

DOI: 10.12264/JFSC2022-0348

糖基化大豆分离蛋白替代鱼粉对黄河鲤幼鱼生长及糖代谢的影响

杨智翔, 赵红月, 殷海成, 陈莹

河南工业大学生物工程学院, 河南 郑州 450001

摘要: 为探讨糖基化大豆分离蛋白(GSPI)替代鱼粉对黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)幼鱼生长和糖代谢的影响, 用 GSPI 替代 0% (GSPI 0, 对照组)、20% (GSPI 20)、40% (GSPI 40)、60% (GSPI 60)、80% (GSPI 80) 和 100% (GSPI 100) 的鱼粉配制 6 种等氮、等能(粗蛋白 35.77%、粗脂肪 6.07%)的饲料, 分别饲喂 6 组(每组 3 个重复, 每个重复 30 尾), 体重为(13.44±0.27) g 的幼鲤, 进行 8 周养殖试验。结果表明, 对比 GSPI 0 组, GSPI 60、GSPI 80 和 GSPI 100 组幼鲤的增重率(WGR)、特定生长率(SGR)及血清中生长激素(GH)、类胰岛素生长因子(IGF-I)含量均显著降低, 而 GSPI 40 组幼鲤的饲料系数(FCR)显著增加($P<0.05$)。随着 GSPI 替代鱼粉比例的增加, 幼鲤的成活率(SR)、后肠的淀粉酶活性、钠葡萄糖共转运载体 1 (SGLT1)和葡萄糖转运蛋白 2 (GLUT2)基因表达量、肝的磷酸果糖激酶(PFK)、葡萄糖-6-磷酸酶(G6PD)和磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(PEPCK)活性以及血清 GLU 含量差异不显著($P>0.05$)。对比 GSPI 0, GSPI 100 组幼鲤前肠和中肠的淀粉酶活性显著降低, 而肝脏的丙酮酸激酶活性显著增加($P<0.05$)。GSPI 40 和 GSPI 60 组幼鲤血清中胰岛素和胰高血糖素含量显著高于 GSPI 0, 且 GSPI 60 组幼鲤肝脏的己糖激酶和糖原合成酶活性及前肠和中肠 SGLT1 和 GLUT2 表达量均显著高于 GSPI 0 ($P<0.05$)。研究表明, GSPI 在幼鲤饲料中可替代 40% 鱼粉, GSPI 水平高于 40%, 其不平衡氨基酸含量可能对幼鲤生长和糖代谢产生消极影响。

关键词: 糖基化大豆分离蛋白; 鱼粉; 黄河鲤幼鱼; 生长性能; 糖代谢

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2023)04–0468–11

大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)是以豆粕为原料, 经碱溶酸沉等分离工序得到的一种蛋白产品, 因其含有比例较为合理的必需氨基酸而成为食品和饲料工业常用的蛋白^[1]。目前, 饲料中用 SPI 替代鱼粉对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[2]、丁鲷(*Tinca tinca*)^[3]和长鳍鲷(*Seriola rivoliana*)^[4]等生长性能、免疫等指标进行了评估, 发现高比例添加 SPI 会抑制这些鱼的生长并诱发肠道炎症反应和肝功能紊乱等, 原因在于其所含的大豆 β -伴球蛋白和大豆球蛋白都是大豆中有较强致敏作用的抗原蛋白^[5]。为降低或消除 SPI 的致敏性, 研究人员对其进行了理化及生物学等处理。其中, 糖基化修饰是利用 SPI 多肽链中的游离氨基(氨基酸的 ϵ -氨基)与还原糖分子末端的羟基(-OH)之间

进行脱水缩合反应^[6]。糖基化 SPI (Glycated SPI, GSPI)由于引入了糖链的-OH, 既表现出蛋白质大分子特性又表现出糖的亲水特性, 因此一定程度上改善了 SPI 的功能特性。如 GSPI 具有独特的色、香、味且更容易消化, 其酶解物也具有抗氧化、抑制病原菌等促进健康的功能, 但仍然残留一定的致敏性^[7-9]; 此外, 糖基化大豆蛋白中的糖, 不仅为鱼提供能量、减少摄入过多脂肪, 还可以节约饲料蛋白、降低养殖成本、提高养殖效益。但尚未有文献报道 GSPI 对鱼类生长及糖代谢影响。

黄河鲤(*Cyprinus carpio haematopterus*)是河南省水科院培育、全国水产原种和良种审定委员会审定通过的第 8 代优良品种(GS01-001-2004), 现已是我国黄河流域养殖的主要经济鱼类之一。

收稿日期: 2022-10-09; 修订日期: 2023-2-15.

基金项目: 河南省自然科学基金项目(222300420425); 国家级大学生创新创业训练计划项目(202110463047).

作者简介: 杨智翔(1996–), 男, 硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学研究. E-mail: 963773207@qq.com

通信作者: 殷海成, 教授, 研究方向为大豆蛋白加工与应用研究. E-mail: yhch007@126.com

目前,项目组研究了黄河鲤饲料中豆粕替代鱼粉对其生长性能、血清生化指标、消化酶、免疫功能以及肠道微生态等影响^[10],但尚未评估 GSPI 替代鱼粉对其生长性能及糖代谢的影响。为此,本研究用 GSPI 替代鱼粉探讨其对黄河鲤幼鱼(幼鲤)的生长性能和对血清、肠、肝中与糖代谢相关的酶活性、激素和调节因子含量以及转运载体基因表达的影响,旨在为 GSPI 在水产动物饲料中应用提供基础数据,也为研发黄河鲤低鱼粉饲料配方提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 GSPI 的制备

大豆分离蛋白从河南阳光油脂公司购买,蛋白含量为 90.2% (N 含量 $\times 6.25$)。GSPI 通过 Maillard 反应制备。将葡聚糖与大豆分离蛋白按 1:3 的质量比(g:g)均匀溶解于蒸馏水中,使最终质量浓度为 6%,在 4℃条件下静置 6 h 后,于 95℃电热恒温水浴条件下轻轻搅拌 12 h,随后通过冰浴冷却 10 min,终止 Maillard 反应,然后在 4℃、2000 $\times$ g 离心 20 min,收集上清液转入透析袋,于蒸馏水中透析 24 h,冷冻干燥制得葡萄糖 GSPI,并用 Dumas 法(N 含量 $\times 5.71$)测冻干样品的蛋白质量分数为 75.5%。

参照文献[11]中介绍的 OPA 法测糖化度。用游离的氨基酸含量表征产物的糖化度(grafting degree, DG)为 30%。采用布冠好等^[5]建立的间接-ELISA 方法评估 GSPI 的致敏性(用抗原抑制率表示,%),抗原抑制率为 23.30%。

