

# 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼生长、血清生化、免疫指标及肠道组织结构的影响

吴桐强<sup>1,2</sup> 钟 蕾<sup>1,2\*</sup> 刘庄鹏<sup>1,2</sup> 胡 毅<sup>1,2\*\*</sup> 刘 臻<sup>2,3\*\*</sup> 鲁双庆<sup>2,3</sup>

(1.湖南农业大学,湖南省特色水产资源利用工程技术研究中心,长沙 410128;2.水产高效健康生产湖南省协同创新中心,常德 415000;3.长沙学院生物与环境工程学院,水生动物营养与品质调控湖南省重点实验室,长沙 410022)

**摘要:** 本试验旨在研究饲料中添加谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼生长、血清生化、免疫指标及肠道组织结构的影响。选取健康、平均体重为(7.16±0.10) g的草鱼幼鱼750尾,随机分为5组,每组3个重复,每个重复50尾,分别饲喂含0(对照组)、0.25%、0.50%、0.75%、1.00%谷氨酰胺二肽的试验饲料。养殖试验持续8周。结果表明:1)与对照组相比,饲料中添加谷氨酰胺二肽显著提高了草鱼幼鱼增重率和蛋白质效率( $P<0.05$ ),显著降低了饲料系数( $P<0.05$ );且0.25%、0.50%组肠道脂肪酶和胰蛋白酶活性显著高于对照组( $P<0.05$ )。2)与对照组相比,0.75%组血清葡萄糖含量显著升高( $P<0.05$ ),饲料中添加谷氨酰胺二肽显著提高了血清尿素氮含量( $P<0.05$ )。饲料中添加谷氨酰胺二肽有使血清甘油三酯和胆固醇含量下降的趋势,其中0.50%组血清胆固醇含量显著低于对照组( $P<0.05$ ),各添加组血清甘油三酯含量均显著低于对照组( $P<0.05$ )。谷氨酰胺二肽添加量超过0.50%使得血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性显著升高( $P<0.05$ )。3)与对照组相比,0.50%组血清溶菌酶活性显著上升( $P<0.05$ )。0.75%、1.00%组血清补体4(C4)含量显著降低( $P<0.05$ ),皮质醇含量显著升高( $P<0.05$ )。各添加组血清谷胱甘肽含量、总抗氧化能力显著升高( $P<0.05$ )。4)与对照组相比,0.50%组肠道隐窝深度显著降低( $P<0.05$ ),0.75%、1.00%组肠道黏膜厚度显著增加( $P<0.05$ ),0.50%和1.00%组杯状细胞数量显著增加( $P<0.05$ )。综上所述,饲料中添加0.50%谷氨酰胺二肽能够促进草鱼幼鱼营养物质代谢、免疫以及肠道发育,进而促进生长。

**关键词:** 谷氨酰胺二肽;草鱼幼鱼;生长性能;免疫;肠道形态

中图分类号:S963

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)08-3682-08

谷氨酰胺(Gln)是动物血液和游离氨基酸库中最丰富的氨基酸,是动物能量源和蛋白质合成的前体<sup>[1]</sup>,在维持肠道和免疫系统的正常形态和功能方面有着重要的作用<sup>[2]</sup>。但谷氨酰胺稳定性较差,动物无法有效吸收利用谷氨酰胺单体,且在实际生产中较为困难。目前,作为谷氨酰胺替代品的丙氨酰-谷氨酰胺(Ala-Gln)、甘氨酰-谷氨酰

胺(Gly-Gln)可弥补谷氨酰胺单体的吸收缺陷,这类谷氨酰胺二肽被动物摄取之后,在体内能快速水解释放,提升血液中谷氨酰胺含量,更高效发挥谷氨酰胺作用<sup>[3]</sup>。由于动物自身合成的谷氨酰胺远远不能满足自身需要,因此,谷氨酰胺二肽(Gly-Glu)作为外源性谷氨酰胺成为了水产动物营养研究的热点。已有研究表明,肠外补充的谷氨酰胺

收稿日期:2019-01-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31272675);湖南省科技重大专项(2017NK1030)

作者简介:吴桐强(1992—),男,湖南郴州人,硕士研究生,研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: m18874726276@163.com

\* 同等贡献作者

\*\* 通信作者:胡 毅,教授,博士生导师,E-mail: huyi740322@163.com;刘 臻,教授,博士生导师,E-mail: 25300085@qq.com

二肽被水解为谷氨酰胺后,能够改善肠道屏障功能<sup>[4]</sup>,且被肠道消化吸收后,通过提高机体蛋白质的合成和增强非特异免疫力促进动物的生长<sup>[2,5-6]</sup>。

草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)属鲤形目,鲤科,雅罗鱼亚科,草鱼属,为中国“四大家鱼”之一,广泛分布于我国淡水水域。随着近些年草鱼规模化养殖的逐年扩大,商业饲料的大量投喂,水质恶化,以致造成草鱼免疫力低下,肠道受损,病害频发。本试验通过在饲料中添加谷氨酰胺二肽,研究其对草鱼幼鱼生长、免疫和肠道形态结构的影

