



福建省水产饲料研究会 信息简报

B-2088184-5

第 17 期 (总第 319 期)

2020 年 09 月 15 日

行业会议

2020 海峡（福州）渔业周·中国（福州）国际渔业博览会在福州 顺利举办

2020 海峡（福州）渔业周·中国（福州）国际渔业博览会于 2020 年 9 月 4 日-9 月 6 日在福州海峡国际会展中心顺利举办,博览会由中国渔业协会和福建荟源展览有限公司共同主办。今年因市场环境变化影响,以及消费模式发展转变,展会首次推行“线上+线下”双线会展新模式,拓宽企业参展渠道,打破 3 天参展的局限,实现全年全面服务。



农业农村部副部长于康震、福建省人民政府副省长崔永辉、全国政协委员、第十一届省政协副主席陈义兴、农业农村部渔业渔政管理局局长张显良、福建省政府办公厅副主任陈起东、福建省海洋与渔业局局长林锡能、福建省农业厅副厅长陈明旺、福州市人民政府副市长严可仕、中国渔业协会会长赵兴武、中国渔业协会常务副会长兼秘书长林毅,以及农业农村部四级调研员张金鹏、处长袁晓初等部委、部局、省、市、协会有关领导参加开馆仪式并巡馆。

本届展会规模达 4.6 万平方米，共吸引来自 15 个省份的 323 家企业参与，福建省外展商占比 40%。展品覆盖了整个渔业水产行业及周边产业链，从各类鲜活水产品、冷冻水产品、水产干货、海鲜食材等，到养殖技术、水产加工、包装、保鲜技术及远洋捕捞等相关设备。除此之外，因受新冠疫情影响，许多外贸出口水产企业将市场转向国内，进一步丰富本届渔博会的展品内涵，许多海鲜罐头类产品、即食海鲜、精加工出口水产品等悉数亮相福州渔博会，**展品种类进一步丰富，展品精细化程度进一步提高，成为本届展会的一大亮点。**

据统计，本届展会设置 1725 个展位，海洋与渔业重点签约项目 12 个，签约总金额达 237.94 亿元；现场零售额 7113 万，经贸配对额 5.3 亿；采购商人数达到 8000 人。本届展会搭建线上平台，其中福州渔博会云展会平台已有 350 多家展商上线，平台注册采购商超 2 万人；经后台发起沟通的采购商人数达到 3500 多人，实现成交意向配对 1200 多家。

展会设置海鲜食材展区、水产加工展区、福州自贸片区展区、远洋渔业纯天然产品展区、渔业机械设备展区、水产养殖设备展区等八大展区。

展期实现线上+线下的双线互动，**开展福渔优品云购节，自贸好料联播节以及加入“全闽乐购”系列活动**，同步在抖音、今日头条、微博、朋友圈广告等渠道曝光，两大直播活动共吸引线上观看数量达 1000 万人次，为超过 50 家企业的上百件产品带货，现场还吸引了抖音、微博等平台开展实时走播活动，全场线上发起交易次数近 50 万次。福渔优品云购节与国内知名大娱号合作，创新地采用了虚拟直播间的技术，直观展示了水产品的生产过程、养殖过程以及企业的品牌文化，是全国水产行业直播的创新之举。**线上云交易、云配对、云展示，也成为本届渔博会的亮点之一。**

展期除线上配套活动之外，现场举办重点项目签约仪式、第二届中国渔业渔村发展振兴论坛、第二届闽台休闲渔业研讨会、全国水产品采购对接会，中国（福州）国际金鱼大赛、鲍鱼节、海带节、鱼丸节、海蜇节等一系列渔业品牌宣传推介活动，以及“慧吃渔 享健康”2020 营养医师谈吃“渔”--水产品营养与健康专家科普大讲堂活动，中国渔业协会水产品营养与健康专家委员会也同期举行了成立仪式。

其中**第二届中国渔业渔村发展振兴论坛，以线上线下互动的形式成功举办，线上点击率超过 153 万**。现场展商反馈良好，专业客商精准度提高，纷纷表示后续会有更多合作与交流。首届福州海蜇文化节亮相福州渔博会，百年品牌——闽洋海蜇成为此届展

会及文化节的亮点；在传播福州海蜇文化历史底蕴的同时也让更多的消费者了解海蜇自古就是药食同源的一味。“慧吃渔 享健康”2020 营养医师谈吃“渔”--水产品营养与健康专家科普大讲堂活动，围绕“向水产 要健康”主题，分别从水产品与人群营养健康的证据体分析与解读、后疫情时代水产品与健康的关系、鳗鱼的营养与适用人群特点等议题进行了宣讲及分享。活动现场，邀请嘉宾和观众现场品尝鳗鱼美食，嘉宾与观众亲切互动，气氛活跃。中国渔业协会水产品营养与健康专家委员会成立仪式采用现场与异地嘉宾同屏云互动形式，专家们通过现场及线上直播方式表达了对专委会成立后开展水产品营养与健康工作的想法及建议。



中国渔业协会水产商贸分会代表团由葛锦海执行会长率领、袁道亮秘书长落实执行，发动分会会员上海澳先食品有限公司等企业参展，除了展示会员企业的鲍鱼、扇贝等各种国内外海产品外，还当场烹饪各种美味供参观交流观众品尝。由分会秘书处专门为“中华好蟹”品牌大闸蟹宣传、为领先全球的“点为”智能科技有限公司推广的射频解冻设备资料、为上海江杨农产品批发市场“冻品展示、洽谈、体验、直播平台”招商宣传图册，为无锡迅朗联大机能水技术研究院有限公司利用次氯酸发生器，生产具有高效杀菌功能的微酸性电解水技术做推广，会员企业江苏启东吕四至诚水产品有限公司携带液氮超低温速冻黄海吕四渔场油带鱼、鲳鱼、鳆鱼、墨鱼、小黄鱼、梭子蟹、仔虾、条虾等深受消费者欢迎的国内精品海产系列产品资料；西克制冷公司提供冷柜、岛柜产品等设备展示；上市企业——华测检测等企业，这次也专门派出项目负责人随分会代表团前往福州中国国际渔业博览会，宣传联系客户，取得满意效果，当场就联系了许多意向客户，咨询电话连续不断。

正大集团在一片蓝色展厅中以一艘醒目的红色帆船造型隆重亮相本次展会。帆船不仅代表了乘风破浪，不断前进的精神，更展现了集团掌舵者非一般的执着和信仰，正

如正大集团怀揣着“利国、利民、利企业”的宗旨，数十年如一日的做老百姓能吃得起的放心食品。正大集团从水域到餐桌的全产业链展示不仅获得参观者的一致好评，还斩获了组委会的多项殊荣，以其质量好，品牌影响力高，经济效益好，售后服务完善，市场认可度高等特点，被授予2020年“最受欢迎水产供应商”、“最受欢迎食材供应商”和“金奖企业”荣誉称号，更引来电视台等媒体前来采访报道。

正大集团农牧食品企业中国区资深副董事长**霍尔峰**，正大集团中东南区副董事长**陈丹**、资深总裁**翟季敏**等一众领导莅临现场观摩指导。



中国海蜇之乡——辽宁营口派出重磅级代表团参展本次渔博会，展出营口海蜇等特色水产品，营口市政协副主席、市农业农村局局长**代萍**，营口市人民政府副秘书长**孙兴宁**等领导带队，包括市政府、市农业农村局、市农业综合发展服务中心、市农业综合行政执法队、市粮油饮食品产业中心、供销社、中国渔业互保协会辽宁营口分理处、市渔业协会、鲅鱼圈区政府、鲅鱼圈渔业渔民渔船管理局等相关单位领导参加博览会，并与中国渔业协会座谈，讨论营口海蜇节暨东北亚渔业博览会举办的相关事宜。