1.2 试验饲料

以鱼粉(粗蛋白为 64.5%,粗脂肪为 6.5%)、GSPI(粗蛋白为 75.5%,粗脂肪为 0.53%)和花生粕(粗蛋白为 12.0%,粗脂肪为 16.5%)为主要蛋白源,鱼油为主要脂肪源,添加玉米淀粉、次粉等碳水化合物,并补充矿物质和维生素。按照 SC/T 1026-2002 鲤鱼营养标准,用 GSPI 替代 0%(对照组,GSPI 0)、20%(GSPI 20)、40%(GSPI 40)、60%(GSPI 60)、80%(GSPI 80)和 100%(GSPI 100)的鱼粉,配制 6 种等氮(粗蛋白为 35.77%)、等能(粗脂肪为 6.07%)的试验饲料。各饲料原料组分经粉

碎后过 60 目筛,分别按配方需求精准称重,混合均匀(鱼油、氨基酸、维生素等组分先用逐级放大方法混合均匀),再加水搅拌使其充分湿润,最后用 SLKL-120B 制粒机(曲阜市圣鲁机械厂)加工成直径为 1.5 mm 的颗粒饲料,阴凉处风干、装袋、冰箱保存(4℃)备用。各试验饲料组成及营养水平见表 1、氨基酸组成见表 2。

1.3 幼鲤及其管理

试验用幼鲤购自河南省水产科学研究院种鱼繁殖场,经盐水(4%)消毒处理,在水泥池中用 GSPI 0 进行 2 次/d 驯养 7 d。驯养结束后选择健康、规格一致、初始体重(13.44 ± 0.27) g 的幼鲤 540 尾,随机分为 6 组,每组 3 个重复,每个重复 30 尾,分养于 18 个(长 100 cm、宽 60 cm、高 70 cm)配有自动水循环系统的蓝色水族箱(有效水容积为 80%)中。每种饲料随机分配给 3 个水族箱并于每天 9:00 和 17:00 投喂,日投喂量为鱼体重的 3.0%~3.5%,每次投喂 1 h 后捞出残余料并烘干,试验期 8 周。整个试验期内控制水质[水温(26.0 ± 1.0)℃,溶解氧大于 6.0 mg/L,氨氮低于 0.5 mg/L, pH 为 7.2~7.5],保持微流水,每日换水量约占水族箱水量的 1/3。

1.4 样本采集

试验期结束时停喂使幼鲤空腹 24 h,测各重复组幼鲤的终末体重(W_t),计算生长性能指标。称重后,随机从各重复组取 3 尾,用 1:10000 的丁香酚溶液(体积比)麻醉,用 75%乙醇擦拭体表和 PBS 清洗后进行心脏取血。所取血液在 4℃条件下 4000 g 离心 10 min,分离血清,置于-80℃保存,用于血糖相关的激素及调节因子含量测定。对取血后的鱼在冰盘中迅速解剖,分离肠(前、中、后肠)和肝组织。所有肠、肝样本迅速置于-80℃超低温冰箱保存备用。

空腹 24 h 后的剩余各重复组鱼继续投喂各自饲料,2 h 后,从各重复组随机选取 3 尾(每组 9 尾),按照上述同样方法取肠道组织,于液氮中冷冻保存。

1.5 生长指标测定

增重率(weight gain ratio, WGR, %) $= (W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$

表 1 试验饲料的组成及营养水平(风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of the experimental diets (air-dry basis)

原料 ingredient	GSPI 替代鱼粉蛋白的比例 replacement ratio of fish meal protein by GSPI						%
	GSPI 0	GSPI 20	GSPI 40	GSPI 60	GSPI 80	GSPI 100	
鱼粉 fish meal	25.00	20.00	15.00	10.00	5.00	0.00	
糖基化大豆分离蛋白 GSPI	0.00	4.28	8.54	12.82	17.09	21.36	
玉米蛋白粉 corn gluten meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	
花生粕 peanut meal	20.00	20.00	22.00	22.00	23.00	23.00	
米糠粕 rice bran	13.00	12.85	13.03	13.12	13.28	13.48	
鱼油 fish oil	2.00	2.00	2.10	2.30	2.50	2.70	
玉米淀粉 maize starch	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	
次粉 wheat middling	20.00	20.00	18.00	18.00	17.00	17.00	
食盐 NaCl	0.00	0.10	0.20	0.20	0.50	0.65	
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·2H ₂ O	0.00	0.77	1.13	1.56	1.63	1.81	
氯化胆碱 choline chloride	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	
甜菜碱 betaine	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	
矿物质预混料 ¹ mineral premix ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	
维生素预混料 ² vitamin premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
营养成分 proximate composition ³							
粗蛋白 crude protein	35.97	35.7	35.94	35.68	35.78	35.52	
粗脂肪 crude lipid	6.13	6.11	6.08	6.05	6.03	6.01	
灰分 ash	10.44	10.48	10.52	10.55	10.57	10.58	
钙 calcium	1.22	1.21	1.18	1.14	1.12	1.08	
磷 phosphorus	1.82	1.81	1.80	1.77	1.79	1.78	

注: ¹矿物质预混料(mg/kg): 碘化钾 63 mg; 氯化钾 209 mg; 硫酸钴 80 mg; 硫酸亚铁 460 mg; 硫酸铜 25 mg; 硫酸锌 175 mg; 硫酸镁 800 mg; 硫酸锰 80 mg; 亚硒酸钠 51 mg. ²维生素预混料(g/kg): 维生素 A 0.80 g, 维生素 D₃ 0.45 g, 维生素 E 20.00 g, 维生素 K₃ 0.20 g, 维生素 B₁₂ 0.10 g, D-生物素 5.00 g, 叶酸 0.50 g, 盐酸硫胺素 0.12 g, 维生素 C 7.18 g, 维生素 B₆ 0.75 g, 烟酸 4.10 g, 肌醇 52.35 g, 泛酸钙 2.55 g, 核黄素 0.63 g, 面粉 905.25 g. ³营养成分为测量值.

Note: ¹mineral premix (mg/kg): KI, 63 mg; KCl, 209 mg; CoSO₄, 80 mg; FeSO₄·H₂O, 460 mg; CuSO₄·5H₂O, 25 mg; ZnSO₄·H₂O, 175 mg; MgSO₄·7H₂O, 800 mg; MnSO₄·H₂O, 80 mg; Na₂SeO₃, 51 mg. ²vitamin premix (g/kg): vitamin A 0.80 g, vitamin D₃ 0.45 g, vitamin E 20.00 g, vitamin K₃ 0.20 g, vitamin B₁₂ 0.10 g, D-biotin 5.00 g, folic acid 0.50 g, thiamin nitrate 0.12 g, vitamin C 7.18 g, vitamin B₆ 0.75 g, niacin 4.10 g, inositol 52.35 g, calcium-D-pantothenate 2.55 g, riboflavine 0.63 g, wheat flour 905.20 g. ³crude protein, crude lipid and ash were measured values.