响,旨在为配制合理健康的饲料提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验饲料

设定试验饲料中谷氨酰胺二肽(纯度为98%,购于北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司)添加量分别为0(对照)、0.25%、0.50%、0.75%、1.00%。饲料原料粉碎后过60目筛,按照配方要求准确称量,混匀后用饲料制粒机挤压出1.5和2.0 mm粒径的颗粒饲料,在阴凉处风干后置于-20℃冷存备用。试验饲料组成及营养水平见表1。

表1 试验饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)

%

项目 Items	谷氨酰胺二肽添加量 Gly-Glu supplementation/%				
	0	0.25	0.50	0.75	1.00
原料 Ingredients					
谷氨酰胺二肽 Gly-Glu		0.25	0.50	0.75	1.00
鱼粉 Fish meal	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
豆粕 Soybean meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
棉籽粕 Cottonseed meal	24.00	24.00	24.00	24.00	24.00
菜籽粕 Rapeseed meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
米糠 Rice bran	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
次粉 Wheat middling	23.80	23.55	23.30	23.05	22.80
豆油 Soybean oil	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
预混料 Premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels					
粗蛋白质 Crude protein	31.10	31.65	31.10	31.25	31.55
粗脂肪 Crude lipid	5.46	5.48	5.11	5.28	5.58
粗灰分 Ash	11.68	11.49	11.81	11.43	11.94

每千克预混料含有 One kg of premix contained: VA 120 000 IU, VD<sub>3</sub> 340 000 IU, VE 480 mg, VK<sub>3</sub> 3 200 mg, VB<sub>1</sub> 1 200 mg, VB<sub>2</sub> 2 280 mg, VB<sub>8</sub> 8 240 mg, VB<sub>12</sub> 120.6 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 720 mg, 烟酸 nicotinic acid 1 000 mg, 叶酸 folic acid 60 mg, 生物素 biotin 1.2 mg, 维生素 C 磷酸酯 vitamin C phosphate 6 850 mg, 肌醇 inositol 3 200 mg, Mg (as magnesium sulphate) 4 000 mg, Fe (as ferrous sulfate) 4 800 mg, Zn (as zinc sulfate) 2 000 mg, Mn (as manganese sulfate) 800 mg, Cu (as copper sulfate) 160 mg, Co (as cobalt dichloride) 12 mg, Se (as sodium selenite) 4 mg, I (as potassium iodide) 40 mg。

### 1.2 饲养管理

养殖试验在湖南省新化市车田江水库网箱养殖基地中进行。试验用草鱼幼鱼购自湖南省水产原种场,暂养于网箱(5 m×4 m×3 m)中,以基础饲料驯化2周。正式试验开始前,禁食24 h后取750尾健康、平均体重为(7.16±0.10) g的草鱼幼鱼,

随机分为5组,每组3个重复,每个重复50尾,饲养于规格为1.5 m×1.5 m×1.5 m的网箱中,在试验开始的前4周投喂1.5 mm粒径的颗粒饲料,待鱼达到一定规格后,在试验的第5周开始投喂2.0 mm粒径的颗粒饲料,养殖试验期持续8周。养殖试验期间,记录每天的水温、天气、采食量和

死亡条数。

### 1.3 样品采集与分析

试验结束后,禁食 24 h,称重,统计存活率、末体重。从每个网箱中随机选取 14 尾草鱼,用丁香油麻醉,选取 6 尾草鱼尾静脉取血,静置 24 h 后,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液分装制备血清,-80 ℃ 冰箱保存备用;选取 5 尾草鱼于冰上迅速解剖和剥离肠道,-80 ℃ 冰箱保存用于肠道消化酶活性的测定。另外,每个网箱随机选取 3 尾草鱼,置于冰盘中迅速解剖,分别取中肠,生理盐水(75%)洗净,固定于酒精醋酸福尔马林混合固定液(AFA)中用于肠道组织切片的制作。

### 1.4 指标测定

#### 1.4.1 生长性能指标的测定

按下列公式计算生长性能指标:

$$\text{增重率}(\text{weight gain rate, WGR, \%}) = 100 \times (W_t - W_0) / W_0;$$

$$\text{存活率}(\text{survival rate, SR, \%}) = 100 \times N_t / N_0;$$

$$\text{饲料系数}(\text{feed conversion ratio, FCR}) = F / (W_t - W_0);$$

$$\text{蛋白质效率}(\text{protein efficiency ratio, PER, \%}) = 100 \times (W_t - W_0) / (I \times P)。$$

式中: $N_t$  为终末尾数; $N_0$  为初始尾数; $W_t$  为终末体重; $W_0$  为初始体重; $t$  为试验天数; $F$  为饲料消耗量; $I$  为摄入的干物质的含量; $P$  为饲料中蛋白质的含量。

#### 1.4.2 肠道消化酶与血清免疫指标的测定

肠道胰蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性及血清谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)、溶菌酶(LZM)活性,血清总蛋白(TP)、尿素氮(UN)、葡萄糖(GLU)、胆固醇(CHO)、皮质醇(COR)、谷胱甘肽(GSH)含量及总抗氧化能力(T-AOC)均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定;血清补体 3(C3)、补体 4(C4)含量采用浙江伊利康生物技术有限公司的试剂盒测定;血清甘油三酯(TG)含量采用北京北化康泰临床试剂有限公司的试剂盒测定。

