

饲料中去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇 消化酶活力和肠道组织的影响*

吴莉芳, 秦贵信, 孙泽威, 王洪鹤, 张东鸣, 孙 玲, 朱 丹
(吉林农业大学动物科技学院, 吉林 长春 130118)

摘 要: 以初始体质量 (22.40 ± 0.30) g 的健康埃及胡子鲇 *Clarias lazera* 为试验对象, 在室内单循环控温养殖系统中进行 8 周饲养试验, 以鱼粉为动物蛋白源, 去皮豆粕为植物蛋白源, 去皮豆粕分别替代 0% (CK), 15%, 30%, 45% 和 60% 的鱼粉蛋白, 配制成 5 种等蛋白 (40%) 等能 (15.8 MJ/kg) 的半精制饲料, 研究去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇消化酶活力及肠道组织的影响。结果表明, 埃及胡子鲇胃蛋白酶活力去皮豆粕组显著低于对照组 ($P < 0.05$), 30%, 45% 和 60% 去皮豆粕替代组中肠和肝胰脏蛋白酶活力显著低于对照组 ($P < 0.05$), 45% 和 60% 去皮豆粕替代组的前肠和后肠蛋白酶活力显著下降 ($P < 0.05$)。当去皮豆粕替代鱼粉 45% 和 60% 时, 后肠淀粉酶活力显著低于对照组 ($P < 0.05$)。但埃及胡子鲇的胃、肝胰脏、前肠和中肠淀粉酶活力各组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。去皮豆粕对埃及胡子鲇的脂肪酶活力影响不显著 ($P > 0.05$)。去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇肠道组织结构具有一定的影响。当去皮豆粕替代鱼粉蛋白 45% 和 60% 时, 埃及胡子鲇的中肠和后肠肠道组织结构完整性被破坏, 部分肠绒毛脱落, 部分上皮细胞与固有层分离, 固有层结缔组织疏松, 固有层变宽, 肠长、肠体指数、肠长指数、肠道皱襞高度显著下降 ($P < 0.05$)。

关键词: 埃及胡子鲇; 去皮豆粕; 蛋白酶; 淀粉酶; 脂肪酶; 肠道组织

中图分类号: S963 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 04-0099-07

Effect of Dietary Dehulled Soyabean Meal Replacing Fish Meal on the Activity of Digestive Enzyme and the Intestinal Tissue of *Clarias lazera*

WU Lifang, QIN Guixin, SUN Zewei, WANG Honghe, ZHANG Dongming, SUN Ling, ZHU Dan
(College of Animal Science and Technology, Jinlin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: A breed trial was conducted on juvenile fish with initial body weight of (22.40 ± 0.30) g for 8 weeks at controlled temperature in single recirculating system. Fish meal and dehulled soybean meal were used as protein source. Five isonitrogenous (40% protein) and isoenergetic (15.8 MJ/kg) diets, with dehulled soybean meal replacing level 0% (CK), 15%, 30%, 45% and 60% of fish meal protein, were formulated to feed juveniles in order to investigate the effects of dietary dehulled soybean meal replacing fish meal on the activity of digestive enzyme and intestinal tissue of *Clarias lazera*. The results indicated that pepsin activity of *Clarias lazera* in dehulled soybean meal groups was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$). The activity of protease in the mid-intestine and the Hepatopancrea decreased significantly for 30%, 45% and 60% replacing level ($P < 0.05$), the activity of protease in the anterior intestine and posterior intestine decreased significantly for 45% and 60% replacing level ($P < 0.05$), and the activity of amylase in the posterior intestine was significantly lower than that in control group for 45% and 60% replacing level ($P < 0.05$). But there were no significant differ-

* 收稿日期: 2009-06-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30430520); 吉林省教育厅资助项目 (2009360); 吉林农业大学博士启动基金资助项目 (2009002)

