

DOI: 10.12264/JFSC2020-0100

大豆浓缩蛋白对大黄鱼生长和肠道微生物菌群的影响

水晓梅¹, 林舸¹, 赵欣涛², 黄俊¹, 何娇娇¹, 娄宇栋¹, 冯建¹, 王萍¹

1. 浙江海洋大学, 浙江省海洋养殖装备与工程技术重点实验室, 浙江 舟山 316000;

2. 大连棒槌岛海参发展有限公司, 辽宁 大连 116100

摘要: 用大豆浓缩蛋白(SPC)替代鱼粉饲喂大黄鱼(*Larimichthys crocea*), 以探究其对幼鱼生长、肠道结构及肠道微生物菌群的影响。选取初始体重为(10.50±0.04) g 的大黄鱼幼鱼, SPC 替代鱼粉的比例分别为 0% (SPC0, 对照组)、25% (SPC25)、50% (SPC50)、75% (SPC75)和 100% (SPC100), 制作成 5 种等氮(粗蛋白水平为 45%)等脂(粗脂肪水平为 10%)的实验饲料, 进行为期 56 d 的饲养实验。结果表明, 与 SPC0(对照组)相比, 幼鱼的存活率、增重率、特定生长率以及饲料系数受各 SPC 替代鱼粉水平的影响不显著($P>0.05$)。肠道组织学显示, 各处理组幼鱼肠道的后肠黏膜厚度、皱襞高度、固有层宽度和杯状细胞个数差异性不显著($P>0.05$)。Illumina HiSeq 高通量测序技术分析发现, SPC0 (TC: 对照组)、SPC25 (TB: 生长相对最佳组)和 SPC100 (TW: 生长相对最差组)的 Chao1、香农指数(Shannon)、辛普森指数(Simpson)和覆盖率(good coverage)差异不显著($P>0.05$); TC、TB 和 TW 组幼鱼肠道细菌在门水平的优势菌群为厚壁菌门(Firmicutes), 类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)在属水平占绝对优势。根据属水平的菌属差异结果发现幼鱼的生长受细菌微生物的组成的影响: 与 TC 组相比, TB 组微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、红杆菌属(*Rhodobacter*)和伦黑墨氏菌属(*Rheinheimera*)的物种丰度显著降低($P<0.05$); 与 TC 组相比较, TW 组红杆菌属(*Rhodobacter*)的物种丰度显著降低($P<0.05$), 乳杆菌属(*Lactobacillus*)的物种丰度显著增加($P<0.05$)。综上所述, 大黄鱼幼鱼的生长、肠道结构及肠道优势菌群不会因为鱼粉完全被大豆浓缩蛋白替代而产生负面的影响。

关键词: 大黄鱼; 大豆浓缩蛋白; 肠道结构; 生长; 高通量测序; 肠道微生物

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)01-0037-11

鱼粉价格的持续上升导致养殖生产成本逐渐增加, 养殖经济效益下降, 寻找经济实用的鱼粉替代物就成为备受学者关注的研究课题, 植物蛋白因其价格低廉成为学者们竞相研究的对象^[1-3]。例如 Takakuwa 等^[4]、于菲等^[5]和张鑫等^[6]分别探究了马铃薯浓缩蛋白(PPC)、大豆浓缩蛋白(SPC)和豆粕替代鱼粉的可行性。众多植物蛋白中, SPC 的各种氨基酸含量除组氨酸和蛋氨酸以外与鱼粉基本相同, 蛋白含量也与鱼粉相接近^[3,7-8], 从而成为鱼粉替代的首选。因此很多学者倾向于研究 SPC 对水产生物的鱼粉替代作用, 本实验室冯建

等^[9]也做过相关研究, 但是朱瑞等^[10]研究表明过量的大豆浓缩蛋白替代鱼粉会造成部分鱼类肠道组织的损伤。受此启发, 从大黄鱼肠道的健康状况来确定 SPC 替代大黄鱼鱼粉的可行性。关于鱼类肠道的研究大多都是采用高通量测序技术, 如朱锦裕等^[11]用 Illumina MiSeq 测定乌鳢(*Channa argus*)肠道菌群组成。殷彬^[12]利用 Illumina Miseq 开发的对端测序方法对珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂) 肠道 16S rDNA 基因进行测序。但是利用高通量测序探究大黄鱼肠道受 SPC 替代鱼粉影响的报道并不多见。因此

收稿日期: 2020-04-08; 修订日期: 2020-08-11.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0900900); 浙江省公益技术应用研究资助项目(LGN20C190011); 浙江省大学生科技创新项目(2019R411002); 舟山市科技计划项目(2020C21008).

作者简介: 水晓梅(1998-), 女, 硕士研究生, 主要从事鱼类营养和饲料研究. E-mail: 13607605207@163.com

通信作者: 王萍, 女, 博士, 副教授, 主要从事鱼类营养和饲料研究. E-mail: 17855848289@163.com

本研究将采用高通量测序来探究大黄鱼幼鱼生长、肠道组织及肠道微生物菌群受大豆浓缩蛋白替代鱼粉的影响,以确定其合适的替代比例从而达到提高大黄鱼养殖经济效益的目的。

1 材料与方法

1.1 实验鱼的管理

实验对象选自浙江省象山县西沪港区养殖场的同一批大黄鱼鱼种,管理方法参照何娇娇等^[13]。在实验正式开始之前先投喂以商业饲料(粗蛋白 45%,粗脂肪 10%;宁波天邦科技有限公司)进行为期两周的暂养,使实验用鱼适应饲料投喂,之后选挑体型均匀且健康的幼鱼随机分放入 15 个网箱规格为 1.5 m×1.5 m×2 m 的小网箱中,每一个网箱投放 60 尾实验用鱼,每组设置 3 个重复。喂食频率为每天两次(6:00 和 18:00),进行为期 56 d 的养殖实验。

1.2 饲料制作与实验设计

参照何娇娇等^[14]的研究方法,在鱼粉的基础饲料中分别添加 0%(SPC0, 对照组)、11.18% (SPC25, 25%)、22.36% (SPC50, 50%)、33.54% (SPC75, 75%) 和 44.72% (SPC100, 100%)大豆浓缩蛋白,配制成等氮等脂(蛋白水平为 45%,脂肪水平为 10%)的配合饲料 5 种(表 1),5 种饲料分别命名为 SPC0、SPC25、SPC50、SPC75、SPC100。参照冯建等^[9]的方法制作饲料。

1.3 样品采集与分析

1.3.1 样品采集 养殖实验结束后停食 24 h,采用丁香酚 (1 : 1000, 体积比)使其麻醉以便开始后续计数与称重。各网箱随机选取 10 尾鱼放置于无菌操作台上,鱼体表面水分擦干后用 75%(体积分数)的酒精消毒,解剖并截取后肠将其置入波恩试液中固定保存,以便用于组织切片观察;再另外取 10 尾鱼,将这 10 尾鱼后肠内含物置于无菌 EP 管中于-80 ℃保存,用于肠道微生物的研究。