#### 1.4.3 肠道组织形态的测定

中肠经过 AFA 固定、乙醇逐级脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片(5 μm)、苏木精-伊红(HE)染色、脱水、透明、中性树脂封片。在每组选取 9 张非连续性切片,用 Leica MD4000B 显微镜观察并拍照,每张切片随机选取 3 个视野,对 3 处视野

内的小肠绒毛高度、隐窝深度、肌层厚度进行测量以及统计杯状细胞数量;图像由 Motic Images Plus 6.0 软件进行测量和计算(绒毛高度、隐窝深度、黏膜厚度、杯状细胞数量),分别取其平均值作为该样品各指标的测定结果。

### 1.5 数据统计分析

试验数据采用 SPSS 17.0 软件进行方差分析,试验结果采用“平均值±标准差”表示。当差异显著( $P < 0.05$ )时,则采用 Duncan 氏法进行多重比较。

## 2 结果

### 2.1 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼生长性能的影响

由表 2 可知,饲料中添加谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼存活率无显著影响( $P > 0.05$ )。饲料中添加谷氨酰胺二肽使得草鱼幼鱼生长性能呈上升的趋势,各添加组草鱼幼鱼增重率显著高于对照组( $P < 0.05$ ),但各添加组间差异不显著( $P > 0.05$ ),各添加组饲料系数均显著低于对照组( $P < 0.05$ ),蛋白质效率显著高于对照组( $P < 0.05$ )。

### 2.2 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼肠道消化酶活性的影响

由表 3 可知,随着饲料中谷氨酰胺二肽添加量的增加,肠道脂肪酶和胰蛋白酶活性呈先升高后降低的趋势,0.25%、0.50% 组肠道脂肪酶和胰蛋白酶活性显著高于对照组( $P < 0.05$ ),0.75%、1.00% 组肠道脂肪酶和胰蛋白酶活性与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。肠道淀粉酶的活性随着谷氨酰胺二肽添加量的增加呈下降的趋势,0.75%、1.00% 组显著低于对照组( $P < 0.05$ )。

### 2.3 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼血清生化指标的影响

从表 4 可见,各添加组草鱼幼鱼血清总蛋白含量与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。当谷氨酰胺二肽的添加量超过 0.50% 时,血清葡萄糖含量呈上升趋势,其中 0.75% 组显著高于对照组( $P < 0.05$ )。各添加组血清尿素氮含量差异不显著( $P > 0.05$ ),但均显著高于对照组( $P < 0.05$ )。饲料中添加谷氨酰胺二肽有使血清甘油三酯和胆固醇含量下降的趋势,其中 0.50% 组血清胆固醇含量显著低于对照组( $P < 0.05$ ),各添加组血清甘油三酯含量均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。当饲料中谷氨酰胺二肽添加量超过 0.50% 时,血清谷草转氨酶活性呈上升的趋势,其中 0.75%、1.00% 组血清谷草

转氨酶活性显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 1.00%组 血清谷丙转氨酶活性显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。

表 2 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼生长性能的影响

Table 2 Effects of glutamine dipeptide on growth performance of juvenile grass carp ( $n=3$ )

项目 Items	谷氨酰胺二肽添加量 Gly-Glu supplementation/%				
	0	0.25	0.50	0.75	1.00
初始体重 IBW/g	7.15±0.00	7.16±0.01	7.10±0.10	7.15±0.00	7.16±0.01
终末体重 FBW/g	22.00±0.72 <sup>a</sup>	23.24±0.81 <sup>bc</sup>	22.74±0.55 <sup>ab</sup>	23.86±0.64 <sup>c</sup>	24.39±0.72 <sup>c</sup>
存活率 SR/%	98.00±2.00	98.67±2.31	98.67±2.31	96.67±3.05	96.67±4.16
增重率 WGR/%	207.58±10.25 <sup>a</sup>	224.63±11.09 <sup>bc</sup>	220.94±5.38 <sup>bc</sup>	233.44±9.03 <sup>c</sup>	240.64±10.34 <sup>c</sup>
饲料系数 FCR	1.83±0.05 <sup>d</sup>	1.67±0.05 <sup>bc</sup>	1.68±0.11 <sup>bc</sup>	1.58±0.06 <sup>ab</sup>	1.51±0.04 <sup>a</sup>
蛋白质效率 PER/%	1.61±0.17 <sup>a</sup>	2.11±0.13 <sup>bc</sup>	1.98±0.07 <sup>b</sup>	2.25±0.23 <sup>bc</sup>	2.42±0.38 <sup>c</sup>

同行数据肩标不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。下表同。

Values in the same row with different letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ). The same as below.