作者简介: 吴莉芳 (1970 年生), 女, 博士; 通讯作者: 秦贵信; E-mail: guixin@public.cc.jl.cn

ence in the activity of amylase in the stomach, anterior intestine and mid-intestine of *Clarias lazera* in each group ($P > 0.05$). The dehulled soyabean meal had no significant effects on lipase of *Clarias lazera* ($P > 0.05$). Dehulled soyabean meal replacing fish meal had some effects on morphology of intestinal tissue of *Clarias lazera*. Meanwhile, the structural integrity of anterior intestine and mid-intestine in 45% and 60% group was destroyed, the part of intestinal villi shed, the part of epithelial cells and proper layer separated, the connective tissue of proper layer loosened, and the proper layer became wider. The length of intestine, index of intestine body, index of the length of intestine and the entero-plica height of intestine decreased significantly ($P < 0.05$).

Key words: *Clarias lazera*; dehulled soyabean meal; protease; amylase; lipase; intestinal tissue

鱼粉 (fish meal, FM) 是水产饲料中应用最广泛的蛋白源。目前世界鱼粉的供应已不能满足日益增长的养殖需求。寻求鱼粉蛋白源的替代品成为重要的研究课题。大豆蛋白源是水产饲料应用最多的植物蛋白源之一。但是, 大豆蛋白源中含有抗营养因子 (Antinutritional factors, ANF), 在鱼类饲料中过量的添加, 不仅会影响鱼类的摄食和生长, 而且会引起鱼类的死亡。目前, 关于大豆蛋白源对鱼类的影响已经在多种鱼类上进行了相关的研究, 研究的内容多集中在大豆蛋白源替代鱼粉后对鱼类的生长^[1-3]、饲料利用^[4-5]、肠道组织等的影响^[6]。研究的对象多集中在虹鳟 *Oncorhynchus mykiss*^[7-9]、大西洋鲑 *Salmo salar* L.^[10-11]、军曹鱼 *Rachycentron canadum*^[12]、南方鲇 *Silurus meridionalis* 等肉食性鱼类上^[13], 而对杂食性鱼类研究较少。埃及胡子鲇 *Clarias lazera* 是一种杂食性偏肉食性鱼类, 原产于非洲的尼罗河流域, 我国广东省淡水水产良种场 1981 年从埃及引进, 并在人工繁殖和养殖方面获得成功, 在全国迅速推广。鱼类消化酶的研究是鱼类生理学、营养与饲料学的主要研究内容之一。肠道组织学的研究是认识和探讨鱼类摄食、消化和吸收生理机制的基础和途径之一。目前, 关于去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇消化酶活力和肠道组织的影响, 尚未见系统报道。因此, 本研究以埃及胡子鲇幼鱼为试验对象, 利用去皮豆粕不同比例的替代鱼粉, 研究去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇消化酶活力和肠道组织的影响, 旨在为优化埃及胡子鲇人工配合饲料及合理开发利用大豆蛋白源提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料的配制

以鱼粉为动物蛋白源, 去皮豆粕为植物蛋白源, 鱼油、玉米油、糊精等为能源、纤维素为填充物配制成 5 种等蛋白 (40%)、等能 (15.8 MJ/kg) 的半精制饲料。其中, 去皮豆粕替代鱼粉蛋白的 0% (CK), 15%, 30%, 45% 和 60%。试验饲料原料经粉碎过 60 目筛, 按配方称其质量 (表 1), 混合均匀, 挤压成直径 2.5 mm 颗粒, 晒干后置于 $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰柜中保存备用。

