

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16161

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

冯建¹, 王萍^{1,2}, 何娇娇¹, 娄宇栋¹, 党慧¹, 邓蓉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 316022;

2. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211

摘要: 为探索大豆浓缩蛋白(SPC)替代鱼粉水平对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)幼鱼生长、体成分和血清生化指标以及肝组织学的影响。以初始体重为(10.50±0.04) g 的大黄鱼幼鱼为研究对象, 用 SPC 替代基础饲料(含 40%鱼粉)0% (FM)、25%(R25)、50% (R50)、75% (R75)、100% (R100)的鱼粉制作成 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。各实验组以对照组(FM)饲料蛋氨酸、赖氨酸含量为基准, 分别添加适量的晶体赖氨酸和蛋氨酸。养殖实验在浙江省象山县西沪港区进行, 每个处理随机分配 3 个网箱(1.5 m×1.5 m×2 m), 每个网箱放养 60 尾, 养殖周期为 56 d。结果表明, 与对照组相比(FM), SPC 替代鱼粉水平对大黄鱼幼鱼的增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、存活率(SR)以及饲料系数(FCR)没有显著影响($P>0.05$); 肌肉粗蛋白和全鱼粗蛋白无显著差异($P>0.05$), 肌肉粗脂肪和全鱼粗脂肪含量随替代比例的增加有下降的趋势, 均以 R100 组含量最低, 肌肉水分含量和全鱼水分有上升的趋势; 血清各项指标没有显著性差异, 但血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)含量有下降趋势, 以 R100 组含量最低; 血清胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)的含量呈现出先升高后下降的趋势。从肝组织学观察中发现, SPC 替代水平超过 75%会对肝细胞产生损伤, 引起肝细胞空泡化, 脂肪堆积加重, 肝细胞核逐渐溶解或缺失。综上所述, 在本研究条件下, SPC 替代饲料 75%的鱼粉, 不会对大黄鱼幼鱼的生长造成负面影响。

关键词: 大黄鱼; 大豆浓缩蛋白; 生长及体成分; 血清生化指标; 肝组织学; 鱼粉替代

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)02-0268-10

鱼粉因其具有优良的必需氨基酸组成, 富含多种矿物质, 容易消化吸收等, 是养殖鱼类的主要蛋白源^[1]。近几十年来随着世界经济的发展, 人们生活水平明显改善, 极大提高了人们对海产品的消费需求, 进一步刺激着水产养殖业的发展; 另外, 过度捕捞、海洋环境污染等使得海洋渔业资源遭到破坏也导致了鱼粉价格持续走高。鱼粉的供不应求、价格昂贵等原因使得鱼粉的替代研究大量出现。据报道, 降低饲料鱼粉用量甚至不添加鱼粉同样可以实现养殖鱼类或贝类的正常生

产^[1]。大豆浓缩蛋白(SPC)是豆粕经过除去水溶性和醇溶性非蛋白部分的产物, 蛋白含量可达 65%^[2], 它有效地减少或去除了豆粕中的一些抗营养因子, 极大提高了营养价值^[2-3]。但是因其适口性较差、赖氨酸、蛋氨酸含量较低等原因, 过高比例鱼粉替代水平将会对养殖鱼类的生长产生不良影响^[4], 而在饲料中添加诱食剂、补充晶体氨基酸可以明显提高鱼粉替代水平^[5-6]。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*), 硬骨鱼纲, 鲈形目(Perciformes), 石首鱼科(Sciaenidae), 黄鱼属,

收稿日期: 2016-05-23; 修订日期: 2016-07-24.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31602205); 浙江省自然科学基金重点项目(Z16E090006); 国家海洋公益性行业科研专项(201505025); 舟山市海洋专项(2015C41001); 浙江省重中之重学科开放基金项目(XKZSC1406); 浙江海洋大学省重中之重学科项目(20160105).

作者简介: 冯建(1989-), 男, 硕士研究生, 主要从事海洋生物养殖学研究. E-mail: 1449142020@qq.com

通信作者: 王萍, 教授. E-mail: wp77319@163.com

是中国大陆传统“四大海产”之一,也是中国近海主要经济鱼类之一。随着人工繁育的成功,大黄鱼逐渐成为中国大陆主要的海水养殖鱼类。目前已有学者对大黄鱼进行了饲料鱼粉的替代研究,如 Ai 等^[7]研究发现,肉骨粉可替代鱼粉水平为 45%; Li 等^[8]研究指出,豆粕、肉骨粉、家禽副产品可以替代饲料鱼粉的 30%,超过 30%则会影响正常生长;而花生粕因为含有胰蛋白酶抑制因子,替代 30%则会对生长产生不利影响;张帆等^[9]报道,在饲料中添加植酸酶、复合益生菌等可以使豆粕替代饲料鱼粉的比例提高到 45%为不影响大黄鱼的正常生长,但更高水平的鱼粉替代水平会造成肠道的损伤。本研究使用大豆浓缩蛋白粉替代饲料鱼粉,研究其对大黄鱼幼鱼生长性能、体成分、血清生化指标以及对肝组织学的影响,探索大豆浓缩蛋白粉替代饲料鱼粉的最佳比例,以期丰富大黄鱼饲料营养相关数据库,为大黄鱼幼鱼全价配合饲料的配制提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验设计与实验饲料

