

网络出版时间:2014-09-10 18:19

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.10.065

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.10.065.html>

大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和 幼鱼肠道组织的影响

吴莉芳¹, 邢秀苹¹, 赖红娥¹, 杨欢欢², 秦贵信¹, 杨 姘¹

(1 吉林农业大学 动物科技学院, 吉林 长春 130118; 2 厦门利洋水产科技有限公司, 福建 厦门 361012)

【摘 要】 【目的】研究大豆抗原蛋白大豆球蛋白(Glycinin)对鲤稚鱼、幼鱼肠道组织的影响。【方法】分别以初始体质量为 (10.12 ± 0.08) g/尾的鲤稚鱼、 (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饲养试验。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 5 种等氮(鲤稚鱼和幼鱼饲料粗蛋白含量分别约为 400 和 360 g/kg)等能(总能分别约为 16.9 和 15.2 MJ/kg)的半精制饲料,其中大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量分别为 0(对照),30,60,90,120 g/kg。每组饲料设 3 个重复,进行为期 8 周的饲养试验。饲养试验结束后,采用组织学方法,探讨大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼、幼鱼肠道组织的影响。【结果】在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量为 30,60,90,120 g/kg 组的鲤稚鱼中肠和后肠皱襞高度显著低于对照组($P < 0.05$);而前肠皱襞高度、肠质量、肠长、肠体指数和肠长指数在各组之间差异不显著($P > 0.05$)。随着大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量的增加,鲤幼鱼前肠、中肠和后肠皱襞高度呈下降趋势。其中,大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 60,90,120 g/kg 组鲤幼鱼后肠皱襞高度、肠质量显著低于对照组($P < 0.05$);而 Glycinin 的添加量为 120 g/kg 组鲤幼鱼肠长和肠长指数显著低于对照组($P < 0.05$);前肠和中肠皱襞高度在各组之间差异不显著($P > 0.05$)。从肠道形态变化来看,当 Glycinin 添加量为 60 g/kg 时,鲤稚鱼肠绒毛开始出现局部断裂或破损;当 Glycinin 添加量为 90 和 120 g/kg 时肠道组织形态进一步被破坏,中肠和后肠受到 Glycinin 的影响较严重。当 Glycinin 添加量为 60 g/kg 时,鲤幼鱼肌层开始出现变薄的现象;当 Glycinin 添加量为 90 和 120 g/kg 时,肠道形态受到的影响较显著,绒毛出现断裂或者缺失。【结论】当鲤稚鱼饲料中大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 30 g/kg 时,就会引起中肠和后肠皱襞高度下降;而当 Glycinin 的添加量为 60 g/kg 时会引起鲤幼鱼后肠皱襞高度下降,同时鲤稚鱼和鲤幼鱼肠道形态开始出现不同程度的破坏。

【关键词】 大豆抗原蛋白;鲤;稚鱼;幼鱼;肠道组织;大豆球蛋白

【中图分类号】 S965.116

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2014)10-0007-08

Effects of soybean antigen protein Glycinin on intestinal tissues of larval and juvenile common carps

WU Li-fang¹, XING Xiu-ping¹, LAI Hong-e¹,
YANG Huan-huan², QIN Gui-xin¹, YANG Hua¹

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

2 Liyang Aquatic Technology Company Limited, Xiamen, Fujian 361012, China)

Abstract: 【Objective】The effects of soybean antigen protein Glycinin on intestinal tissues of larval and juvenile common carps were investigated in this study. 【Method】The larval and juvenile common carps with the initial weights of (10.12 ± 0.08) g and (116.89 ± 0.13) g were kept in single recirculating

【收稿日期】 2013-07-09

【基金项目】 吉林省自然科学基金项目(20101577);吉林省教育厅资助项目(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。