特定生长率(specific growth ratio, SGR, %/d)=
 $(\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$
饲料系数(feed conversion ratio, FCR)= $F / (W_t - W_0)$
成活率(survival rate, SR, %)= $100\% \times (S_t - S_0) / N_0$
式中, W_0 和 W_t 分别表示试验鱼的初始和终末体重;
 t 为时间(d); F 表示每个重复组试验鱼饲喂的总饲料量减去剩余饲料量即摄食量; S_0 和 S_t 分别表示
养殖试验开始和结束时试验鱼的尾数。

1.6 组织样本粗酶液的制备及酶活性的测定

将肝和前、中、后肠组织样本分别置于 4 ℃

生理盐水中清洗以去除血液, 经滤纸拭干、称重, 放入匀浆器中, 并向其中加入 9 倍质量的 4 ℃、0.85%生理盐水, 然后匀浆和 4 ℃、5000 r/min 离心 15 min, 取上清液(即粗酶液), 保存于-80 ℃冰箱。

肠样本中淀粉酶活性检测用碘-淀粉比色法; 肝中与糖代谢相关的己糖激酶(hexokinase, HK)、丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)、葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)、磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK)、磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)、糖原合成酶(glycogen synthetase, GS)活性, 血清中与血糖相关的胰岛素(insulin, INS)、

表 2 试验饲料氨基酸组成及含量(干物质)
Tab. 2 Amino acid profiles in the test diets (dry matter)

氨基酸 amino acid	GSPI 0	GSPI 20	GSPI 40	GSPI 60	GSPI 80	GSPI 100	%
苏氨酸 Thr△	1.38	1.29	1.22	1.19	1.10	1.05	
缬氨酸 Val△	1.77	1.71	1.61	1.57	1.48	1.44	
蛋氨酸 Met△	0.58	0.52	0.41	0.35	0.30	0.25	
异亮氨酸 Ile△	1.02	1.04	1.12	1.13	1.20	1.21	
亮氨酸 Leu△	3.14	3.21	3.31	3.37	3.48	3.54	
苯丙氨酸 Phe△	1.57	1.55	1.59	1.60	1.61	1.62	
赖氨酸 Lys△	2.24	2.15	1.93	1.84	1.61	1.50	
组氨酸 His△	0.66	0.68	0.73	0.76	0.81	0.83	
精氨酸 Arg△	1.66	1.57	1.44	1.36	1.24	1.17	
天门冬氨酸 Asp	3.63	3.68	3.79	3.85	3.96	4.07	
丝氨酸 Ser	2.21	2.12	1.91	1.89	1.82	1.69	
谷氨酸 Glu	4.82	4.94	4.99	5.02	5.14	5.30	
甘氨酸 Gly	2.62	2.70	2.77	2.81	2.97	3.09	
丙氨酸 Ala	2.39	2.00	1.93	1.87	1.82	1.80	
半胱氨酸 Cys	0.25	0.29	0.32	0.45	0.56	0.63	
酪氨酸 Tyr	1.02	1.13	1.15	1.17	1.22	1.21	
脯氨酸 Pro	1.24	1.30	1.35	1.41	1.50	1.53	
必需氨基酸含量 EAA	14.02	13.72	13.36	13.17	12.83	12.61	
总氨基酸量 TAA	32.2	31.88	31.57	31.64	31.82	31.93	

注: △表示必需氨基酸。
Notes: △denotes essential amino acids.

胰高血糖素(glucagon, GC)、生长激素(growth hormone, GH)及与调节因子相关的葡萄糖(glucose, GLU)、类胰岛素生长因子(insulin-like growth factor, IGF-I)含量用 ELISA 双抗体夹心法检测。所有试剂盒从南京建成生物工程研究所购买,检测方法按照说明书进行。

1.7 肠组织样本转运载体基因 mRNA 表达

1.7.1 总 RNA 的提取 采用 Trizol 法从肠样本中提取总 RNA。将肠样本在液氮中研磨成末,粉末转入 2.5 mL 离心管中,再加入 1.5 mL Trizol 裂解液,提取并纯化总 RNA。其纯度和浓度用 Evolution 260 Bio (Thermo Scientific, USA)多功能酶标仪检测,完整性用 1%琼脂糖凝胶电泳检测。用 Prime Script™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Code: 6110A; TaKaRa, Japan)将 1 μL 的总 RNA 反转录为 cDNA (具体过程按试剂盒说明书),于 -20 ℃保存,用于钠葡萄糖共转运载体 1 (SGLT1)和葡萄糖转运蛋白 2 (GLUT2)基因表达的检测。

1.7.2 转运载体基因 mRNA 表达量的检测 根据 GenBank 中鲤的 SGLT1 和 GLUT2 基因序列,利用 Premier 5.0 软件设计引物(引物序列见表 3,大小为 100~250 bp),由苏州金唯智生物科技有限公司(江苏)合成。

表 3 转运载体基因引物表
Tab. 3 The primers of genes of transporter

引物 primer	序列 (5'-3') sequence (5'-3')	登录号 accession no
SGLT1-F	GACTAAAGAAGAGGAGGCA	JN867793.1
SGLT1-R	CAGACGGTGAGGAGGATA	
GLUT2-F	ACTCCTGTTTCGGTTTCAC	AF247730.1
GLUT2-R	CCATCTCAGCCTCTTCTT	
β-actin-F	CCGTGACATCAAGGAGAA	M24113
β-actin-R	GATACCGCAAGATTCCATAC	

实时荧光定量 PCR 技术根据 SYBR® Premix Dimer Eraser™ (Perfect Real Time; RR091A)试剂盒说明书进行,采用 SYBR Green I 染色法,在 Bio-Rad iQ5 Real Time PCR System (USA)下进

行。PCR 反应体系为 20 μL 。包括 10 μL 的 SYBR 预混液(2 $\times$)、上下游引物各 0.8 μL (10 $\mu\text{mol/L}$)、1 μL 的 cDNA 和 7.4 μL 的灭菌蒸馏水; 扩增条件: 预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 退火 60 $^{\circ}\text{C}$ 35 s, 39 个循环。以 β -actin 基因为内参和用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算目标基因的相对表达量。

1.8 统计分析

试验数据用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示。使用 SPSS 22.0 软件对数据进行 One-way ANOVA, Duncan's 法进行多重比较, 差异显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 糖基化大豆分离蛋白对幼鲤生长性能的影响

随饲料中 GSPI 替代鱼粉比例的增加, 幼鲤 FBW、WGR 和 SGR 呈降低的趋势, FCR 呈增加的趋势(表 4)。其中 GSPI 80 和 GSPI 100 组的 FBW 显著低于 GSPI 0 和 GSPI 20 组($P<0.05$); GSPI 60 组的 WGR 和 SGR 显著低于 GSPI 0 ($P<0.05$); GSPI 80 和 GSPI 100 组的 FCR 显著高于 GSPI 40 ($P<0.05$)。各处理组幼鲤 SR 差异不显著($P>0.05$)。