以鱼粉、大豆浓缩蛋白粉(SPC)、小麦蛋白粉和豆粕为主要蛋白源,鱼油、大豆油和大豆卵磷脂为主要脂肪源,配制 5 种等氮(蛋白水平为 45%)等脂(脂肪水平为 10%)的实验饲料。以大豆浓缩蛋白替代基础饲料(含 40%的鱼粉)0%(FM)、25%(R25)、50%(R50)、75%(R75)、100%(R100)的鱼粉。各实验组以对照组(FM)饲料蛋氨酸、赖氨酸含量为基准,分别添加相应水平的晶体赖氨酸和蛋氨酸。具体原料添加量见表 1,主要原料常规成分含量见表 2。所有饲料原料粉碎过 80 目筛,将各种原料按逐级扩大的方法混合均匀,放入搅拌机加水并搅拌,使其充分湿润;用双螺杆挤条机[华南理工大学, F-26(II)型]制作成形,然后用制粒机加工成粒径为 2 mm 和 4 mm 颗粒饲料,将成型的饲料置入 90℃烘箱中熟化 30 min,自然风干,饲料塑封后放入-20℃冰箱保存。

1.2 实验用鱼和养殖过程

养殖实验在浙江省象山县西沪港区进行,正式实验开始前将大黄鱼放入 3 m×6 m×3 m 海水网

箱中暂养 2 周,使用商业饲料进行投喂使之适应人工配合饲料。2 周后,挑选体格强健、大小均一的大黄鱼幼鱼(体重 10.50 g±0.04 g)随机分组。每个处理随机分配 3 个网箱(1.5 m×1.5 m×2 m),每个网箱放养 60 尾,每天饱食投喂 2 次(05:00 和 17:00),养殖周期为 56 d。实验期间水温 25.5~29.5℃,盐度 27~30,溶解氧含量在 7 mg/L 以上。

1.3 样品采集和分析

1.3.1 样品采集和常规分析 56 d 养殖实验结束后,对实验鱼饥饿 24 h,以丁香酚(1:1000)麻醉,然后计数,称重。分别从每个网箱随机抽取 5 尾鱼,用一次性无菌注射器(2 mL)自尾部静脉取血,注入常规采血管,于 4℃条件下静置 24 h,然后离心(3000 r/min, 4℃)10 min,取血清并保存于-20℃冰箱中,用于血清生化指标分析。另取 2 尾鱼,解剖得其肝,清理完表面的脂肪和结缔组织后放入波恩试液固定保存,所有样品固定 24 h 后,用 70%乙醇清洗,并保存于 70%乙醇中。再另取 5 尾置于-20℃冰箱保存,用于常规成分的分析。

饲料原料、实验饲料及鱼体常规成分测定采用 AOAC(1993)的方法。其中水分测定在 105℃恒温烘箱中烘至恒重,粗蛋白的测定采用半微量凯氏定氮法(总氮×6.25),粗脂肪采用索氏抽提法测定,灰分的测定于马福炉(550℃)中灼烧 6 h 后测定。

1.3.2 血清生化指标测定及分析 将血清样品按照试剂盒说明书测定血清生化指标,所测指标包括血清总蛋白、白蛋白、球蛋白等血清蛋白含量,总胆固醇、甘油三酯等血脂含量,血清葡萄糖含量以及血清转氨酶(谷草转氨酶和谷丙转氨酶)活力的测定,所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.3.3 肝组织切片与观察 取出 70%乙醇中保存的肝组织样品,然后酒精梯度脱水,石蜡包埋,组织切片机(Leica RM2135)切片,最后用苏木精-伊红(HE)染色法染色^[10],显微镜下观察组织切片结构并拍照。

1.4 计算及统计分析

研究中各参数所用公式如下列所示。

特定生长率(specific growth rate, SGR)(%)=
$$\frac{(\ln W_t - \ln W_0)}{t} \times 100\%$$

存活率(survival rate, SR)= $N_t/N_0\times100\%$;
增重率(weight gain rate, WGR)=(W_t-W_0)/ $W_0\times100\%$;
饲料系数(feed conversion ratio, FCR)=($T-S$)/(W_t-W_0) $\times100\%$;
式中, W_0 、 W_t 分别表示实验鱼初始体重和终末体重; N_0 、 N_t 分别表示养殖实验开始时的网箱中鱼的尾数和养殖实验结束时网箱中鱼的尾数; T 、 S 分别表示总饲料量和剩余饲料量; t 表示实验天数(d)。
将实验数据用 SPSS 17.0 软件进行单因素方

差分析(one-way ANOVA), 差异显著后进行 Tukey 多重比较, 显著性水平设为 $P<0.05$; 实验结果以平均值 $\pm$ 标准误($\bar{x}\pm SE$)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

如表 3 所示, 各组大黄鱼存活率(SR)、特定生长率(SGR)、增重率(WGR)、饲料系数(FCR)等均无显著差异($P>0.05$), SGR 有下降趋势; R25、R50 组大黄鱼末体重显著高于 R100 组($P<0.05$), 其他组之间无显著差异($P>0.05$)。

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	R25	R50	R75	R100
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 ³⁾ attractant ³⁾	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
组成成分 composition					
粗蛋白 crud protein	45.13	45.83	45.94	46.39	46.67
粗脂肪 crud lipid	10.52	10.23	10.25	9.81	9.56
粗灰分 crud ash	10.45	9.85	9.13	8.29	7.89