system with controlled temperature. The same semi-refined isonitrogenous (crude protein contents were 400 and 360 g/kg, respectively) and isocaloric (total energy values were 16.9 and 15.2 MJ/kg, respectively) diets were fed to the common carps. Fish meal was used as animal protein, mixed oil ($m(\text{coin oil}) : m(\text{fish oil}) = 1 : 1$) was used as fat source, and dextrin and flour were used as sugar source. The larval and juvenile common carps were divided into 5 treatments with 3 replicates each. The treatments were fed with 0 (the control), 30, 60, 90, and 120 g/kg of soybean antigen protein Glycinin, respectively. The experiment last for 8 weeks. The effects of soybean antigen protein Glycinin on intestinal tissues of larval and juvenile common carps were investigated using the histological method. 【Result】 The fold heights of midgut and hindgut of larval common carp in treatment groups were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$), while there were no significant differences in the fold heights of foregut, intestine weight, length of intestine, intestine body weight index and intestine length index ($P > 0.05$). The fold heights of foregut, midgut and hindgut of juvenile common carps decreased with the increase of soybean antigen protein Glycinin content. The fold height of hindgut and weight of intestine of the juvenile common carps in treatment groups were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The intestine length and intestine length index of the juvenile common carps treated with 120 g/kg soybean antigen protein Glycinin were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). There were no significant differences in the fold heights of foregut and midgut ($P > 0.05$). From the view of changes in intestinal morphology, the intestinal villi of larval common carps were partial broken or damaged when the content of soybean antigen protein Glycinin was 60 g/kg, while the phenomenon became worse when with the contents of soybean antigen protein Glycinin were 90 and 120 g/kg, especially for midgut and hindgut. The muscular layer of intestine of juvenile common carps appeared to be thinner when the content of soybean antigen protein Glycinin was 60 g/kg, and the intestinal morphology changed more seriously (broken or missing villi) when the contents of soybean antigen protein Glycinin were 90 and 120 g/kg. 【Conclusion】 The fold heights of midgut and hindgut of larval common carps started to decrease when treated with 30 g/kg soybean antigen protein Glycinin, while the fold height of hindgut of juvenile common carp decreased when treated with 60 g/kg soybean antigen protein Glycinin. The intestinal morphology of larval and juvenile common carps appeared to be damaged when the content of Glycinin was 60 g/kg.

Key words: soybean antigen protein; *Cyprinus carpio*; larval common carp; juvenile common carp; intestinal tissue; Glycinin

大豆抗原蛋白是指大豆及其制品中可引起人和动物产生过敏反应的一些大分子蛋白质或糖蛋白。主要包括大豆疏水蛋白、大豆壳蛋白、大豆抑制蛋白、大豆空泡蛋白、大豆球蛋白、伴大豆球蛋白、2S 白蛋白等^[1]。早在 1934 年, Duke 提出大豆蛋白对人具有致敏性, 通常表现为颤抖、咽喉水肿、皮疹和急性哮喘等症状^[2]。随后, 学者们发现含有大豆及大豆制品的日粮可导致鼠^[3]、犊牛^[4]、仔猪^[5]等幼龄动物发生过敏反应, 引起小肠绒毛萎缩、脱落, 隐窝细胞增生, 进而导致消化吸收障碍、生长受阻和过敏性腹泻等。另外, 研究发现, 大豆蛋白能够破坏虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[6-9]等鱼类肠道形态结构和肠细胞结构, 并且使其发生病理性变化。这些现象被归因于大豆蛋白中含有的抗原蛋白。随着大豆及

其制品在人类食品和动物饲料中的广泛应用, 由大豆所致的过敏现象引起了营养学家的密切关注。大豆球蛋白 (Glycinin) 是免疫原性较强的大豆抗原蛋白, 能够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。鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 是我国目前主要养殖的淡水经济鱼类之一。张锦秀等^[10]研究了去皮豆粕对幼建鲤生长性能和肠道的影响。郭林英^[11]利用大豆 β -伴球蛋白提取物对鲤肠上皮细胞增殖及其功能的影响进行了研究。目前, 关于大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤鱼不同发育时期肠道组织的影响, 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

育时期鲤鱼肠道组织的影响,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 的获得

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^[12]获得。较好地去除了大豆中其他抗原蛋白的干扰,Glycinin 的纯度达到 85%以上。

1.2 饲料的制备

试验饲料以鱼粉为动物蛋白源,混合油脂

($m(\text{玉米油}):m(\text{鱼油})=1:1$)为脂肪源,糊精、面粉作为饲料糖源,分别配制Ⅰ~Ⅴ5组等氮(鲤稚鱼和幼鱼饲料粗蛋白含量分别约为400和360 g/kg)等能(总能分别约为16.9和15.2 MJ/kg)试验饲料,其 Glycinin 的添加梯度分别为0(对照),30,60,90和120 g/kg。将各原料粉碎过孔径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和2.5 mm颗粒饲料。晒干后置于一20℃冰箱中保存备用。鲤稚鱼、幼鱼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 Ingredient	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	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	60	90	120
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 Ingredient	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	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	60	90	120
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