1.2 试验鱼及其饲养管理

试验用埃及胡子鲇鱼种来自吉林省长春市小南渔场, 试验前挑选体质健壮及规格整齐的埃及胡子鲇鱼种 700 尾, 暂养于吉林农业大学动物室的控温单循环养殖系统中, 该系统由 56 个 230 (型号) 缸组成, 每缸加水 $3/4$ 体积, 用循环泵进行水质过滤, 暂养时投喂饲料粗蛋白含量 40.05% 的试验对照组饲料, 饱食投喂, 驯化 15 d。饲养试验从 2007 年 7 月 8 日至 2007 年 9 月 2 日, 为期 8 周。试验开始之前停止投喂 24 h, 然后称量鱼体质量 (精确到 0.01 g), 每个饲料组处理设置 3 个重复, 每个重复放养 30 尾, 放养前用 20 mg/L 的高锰酸钾水溶液药浴 10 min, 整个试验期保持水质稳定, 水温 (22 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, 各项理化指标维持在: 溶解氧 (DO) 5.0 ~ 8.0 mg/L; pH 7.0 ~ 8.0; 氨氮 < 0.3 mg/L。日投饵率视鱼群摄食情况变动于 3% ~ 6%, 日投饵 2 次 (9:00 和 16:00), 投饵方法为人工手撒。

表1 去皮豆粕替代鱼粉试验的饲料配方及营养成分

Table 1 Formulation and proximate composition of diets in the experiment of replacement of fish meal with dehulled soyabean meal

配方及营养组成		w (去皮豆粕替代鱼粉蛋白)/%				
		0.0	15	30	45	60
w (配方成分)/%	鱼粉 Fish meal	62.1	52.3	42.6	32.9	23.2
	去皮豆粕 Dehulled soyabean meal	—	13.06	26.12	39.18	52.2
	糊精 Dextrin	27.4	24.14	20.78	17.32	14.1
	玉米油 Corn oil	1.5	1.7	1.9	2.1	2.3
	鱼油 Fish oil	1.5	1.7	1.9	2.1	2.3
	氯化胆碱 Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	维生素预混料 Vitamin premix	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
	无机盐预混料 Mineral premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	纤维素 Cellulose microcrystalline	4.0	3.6	3.2	2.9	2.4
	黏合剂 Binder	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
w (营养组成)/%	粗蛋白 Crude protein	40.05	40.00	40.01	40.03	40.02
	粗脂肪 Crude lipid	6.50	6.50	6.50	6.50	6.50
	粗纤维 Crude fiber	4.31	4.32	4.33	4.33	4.34
	粗灰分 Ash	7.08	6.58	6.11	5.63	5.15
	总能 Gross energy/(MJ·kg ⁻¹)	15.86	15.40	15.60	15.50	15.54

1.3 样品的收集与测定

1.3.1 样品的收集与处理 ①消化酶活力: 生长试验结束前停食 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, 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。-20 ℃ 冰柜保存待测。②肠道指标: 生长试验结束前停食 24 h 后, 从每个处理组随机取鱼 30 尾, 测量体长、体质量、肠长和肠质量, 另从每缸随机取鱼 3 尾, 活体解剖, 观察肠道形态, 去除脂肪, $w = 0.65\%$ 的 NaCl 溶液冲洗后, 迅速取出前肠、中肠和后肠 1.0 cm × 1.0 cm, 钉在标记好的小纸片上, $w = 4\%$ 缓冲多聚甲醛中固定。肠道指标计算如下: 肠体指数 = 肠质量/体质量; 肠长指数 = 肠长/体长。

1.3.2 粗酶液的制备 样品称其质量, 加入 10 倍体积的高纯水匀浆, 在 4 ℃ 冰箱中静止过夜, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液为粗酶液, 4 ℃ 冰箱保存待测。于 24 h 内测定完毕。

1.3.3 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: pH 7.0, 底物酪蛋白浓度为 20 mg/mL, (37 ± 1) ℃ 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碘 - 淀粉比色法测定

1 个淀粉酶的比活力单位定义为: pH 7.0, (37 ± 1) ℃ 条件下, 保温 30 min, 每 mg 酶蛋白中的淀粉酶能完全水解 10 mg 淀粉时的酶量。