注: 1) 复合维生素(以 kg 饲料计): 胡萝卜素 0.1 g; 维生素 D 0.05 g; 生育酚 0.38 g; 维生素 B₁ 0.06 g; 维生素 B₂ 0.19 g; 维生素 B₆ 0.05 g; 氰钴素 0.1 mg; 生物素 0.01 g; 肌醇 3.85 g; 尼克酸 0.77 g; 泛酸 0.27 g; 叶酸 0.01 g; 氯化胆碱 7.87 g; 纤维素 1.92 g. 2) 复合矿物质(以 kg 饲料计): 氟化钠 2 mg; 碘化钾 0.8 mg; 氯化钴(1%) 50 mg; 硫酸铜 10 mg; 硫酸亚铁 80 mg; 硫酸锌 50 mg; 硫酸锰 60 mg; 硫酸镁 1200 mg; 磷酸二氢钙 3000 mg; 氯化钠 100 mg; 沸石粉 15.447 g. 3) 诱食剂: 甘氨酸和甜菜碱(1 : 2).

Note: 1) vitamin premix(on kg diet basis): carotene 0.1 g; vitamin D 0.05 g; tocopherol 0.38 g; vitamin B₁ 0.06 g; vitamin B₂ 0.19 g; vitamin B₆ 0.05 g; cyanocobalamin 0.1 mg; biotin 0.01 g; inositol 3.85 g; niacin acid 0.77 g; pantothenic acid 0.27 g; folic acid 0.01 g; chloride choline 7.87 g; cellulose 1.92 g. 2) mineral premix (on kg diet basis): NaF, 2 mg; KI, 0.8 mg; CoCl₂ · 6H₂O(1%), 50 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 10 mg; FeSO₄ · H₂O, 80 mg; ZnSO₄ · H₂O, 50 mg; MnSO₄ · H₂O, 60 mg; MgSO₄ · 7H₂O, 1200 mg; Ca(H₂PO₄)₂ · H₂O, 3000 mg; NaCl 100 mg; zoelite 15.447 g. 3) attractant: glycine and betaine (1 : 2).

表 2 主要原料常规成分
Tab. 2 Materials of main ingredients

项目 item	粗蛋白质	粗脂肪	粗灰分	水分
	crud protein	crud lipid	crud ash	moisture
鱼粉 fish meal	73.88	10.07	18.41	6.43
豆粕 soybean meal	53.34	2.83	6.61	7.60
小麦蛋白粉 wheat gluten meal	80.68	1.76	0.70	6.05
大豆浓缩蛋白 soybean protein concentrate	66.1	0.79	6.85	7.84

2.2 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼体成分的影响

如表 4 所示, 各处理组大黄鱼幼鱼肌肉粗蛋白、水分和灰分含量无显著差异($P>0.05$), R100 组肌肉粗脂肪含量显著低于 R25 组($P<0.05$), 其他组之间无显著差异($P>0.05$); 各处理组全鱼粗蛋白含量和水分含量也无显著差异($P<0.05$), 但全鱼水分含量上升趋势明显, R100 组全鱼粗脂肪含量显著低于对照组和 R25 组($P<0.05$), 其他组之间无显著差异($P>0.05$), 全鱼灰分含量以 R50 组最高, 且显著高于对照组和 R25 组($P<0.05$)。

表 3 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长的影响
Tab. 3 Effects of replacement of fish meal by SPC on the growth of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

$n=5$; $\bar{x} \pm SE$; WW

项目 item	对照组 FM	饲料组 diet group			
		R25	R50	R75	R100
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/% SR	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: 同一行数据上标无相同字母则表示差异显著($P<0.05$)。各组成分见表 1。

Note: In the same line, the data with different letters mean significant difference ($P<0.05$). The composition for each diet group is shown in Tab. 1.

表 4 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼体成分的影响
Tab. 4 Effects of replacement of fish meal by SPC on body composition of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

$n=5$; $\bar{x} \pm SE$; %; WW

项目 item	对照组 FM	饲料组 diet group			
		R25	R50	R75	R100
肌肉组成 muscle composition					
粗蛋白 crude protein	19.07±0.03	18.35±0.58	18.82±0.12	18.04±0.84	18.95±0.23
粗脂肪 crude lipid	8.32±0.19 ^{ab}	8.57±0.14 ^a	7.69±0.14 ^{abc}	7.40±0.12 ^{abc}	7.03±0.45 ^{bc}
水分 moisture	71.39±0.52 ^a	71.53±0.44 ^a	71.91±0.52 ^{ab}	72.54±0.41 ^{ab}	72.43±0.49 ^{ab}
灰分 crude ash	4.65±0.01 ^{ab}	4.41±0.04 ^a	4.53±0.06 ^{ab}	4.57±0.06 ^{ab}	4.79±0.07 ^b
全鱼组成 whole fish composition					
粗蛋白 crude protein	14.80±0.22	14.93±0.09	15.22±0.26	14.72±0.23	14.45±0.78
粗脂肪 crude lipid	6.84±0.05 ^a	6.59±0.12 ^{ab}	5.91±0.18 ^{bc}	6.30±0.08 ^{abc}	5.45±0.31 ^c
水分 moisture	75.09±0.42	75.35±0.38	75.73±0.38	76.01±0.55	77.22±1.09
灰分 crude ash	13.24±0.09 ^a	13.34±0.11 ^{ab}	14.02±0.07 ^c	13.59±0.11 ^{abc}	13.76±0.02 ^{bc}

注: 同一行数据上标无相同字母表示差异显著($P<0.05$)。各组成分见表 1。

Note: In the same line, the data with different letters mean significant difference ($P<0.05$). The composition for each diet group is shown in Tab. 1.