表 4 GSPI 替代鱼粉对幼鲤生长指标的影响
Tab. 4 Effects of replacing fish meal with GSPI on growth indices of juvenile *Cyprinus carpio haematopterus*

n=3; $\bar{x} \pm \text{SD}$						
组别 group	初始体重/g IBW	终末体重/g FBW	增重率/% WGR	特定生长率/(%/d) SGR	饲料系数 FCR	成活率/% SR
GSPI 0	13.45 $\pm$ 0.13	35.67 $\pm$ 1.22 ^a	165.18 $\pm$ 4.38 ^a	1.75 $\pm$ 0.03 ^a	1.42 $\pm$ 0.07 ^c	100 $\pm$ 0.0
GSPI 20	13.42 $\pm$ 0.11	32.60 $\pm$ 1.04 ^a	142.89 $\pm$ 3.81 ^{ab}	1.59 $\pm$ 0.01 ^{ab}	1.68 $\pm$ 0.11 ^{bc}	100 $\pm$ 0.00
GSPI 40	13.38 $\pm$ 0.08	31.63 $\pm$ 2.03 ^{ab}	136.41 $\pm$ 2.76 ^{ab}	1.54 $\pm$ 0.04 ^{ab}	1.71 $\pm$ 0.05 ^b	100 $\pm$ 0.00
GSPI 60	13.35 $\pm$ 0.14	30.13 $\pm$ 0.95 ^{abc}	125.72 $\pm$ 5.04 ^b	1.45 $\pm$ 0.07 ^b	1.78 $\pm$ 0.03 ^{ab}	100 $\pm$ 0.00
GSPI 80	13.52 $\pm$ 0.07	28.25 $\pm$ 1.01 ^{bc}	108.96 $\pm$ 2.33 ^{bc}	1.32 $\pm$ 0.02 ^{bc}	1.96 $\pm$ 0.07 ^a	100 $\pm$ 0.00
GSPI 100	13.53 $\pm$ 0.05	26.62 $\pm$ 1.36 ^c	96.77 $\pm$ 3.26 ^c	1.21 $\pm$ 0.05 ^c	1.99 $\pm$ 0.04 ^a	100 $\pm$ 0.00

注: 同行数据上标表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.2 糖基化大豆分离蛋白对幼鲤肠道淀粉酶活性的影响

随着 GSPI 替代鱼粉比例的增加, 试验幼鲤前肠和中肠淀粉酶活性先略有增加然后显著降低(表 5)。在替代 40%鱼粉的 GSPI 40 组, 前肠、中肠淀粉酶活性最高, 分别为 0.34 和 0.35 U/mg, 与 GSPI 0、GSPI 20、GSPI 60 和 GSPI 80 各组差异不显著($P>0.05$), 但显著高于替代比例为 100%的 GSPI 100 组($P<0.05$)。随 GSPI 替代鱼粉比例增加, 后肠淀粉酶活性对比 GSPI 0 差异不显著($P>0.05$), 但略有降低。

2.3 糖基化大豆分离蛋白对幼鲤肝脏糖代谢酶活性的影响

肝脏中与糖酵解相关的 HK 和 PK 活性随 GSPI 替代鱼粉水平的增加均发生显著变化($P<0.05$)。其中, HK 活性随 GSPI 替代鱼粉水平的增加先显著增加后显著降低($P<0.05$)。在替代水平为 60% (GSPI 60)时达到最高, 显著高于 GSPI 0 和 GSPI 100 处理组($P<0.05$)。PK 活性随 GSPI 替

代鱼粉水平的增加显著增加($P<0.05$)。当替代水平为 100%时达到最高, 且显著高于 GSPI 0 和 GSPI 20 组($P<0.05$)。肝脏中的 PFK 和 G6PD 活性各组间差异不显著($P>0.05$)。

表 5 GSPI 替代鱼粉对幼鲤肠道淀粉酶活性的影响

Tab. 5 Effects of replacing fish meal with GSPI on amylase activities in intestine of juvenile *Cyprinus carpio haematopterus*

n=9; $\bar{x} \pm \text{SD}$; U/mg			
组别 group	前肠 foregut	中肠 midgut	后肠 hindgut
GSPI 0	0.31 $\pm$ 0.04 ^a	0.30 $\pm$ 0.03 ^a	0.42 $\pm$ 0.01
GSPI 20	0.32 $\pm$ 0.03 ^a	0.33 $\pm$ 0.05 ^a	0.41 $\pm$ 0.04
GSPI 40	0.34 $\pm$ 0.01 ^a	0.35 $\pm$ 0.01 ^a	0.41 $\pm$ 0.02
GSPI 60	0.31 $\pm$ 0.02 ^a	0.30 $\pm$ 0.02 ^{ab}	0.39 $\pm$ 0.02
GSPI 80	0.29 $\pm$ 0.03 ^{ab}	0.28 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.37 $\pm$ 0.01
GSPI 100	0.23 $\pm$ 0.05 ^b	0.22 $\pm$ 0.03 ^b	0.37 $\pm$ 0.03

注: 同行数据上标表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

肝脏中与糖合成相关的 GS 活性变化与 HK 类似。当替代水平为 60%时, GS 活性达到最高, 显

著高于 GSPI 0、GSPI 20 和 GSPI 100 处理组 ($P<0.05$)。而 PEPCK 活性不受 GSPI 添加水平的影响($P>0.05$)(表 6)。

2.4 GSPI 替代鱼粉对幼鲤血清中糖代谢相关激素及调节因子的影响

随 GSPI 替代鱼粉水平的增加各组幼鲤血清中 INS 和 GC 含量先升后降(表 7)。当替代水平为

40%时, INS 和 GC 含量最高, 分别显著高于 GSPI 0、GSPI 20 和 GSPI 0、GSPI 80、GSPI 100 处理组($P<0.05$)。GH 随 GSPI 替代鱼粉水平的增加而显著降低($P<0.05$); 在替代水平为 100%时, GH 含量降至最低, 显著低于替代水平为 0%、20%和 40%处理组($P<0.05$)。GH 随 GSPI 替代鱼粉水平的增加, IGF-1 含量变化与 GH 类似。