3) 脂肪酶活力采用脂肪酶试剂盒测定

1 个脂肪酶的比活力单位定义为: pH 7.0, (37 ± 1) ℃ 条件下, 保温 10 min, 每 mg 酶蛋白中水解脂肪产生 1 μg 脂肪酸的酶量。

1.3.4 切片的制作与观察 按常规组织切片程序进行修块与冲洗、脱水与透明、透蜡、包埋、切片和 HE 染色, 用于观察肠道微观形态结构和测量皱襞高度。使用 Olympus 摄影显微镜进行图像采集, 用 Image-pro Plus5.02 软件对埃及胡子鲶的前肠、中肠和后肠的皱襞高度进行测量。

1.4 数据统计与分析

试验数据采用 SPSS (12.0) 软件对所有指标进行方差分析, 若差异显著, Duncan's 多重比较, 分析组间差异显著性程度。

2 结果

2.1 去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲶消化酶活力的影响

本研究结果表明 (表 2), 随着去皮豆粕替代鱼粉比例的增加, 埃及胡子鲶胃、肠道和肝胰脏蛋白酶活力出现不同程度的下降。当去皮豆粕替代鱼

粉 15% 时, 埃及胡子鲇胃蛋白酶活力就显著低于对照组 ($P < 0.05$), 当去皮豆粕替代鱼粉 30%、45% 和 60% 时, 中肠和肝胰脏蛋白酶活力显著下降 ($P < 0.05$), 当去皮豆粕替代鱼粉 45% 和 60% 时, 前肠和后肠蛋白酶活力显著降低 ($P < 0.05$)。

表 3 表明, 在埃及胡子鲇胃、肝胰脏、前肠和

中肠, 淀粉酶活力各组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 当去皮豆粕替代鱼粉 45% 和 60% 时, 后肠淀粉酶活力显著低于对照组 ($P < 0.05$)。

由表 4 可以看出, 去皮豆粕对埃及胡子鲇的胃、前肠、中肠、后肠和肝胰脏脂肪酶活力影响不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 饲料中去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇蛋白酶活力的影响¹⁾

Table 2 Effect of replacement of fish meal by dehulled soyabean meal on Protease specific activity in the muscle of *Clarias lazera*

w (去皮豆粕替代鱼粉) /%	蛋白酶活力/(U·mg ⁻¹)				
	胃	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
0.0	269.26 ± 11.05 ^d	90.86 ± 3.13 ^b	72.44 ± 4.63 ^c	60.79 ± 1.58 ^c	191.14 ± 5.75 ^c
15	245.38 ± 6.80 ^c	90.44 ± 4.39 ^b	70.11 ± 2.59 ^c	55.93 ± 9.0 ^{bc}	184.82 ± 8.98 ^c
30	215.07 ± 14.07 ^b	85.10 ± 3.98 ^b	58.16 ± 5.00 ^b	55.59 ± 3.94 ^{bc}	167.34 ± 7.51 ^b
45	202.70 ± 8.78 ^b	74.72 ± 2.39 ^a	47.20 ± 6.86 ^a	46.62 ± 5.52 ^b	157.70 ± 8.56 ^b
60	174.41 ± 4.88 ^a	73.41 ± 3.60 ^a	45.81 ± 5.32 ^a	31.39 ± 6.25 ^a	138.97 ± 3.9 ^a

1) 同列数据后标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 3 饲料中去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇淀粉酶活力的影响¹⁾

Table 3 Effect of replacement of fish meal by dehulled soyabean meal on ylase specific activity in the muscle of *Clarias lazera*

w (去皮豆粕替代鱼粉) /%	淀粉酶活力/(U·mg ⁻¹)				
	胃	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
0.0	0.20 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.11 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.01 ^a
15	0.21 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.11 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.01 ^a
30	0.20 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.01 ^{ab}	0.15 ± 0.01 ^a
45	0.19 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.01 ^a
60	0.20 ± 0.01 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	0.14 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.01 ^a

1) 同列数据后标不同小写字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)