1.3.2 肠道组织学观察及分析 参照何娇娇等^[14]的方法进行样品处理。

1.4 肠道菌群总 DNA 的提取及 PCR 扩增

参照何娇娇等^[15]的方法提取肠道细菌的总 DNA,以提取的基因组 DNA 作为模板进行 16S rRNA

表 1 饲料配方及营养水平
Tab. 1 Composition and proximate analysis of the experimental diets

原料 ingredient	饲料组 diet group				
	对照组 (FM)	SPC25	SPC50	SPC75	SPC100
鱼粉 fish meal	40.00	30.00	20.00	10.00	0.00
大豆浓缩蛋白 soybean protein concentrate	0.00	11.18	22.36	33.54	44.72
小麦蛋白粉 wheat gluten meal	10.55	10.55	10.55	10.55	10.55
豆粕 soybean meal	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
小麦淀粉 wheat-starch	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
纤维素 cellulose	10.93	7.65	5.36	3.09	0.80
鱼油 fish oil	1.96	2.42	2.88	3.33	3.79
大豆油 soybean oil	1.96	2.42	2.88	3.34	3.80
大豆卵磷脂 soybean lecithin	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
复合维生素 ¹ vitamin premix ¹	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
混合矿物质 ² mineral premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
赖氨酸 lysine	0.00	0.08	0.16	0.24	0.31
蛋氨酸 methionine	0.00	0.11	0.21	0.32	0.42
氯化胆碱 choline chloride	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
牛磺酸 taurine	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00
诱食剂 attractant	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
组成成分 composition					
粗蛋白 crude protein	45.13	45.83	45.94	46.39	46.67
粗脂肪 crude lipid	10.52	10.23	10.25	9.81	9.56
粗灰分 crude ash	10.45	9.85	9.13	8.29	7.89

注: 维生素预混料、矿物质预混料及诱食配方见文献[15].
Note: Formulations of vitamin premix, mineral premix and food attractant refer to reference[15].

V4-V5 区特异区域的扩增。

1.5 数据处理及统计分析

1.5.1 生长数据处理 各参数按下列公式计算。

存活率(survival rate) (%)=100× N_t/N_0 ;

增重率(weight gain rate, WGR)(%)=100× $(W_t-W_0)/W_0$;

特定生长率(specific growth rate, SGR) (%)=100× $(\ln W_t-\ln W_0)/t$;

饲料系数(feed conversion ratio, FCR) (%)= $(T-S)/(W_t-W_0)$

式中, W_0 表示实验用鱼初体重, W_t 表示实验用鱼终

体重; N_0 表示在养殖实验开始时实验用鱼尾数, N_t 表示在养殖实验结束时实验用鱼所剩的数; t 表示实验天数; T 、 S 分别表示总饲料量和剩余饲料量。

1.5.2 Illumina HiSeq 测序数据处理 扩增好的序列由南京集思慧远生物科技有限公司通过 Illumina Hiseq 平台进行 Paired-end 测序。将双末端测序得到的成对 reads 通过 pandaseq 软件利用重叠关系拼接成一条序列, 得到高变区的长 reads。然后去除平均质量值低于 20 的长 reads 以及 reads 含 N 的碱基数超过 3 个的长 reads, reads 长度范围为 220~500 nt。数据的去嵌合体和聚类通过 usearch 软件进行, usearch 聚类时, 首先按照丰度从大到小将 reads 进行排序, 然后以 97% 的相似度为标准进行聚类, 得到 OUT (operational taxonomic units), 每个 OTU 被认为可代表一个物种。在聚类过程中嵌合体(Chimeras)以 Denovo 方法去除。接下来对每个样品的 tags 进行随机抽平处理, 并提取对应的 OTU 序列。然后使用 Qiime 软件做出 Alpha 多样性指数的稀释曲线, 根据稀释曲线选择合理的抽平参数, 利用 Qiime 软件对得到的抽平后的 OTU 进行分析, 首先从 OTU 中分别

提取一条 reads 作为代表序列, 使用 uclust 方法, 将该代表序列与 16S 数据库比对, 从而对每个 OTU 进行物种分类。归类后, 根据每个 OTU 中序列的条数, 得到 OTU 丰度表, 最后根据该 OTU 丰度表进行后续分析。

1.5.3 统计分析 采用 SPSS20.0 软件对所得数据进行单因素方差分析(ANOVA), Tukey 多重比较差异的显著性, 设 $P<0.05$ 为显著性水平; 实验结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm SD$)来表示。

2 结果与分析

2.1 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长的影响

表 2 可知, 各组间大黄鱼幼鱼的生长指标均无显著性差异($P>0.05$); SPC 100 组大黄鱼末体重显著低于 SPC 25、SPC 50 组($P<0.05$)。根据生长指标结果命名 SPC0 为 TC 组(对照组), SPC25 为 TB 组(生长相对最佳组), SPC100 为 TW 组(生长相对最差组)。

2.2 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肠道结构的影响

大黄鱼幼鱼投喂 56 d 不同水平的 SPC 后, 其后肠组织结构如表 3、图 1 所示。各组幼鱼肠道

表 2 SPC 替代鱼粉后大黄鱼幼鱼的生长指标
Tab. 2 Effect of replacement of fish meal by SPC on growth indexes of juvenile *Larimichthys crocea*

项目 item	饲料组 diet group				
	对照组 SPC0	SPC25	SPC50	SPC75	SPC100
初体重/g initial body weight	10.48 $\pm$ 0.01	10.54 $\pm$ 0.01	10.49 $\pm$ 0.01	10.46 $\pm$ 0.01	10.54 $\pm$ 0.01
末体重/g final body weight	42.45 $\pm$ 0.53 ^{ab}	45.46 $\pm$ 0.67 ^a	44.78 $\pm$ 0.91 ^a	44.34 $\pm$ 0.63 ^{ab}	40.50 $\pm$ 0.23 ^b
存活率/% survival rate	91.67 $\pm$ 2.55	92.22 $\pm$ 4.45	92.22 $\pm$ 3.09	93.89 $\pm$ 4.55	90.56 $\pm$ 3.89
特定生长率/% SGR	2.30 $\pm$ 0.03	2.42 $\pm$ 0.06	2.40 $\pm$ 0.04	2.42 $\pm$ 0.08	2.18 $\pm$ 0.08
增重率/% WGR	270.99 $\pm$ 7.00	297.25 $\pm$ 13.51	293.07 $\pm$ 7.97	297.75 $\pm$ 17.95	248.08 $\pm$ 15.56
饲料系数 FCR	1.34 $\pm$ 0.03	1.23 $\pm$ 0.06	1.19 $\pm$ 0.04	1.15 $\pm$ 0.08	1.27 $\pm$ 0.08

注: 同一行数据上标不同字母表示各组间差异显著($P<0.05$).
Note: Different superscript letters on the same row indicate significant difference between different groups ($P<0.05$).