本次饲养试验在吉林农业大学动物室控温单循环系统中进行,试验前预饲 15 d,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 的鲤稚鱼 450 尾、体质量(116.89±0.13) g 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)。放养前用 20 mg/L 高锰酸钾水溶液药浴 10 min,随机选择 3 个水族箱作为一个试验组。每天投饵 2 次(上午 09:00,下午 16:00),投饵方式为人工手撒,日投饵率为鱼体质量的 3%~5%,每天记录每个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 样品的采集与切片的制作

饲养试验结束前停食 24 h 后,从每个处理组随机取鱼 30 尾,测量体长、终末体质量、肠长、肠质量,另从每缸随机取鱼 3 尾,活体解剖,观察肠道形态,去除肠道脂肪,用 6.5 g/L 生理盐水冲洗肠道内容物,迅速取前肠、中肠、后肠 1.0 cm×1.0 cm 组织,钉在标记好的小纸片上,快速用体积分数 4%的中

性甲醛固定液固定肠段。按常规组织切片制备程序进行修块与冲洗、脱水与透明、透蜡、包埋、切片和 H-E 染色,细胞核被苏木精染成蓝色,细胞质被伊红染成粉红色,进行肠道微观形态结构观察和皱襞高度测量。使用 Olympus 摄影显微镜进行图像采集,用 Image-pro Plus 5.02 软件对各鱼种前肠、中肠、后肠的皱襞高度进行测量。肠道指标计算公式如下:肠体指数=肠质量/体质量,肠长指数=肠长/体长。

1.5 数据处理与分析

试验数据用“平均值±标准差(Mean±SD)”表示。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 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道组织的影响

大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道组织的影响见表 3 和表 4。

表 3 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼肠道组织的影响

Table 3 Effects of soybean antigen protein Glycinin on intestinal tissues of larval common carps

处理 Treatment	终末体质量/g Final mean body weight	肠质量/g Intestine weight	肠长/cm Intestine length	肠体指数/% Intestine body weight index	肠长指数 Intestine length index	前肠皱襞高度/ μm Proximal intestine fold height	中肠皱襞 高度/ μm Middle intestine fold height	后肠皱襞 高度/ μm Distal intestine fold height
I (CK)	25.41±0.36 c	1.82±0.26 a	19.38±2.84 a	7.17±1.07 ab	1.61±0.22 a	681.17±22.57 a	531.50±25.93 a	454.96±38.20 a
II	23.32±0.13 b	1.45±0.06 a	14.84±0.83 a	6.24±0.27 b	1.24±0.06 a	682.04±34.70 a	468.89±19.14 b	356.63±12.77 b
III	23.56±0.60 b	1.72±0.09 a	15.48±0.30 a	7.29±0.48 ab	1.31±0.01 a	659.24±28.36 a	422.54±41.89 b	363.31±30.64 b
IV	22.96±0.56 ab	1.60±0.04 a	16.76±0.30 a	6.96±0.28 ab	1.43±0.25 a	667.23±20.09 a	421.64±43.45 b	342.17±24.80 b
V	22.28±0.34 a	1.75±0.11 a	16.09±0.96 a	7.84±0.43 b	1.32±0.05 a	657.33±63.74 a	417.38±20.29 b	340.32±49.53 b

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at $P<0.05$. The same below.

表 4 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤幼鱼肠道组织的影响

Table 4 Effects of soybean antigen protein Glycinin on intestinal tissues of juvenile common carps

处理 Treatment	终末体质量/g Final mean body weight	肠质量/g Intestine weight	肠长/cm Intestine length	肠体指数/% Intestine body weight index	肠长指数 Intestine length index	前肠皱襞高度/ μm Proximal intestine fold height	中肠皱襞 高度/ μm Middle intestine fold height	后肠皱襞 高度/ μm Distal intestine fold height
I (CK)	186.95±1.54 c	6.40±0.79 b	38.66±3.26 a	3.43±0.42 a	2.09±0.15 a	1 191.02±73.97 a	848.72±16.55 a	681.51±47.77 a
II	182.30±2.94 c	6.27±0.94 b	36.95±3.54 a	3.44±0.54 a	2.02±0.08 a	1 153.23±54.61 a	809.26±83.99 a	668.25±54.44 a
III	161.59±2.91 b	4.72±0.41 a	34.37±0.40 ab	2.92±0.22 a	1.99±0.04 ab	1 151.83±55.64 a	756.57±11.22 a	580.74±34.06 b
IV	157.29±2.99 b	4.27±0.62 a	33.64±3.65 ab	2.72±0.40 a	1.92±0.14 ab	1 111.69±66.51 a	744.59±46.91 a	573.72±38.99 b
V	144.22±2.86 a	3.93±0.33 a	30.38±2.07 b	2.73±0.27 a	1.81±0.07 b	1 103.26±55.69 a	740.99±10.15 a	570.45±27.59 b