表 4 饲料中去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇脂肪酶活力的影响

Table 4 Effect of replacement of fish meal by dehulled soyabean meal on lipase specific activity in the muscle of *Clarias lazera*

w (去皮豆粕替代鱼粉) /%	脂肪酶活力/(U·mg ⁻¹)				
	胃	前肠	中肠	后肠	肝胰脏
0.0	34.00 ± 6.56	21.67 ± 1.52	19.33 ± 3.06	18.00 ± 5.29	32.33 ± 9.61
15	36.33 ± 8.39	22.33 ± 1.53	18.67 ± 0.58	17.67 ± 1.53	30.33 ± 5.69
30	36.00 ± 11.36	21.67 ± 8.14	19.00 ± 1.00	20.33 ± 0.58	34.00 ± 7.21
45	35.66 ± 8.41	23.67 ± 2.52	17.33 ± 1.15	19.33 ± 1.15	33.33 ± 4.16
60	33.33 ± 9.45	21.00 ± 7.94	17.67 ± 1.53	20.33 ± 5.69	30.00 ± 2.65

2 去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇肠道组织的影响

观察埃及胡子鲇前肠、中肠和后肠的组织切片现, 肠道组织结构可分为: 粘膜层、粘膜下层、肌层浆膜。粘膜突起成皱襞。皱襞的数量由前肠到后逐渐减少。对照组肠道粘膜上皮细胞排列整齐, 支结构完整性较好, 肠绒毛发达, 柱状上皮细胞排

列紧密整齐, 杯状细胞较多, 粘膜下层较薄(见图 A, B); 当去皮豆粕替代鱼粉 45% 和 60% 时, 埃及胡子鲇的中肠和后肠肠道组织结构完整性被破坏, 部分肠绒毛脱落, 部分上皮细胞与固有层分离(见图 C, D, E, F), 尤其是去皮豆粕替代鱼粉 60% 组中肠固有层结缔组织疏松(见图 E), 后肠肠绒毛变短且固有层变宽(见图 F), 肠长、肠体指数、肠长指数、肠道