摘自中国渔业协会网站

饲料法规

完善饲料管理法律制度建设，提升饲料生产安全性

杜政

金华职业技术学院

摘要：法律法规是促进行业有序发展、维护社会稳定的重要基础和最高行为准则，具有不可替代的作用。饲料是畜牧产业发展的基础，我国畜牧业蓬勃发展，推动饲料产业的快速发展，与饲料相关的法律法规越来越受关注。饲料管理法律制度建设对规范饲料行业行为有重要意义，也是饲料行业利益和相关个体利益的重要保障。饲料管理法律制度建设关系着饲料生产安全和饲料工

业的健康发展。完善饲料法的立法及其安全体系建设是一项战略性任务。本文对饲料行业法律法规现状进行分析，了解我国饲料行业法律法规中存在的问题，并提出相应策略，完善饲料管理法律制度建设，健全法律体系，提升饲料生产的安全性。

关键词： 饲料管理; 法律制度; 饲料生产; 安全性;

Improve the construction of feed management legal system and improve the safety of feed
production

DU Zheng

Jinhua Polytechnic

Abstract : Laws and regulations play an irreplaceable role in promoting the orderly development of the industry and maintaining social stability. Feed is the basis of the development of animal husbandry. With the rapid development of animal husbandry in China, the laws and regulations related to feed are paid more and more attention. The construction of feed management legal system is of great significance to regulate the behavior of feed industry, and it is also an important guarantee for the interests of feed industry and related individual interests. The construction of feed management legal system is related to the safety of feed production and the healthy development of feed industry. It is a strategic task to improve the legislation of feed law and the construction of its safety system. This paper analyzes the current situation of feed industry laws and regulations, understands the existing problems of feed industry laws and regulations in China, and puts forward corresponding strategies to improve the construction of feed management laws and regulations, improve the legal system, and improve the safety of feed production.

Keyword: Feed management; legal system; feed production; safety;

我国现行的饲料法律法规体系中包含行政法规、国家法律、地方性法规或规章、农业部部令公告等，主体框架是农业部颁布的一系列部令公告和国务院行政法规。法律法规具有普遍的约束力，针对各行各业发挥约束、明示、矫正、预防等作用，规范相关行业行为，促进社会各行各业的稳定发展。饲料安全问题不仅关系畜牧养殖业的发展，也关系着人类自身的健康，世界各国纷纷立法，提升饲料生产的安全性，促进饲料产业的安全运行。目前，食品安全问题成是社会热点和焦点，影响动物性食品安全的直接、主

要因素是饲料安全。饲料安全是食品安全的重要组成部分。虽然我国不断提升饲料产品质量，加强饲料安全工作，但仍存在许多安全隐患。要不断完善饲料产业的相关法律法规，加强饲料管理法律制度建设，提升饲料安全管理水平，促进饲料产业健康有序发展。

1 饲料行业法律法规现状

1.1 饲料法律体系现状

二十世纪末期，西方发生饲料危机，对世界饲料行业产生影响，许多国家加强对饲料产业的立法。我国颁布了有关饲料和饲料添加剂管理的条例，主要规范饲料添加剂的使用，防止饲料添加剂可能导致的饲料污染，从而对动物产生不良影响。随后在 2001 年对此条例进行进一步修整。我国农业部制定了允许使用的饲料添加剂品种目录、等级记录管理办法、生产许可证管理办法等相关法律法规（石彩霞等，2018）。2004 年国务院颁布了《动物源性饲料产品安全卫生管理办法》，初步建立饲料管理法律法规体系，规范饲料行业及其安全生产工作，实现饲料产业有法可依。

1.2 饲料生产许可条件

在《饲料生产企业许可条件》中，对饲料生产的许可条件进行明确规定，加强饲料生产的许可管理（唐智坡等，2017）。在厂区和生产设备布局中，精料补充料、配合饲料、浓缩饲料的生产区使用面积，要求 $\geq 1000\text{ m}^2$ 。液态添加剂预混合饲料生产区，要求 $\geq 350\text{ m}^2$ 。固态添加剂预混合饲料生产区 $\geq 500\text{ m}^2$ 。同时要隔离生活区、办公区、生产厂区，科学有效处理生产、生活垃圾。对生产线与设备共用问题，规定生产设备与精料补充料、浓缩饲料不能共用。添加剂预混合饲料生产线需要单独设置（王美秀等，2017）。分别设立液态添加剂饲料、预混合生产固态生产车间，使用单独的设备，保障饲料安全。对生产复合预混合饲料、微量元素预混合饲料的饲料企业，混合机容积要求超过 0.5 m^3 ，生产能力不低于 2.5 t/h 。对于企业生产维生素预混合饲料的，产能不能低于 1.0 t/h 。

2 我国饲料行业法律法规中存在的问题

2.1 可操作性较差

目前，对于饲料质量的安全与管理规定，一些饲料安全保障法律法规制度比较概念和官方，内容不细致，相对笼统，条文的立据不充分。早期的法律法规制度时间较早，与现代化发展要求不适应，覆盖范围不全面（李平，2019）。随着市场经济的快速发展，早期的一些法律法规制度内容已经过时，与新的国际贸易体系也不符合，但尚没有改编修正的饲料法律法规体系以适应新的发展需求。在立法过程中，需要注意有很强的可操

作性、严谨性，需要细致有条理、严格有原则、科学有依据。权力职能、政治管理是立法相关的重要问题，在饲料安全立法中也需要对此进行明确。在法律制定上存在饲料安全漏洞，权力职能的管理存在不统一，饲料管理部门存在矛盾和重复。

2.2 立法安全标准差

饲料安全法律体系的深度、广度有待加强。饲料安全管理体系滞后，不能满足现代化发展，与饲料产业链相脱节。由于实际情况与饲料安全法规存在许多不统一，规范效果不到位，纰漏较多。甚至没有考虑现实中的饲料安全问题，凭空制定一些法律法规制度，缺乏现实基础，无法发挥应有的作用。法律法规的标准与现有实际饲料安全标准相脱节，导致实际产品安全标准的问题。另外，饲料法律法规立法不能与国际接轨。正常的农产品、饲料体系，按照国际标准需要每隔3~5年修订一次。我国饲料法规中，5~10年没有修订的大约有33.5%，10年以上没有修订的大约有37.7%。二十世纪我国颁布的有关饲料产业行业标准中许多内容没有达到修订标准，影响农产品的合格标准数量。进入二十一世纪，新确立的饲料产业新体系标准也远远不足，不能满足饲料生产的发展需求。

2.3 法规体系分级与权限模糊

在我国饲料产业发展中，立法的分级分类标准模糊是重要问题。国外饲料立法的分级标准对畜牧业生产标准有决定性影响。饲料标准决定畜产品产量。但由于我国饲料种类繁多，因种类制宜比较难，缺乏HACCP等质量认证管理技术。缺乏饲料产品的质量监控标准，以及相关的检测方法。饲料法律法规不配套，产品立法分级不清晰，影响饲料产业的安全化标准，不利于畜牧业产品的生产效率。在行使职能、确立标准、制定和解释饲料立法中，职能部门可能出现难以落实、执法不力等情况。国务院农业行政主管部门管理饲料添加剂、全国饲料，但没有明确地方管理饲料及添加剂，没有考虑地方组织机构、管理部门的差异。不能具体落实某部门的职责，条例比较笼统，容易出现管理失控。

2.4 饲料执法管理队伍执法力度不强

严谨的执法力度关系着各项法律法规制度的具体落实，虽然有明确的法律条文，但缺乏有效的饲料执法队伍，影响各项制度的执行，不能保证饲料生产的安全性。一些职业技能结构、学历结构等不合理，工作执行不规范，效果不理想。在饲料管理方面缺乏创造力，无法有效应对非法机构钻法律漏洞、饲料市场混乱等问题。从某种程度来说是

纵容违规，不安全的饲料产品严重威胁畜牧业的发展（[张艳，2019](#)）。除了执法工作不到位的问题，也有乱罚款、乱收费等问题，执法人员素质不高，违背执法原则，不利于饲料产业的正常运行。不能有效保护饲料企业和畜牧企业的合法权益，执法监管力度不足，即使有完善的立法规范，也不能保证饲料产业、畜牧产业的健康有序发展。