表 3 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼肠道消化酶活性的影响

Table 3 Effects of glutamine dipeptide on activities of digestive enzymes in intestine of juvenile grass carp ( $n=3$ )

项目 Items	谷氨酰胺二肽添加量 Gly-Glu supplementation/%				
	0	0.25	0.50	0.75	1.00
脂肪酶 Lipase/(U/g prot)	20.89±1.45 <sup>a</sup>	24.05±3.59 <sup>b</sup>	23.38±4.62 <sup>b</sup>	20.72±2.42 <sup>a</sup>	20.42±0.40 <sup>a</sup>
胰蛋白酶 Trypsin/(U/mg prot)	1 428.33±78.93 <sup>a</sup>	2 095.57±70.31 <sup>b</sup>	1 896.82±223.73 <sup>b</sup>	1 585.79±105.24 <sup>a</sup>	1 348.76±113.33 <sup>a</sup>
淀粉酶 Amylase/(U/mg prot)	0.42±0.08 <sup>b</sup>	0.37±0.07 <sup>ab</sup>	0.36±0.04 <sup>ab</sup>	0.33±0.02 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>a</sup>

表 4 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼血清生化指标的影响

Table 4 Effects of glutamine dipeptide on serum biochemical indexes of juvenile grass carp ( $n=3$ )

项目 Items	谷氨酰胺二肽添加量 Gly-Glu supplementation/%				
	0	0.25	0.50	0.75	1.00
总蛋白 TP/(g/L)	7.26±1.14 <sup>ab</sup>	7.18±1.16 <sup>ab</sup>	7.96±0.62 <sup>b</sup>	6.86±0.55 <sup>a</sup>	7.69±0.95 <sup>ab</sup>
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	6.54±1.24 <sup>a</sup>	6.15±0.81 <sup>a</sup>	6.25±1.03 <sup>a</sup>	8.64±0.41 <sup>b</sup>	7.62±2.80 <sup>ab</sup>
尿素氮 UN/(mol/L)	1.06±0.28 <sup>a</sup>	1.76±0.10 <sup>b</sup>	1.63±0.06 <sup>b</sup>	1.66±0.17 <sup>b</sup>	1.62±0.16 <sup>b</sup>
胆固醇 CHO/(mmol/L)	1.23±0.41 <sup>b</sup>	1.01±0.05 <sup>ab</sup>	0.55±0.04 <sup>a</sup>	1.19±0.56 <sup>b</sup>	1.09±0.22 <sup>ab</sup>
甘油三酯 TG/(mmol/L)	1.25±0.21 <sup>b</sup>	0.99±0.21 <sup>a</sup>	0.96±0.14 <sup>a</sup>	0.88±0.11 <sup>a</sup>	1.00±0.27 <sup>a</sup>
谷草转氨酶 GOT/(U/L)	8.98±1.21 <sup>a</sup>	9.32±1.50 <sup>ab</sup>	10.06±1.71 <sup>ab</sup>	10.77±1.63 <sup>b</sup>	10.21±1.16 <sup>b</sup>
谷丙转氨酶 GPT/(U/L)	1.93±0.36 <sup>b</sup>	1.93±0.07 <sup>b</sup>	1.00±0.17 <sup>a</sup>	2.13±0.40 <sup>b</sup>	3.06±0.69 <sup>c</sup>

## 2.4 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼血清免疫指标的影响

由表 5 可知, 0.50%组草鱼幼鱼血清溶菌酶活性显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 当饲料中谷氨酰胺添加量高于 0.50%时, 使血清溶菌酶活性、补体 4 含量显著下降 ( $P<0.05$ ), 皮质醇含量显著升高 ( $P<0.05$ )。饲料中添加谷氨酰胺二肽对血清补体 3 含量无显著影响 ( $P>0.05$ )。饲料中添加谷氨酰胺二肽有使血清谷胱甘肽含量、总抗氧化力有

升高的趋势, 其中 0.25%、0.50%和 0.75%组谷胱甘肽含量显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 各添加组总抗氧化能力显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。

## 2.5 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼肠道形态的影响

图 1 显示, 与对照组相比, 饲料中添加谷氨酰胺二肽促进了肠道绒毛的发育, 绒毛密度增加, 且黏膜厚度和杯状细胞数量有所升高。

由表 6 可知, 饲料中添加谷氨酰胺二肽有使草鱼幼鱼肠道绒毛高度上升的趋势, 但组间差异

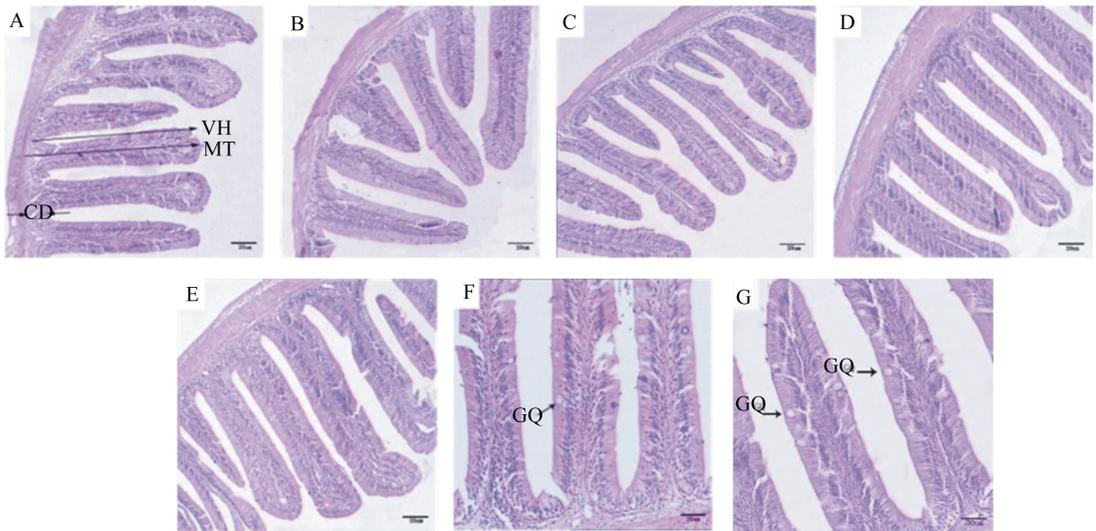
不显著 ( $P>0.05$ )。饲料中添加谷氨酰胺二肽显著影响了肠道黏膜厚度、隐窝深度及杯状细胞数量,与对照组相比,0.50%组隐窝深度显著降低,肠道

