

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.17031

微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生长、体组成和生理指标的影响

张燕^{1,2}, 乔洪金², 李宝山², 孙永智², 公绪鹏^{1,2}, 王际英², 张利民²

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;

2. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006

摘要: 为探讨微藻粉替代鱼油对星斑川鲷(*Platichthys stellatus*, Pallas 1788)幼鱼生长、体组成和生理指标的影响, 以鱼油为主要脂肪源配制基础饲料(FO), 分别用裂壶藻粉(SO)、微绿球藻粉(NO)及两种藻粉的混合物(MO)替代鱼油中的 DHA、EPA, 不足部分用玉米油补齐, 制成 4 种等氮等能的实验饲料, 投喂星斑川鲷幼鱼(初始体重 7.35 g±0.03 g) 90 d。结果显示, 与 FO 组相比, SO 组的生长性能无显著差异($P>0.05$), NO 组和 MO 组特定生长率、蛋白质效率和脏体比显著降低($P<0.05$), 饲料系数显著增大($P<0.05$); MO 组的全鱼粗蛋白含量显著高于其他组($P<0.05$), FO 组与 MO 组的全鱼粗脂肪含量显著高于其他组($P<0.05$), FO 组背肌粗灰分含量显著低于其他组($P<0.05$); 藻粉替代鱼油对肌肉和肝脏脂肪酸组分影响显著, 肌肉的 $C_{16:0}$ 和 DHA 含量与其在饲料中所占的百分比呈显著正相关($r=0.973, 0.967, P<0.05$), $C_{14:0}$ 和 $C_{16:1n-7}$ 呈极显著正相关($r=1.00, 0.996, P<0.01$), 肝的 $C_{18:2n-6}$ 、 $n-6$ PUFA 和 DHA/EPA 呈显著正相关($r=0.983, 0.976, 0.977, P<0.05$), $C_{16:1n-7}$ 呈现极显著正相关($r=0.992, P<0.01$); NO 组和 MO 组血清谷丙转氨酶(ALT)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHO)和碱性磷酸酶(ALP)的含量较 FO 组显著降低($P<0.05$), NO 组血清谷草转氨酶(AST)和葡萄糖(GLU)含量显著低于其他组($P<0.05$)。研究表明, 本实验条件下裂壶藻粉可以替代星斑川鲷幼鱼饲料中的鱼油而不对其生长和生理指标产生负面影响, 并且在一定程度上能提高星斑川鲷的营养价值。

关键词: 裂壶藻粉; 微绿球藻粉; 鱼油替代; 星斑川鲷; 生长性能; 脂肪酸

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)06-1223-11

鱼油是水产饲料主要的脂肪源, 鱼油中的高不饱和脂肪酸(HUFA)对水产动物的生长具有不可替代的作用。近年来, 渔业资源的枯竭导致鱼油的供给量逐年降低^[1], 探寻饲料中替代鱼油的合适脂肪源成为水产养殖业亟待解决的问题。过去人们总是将鱼油的替代聚焦在植物油上, 如菜籽油^[2]、亚麻籽油^[3]、小麦胚芽油^[4]等, 但这些植物油存在脂肪酸不平衡的缺点, 在实际应用中有所限制。

微藻含有鱼类生长所必须的各种营养物质, 特别是丰富的不饱和脂肪酸, 是理想的鱼油替代产品。裂壶藻(*Schizochytrium* sp.)是属于真菌门(Eumycota)、破囊壶菌科(Thraustochytriaceae)的一类海洋真菌^[5], 含有丰富的二十二碳六烯酸(DHA);

微绿球藻(*Nannochloropsis* sp.)是一种海洋单细胞微藻, 属棕色藻门(Ochrophyta)、单珠微藻科(Monodopsidaceae), 含有丰富的二十碳五烯酸(EPA)^[6]。DHA 和 EPA 都是鱼类生长发育所必需的高不饱和脂肪酸(HUFA)^[7]。Hoestenbergh 等^[8]分别用亚麻籽油、裂壶藻和亚麻籽油的混合物替代宝石鲈(jade perch)饲料中的鱼油, 混合油组未对宝石鲈的生长造成影响。Betileu 等^[9]发现虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)摄食 90 mg/g 的隐甲藻干藻粉(24.38 mg DHA/g 藻粉)能改善肌肉的品质, 提高营养价值。Miller 等^[10]用裂壶藻油替代鱼油对大西洋鲑(*Salmo salar*)幼鱼的生长无影响, 且会增加幼鱼肌肉中的 DHA 的含量。

收稿日期: 2017-01-22; 修订日期: 2017-04-01.

基金项目: 山东省科技发展计划项目(2014GHY115006); 国家自然科学基金项目(31201973); 国家海洋生物产业-水生动物营养与饲料研发创新示范平台项目(201702002).

作者简介: 张燕(1991-), 女, 硕士研究生, 主要从事水产动物营养与饲料研究. E-mail: maima091@163.com

通信作者: 王际英(1965-), 研究员. E-mail: ytwjy@126.com

星斑川鲷(*Platichthys stellatus*, Pallas 1788)又称星突江鲷, 隶属鲷形目、鲷科、川鲷属, 被认为是继牙鲆、大菱鲆以后最有希望的海水养殖鱼类之一, 具有生长快、耐受性好, 适宜高密度集约化养殖、抗病力强、内脏团小、出肉率高等优点。本实验以星斑川鲷幼鱼为研究对象, 探讨以富含 DHA、EPA 的微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生长性能、饲料利用、体组成和生化指标的影响, 为星斑川鲷配合饲料的科学配制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计与饲料

以脱脂鱼粉(白鱼粉经氯仿: 甲醇=3: 1 脱脂后的产物, 脂肪含量低于 1%)、酪蛋白和大豆浓缩蛋白为主要蛋白源, 以鱼油、玉米油为主要脂肪源配制粗蛋白含量为 49%、粗脂肪含量为 10% 的基础饲料。分别用裂壶藻粉、微绿球藻粉及两种藻粉的混合物(裂壶藻: 微绿球藻=1: 6.26)替代基础饲料中的鱼油, 制成 4 组等氮等能的实验饲料, 分别命名为鱼油组(FO)、裂壶藻粉组(SO)、微绿球藻粉组(NO)和混合藻粉组(MO)。饲料配方及营养组成见表 1, 饲料的脂肪酸组成见表 2。原料粉碎过 80 目筛, 按配比称量后混匀, 经螺旋挤压机加工成 2 mm 颗粒, 50℃烘干, 置于-20℃冰箱保存、备用。

1.2 实验动物与饲养管理

养殖实验在山东省海洋资源与环境研究院全封闭水循环系统中进行。实验鱼购自日照纪新养殖场, 种质来源相同、大小均匀、健康无病, 体重为(7.35±0.03) g。正式实验前, 星斑川鲷在养殖系统中驯养 2 周, 期间投喂对照组饲料, 然后随机分为 4 组, 每组设 3 个重复, 每个重复 50 尾鱼, 放养于绿色圆柱形(直径 80 cm, 高 70 cm)养殖桶中, 控制水深 50 cm 左右, 保持流速为 2 L/min 左右, 实验周期 90 d。养殖过程控制水温在(17.6±0.9)℃, pH 7.8~8.2, 盐度 28~30, 保证溶氧>5 mg/L, 氨氮、亚硝酸氮均<0.1 mg/L。每天定量投喂两次(08:00, 15:30), 投喂量为鱼体重的 2%~3%, 根据摄食情况调整投喂量, 投喂 30 min 后, 从系统自带的排水口将残饵排出, 数颗粒, 计算残饵量。