2.3 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼血清生化指标的影响

从表 5 可见,各处理组大黄鱼幼鱼血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)、总胆固醇(cholesterol, CHOL)、甘油三酯(triglyceride, TG)

和葡萄糖(glucose, GLU)含量均没有显著差异($P>0.05$),但随着鱼粉替代水平的升高 TP、ALB 含量有下降趋势,CHOL、TG 含量呈先升高后下降的趋势;血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)的活性以及谷草、谷丙转氨酶比均无显著差异($P>0.05$)。

表 5 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼血清生化指标的影响
Tab. 5 Effects of replacement of fish meal by SPC on serum biochemical indexes of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

n=5; $\bar{x} \pm SE$

血清指标 serum biochemical index	FM	饲料组 diet groups			
		R25	R50	R75	R100
总蛋白 TP/(g·L ⁻¹)	24.50±1.27 ^a	25.10±0.76 ^a	24.80±0.76 ^a	24.33±0.47 ^{ab}	22.97±0.73 ^{ab}
白蛋白 ALB/(g·L ⁻¹)	6.87±0.47 ^a	6.77±0.15 ^a	6.60±0.20 ^a	6.07±0.13 ^{ab}	5.57±0.30 ^{ab}
球蛋白 GLOB/(g·L ⁻¹)	17.63±0.80 ^{ab}	18.33±0.64 ^b	18.20±0.56 ^b	18.27±0.34 ^b	17.40±0.67 ^{ab}
总胆固醇 CHOL/(mmol·L ⁻¹)	2.15±0.16 ^{abc}	2.28±0.23 ^{bc}	2.48±0.15 ^c	2.01±0.15 ^{abc}	1.65±0.15 ^{ab}
甘油三酯 TG/(mmol·L ⁻¹)	3.49±0.48	4.27±0.67	4.03±0.23	3.79±0.61	2.81±0.14
葡萄糖 GLU/(mmol·L ⁻¹)	5.58±0.10	5.34±1.03	4.98±0.32	5.45±1.05	5.57±0.09
谷丙转氨酶 ALT/(U·L ⁻¹)	12.00±1.53	14.33±1.86	13.00±1.73	15.33±2.03	12.00±1.16
谷草转氨酶 AST/(U·L ⁻¹)	65.33±11.47	79.00±11.53	73.33±15.17	79.67±14.38	61.33±3.76
谷草/谷丙 ASL/AL	5.41±0.44	5.49±0.16	5.55±0.46	5.16±0.64	5.18±0.47

注: 同一行数据上标无相同字母则表示差异显著($P<0.05$)。各组成成分见表 1。
Note: In the same line, the data with different letters mean significant difference ($P<0.05$). The composition for each diet group is shown in Tab. 1.

2.4 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肝组织形态的影响

从肝组织切片显微观察结果(图 1)可以看出,FM、R25、R50、R75 组肝细胞排列较为整齐,细胞界限较为明显,细胞核清晰可见;但随着鱼粉替代比例的进一步升高,达到 100%(R100)替代水平时,肝细胞形态轮廓逐渐模糊,肝细胞空泡化加重,脂肪堆积加重,肝细胞核逐渐溶解或缺失。

3 讨论

3.1 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长的影响

很多研究证实,植物蛋白源替代饲料鱼粉水平的升高,会使鱼的生长率下降^[11-12]。可能原因是饲料中氨基酸不平衡^[5]、抗营养因子、对植物蛋白源的消化吸收能力等^[4]。本研究结果显示:饲料中 SPC 的添加水平对大黄鱼幼鱼的 SR、SGR、WGR、FCR 等均无显著影响,表明 SPC 替代鱼粉不会影响大黄鱼幼鱼的生长。

豆粕是水产饲料中应用最多的植物蛋白源之一,但因其含有多种抗营养因子,适口性较差,多种必需氨基酸含量较低(主要是赖氨酸、蛋氨酸等)而限制了其广泛应用^[4]。对黄姑鱼(*Nibea miichthioides*)^[13]、虎河鲢(*Takifugu rubripes*)^[14]、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. Aureus*)^[15]的研究发现,在饲料中补充赖氨酸、蛋氨酸等晶体氨基酸可以改善饲料氨基酸结构,提高鱼粉替代水平。添加植酸酶^[16-17]、复合益生菌^[9, 18]等可有效改善鱼体胃、肠蛋白酶活性,提高蛋白质消化吸收率,促进鱼的生长。另外有研究发现,将豆粕进行再加工产品可以进一步提高鱼粉替代水平。比如,发酵豆粕替代印度明对虾(*Fenneropenaeus indicus*)50%的饲料鱼粉^[19];大豆浓缩蛋白(SPC)替代 75%鱼粉对军曹鱼(*Rachycentron canadum*)的生长没有不良影响^[20]。在饲料中添加鱼浆、磷虾粉、乌贼粉可以使去皮豆粕完全替代饲料鱼粉而不会对真鲷(*Pagrus major*)产生不良影响^[21]。本研