表 3 饲料中大豆浓缩蛋白替代水平对大黄鱼幼鱼肠道显微结构指标的影响
Tab. 3 Effect of dietary soybean protein concentrate (SPC) on intestinal microscopic structure of juvenile *Larimichthys crocea*

组别 group	黏膜厚度/ μm mucosa thickness	皱襞高度/ μm mucosafold height	固有层宽度/ μm lamina propria width	杯状细胞数量/(个/根) goblet cell quantity
SPC0	173.45 $\pm$ 14.11	3.41 $\pm$ 0.13	5.78 $\pm$ 0.29	5.25 $\pm$ 4.33
SPC25	136.58 $\pm$ 25.00	3.86 $\pm$ 0.57	4.79 $\pm$ 0.72	3.49 $\pm$ 1.40
SPC50	137.07 $\pm$ 40.90	4.79 $\pm$ 0.72	3.21 $\pm$ 0.50	3.14 $\pm$ 2.11
SPC75	122.45 $\pm$ 17.25	3.75 $\pm$ 0.39	5.17 $\pm$ 0.61	3.66 $\pm$ 1.11
SPC100	148.38 $\pm$ 27.05	4.81 $\pm$ 0.32	4.85 $\pm$ 1.37	5.21 $\pm$ 1.54

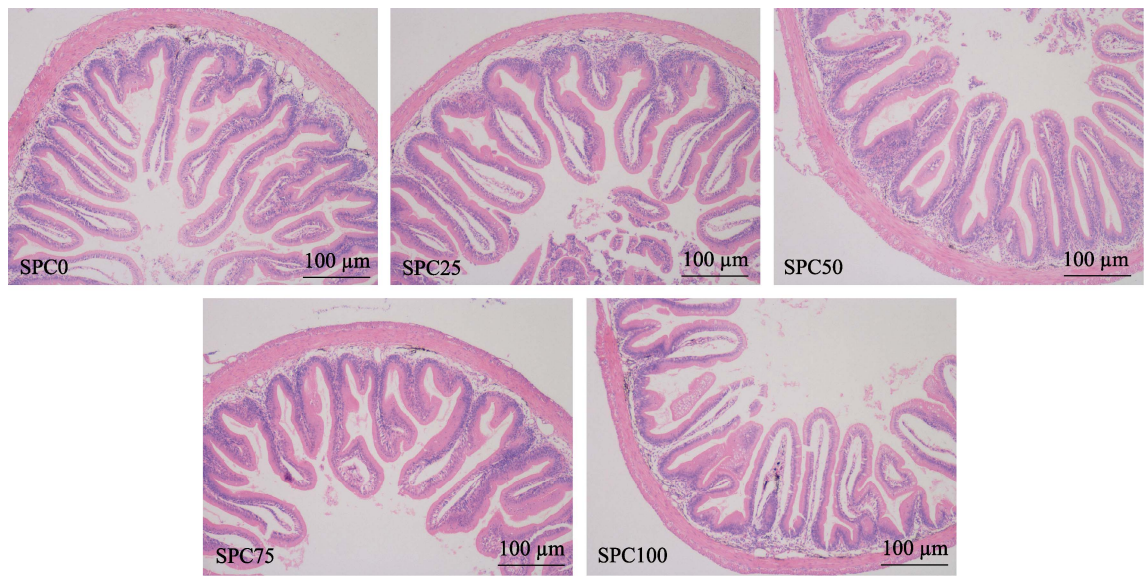


图 1 大豆浓缩蛋白对大黄鱼幼鱼肠道形态的影响(后肠)

Fig. 1 Effect of soybean protein concentrate (SPC) on intestinal morphology of juvenile *Larimichthys crocea* (posterior intestine)

组织结构指标差异不显著($P>0.05$), SPC0、SPC25、SPC50 和 SPC75 组皱襞排列紧密, 分支多, SPC100 组皱襞密度下降, 皱襞个数减少。

2.3 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肠道微生物的影响

2.3.1 基因测序结果分析 SPC0(TC)、SPC25(TB) 和 SPC100(TW)9 个样品共产生 94 个 OTU。样品的多样性指数如表 4 所示。Chao 指数反映样品中群落的丰富度(species richness), 即简单指群落中物种的数量, 而不考虑群落中每个物种的丰度情况。Shannon 指数以及 Simpson 指数反映群落的多样性(species diversity), 相同物种丰富度的情况下, 群落中各物种具有越大的均匀度, 则认为群落具有越大的多样性。表 4 中 Shannon 指数以及 Simpson 指数差异不显著。表明在足够的测序深度下能够反映出所测样品绝大多数的菌群信息。所有样品的覆盖率为 0.999 左右, 表明几乎各样品中的全部微生物种类都被检测到了。

2.3.2 各样品中细菌多样性分析 9 个样品共产生 94 个 OTU, 基于 OTU 数在各样品中的分布, 各样品中菌群菌种的多样性用 MOTHUR 软件中的 venn 命令进行分析, 最终得到了 TC、TB、TW 的 Venn 图(图 2), 直观地展示了样品间 OTU 的重叠情况。由图 2 可见, 在不考虑不同组别的

表 4 大黄鱼幼鱼肠道微生物样品的多样性指数

Tab. 4 Alpha-diversity indexes of gut microbiota samples of juvenile *Larimichthys crocea*

样品 sample	Alpha 多样性指数 Alpha diversity index			
	Chao1	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	覆盖率 Good coverage
Cd16	70.09091	2.741216	0.789658	0.999459
Cd17	71.66667	2.715039	0.778196	0.999459
Cd18	73	2.814059	0.78986	0.9995
Cd19	59.5	2.725246	0.785404	0.999625
Cd20	69.5	2.659581	0.778784	0.999375
Cd21	76.90909	2.680854	0.773701	0.99925
Cd31	71.09091	2.768021	0.784034	0.999459
Cd32	60.6	2.690196	0.782733	0.9995
Cd33	64.25	2.721649	0.783706	0.9995

注: 样品 Cd16、Cd17、Cd18 来自对照组 SPC0(TC); 样品 Cd19、Cd20、Cd21 来自 SPC25 组(TB), 其为生长相对最佳组; 样品 Cd31、Cd32、Cd33 来自 SPC100 组(TW), 为生长相对最差组。
Note: Samples Cd16, Cd17 and Cd18 were from SPC0 (TC, the control group). Samples Cd19, Cd20, Cd21 were from SPC25 group (TB), which was the relatively optimal growth group. Samples Cd31, Cd32 and Cd33 were from SPC100 group (TW), which was the relative worst group.