表 1 实验饲料的配方和营养组成
Tab. 1 Formulation and nutrient compositions of the experimental diets

原料 ingredient	饲料组 diet trial			
	FO	SO	NO	MO
脱脂鱼粉 defatted fish meal	30.00	30.00	30.00	30.00
酪蛋白 casein	16.00	16.00	16.00	16.00
大豆浓缩蛋白 soy protein concentrated	20.00	19.68	10.55	10.12
鱼油 fish oil	3.86	0.00	0.00	0.00
玉米油 corn oil	6.14	8.37	4.02	2.35
裂壶藻粉 ^a <i>Schizochytrium</i> meal ^a	0.00	2.29	0.00	2.26
微绿球藻粉 ^b <i>Nannochloropsis</i> meal ^b	0.00	0.00	14.00	14.15
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	7.25	6.91	8.68	8.37
多维 ^c vitamins mixture ^c	1.00	1.00	1.00	1.00
多矿 ^d minerals mixture ^d	2.00	2.00	2.00	2.00
其他 ^e others ^e	13.75	13.75	13.75	13.75
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00
营养组成(干物质基础) proximate composition (dry matter basis)				
粗蛋白 crude protein	49.06	48.82	48.84	48.85
粗脂肪 ether extract	9.64	9.85	10.46	10.68
粗灰分 crude ash	13.58	13.69	14.39	14.47
总能/(kJ·g ⁻¹) gross energy	22.68	22.19	22.27	22.36

注: a. 裂壶藻粉(%干物质): 粗蛋白 9.60%, 粗脂肪 70.70%, 购自美国 Alltech 公司. b. 微绿球藻粉(%干物质): 粗蛋白 45.16%, 粗脂肪 45.50%, 购自烟台海融生物技术有限公司. c. 矿物质预混料(mg/kg 饲料): MgSO₄·7H₂O, 3568.0 mg; NaH₂PO₄·2H₂O, 25568.0 mg; KCl, 3020.5 mg; KAl(SO₄)₂, 8.3 mg; CoCl₂, 28.0 mg; ZnSO₄·7H₂O, 353.0 mg; Ca-lactate, 15968.0 mg; CuSO₄·5H₂O, 9.0 mg; KI, 7.0 mg; MnSO₄·4H₂O, 63.1 mg; Na₂SeO₃, 1.5 mg; C₆H₅O₇·Fe·5H₂O, 1533.0 mg; NaCl, 100.0 mg; NaF, 4.0 mg. d. 维生素预混料(mg/kg 饲料): 维生素 A, 38.0 mg; 维生素 D, 13.2 mg; α-生育酚, 210.0 mg; 硫胺素, 115.0 mg; 核黄素, 380.0 mg; 盐酸吡哆醇, 88.0 mg; 泛酸, 368.0 mg; 烟酸, 1030.0 mg; 生物素, 10.0 mg; 叶酸, 20.0 mg; 维生素 B₁₂, 1.3 mg; 肌醇, 4000.0 mg; 抗坏血酸, 500.0 mg. e. 其他(g/kg 饲料): 甜菜碱 5.00, α-淀粉 100, 羧甲基纤维素钠 20.00, 磷酸二氢钙 10.00, 氯化胆碱 2.00, 抗氧化剂 0.5.

Note: a. *Schizochytrium* meal (% dry matter basis): crude protein 9.60%, crude lipid 70.70%, buy from Alltech, USA. b. *Nannochloropsis* meal (% dry matter basis): crude protein 45.16%, crude lipid 45.50%, buy from Yantai Hairong Biotechnology Co., Ltd., China. c. Mineral mixture (mg/kg diet): MgSO₄·7H₂O, 3568.0 mg; NaH₂PO₄·2H₂O, 25568.0 mg; KCl, 3020.5 mg; KAl(SO₄)₂, 8.3 mg; CoCl₂, 28.0 mg; ZnSO₄·7H₂O, 353.0 mg; Ca-lactate, 15968.0 mg; CuSO₄·5H₂O, 9.0 mg; KI, 7.0 mg; MnSO₄·4H₂O, 63.1 mg; Na₂SeO₃, 1.5 mg; C₆H₅O₇·Fe·5H₂O, 1533.0 mg; NaCl, 100.0 mg; NaF, 4.0 mg. d. Vitamin mixture (mg/kg diet): retinol acetate, 38.0 mg; cholecalciferol, 13.2 mg; alpha-tocopherol, 210.0 mg; thiamin, 115.0 mg; riboflavin, 380.0 mg; pyridoxine HCl, 88.0 mg; pantothenic acid, 368.0 mg; niacin acid, 1030.0 mg; biotin, 10.0 mg; folic acid, 20.0 mg; vitamin B₁₂, 1.3 mg; inositol, 4000.0 mg; ascorbic acid, 500.0 mg. e. Others (g/kg diet): glycine betaine 5.00, α-starch 100.00, CMC 20.00, Ca(H₂PO₄)₂ 10.00, choline chloride 2.00, antioxidant 0.5.

表 2 实验饲料的脂肪酸组成
Tab. 2 Fatty acid compositions of the experimental diets

脂肪酸 fatty acid	鱼油 fish oil	玉米油 corn oil	微绿球藻 <i>Nannochloropsis</i> meal	裂壶藻 <i>Schizochytrium</i> meal	混合藻粉 algae mixture	饲料组 diet trial			
						FO	SO	NO	MO
C _{14:0}	6.88	—	4.97	6.53	5.18	2.63	1.10	2.18	3.77
C _{16:0}	21.71	11.48	21.18	22.80	21.56	16.27	13.82	18.11	22.23
C _{18:0}	3.59	1.63	1.23	0.79	1.15	3.22	2.14	2.44	2.5
ΣSFA	32.18	13.11	27.38	30.12	27.89	22.39	17.16	22.94	28.82
C _{16:1-7}	6.55	—	24.78	0.09	11.29	2.56	0.40	6.18	7.00
C _{18:1n-9}	11.15	25.67	4.83	0.23	4.19	21.15	24.08	21.53	14.13
C _{18:1n-7}	2.97	—	—	—	1.67	1.95	0.79	0.27	1.43
C _{20:1}	3.45	0.35	—	—	0.10	1.24	0.4	0.43	0.41
ΣMUFA	24.12	25.67	33.10	0.32	17.25	26.90	25.67	28.41	22.97
C _{18:2n-6}	2.17	58.10	3.49	—	2.89	33.37	43.58	33.74	22.05
C _{18:3n-3}	1.75	0.72	—	—	0.11	0.82	0.55	0.78	0.83
C _{18:3n-6}	0.15	—	0.53	0.28	0.49	0.08	0.09	0.07	0.42
C _{20:2n-9}	3.32	—	—	0.35	0.25	0.8	0.04	0.13	0.15
ARA	0.84	—	5.22	0.74	4.36	0.61	0.34	1.38	1.69
EPA	10.19	0.11	25.37	1.88	11.12	3.14	0.51	4.71	5.03
DHA	15.38	—	—	42.70	12.82	3.36	3.99	0.55	5.87
Σn-6 PUFA	3.16	58.10	9.24	1.02	7.74	34.06	44.02	35.19	24.17
Σn-3 PUFA	27.31	0.83	25.37	44.59	24.05	7.32	5.05	6.05	11.73
n-3 HUFA	25.56	0.11	25.37	44.59	23.94	6.5	4.5	5.27	10.91
DHA/EPA	1.51	—	—	—	1.15	1.07	7.84	0.12	1.17