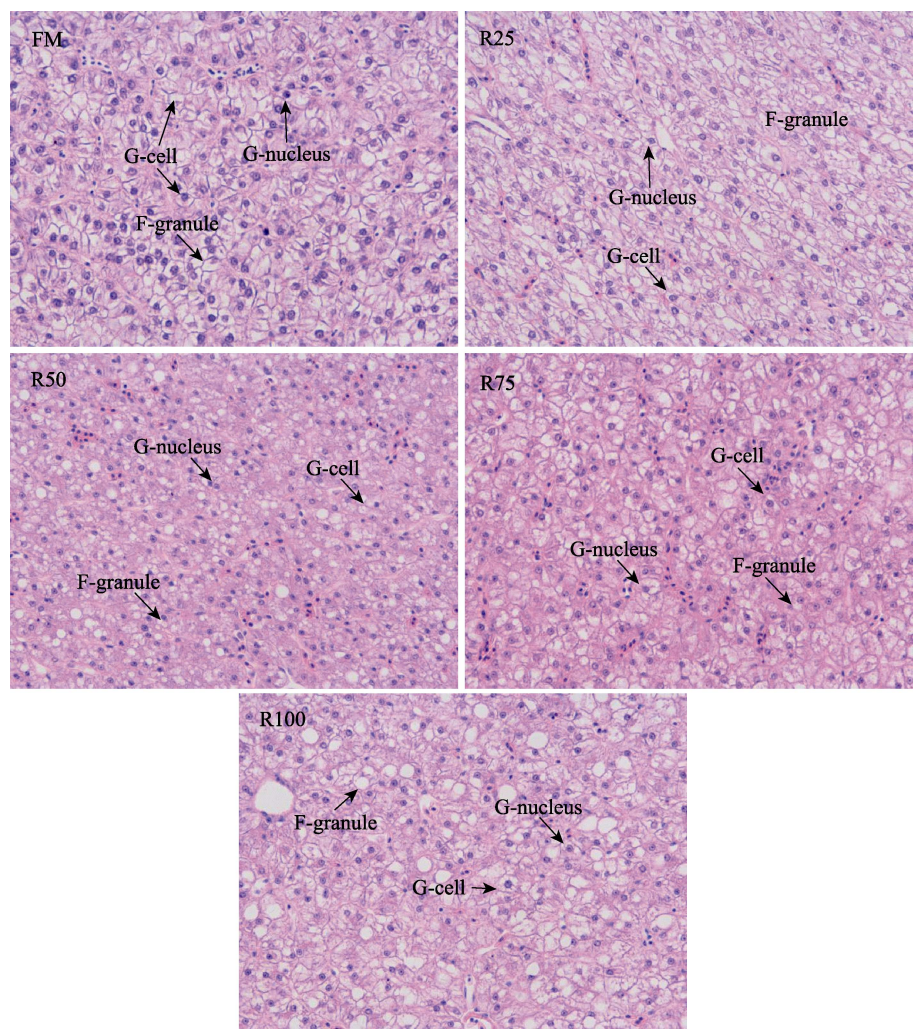


图 1 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肝组织的影响(HE, ×400)

G-cell: 肝细胞; G-nucleus: 肝细胞核; F-granule: 肝细胞中堆积的脂肪粒.

Fig. 1 Effects of replacement fish meal by SPC on liver histology of large yellow croaker (HE, ×400)

G-cell: hepatocytes; G-nucleus: hepatic nuclear; F-granule: fat granule.

究发现, 在 SPC 中添加晶体氨基酸(Lys 和 Met)完全替代饲料鱼粉而与对照组无显著差异。很多研究结果表明, SPC 可以成功替代 40%~75%, 甚至 100%的饲料鱼粉。如对大西洋庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)^[22]、塞内加尔鲷(*Solea senegalensis* Kaup)^[23]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[5]等的研究。可能原因是豆粕经过除去水溶性和醇溶性非蛋白部分加工的产物, 有效降低了抗营养因子的含量^[2], 使得鱼体对饲料的利用率增加; 另外, 补充晶体氨基酸(Lys 和 Met)改善了膳食氨基酸结构, 也可能促进了实验鱼的生长。

3.2 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼体成分的影响

饲料提供了鱼类所需的营养物质, 鱼类摄食

饲料会对其身体成分产生影响。实验结果表明, 饲料中 SPC 的添加水平对大黄鱼幼鱼肌肉粗蛋白和全鱼粗蛋白含量没有产生影响。由表 4 可见, 鱼体粗脂肪含量随 SPC 的添加而有下降趋势。这与 Garcia-Ortega 等^[34]在对巨型石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*)和刘兴旺等^[24]对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的研究结果相似。鱼体粗脂肪含量的下降可能与大豆蛋白中的非淀粉多糖引起肠道炎症导致脂肪吸收下降有关^[24]。但也有报道称, 植物蛋白源替代鱼粉不会对鱼体脂肪含量产生影响。如脱酚棉籽粉替代鱼粉对西伯利亚鲟(*Acipenser baerii* Brandt)^[25]以及发酵棉籽粕替代鱼粉对黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)^[26]的研究结果。另外,