3 完善饲料管理法律法规保障饲料生产安全的策略

3.1 健全饲料生产管理相关法律法规

我国要健康健全饲料法的相关法规制度等，依据现实情况，完善法律制度，为扩大安全管理范围、提高执行力度、促进饲料行业监管奠定基础。可以借鉴国外先进经验，如美国有多个管理职能机构负责饲料质量管理、食品安全等。虽然美国各州对饲料产业管理体系有不同的法律，但又具有一致的认同性。各地方政府加强合作，贯彻落实饲料法律法规体系，提升美国饲料安全管理的公信度，饲料安全管理体系比较完善和合理。农户和畜牧业主体愿意与执法机构合作，形成良性循环，保障饲料生产安全，促进饲料生产与销售的合理合法。全美涉及饲料安全的立法，如《联邦肉类检查法》《禽类产品检查法》等有 30 多部，从各个环节保证安全性，为消费者提供安全的畜牧类食品。这些法律法规对畜牧业、农业、饲料业、批发商等的服务质量都有明确规范，形成严谨的饲料法律系统结构以及完善的饲料立法体系。我国也要完善饲料行业的相关法规，及时进行修正，满足市场经济发展的需求。

3.2 提高饲料管理法律法规的可操作性

对于饲料安全体系的建立，发达国家相对比较完善，在饲料法的规范下，建立饲料安全标准。加拿大的饲料产品检测办法比较完善，相关法规对饲料成品中有害物质、有毒物质的残余量、残留标准等都有严格规定。其饲料质量包括药物饲料添加剂、饲料添加剂、成品、原料等。对饲料中的各种化学物质、营养成分检测标准及检测方法也有明确规定。加拿大饲料产业标准经过国际认证，在饲料产品包装上会明确展示营养成分、添加剂剂量标准等。我国也有相关的法律法规，以及明确的安全标准体系，但相比加拿大的可操作性上有一定不足（[杨术环等，2019](#)）。因此，需要各部门实现行为的统一，执法标准思想的统一，提高法律法规的可操作性，加快饲料安全标准的完善，完善添加剂安全使用规范。坚持与时俱进，饲料法律法规体系与新形势下饲料行业的发展相适应。促进饲料安全卫生强制性标准的修订和完善，制订管理条例的细则及配套法规。严格实行市场准入制度，不断改进饲料检测方法，杜绝不安全饲料进入市场。

3.3 加快推行 HACCP 相关法规和质量控制

HACCP 是一种有预防性控制功能的体系, 全称为危害分析与关键控制点, 对饲料产品的安全生产管理有积极作用。目前, 许多国家已经应用 HACCP 管理, 甚至作为强制性管理模式, 加强生产全过程的事前控制。HACCP 管理从技术层面和安全法规规范体系层面帮助控制饲料生产过程中可能出现的危害。HACCP 管理是一种全新的质量保证系统, 有确认、分析、控制危害的作用。我国要改变饲料事后监督控制的管理制度, 推行 HACCP 管理。在饲料管理中, 加强事前管理, 规范饲料生产企业的行为, 消除不安全因素。对饲料生产管理推行实时监督, 将 HACCP 管理体系纳入饲料法律法规中, 研究分析饲料生产的关键控制点, 建立企业安全管理档案。制定监控和纠偏措施, 减少事后监督成本, 提高饲料生产效率, 与国际标准接轨, 促进饲料的安全生产。

3.4 加大饲料安全工作的支持与监管力度

提升饲料生产的安全性, 不仅需要完善饲料管理法律制度建设, 还要政府重视及加强监管。相关部门要熟悉饲料法中的相关规定, 能规范检测饲料产品, 监督饲料生产流程。要公平公正地执法, 把好饲料产品生产及销售环节。根据国际形势及技术的进步, 改善饲料产品的检测法规和检测技术。加大经费投入, 完善饲料检测基础设施, 保证饲料安全执法工作的顺利进行。增加饲料安全监管的专项经费, 积极推行饲料安全工程。严格执法, 对违规企业进行惩治。日本建立了严厉的制度处罚饲料安全违法行为, 首先政府会责成违规企业, 召回所有不合格产品。根据数量给予 1~3 倍的罚款。对于导致食品质量安全问题的饲料企业施行 3 年监禁, 100 万日元以上的罚款。我国需要加强执行力度, 增强执法透明性, 落实饲料法律法规监管, 促使饲料企业合法合规安全生产。

4 结语

饲料管理法律制度建设是世界各国关注的重要问题之一, 涉及范围广, 难度大。我国在饲料管理法律制度建设中也存在一系列问题, 如可操作性较差, 执法力度不强, 法规体系分级与权限模糊等。随着市场经济的发展, 我国要加强技术基础、管理机制理论的研究, 积极探索完善饲料管理法律制度的策略, 遵循市场规律, 遵循科学发展观, 完善法律法规体系, 提高其可操作性, 加强监管, 借鉴国外先进经验, 提高饲料生产的安全性, 促进饲料行业健康发展。

参考文献: 略

原文刊登在《中国饲料》2020,(14),118-121 DOI:10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.20201430

大口黑鲈营养需求及池塘养殖技术

萧鸿发 黄燕华

湖南农业大学动物科学技术学院 广东省农业科学院动物科学研究所农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室广东省畜禽育种与营养研究重点实验室

大口黑鲈原产于北美洲，是世界上重要的经济鱼类。20世纪70年代，我国台湾省开始从美国引种大口黑鲈进行养殖，1983年人工繁殖获得成功，并于同年引入广东省。经过多年的养殖发展，大口黑鲈的养殖区域遍布华南、华东、华中、西南等区域，其中广东省的养殖量最大，大口黑鲈已成为我国重要的淡水养殖品种之一。

一、大口黑鲈的营养需求

大口黑鲈属于肉食性淡水鱼类，养殖初期仍然以投喂冰鲜鱼为主，但这种投喂方式导致饵料利用率低，大量的残饵导致水质恶化比较严重，蓝藻暴发特别多。因此要进行健康、可持续的养殖，必须使用人工配合饲料来替代冰鲜鱼投喂。了解大口黑鲈的营养需求是研制出大口黑鲈营养均衡的全价人工配合饲料的前提与基础。

1. 蛋白质

蛋白质是鱼类生长和繁殖所必需的营养物质，能够维持生命活动中的基础代谢。一般认为大口黑鲈对饵料中蛋白质的需求量超过40%，对其最适蛋白质需求量研究仍具有一定的争议。研究表明，对于0~1龄的大口黑鲈，饲料干物质中39.9%~40.8%蛋白质含量即可满足其生长需求。不同规格的大口黑鲈所需的蛋白质含量不同，对于10克/尾左右的大口黑鲈幼鱼，其适宜的蛋白质需求量为45%~50%，而对于120克/尾左右的大规格大口黑鲈，其蛋白质需求量要在41%以上。大口黑鲈对饲料中的蛋白质含量需求因鱼体规格、生长时期和饲料中营养成分等的不同而变化。赖氨酸和蛋氨酸是组成蛋白质的氨基酸，对大口黑鲈蛋白质的代谢过程具有一定的影响，有学者试验得出，饲料中赖氨酸和蛋氨酸含量分别为2.8%和1.9%时，大口黑鲈的生长效果最佳。

2. 脂肪

脂肪是大口黑鲈所需的重要营养物质，有助于体内脂溶性物质的吸收和运输，为大口黑鲈的生命活动提供能量。过多的脂肪累积会引发鱼体组织和器官的病变和影响消化吸收能力，提供适宜的脂肪水平可以增强大口黑鲈的免疫能力和提高蛋白质的利用率，降低养殖成本。有关研究表明，23克/尾左右的大口黑鲈所需脂肪含量应大于6%。有研究者使用脂肪含量分别为7%、10%、16%、23%的饲料饲喂初重16.3克/尾大口黑鲈，