杯状细胞数量显著升高 ( $P<0.05$ ),超过 0.50%的添加量使得肠道黏膜厚度显著升高 ( $P<0.05$ )。

表 5 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼血清免疫指标的影响

Tab.5 Effects of glutamine dipeptide on serum immune indexes of juvenile grass carp ( $n=3$ )

项目 Items	谷氨酰胺二肽添加量 Gly-Glu supplementation/%				
	0	0.25	0.50	0.75	1.00
溶菌酶 LZM/( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	2.29 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	2.21 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	2.76 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	2.29 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	2.18 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>
补体 3 C3/(g/L)	0.48 $\pm$ 0.09	0.42 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.04	0.41 $\pm$ 0.08	0.40 $\pm$ 0.08
补体 4 C4/(g/L)	0.42 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	0.37 $\pm$ 0.07 <sup>ab</sup>	0.36 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.32 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
谷胱甘肽 GSH/(mg/L)	27.79 $\pm$ 2.96 <sup>a</sup>	37.53 $\pm$ 4.05 <sup>b</sup>	54.25 $\pm$ 16.25 <sup>c</sup>	37.96 $\pm$ 8.58 <sup>b</sup>	36.49 $\pm$ 8.56 <sup>b</sup>
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL)	5.21 $\pm$ 1.03 <sup>a</sup>	7.76 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	8.25 $\pm$ 1.93 <sup>b</sup>	9.02 $\pm$ 1.10 <sup>b</sup>	7.65 $\pm$ 1.69 <sup>b</sup>
皮质醇 COR/(ng/L)	3.68 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	3.72 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	3.72 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	3.74 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	3.77 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>



A: 对照组 control group (100 $\times$ ); B: 0.25% 组 0.25% group (100 $\times$ ); C: 0.50% 组 0.50% group (100 $\times$ ); D: 0.75% 组 0.75% group (100 $\times$ ); E: 1.00% 组 1.00% group (100 $\times$ ); F: 对照组 control group (400 $\times$ ); G: 0.50% 组 0.50% group (400 $\times$ )。VH: 绒毛高度 villus height; CD: 隐窝深度 crypt depth; MT: 黏膜厚度 mucosal thickness; GQ: 杯状细胞 goblet cell。

图 1 谷氨酰胺二肽对草鱼中肠道组织结构的影响

Fig.1 Effects of glutamine dipeptide on midgut tissue structure of juvenile grass carp

表 6 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼中肠形态指标的影响

Table 6 Effects of glutamine dipeptide on mid-intestine morphology indexes of juvenile grass carp ( $n=3$ )

项目 Items	谷氨酰胺二肽添加量 Gly-Glu supplementation/%				
	0	0.25	0.50	0.75	1.00
绒毛高度 Villus height/ $\mu\text{m}$	350.60 $\pm$ 35.34	362.50 $\pm$ 33.55	367.43 $\pm$ 31.95	407.30 $\pm$ 10.67	368.36 $\pm$ 29.57
隐窝深度 Crypt depth/ $\mu\text{m}$	257.10 $\pm$ 30.30 <sup>b</sup>	274.23 $\pm$ 25.25 <sup>bc</sup>	199.43 $\pm$ 38.47 <sup>a</sup>	301.06 $\pm$ 24.65 <sup>c</sup>	279.67 $\pm$ 17.10 <sup>bc</sup>
黏膜厚度 Mucosal thickness/ $\mu\text{m}$	373.56 $\pm$ 36.60 <sup>a</sup>	362.10 $\pm$ 39.35 <sup>a</sup>	395.00 $\pm$ 31.09 <sup>ab</sup>	445.20 $\pm$ 26.44 <sup>b</sup>	433.90 $\pm$ 20.55 <sup>b</sup>
杯状细胞数量 Gobletcell quantity/个	6.00 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>	5.33 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	11.00 $\pm$ 2.64 <sup>b</sup>	7.00 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>	11.00 $\pm$ 2.64 <sup>b</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼生长以及肠道消化酶活性的影响