共有 OTU 数的情况下, TB 组有 76 个 OTU; TC 组有 83 个 OTU; TW 组有 80 个 OTU。TC、TB、TW 组分别两两甚至三组拥有共同 OTU, 图 2 中 TB、TC 组两组 OTU 总数为 91 个, 其共有的 OTU 数为 68 个, 占两者总数的 74.72%; TB、TW 两组 OTU 总数为 87 个, 其共有的 OTU 数为 69 个,

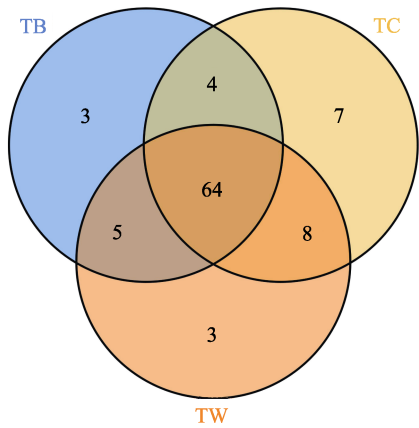


图 2 不同处理组的共同 OTU 分布

图中数字代表样品的 OUT 数量. TC 为对照组(SPC0)样品 Cd16、Cd17、Cd18 的 OTU 数量平均值; TB 为生长相对最佳组(SPC25)样品 Cd19、Cd20、Cd21 的 OTU 数量平均值; TW 为生长相对最差组(SPC100)样品 Cd31、Cd32、Cd33 的 OTU 数量平均值.

Fig. 2 Shared OTU analysis of different groups
The number in the figure represent the OUT number of samples. TC is the average OTU quantity of Cd16, Cd17 and Cd18 in SPC0 group. TB was the average number of Cd19, Cd20 and Cd21 OTUs of SPC25. TW is the average number of Cd31, Cd32 and Cd33 OUTs of SPC100.

占两者总数的 79.31%; TC、TW 两组 OTU 总数为 91 个, 其共有的 OTU 数为 72 个, 占两者总数的 79.12%。TB、TC、TW 三组 OTU 总数为 94, 三组共有的 OTU 数为 64 个, 占三者总数的 68.08%。基于以上分析, 在相同养殖环境下, 大黄鱼幼鱼后肠道细菌群落具有一个核心的微生物菌群, 大豆浓缩蛋白替代鱼粉比例对其的影响不大。

从属的水平来看(表 5), 3 个实验组共有的优势属为类芽孢杆菌(*Paenibacillus*)(36.10%~43.58%)和嗜碱菌属(*Alkaliphilus*)(7.61%~9.35%)。

2.3.3 各处理在属水平的差异性比较 如图 3 所示, 与 TC 组相比, TB 组微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、红杆菌属(*Rhodobacter*)和伦黑墨氏菌属(*Rheinheimera*)的物种丰度显著降低($P<0.05$); TW 组与 TC 组相比较, 红杆菌属(*Rhodobacter*)的物种丰度显著降低($P<0.05$), 乳杆菌属(*Lactobacillus*)的物种丰度显著增加($P<0.05$)。

2.3.4 肠道微生物与大黄鱼生长和免疫的相关性

由图 4 可见, 大黄鱼幼鱼肠道微生物与特定生长率(SGR)相关的属有乳杆菌属(*Lactobacillus*)和纤维弧菌属(*Cellvibrio*); 与溶菌酶(LYZ)

表 5 大黄鱼幼鱼肠道中属水平细菌的分布
($>0.01\%$ 整个序列)

Tab. 5 Frequency distribution (%) of bacterial genus in intestine of juvenile *Larimichthys crocea* on the level of genus ($>0.01\%$ of the entire sequence)

属 genus	样品 sample									
	Cd16	Cd17	Cd18	Cd19	Cd20	Cd21	Cd31	Cd32	Cd33	
<i>Paenibacillus</i>	40.30	36.10	36.52	38.41	43.58	36.55	38.02	41.24	37.68	
<i>Alkaliphilus</i>	7.97	8.40	7.82	9.27	9.35	8.35	7.61	8.97	8.31	
<i>Bacillus</i>	5.14	5.02	5.27	5.71	4.39	5.14	5.67	5.19	4.67	
<i>Enterococcus</i>	2.88	3.09	3.15	2.94	3.12	3.37	2.87	2.94	2.71	
<i>Lactococcus</i>	1.67	2.05	2.12	1.75	1.41	1.93	1.69	1.60	1.71	
<i>Brevibacillus</i>	0.79	0.69	0.75	0.78	0.63	0.79	0.64	0.68	0.68	
<i>Halomonas</i>	0.45	0.42	0.96	0.55	0.50	0.33	0.10	0.60	0.78	
<i>Clostridium</i>	0.56	0.60	0.66	0.58	0.64	0.59	0.63	0.58	0.60	
<i>Streptococcus</i>	0.20	0.22	0.28	0.18	0.23	0.19	0.23	0.15	0.24	
<i>Pseudomonas</i>	0.21	0.21	0.34	0.19	0.14	0.25	0.22	0.14	0.18	
<i>Leuconostoc</i>	0.06	0.11	0.08	0.07	0.10	0.03	0.05	0.08	0.10	

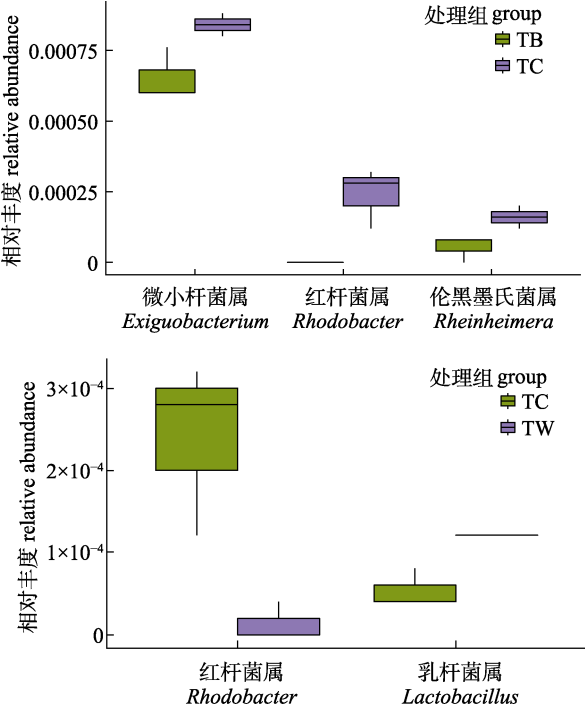


图 3 各处理组在属水平的差异比较

TC 为对照组(SPC0)样品 Cd16、Cd17、Cd18 的菌属相对丰度平均值; TB 为生长相对最佳组(SPC25)样品 Cd19、Cd20、Cd21 菌属相对丰度平均值; TW 为生长相对最差组(SPC100)样品 Cd31、Cd32、Cd33 菌属相对丰度平均值.