由表 3 可知,在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 30,60,90 和 120 g/kg 组(Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ,Ⅴ组)鲤稚鱼终末体质量、中肠和后肠皱襞高度显著低于对照组(Ⅰ组)($P<0.05$),而前肠皱襞

高度、肠质量、肠长、肠体指数和肠长指数在各组之间差异不显著($P>0.05$)。

表 4 表明,随着大豆抗原蛋白 Glycinin 添加量的增加,鲤幼鱼前肠、中肠和后肠皱襞高度呈下降趋

势。大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 60,90 和 120 g/kg 组(Ⅲ,Ⅳ,Ⅴ组)鲤幼鱼终末体质量、后肠皱襞高度、肠质量显著低于对照组($P<0.05$);而 Glycinin 的添加量为 120 g/kg 组的肠长和肠长指数显著低于对照组($P<0.05$);肠体指数、前肠和中肠皱襞高度在各组间差异不显著($P>0.05$)。

2.2 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道形态的影响

由图 1 可知,对照组鲤稚鱼肠道绒毛和纹状缘排列整齐,黏膜下层较薄并且肌层较厚,皱襞间质较窄。30 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼肠道形态与对

照组没有明显差异;60 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼肠绒毛开始出现局部断裂或破损;90 和 120 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼肠道组织形态进一步被破坏,中肠和后肠受到 Glycinin 的影响较严重。

图 2 表明,对照组鲤幼鱼肠道绒毛和纹状缘排列整齐,黏膜下层较薄并且肌层较厚,皱襞间质较窄。30 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼肠道组织形态受到 Glycinin 的影响不明显;60 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼肌层开始出现变薄的现象;90 和 120 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼肠道形态受到 Glycinin 的影响较明显,绒毛出现断裂或者缺失。