研究认为,谷氨酰胺二肽被动物摄入后在体内能迅速水解释放出谷氨酰胺<sup>[7]</sup>,而谷氨酰胺是动物体内的非必需氨基酸,能促进肠道对氨基酸和蛋白质的吸收,促进机体蛋白质的合成<sup>[8-9]</sup>。本试验结果表明,饲料中添加谷氨酰胺二肽能够显著提高草鱼幼鱼的增重率、蛋白质效率和降低饲料系数。与在建鲤(*Cyprinus carpio* var. *Jian*)<sup>[10]</sup>、镜鲤(*Cyprinus carpio* var. *specularis*)<sup>[5]</sup>、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)<sup>[11]</sup>、哲罗鱼(*Hucho taimen*)<sup>[12]</sup>的结果相似。此前本研究团队对谷氨酰胺添加效果的研究中发现,当饲料中谷氨酰胺的添加量超过0.60%时,生长效果呈显著下降趋势<sup>[13]</sup>,与本试验的1.00%组促生长效果不一致。其主要原因是谷氨酰胺易形成对机体有害的焦谷氨酸和氨,从而降低其对生长性能的促进作用,而谷氨酰胺生成的谷氨酰胺二肽既可避免谷氨酰胺单体的缺点又具有促进水产动物免疫、抗氧化等生理功能<sup>[14]</sup>。

鱼类消化酶活性受摄食、食物的生化组成以及其他因素的影响<sup>[1]</sup>。在本试验中,草鱼幼鱼肠道胰蛋白酶和脂肪酶活性随饲料中谷氨酰胺二肽添加量的升高呈先升高后降低的趋势,同时在谷氨酰胺二肽添加量超过0.50%后,淀粉酶活性显著下降。这表明适量的谷氨酰胺二肽能促进草鱼幼鱼对于蛋白质和脂肪的消化,但过高的谷氨酰胺二肽可能会加重肠道的负担,影响消化酶的分泌<sup>[15]</sup>。这一结果与镜鲤<sup>[5]</sup>、哲罗鱼<sup>[6]</sup>等研究结果相似。

#### 3.2 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼血清生化指标的影响

血清总蛋白与尿素氮是反映机体对于蛋白质吸收代谢的重要指标<sup>[16]</sup>。本试验结果表明,各添加组草鱼幼鱼血清尿素氮含量差异不显著,但均高于对照组,推测可能是饲料中添加谷氨酰胺二肽加强了鱼体对蛋白质的代谢,使得血清尿素氮含量维持在比较高的水平,并且从总蛋白含量的变化趋势来看,在添加量为0.50%时总蛋白含量最高,表明适量的谷氨酰胺二肽在一定程度上促进了草鱼幼鱼体内蛋白质合成代谢。谷氨酰胺作

为生糖氨基酸,能够参与糖异生作用生成葡萄糖。本试验表明,饲料中添加0.25%~0.50%的谷氨酰胺二肽对血清葡萄糖含量无显著影响,但随着谷氨酰胺二肽添加量的提高,其血清葡萄糖含量显著升高,其原因可能与谷氨酰胺二肽通过三羧酸循环参与草鱼幼鱼肝脏糖异生作用有关。血清甘油三酯和胆固醇能够反映出机体对脂类代谢状况,其含量的升高说明机体脂质代谢出现紊乱,肝功能受损<sup>[17]</sup>。本试验结果表明,饲料中添加谷氨酰胺二肽降低了血清甘油三酯和胆固醇含量,适量的谷氨酰胺二肽(0.25%~0.50%)使得血清谷丙转氨酶活性呈下降趋势,但饲料中高含量的谷氨酰胺二肽导致血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性显著升高,这说明适量的谷氨酰胺二肽有助于草鱼幼鱼机体脂质代谢和肝功能,但过量添加会加重肝脏负荷,可能对肝脏造成损伤。

#### 3.3 谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼免疫和肠道健康的影响

谷氨酰胺是鱼类强有效的免疫增强剂,能够促进白细胞呼吸爆发活力、吞噬活力和增殖<sup>[18]</sup>,并且谷氨酰胺能够通过合成一氧化氮和多胺来刺激超氧阴离子的产生<sup>[19]</sup>,对鱼类的非特异性免疫具有重要意义。溶菌酶和补体是鱼体内重要的非特异性免疫防御因子,是一种重要的杀菌溶菌物质<sup>[20]</sup>,皮质醇属于糖皮质激素,由肾上腺分泌,是评价是否应激的重要指标<sup>[13]</sup>。本试验中,饲料中添加0.50%谷氨酰胺二肽,使得草鱼幼鱼血清溶菌酶活性显著高于对照组,但饲料中谷氨酰胺二肽的添加量超过0.50%后,草鱼幼鱼血清溶菌酶活性和补体4含量显著下降,血清皮质醇含量显著升高。这说明适量的谷氨酰胺二肽能够激活溶菌酶活性,提高草鱼幼鱼免疫力,但过高的谷氨酰胺二肽可能会造成鱼体出现应激,使机体免疫抑制<sup>[10]</sup>,出现免疫力下降,不利于草鱼幼鱼健康生长。谷胱甘肽在机体抗氧化防御中起着至关重要的作用。在本试验,饲料中添加谷氨酰胺二肽能够显著提高草鱼幼鱼血清中谷胱甘肽含量、总抗氧化能力。这表明谷氨酰胺二肽能够提高草鱼幼鱼抗氧化能力。这一结果与断奶仔猪<sup>[21]</sup>、建鲤<sup>[10]</sup>相似。