Fig. 3 Comparison between different treatments in the level of genus

TC was the average relative abundance of Cd16, Cd17 and Cd18 bacteria in SPC0 samples. TB was the average relative abundance of Cd19, Cd20 and Cd21 bacteria in group with relative optimal growth (SPC25). TW was the average relative abundance of Cd31, Cd32 and Cd33 bacteria in group with worst growth (SPC100).

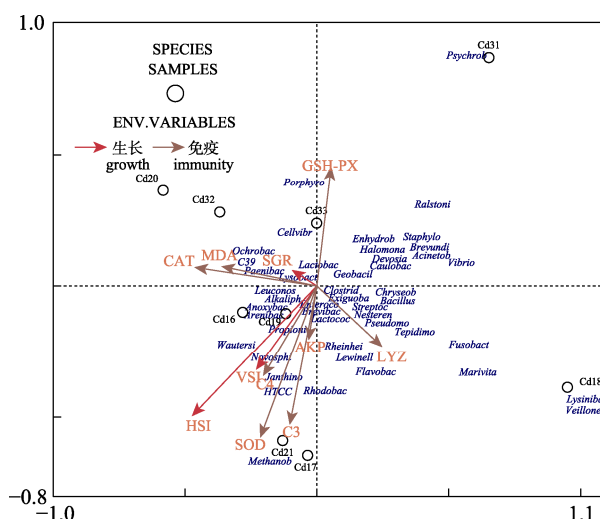


图 4 肠道微生物与大黄鱼生长和免疫指标的相关性

Fig. 4 Correlation between intestinal microflora and growth and immunity of *Larimichthys crocea*

相关的属有乳球菌属(*Lactococcus*)和假单胞菌(*Pseudomonas*); 与碱性磷酸酶(AKP)和补体 C3 相关的属有红杆菌属(*Rhodobacter*)和甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)。

3 讨论

3.1 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长的影响

本研究结果发现 SPC75 组(即 SPC 替代 75% 饲料鱼粉)大黄鱼生长指标没有显著变化,但是 SPC 100 组大黄鱼末体重显著低于 SPC25、SPC 50 组($P < 0.05$), SPC 替代鱼粉对大黄鱼其他各生长指标没有造成显著影响。同样本实验室前期对大黄鱼生长性能、体成分、血液指标以及肝脏组织学深入分析的结果显示, SPC 可以完全替代鱼粉而不会对大黄鱼生长造成负面影响,但建议用 SPC 替代 75% 饲料鱼粉,此替代水平不会对大黄鱼肝生理机能产生不利影响^[9]。结合本实验室前期试验以及本实验结果可得出 SPC 可以完全替代鱼粉而不会对大黄鱼生长造成负面影响。目前,水产饲料中应用 SPC 研究报道较多并证实 SPC 替代 37.23% 的鱼粉对杂交石斑鱼(*Epinephelus fusco-guttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂)生长性能没有影响^[16]。SPC 替代 51.49% 的鱼粉对梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)效果最佳且不会对其生长性能造成影响^[17]。SPC 替代鱼粉水平不超过

20% 时对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)生长性能影响不显著^[18]。日粮中 SPC 含量高达 82.5% 对黑棘鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)幼鱼没有任何副作用^[19]。SPC 替代鱼粉不超过 40% 对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)的生长没有影响^[20]。SPC 替代凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)鱼粉的适合比例为 25%^[21]。水产动物饲料鱼粉用 SPC 替代的研究证实, SPC 可成为水产动物饲料蛋白的潜在替代源。

3.2 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肠道组织的影响

本研究条件下,除 SPC100 组中皱襞密度及个数减少外,各替代组的幼鱼肠道组织结构与对照组均无显著性差异。这与黄颡鱼食用蝇蛆粉替代鱼粉的饲料结果相似^[22]。研究表明,过量的大豆浓缩蛋白替代鱼粉会降低鱼类蛋白质代谢能力,损伤部分鱼类的肠道组织结构^[10]。鱼类消化吸收养分的主要场所是肠道皱襞,皱襞的形态与营养吸收面积呈正相关,其皱襞越密越高,对营养物质的吸收力越好^[23],这表明高水平大豆浓缩蛋白替代组不能改善大黄鱼的肠道结构,在一定程度会影响对营养物质的吸收。其原因可能是大豆浓缩蛋白中的某些抗营养因子并未完全消除,从而对肠道结构产生负面影响,如大豆抗原蛋白等,在比例较低时,由于抗营养因子较少,因而只对鱼体肠道结构产生相对较小的影响,而比例较高时,则损伤作用变得明显;或是由于饲料适口性随饲料中大豆浓缩蛋白水平的升高而降低,鱼体因此摄食量减少从而营养物质供应不足,致使肠道绒毛萎缩。肠绒毛高度是肠道消化吸收的重要衡量指标之一,肠道绒毛高度的降低意味着肠道吸收面积减少,营养物质供应减少^[24]。同样的幼建鲤在食用大豆分离蛋白替代的鱼粉后其消化吸收能力也随着绒毛高度降低而减弱^[25]。

3.3 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肠道微生物的影响

本研究发现,不同处理组的大黄鱼幼鱼肠道菌群在门和属水平上,其优势菌群种类分别相同,其中厚壁菌门(Firmicutes)在门水平上占绝对优势,类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)在属水平中占绝对优势。肠道微生物不但影响鱼体的消化与吸收,而且在氨基酸、酶、短链脂肪酸、微生物和矿物

质等的形成上具有重要的营养作用^[26]。因此, 在养殖过程中, 探讨鱼类肠道菌群定值问题, 有助于为养殖户在提高鱼类的养殖产量及鱼类疾病的防御能力方面提供参考。本实验研究结果与用大豆粉替代鱼粉饲喂虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的实验结果^[27]类似, 不同大豆粉替代组的虹鳟肠道优势菌群均为厚壁菌门。但对乌鳢的研究结果表明, 随着饲料中豆粕使用量的增加, 厚壁菌门比例显著降低^[11], 这与本研究结果不同, 这可能与实验对象、养殖环境等有关。通过 venn 图发现 TB、TC、TW 3 组共有的 OTU 数为 64 个, 占三者总数的 68.08%。分析在相同养殖环境下, 大黄鱼幼鱼后肠道细菌群落的相似性受大豆浓缩蛋白替代水平的影响不大, 原因可能是鱼类经过长期共进化后, 肠道内的土著微生物群落已经趋于相对稳定, 处于动态平衡中, 形成一个核心的微生物菌群^[28], 这与虹鳟肠道微生物在不同饲料组分下都具有一个核心的微生物菌群的结果类似^[29]。