1.3 采样与处理

实验结束后禁食 24 h。称总重后, 随机从每桶中取 15 尾鱼, 其中 3 尾用作全鱼常规分析, 另外 12 尾进行尾静脉采血, 采血后分离内脏、肝、肠道并称重, 取背肌, 采样完毕, 样品-20℃保存, 待测。血样静置 4 h, 4000 r/min 离心 10 min, 取上清液, -80℃保存, 待测。

1.4 测定指标和方法

生长性能 特定生长率(SGR, %/d)=(lnW_t-lnW₀)/d×100%;
摄食率(DFI, %/d)=F/[(W₀+ W_t)/2×d]×100%;
饲料系数(FCR)=F/(W_t- W₀);
蛋白质效率(PER)=(W_t-W₀)/(F×P);
肝体比(HSI, %)=W_h/W_t×100%;
脏体比(VSI, %)=W_v/W_t×100%;
肥满度(CF, g/cm³)=W_t/L³×100%;
存活率(SR, %)=N_t/N₀×100%;
式中, W₀—实验初鱼体重量(g), W_t—实验终鱼体

重量(g), F—摄食干饲料重(g), d—养殖天数, P—饲料中粗蛋白质的含量, W_h—肝质量(g), W_v—内脏质量(g), L—实验终鱼体长(cm), N₀—实验开始时鱼体总尾数, N_t—实验结束时鱼体总尾数。

饲料及组织样品水分测定采用 105℃烘干恒重法测定(GB/T 6435-2006); 粗蛋白采用凯氏定氮法测定(GB/T 6432-2006); 饲料的粗脂肪采用超声辅助索氏抽提法测定, 组织样品的粗脂肪采用索氏抽提法测定(GB/T 6433-2006); 粗灰分采用马弗炉 550℃失重法测定(GB/T 6438-2007); 能量采用燃烧法测定(IKA, C6000, Germany)。

脂肪酸分析中油脂的提取方法参照 Folch 等^[11]的方法, 脂肪酸测定方法参照 Metcalfe 等^[12]的方法并略作修改。样品皂化、甲酯化后, 利用气相色谱仪(GC-2010, SHIMADZU, Japan)测定脂肪酸含量, 色谱条件参照马晶晶等^[13]的条件。采用 supelco 37 种脂肪酸甲酯混标(supelco, USA)识别样品脂肪酸, 各脂肪酸相对含量采用面积归一化

法计算。

谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、葡萄糖(GLU)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、血清总蛋白(TP)、血清白蛋白(ALB)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHO)、碱性磷酸酶(ALP)采用全自动生化分析仪(7020, Hitachi CRG, Japan)进行测定。

1.5 数据统计分析

采用 SPSS17.0 软件对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 当处理之间差异显著($P<0.05$)时, 用 Duncan's 检验进行多重比较, 以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)形式表示。采用 Person 相关分析方法分析肌肉、肝脏脂肪酸与饲料脂肪酸的相关性, r 表示 person 相关系数, *表示相关性显著($P<0.05$), **表示相关性极显著($P<0.01$)。

2 结果与分析

2.1 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生长性能及饲料利用的影响

如表 3 所示, 经 90 d 的养殖实验后, 各组的存活率无显著差异($P>0.05$), FO 组和 SO 组的特定生长率显著高于微绿球藻组(NO)和混合藻粉组(MO)($P<0.05$), 脏体比也表现出相同的趋势($P<0.05$)。FO 组的饲料系数显著低于 NO 组和 MO 组($P<0.05$), 但与 SO 组差异不显著($P>0.05$)。各实验组摄食率、肥满度和肝体比均没有显著差异($P>0.05$)。SO 组的蛋白质效率最高, 但与 FO 组差异不显著($P>0.05$)。

2.2 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼肌肉和全鱼常规营养组成的影响

如表 4 所示, 用微藻粉替代鱼油显著影响了星斑川鲷幼鱼全鱼粗蛋白和粗脂肪含量, 对粗灰分的含量无显著影响($P>0.05$)。MO 组的全鱼粗蛋白含量显著高于其他三组($P<0.05$)。与 FO 组相比, NO 组和 MO 组的粗脂肪含量显著降低($P<0.05$), 水分含量显著升高($P<0.05$)。

用微藻粉替代鱼油显著影响了星斑川鲷幼鱼肌肉的粗灰分含量, 对水分、粗蛋白和粗脂肪的含量无显著影响($P>0.05$), 其中 FO 组粗灰分含量显著低于藻粉替代组($P<0.05$)。

表 3 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生长性能及饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of fish oil replacement by microalgae meals on growth performance and feed utilization of juvenile starry flounder

$n=3; \bar{x} \pm SD$

项目 item	饲料组 diet trial			
	FO	SO	NO	MO
初体重 IBW/g	7.34 $\pm$ 0.01	7.33 $\pm$ 0.01	7.37 $\pm$ 0.04	7.37 $\pm$ 0.01
末体重 FBW/g	33.74 $\pm$ 0.15 ^a	33.33 $\pm$ 0.45 ^a	29.63 $\pm$ 1.40 ^b	30.42 $\pm$ 0.62 ^b
特定生长率 SGR/(%·d ⁻¹)	1.70 $\pm$ 0.00 ^a	1.68 $\pm$ 0.02 ^a	1.54 $\pm$ 0.05 ^b	1.58 $\pm$ 0.02 ^b
摄食率 DFI/(%·d ⁻¹)	1.07 $\pm$ 0.01	1.10 $\pm$ 0.05	1.14 $\pm$ 0.04	1.13 $\pm$ 0.04
饲料系数 FCR	0.76 $\pm$ 0.02 ^b	0.79 $\pm$ 0.04 ^{ab}	0.85 $\pm$ 0.05 ^a	0.84 $\pm$ 0.03 ^a
蛋白质效率 PER	1.28 $\pm$ 0.03 ^a	1.25 $\pm$ 0.07 ^{ab}	1.15 $\pm$ 0.07 ^b	1.16 $\pm$ 0.05 ^b
肥满度 ^A CF/(g·cm ⁻³)	2.46 $\pm$ 0.08	2.60 $\pm$ 0.16	2.46 $\pm$ 0.12	2.67 $\pm$ 0.10
肝体比 ^A HSI/%	1.78 $\pm$ 0.38	1.75 $\pm$ 0.47	1.62 $\pm$ 0.29	1.71 $\pm$ 0.57
脏体比 ^A VSI/%	5.50 $\pm$ 0.10 ^{ab}	5.56 $\pm$ 0.22 ^a	5.05 $\pm$ 0.19 ^d	5.21 $\pm$ 0.13 ^{bc}
成活率 SR/%	98.67 $\pm$ 1.15	98.00 $\pm$ 2.00	99.33 $\pm$ 1.15	99.33 $\pm$ 1.15

注: 同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$)。

A: 每组 12 个平行。

Note: Values in the same row with different superscripts mean significant difference ($P<0.05$). A: 12 repetitions per group.