皱襞高度显著下降($P < 0.05$)。而肠质量和前肠皱襞高度去皮豆粕组显著低于对照组($P < 0.05$)(表5)。

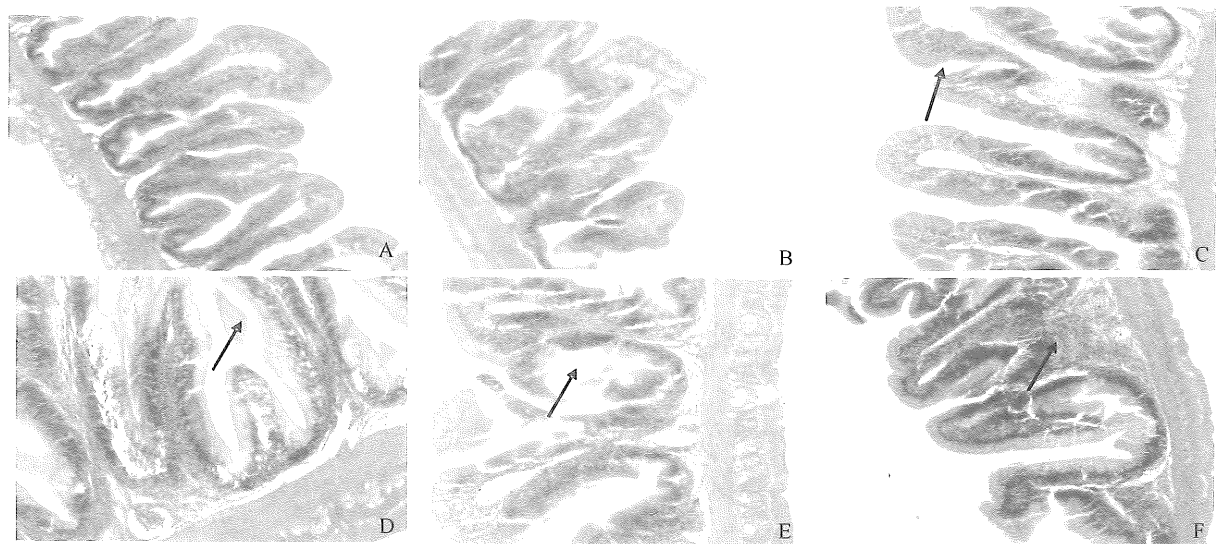


图1 大豆蛋白对埃及胡子鲇肠道形态结构的影响(100×)

Fig. 1 Effects of soybean proteinogen on intestinal tissues of *Clarias lazera* (100×)

A:埃及胡子鲇对照组中肠;B:埃及胡子鲇对照组后肠;C:埃及胡子鲇45%组中肠,箭头表示肠绒毛局部断裂;D:埃及胡子鲇45%组后肠,箭头表示上皮细胞与固有层分离;E:埃及胡子鲇60%组中肠,固有层结缔组织疏松;F:埃及胡子鲇60%组后肠,肠绒毛变短且固有层变宽。

A: The control group of mid-intestine in *Clarias lazera*; B: The control group of posterior intestine in *Clarias lazera*; C: The 45% group of mid-intestine in *Clarias lazera*, arrow indicates intestinal villi partly break; D: The 45% group of posterior intestine in *Clarias lazera*, arrow indicates the epithelial cells and proper layer are separated; E: The 60% group of mid-intestine in *Clarias lazera*, arrow indicates the tissue of lamina propria are loosened; F: The 60% group of posterior intestine in *Clarias lazera*, the lamina propria of intestinal villi are short and broaden.

表5 饲料中去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇肠道生长指标的影响¹⁾

Table 5 Effects of replacement of fish meal by dehulled soybean meal on intestinal growth parameters of *Clarias lazera*

指标	w (去皮豆粕替代鱼粉)/%				
	0.0	15.0	30.0	45.0	60.0
肠质量/g	4.05 ± 0.68 ^b	3.00 ± 0.27 ^a	2.94 ± 0.02 ^a	2.93 ± 0.32 ^a	2.82 ± 0.06 ^a
肠长度/cm	33.24 ± 2.76 ^b	30.06 ± 3.46 ^{ab}	27.48 ± 0.34 ^{ab}	26.48 ± 0.28 ^a	26.49 ± 2.38 ^a
肠体指数/%	3.19 ± 0.54 ^b	2.76 ± 0.08 ^{ab}	2.85 ± 0.27 ^{ab}	2.53 ± 0.28 ^a	2.37 ± 0.39 ^a
肠长指数	1.36 ± 9.87 ^b	1.24 ± 21.09 ^{ab}	1.17 ± 5.45 ^{ab}	1.11 ± 3.01 ^a	1.07 ± 8.55 ^a
前肠皱襞高度/ μm	431.08 ± 7.04 ^a	397.65 ± 7.64 ^b	397.10 ± 9.53 ^b	385.60 ± 5.13 ^b	371.40 ± 7.07 ^c
中肠皱襞高度/ μm	213.52 ± 8.86 ^c	215.54 ± 9.34 ^c	212.19 ± 1.71 ^c	199.94 ± 2.19 ^b	179.72 ± 2.44 ^a
后肠皱襞高度/ μm	208.39 ± 3.77 ^c	208.97 ± 6.43 ^c	196.77 ± 1.76 ^c	189.15 ± 5.57 ^b	178.03 ± 7.53 ^a

3 讨论

3.1 去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇消化酶活力的影响

鱼类消化酶活性决定鱼类对营养物质消化和吸收的能力,从而决定鱼类生长和发育速度。从本试验研究结果来看,埃及胡子鲇胃蛋白酶活力显著高于其它器官,这主要是由于埃及胡子鲇属于杂食偏

