Sun Z W, et al. Effects of glycinin and β -conglycinin on enterocyte apoptosis, proliferation and migration of piglets [J]. Food and Agricultural Immunology, 2012, 21(3): 209-218.
- [12] Johnston C. Effect of injecting lambs with soy flour extract on serum soy protein antibody concentration and rate of gain [J]. Small Ruminant Research, 1996, 21(2): 149-154.
- [13] Christensen H R, Susanne W B, Frokiaer H. Antigenic specificity of serum antibodies in mice fed soy protein [J]. International Archives of Allergy and Applied Immunology, 2003, 132(1): 58-67.
- [14] 郭林英. 大豆 β -伴球蛋白提取物对鲤鱼肠上皮细胞增殖及其功能的影响 [D]. 四川雅安: 四川农业大学, 2006.
Guo L Y. Effects of soybean β -conglycinin extract on the pro-

- liferation and function of carp intestinal-epithelial cells in primary culture [D]. Ya'an, Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [15] Wu S W, Murphy P A, Johnson L A, et al. Simplified process for soybean glycinin and β -conglycinin fractionation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(7): 2702-2708.
- [16] Krogdahl A, Bakke-mckellep A M, Baeverfjord G. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture Nutrition, 2003, 9(6): 361-371.
- [17] Burrells C P D, Williams P J, Southgate V O, et al. Immunological, physiological and pathological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to increasing dietary concentrations of soybean proteins [J]. Vet Immunol Immunopathol, 1999, 72(3/4): 277-288.
- [18] 吴莉芳, 秦贵信, 刘春力, 等. 饲料大豆蛋白对鲤鱼消化酶活力和血液主要生化指标的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37(8): 63-69.
- Wu L F, Qin G X, Liu C L, et al. Effects of dietary soybean protein on the activity of digestive enzyme and blood biochemical parameters of carp [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2009, 37(8): 63-69. (in Chinese)
- [19] 周兴华, 向 泉, 叶元土, 等. 中华倒刺鲃、黄颡鱼和华鲮消化酶活性的比较研究 [J]. 安徽农业大学学报, 2003, 30(1): 79-81.
- Zhou X H, Xiang X, Ye Y T, et al. Comparisons of activities of the digestive enzymes among *Spinibarbus sinensis* bleeker, *Pelteobagrus fulvidraco* richardson and *Sinilabeo rendahli* kimura [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2003, 30(1): 79-81. (in Chinese)
- [20] 倪寿文, 桂远明, 刘焕亮. 草鱼、鲤、鲢、尼罗罗非鱼肝胰脏和肠道蛋白酶活性的初步探讨 [J]. 动物学报, 1993, 39(2): 160-168.
- Ni S W, Gui Y M, Liu H L. Investigation on the comparison of protease activities in grass carp, common carp silver carp big-head carp and tilapia nilotica [J]. Acta Zoologica Sinica, 1993, 39(2): 160-168. (in Chinese)
- [21] Das K M, Tripathi S D. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val) [J]. Aquaculture, 1991, 92(1): 21-32.
- [22] 钱 曦, 王桂芹, 周洪琪, 等. 饲料蛋白水平及豆粕替代鱼粉比例对翘嘴红鲌消化酶活力的影响 [J]. 动物营养学报, 2007, 19(2): 182-187.
- Qian X, Wang G Q, Zhou H Q, et al. Effect of dietary protein on the activities of digestive enzymes of topmouth culter (*Erythroculter iliishaeformis* bleeker) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2007, 19(2): 182-187. (in Chinese)
- [23] 吴莉芳, 赵 晗, 秦贵信, 等. 2 种大豆蛋白替代鱼粉蛋白对鲤鱼蛋白酶和淀粉酶活力的影响 [J]. 吉林农业大学学报, 2011, 33(2): 222-226.
- Wu L F, Zhao H, Qin G X, et al. Effects of replacement of fish meal with two soybean protein sources on the activities of protease and amylase in *Cyprinus carpio* [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2011, 33(2): 222-226. (in Chinese)