表 4 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼体组成的影响

Tab. 4 Effects of fish oil replacement by microalgae meals on tissue proximate composition of juvenile starry flounder

%, $n=3; \bar{x} \pm SD$; 湿重 FW

项目 item	饲料组 diet trial			
	FO	SO	NO	MO
全鱼 whole fish				
水分 moisture	76.52 $\pm$ 0.13 ^c	76.58 $\pm$ 0.08 ^{bc}	76.89 $\pm$ 0.13 ^a	76.80 $\pm$ 0.12 ^{ab}
粗蛋白 crude protein	16.87 $\pm$ 0.26 ^{ab}	16.38 $\pm$ 0.29 ^b	16.66 $\pm$ 0.33 ^b	17.39 $\pm$ 0.31 ^a
粗脂肪 crude lipid	4.13 $\pm$ 0.18 ^a	4.04 $\pm$ 0.32 ^a	3.47 $\pm$ 0.10 ^b	3.62 $\pm$ 0.05 ^b
粗灰分 crude ash	3.28 $\pm$ 0.08	3.22 $\pm$ 0.03	3.31 $\pm$ 0.13	3.27 $\pm$ 0.07
肌肉 muscle				
水分 moisture	79.06 $\pm$ 0.10	78.82 $\pm$ 0.33	78.93 $\pm$ 0.24	78.65 $\pm$ 0.07
粗蛋白 crude protein	19.56 $\pm$ 0.15	19.95 $\pm$ 0.25	19.63 $\pm$ 0.55	19.74 $\pm$ 0.04
粗脂肪 ether extract	2.25 $\pm$ 0.08	1.94 $\pm$ 0.20	2.02 $\pm$ 0.18	2.18 $\pm$ 0.21
粗灰分 crude ash	1.30 $\pm$ 0.01 ^b	1.28 $\pm$ 0.00 ^b	1.29 $\pm$ 0.01 ^b	1.34 $\pm$ 0.02 ^a

注: 同行数值不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

2.3 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼肌肉和肝脂肪酸的影响

饲料脂肪酸组成显著影响了星斑川鲷幼鱼肌肉和肝的脂肪酸组成(表 5 和表 6)。肌肉中的主要脂肪酸分别为 C_{16:0}(13.98%~16.62%)、C_{18:0}(4.32%~4.84%)、C_{18:1n-9}(13.77%~15.81%)、C_{18:2n-6}(20.24%~33.65%)、EPA(3.04%~7.11%) 和 DHA(4.87%~14.26%)。与 FO 组相比, 各替代组肌肉的 SFA 含量差异显著($P<0.05$), MO 组含量最高, SO 组最低; 各替代组不饱和脂肪酸的含量差异显著($P<0.05$), 其中各替代组的 MUFA 含量均显著升高($P<0.05$); NO 组的 n-6PUFA 含量显著升高($P<0.05$), 但 n-3 PUFA 和 n-3 HUFA 含量显著降低($P<0.05$), MO 组的 n-3 PUFA 和 n-3 HUFA 含量均显著升高($P<0.05$)。SO 组的 DHA / EPA 的值最高, NO 组最低。通过 Person 相关性分析发现各实验组幼鱼肌肉脂肪酸中的 C_{14:0}、C_{16:0}、C_{16:1n-7}、C_{18:2n-6}、C_{18:3n-3}、C_{18:3n-6}、C_{20:1}、C_{20:2n-9}、ARA、EPA 和 DHA 均与饲料中的脂肪酸含量呈正相关, 其中 C_{16:0} 和 DHA

呈显著正相关($r=0.973, 0.967, P<0.05$), 而 C_{14:0} 和 C_{16:1n-7} 呈极显著正相关($r=1.00, 0.996, P<0.01$)。

肝中的主要脂肪酸分别是 C_{14:0}(1.78%~3.15%)、C_{16:0}(14.20%~19.75%)、C_{16:1n-7}(4.16%~11.51%)、C_{18:1n-9}(24.61%~31.60%)、C_{18:2n-6}(13.76%~36.38%)、C_{20:1}(14.20%~19.75%)、C_{20:2n-9}(1.16%~2.62%)、EPA(0.62%~2.25%) 和 DHA(0.73%~5.13%)。与 FO 组相比, NO 组和 MO 组肝中的 SFA 和 MUFA 含量显著增加($P<0.05$), SO 组显著降低($P<0.05$); n-3 PUFA 和 n-3 HUFA 的变化趋势相同, NO 组含量显著降低($P<0.05$), 而 FO 和 MO 则显著升高($P<0.05$)。各实验组的 n-6 PUFA 含量和 DHA/EPA 均显著低于 SO 组($P<0.05$)。对肝和饲料的脂肪酸组成进行 Person 相关性分析发现, 除了 C_{18:1n-9}、C_{20:1} 和 MUFA 外, 其余的脂肪酸与其在饲料中的百分含量均呈现正相关关系, C_{18:2n-6}、n-6 PUFA 和 DHA/EPA 呈显著相关性($r=0.983, 0.976, 0.977, P<0.05$), 而 C_{16:1n-7} 呈现极显著正相关($r=0.992, P<0.01$)。

表 5 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼肌肉脂肪酸的影响及与饲料脂肪酸组成的 Person 相关分析
Tab. 5 Effects of fish oil replacement by microalgae meals on muscle fatty acids of juvenile starry flounder and Pearson correlation analysis of fatty acid composition in diets

脂肪酸 fatty acid	饲料组 diet trial				<i>r</i>
	FO	SO	NO	MO	
C _{14:0}	1.49±0.01 ^b	1.00±0.02 ^d	1.27±0.03 ^c	1.96±0.04 ^a	1.00**
C _{16:0}	14.15±0.09 ^c	13.98±0.44 ^c	15.27±0.01 ^b	16.62±0.18 ^a	0.973*
C _{18:0}	4.56±0.08 ^b	4.84±0.08 ^a	4.32±0.24 ^c	4.54±0.07 ^b	-0.300
ΣSFA	20.20±0.38 ^c	19.82±0.36 ^c	20.86±0.16 ^b	23.12±0.24 ^a	0.906
C _{16:1n-7}	1.73±0.04 ^b	0.91±0.05 ^c	3.40±0.38 ^a	3.48±0.16 ^a	0.996**
C _{18:1n-9}	15.48±0.12 ^a	13.77±0.29 ^c	15.81±0.42 ^a	14.56±0.18 ^b	-0.072
C _{18:1n-7}	1.72±0.03 ^b	1.27±0.02 ^c	1.74±0.02 ^b	1.80±0.02 ^a	0.284
C _{20:1}	1.72±0.05 ^a	1.40±0.07 ^b	1.39±0.02 ^b	1.21±0.10 ^c	0.913
ΣMUFA	20.70±0.10 ^b	17.42±0.23 ^c	21.69±0.57 ^a	20.85±0.14 ^b	0.266
C _{18:2n-6}	30.55±1.29 ^b	33.65±2.00 ^a	32.4±0.41 ^{ab}	20.24±0.38 ^c	0.917
C _{18:3n-3}	0.51±0.02 ^a	0.38±0.01 ^b	0.52±0.02 ^a	0.50±0.02 ^a	0.959
C _{18:3n-6}	0.06±0.00 ^b	0.09±0.01 ^a	0.06±0.02 ^b	0.10±0.01 ^a	0.755
C _{20:2n-9}	1.61±0.08 ^a	1.66±0.10 ^a	1.25±0.05 ^b	1.00±0.08 ^c	0.370
ARA	1.21±0.15 ^b	1.27±0.39 ^b	2.21±0.20 ^a	2.01±0.16 ^b	0.910
EPA	4.38±0.32 ^b	3.04±0.42 ^c	7.11±0.47 ^a	4.43±0.15 ^b	0.720
DHA	11.04±0.22 ^c	13.19±0.60 ^b	4.87±0.08 ^d	14.26±0.04 ^a	0.967*
Σn-6 PUFA	31.25±0.54 ^b	34.15±0.87 ^a	34.57±0.18 ^a	22.59±0.15 ^c	0.877
Σn-3 PUFA	16.05±0.16 ^b	16.40±0.83 ^b	12.22±0.32 ^c	19.10±0.08 ^a	0.704
n-3 HUFA	15.69±0.11 ^c	16.54±0.81 ^b	12.59±0.25 ^d	18.58±0.09 ^a	0.686
DHA/EPA	2.42±0.04 ^c	3.96±0.08 ^a	0.71±0.03 ^d	3.34±0.01 ^b	0.731

注: 脂肪酸含量以各脂肪酸甲酯占总脂肪酸甲酯的比例表示。同行不同的上标字母代表差异显著($P<0.05$)。
Note: Ratios of fatty acid methyl ester to total fatty acid methyl esters. Different superscript letters in the same row mean significant difference ($P<0.05$).