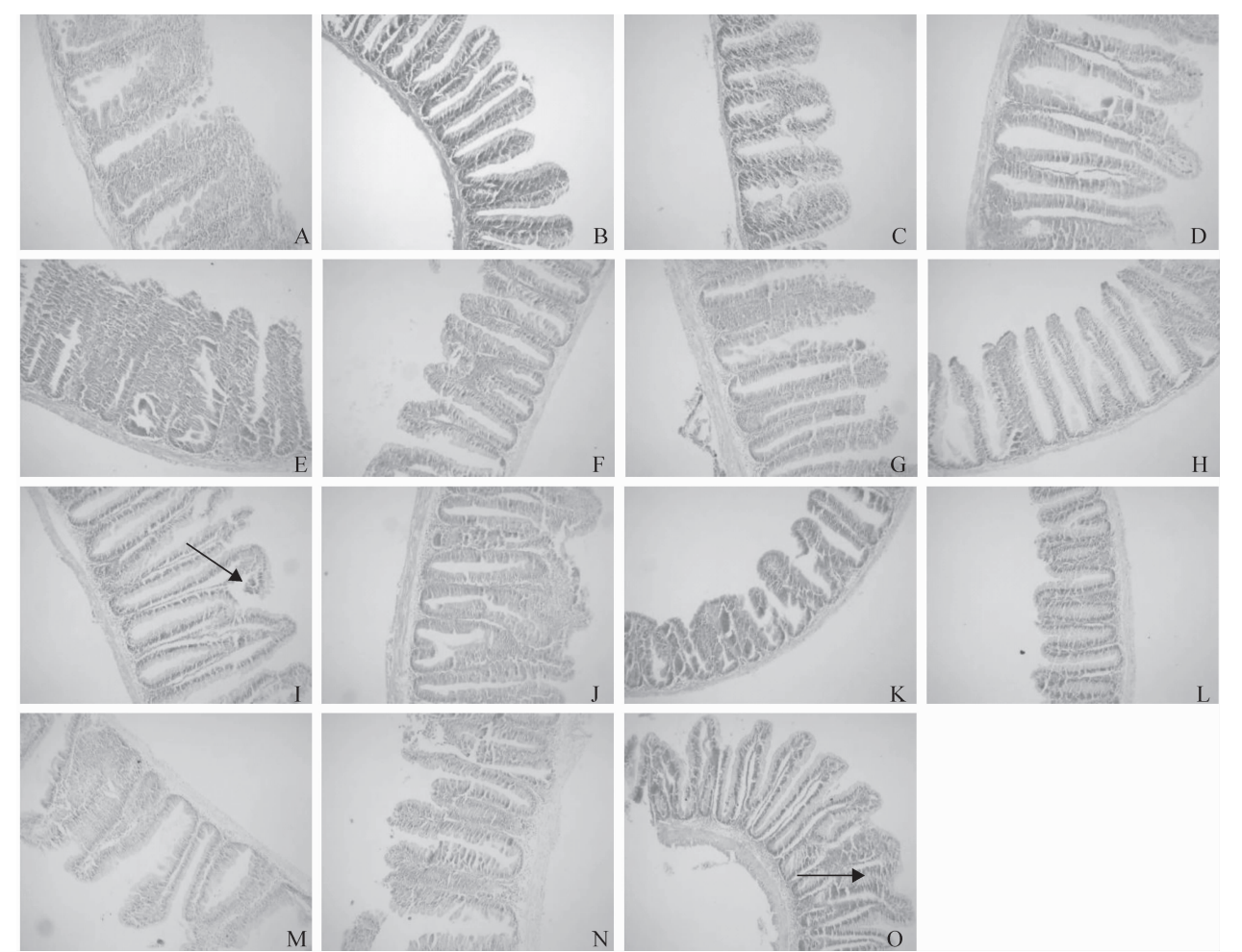


图 1 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼肠道形态的影响(100×)

A、B、C 分别为对照组鲤稚鱼前、中、后肠;D、E、F 分别为 30 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼前、中、后肠;

G、H、I 分别为 60 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼前、中、后肠,箭头表示肠绒毛局部断裂;J、K、L 分别为 90 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼前、中、后肠;M、N、O 分别为 120 g/kg Glycinin 添加组鲤稚鱼前、中、后肠,箭头表示皱襞间质变宽

Fig. 1 Effects of Glycinin on intestinal tissues of larval common carps (100×)

A,B,C are the foregut,midgut and hindgut of larval common carps in the control,respectively;D,E,F are the foregut, midgut and hindgut of larval common carps in the 30 g/kg Glycinin group,respectively;G,H,I are the foregut,midgut and hindgut of larval common carps in the 60 g/kg Glycinin group,respectively,the arrow indicates villi are partly breaking;J,K,L are the foregut, midgut and hindgut of larval common carps in the 90 g/kg Glycinin group,respectively;M,N,O are the foregut,midgut and hindgut of larval common carps in the 120 g/kg Glycinin group,respectively,the arrow indicates plica interstitial is broadening