微小杆菌属属于厚壁菌门、芽孢杆菌科(*Bacillus*), 是一类革兰氏阳性兼性厌氧菌^[30]。在本研究中, 与对照组 TC 相比较, TB 组伦黑墨氏菌属(*Rheinheimera*)与微小杆菌属(*Exiguobacterium*)均显著降低。研究表明, 微小杆菌属和伦黑墨氏菌属(*Rheinheimera*)中部分菌株具有较稳定的抗菌性且微小杆菌属还具有产蛋白酶的功能^[31-32], 另有研究表明红杆菌属对致病菌有抑制作用^[33]。本实验中较之 TC 组, TB 与 TW 红杆菌属(*Rhodobacter*)的物种丰度显著降低($P < 0.05$), 推测大豆浓缩蛋白替代鱼粉后在某种程度上可能会降低对肠道中某些致病菌的抑制效果。乳杆菌属(*Lactobacillus*)能在宿主肠道上皮上定植, 在水生动物体肠道中与某些致病菌竞争肠道上皮的附着点, 与宿主建立一种共生关系, 维持肠道菌群结构的平衡的同时还能有效地减少宿主感染肠道致病菌, 增强肠道黏膜免疫调节的能力^[34]。本研究中, 对照组 TC 中乳杆菌属的物种丰度显著低于 TW 组, 这与摄食豆粕的虹鳟肠道中乳杆菌属物种丰度增加类似^[35]。这种肠道微生物菌群产生差异的原因可能是某些鱼类摄食植物蛋白源的饵料后转化效率低, 诱发肠道肠炎, 致使机体中某些有益菌繁殖以抑制病原菌的侵害。

3.4 SPC 替代鱼粉后肠道微生物变化与健康代谢的关系

本实验中也发现生长指标 SGR 与乳杆菌属和纤维弧菌属(*Cellvibrio*)相关性较高。抗氧化和免疫指标 LYZ 与乳球菌属和假单胞菌相关性较高。AKP 和 C3 与红杆菌属和甲烷杆菌属相关性较高。鱼类肠道微生物菌群一直是处于动态平衡中的, 鱼类的免疫能力与营养受其数量和结构变化的影响^[32]。乳杆菌能够促进饲料的消化, 使投喂对象生长速率得到提高, 在水产养殖中经常作为益生菌添加入水生动物饲料中, 如大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)、黄河鲤(*Cyprinus carpio* var. *huanghe*)在投喂含有适量乳杆菌的饲料后存活率和生长性能都有所提高^[36-39]。LYZ 是一种在鱼类免疫反应中发挥重要作用的水解酶, 能够溶解细菌清除外来有害物质, 具有防御功能, 能够抵御病原菌的感染^[39-43]。乳球菌是一种革兰氏阳性菌, 能够激活先天免疫。在对驼背鲈(*Cromileptes altivelis*)的实验中发现其能够诱导 LYZ 的活性, 刺激巨噬细胞的活化进而提高免疫能力^[44]。同样的在对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[45]的研究中其血清 LYZ 的活性在添加乳酸乳球菌 MM1 后得到提高。而假单胞菌是鱼类致病菌之一, 推测可能是由于假单胞菌的侵入引起机体产生一系列免疫反应从而导致 LYZ 活性升高。AKP 是一种膜结合蛋白, 是评定机体免疫和健康情况的重要参考指标, 如果机体中出现 AKP 活性升高的情况说明可能有病变存在^[39,41]。红杆菌属被发现对致病菌有抑制作用, 所以推测红杆菌属和 AKP 之间存在某种反应最终能够抑制病原菌生长。而在对军曹鱼幼鱼(*Rachycentron canadum*)研究中, 其 AKP 活性则受枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)影响而降低^[41]。由此可见实验对象、投喂材料以及生长环境不同, 所得到的结果也不尽相同, 因此本实验所得出的肠道菌群与健康代谢之间的关系是否可以解释 SGR 和 LYZ 的变化还有待进一步验证。

4 结论

大豆浓缩蛋白替代 100%鱼粉也未对大黄鱼

幼鱼的生长指标产生显著的不利影响,从大黄鱼幼鱼肠道微生物变化来看,厚壁菌门在各组幼鱼肠道菌群中均占绝对优势,而且各组的幼鱼肠道菌群具有相同的优势菌属。因此,本实验条件下,可以使用大豆浓缩蛋白完全替代大黄鱼幼鱼饲料鱼粉,对大黄鱼幼鱼的生长和存活及其肠道组织结构及优势菌群的变化均不产生影响。

参考文献:

- [1] Tang T, Zhong L, Xun Z L, et al. Effects of fish meal replacement by three kinds of soybean products on growth performance, intestinal digestive enzyme activities and serum biochemical indices of rice filed eels (*Monopterus albus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(2): 970-980. [唐涛, 钟蕾, 郇志利, 等. 3 种大豆产品替代鱼粉对黄鳝生长性能、肠道消化酶活性和血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(2): 970-980.]
- [2] Sun G W, Wang Z D, Liu M, et al. Effects of soybean protein concentrate and corn protein meal replacing fish meal on growth performance and body composition of *Larimichthys crocea*[J]. Guangdong Feed, 2019, 28(11): 26-29. [孙广文, 王卓铎, 刘敏, 等. 大豆浓缩蛋白和玉米蛋白粉替代鱼粉对大黄鱼生长性能和体组成的影响[J]. 广东饲料, 2019, 28(11): 26-29.]
- [3] Han X X, Ye K, Wang Z Y, et al. Effect of substitution of fish meal with defatted black soldier fly larvae meal on growth, body composition, serum biochemical parameters, and antioxidant capacity of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(5): 524-535. [韩星星, 叶坤, 王志勇, 等. 脱脂黑水虻虫粉替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、体成分、血清生化指标及抗氧化能力的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(5): 524-535.]
- [4] Takakuwa F, Suzuri K, Horikawa T, et al. Availability of potato protein concentrate as an alternative protein source to fish meal in greater amberjack (*Seriola dumerili*) diets[J]. Aquaculture Research, 2020, 51(3): 1293-1302.
- [5] Yu F, Zhang J S, Zhao S B, et al. Feasibility study on the application of soybean protein concentrate to replace part of red fish meal in adult yellow catfish feed[J]. Cereal & Feed Industry, 2019(6): 46-49. [于菲, 张建设, 赵帅兵, 等. 大豆浓缩蛋白替代部分红鱼粉在黄颡鱼成鱼饲料中应用的可行性研究[J]. 粮食与饲料工业, 2019(6): 46-49.]
- [6] Zhang X, Han B, Hu J T, et al. Effects of replacement of fish meal by soybean meal on growth performance, protein utilization and intestinal tissue morphology of *Channa argus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(6): 2799-2807. [张鑫, 韩蓓, 胡俊涛, 等. 豆粕替代鱼粉对乌鳢生长性能、蛋白质利用及肠道组织形态的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(6): 2799-2807.]
- [7] Jiang L S, Chen W, Li B S, et al. Effects of replacing fish-meal by protein hydrolysates on the growth performance and physiological metabolism of *Scophthalmus maximus*[J]. Marine Fisheries, 2019, 41(5): 596-605. [姜立生, 陈玮, 李宝山, 等. 水解蛋白替代鱼粉对大菱鲆生长及生理代谢的影响[J]. 海洋渔业, 2019, 41(5): 596-605.]
- [8] Li L G, Xiao W W, Ge M L. Technology, nutrition and application of soy protein concentrate in animal diets[J]. Feed Industry, 2015, 36(S1): 29-32. [李林桂, 肖伟伟, 葛梦兰. 大豆浓缩蛋白的生产工艺、营养组成及在动物日粮中的应用[J]. 饲料工业, 2015, 36(S1): 29-32.]
- [9] Feng J, Wang P, He J J, et al. Effect of replacing fish meal with soybean protein concentrate on growth, body composition, serum biochemical indices, and liver histology of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(2): 268-277. [冯建, 王萍, 何娇娇, 等. 大豆浓缩蛋白替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、体成分、血清生化指标及肝组织学的影响[J]. 中国水产科学, 2017, 24(2): 268-277.]
- [10] Zhu R, Li L, Wu L F, et al. Soy protein concentrate instead of fish meal processing status and impact on fish[J]. Soybean Science, 2019, 38(2): 317-321. [朱瑞, 李良, 吴莉芳, 等. 大豆浓缩蛋白替代鱼粉加工现状及对鱼类影响[J]. 大豆科学, 2019, 38(2): 317-321.]
- [11] Zhu J Y, Han B, Bu H Y, et al. Effects of dietary soybean meal on the intestinal microbiota and metabolic enzymes activities of microbial amino acids of *Channa argus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(4): 642-650. [朱锦裕, 韩蓓, 卜弘毅, 等. 豆粕对乌鳢肠道菌群组成及微生物氨基酸代谢酶活性的影响[J]. 水产学报, 2020, 44(4): 642-650.]
- [12] Yin B. Effects of plant protein sources replacing fish meal on growth performance, intestinal microflora and immunity of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019. [殷彬. 植物蛋白源替代鱼粉对珍珠龙胆生长性能、肠道菌群和免疫的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2019.]
- [13] He J J, Wang P, Feng J, et al. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on the growth, serum biochemical indices and liver histology of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(3): 506-515. [何娇娇, 王萍, 冯建, 等. 玉米蛋白粉替代鱼粉对大黄鱼生长、血清生化指标及肝脏组织学的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3): 506-515.]