发现随着饲料中脂肪含量的增加,大口黑鲈的生长速度降低,并且鱼体中脂肪含量增加,体内脂肪转化效率下降。

3. 维生素和矿物质

维生素和矿物质是大口黑鲈生长发育必需的营养素,缺乏和过量都会影响鱼体的健康,适宜的量可以促进大口黑鲈生长性能、提高摄食能力和增强机体免疫力。维生素 A 和维生素 C 都是大口黑鲈必需的维生素。维生素 A 可以促进大口黑鲈的摄食,提高增重率、蛋白质利用率和转化效率;维生素 C 能提高大口黑鲈的存活率、生长性能和非特异性免疫能力,同时还能降低鱼体的应激,175 毫克/千克的维生素 C 就可以满足大口黑鲈幼鱼生长发育的需求。胆碱有助于大口黑鲈肝脏中脂肪的转运和吸收,有学者提出,大口黑鲈饲料中的胆碱适宜添加量为 0.9%,能保护肝脏代谢和降低脂肪肝发生概率。硒、铁、锌和锰等矿物质元素也在大口黑鲈生长中具有一定作用,在养殖大口黑鲈的过程中也应考虑,具体的适宜添加量未见报道。

4. 碳水化合物

饲料中碳水化合物主要来源于淀粉,大口黑鲈对淀粉的利用率极低,主要表现为大口黑鲈对碳水化合物的利用能力较低。当大口黑鲈摄入的碳水化合物超过一定限度时,其生长会受限制。有学者研究,用碳水化合物含量分别为 15%、19%、23%的饲料饲喂初始重 8.1 克/尾左右的大口黑鲈,发现碳水化合物为 19%组的大口黑鲈饲料系数最低,蛋白质效率、特定增长率和体质量增长率最高。大口黑鲈对饲料中碳水化合物的需求应在 20%之内,高碳水化合物会造成大口黑鲈肌肉脂肪沉积和肝脏损伤。淀粉的种类也会对大口黑鲈的生长和代谢具有一定的影响,有关试验表明,豌豆淀粉和高直链淀粉是大口黑鲈幼鱼饲料中适宜的碳水化合物来源。

二、国内主要养殖模式

经过多年的养殖推广,大口黑鲈在我国各地区以单养、混养等多种养殖方式进行养殖,广东地区的大口黑鲈与黄颡鱼混养模式和江苏高淳地区的蟹鲈混养模式均获得了较高的收益。广东顺德和南海地区主要进行高密度精养(6000~12000 尾/亩),江浙、四川和华中地区主要进行低密度精养(2000~5000 尾/亩),贵州和广西地区主要进行网箱养殖(100~150 尾/米²);小部分地区还进行水槽养殖(100 尾/米³左右)。具体该选择哪种养殖模式,要根据地区和已有的资源条件而定。

三、池塘养殖管理技术

1. 池塘条件

大口黑鲈塘口最适养殖面积为 5~20 亩，池塘呈长方形，东西走向，水深在 2~3 米为宜。池底平坦，淤泥厚度在 10 厘米左右；水源最好为淡水，清洁无污染，符合渔业水质标准；进排水方便。每个池塘最好配备增氧机 1 千瓦/亩(水车、轮式增氧机、涌浪机等搭配使用)，还需具有弧形围网和料台，最好具有排换水系统。

2. 放苗前准备



放苗前应做好杀灭敌害微生物、用有益菌稳定 pH 和培育饵料生物等工作，水温 10℃ 以上，溶氧 3 毫克/升以上，盐度 10 以下，pH 6~8.5。鱼苗下塘前 10 天用生石灰 50~75 千克/亩清塘，全池泼洒，杀灭病菌、寄生虫和野杂鱼等敌害生物。清塘后施有机肥，促进浮游生物繁殖，为鱼苗提供丰富的饵料生物。鱼苗下塘前一定要用少量鳊鱼和大口黑鲈苗进行试水，确定水质安全无毒害后再进行放苗。

3. 苗种的选择

好的苗种决定养殖的难易度和养殖效益，应当选择逆水游泳能力强、内脏健康、抢食凶猛和集群程度强的鱼苗进行投放。建议选择有知名度的苗场进行购苗，切勿贪图便宜。购买鱼苗时一定要选择不携带病毒鱼苗，大口黑鲈苗种携带最多的是虹彩病毒，要选择同一批次的苗种，避免自相残杀。

4. 放苗时间及密度

苗种的投放时间因地区不同而存在差异，江浙一带，大多在 3 月中旬到 4 月中旬投放大口黑鲈鱼苗，而广东地区由于气温回暖较快，一般集中在 2、3、4 月进行放苗。若

采取池塘主养模式，每亩放规格 4~5 厘米苗种 4000 尾左右，另外搭配大规格(500 克/尾以上)鲢鳙苗种 20~30 尾。养殖户可以根据自身养殖条件进行选择，比如水源、环境好的鱼塘可适当增加养殖密度，相对差的适当降低养殖密度。

5. 苗种驯化

大口黑鲈的苗种驯化需要一定的技术，主要是将苗种摄食动物性饵料(浮游生物)的习惯改为完全摄食人工配合饵料。在苗种规格为 4~5 厘米阶段时，应逐渐减少苗种原来摄食的饵料，增加人工配合饲料的量，7~10 天即可全部转投人工配合饲料。对于新手而言，建议直接购买驯化好的苗种。

6. 饲养管理

大口黑鲈食欲旺盛，一般幼鱼摄食量可达总体重的 50%，成鱼达 20%，高峰期体重每月以 50%速度增长，必须定时、定量投喂，保证供给足够的饵料，让个体较小的鱼也能吃饱。在投喂饲料时，一般采取“慢-快-慢”的方式进行投喂，即刚开始投放少量饲料诱导鱼集中摄食，鱼摄食快时投喂也快，到后面摄食减慢时投喂减慢，以不剩料为原则。每天的投喂次数与鱼体的规格相关，一般在 100 克/尾之前投喂 4 餐(6:30、10:30、14:00、17:00),100 克/尾以上投喂 3 餐(6:30、10:30、16:30)，等到 10 月捕第 1 批鱼后开始投喂两餐(7:00、17:00)，过年前捕第 2 批鱼后可投喂 1 餐(16:30)。饲料颗粒大小会影响鱼体摄食和消化，因此在鱼体不同的阶段应该投喂不同规格的饲料，表 1 列举了大口黑鲈各阶段投喂料号，供参考。

表1 大口黑鲈各阶段投喂料号

阶段	5朝	6~7朝	7~8朝	9~10朝	25~100克	100~200克	200~300克	300克以上
料号	0号	0号	0号	1~2号	3~5号	6~7号	7~8号	8~9号

7. 病害预防

大口黑鲈是很好养殖的一种鱼，养殖过程中如果管理得当，饲料过关，很少暴发疾病。大口黑鲈的疾病以细菌性疾病和寄生虫疾病为主，发生的病毒病主要为虹彩病毒病。为了预防疾病，大口黑鲈鱼苗下塘前应使用 3%~5%的食盐水浸浴鱼苗 10~15 分钟。每个月定期用生石灰进行水体消毒，保持适宜投喂量，防止水质污染，定期注入新水，保持水质良好。当疾病暴发时切勿慌张、滥用药，要根据不同类型的疾病对症下药，达到药到病除。

四、展望

由于大口黑鲈膨化配合饲料的重大突破，大口黑鲈养殖开始在全国推广。池塘养殖

是目前国内最普遍的养殖模式，在进行大口黑鲈池塘养殖时还存在以下问题。

1. 人工鱼苗技术未完全成熟，难以保证苗种的健康。
2. 池塘养殖基本设备简陋，设备设施有限，尾水对环境污染大，限制了大口黑鲈养殖发展。
3. 没有特别适合大口黑鲈摄食习惯和营养需求的高效人工配合饲料是目前养殖的最大瓶颈。因此在今后大口黑鲈养殖过程中应当加强鱼苗场建设，强化亲本选育工作；同时要优化养殖模式，对池塘进行改造、改建、增加基础设备，获取更好的养殖效益；最关键的是要加强适合大口黑鲈、经济高效的配合饲料的开发。