表 6 GSPI 替代鱼粉对幼鲤肝脏葡萄糖分解与合成酶活性的影响
Tab. 6 Effects of replacing fish meal with GSPI on activities of degrading enzymes and synthase and composition in liver of juvenile *Cyrinus carpio haematopterus*

n=9; $\bar{x} \pm SD$

组别 group	分解酶(U/g prot) glucose degrading enzyme				合成酶(U/g prot) glucose synthase	
	己糖激酶 HK	丙酮酸激酶 PK	磷酸果糖激酶 PFK	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 G6PD	糖原合成酶 GS	磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 PEPCK
GSPI 0	3.86±0.45 ^b	259.13±4.88 ^b	261.97±28.34	5.55±0.17	46.14±0.37 ^b	11.33±0.81
GSPI 20	4.54±0.66 ^{ab}	261.20±3.41 ^b	264.75±10.37	5.89±0.13	48.42±0.81 ^b	10.02±1.53
GSPI 40	5.16±0.41 ^{ab}	273.41±1.90 ^{ab}	273.75±12.14	6.09±0.21	52.48±0.52 ^{ab}	10.54±2.32
GSPI 60	7.12±0.98 ^a	280.71±1.39 ^{ab}	266.90±11.85	6.21±0.09	56.37±1.07 ^a	11.73±2.04
GSPI 80	5.75±0.86 ^{ab}	275.55±2.19 ^{ab}	279.31±10.66	5.86±0.25	53.46±0.69 ^{ab}	9.63±0.75
GSPI 100	4.04±0.70 ^b	290.32±3.44 ^a	275.71±9.49	5.79±0.17	50.48±0.83 ^b	10.19±1.24

注: 同行数据上标表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 7 GSPI 替代鱼粉对幼鲤血清中糖代谢相关激素和调节因子含量的影响
Tab. 7 Effects of replacing fish meal with GSPI on the contents of glucose metabolism-related hormones and factors in serum of juvenile *Cyrinus carpio haematopterus*

n=9; $\bar{x} \pm SD$

组别 group	糖代谢相关激素 glucose metabolism-related hormone			糖代谢相关调节因子 glucose metabolism-related regulatory factor	
	胰岛素/(nmol/L) INS	胰高血糖素/(ng/L) GC	生长激素/(μg/L) GH	葡萄糖/(mmol/L) GLU	类胰岛素生长因子/(μg/L) IGF-1
GSPI 0	22.32±1.31 ^b	569.48±6.61 ^b	17.06±0.74 ^a	5.13±0.39	17.16±0.36 ^a
GSPI 20	23.68±0.27 ^b	573.66±4.78 ^{ab}	16.19±0.27 ^a	5.01±0.22	16.47±0.17 ^a
GSPI 40	26.82±0.63 ^a	580.01±3.33 ^a	16.15±0.63 ^a	5.49±0.13	16.11±0.45 ^a
GSPI 60	26.37±1.10 ^a	578.47±5.31 ^a	15.66±0.54 ^{ab}	5.87±0.28	16.02±0.24 ^{ab}
GSPI 80	24.76±0.54 ^{ab}	564.53±4.25 ^b	14.84±0.31 ^b	6.02±0.09	15.22±0.24 ^b
GSPI 100	24.51±0.32 ^{ab}	560.43±2.94 ^b	14.16±0.22 ^b	6.14±0.42	14.74±0.55 ^b

注: 同行数据上标表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.5 GSPI 替代鱼粉对幼鲤肠道 GLUT2 及 SGLT1 基因表达量的影响

由表 8 可知, 随 GSPI 替代鱼粉水平的增加, 各组幼鲤前肠、中肠组织中 SGLT1、GLUT2 表达先显著增加后又显著降低($P<0.05$)。当替代水平为 60%时, SGLT1、GLUT2 表达量分别达到最高(1.47、3.48、2.31 和 2.76), 分别显著高于 GSPI 0、

GSPI 20、GSPI 40 和 GSPI 100 处理组($P<0.05$)。后肠 SGLT1、GLUT2 表达未受 GSPI 替代鱼粉水平的显著影响($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 GSPI 替代鱼粉对鲤幼鱼生长性能的影响
鱼类的生长受诸如水环境温度、个体体质、

表 8 GSPI 替代鱼粉对幼鲤肠道 SGLT1 及 GLUT2 基因表达量的影响
Tab. 8 Effects of replacing fish meal with GSPI on expression levels of SGLT1 and GLUT2 genes in intestine of juvenile *Cyrinus carpio haematopterus*

$n=9$; $\bar{x} \pm SD$

组别 group	前肠 foregut		中肠 midgut		后肠 hindgut	
	SGLT1	GLUT2	SGLT1	GLUT2	SGLT1	GLUT2
GSPI 0	1.00±0.00 ^c	1.00±0.00 ^c	1.00±0.00 ^c	1.00±0.00 ^c	1.00±0.00	1.00±0.01
GSPI 20	0.88±0.02 ^c	1.06±0.00 ^c	1.08±0.01 ^c	1.09±0.00 ^c	0.84±0.02	0.79±0.02
GSPI 40	1.19±0.01 ^{bc}	1.69±0.00 ^{bc}	1.32±0.04 ^{bc}	1.26±0.00 ^{bc}	0.98±0.01	0.87±0.00
GSPI 60	1.47±0.03 ^a	3.48±0.00 ^a	2.31±0.05 ^a	2.76±0.00 ^a	1.09±0.02	0.94±0.01
GSPI 80	1.34±0.02 ^{ab}	2.31±0.00 ^{ab}	1.86±0.12 ^{ab}	1.95±0.00 ^{ab}	1.08±0.05	0.83±0.03
GSPI 100	1.31±0.01 ^b	2.49±0.00 ^b	1.66±0.01 ^b	1.76±0.00 ^b	0.92±0.01	0.75±0.02

注：同行数据上标表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in the same line with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

饲料营养水平等多方面的影响,其中最为重要的因素之一是饲料蛋白质影响^[12]。本研究 GSPI 替代鱼粉对幼鲤生长性能的影响。结果显示,随 GSPI 替代鱼粉比例的升高,幼鲤的 FBW、WGR 和 SGR 呈下降趋势,而 FCR 呈增加趋势。GSPI 80 组的 FBW、GSPI 60 组的 WGR 和 SGR 显著低于对照 GSPI 0 组,而 GSPI 40 组的 FCR 显著高于对照 GSPI 0 组。其原因之一或许与黄河鲤的食性有关。黄河鲤属于杂食性鱼类,能适应一定程度的植物蛋白,相对于动物源的蛋白质依赖度减少,通过增加一定的摄食量减少植物性蛋白对生长的影响^[13];其原因之二,GSPI 中含有一定的葡萄糖,葡萄糖是鱼组织中优先被氧化的底物,可抑制鱼的肝糖异生作用,有效抑制氨基酸进入氧化途径,从而维持正常生长作用^[14]。但当 GSPI 替代鱼粉比例为 60%或更高时,其 WGR 和 SGR 显著降低。这可能与 GSPI 中的必需氨基酸的含量不足有关(GSPI 80 和 GSPI 100 对比 GSPI 0 分别减少 8.49%和 10.06%)。氨基酸的不平衡性或含量不足可能对黄河鲤幼鱼的生长产生了抑制作用^[15]。此外,研究证实,糖基化大豆蛋白仍具有致敏性^[7],因此 GSPI 中的致敏因子大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白影响幼鲤对营养物质消化与吸收,从而影响生长性能。因此,GSPI 替代 40%的鱼粉不会影响黄河鲤幼鱼的生长。