鱼体健康是建立在自身内脏器官健康、组织结构和功能完整的基础上的。鱼类肠道不仅是重要的消化和吸收器官,同时还具有免疫、内分泌以

及新陈代谢的功能<sup>[22]</sup>。肠道绒毛高度、隐窝深度、黏膜厚度是衡量肠道消化吸收的重要指标<sup>[23]</sup>,肠道上皮中的杯状细胞主要功能是分泌黏液,在一定程度上可以间接反映黏液层的状况,对于判断机体肠道黏膜屏障的完整性具有重要意义<sup>[24]</sup>。在本试验条件下,饲料中添加 0.50% 谷氨酰胺二肽以后,能够促进草鱼幼鱼肠道黏膜厚度、杯状细胞数量增加。这一结果与对日本对虾(*Penaeus japonicus*)<sup>[2]</sup>的研究结果类似。这说明草鱼幼鱼在摄入饲料中的谷氨酰胺二肽后,机体可通过增加肠道黏膜厚度来提高对于营养物质的消化吸收能力以及促进杯状细胞的分泌保证肠道黏膜屏障的完整。隐窝深度上升会造成鱼类肠内膜面积变小,降低鱼类对营养物质的消化吸收能力<sup>[25]</sup>。在本试验中添加 0.50% 的谷氨酰胺二肽后,使得草鱼肠隐窝深度显著降低,这一结果表明,草鱼幼鱼饲料中谷氨酰胺二肽添加量为 0.50%,有利于草鱼幼鱼对于营养物质的消化吸收。

## 4 结 论

饲料中适量添加谷氨酰胺二肽可提高草鱼幼鱼营养物质代谢、提高免疫力以及促进肠道发育,进而促进草鱼幼鱼健康生长。综合而言,饲料中谷氨酰胺二肽最适添加量为 0.50%。

## 参考文献:

- [ 1 ] HAN Y Z, KOSHIO S, JIANG Z Q, et al. Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 348-354.
- [ 2 ] 叶均安,王冰心,孙红霞,等.谷氨酰胺二肽对日本对虾血清生化指标、肝胰腺细胞凋亡及肠黏膜形态的影响[J].*海洋与湖沼*, 2009, 40(3): 347-352.
- [ 3 ] 贺光祖.谷氨酰胺二肽对猪肠上皮细胞更新和蛋白质代谢的调控研究[D].硕士学位论文.长沙:湖南农业大学, 2015.
- [ 4 ] JIANG J W, REN Z G, CHEN L Y, et al. Enteral supplementation with glycyl-glutamine improves intestinal barrier function after liver transplantation in rats [J]. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, 2011, 10(4): 380-385.
- [ 5 ] 朱青.谷氨酰胺二肽对镜鲤生长、肠道发育及非特异性免疫的影响[D].硕士学位论文.哈尔滨:东北农业大学, 2010.
- [ 6 ] 徐奇友,王常安,许红,等.饲料中添加谷氨酰胺二肽对哲罗鱼仔鱼肠道抗氧化活性及消化吸收能力的影响[J].*中国水产科学*, 2010, 17(2): 351-356.
- [ 7 ] 李幼生,黎介寿.谷氨酰胺二肽的研究进展[J].*中华胃肠外科杂志*, 2002, 5(3): 232-233.
- [ 8 ] He J, FENG G D, AO X, et al. Effects of *L*-glutamine on growth performance, antioxidant ability, immunity and expression of genes related to intestinal health in weanling pigs [J]. *Livestock Science*, 2016, 189: 102-109.
- [ 9 ] 李源,温安祥,骆美琳.谷氨酰胺促尼颯生长机理的初步研究[J].*饲料工业*, 2014, 35(2): 37-43.
- [ 10 ] 芦红梅.谷氨酰胺二肽对建鲤生长、免疫和抗应激的影响[D].硕士学位论文.长春:吉林农业大学, 2011.
- [ 11 ] 丁兆坤,李伟峰,黄金华,等.丙氨酰-谷氨酰胺和维生素 E 对军曹鱼的影响[J].*水产科学*, 2017, 36(4): 395-402.
- [ 12 ] 徐奇友,王常安,许红,等.丙氨酰-谷氨酰胺对哲罗鱼仔鱼生长和抗氧化能力的影响[J].*动物营养学报*, 2009, 21(6): 1012-1017.
- [ 13 ] 刘庄鹏.谷氨酰胺、谷氨酰胺二肽对草鱼幼鱼生长及生理生化指标的影响[D].硕士学位论文.长沙:湖南农业大学, 2015.
- [ 14 ] 周荣艳,彭健,等.谷氨酰胺及其二肽与动物肠道营养免疫[J].*饲料研究*, 2005(7): 53-56.
- [ 15 ] DAS K M, TRIPATHI S D, et al. Studies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.) [J]. *Aquaculture*, 1991, 92: 21-32.
- [ 16 ] 赵红霞.饲料中添加谷胱甘肽对草鱼生长性能、血清生化指标和体组成的影响[C]//2007年中国水产学会学术年会暨水产微生态调控技术论坛论文摘要汇编.中国水产学会:中国水产学会, 2007: 1.
- [ 17 ] 何杰,吴代武,叶元土,等.饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、血清生化指标和胃肠道黏膜结构的影响[J].*动物营养学报*, 2018, 30(7): 2581-2593.
- [ 18 ] 雷五长,李锦,孙颖,等.谷氨酰胺在体内和体外试验中对鲤免疫力影响的研究[J].*天津农学院学报*, 2016, 23(3): 35-38, 42.
- [ 19 ] 程镇燕,李建,雷五长,等.谷氨酰胺对点带石斑鱼免疫细胞免疫力的影响[J].*水产科学*, 2014, 33(10): 606-610.
- [ 20 ] SAURABH S, SAHOO P K. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system [J]. *Aquaculture Research*, 2010, 39(3): 223-239.
- [ 21 ] 张军民,王连递,高振川,等.日粮添加谷氨酰胺对早期断奶仔猪抗氧化能力的影响[J].*畜牧兽医学报*, 2002, 33(2): 105-109.
- [ 22 ] 米海峰,孙瑞健,张璐,等.鱼类肠道健康研究进展[J].*中国饲料*, 2015(15): 19-22.
- [ 23 ] 张敏,邹晓庭,孙雅丽.外源性谷氨酰胺对艾维茵肉仔鸡生长性能和小肠发育的影响[J].*中国畜牧杂志*, 2009, 45(9): 32-36.
- [ 24 ] 邢潇,宋如昕,王兰,等.急性冷胁迫对中华鳖幼鳖肠道黏膜组织的影响[J].*水生生物学报*, 2019, 43