原文刊登在《科学养鱼》2020,(05),40-42

检验检测

福建省饲料检测需求分析

林焰

福建省产品质量检验研究院

摘要： 本文结合自身工作岗位和实践经验，分析福建省饲料检测市场需求，主要针对饲料产品质量风险、政策需求、客户需求等方面，为饲料产品检测机构应对检测市场变化提供实践依据。

关键词： 福建省; 饲料; 检测; 质量; 需求;

饲料行业是一个关系国计民生，联系种植业、养殖业和农副产品加工业的综合性工业门类。近年来，随着畜牧水产养殖业规模化、标准化的快速发展，福建省饲料工业的总产量持续稳定增长。目前全省饲料企业 330 多家，主要集中在福州、漳州、厦门地区。2015 年福建省饲料总产量达到 895.5 万 t，排名全国第十，与 2014 年同比增长 9.9%。饲料种类，按喂养的对象分为：畜用饲料、禽用饲料、渔用（水产）饲料；按饲料品种，细分情况见表 1。

1 饲料产品质量风险

饲料产品质量安全与人类的身体健康息息相关，近年来全国瞩目的食品安全问题，如三聚氰胺、苏丹红、黄曲霉毒素等都与饲料生产和喂养有很大的关系。饲料生产是食品安全的源头，因此，要把控好源头问题，才能控制好我们的餐桌问题。目前，由于饲料质量安全问题非常突出，这说明饲料检测的需求是非常大的。

1.1 饲料生产企业对进货原料把控不到位

饲料产品的生产工艺其实比较简单，主要就是将几种饲料原料按一定的营养配方比例进行粉碎、混合、制粒、挤压膨化。因此，原料的质量把控对饲料产品就非常重要。如果原料中主含量不达标、掺假或含有违禁添加物等就会造成饲料产品质量的安全问题。

可见原料把控是饲料生产安全的第一控制点。饲料企业在接收原料时要关注原料质量的把控，以免带入饲料产品造成成品不符合质量要求。目前饲料原料的质量问题有以下几个方面。

1.1.1 原料中主含量达不到要求

尤其对于一些多维、多矿物质等营养素添加剂，其主含量是否达到其标准要求将影响饲料产品的配比计算。如同样的两种维生素 A 明示均达到 99.5%，但实测结果可能就发生偏差，因此通过原料检测的方法很快就可以区分出两种原料的优劣。

1.1.2 原料掺假

近年来，三聚氰胺事件的发生，就是用三聚氰胺来代替蛋白成分加入饲料和食品中。三聚氰胺，俗称蛋白精，被用作化工原料，不允许添加到食品中。动物吃了含有三聚氰胺的饲料，在体内积累、无法代谢，从而“传递”到人体，严重影响人体身体健康。还比如鱼粉掺假，由于鱼粉是高价格产品，掺假的可能性较高，任何稍有化学知识的人，均可以经由鱼粉的混合，生产完全符合规格的产品。如果遇到不法商人，可能会掺用廉价劣等原料，鱼目混珠。鱼粉掺假的原料有血粉、羽毛粉、皮革粉、尿素系树脂、肉骨粉、虾粉、下杂鱼、不洁之禽畜肉、锯木屑、花生壳粉、粗糠、钙粉、贝壳粉、淀粉、糖蜜、尿素、硫酸铵、鱼肝油、鱼精粉、棉籽粕、蝙蝠粪、蹄角等。有些为了提高蛋白质含量，有些是当增量剂使用，有些是用来改变成品物性，有些是调整风味、色泽用，有些兼用数种用途，但大多是廉价而不能消化吸收之物质。可以通过感官鉴定和常规营养成分、氨基酸组成、新鲜度等分析检测来鉴别鱼粉优劣及是否掺假。

1.1.3 工业、贮藏污染

近年来，乳制品发现黄曲霉毒素超标。黄曲霉毒素 1993 年被世界卫生组织(WHO)的癌症研究机构划定为 1 类致癌物，是一种毒性极强的剧毒物质；黄曲霉毒素的危害性在于对人及动物肝脏组织有破坏作用，严重时可导致肝癌甚至死亡。据相关乳品企业表示，黄曲霉毒素来源于乳牛的饲料，因天气潮湿发生霉变，乳牛在食用这些饲料后，毒素无法代谢，积累在体内，造成原乳中的黄曲霉毒素超标。即使超量一点点，随着食物的摄入，慢慢在人体内积累也会致癌。事实上，黄曲霉毒素早前在饲料产品检测中就是容易不合格的项目。该毒素相当稳定，巴氏灭菌法也无法将其杀灭，所以检测黄曲霉毒素不仅要在饲料原料中检测，而且在最终产品中也需要进行监测把控。

表 1 饲料工业中的基本概念

名称	定义	种类
饲料	经工业化加工、制作的供动物食用的饲料	单一饲料、添加剂预混合饲料、浓缩饲料、配合饲料和精料补充料
饲料原料	除饲料添加剂以外的用于生产配合饲料和浓缩饲料的单一饲料成分	饲用谷物、粮食加工副产品、油脂工业副产品、发酵工业副产品、动物性蛋白质饲料、饲用油脂等
营养性饲料添加剂	用于补充饲料营养成分的少量或者微量物质	饲料级氨基酸、维生素、矿物质微量元素、酶制剂、非蛋白氮等
饲料添加剂	一般性饲料添加剂	为保证或者改善饲料品质、提高饲料利用率而掺入饲料中的少量或者微量物质
	药物饲料添加剂	为预防、治疗动物疾病而掺入载体或者稀释剂的兽药的预混物
		抗球虫药、驱虫剂类非抑菌促生长类等

1.1.4 有些原料具有天然有毒有害物质

如植物性原料中的生物碱、游离棉酚、单宁、蛋白酶抑制剂等，这类有毒有害物质对动物造成多种危害。因此，控制饲料质量安全，首先要控制原料质量。严格控制原料采购和接收，杜绝不合格原料进厂，确保原料符合相关质量标准。

1.2 超量、超范围使用药物饲料添加剂

为了能加快动物的生长发育，保证饲喂效果，存在超范围、过量使用药物添加剂的问题，如屡见的喹己醇中毒。多数药物添加剂本身有较强的毒性作用，如过量使用氯霉素（早已禁用）会损伤肝脏和造血系统，导致再生障碍性贫血和血小板减少；过量使用金霉素会导致过敏等。因此，在使用添加剂时，应按照农业部第 168 号公告《饲料药物添加剂使用规范》及农业部第 220 号公告的补充说明，规范控制添加药物添加剂。

1.3 原料投料比例把控

原料的投料比例没有控制好，会出现营养成分不合格，如维生素、微量元素、氨基酸等营养性添加剂含量过量或过少投入，都会造成饲养动物疾病或营养不良。原料的投放比例可能与原料本身的主含量是否达到标准要求也有关系。由于投料比例没控制好而造成饲料营养成分不合格的情况是日常委托检测中最容易发现不符合的因素。

1.4 使用违禁药物

近年来，耳熟能详的瘦肉精事件，就是违禁使用盐酸克伦特罗、莱克多巴胺、沙丁胺醇等激素。农业部第 176 号公告已明确规定《禁止在饲料和动物饮用水中使用的药物品种目录》，饲料生产企业应按公告要求禁止添加违禁药物，以免给动物及人类的身心健康带来威胁。

1.5 内控质量把控

一些小企业没有建立内控质量把控。虽然按饲料生产许可要求建立实验室，但事实

上形同虚设，并没有真正开展基础常规的检测，也没有制定风险质量把控的送检计划。这样的小厂怎么能控制好自身产品的质量可想而知。

1.6 标准体系完善及健全

1.6.1 我国的饲料工业标准化体系逐步健全

饲料产品标准基本停留在以往营养成分的项目检测上。随着科技发展，饲料产品的生产采用先进的生产工艺、新饲料品种及高科技饲料产品的出现，原有标准已无法满足新产品、新技术要求。如近年来出现的三聚氰胺问题，在之前饲料产品标准中都没有这一项目指标的检测要求。