3.2 GSPI 替代鱼粉对鲤幼鱼肠道淀粉酶活性的影响

淀粉等碳水化合物经消化道淀粉酶水解最终

分解为易吸收的葡萄糖。因此,淀粉酶活性是影响淀粉分解消化与吸收的关键因素。本研究结果表明,添加低于 80%的 GSPI 各组黄河鲤幼鱼的前肠、中肠和后肠淀粉酶活性均未受到显著影响。这表明添加一定比例的 GSPI 不影响黄河鲤幼鱼对淀粉的消化能力。同样,吴莉芳等^[16]研究不同大豆蛋白源替代鱼粉对鲤淀粉酶性能影响,结果也显示影响不显著。这一结论在翘嘴红鲌的饲料中用豆粕替代 27%的鱼粉蛋白时也得到验证^[17]。以上研究结果表明,适量添加不同类型大豆蛋白不影响淡水养殖鱼类肠道的消化酶活性,这也是其适应高大豆蛋白含量饲料而不影响生长的重要原因;同时黄河鲤的杂食性,能够根据摄食的不同饲料来调节自身淀粉酶的分泌。此外,GSPI 中含有一定量的葡萄糖和其他淀粉类物质,这些碳水化合物诱导了黄河鲤幼鱼肠道淀粉酶的分泌,从而使肠道淀粉酶活性不因大豆分离蛋白含量增加而降低。然而,大豆分离蛋白中含有的多种抗原蛋白等抗营养因子,摄入过多影响肠道健康,抑制消化酶活性等^[18]。本研究结果显示,GSPI 100 组黄河鲤幼鱼前肠、中肠的淀粉酶活性显著低于 GSPI 0 组。显然,高比例添加 GSPI 显著抑制黄河鲤幼鱼淀粉酶活性,这与所含的大豆抗原蛋白等有关。

3.3 GSPI 替代鱼粉对鲤幼鱼肝脏糖代谢酶活性的影响

HK 是糖酵解途径中的关键起始酶,因此 HK 缺乏或活性低是鱼类对糖的利用能力较低的原

因^[19]。在 Furuichi 等^[20]对鱼类 HK 的研究中认为,鱼类在摄入葡萄糖或高碳水化合物后其 HK 的活性会升高;但也有研究者发现,在鱼摄食含高碳水化合物的饲料后,对 HK 的活性无影响^[21]。本研究结果显示,黄河鲤幼鱼 HK 活性随 GSPI 替代鱼粉水平的增加先显著升高,之后再提高替代水平, HK 活性则又显著降低。HK 活性降低或许是因为其酶解产生的葡萄糖-6-磷酸引起了负反馈调节作用^[22]。同时本研究也显示,黄河鲤幼鱼肝脏 PK 活性随 GSPI 替代鱼粉水平的增加而显著增加。PK 活性增加一定程度上促进了其对葡萄糖的酵解,以缓解或预防鱼的高血糖症状^[23]。肝脏是合成、贮藏糖原的最重要器官,糖原是机体能量来源最重要的物质,对稳定机体正常新陈代谢有重要作用,其含量受 GS 影响^[24]。研究发现,鱼类在应对应激时,会激活 GS 并动用肌肉、肝脏的糖原来获得足够的能量。如花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 肝脏中糖原含量则在低氧应激后显著降低^[25]。本研究黄河鲤幼鱼在投喂高比例 GSPI 饲料后,GS 活性较对照组增加,血中葡萄糖含量明显升高,由此说明有大量葡萄糖吸收入血,以应对 GSPI 中大豆抗原蛋白的应激。通常,鱼类的 PEPCK(糖异生的关键酶)活性相对比较稳定,对于糖以及其他营养组分反应不敏感^[26]。但也有研究表明,饲料碳水化合物降低 PEPCK 活性^[27]。本研究结果显示,GSPI 水平对 PFK、G6PD 和 PEPCK 的影响差异不显著。

3.4 GSPI 替代鱼粉对鲤幼鱼血清中糖代谢相关激素及调节因子的影响

胰岛素(INS)是动物体内唯一降血糖的激素,与升血糖的 GC 之间有拮抗作用,对于调节和维持动物血糖动态平衡发挥关键重要作用^[24]。在本试验中,随 GSPI 替代鱼粉水平的增加,血清中 INS 及 GC 含量均呈现显著升高的趋势,表明 INS 与 GC 之间协同维持血糖含量。而值得注意的是 GSPI 替代鱼粉水平超过 80% 的处理组,INS 含量与 GSPI 60 组差异不显著,而 GC 含量则显著下降,这也说明黄河鲤幼鱼在摄食含高比例 GSPI 饲料后血糖水平较高,这也从血糖含量检测得到证实,因此富含葡萄糖的 GSPI 有利于葡萄糖吸收。此

外,研究证实,GSPI 在动物机体更容易消化,产生更多氨基酸^[28]。Mommse 等^[29]研究指出,饲料中补充氨基酸或蛋白更易水解能有效刺激胰岛素的合成与释放,并影响糖酵解和糖异生相关酶活性。GH 是动物机体的重要因子,具有促进生长和新陈代谢的作用,其在肝脏中与其受体结合,激活 IGF-1 的合成与分泌^[30]。而 IGF-1 作为一类多功能细胞分化与增殖的重要调控因子,参与促进动物的生长、调控组织器官的功能,且具有与 INS 类似的功能,如降血糖和血脂,因此被称为类胰岛素生长因子^[31]。本实验研究结果显示,随 GSPI 替代鱼粉水平增加到 60%,各组 GH 和 IGF-1 含量没有显著差异,再增加替代水平, GH 和 IGF-1 含量显著降低,说明饲喂含高比例 GSPI 饲料会导致血清 IGF-1 含量下降。同样结果在对金头鲷^[32] (*Sparus aurata*) 的研究中也有发现。此外,研究表明,赖氨酸和蛋氨酸不足也可影响 IGF-1 基因的表达^[33],因此高比例 GSPI 替代鱼粉组中较低的赖氨酸和蛋氨酸水平有可能是引起黄河鲤幼鱼血清中 IGF-1 含量下降的另一原因。