肉食性鱼类,蛋白质的消化器官主要是胃。这与周兴华等^[14]对黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* Richardson 的研究结果相一致。随着去皮豆粕替代鱼粉水平的增加,埃及胡子鲇胃蛋白酶活力显著下降。这说明埃及胡子鲇的胃对去皮豆粕比较敏感。当去皮豆粕替代鱼粉30%、45%和60%时,中肠和胰腺蛋白酶活力显著低于对照组。而当去皮豆粕替代鱼粉45%和60%时,前肠和后肠蛋白酶活力也显著下

降。这说明饲料中过量的去皮豆粕会引起埃及胡子鲇各部位蛋白酶活力下降。这与钱曦等^[15]对翘嘴红鲌 *Erythroculter ilishaeformis* 的研究结果相类似。去皮豆粕能够引起鱼类消化道内蛋白酶活力降低,主要是由于去皮豆粕中含有抗营养因子,如蛋白酶抑制因子(protease inhibitors)、大豆凝集素(soybean agglutinin)、大豆抗原(soybean antigen)等。去皮豆粕经过去皮浸油工艺对大豆抗营养因子中的热敏感因子(蛋白酶抑制因子、大豆凝集素等)钝化效果较好。本研究所用的去皮豆粕经实验室测定分析其主要抗营养因子含量分别是:蛋白酶抑制因子 0.30 TU/mg,大豆凝集素 1.14 mg/g,大豆球蛋白为 48.34 mg/g, β -伴大豆球蛋白 12.45 mg/g。从测试结果来看,去皮豆粕中胰蛋白酶抑制因子和大豆凝集素几乎被灭活,但 β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白的含量仍然较高。因此,去皮豆粕中引起鱼类消化道蛋白酶活力降低的主要因素可能是大豆抗原蛋白。大豆抗原蛋白能够损伤鱼类消化道结构,引起肠道形态发生变化。Ksudhik S J等^[16]在大西洋鲑的饲料中添加一定量的大豆蛋白,引起后肠结构发生形态变化,刷状缘的酶活性降低。

鱼类的淀粉酶的活性比较低。同种鱼类不同消化器官淀粉酶的活性不同。埃及胡子鲇的肝胰脏淀粉酶的活性相对较弱,说明肝胰脏不是其淀粉酶的主要分泌器官。本试验研究结果表明,当去皮豆粕替代鱼粉 45% 和 60% 时,埃及胡子鲇后肠淀粉酶活力显著低于对照组。关于去皮豆粕引起鱼类淀粉酶活力变化的机理,有待于进一步的研究。

在鱼类的消化系统的很多部位都发现脂肪酶的存在,但胰脏是它的主要分泌器官^[17]。本研究的结果表明,埃及胡子鲇脂肪酶的活性肝胰脏高于肠道的各部位,也证明了胰脏是鱼类脂肪酶的主要分泌器官。本研究饲料中去皮豆粕替代鱼粉的水平对埃及胡子鲇脂肪酶的活力没有显著影响。

3.2 去皮豆粕替代鱼粉对埃及胡子鲇肠道组织的影响

从本研究结果可知,去皮豆粕引起埃及胡子鲇肠道部分生长指标下降及组织结构完整性不同程度的破坏。和对照组相比,当去皮豆粕替代鱼粉 45% 和 60% 时,肠长、肠体指数、肠长指数、中肠和后肠肠道皱襞高度显著下降($P < 0.05$),而肠质量和前肠皱襞高度去皮豆粕组显著低于对照组($P < 0.05$)。说明饲料中去皮豆粕影响了埃及胡子鲇肠道的生长发育,导致肠道完整性被破坏,肠道皱襞高度下降,肠道吸收面积减少,肠质量减轻,对营养物