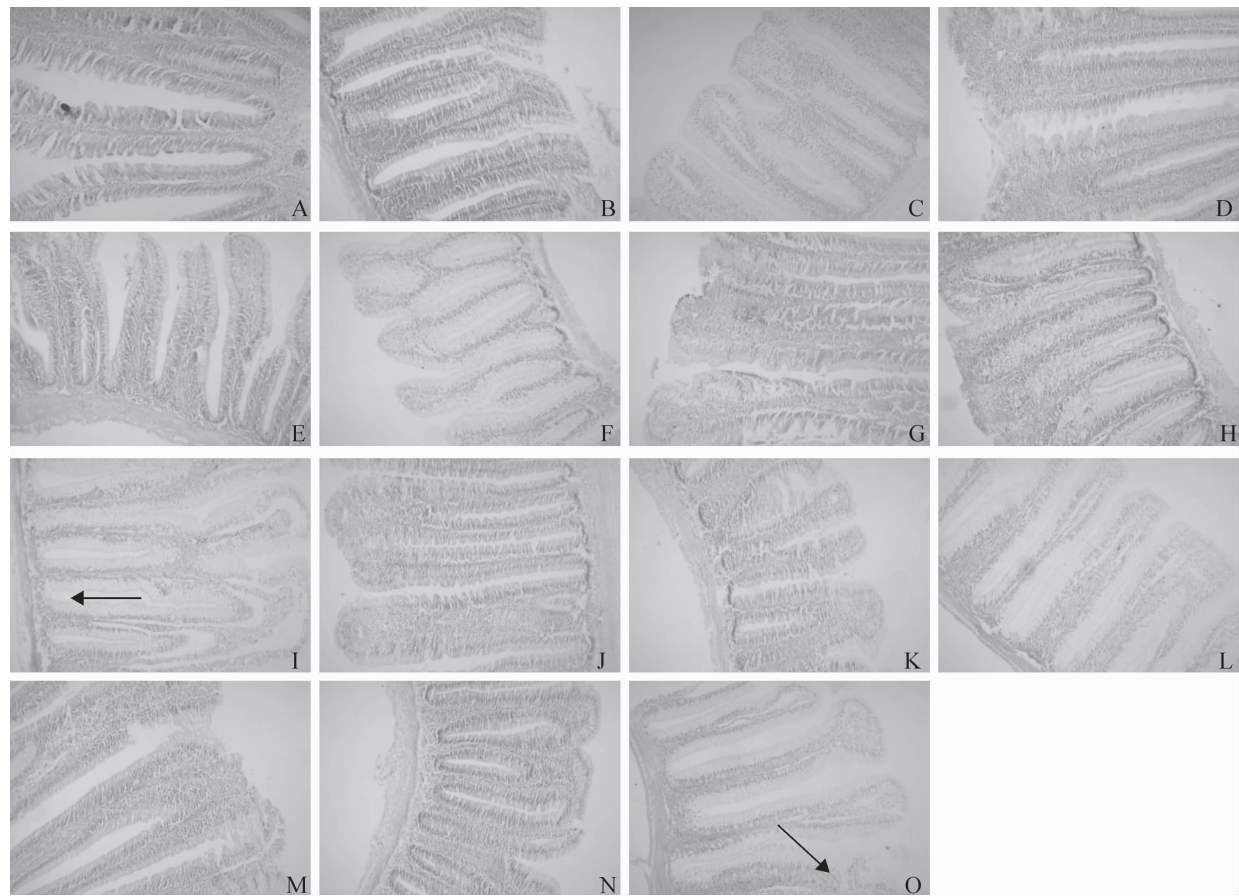


图 2 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤幼鱼肠道形态的影响(100×)

A、B、C 分别为对照组鲤幼鱼前、中、后肠；D、E、F 分别为 30 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼前、中、后肠；G、H、I 分别为 60 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼前、中、后肠，箭头表示肌层变薄；G、K、L 分别为 90 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼前、中、后肠；M、N、O 分别为 120 g/kg Glycinin 添加组鲤幼鱼前、中、后肠，箭头表示肠绒毛局部断裂

Fig. 2 Effects of Glycinin on intestinal tissues of juvenile common carps (100×)

A,B,C are the foregut, midgut and hindgut of juvenile common carps in the control, respectively; D,E,F are the foregut, midgut and hindgut of juvenile common carps in the 30 g/kg Glycinin group, respectively; G,H,I are the foregut, midgut and hindgut of juvenile common carps in the 60 g/kg Glycinin group, respectively, the arrow indicates myometrium is thinning; J,K,L are the foregut, midgut and hindgut of juvenile common carps in the 90 g/kg Glycinin group, respectively; M,N,O are the foregut, midgut and hindgut of juvenile common carps in the 120 g/kg Glycinin group, respectively, the arrow indicates villi partly are breaking

3 讨 论

3.1 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道皱襞高度的影响

鱼类的肠道是消化吸收营养物质的主要场所，也是鱼类最大的黏膜免疫器官和最脆弱的免疫屏障。肠道通常是鱼类感染疾病的主要途径之一。肠道黏膜形态结构正常是营养物质消化吸收和动物正常生长的生理基础，肠道皱襞高度降低意味着肠道的吸收面积减小，对营养物质的吸收能力降低。在本试验条件下，大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 30,60,90 和 120 g/kg 组鲤稚鱼中肠和后肠皱襞高度显著低于对照组 ($P<0.05$)；大豆抗原蛋白 Glyci-

nin 的添加量为 60,90 和 120 g/kg 组的鲤幼鱼后肠皱襞高度显著低于对照组 ($P<0.05$)。关于大豆抗原蛋白 Glycinin 对鱼类肠道皱襞高度的影响，国内外鲜有报道，大多数研究针对大豆蛋白源。张锦秀等^[10]研究报道，当饲料中去皮豆粕 (DSBM) 替代 50% 鱼粉蛋白后，幼建鲤前肠和后肠的皱襞高度下降。Baeverfjord 等^[13]研究报道，与对照组鱼粉相比，豆粕引起大西洋鲑 (*Salmo salar*) 后肠单褶皱襞高度下降了 44.3%，复合褶皱襞高度下降了 21.7%。Van den Ingh 等^[14]对长期饲喂含全脂大豆 (FFSB) 和大豆蛋白浓缩物 (SBPC) 的大西洋鲑的前肠和后肠形态进行了研究，发现 FFSB 组大西洋鲑后肠上皮的微绒毛缩短，前肠形态与对照组差异