1.6.2 企业标准水平较低

针对新产品和没有国家标准要求的产品，按规定企业需制定企业标准。但目前的企业标准都还存在以下问题：如标准中指标不全，不能完全体现产品的功能性能；产品指标定得过低，降低了产品中营养物质的含量；企业制标人员水平较低，常常会出现标准的结构、文字、术语、单位等没有按照国家相关标准规定要求编制。由于制定的标准低，必然产生企业生产出档次低的产品，无法对产品的质量性能起到很好的引导作用。

2 政策上的检测需求

随着饲料行业检测监管政策力度加大，2012年5月1日起实施的《饲料和饲料添加剂管理条例》（国务院609号令）规定：国务院农业行政主管部门负责全国饲料、饲料添加剂的监督管理工作。福建省饲料产品主管部门在省农业厅饲料兽药管理处（简称：省饲料办）。2012年7月1日起实施的《饲料和饲料添加剂生产许可管理办法》（农业部令2012年第3号）、《饲料添加剂和添加剂预混合饲料产品批准文号管理办法》（农业部令2012年第5号）和《新饲料和新饲料添加剂管理办法》（农业部令2012年第4号），对不同饲料种类的质量安全提出一系列分类管理的检测要求。

2.1 许可检测需求

所有饲料企业需取得生产许可证。对自身检测能力不足的企业，需委托经农业部备案的有资质的产品检测机构检测并提供委托检验协议书。农业部《饲料生产企业审查办法》现场审核第63项“现有仪器设备无法满足要求的，应与有资质的检测机构签订委托检验协议，并提供有效的委托检验报告”，同时要求年度备案需提交每季度的检测报告。

2.2 监管检测需求

2.2.1 投产前检测需求

对于申请饲料添加剂产品批准文号的，还应当提供省级饲料管理部门指定饲料检测机构出具的饲料添加剂主成分检测方法的验证报告。目前国家公布的饲料添加剂品种有 200 多种，其中已有国家或行业标准的也就 50 多种，也就是还有 150 多种的饲料添加剂需要制定企业标准方法的验证报告。

新饲料及新饲料添加剂在投入生产前，产品开发者或者生产企业需向农业部提出审定申请，其中涉及产品检测有几个方面：如需提供产品检测报告；农业部指定检测机构出具的产品有效性评价试验报告；同时在评审会议通过后，由评审委将样品送农业部指定检测机构进行质量复核，复核包括对标准复核和对样品检测，其中有最高限量要求的，还应当对申报产品的有效成分的检测方法进行验证等。

2.2.2 投产后检测需求

国务院农业行政主管部门和县级以上饲料监管部门，应定期或不定期实施饲料及饲料添加剂的监督抽查及质量安全监测；饲料、饲料添加剂监督抽查检测工作由国务院农业行政主管部门或者省、自治区、直辖市人民政府饲料管理部门指定的具有相应技术条件的机构承担。

饲料产品在没有相关国家标准的情况下，需制定企业标准。企业标准备案时需提交一份全项指标的符合性检验。同时农业部公告第 1849 号附件 1《饲料生产企业许可条件》有饲料产品混合机混合性能测试(混合均匀度)要求，需要现场在混合机的出口处取样，并在检测报告及原始记录中体现取样混合机型号、样品混合时间、混合样品批次、混合机所在生产线编号、取样人等信息，要求更全面。

3 客户检测需求

随着饲料监管及产品质量安全被重视，企业及养殖户对饲料产品的检测需求也在日益扩大，对内部质量控制要求也在不断加强。一方面作为企业的社会责任，需要自行控制其生产和销售的产品应该是合格品，应符合国家相关标准要求，杜绝生产危害社会及人类身心健康的产品。这就要求企业要定期对产品原料及成品进行必要的摸底试验；另一方面，饲料产品的相关政策法规也要求饲料生产企业要执行相应的内部质量把控，主管部门在办理生产许可证及年审、批文批号等都要求企业定期自检和提供型式检验的报告。

3.1 原料检测

饲料、饲料添加剂生产企业应当按照国务院农业行政主管部门的规定和有关标准，

对采购的饲料原料、单一饲料、饲料添加剂、药物饲料添加剂、添加剂预混合饲料和用于饲料添加剂生产的原料进行查验或者检验。按规定，采购不需行政许可的原料的，应逐批送检，每批产品都应该有质量合格的检验报告。若供应商无法提供检验报告的，企业也要对所购原料的主成分进行逐批送检。按规定，企业每 3 个月应当至少抽取 5 种原料，对其主成分及卫生指标进行自检或者送检。同时若采用委托送检方式，还应该索取和保存检测机构的计量认证证书及附表复印件。

3.2 企业自控检测

企业应当每周至少对其生产的 5 个产品的主要营养成分进行自行检验，按文件规定的要求：维生素预混合饲料至少检测两种以上维生素；微量元素预混合饲料至少检测两种以上微量元素；复合预混合饲料至少检测两种以上维生素和两种以上微量元素；浓缩饲料、配合饲料、精料补充料至少需要检测粗蛋白质、粗灰分、钙、总磷。以上自检项目都是按农业部文件要求需要自检或者委托送检的。

3.3 季度型式检验

企业应该在其生产的配合饲料、浓缩饲料、维生素预混合饲料等饲料产品中，每季度至少选择其中 1 种产品进行型式检验，并保存检验报告。

3.4 违禁添加物控制

饲料生产企业在生产饲料原料、添加剂及添加剂预混合饲料生产饲料时，应当遵守国务院农业行政主管部门的限制性规定。禁止使用国务院农业行政主管部门公布的饲料原料目录、饲料添加剂品种目录和药物饲料添加剂品种目录以外的任何物质生产饲料。同时需要控制添加剂添加比例，杜绝超范围、超量添加饲料添加剂。

3.5 摸底试验

针对供应方原料、终端客户反馈，适度开展摸底试验，实时监控产品的质量安全。针对经销商及客户的投诉或纠纷及时送检。

3.6 研发检测

企业成立研发部门，对新产品、新技术进行开发检测，制定企业标准和相关技术要求文件。

3.7 实验室比对

随着新饲料法规出台，要求饲料企业必须具备一定的检化验能力。尤其对预混合饲料及饲料添加剂企业有更高的检测能力要求，2012 年实施的农业部公告第 1849 号附件

1 《饲料生产企业许可条件》中规定：添加剂预混合饲料生产企业的检验化验室除配备常规检验仪器外，还应当配备高效液相色谱仪、原子吸收分光光度仪等专用检验仪器，同时实验室还应该按仪器室要求布局，高效液相色谱仪、原子吸收分光光度仪等仪器还不能共用一个房间。

新法规的发布对饲料生产企业的自检能力提出了更高的要求，保证产品在出厂检验后的符合性。但由于企业对维生素和微量元素等项目检测少、能力弱，因此在配备了这些仪器设备的同时，要定期开展实验室比对工作，减少试验数据误差，从而完善其实验室建设。

4 结语

综上所述，饲料检测需求随着饲料产品工艺的变化、政策引导及企业需求的变化而在不断调整变化中，作为饲料产品的检测机构，应积极应对检测市场的需求变化，调整检测服务理念，分析竞争压力，提升检测能力及服务水平，以满足不断变化的检测市场竞争。

原文刊登在《福建畜牧兽医》2020,42(03),47-50

科学进展

近年我国淡水鱼营养与饲料科学研究进展（上）

张震¹ 郝强² 周小秋³ 周志刚^{2*}

（1. 中国农业科学院饲料研究所农业农村部饲料生物技术重点实验室，北京 100081；2. 中国农业科学院饲料研究所中国-挪威鱼类消化道微生物联合实验室，北京 100081；2. 四川农业大学动物营养研究所，成都 611130）