- [14] He J J, Wang P, Feng J, et al. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth, intestinal histology, and intestinal microbiota of large yellow croaker, *Larimichthys crocea*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(2): 361-372. [何娇娇, 王萍, 冯建, 等. 玉米蛋白粉对大黄鱼生长、肠道组织结构及肠道菌群的影响[J]. 中国水产科学, 2018, 25(2): 361-372.]
- [15] He J J, Wang P, Feng J, et al. Effects of fermented soybean meal on the growth and intestinal histology and microbiota of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2018, 42(5): 919-928. [何娇娇, 王萍, 冯建, 等. 发酵豆粕对大黄鱼生长、肠道结构及肠道微生物菌群的研究[J]. 水生生物学报, 2018, 42(5): 919-928.]
- [16] Wang J X, Liang D Z, Yang Q H, et al. The effect of partial replacement of fish meal by soy protein concentrate on growth performance, immune responses, gut morphology and intestinal inflammation for juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2020, 98: 619-631.
- [17] Wang X X, Yuan Y, Li C C, et al. Partial substitution of fish meal with soy protein concentrate in commercial diets for juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. Animal Feed Science and Technology, 2020, 259: 114290.
- [18] Li C C, Huang W W, Jin M, et al. Effects of fish meal replacement with soybean protein concentrate on growth performance, feed utilization and digestive enzyme and antioxidant enzyme activities of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(1): 375-386. [李晨晨, 黄文文, 金敏, 等. 大豆浓缩蛋白替代鱼粉对黄颡鱼生长、饲料利用、消化酶和抗氧化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(1): 375-386.]
- [19] Kalhor H, Zhou J, Hua Y, et al. Soy protein concentrate as a substitute for fish meal in diets for juvenile *Acanthopagrus schlegelii*: Effects on growth, phosphorus discharge and digestive enzyme activity[J]. Aquaculture Research, 2018, 49(5): 1896-1906.
- [20] Xiang F Q. Effect of sea bass on growth, immune and intestinal flora by soy protein concentrate[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2017. [向芳琴. 大豆浓缩蛋白对海鲈生长、免疫及肠道菌群的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017.]
- [21] Chen J N. The application of soy protein concentrate, methionine, and hydroxyl methionine calcium in white shrimp feed[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017. [陈佳楠. 大豆浓缩蛋白和蛋氨酸、羟基蛋氨酸钙在凡纳滨对虾饲料中的应用研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.]
- [22] Wen Y H, Huang Y H, Wang G X, et al. Effect of replacement of fish meal with maggot meal on antioxidant indexes, digestive enzyme activities, foregut and hepatopancreas histological structure of *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Feed Industry, 2015, 36(4): 29-35. [文远红, 黄燕华, 王国霞, 等. 蝇蛆粉替代鱼粉对黄颡鱼抗氧化指标、消化酶活性及前肠、肝胰脏组织结构的影响[J]. 饲料工业, 2015, 36(4): 29-35.]
- [23] Wu L F, Qin G X, Sun Z W, et al. Effect of dietary dehulled soybean meal replacing fish meal on the activity of digestive enzyme and the intestinal tissue of *Clarias lazera*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2010, 49(4): 99-105. [吴莉芳, 秦贵信, 孙泽威, 等. 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[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2010, 49(4): 99-105.]
- [24] Wu T Q. Effects of hydrolyzed feather meal on growth, meat quality and intestinal health of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2019. [吴桐强. 水解羽毛粉对黄颡鱼生长、品质和肠道健康的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.]
- [25] Zhang X. T. The effect of soybean protein source on growth performance and intestinal immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2003. [张锦秀. 大豆蛋白源对幼建鲤生长性能及肠道免疫的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2003.]
- [26] Liu H, Guo X W, Gooneratne R, et al. The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 24340.
- [27] Mansfield G S, Desai A R, Nilson S A, et al. Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestinal microbiota and inflammatory marker gene expression in a recirculating aquaculture system[J]. Aquaculture, 2010, 307(1-2): 95-104.
- [28] Wang C. Effects of *Bacillus velezensis* V4 and *Rhodotorula mucilaginosa* on the growth, immune response and gut microbiota of salmon and trouts[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2017. [王纯. 芽孢杆菌 V4 和胶红酵母对鲑鳟鱼生长免疫及肠道菌群影响研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2017.]
- [29] Wong S, Waldrop T, Summerfelt S, et al. Aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess a large core intestinal microbiota that is resistant to variation in diet and rearing density[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(16): 4974-4984.
- [30] Zhang Y, Shi P, Ma J. *Exiguobacterium* spp. and their applications in environmental remediation[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(5): 898-904. [张莹, 石萍, 马炯. 微小杆菌 *Exiguobacterium* spp. 及其环境应用研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(5):