饲料脂肪水平也会引起全鱼粗脂肪、肌肉粗脂肪含量的升高^[27]。研究发现,随着小球藻替代鱼粉水平的升高,鲫(*Carassius auratus*)肌肉粗脂肪含量呈现出上升趋势,肌肉粗蛋白在低水平替代时升高,高替代水平时下降^[10]。这可能是由于不同蛋白源以及鱼体脂肪代谢方式的不同会对肌肉粗脂肪含量产生不同影响。在饲料中添加植酸酶,会增大钙、磷沉积而使灰分含量增加^[28],在对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)的研究中也得到类似的结果^[5],但本实验未添加植酸酶,鱼体灰分含量没有明显规律性。

3.3 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼血清指标的影响

一般而言,鱼类血液参数受到环境条件、生理状态、种类、规格、鱼龄以及摄食营养等的影响。目前饲料营养对鱼类血清生化指标的研究已有报道。血清总蛋白在肝中合成,可以作为肝损伤的指示物,总蛋白含量升高可能是肝结构上的变化引起的。在本研究中,SPC 替代鱼粉水平对大黄鱼幼鱼血清总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)并没有显著影响。Kikuchi^[29]对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、Zhou 等^[30]对军曹鱼(*Rachycentron canadum*)、刘伟等^[31]对中华鲟(*Acipenser sinensis*)的研究表明,植物蛋白源替代饲料鱼粉,随着替代水平的增加而引起血清总胆固醇(GHOL)、甘油三酯(TG)含量的下降。本研究结果与之相似:总胆固醇(GHOL)、甘油三酯(TG)含量随着 SPC 替代水平的增加有下降的趋势。这可能是 SPC 中含有大豆异黄酮的缘故^[31]。谷丙转氨酶(ALT)正常情况下主要存在于肝细胞中,而 AST 主要存在于肝细胞线粒体,它们在血清中的含量很低,只有当细胞膜通透性增强或细胞坏死时才会大量进入血液,使血清酶活增加。因此,血清 ALT 和 AST 可作为反映肝功能的重要指标^[32]。Costillas 等^[33]认为饲料营养、环境温度、盐度等因素可以引起血清酶活的改变。在本实验条件下 SPC 替代水平并没有引起血清 ALT、AST 活力的显著变化,可能是牛磺酸的添加维持了肝细胞膜的稳定性而减少了转氨酶的外流的结果^[41]。

3.4 SPC 替代鱼粉对大黄鱼幼鱼肝组织形态的影响

因受人工饲养的影响,肝细胞轻度脂肪堆积

在养殖鱼类中十分常见^[35]。研究结果显示,无论是对照组(FM 组)还是实验组(R25~R100 组),肝细胞都存在空泡化现象,在高替代水平组(R100),肝细胞空泡化加剧,且观察到肝细胞核大量融解甚至消失,这与石西等^[10]的研究结果相似。这样的结果在用动物蛋白源的替代研究中也发现。如, Hu 等^[36]用混合动物蛋白源对鲈(*Lateolabrax japonicus*)的研究发现,高替代(60%和 80%)组肝细胞出现明显的脂肪性变,肝细胞损伤严重。许多研究表明,饲料中植物蛋白源的添加会降低肝生理机能;肝发生病变时,脂蛋白合成减少,肝细胞内的脂肪不能及时转运出来,从而导致脂肪在肝堆积^[37-38]。另外,在饲料中添加高水平的植物蛋白而引起肝细胞肿大和肝细胞脂肪堆积,可能是由于植物蛋白中的毒性物质引起的脂肪代谢失调^[39],本研究在高水平添加 SPC 条件下引起的肝细胞脂肪的大量堆积亦不排除毒性因子的影响。杜震宇^[40]还指出,饲料脂肪水平往往也会导致大量脂肪在肝脏中沉积,甚至引起脂肪肝。

4 结论

鱼粉替代研究因选用蛋白源、实验鱼种类、大小等的差异不同而结果存在差异,在实践应用中,应根据具体的情况而定。在本研究中,SPC 完全替代大黄鱼幼鱼(10.50 g±0.04 g)基础饲料(含 40%的鱼粉)鱼粉对生长没有产生负面影响,但这只是短期实验(56 d)的结果,长时间饲养会不会对生长产生不利影响还需要进一步实验证明。另外考虑到对肝生理机能的影响,建议替代 75%的饲料鱼粉为宜。

参考文献:

- [1] Ragnar L O, Mohammad R H. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production[J]. *Tren Food Sci Technol*, 2012, 27(2): 120-128.
- [2] Li E C, Chen L Q, Peng S M, et al. Evaluation of soy protein concentrate as a protein source of aquatic products[J]. *Reservoir Fisheries*, 2005, 26(1): 18-20. [李二超, 陈立侨, 彭士明, 等. 大豆浓缩蛋白作为水产饲料蛋白源的评价[J]. *水利渔业*, 2005, 26(1): 18-20.]
- [3] Bureau D P, Harris A M, Cho C Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth

- of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1-4): 27-43.
- [4] Zhou Q C, Mai K S, Liu Y J, et al. Advances in animal and plant protein sources in place of fish meal[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(3): 404-410. [周岐存, 麦康森, 刘永坚, 等. 动植物蛋白源替代鱼粉研究进展[J]. *水产学报*, 2005, 29(3): 404-410.]
- [5] Deng J M, Mai K S, Ai Q H, et al. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Aquaculture*, 2006, 258(1-4): 503-513.
- [6] Karma R K, Armando G O, Jesse T 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.
- [7] Ai Q H, Mai K S, Tan B P, et al. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. *Aquaculture*, 2006, 260(1-4): 255-263.
- [8] Li J, Zhang L, Mai K S, et al. Potential of Several Protein Sources as Fish Meal Substitutes in Diets for Large Yellow Croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. *World Aquacult Soc*, 2010, 41(s2): 278-283.
- [9] Zhang F, Zhang W B, Mai K S, et al. Effects of replacement of dietary fish meal by soy bean meal on growth, digestive enzyme activity and histology of digestive tract histology of juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2012, 42: 75-82. [张帆, 张文兵, 麦康森, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉对大黄鱼生长、消化酶活性和消化道组织学的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2012, 42: 75-82.]
- [10] Shi X, Luo Z, Huang C, et al. Effect of substituting *Chlorella* sp. for regular fish meal on growth, body composition, hepatic lipid metabolism and histology in crucian carp *Carassius auratus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(3): 498-504. [石西, 罗智, 黄超, 等. 小球藻替代鱼粉对鲫鱼生长、体组成、肝脏脂肪代谢及其组织学的影响[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(3): 498-504.]
- [11] Ma L, Huang F, Wu J K, et al. Effects of different rapeseed meal levels on growth, serum biochemical indices and toxins residues in *Ctenoparyngodon idellus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(6): 798-803. [马利, 黄峰, 吴建开, 等. 不同菜粕水平对草鱼生长、血清生化指标和毒素残留的影响[J]. *水产学报*, 2005, 29(6): 798-803.]
- [12] Luo L, Xue M, Wu X F, et al. Effect of degossypolled cotton seed meal in diets on growth, body composition and apparent digestibility coefficients of nutrients in *Lateolabrax japonicus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(6): 866-870. [罗琳, 薛敏, 吴秀峰, 等. 脱酚棉籽蛋白对日本鲈的生长、体成分及营养成分表观消化率的影响[J]. *水产学报*, 2005, 29(6): 866-870.]
- [13] 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 miichthioides*)[J]. *Aquaculture*, 2006, 261(4): 1307-1313.
- [14] Lim S J, Kim S S, Ko G Y, et al. Fish meal replacement by soybean meal in diets for tiger puffer, *Takifugu rubripes*[J]. *Aquaculture*, 2011, 313(1-4): 165-170.
- [15] Lin S M, Luo L. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. Aureus*[J]. *Ani Feed Sci Technol*, 2011, 168 (1): 80-87.
- [16] Zhang L, Mai K S, Ai Q H, et al. Effects of phytase and non-sStarch polysaccharide enzyme supplementation in diets on growth and digestive enzyme activity in large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R.[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2006, 36(6): 923-928. [张璐, 麦康森, 艾庆辉, 等. 饲料中添加植酸酶和非淀粉多糖酶对大黄鱼生长和消化酶活性的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2006, 36(6): 923-928.]
- [17] 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 (1-4): 284-291.
- [18] Allah D T, Mohammad B M, Anna M, et al. Dietary probiotics and prebiotics improved food acceptability, growth performance, haematology and immunological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in snakehead (*Channa striata*) fingerlings[J]. *Aquaculture*, 2014, 426: 14-20.
- [19] Zaki S, Ashraf M A G, Mohamed S H. Partial or total replacement of fish meal by solid state fermented soybean meal with *Saccharomyces cerevisiae* in diets for Indian prawn shrimp, *Fenneropenaeus indicus*, Postlarvae[J]. *Ani Feed Sci Technol*, 2016, 212: 90-99.
- [20] Solze G, McLean Ewen, Battle P R, et al. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*[J]. *Aquaculture*, 2010, 298(3-4): 294-299.
- [21] Md A K, Mahbuba B, Shunsuke K, et al. Effect of complete replacement of fishmeal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream,