摘要：淡水鱼养殖总产量占全国淡水养殖总产量的近 85%，是我国渔业经济的支柱产业。淡水鱼营养与饲料科技的进步支撑我国淡水鱼产业的健康可持续发展。同时，我国目前在进行养殖生产的淡水鱼类种类繁多。本文按照大宗淡水鱼、罗非鱼、名特优养殖鱼类等代表养殖品种在营养需求与原料利用、营养生理与代谢调控、肠道微生态与健康、功能性饲料、养殖环境、饲料加工和投饲技术等方面阐述在过去 5 年我国淡水鱼营养与饲料科学的研究进展，并对营养和饲料科学对淡水鱼产业发展的贡献进行总结及展望。

关键词：水产养殖，淡水鱼，营养与饲料，研究进展

1 我国淡水鱼养殖现状介绍

我国是全球水产养殖规模最大的国家，养殖产量占世界总产量的 57% 以上。2019 年我国水产养殖产量达 5079 万吨，其中鱼类产量占 53%。近年来我国淡水鱼产业发展迅速，2019 年的淡水鱼养殖总产量为 2548 万吨，占全国淡水养殖总产量的近 85%，是我国渔业经济的支柱产业。同时，我国淡水鱼类种类繁多，达到 900 余种，目前在进行养殖生产的鱼类（包括引进种类）近 100 种，其中养殖产量过百万吨的有：草鱼、鲢鱼、鳙鱼、鲤鱼、鲫鱼、罗非鱼等。淡水鱼是我国主要的水产养殖品种，是我国食品安全的重要组成部分，也是主要的动物蛋白质来源之一，在我国人民的食物结构中占有重要的位置。

近几十年来，我国水产养殖业发展迅猛，取得了举世瞩目的成就，这在很大程度上得益于中国水产动物营养与饲料科技的进步和水产饲料工业的发展。2019 年我国水产饲料的总量达到 2202.9 万吨。饲料成本占鱼类养殖成本的 60%—70%，因此饲料成本控制是提高养殖鱼类经济效应的关键，这需要充分利用饲料，增强饲料的作用效果，包括：精确定义鱼类的营养需求，拓展廉价高效的原料来源；明确鱼类生理代谢规律，提高鱼类对饲料（高脂、高糖、低蛋白、高抗营养因子等）的耐受力；加深鱼类肠道菌群功能研究，开发鱼类适用的微生态制剂；开发功能性饲料；以及改善鱼类养殖环境和饲料加工和投饲技术的水平等方面。我们将依据上面几点，分别按照大宗淡水鱼（草鱼、鲢鱼、鳙鱼、鲤鱼、鲫鱼、鳊鱼、青鱼）、罗非鱼、名特优养殖鱼类（大口黑鲈、黄颡鱼、长吻鮠、黄鳝、鳊鱼、乌鳢、鲟鱼、鲢鱼、鳙鱼）等代表养殖品种阐述在过去 5 年我国淡水鱼营养与饲料科学的研究进展。

2 大宗淡水鱼营养与饲料科学研究进展

2.1 大宗淡水鱼营养需求与原料利用

草鱼（*Ctenopharyngodon idella*）是一种草食性经济鱼类，是世界上养殖产量最大的水产养殖品种，2019 年我国养殖产量超过 550 万吨。Jing Xu 等利用 6 种不同粗蛋白水平（16.9% – 36.6%）的等能饲料投喂草鱼发现，适宜的饲料蛋白水平有利于维护肠道健康，提高草鱼生长性能，并进一步发现适宜的饲料蛋白水平通过提高肠道内抗菌肽生成、降低促炎因子表达、促进抑炎因子表达来增强肠道紧密连接和抗氧化能力，从而维护肠道健康；依据二次回归模型，以草鱼生长性能为指标，最适饲料粗蛋白水平为 28.6%，以抗肠炎发病率为指标，最适饲料粗蛋白水平为 29.2%。Jiao Li 等研究同样表明，饲料

粗蛋白水平为 29.61%时，草鱼摄食率最高、生长性能最优，而过高的饲料粗蛋白水平（44.29%）反而抑制鱼体摄食和增重，降低机体糖脂代谢水平。草鱼虽是草食性动物，但摄食适量鱼粉不仅会提高其生长性能，而且有利于维护其健康水平。而且，研究发现使用鱼溶浆粉完全替代饲料中 6% 的鱼粉，草鱼增重率显著增加、饲料系数显著降低，效果优于鱼粉，这与其含有更高水平的游离赖氨酸、牛磺酸和腐胺有关。豆粕是目前草鱼饲料中主要植物蛋白源，在含 60% 豆粕饲料中，蚕豆粕可以替代 45% 的豆粕而不影响草鱼的生长性能，而更高水平的替代（60%）则会显著降低草鱼增重率、肠道消化酶活性和机体抗氧化能力。豆油是饲料中最常用的油脂来源之一，在等氮等脂（粗蛋白水平 32%，粗脂肪水平 5%）饲料中，使用黑水虻油完全替代饲料中 2.4% 的豆油不会影响草鱼的生长性能，还提高其抗氧化能力和增加了肠道菌群多样性。饲料中适宜的矿物质含量对草鱼健康生长非常重要，饲料中磷、锰、镁、铁等矿物元素缺乏或过量均会影响草鱼的生长性能、机体免疫机能和抗氧化能力。

鲤鱼（*Cyprinus carpio*）是一种底栖杂食性经济鱼类，也是具有养殖品种最多的鱼类之一，包括建鲤、福瑞鲤、松浦镜鲤、荷元鲤等，2019 年我国养殖产量超过 288 万吨。对建鲤（*Cyprinus carpio* var. Jian）的研究发现，在鱼粉含量为 10% 的饲料中，使用蚕蛹粉替代 50% 的鱼粉对鱼体生长性能没有显著影响，而替代比例为 60% 或更高时，鱼体生长性能下降，还会引起肝脏超氧化物歧化酶活性下降、肝脏丙二醛含量上升以及血清谷丙转氨酶活性上升，导致抗氧化能力下降和肝脏损伤。对于镜鲤（*Cyprinus carpio* var. specularis）的研究同样发现，在鱼粉含量为 10% 的饲料中，酶解脱脂蚕蛹蛋白适宜的替代比例为 50%。鲤鱼日粮中豆油的替代原料也被广泛研究，尤其是昆虫类因富含脂肪而备受关注。在豆油含量为 2.5% 饲料中，使用黑水虻油完全替代豆油，对建鲤（*Cyprinus carpio* var. Jian）的增重和肌肉内总脂肪含量没有显著影响，而且还降低腹腔脂肪积累和增加肌肉内 DNA（22:6n-3）的含量。在豆油含量为 3.0% 饲料中，使用蚕蛹油完全替代豆油同样对建鲤增重率没有显著影响，但是替代比例为 50-75% 时，鱼体不仅增重率显著提高，肝脏内脂肪含量也显著下降，而且组织内 n-3 PUFA 含量显著增加。

鲫鱼（*Carassius auratus*）是一种底栖杂食性经济鱼类，主要养殖品种包括异育银鲫、湘云鲫、彭泽鲫等，2019 年我国养殖产量超过 275 万吨。Biao Yun 等通过 41 周的投喂实验，利用 Richards 非线性生长模型得到异育银鲫（*Carassius auratus gibelio*）的最适

饲料粗蛋白水平是 40%。Xuhui Zhang 等研究发现, 在鱼粉含量为 10%的饲料中, 发酵辣木叶 (*Moringa oleifera* Lam.) 替代 40%鱼粉不会影响异育银鲫的生长, 而 60%的替代则会显著抑制异育银鲫的生长。还有研究表明, 在以鱼粉为主要蛋白源的饲料中 (饲料中含量>50%), 单独使用小球藻粉或者小球藻粉和菜籽饼粕混合物均完全替代鱼粉而对异育银鲫的生长性能没有负面效应。由于饲料中植物蛋白源的大量使用, 需要额外补充必需氨基酸满足鱼体的健康生长需要, 异育银鲫对于蛋氨酸、亮氨酸需求量也均已报道。