3.5 GSPI 替代鱼粉对鲤幼鱼肠道 GLUT2 及 SGLT1 基因表达量的影响

饲料中的葡萄糖及淀粉等水解后的葡萄糖主要依赖肠黏膜上皮细胞上的 SGLT1 与 GLUT2 转运体进行吸收^[34],因此,两个基因的 mRNA 表达水平也影响着鱼对淀粉的分解利用能力。崔培等^[35]发现,在鲤饲料中添加一定量蛋氨酸铬能增强其 GLUT2 基因的表达,促进对糖吸收作用。孙金辉等^[24]研究鲤摄食不同淀粉及糖蛋白质比 8 周,发现鲤前肠中的 GLUT2 基因和后肠中的 SGLT1 基因表达量随饲料中的糖含量增加而增强。本实验结果发现,随 GSPI 替代鱼粉水平的增加,前肠和中肠的 SGLT1 和 GLUT2 的 mRNA 表达量呈先显著升高后显著降低,提示饲料中 GSPI 比例会对肠中盐和糖的转运载体基因表达量产生影响。可见饲料中的多种营养组分会影响转运载体 SGLT1 和 GLUT2 表达。此外,在对后肠 SGLT1 和 GLUT2 表达研究中发现,二者的基因表达量均未受 GSPI 的影响,推测这可能是因为 GSPI 对后肠的影响较小。

4 结论

通过 GSPI 替代鱼粉对幼鲤生长性能及血清、肝、肠中与糖代谢相关指标的观察发现, 饲料中 GSPI 替代 40% 鱼粉不会影响黄河鲤幼鱼的生长性能, 再提高替代水平不仅显著降低生长性能, 而且影响幼鲤前肠和中肠的淀粉酶活性及 *SGLT1*、*GLUT2* 基因表达, 影响肝脏的 HK 和 GS 活性及血清中的 GC、GH 和 IGF-1 含量, 这种影响归于 GSPI 中必需氨基酸含量不足及残余致敏性。同时注意到, GSPI 中的葡萄糖使血糖水平增加, 能一定程度上缓解 GSPI 残余致敏性对黄河鲤幼鱼的肝、肠道负面影响。

参考文献:

- [1] Xu Z Z, Huang G Q, Xu T C, et al. Comparative study on the Maillard reaction of chitosan oligosaccharide and glucose with soybean protein isolate[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 601-607.
- [2] Kaushik S J, Cravedi J P, Lalles J P, et al. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 1995, 133(3-4): 257-274.
- [3] González-Rodríguez Á, Celada J D, Carral J M, et al. Evaluation of pea protein concentrate as partial replacement of fish meal in practical diets for juvenile tench (*Tinca tinca* L.)[J]. Aquaculture Research, 2016, 47(9): 2825-2834.
- [4] Kissinger K R, García-Ortega A, Trushenski J T. Partial fish meal replacement by soy protein concentrate, squid and algal meals in low fish-oil diets containing *Schizochytrium limacinum* for longfin yellowtail *Seriola rivoliana*[J]. Aquaculture, 2016, 452: 37-44.
- [5] Bu G H, Zhu T W, Chen F S. Effects of glycation modification on soybean protein antigenicity and structural properties[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(1): 34-39. [布冠好, 朱婷伟, 陈复生. 糖基化改性对大豆蛋白抗原性及结构特性的影响[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(1): 34-39.]
- [6] Song C L, Ren J, Chen J P, et al. Effect of oligochitosan glycosylation and limited enzymatic hydrolysis on structure and antioxidant activities of soybean protein[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(11): 65-69. [宋春丽, 任健, 陈佳鹏, 等. 糖基化及限制性酶解对大豆蛋白结构和抗氧化活性的影响[J]. 中国油脂, 2017, 42(11): 65-69.]
- [7] Liu J Y, Wang R C, Lü Y, et al. Effects of phosphorylation and glycosylation on the digestibility of soybean protein *in vitro*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(2): 89-99. [刘静媛, 王睿黎, 吕莹, 等. 磷酸化和糖基化对大豆蛋白体外消化性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 89-99.]
- [8] Ren J H. Study on the mechanism and stability of soybean glycopeptides inhibiting pathogenic bacteria adhesion[D]. Beijing: China Agricultural University, 2013. [任建华. 大豆糖肽抑制致病菌粘附机制及稳定性研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2013.]
- [9] Sui X N, Bi S, Qi B K, et al. Impact of ultrasonic treatment on an emulsion system stabilized with soybean protein isolate and lecithin: Its emulsifying property and emulsion stability[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 727-734.
- [10] Yin H C, Huang J, Li X S, et al. Effect of replacing fish meal with fermented and unfermented soybean meal on growth performance, serum antioxidant capacity and digestive enzymes of juvenile *Cyprinus carpio haematopterus*[J]. Feed Industry, 2019, 40(12): 46-52. [殷海成, 黄进, 李昕朔, 等. 豆粕和发酵豆粕替代鱼粉对黄河鲤生长和血清抗氧化性能及消化酶活性的影响[J]. 饲料工业, 2019, 40(12): 46-52.]
- [11] Anzani C, Álvarez C, Mullen A M. Assessing the effect of Maillard reaction with dextran on the techno-functional properties of collagen-based peptides obtained from bovine hides[J]. LWT, 2020, 118: 108800.
- [12] Olsen R L, Hasan M R. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production[J]. Trends in Food Science & Technology, 2012, 27(2): 120-128.
- [13] Li X F, Jiang Y Y, Liu W B, et al. Protein-sparing effect of dietary lipid in practical diets for blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings: Effects on digestive and metabolic responses[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38(2): 529-541.
- [14] Sánchez-muros M J, García-rejón L, Lupiáñez J A, et al. Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). II. Adaptive response of glucose 6-phosphate dehydrogenase activity to high-carbohydrate/low-protein and high-fat/non-carbohydrate diets[J]. Aquaculture Nutrition, 1996, 2(4): 193-200.
- [15] Dai W W, Mai K S, Xu W, et al. Effects of replacing fish meal with plant-based protein on growth, physiological and biological indices, and intestinal histology in tongue sole, *Cynoglossus semilaevis* Güntuer[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(1): 125-137. [代伟伟, 麦康森, 徐玮, 等. 复合植物蛋白源替代鱼粉对半滑舌鲷生长、生理生化指标和肠组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(1): 125-137.]