表 6 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼肝脏脂肪酸的影响及与饲料脂肪酸组成的 Person 相关分析
Tab. 6 Effects of fish oil replacement by microalgae meals on liver fatty acid of juvenile starry flounder and Pearson correlation analysis of fatty acid composition in diets

%; n=3; $\bar{x} \pm SD$

脂肪酸 fatty acid	饲料组 diet trial				r
	FO	SO	NO	MO	
C _{14:0}	2.63±0.08 ^c	1.78±0.01 ^d	3.15±0.04 ^a	2.97±0.05 ^b	0.722
C _{16:0}	15.84±0.20 ^b	14.20±0.34 ^c	19.64±0.20 ^a	19.75±0.39 ^a	0.885
C _{18:0}	1.32±0.09 ^c	1.13±0.08 ^d	1.46±0.06 ^b	1.98±0.06 ^a	0.028
ΣSFA	19.79±0.33 ^b	17.11±0.41 ^c	24.25±0.14 ^a	24.67±0.52 ^a	0.857
C _{16:1n-7}	6.15±0.09 ^b	4.16±0.06 ^d	9.63±0.14 ^a	11.51±0.17 ^c	0.992**
C _{18:1n-9}	26.41±0.36 ^d	27.00±0.43 ^c	31.60±0.41 ^a	30.47±0.64 ^b	-0.48
C _{18:1n-7}	2.62±0.02 ^b	0.19±0.00 ^c	0.18±0.00 ^c	3.30±0.02 ^a	0.850
C _{20:1}	1.92±0.04 ^a	1.52±0.05 ^c	1.56±0.03 ^a	1.70±0.08 ^b	0.904
ΣMUFA	32.98±0.66 ^d	36.76±0.41 ^c	43.17±0.89 ^b	47.15±0.74 ^a	-0.439
C _{18:2n-6}	28.33±0.39	36.38±0.75	24.64±0.61	13.76±0.67	0.983*
C _{18:3n-3}	0.49±0.01 ^a	0.36±0.00 ^d	0.40±0.01 ^b	0.38±0.01 ^c	0.567
C _{18:3n-6}	0.08±0.00 ^a	0.06±0.00 ^b	0.00±0.00 ^c	0.09±0.01 ^a	0.566
C _{20:2n-9}	2.21±0.09 ^b	2.62±0.13 ^a	1.60±0.09 ^c	1.16±0.05 ^d	0.191
ARA	0.33±0.11 ^c	0.38±0.02 ^c	0.50±0.02 ^b	0.82±0.02 ^a	0.873
EPA	2.25±0.06 ^a	0.62±0.02 ^c	1.80±0.07 ^b	1.73±0.09 ^b	0.731
DHA	4.04±0.19 ^c	4.83±0.19 ^b	0.73±0.08 ^d	5.13±0.24 ^a	0.947
Σn-6 PUFA	28.73±0.48 ^b	36.81±0.76 ^a	25.14±0.62 ^c	14.66±0.67 ^d	0.976*
Σn-3 PUFA	6.77±0.25 ^b	5.80±0.21 ^c	2.93±0.13 ^d	7.24±0.29 ^a	0.591
n-3 HUFA	6.29±0.24 ^b	5.45±0.20 ^c	2.53±0.13 ^d	6.86±0.29 ^a	0.605
DHA/EPA	1.80±0.05 ^c	7.80±0.18 ^a	0.41±0.04 ^d	2.97±0.16 ^b	0.977*

注：脂肪酸含量以各脂肪酸甲酯占总脂肪酸甲酯的比例表示。同行不同的上标字母代表差异显著(P<0.05)。
Note: Ratios of fatty acid methyl ester to total fatty acid methyl esters. Different superscript letters in the same row mean significant difference (P<0.05).

2.4 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生理指标的影响

微藻粉替代星斑川鲷饲料中的鱼油显著影响了部分生理指标(表 7)。与 FO 组相比, NO 组和 MO 组的血清谷丙转氨酶(ALT)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHO)和碱性磷酸酶(ALP)的含量显著降低(P<0.05), 但 SO 组显著升高(P<0.05)。此外, NO 组的谷草转氨酶(AST)和葡萄糖(GLU)的含量显著低于其他组(P<0.05)。

3 讨论

3.1 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生长性能及饲料利用的影响

本实验中, 裂壶藻组的生长性能明显优于其余两个替代组, 且该实验组的饲料系数最低, 蛋白质效率最高, 证明用裂壶藻替代鱼油对星斑川

鲷幼鱼的生长及饲料利用有积极的影响。其次, 裂壶藻组与对照组差异不显著, 证明裂壶藻替代鱼油不会对星斑川鲷幼鱼的生长产生负面影响。有关裂壶藻替代鱼油对鱼类生长的影响, 已经有一些研究。Sprague 等^[14]分别用两个水平(饲料总量的 11%、5.5%)的裂壶藻完全替代鱼油, 发现对大西洋鲑幼鱼的生长没有产生负面影响。Sarker 等^[15]在进行裂壶藻替代鱼油的适宜替代量的研究时发现, 当用裂壶藻完全替代鱼油时, 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)增重率和蛋白质效率显著提高(P<0.05), 饲料系数显著降低(P<0.05)。Li 等^[16]研究发现在饲料中添加裂壶藻粉能有效提高斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的体增重和饲料效率, 当添加量达到 2%时, 可以明显提高食用部位的 DHA 和总 n-3PUFA 的含量。本实验条件下, 与 FO 组相比, NO 组和 MO 组的星斑川鲷

表 7 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生化指标的影响
Tab. 7 Effects of fish oil replacement by microalgae meals on biochemical indices of juvenile starry flounder
n=3; $\bar{x} \pm SD$

血清中各指标 serum indicator	饲料组 diet trial			
	FO	SO	NO	MO
谷丙转氨酶 ALT/(U·L ⁻¹)	21.67±1.53 ^b	25.00±1.00 ^a	16.67±1.53 ^c	1.67±2.08 ^c
谷草转氨酶 AST/(U·L ⁻¹)	101.67±5.77 ^a	105.00±5.00 ^a	61.33±2.31 ^b	97.67±2.52 ^a
总蛋白 TP/(g·L ⁻¹)	23.33±1.04 ^a	20.17±1.61 ^b	17.17±0.76 ^c	19.17±1.26 ^{bc}
白蛋白 ALB/(g·L ⁻¹)	7.83±0.29	8.00±1.00	8.17±1.04	7.67±1.04
葡萄糖 GLU/(mmol·L ⁻¹)	3.05±0.30 ^a	2.70±0.46 ^a	2.03±0.19 ^b	2.92±0.13 ^a
甘油三酯 TG/(mmol·L ⁻¹)	0.85±0.05 ^a	1.03±0.08 ^b	0.40±0.05 ^d	0.55±0.05 ^c
胆固醇 CHO/(mmol·L ⁻¹)	3.50±0.09 ^b	3.80±0.10 ^a	3.32±0.18 ^b	3.35±0.15 ^b
高密度脂蛋白 HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	1.88±0.45	1.85±0.20	2.00±0.09	2.02±0.55
低密度脂蛋白 LDL-C/(mmol·L ⁻¹)	0.15±0.01	0.17±0.03	0.17±0.03	0.13±0.03
碱性磷酸酶 ALP/(U·L ⁻¹)	35.00±2.00 ^b	53.33±2.89 ^a	18.33±3.21 ^c	15.00±2.00 ^c

注: 同行数值后不同上标英文字母表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts show significant difference ($P<0.05$).