- 898-904.]
- [31] Li H. Screening and identification of antibacterial strains isolated from Antarctic and study on the antibiotic substances[D]. Jinan: Shandong Institute of Light Industry, 2011. [李贺. 极地微生物抗细菌活性菌株的筛选、鉴定及活性物质的初步研究[D]. 济南: 山东轻工业学院, 2011.]
- [32] Ma X K, Wu X M, Hu Y Q. Effects of two species of dietary viable bacteria on microbiota in water and intestinal of juvenile red crucian carp *Carassius auratus*[J]. Fisheries Science, 2018, 37(3): 316-323. [马小康, 吴小嫚, 胡乐琴. 2 种活菌饲料对金鲫幼鱼肠道及水体微生态的影响[J]. 水产科学, 2018, 37(3): 316-323.]
- [33] Pei P B, Wu J Q, Liang H H, et al. Effects of biological water purification grid on intestinal flora composition of Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Fisheries Science, 2018, 37(3): 301-308. [裴鹏兵, 吴洁琼, 梁宏豪, 等. 生物净水栅对凡纳滨对虾肠道菌群组成的影响[J]. 水产科学, 2018, 37(3): 301-308.]
- [34] Chen X. Researches of the health function on probiotic *Lactobacillus*[J]. China Dairy Industry, 2011, 39(7): 40-43, 49. [陈曦. 乳杆菌属的益生菌保健功能及研究进展[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(7): 40-43, 49.]
- [35] 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(1): 259-268.
- [36] Lai K Z. Effects of adding compound probiotics in diet on growth performance, intestinal protease activity and feed digestibility in *Oreochromis*[D]. Nanning: Guangxi University, 2012. [赖凯昭. 饲料中添加复合益生菌对罗非鱼生长性能、肠道蛋白酶活性和饲料消化率的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2012.]
- [37] Su C Y. Isolation, identification and application of effective microorganisms in marine aquaculture[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015. [苏晨阳. 海水养殖有益菌微生物的筛选鉴定及应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.]
- [38] Zhang C N, Zhang J L, Guan W C, et al. Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on immune response, disease resistance against *Aeromonas hydrophila*, antioxidant capability and growth performance of *Cyprinus carpio* Huanghe var[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 68: 84-91.
- [39] Liu Y. Effect of *Lactobacillus fermentum* in the diet on growth performance, functions of digestion, absorption and immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2011. [刘羽. 饲料中添加乳酸杆菌对幼建鲤生长性能、消化吸收功能和免疫功能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.]
- [40] Chen J W, Guo D Y, Zhao B, et al. Effects of dietary supplementation of β -glucan and heat-killed *Lactobacillus plantarum* on growth performance, intestinal fatty acid composition and immune response of dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(1): 52-59. [陈靖雯, 郭道远, 赵冰, 等. 饲料 β -葡聚糖和灭活乳酸菌的添加对泥鳅幼鱼生长性能、肠脂肪酸组成及免疫性能的影响[J]. 水生生物学报, 2019, 43(1): 52-59.]
- [41] He W C, Dong X H, Tan B P, et al. Effects of probiotics on growth performance, digestive enzyme and immune enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(12): 3821-3830. [何伟聪, 董晓慧, 谭北平, 等. 益生菌对军曹鱼幼鱼生长性能、消化酶和免疫酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(12): 3821-3830.]
- [42] Zhang Q. Effect of different combinations of probiotics on growth performance immune function intestinal microbial communities in crucian carp[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010. [张强. 不同组合益生菌对鲫鱼生长性能、免疫功能及肠道菌群结构影响研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.]
- [43] Pridgeon J W, Shoemaker C A, Klesius P H. Identification and expression profile of multiple genes in the anterior kidney of channel catfish induced by modified live *Edwardsiella ictaluri* vaccination[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2010, 134(3-4): 184-198.
- [44] Sun Y, He M W, Cao Z J, et al. Effects of dietary administration of *Lactococcus lactis* HNL12 on growth, innate immune response, and disease resistance of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 82: 296-303.
- [45] Sun Y Z, Yang H L, Ma R L, et al. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*[J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(3): 281-289.

Effects of soy protein concentrate on growth and intestinal microbiota of large yellow croaker, *Larimichthys crocea*

SHUI Xiaomei¹, LIN Ge¹, ZHAO Xintao², HUANG Jun¹, HE Jiaojiao¹, LOU Yudong¹, FENG Jian¹, WANG Ping¹

1. Zhejiang Province Key Laboratory of Marine Aquaculture Equipment and Engineering Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000, China;

2. Dalian Bangchui Island Sea Cucumber Development Co. Ltd, Dalian 116100, China

Abstract: In order to explore the influence of soybean protein concentrate (SPC) in place of fish meal on the growth, intestinal structure, and intestinal microbial community of *Larimichthys crocea* (with an initial weight of 10.50 g±0.04 g), SPC with concentrations of 0% (SPC0, control group), 25% (SPC25), 50% (SPC50), 75% (SPC75), and 100% (SPC100) were used to replace the fish meal in the basic feed (containing 40% fish meal) to produce five experimental feed stocks with equal nitrogen (crude protein level = 45%) and other fats (crude fat level = 10%). The feeding experiment was carried out for a period of 56 days. Our results showed that the survival rate, weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), and feed coefficient rate (FCR) of young fish were not significantly affected by SPC-substituted fish meal compared with SPC0 (control group) ($P>0.05$). Intestinal histology showed that there were no significant differences in the posterior intestinal mucosa, plica height, natural width, and goblet cell number in the intestinal tract of juvenile fish in each treatment group ($P>0.05$). Illumina HiSeq high-throughput sequencing analysis with Chao1, Shannon index, Simpson index, and Good coverage analysis showed that there were no significant differences ($P>0.05$) among SPC0 (TC: control), SPC25 (TB: The relative optimal growth group), and SPC100 (TW: The relative worst growth group). At the phylum level, *Firmicutes* were the dominant bacteria group in the TC, TB, and TW groups, whereas *Paenibacillus* dominated at the genus level. Compared with the TC group, the species abundance of *Exiguobacterium*, *Rhodobacter*, and *Rheinheimera* in the TB group was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the TC group, the species abundance of *Rhodobacter* in the TW group was significantly decreased ($P<0.05$), and that of *Lactobacillus* was significantly increased ($P<0.05$). In conclusion, the growth, intestinal structure, and intestinal dominant flora of juvenile yellow croaker were not negatively affected by the complete substitution of fish meal with soy protein concentrate.

Key words: *Larimichthys crocea*; soy protein concentrate; growth; intestinal histology; high-throughput sequencing; intestinal microbiota

Corresponding author: WANG Ping. E-mail: 17855848289@163.com