不显著;而 SBPC 组大西洋鲑前肠和后肠形态与对照组相比均无明显异常。孙泽威等^[15]报道了大豆抗原蛋白引起犊牛生长性能和肠道吸收能力下降。本研究中,添加 Glycinin 后,鲤稚鱼和幼鱼前、中、后肠皱襞高度总体呈下降趋势,这主要是由于鲤稚鱼消化和免疫器官不发达,消化系统发育尚不成熟,消化机能不完善,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。因此,大豆抗原蛋白也可大量进入肠道,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。

3.2 大豆抗原蛋白 Glycinin 对鲤稚鱼和幼鱼肠道形态的影响

鱼类肠道是消化吸收的重要器官,具有容纳、推进、消化饲料以及吸收营养物质和免疫等功能。Rumsey 等^[6]利用 ELISA 法检测饲料中 Glycinin 和 β -Conglycinin 含量分别是 58.8 和 34.4 mg/g 时,其均可破坏虹鳟前肠和后肠上皮结构及细胞结构。Li 等^[16]研究发现, Glycinin 和 β -Conglycinin 能引起仔猪、犊牛等动物的肠道过敏,造成肠道损伤、绒毛萎缩、腺窝增生、肠道消化吸收能力下降。Urán 等^[17]在鲤鱼饲料中添加 20% 的豆粕替代动物蛋白,1 周后鲤鱼肠道的大部分指标发生变化,3 周后炎症反应加剧,在第 4~5 周时鲤鱼肠道开始恢复,核上空泡增加,大部分的指标恢复正常。Krogdahl 等^[18]、Refstie 等^[19]、Ksudhik 等^[20]分别在大西洋鲑、虹鳟、欧洲真鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 的饲料中添加一定量的大豆蛋白,发现大豆蛋白使鱼后肠绒毛上皮结构发生形态变化,黏膜褶缩短。本研究通过对鲤稚鱼和幼鱼肠道微观结构的观察发现,在本试验条件下,大豆抗原蛋白 Glycinin 的添加量为 60 g/kg 时,鲤稚鱼肠绒毛开始出现局部断裂或破损;当 Glycinin 添加量为 90 和 120 g/kg 时,鲤稚鱼肠道组织形态进一步被破坏,中肠和后肠受到 Glycinin 的影响较严重。当 Glycinin 添加量为 60 g/kg 时,鲤幼鱼肌层开始出现变薄的现象;当 Glycinin 添加量为 90 和 120 g/kg 时,鲤幼鱼肠道绒毛出现断裂或者缺失。这主要是由于鱼类摄食含有大豆抗原蛋白 Glycinin 的饲料后,大部分 Glycinin 被降解为肽和氨基酸。然而由于稚鱼和幼鱼肠道黏膜屏障发育不成熟,大豆抗原蛋白 Glycinin 以完整的大分子形式穿过小肠上皮细胞间或上皮细胞内的空隙从而完整地进入血液和淋巴。这些具有抗原活性的大分子物质刺激机体产生免疫反应,引起肠道绒毛萎缩,从而使肠道形态结构发生变化。

[参考文献]