- Pagrus major*[J]. Aquaculture, 2012, 350: 109–116.
- [22] Berge G M, Grisdale H B, Helland S J. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)[J]. Aquaculture, 1999, 178(1): 139–148.
- [23] Aragão C, Conceição L E C, Dias J, et al. Soy protein concentrate as a protein source for Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) diets: effects on growth and amino acid metabolism of postlarvae[J]. Aqu Resh, 2003, 34(15): 1443–1452.
- [24] Liu X W, Ai Q H, Mai K S, et al. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(1): 91–98. [刘兴旺, 艾庆辉, 麦康森, 等. 大豆浓缩蛋白替代鱼粉对大菱鲆摄食生长及体组成的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(1): 91–98.]
- [25] Wu X F, Xue M, Guo L Y, et al. Effects of substitution of solvent-extracted cottonseed meal for part fish meal on growth, body composition and serum biochemical indices of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(1): 117–124. [吴秀峰, 薛敏, 郭利亚, 等. 脱酚棉籽粉替代部分鱼粉对西伯利亚鲟幼鱼生长、体成分及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(1): 117–124.]
- [26] Sun H, Tang J W, Yao X H, et al. Partial substitution of fish meal with fermented cottonseed meal in juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) diets[J]. Aquaculture, 2015, 446: 30–36.
- [27] Li X F, Tian L X, Liu J, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, body composition and liver histological structure of red drum (*Sciaenops ocellatus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(11): 3448–3456. [李雪菲, 田丽霞, 刘津, 等. 饲料脂肪水平对美国红鱼生长性能、体组成和肝脏组织结构的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(11): 3448–3456.]
- [28] Duan P C, Zhang L M, Wang J Y, et al. The preliminary study on the effects of new protein sources replacing dietary fish meal on growth performance, body composition and hematology of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(5): 797–804. [段培昌, 张利民, 王际英, 等. 新型蛋白源替代鱼粉对星斑川鲷幼鱼生长、体成分和血液学指标的影响[J]. 水产学报, 2009, 33(5): 797–804.]
- [29] Kikuchi K. Partial replacement of fish meal with corn gluten meal in diets for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. World Aqu Soc, 1999, 30(3): 357–367.
- [30] Zhou Q C, Mai K S, Tan B P, et al. Partial replacement of fish meal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Aqu Nutr, 2005, 11(3): 175–182.
- [31] Liu W, Wen H, Jiang M, et al. Effects of soy protein concentration on growth performance, plasma lipids and carcass composition of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Fresh Water Fisheries, 2010, 40(4): 27–32. [刘伟, 文华, 蒋明, 等. 大豆浓缩蛋白对中华鲟幼鱼生长、血脂和体成分的影响研究[J]. 淡水渔业, 2010, 40(4): 27–32.]
- [32] Chen J Y, Chen J C, Wu J L. Molecular cloning and functional analysis of zebrafish high-density lipoprotein-binding protein[J]. Comp Biochem Physiol B: Biochem Mol Biol, 2003, 136(1): 117–130.
- [33] Costillas E, Smith L S. Effect of stress on blood coagulation and hematology rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. Fish Biol, 1997, 10(5): 481–491.
- [34] Garcia-Ortega A, Kissinger K R, Trushenski J T. Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus*[J]. Aquaculture, 2016, 452: 1–8.
- [35] Spisni E, Tugnoli M, Ponticelli A, et al. Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts[J]. J Fish Dis, 1998, 21(3): 177–184.
- [36] Hu L, Yun B, Xue M, et al. Effects of fish meal quality and fish meal substitution by animal protein blend on growth performance, flesh quality and liver histology of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. Aquaculture, 2013, 372: 52–61.
- [37] Robaina L, Izquierdo M S, Moyano F J, et al. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications[J]. Aquaculture, 1995, 130(2–3): 219–233.
- [38] Martínez-Lloren S, Baeza-Ariño R, Nogales-Mérida S, et al. Carob seed germ meal as a partial substitute in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Amino acid retention, digestibility, gut and liver histology[J]. Aquaculture, 2012, 338–341: 124–133.
- [39] Hasan M R, Macintosh D J, Jauncey K. Evaluation of some plant ingredients as dietary protein sources for common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry[J]. Aquaculture, 1997, 151(1–4): 55–70.
- [40] Du Z Y. Causes of fatty liver in farmed fish: a review and new perspectives[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1628–1638. [杜震宇. 养殖鱼类脂肪肝成因及相关思考[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1628–1638.]
- [41] Wang H W, Ye J D, Chen J C. Taurine: Effect in fish nutrition and application in fish feed[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(7): 1418–1428. [王和伟, 叶继丹, 陈建春. 牛磺酸在鱼类营养中的作用及其在鱼类饲料中的应用[J]. 动物营养学报, 2013, 25 (7): 1418–1428.]

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*)

FENG Jian¹, WANG Ping^{1,2}, HE Jiaojiao¹, LOU Yudong¹, DANG Hui¹, DENG Rong¹

1. Zhejiang Key Laboratory of Marine Aquaculture Facilities and Engineering Technology, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: A 56-d feeding experiment was conducted to investigate the effects of replacing fish meal in the diet with soy protein concentrate (SPC) on growth, body composition, serum biochemical indices, and liver histology of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (initial weight 10.50 g±0.04 g). The basal diet contained 40% fish meal, and five isonitrogenous (crude protein 45%) and isolipidic (crude lipid 10%) diets were formulated by replacing 0%, 25%, 50%, 75%, and 100% of the fish meal with SPC and were designated the FM, R25, R50, R75, and R100 groups, respectively. All diets were supplemented with the appropriate amounts of crystalline lysine and methionine, based on lysine and methionine contents in the control group. Each diet was assigned randomly to triplicate groups of 60 ind/cage. All larvae were stocked into experimental cages (1.5 m×1.5 m×2 m) at Xihugang, Xiangshan County, Ningbo city, Zhejiang Province, China. As results, none of the experimental diets had a significant effect on the weight gain rate, specific growth rate, survival rate, or feed conversion ratio compared with those of fish fed the FM diet ($P>0.05$). Whole-body, muscle, and crude lipid contents decreased as the SPC replacement level was increased, and fish fed the R100 diet had the lowest contents. However, whole-body and muscle moisture contents increased as the SPC replacement level was increased. No differences in any of the serum biochemical indices were observed among the groups ($P>0.05$); briefly, serum total protein and albumin contents decreased, and fish fed the R100 diet had the lowest contents. Cholesterol and triglycerides tended to increase initially, and then decreased. Liver histology revealed serious damage to hepatocytes when SPC reached 75% (R75), as large cytoplasmic vacuole-like spaces were present, indicating excess fat accumulation, and nuclei had dissolved gradually or were absent in many of these cells. These results suggest that protein from SPC can substitute for up to 75% of the fish meal protein in the diet without affecting growth of *L. crocea*.

Key words: large yellow croaker (*Larimichthys crocea*); soybean protein concentrate; growth and body composition; serum biochemical indices; liver histology; fish meal replacement

Corresponding author: WANG Ping. E-mail: wp77319@163.com