幼鱼的特定生长率和饲料系数均发生了显著变化($P<0.05$), SO 组与 FO 组差异不显著。裂壶藻粉能有效提高鱼类的生长性能可能与它含有丰富的 DHA^[17]有关。Copeman 等^[18]曾经分别用高 DHA (总脂肪酸的 43.3%)、DHA + EPA (37.4%、14.2%), DHA+AA(36.0%、8.9%)强化卤虫, 投喂美洲黄盖鲷(*Limanda ferruginea*), 发现高 DHA 组的实验鱼生长最快, 成活率最高。在虱目鱼(*Chanos chanos*)^[19]和塞内加尔鲷(*Solea senegalensis*)^[20]上也得出了相同的结论。

与裂壶藻粉相比, 微绿球藻粉的替代效果略差, 这可能是因为微绿球藻的细胞壁外壳较厚, 阻碍了鱼体对微绿球藻的吸收利用, 刘建国等^[21]用微拟球藻作为饵料直接投喂栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 幼虫, 虽可被摄食但不容易消化, 出现代谢性饥饿和营养不良现象, 影响个体生长。此外, 微绿球藻中虽然含有鱼类生长所必需的 EPA, 但 DHA 的含量极低, 大量的研究表明, DHA 比 EPA 更能促进大部分海水鱼的生长, 过高的 EPA 含量和过低的 DHA 含量会导致海水仔稚鱼的神经功能产生消极的影响^[22]。

3.2 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼体组成的影响

本实验中, 使用藻粉替代鱼油后星斑川鲷幼鱼的体组成会产生一定的变化, 但这些变化对鱼的营养价值影响较小。微藻是食物链中的初级生

产者, 含有鱼类生长所必须的多种营养物质, 特别是某些藻粉中也含有大量的鱼类生长必需的高不饱和脂肪酸, 所以用藻粉替代鱼油不会对鱼体的体组成产生较大的影响。Tibaldi 等^[23]用冻干的金藻粉替代欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax* L.)饲料中的部分的鱼粉和鱼油, 发现替代后对欧洲鲈鱼的基本营养组成没有显著的影响。Kissinger 等^[24]用大豆浓缩蛋白、乌贼内脏粉和雨生红球藻粉的混合按照一定比例替代长鳍鲷(*Seriola rivoliana*)饲料中的鱼粉, 发现实验组的体成分变化与对照组相比差异很小。

在本实验中, 用微藻粉替代鱼油后, MO 组和 NO 组的全鱼的粗脂肪含量降低, 两组饲料中均含有微绿球藻粉, 而微绿球藻的藻细胞虽然含有较多的粗脂肪, 但绝大多数都是色素^[25], 故而沉积的脂肪较少。此外, 全鱼的水分含量也与粗脂肪含量的变化趋势相反, 全鱼脂肪含量和水分含量负相关已在美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[26]、石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[27]和军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[28]中有过报道。

3.3 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼肌肉和肝脂肪酸组成的影响

在本实验中, 通过肌肉脂肪酸和饲料脂肪酸的相关性分析发现, 各组脂肪酸中的 C_{18:0} 和 C_{18:1n-9} 的含量与饲料呈负相关, 前者可能是由于星斑川鲷不能有效地利用 C_{18:0} 作为能量来源而倾

向于在肌肉积累,后者可能是因为与其他脂肪酸相比, MUFA 更易于被 β -氧化而加以利用^[29-31],这与大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[2]和大西洋鲑^[32-33]的研究结果相似;肌肉脂肪酸中的 DHA 和 EPA 含量均与饲料含量正向相关,说明星斑川鲷幼鱼能够有效地吸收和利用微藻粉内含有的 DHA 和 EPA,其含量明显高于饲料,证明藻粉中的高不饱和脂肪酸在肌肉中沉积从而维持鱼体的正常生理功能,这与金头鲷(*Sparu saurata*)^[34]、虹鳟^[35]和黄尾鲷^[36]的研究结果一致。

肝中的脂肪酸含量与饲料的脂肪酸含量变化基本一致^[37]。通过肝脂肪酸和饲料脂肪酸的相关性分析发现,各组脂肪酸中的 $C_{18:1n-9}$ 和 MUFA 的含量与饲料呈负相关,可能是因为肝中的 $C_{18:1n-9}$ 已经充分满足供能的需求,剩余的 $C_{18:1n-9}$ 则在肝中沉积; $C_{18:2n-6}$ 含量与饲料中的含量呈显著正相关,可能是因为饲料脂肪酸中的 $C_{18:2n-6}$ 的含量很高,过多的 $C_{18:2n-6}$ 也随之沉积到肝中,在尖吻重牙鲷(*Diplodus puntazzo*)^[38]上也得到了相同的结果。DHA 的含量略有增加,但 EPA 的含量低于饲料中的含量,这可能与 DHA 有调节膜流动性的作用有关,因此 DHA 往往被选择性地保留在极性脂(磷脂)中,大量被储存在嗅觉神经、视网膜和中枢神经系统中^[39]。

虽然肝和肌肉的脂肪酸组成大体一致,但其含量有所差异,如肌肉脂肪酸中 EPA 含量为 3.04%~7.11%, DHA 为 4.87%~14.26%,而肝脂肪酸中 EPA 含量为 0.62%~2.25%, DHA 为 0.73%~5.13%。表明饲料脂肪酸含量对鱼体不同组织脂肪酸组成会有不同的影响。相对肌肉的脂肪酸组成,其肝的脂肪酸组成更能反映星斑川鲷幼鱼摄食饲料的脂肪酸组成情况。类似的结果在黄斑蓝子鱼(*Siganus canaliculatus*)^[40]和大黄鱼^[41]中也得到证实。

3.4 微藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼生理指标的影响

转氨酶是催化氨基酸与酮酸之间氨基转移的一类酶。普遍存在于动物、植物组织和微生物中,参与氨基酸的分解和合成。谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)是其中最重要的两种。正常情况下