- [1] L'Hocine L, Boye J I. Allergenicity of soybean: New developments in identification of allergenic proteins, cross-reactivities and hypoallergenization technologies [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2007, 47: 127-143.
- [2] Moneret-Vautrin D A, Morisset M, Flabbee J, et al. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: A review [J]. Allergy, 2005, 60: 443-451.
- [3] Mowat A M, Ferguson A. Hypersensitivity in the small intestinal mucosa: V. Induction of cell-mediated immunity to a dietary antigen [J]. Clinical & Experimental Immunology, 1981, 43 (3): 574-582.
- [4] Dawson D P, Morrill J L, Reddy P G, et al. Soybean protein concentrate and heated soy flours and as protein sources in milk replacer for preruminant calves [J]. Journal of Dairy Science, 1988, 71(5): 1301-1309.
- [5] Li D F, Nelssen J L, Reddy P G, et al. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig [J]. Journal of Animal Science, 1990, 68(6): 1790-1799.
- [6] Rumsey G L, Siwicki A K, Anderson D P, et al. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1994(41): 323-329.
- [7] Refstie S, Korsçenç J, Storebakken T, et al. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Aquaculture, 2000, 190: 49-63.
- [8] Romarheim O H, Skrede A, Gao Y L, et al. Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2006, 256: 354-364.
- [9] Odd Helge H, Anders S, Michael P, et al. Lipid digestibility, bile drainage and development of morphological intestinal changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing defatted soybean meal [J]. Aquaculture, 2008, 274: 329-338.
- [10] 张锦秀, 周小秋, 刘 扬. 去皮豆粕对幼建鲤生长性能和肠道的影响 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(2): 315-320.
Zhang J X, Zhou X Q, Liu Y. Effects of dehulled soybean meal on growth performance and intestine of juvenile *Cyprinus carpio* var. jian [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(2): 315-320. (in Chinese)
- [11] 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 proliferation and function of carp intestinal-epithelial cells in primary culture [D]. Ya'an, Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2006. (in Chinese)
- [12] 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: 2702-2708.

[13] Baeverfjord G, Krogdahl. Development and regression of soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. distal intestine; A comparison with the intestines of fasted fish [J]. Fish Dis, 1996(19): 375-387.

[14] Van den Ingh T S G, Krogdahl A M A, Olli J J, et al. Effects of soybean-containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): A morphological study [J]. Aquaculture, 1991, 94: 297-305.

[15] 孙泽威, 秦贵信, 张庆华. 大豆抗原蛋白对犊牛生长性能、日粮养分消化率和肠道吸收能力的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41(11): 30-33.
Sun Z W, Qin G X, Zhang Q H. Effect of soybean antigen on growth performance, nutrient digestibility and absorption ability of gut in calf [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2005, 41(11): 30-33. (in Chinese)

[16] Li D F, Nelssen J L, Reddy P G, et al. Interrelationship between hypersensitivity to soybean proteins and growth performance in early weaned pigs [J]. Journal of Animal Science, 1991, 69: 4602-4609.

[17] Urán P A, Goncalves A A, Taverne-Thiele J J, et al. Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Aquaculture, 2008, 25: 751-760.

[18] 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: 361-371.

[19] Refstie S, Storebakken T, Baeverfjord G, et al. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Satmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level [J]. Aquaculture, 2001, 193: 91-106.

[20] Ksudhik S J, Coves D, Dutto G. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentearchus labrax* [J]. Aquaculture, 2004, 230: 391-404.

欢迎订阅 2015 年《农业展望》

《农业展望》是经国家新闻出版总署批准,由中华人民共和国农业部主管、农业部市场与经济信息司指导、中国农业科学院农业信息研究所主办的综合性农业科技类刊物。2005 年 8 月创刊,面向国内外公开发行人,设有“主编速递”、“产品预测”、“农业经济展望”、“农业生产展望”、“农业科技展望”、“农业贸易展望”、“农业消费展望”和“数据信息”八大主要栏目。

本刊着重于对主要农产品生产、供需、价格、进出口的品种进行分析与预测,密切关注当前农业经济发展进程中一些重大的关键性或热点、焦点问题,重点报道对农业经济形势、农业科技与农业、农产品贸易的分析和展望,既强调对农业经济领域的短期分析,也侧重于对农业政策、产业发展、农业贸易、农产品供需和粮食安全等的长期展望,并且每期都以一定篇幅刊载国内外主要农产品数据信息。诚望通过八大板块的内容,为您了解市场动态、掌握发展趋势、把握致胜机遇助一臂之力。

《农业展望》是政府机关、研究机构、农业企业、金融单位、期货市场、进出口商等开展经济分析、市场预测、投资判断、生产决策的可靠参考资料。欢迎大家踊跃投稿和订阅杂志,欢迎来电来函洽谈广告业务。

本刊为月刊,每册定价 15.00 元,全年定价 180.00 元。中国标准连续出版物号:CN11-5343/S;国际标准刊号:ISSN 1673-3908。广告许可证:京海工商广字第 0095 号。全国各地邮局均可订阅,邮发代号:80-283。

地 址:北京市海淀区中关村南大街 12 号《农业展望》编辑部
邮 编:100081
电 话:(010)82109913
E-mail:nyzw@caas.cn