(1):102-108.

生物及肠壁组织结构的影响[J].畜牧兽医学报, 2003,34(3):250-257.

[25] 姚浪群,萨仁娜,佟建明,等.安普霉素对仔猪肠道微

## Effects of Glutamine Dipeptide On Growth, Serum Biochemistry, Immunity Indexes and Intestinal Morphology of Juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*)

WU Tongqiang<sup>1,2</sup> ZHONG Lei<sup>1,2\*</sup> LIU Zhuangpeng<sup>1,2</sup> HU Yi<sup>1,2\*\*</sup>  
LIU Zhen<sup>2,3\*\*</sup> LU Shuangqing<sup>2,3</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China; 2. Collaborative Innovation Center for Efficient and Health Production of Fisheries in Hunan Province, Changde 415000, China; 3. Hunan Provincial Key Laboratory of Nutrition and Quality Control of Aquatic Animals, Department of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China)

**Abstract:** The aim of this experiment was to study the effects of glutamine dipeptide (Gly-Gln) on the growth, serum biochemistry, immunity indexes and intestinal morphology of juvenile grass carp. A total of 750 fish with an average body weight of (7.16±0.10) g were selected and divided into 5 groups with 3 replicates per group and 50 fish per replicate. Fish were fed diets containing 0 (control group) and 0.25%, 0.50%, 0.75% and 1.00% glutamine dipeptide, respectively. The feeding test lasted for 8 weeks. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the weight gain rate and protein efficiency of juvenile grass carp increased significantly ( $P<0.05$ ) and the feed coefficient decreased significantly ( $P<0.05$ ) in the glutamine dipeptide supplementation groups. Dietary supplementation of 0.25% and 0.50% glutamine dipeptide significantly increased intestinal lipase and trypsin activities ( $P<0.05$ ). 2) Compared with the control group, the serum glucose content in 0.75% group significantly increased ( $P<0.05$ ), and the serum urea nitrogen content in each glutamine dipeptide supplementation group significantly increased ( $P<0.05$ ). The addition of glutamine dipeptide in the feed made the serum triglyceride and cholesterol contents decrease, and the cholesterol content in 0.50% group significantly decreased compared with the control group ( $P<0.05$ ), serum triglyceride content in each supplementation group significantly decreased compared with the control group ( $P<0.05$ ). The activities of glutamic oxalacetic transaminase and alanine aminotransferase significantly increased when the dosage was more than 0.50% ( $P<0.05$ ). 3) Compared with the control group, the serum lysozyme activity in 0.50% group increased significantly ( $P<0.05$ ). Serum complement 4 content decreased significantly in 0.75% and 1.00% groups ( $P<0.05$ ), while the cortisol content increased significantly ( $P<0.05$ ). The serum glutathione content and total antioxidant capacity significantly increased in each supplementation group ( $P<0.05$ ). 4) Compared with the control group, the intestinal crypt depth significantly reduced in 0.5% group ( $P<0.05$ ), the intestinal mucosal thickness significantly increased in the 0.75% and 1.00% groups ( $P<0.05$ ), and the number of goblet cells significantly increased in the 0.50% and 1.00% groups ( $P<0.05$ ). In summary, the addition of 0.50% glutamine dipeptide to the feed can promote nutrient metabolism, immunity and intestinal development of grass carp juveniles, thereby promoting growth. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(8):3682-3689]

**Key words:** glutamine dipeptide; juvenile grass carp; growth performance; immunity; intestinal morphology

\* Contributed equally

\*\* Corresponding authors: HU Yi, professor, E-mail: huyi740322@163.com; LIU Zhen, professor, E-mail: 25300085@qq.com