血清内的 AST 和 ALT 的值很低,但当肝细胞受损或通透性改变后,血清 AST 和 ALT 的值就会升高,因此这两个指标可以用来反映肝的受损情况^[42]。本实验的血清指标中,裂壶藻组与对照组相比略有升高,但微绿球藻组和混合藻粉组显著低于对照组;甘油三酯(TG)和胆固醇(CHO)代表血清的血脂水平,可以反映出实验鱼机体脂类代谢情况,与饲料中的脂肪水平呈正相关^[43]。在本实验中,裂壶藻粉组的 CHO 值最高,而微绿球藻组和混合藻粉组的值低于对照组,可能是因为 NO 组和 MO 组的饲料所含有的脂肪中有一部分是色素,机体对这部分脂类物质的吸收利用率很低,导致脂肪沉积率低^[25];碱性磷酸酶(ALP)是生物体内碱性环境下水解磷酸酯的一组重要代谢调控酶,在机体非特异性免疫反应中发挥重要作用^[44]。在本实验中,ALP 的变化趋势与 TG 和 CHO 的变化趋势一致,ALP 活性的变化与脂肪含量呈正相关,在点蓝子鱼(*Siganus guttatus*)^[45]的研究中也得到了相似的结果。血清总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)的含量是反映动物体内蛋白质代谢状况的指标,若含量升高则表明动物吸收和代谢水平提高,促进了蛋白合成和氮的沉积^[46-47]。在本研究中,对照组的 TP 值最高,裂壶藻组次之,微绿球藻组和混合藻组最低,而各实验组的 ALB 值无差异,可以推断三个替代组中裂壶藻组的蛋白合成效果最优。

4 结论

裂壶藻粉替代鱼油对星斑川鲷幼鱼的生长无负面影响,且能提高星斑川鲷的营养价值;微绿球藻粉替代鱼油减少对肝的损伤,降低脂肪在鱼体内的沉积。混合藻粉既含有 DHA,又含有 EPA,能充分满足鱼体对必需脂肪酸的需求,同时还能提高 n-3PUFA 的沉积比例。

参考文献:

- [1] Food and Agriculture Organization of the United States. The State of World Fisheries and Aquaculture 2009 (SOFIA)[R]. FAO, Rome: Fisheries and Aquaculture Department, 2010.
- [2] Yi X W, Zhang W B, Mai K S, et al. Effects of dietary fish oil replaced with rapeseed oil on the growth, fatty acid com-

- position and skin color of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(5): 751–760. [易新文, 张文兵, 麦康森, 等. 饲料中菜籽油替代鱼油对大黄鱼生长、肌肉脂肪酸组成和体色的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(5): 751–760.]
- [3] Peng M, Xu W, Mai K S, et al. Growth performance, fatty acids composition and lipid deposition in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed diets with various fish oil substitution levels by linseed oil[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38 (8): 1131–1139. [彭墨, 徐玮, 麦康森, 等. 亚麻籽油替代鱼油对大菱鲆幼鱼生长、脂肪酸组成及脂肪沉积的影响[J]. 水产学报, 2014, 38 (8): 1131–1139.]
- [4] Huang Y, Wang J Y, Li B S, et al. Effects of replacing fish oil with wheat germ oil on growth performance, body composition, serum biochemical indices, and lipid metabolic enzymes in juvenile *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22 (6): 1195–1208. [黄裕, 王际英, 李宝山, 等. 小麦胚芽油替代鱼油对半滑舌鲷幼鱼生长、体成分、血清生化指标及脂肪代谢酶的影响[J]. 中国水产科学, 2015, 22 (6): 1195–1208.]
- [5] Nakahara T, Yokochi T, Higashihara T, et al. Production of docosahexaenoic and docosapentaenoic acids by *Schizochytrium* sp. isolated from Yap Islands[J]. J Am Oil Chem Soc, 1996, 73 (11): 1421–1426.
- [6] Zou N, Richmond A. Effect of light-path length in outdoor flat plate reactors on output rate of cell mass and of EPA in *Nannochloropsis* sp.[J]. J Biotechnol, 1999, 70(1–3): 331–335.
- [7] Halver J E, Hardy W. Fish Nutrition[M]. New York: Academic Press, 2002.
- [8] van Hoestenbergh S, Fransman C, Luyten T, et al. *Schizochytrium* as a replacement for fish oil in a fishmeal free diet for jade perch, *Scortum barcoo* (McCulloch & Waite)[J]. Aqu Res, 2016, 47 (6): 1747–1760.
- [9] Betiku O C, Barrows F T, Ross C, et al. The effect of total replacement of fish oil with DHA-Gold® and plant oils on growth and fillet quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a plant-based diet[J]. Aqu Nutri, 2015, 22 (1): 158–169.
- [10] Miller M R, Nichols P D, Carter C G. Replacement of fish oil with thraustochytrid *Schizochytrium* sp. L oil in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L) diets[J]. Comp Biochem Physiol, Part A: Mol Integr Physiol, 2007, 148 (2): 382–392.
- [11] Folch J, Lees M, Stanley S G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues [J]. J Biotechnol Chem, 1957, 226 (1): 497–509.
- [12] Metcalfe L D, Schmitz A A, Pelka J R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis[J]. Ani Chem, 1966, 38 (3): 514–515.
- [13] Ma J J, Wang J Y, Sun J Z, et al. Effect of dietary DHA to EPA ratios on growth performance, body composition and serum physiological parameters in juvenile *Platichthys stellatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(2): 244–256. [马晶晶, 王际英, 孙建珍, 等. 饲料中 DHA/EPA 值对星斑川鲷幼鱼生长、体组成及血清生理指标的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(2): 244–256.]
- [14] Sprague M, Walton J, Campbell P J, et al. Replacement of fish oil with a DHA-rich algal meal derived from *Schizochytrium* sp. on the fatty acid and persistent organic pollutant levels in diets and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) post-smolts[J]. Food Chem, 2015, 185: 413–421.
- [15] Sarker P K, Kapuscinski A R, Lanois A J, et al. Towards sustainable aquafeeds: complete substitution of fish oil with marine microalga *Schizochytrium* sp. improves growth and fatty acid deposition in juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. PLoS ONE, 2016, 11(6): e0156684.
- [16] Li M H, Robinson E H, Tucker C S, et al. Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*[J]. Aquaculture, 2009, 292(3–4): 232–236.
- [17] Lü X Y, Yin J, Fu J, et al. Study on nutrient characteristics of *Schizochytrium* and accumulation of DHA[J]. The Food Industry, 2016(1): 222–225. [吕小义, 尹佳, 付杰, 等. 裂壶藻营养特性及其积累 DHA 的研究[J]. 食品工业, 2016(1): 222–225.]
- [18] Copeman L A, Parrish C C, Brown J A, et al. Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment[J]. Aquaculture, 2002, 210(1–4): 285–304.
- [19] Gapasin R S J, Duray M N. Effects of DHA-enriched live food on growth, survival and incidence of opercular deformities in milkfish (*Chanos chanos*)[J]. Aquaculture, 2001, 193 (1–2): 49–63.
- [20] Villalta M, Estevez A, Bransden M P, et al. The effect of graded concentrations of dietary DHA on growth, survival and tissue fatty acid profile of Senegal sole (*Solea senegalensis*) larvae during the *Artemia* feeding period[J]. Aquaculture, 2005, 249(1–4): 353–36.
- [21] Liu J G, Yin M Y, Zhang J P, et al. Application of *Nannochloropsis salina* as feed stuff in aquaculture[J]. Marine Sciences, 2007, 31(5): 4–9. [刘建国, 殷明焱, 张京浦, 等. 微拟球藻的水产饵料效果研究[J]. 海洋科学, 2007, 31(5): 4–9.]
- [22] Lee S M. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegelii*)[J]. Aquac Res, 2001, 32(1): 8–17.
- [23] Tibaldi E, ChiniZittelli G, Parisi G, et al. Growth performance and quality traits of European sea bass (*D. labrax*) fed diets including increasing levels of freeze-dried *Isochrysis* sp. (T-ISO) biomass as a source of protein and n-3 long chain PUFA in partial substitution of fish derivatives[J]. Aquacul-