- [16] 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. [吴莉芳, 赵晗, 秦贵信, 等. 2种大豆蛋白替代鱼粉蛋白对鲤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.]
- [17] Qian X, Wang G Q, Zhou H Q, et al. Effect of dietary protein on the activities of digestive enzymes of topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2007, 19(2): 182-187. [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.]
- [18] Xing X P, Lai H E, Zhao H, et al. Effects of β -conglycinin on activities of protease and amylase in juvenile and larval common carps[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2016, 44(1): 19-24, 30. [邢秀苹, 赖红娥, 赵晗, 等. β -Conglycinin 对不同发育时期鲤鱼消化酶活力的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(1): 19-24, 30.]
- [19] Li J N, Wang C A, Wang L S, et al. Effects of different carbohydrates and different carbohydrate levels on mRNA expression of glucose metabolism related genes in different feeding stages of Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(5): 766-776. [李晋南, 王常安, 王连生, 等. 不同糖及糖水平对松浦镜鲤养殖过程中糖代谢相关基因表达的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(5): 766-776.]
- [20] Furuichi M, Yone Y. Changes in activities of hepatic enzymes related to carbohydrate metabolism of fishes in glucose and insulin-glucose tolerance tests[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1982, 48(3): 463-466.
- [21] Li J N, Xu Q Y, Wang C A, et al. Effects of dietary glucose and starch levels on the growth, haematological indices and hepatic hexokinase and glucokinase mRNA expression of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(3): 550-558.
- [22] Tung P H, Shiau S Y. Effects of meal frequency on growth performance of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* $\times$ *O. aureus*, fed different carbohydrate diets[J]. Aquaculture, 1991, 92: 343-350.
- [23] Xing S J, Sun R J, Ma J, et al. Effects of dietary carbohydrate on growth performance and glycometabolism of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(2): 265-276. [邢淑娟, 孙瑞健, 马俊, 等. 饲料糖水平对大黄鱼生长和糖代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(2): 265-276.]
- [24] Sun J H, Fan Z, Cui P, et al. Effects of dietary carbohydrate sources and carbohydrate/protein ratios on carbohydrate metabolism of common carp[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2019, 34(2): 220-227. [孙金辉, 范泽, 崔培, 等. 不同类型淀粉及糖蛋白质比对鲤糖代谢能力的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2019, 34(2): 220-227.]
- [25] Chang Z C, Wen H S, Zhang M Z, et al. Effects of dissolved oxygen levels on oxidative stress response and energy utilization of juvenile Chinese Sea bass (*Lateolabrax maculatus*) and associate physiological mechanisms[J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(7): 20-28. [常志成, 温海深, 张美昭, 等. 溶解氧水平对花鲈幼鱼氧化应激与能量利用的影响及生理机制[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2018, 48(7): 20-28.]
- [26] Panseerat S, Plagnes-Juan E, Breque J, et al. Hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase gene expression is not repressed by dietary carbohydrates in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Journal of Experimental Biology, 2001, 204(2): 359-365.
- [27] Panseerat S, Plagnes-Juan E, Kaushik S. Gluconeogenic enzyme gene expression is decreased by dietary carbohydrates in common carp (*Cyprinus carpio*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 2002, 1579(1): 35-42.
- [28] Song C L, Ren J, Chen J P, et al. Bioactivities of *in vitro* digestible products from glycosylated soybean protein[J]. China Oils and Fats, 2018, 43(7): 82-86. [宋春丽, 任健, 陈佳鹏, 等. 糖基化大豆蛋白体外消化产物的生物活性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(7): 82-86.]
- [29] Mommse T P, Plisetskaya E M. Insulin in fishes and agnathans: history, structure and metabolic regulation[J]. Reviews in Aquatic Sciences, 1991, 4(2-3): 225-259.
- [30] Forsyth I A, Wallis M. Growth hormone and prolactin-molecular and functional evolution[J]. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia, 2002, 7(3): 291-312.
- [31] Liu L L. Progress in insulin like growth factor I[J]. China Herbivore Science, 2013, 33(6): 57-59. [刘丽丽. 胰岛素样生长因子I的研究进展[J]. 中国草食动物科学, 2013, 33(6): 57-59.]
- [32] Metón I, Caseras A, Fernández F, et al. 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase gene expression is regulated by diet composition and ration size in liver of gilthead sea bream, *Sparus aurata*[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 2000, 1491(1-3): 220-228.
- [33] Cui P, Yin S, Sun J H, et al. Effects of chromium methionine

- on activities of glyco-metabolism-related enzymes and expression of IR, GLUT2 and SGLT genes in common carp *Cyprinus carpio*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(3): 316-322. [崔培, 尹帅, 孙金辉, 等. 蛋氨酸铬对鲤糖代谢相关酶活性及 IR、GLUT2 和 SGLT 基因表达的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(3): 316-322.]
- [34] Grundy S M. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol[J]. New England Journal of Medicine, 1986, 314(12): 745-748.
- [35] Cui P, Song B, Cheng Z Y, et al. Combination of chromium and magnesium supplementation on growth performance, health and hepatopancreas glycometabolism-related enzyme activities of common carp[J]. Feed Research, 2021, 44(13): 67-71. [崔培, 宋波, 程镇燕, 等. 铬镁联合补充对鲤鱼生长、健康及糖代谢酶活性的影响[J]. 饲料研究, 2021, 44(13): 67-71.]

Effects of replacing fish meal with glycated soy protein isolate in diet on growth performance and glucose metabolism of juvenile *Cyprinus carpio haematopterus*

YANG Zhixiang, ZHAO Hongyue, YIN Haicheng, CHEN Ying

College of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China

Abstract: This study was conducted to investigate the effects of replacing fish meal (FM) in the diets of juvenile *Cyprinus carpio haematopterus* with different amounts of glycated soy protein isolate (GSPI) on growth performance and glucose metabolism. A total of 540 fish with an initial body weight of (13.44 ± 0.27) g were randomly allocated to six dietary treatments with three replicates per treatment and 30 fish per replicate for a period of 8 weeks. The six diets (GSPI 0, GSPI 20, GSPI 40, GSPI 60, GSPI 80, and GSPI 100) were formulated using GSPI to replace 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% of FM, respectively. The results showed that fish offered diets GSPI 60, GSPI 80, and GSPI 100 had significantly lower weight gain and specific growth rates, and significantly lower concentrations of serum growth hormone and insulin-like growth factor but higher feed conversion rate in GSPI 40 compared with fish given diet GSPI 0 ($P < 0.05$). No significant differences were observed in the survival ratio, amylase activities, and expression levels of the *SGLT1* and *GLUT2* mRNA in hindgut, PFK, G6PD, and PEPCK activities in liver, and GLU contents in serum ($P > 0.05$). Fish fed diet GSPI 100 had significantly lower amylase activities in the foregut and midgut, and significantly higher pyruvate kinase activities in the liver than those fed diet GSPI 0 ($P < 0.05$). The serum insulin and glucagon contents of fish in the GSPI 40 and GSPI 60 groups were significantly higher than that of fish in the GSPI 0 group ($P < 0.05$), and the fish in the GSPI 60 group had a significantly higher hepatic hexokinase and glycogen synthetase activities and significantly higher *SGLT1* and *GLUT2* gene expression in foregut and hindgut than the fish in the GSPI 0 group ($P < 0.05$). The results indicated that GSPI could replace up to 40% of FM in the diets of juvenile *C. carpio haematopterus*. However, the suboptimal levels of essential amino acids (lysine and methionine) in GSPI may have major negative effects on growth and glucose metabolism of the fish.

Key words: glycated soy protein isolate; fish meal; juvenile *Cyprinus carpio haematopterus*; growth efficiency; glucose metabolism

Corresponding author: YIN Haicheng. E-mail: yhch007@126.com