质的吸收功能降低。这与张锦秀等^[18]对鲤鱼 *Cyprinus carpio* 的研究结果相似。引起鱼类肠道皱襞高度下降的主要原因是去皮豆粕中含有抗营养因子,大豆抗营养因子中的大豆凝集素和大豆抗原蛋白都可以引起动物肠道形态结构的变化。Buttle L G等^[19]饲喂大西洋鲑含有纯化大豆凝集素或生大豆的饲料,结果均发现大豆凝集素在体内与肠上皮细胞结合,这种结合与饲料含高水平生大豆饲料引起肠道病理变化有关。从本研究所用去皮豆粕中主要抗营养因子含量测试结果来看,去皮豆粕中胰蛋白酶抑制因子和大豆凝集素几乎被灭活至无害水平,但大豆主要抗原蛋白(β -伴大豆球蛋白和大豆球蛋白)的含量仍然较高。因此,大豆主要抗原蛋白是引起埃及胡子鲇肠道形态结构变化的主要因素。Rumsey G L^[20]报道,饲料中含大豆球蛋白(58.8 mg/g)和 β -伴大豆球蛋白(34.8 mg/g)时,引起虹鳟前肠和后肠上皮结构和细胞结构破坏。认为大豆抗原蛋白是引起动物肠道皱襞高度下降的主要因素。关于大豆主要抗原蛋白损伤鱼类肠道形态结构的机理有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] HEIKKINEN J, VIELMA J, KEMILÄINEN O, et al. Effects of soybean meal based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2006, 261: 259 - 268.
- [2] TANTIKITTI C, SANGPONG W, CHIAVAREESAJA S. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*) [J]. Aquaculture, 2005, 248: 41 - 50.
- [3] BISWAS A K, KAKU H, JI S C, et al. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream (*Pagrus major*) [J]. Aquaculture, 2007, 267: 284 - 291.
- [4] WANG Y, KONG L J, LI C, et al. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea mitchthioides*) [J]. Aquaculture, 2006, 252: 421 - 428.
- [5] REFSTIE S, SKJÆRVIK F O, ROSEN LUND G. Feed intake, growth, and utilization of macronutrients and amino acids by 1- and 2-year old Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed standard or bioprocessed soybean meal [J]. Aquaculture, 2006, 255: 279 - 291.
- [6] ESCAFFRE A M, KAUSHIK S, MAMBRINI M. Morphometric evaluation of changes in the digestive tract of

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to fish meal replacement with soy protein concentrate[J]. *Aquaculture*, 2007, 273:127-138.
- [7] REFSTIE S, KORSOEN O J, STOREBAKKEN T, et al. Storebakken Tond, 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] GLENCROSS B D, CARTER C G, DUIJSTER N, et al. A comparison of the digestibility of a range of lupin and soybean protein products when fed to either Atlantic salmon (*Salmo salar*) or rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 229:333-346.
- [9] REFSTIE STÅLE, HELLAND STÅLE J, STOREBAKKEN T. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 1997, 153:263-272.
- [10] MUNDHEIM H, AKSNES A, HOPE B. Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities[J]. *Aquaculture*, 2004, 237(1-4):315-331.
- [11] 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, 84:395-408.
- [12] CHOU R L, HER B Y, SU M S, et al. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum* [J]. *Aquaculture*, 2004, 229:325-333.
- [13] 艾庆辉, 谢小军. 南方鲇的营养学研究: 饲料中大豆蛋白水平对生长的影响[J]. *水生生物学报*, 2002, 26(1):57-65.
- [14] 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.
- [15] 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性的影响[J]. *动物营养学报*, 2007, 19(2):182-187.
- [16] 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, *Dicentrarchus Labrax*[J]. *Aquaculture*, 2004, 230:391-404.
- [17] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 1998.
- [18] 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.
- [19] BUTTLE L G, BURRELLS A C, GOOD J E, et al. The binding of soybean agglutinin (SBA) to the intestinal epithelium of Atlantic salmon, *Salmo salar* and Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed high levels of soybean meal[J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2001, 80:237-244.
- [20] 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.