- ture, 2015, 440: 60–68.
- [24] 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.
- [25] Lubian L M, Montero O, Moreno-Garrido I, et al. Nannochloropsis (*Eustigmatophyceae*) as source of commercially valuable pigments[J]. J Appl Phycol, 2002, 12 (3–5): 249–255.
- [26] Serrano J A, Nepatipour G R, Gatlin D M. Dietary protein requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbohydrate and lipid[J]. Aquaculture, 1992, 101(3–4): 283–291.
- [27] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating net cages[J]. Aquaculture International, 2005, 13(3): 257–269.
- [28] Wang J T, Liu Y J, Tian L X, et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia *Rachycentron canadum*[J]. Aquaculture, 2005, 249(1): 439–447.
- [29] Sargent J, Henderson R J, Tocher D R. The Lipids[M]. Halver J E, Ed. Fish Nutrition, London UK: Academic Press, 1989.
- [30] Henderson R J, Sargent J R. Chain-length specificities of mitochondrial and peroxisomal beta-oxidation of fatty acids in livers of rainbow trout[J]. Comp Biochem Phys B, 1985, 82(1): 79–85.
- [31] Kiessling K H, Kiessling A. Selective utilization of fatty acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) red muscle mitochondria[J]. Can J Zool, 1993, 71 (2): 248–251.
- [32] Bell J G, McEvoy J, Tocher D R, et al. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism[J]. J Nutr, 2001, 131 (5): 1535–1543.
- [33] Bell J G, Tocher D R, Henderson R J, et al. Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet[J]. J Nutr, 2003, 133 (9): 2793–2801.
- [34] Izquierdo M S, Robaina L, Caballero M J, et al. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding[J]. Aquaculture, 2005, 250 (1–2): 431–444.
- [35] Pettersson A, Johnsson L, Brannas E, et al. Effects of rapeseed oil replacement in fish feed on lipid composition and self-selection by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquacult Nutr, 2009, 15(6): 577–586.
- [36] Bowyer J N, Qin J G, Smullen R P, et al. Replacement of fish oil by poultry oil and canola oil in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) at optimal and suboptimal temperatures[J]. Aquaculture, 2012, 356–357: 211–222.
- [37] Gatlin D M III, Stickney R R. Fall-winter growth of young channel catfish in response to quantity and source of dietary lipid[J]. Trans Am Fish Soc, 1982, 111(1): 90–93.
- [38] Piedecausa M A, Mazón M J, García García B, et al. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*)[J]. Aquaculture, 2007, 263(1–4): 211–219.
- [39] Izquierdo M S. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae[J]. Aqu Nutr, 1996, 2(4): 183–191.
- [40] Xu S D, Wang S Q, Zhang L, et al. Effects of replacement of dietary fish oil with soybean oil on growth performance and tissue fatty acid composition in marine herbivorous teleost *Siganus canaliculatus*[J]. Aqu Res, 2012, 43(9): 1276–1286.
- [41] Li S, Chen C Y, Huang X X, et al. Effect of partial replacement of fish oil with vegetable oil on muscle and liver total lipid and fatty acid of larvae *Larmichthys crocea*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(5) 726–736. [李桑, 陈春燕, 黄旭雄, 等. 植物油部分替代饲料中鱼油对大黄鱼脂肪及脂肪酸的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24 (5): 726–736.]
- [42] Huang K, Yang H K, Gan H, et al. Effects of diet-supplemental choline on fatty liver pathological changes in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(2): 257–262. [黄凯, 杨鸿昆, 甘晖, 等. 饲料中添加胆碱预防罗非鱼脂肪肝病的作用[J]. 中国水产科学, 2007, 14(2): 257–262.]
- [43] Regost C, Arzel J, Cardinal M, et al. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*)[J]. Aquaculture, 2001, 193(3–4): 291–309.
- [44] Zhu M, Yu J L. Application of arachidonic acid in aquatic feed[J]. China Feed, 2005, (5): 29–31. [朱敏, 余江龙. 花生四烯酸在水产饲料中的应用[J]. 中国饲料, 2005(5): 29–31.]
- [45] Zhang L Z, Zhu W, Wang Y, et al. Effects of dietary lipid levels on activities of digestive enzymes and blood biochemical parameters of *Siganus guttatus*[J]. Marine Fisheries, 2014, 36(2): 170–176. [章龙珍, 朱卫, 王好, 等. 饲料脂肪水平对点篮子鱼消化酶活性和血液主要生化指标的影响[J]. 海洋渔业, 2014, 36(2): 170–176.]
- [46] Baldi A, Bontempo V, Dell’Orto V, et al. Effects of dietary chromium-yeast in weaning-stressed piglets[J]. Can J An Sci, 1999, 79(3): 369–374.
- [47] Kanjanaputhipong J. Supplementation of milk replacers containing soy protein with threonine, methionine, and lysine in the diets of calves[J]. J Dairy Sci, 1998, 81(11): 2912–2915.

Effects of replacing fish oil with microalgae meals on growth performance, tissue proximate composition, and biochemical indices in juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus*

ZHANG Yan^{1,2}, QIAO Hongjin², LI Baoshan², SUN Yongzhi², GONG Xupeng^{1,2}, WANG Jiying², ZHANG Limin²

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology; Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China

Abstract: A 90-day feeding trial was conducted to investigate the effects of fish oil substitution with microalgae meals on growth performance, tissue proximate composition, and biochemical indices in juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus* (initial body weight 7.35 g±0.03 g). Four groups of isonitrogenous and isolipidic diets were formulated using different primary lipid sources: fish oil (FO), *Schizochytrium* meal (SO), *Nannochloropsis* meal (NO), and the mixture of these two algae meals (MO), with the remaining part filled with corn oil. Results showed that growth performance was not significantly different between FO and SO, whereas specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER), and viscerosomatic index (VSI) of NO and MO were significantly lower than FO ($P<0.05$). Feed efficiency (FE) of MO and NO was the opposite. The body crude protein content of MO was significantly higher than that in the other groups ($P<0.05$), while body crude lipid content of FO and MO were significantly higher than that in the other groups ($P<0.05$). The muscle ash content of FO was significantly lower than that in the other groups ($P<0.05$). Fatty acid composition of muscle and liver were directly influenced by dietary fatty acid composition ($P<0.05$). The percentages of C_{16:0} and DHA in muscle were positively correlated with that of the diets ($r=0.973$ and 0.967 , respectively, $P<0.05$), and the percentages of C_{14:0} and C_{16:1n-7} were significantly positively correlated with that of the diets ($r=1.00$ and 0.996 , respectively, $P<0.01$). The percentages of C_{18:2n-6}, n-6 PUFA, and DHA:EPA in liver were also positively correlated with that of the diets ($r=0.983$, 0.976 , and 0.977 , respectively, $P<0.05$), while C_{16:1n-7} showed a significantly positive correlation ($r=0.992$, $P<0.01$). Compared with FO, levels of serum alanine aminotransferase (ALT), triglyceride (TG), cholesterol (CHO), and alkaline phosphatase (ALP) of NO and MO were significantly decreased ($P<0.05$). Additionally, levels of serum aspartate aminotransferase (AST) and glucose (GLU) of NO were significantly lower than those in other groups ($P<0.05$). In summary, there were no negative effects on growth and physiology when fish oil was replaced with *Schizochytrium* meal, and this can improve the nutritional value of *P. stellatus* to a certain extent.

Key words: *Schizochytrium* meal; *Nannochloropsis* meal; fish oil replacement; *Platichthys stellatus*; growth performance; fatty acid

Corresponding author: WANG Jiying. E-mail: ytwjy@126.com