青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 是一种肉食性经济鱼类, 是我国传统的养殖鱼类之一, 2019 年养殖产量为 67.9 万吨。对青鱼的研究发现, 在鱼粉含量为 20%、豆粕含量为 15%的饲料中, 使用棉籽粉替代豆粕的比例达到 75%时, 投喂 8 周后对鱼体增重仍没有显著负面影响, 但是肠道淀粉酶和脂肪酶显著下降, 血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶的显著升高。Chenglong Wu 等研究表明, 在粗蛋白水平为 39.96%、粗脂肪水平为 5.49%的饲料中适宜含量的亮氨酸可以提高青鱼的食欲, 提高青鱼的生长性能; 依据二级多项式模型, 以青鱼的增重率和饲料系数为指标, 饲料中亮氨酸最适添加量为 23.5 – 23.9 g/kg。陈炼等研究表明, 饲料中适宜含量的维生素 A 可以提高青鱼的生长性能、抗氧化能力和非特异性免疫反应; 依据折线模型, 以鱼体增重率为指标, 饲料中维生素 A 最适添加量为 2246.64 IU/kg。青鱼分别投喂不同碳水化合物水平 (0.06% – 47.38%) 的 6 种等氮饲料 9 周, 饲料碳水化合物为 28.84%时, 鱼体的增重率和特定生长率显著优于其他组, 进一步检测发现, 相对于对照组 (0.06%) 鱼体肝脏糖酵解和糖异生酶活显著升高, 并且增强了胰岛素和生长激素等相关基因的表达; 依据二级多项式模型, 以青鱼的增重率为指标, 饲料中碳水化合物最适水平为 24.98%。

鳊鱼在我国是包括长春鳊 (*Parabramis pekinensis*)、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)、三角鲂 (*Megalobrama terminalis*) 等在内鲂鳊属鱼类的统称, 2019 年我国养殖产量超过 76 万吨。已经有学者就团头鲂对蛋白质、必需氨基酸、脂肪、碳水化合物、维生素和矿物质等的营养需求进行了总结和研究。对团头鲂的研究发现, 在鱼粉含量为 15%的饲料中, 使用棉籽粉替代 25%的鱼粉对鱼体生长性能没有显著影响, 而替代比例为 50%或更高时, 鱼体生长性能下降, 替代比例达到 75%时, 肝脏内游离棉酚的含量显著升高。团头鲂摄食脂肪源分别为鱼油、亚麻籽油、大豆油、菜籽油、椰子

油、牛油的 6 种等氮等能（粗蛋白水平 33%，粗脂肪水平 8%）的饲料 9 周，各组在鱼体增重率和饲料效率上均没有显著差异，但是鱼油组和亚麻籽油组鱼体肌肉和肝脏内 EPA（20:5n-3）和 DHA（20:6n-3）含量显著高于其他组，说明在团头鲂饲料中亚麻籽油是鱼油合适替代物。Bing-Ke Wang 等的研究同样表明，摄食鱼油组、豆油组或者棕榈油组的团头鲂在增重率和饲料系数上没有显著差异，但是与鱼油组相比，摄食豆油组和棕榈油组团头鲂肌肉和肝脏内 EPA（20:5n-3）和 DHA（20:6n-3）含量显著降低。Li Zhang 等研究表明，在团头鲂的饲料中，相比于使用 20% 生淀粉，使用 20% 预糊化淀粉可以显著提高肝脏葡萄糖转运、糖酵解、脂合成等相关基因表达，并提高鱼体糖耐受能力，但是肝脏糖异生和脂肪酸氧化等相关基因的表达被抑制。

2.2 大宗淡水鱼营养生理和代谢调控

蛋白质、脂类和糖类是鱼类的三大营养物质，同时都具有重要的生理功能。蛋白原料是其中成本最大，而且是最重要的组分。由于优质蛋白原料鱼粉的资源缺乏、价格高昂，开发低蛋白（或低鱼粉）日粮，寻找替代蛋白源，以及开发高能（高脂、高糖）饲料成为水产饲料开发的普遍关注点。但与此同时，由于饲料中氨基酸不平衡、抗营养因子水平增加、能量水平过高等原因引起的鱼类生理健康状况以及代谢调控的变化需要格外引起关注。

无鱼粉或低鱼粉饲料中补充特定氨基酸来提高饲料利用效率是实现水产饲料中替代鱼粉的重要途径。Yu-Jie Gao 等研究表明，在无鱼粉的半纯化饲料中补充组氨酸不仅可以提高草鱼的生长性能，还增强其抵抗低氧胁迫的能力，依据二次多项回归分析，以鱼体增重率和饲料系数为指标，草鱼饲料中组氨酸适宜含量为 1.21%。Yu-Wen Dong 等研究表明，饲料中苏氨酸（实际水平 3.99 g/kg）缺乏，降低草鱼对柱状黄杆菌（*Flavobacterium columnare*）的抵抗力，增强烂鳃病发生率。在鱼粉含量为 7.8% 和酪氨酸含量为 1.07% 的饲料中补充适量苯丙氨酸可以显著提高草鱼肠道消化酶（蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶）、碱性磷酸酶、以及 Na-K-ATP 酶的活性，提高肠道消化和吸收能力，从而显著提高鱼体的增重率，依据二次回归分析，以鱼体增重率为指标，草鱼饲料中苯丙氨酸适宜含量为 1.04%。饲料中补充适量谷氨酸不仅可以显著提高建鲤增重率、降低饲料系数，还可增加肌肉内蛋白和脂肪的含量，改善鱼体肌肉品质。对于团头鲂，与摄食鱼粉对照组饲料（5%）相比，摄食无鱼粉饲料（使用 5% 大米蛋白粉替代）8 周后，

肝脏 GH-IGF 信号通路被显著抑制，鱼体增重率显著下降；而在无鱼粉饲料补充有效含量为 1.52 g/kg 的赖氨酸后，团头鲂肝脏 GH-IGF 信号通路、TOR 信号通路以及肌肉生成通路均被显著激活，鱼体增重率显著提高。张晓清等研究表明，在等氮等能饲料中，与摄食含 5% 鱼粉的饲料相比，摄食无鱼粉（全植物蛋白源）饲料的建鲤增重率、体蛋白沉积和肠绒毛高度均显著下降，而在无鱼粉饲料中补充蛋白酶（碱性丝氨酸肽链内切酶，175 mg/kg）可以增强鱼体对饲料蛋白的消化率，提高鱼体的生长性能。棉酚是棉粕的一种主要抗营养因子，Kai-zhuo Wang 等研究表明，棉酚通过抑制草鱼肠道对氨基酸的吸收，从而抑制鱼体生长，依据折线模型，以鱼体增重率或者饲料效率为指标，饲料中棉酚最高含量分别为 182 mg/kg 和 179 mg/kg。植酸（肌醇-6-磷酸酯）是一种广泛存在于植物原料中的抗营养因子，L.W. Liu 等研究表明，饲料中植酸含量超过 4.7 g/kg 时即能显著抑制了草鱼对氨基酸和矿物元素的表现消化率，从而显著抑制鱼体增重。

饲料中适宜水平的脂肪可以起到促进鱼类生长、节约饲料蛋白的作用，而饲料脂肪水平过低或过高均会引起鱼体代谢和免疫机能紊乱，引起组织器官受损。Xiaochen Yuan 等利用 5 种等蛋白（26%）但含有不同脂肪水平（0.53%–8.83%）的饲料投喂草鱼 8 周发现，饲料脂肪水平由 0.53% 增长为 4.35% 时，鱼体增重率、饲料效率、蛋白质效率显著增加；而饲料脂肪由 4.35% 增至 8.83% 时，鱼体增重率、饲料效率、蛋白质效率反而显著下降，没有显示节约蛋白效应，而且导致脂肪组织蓄积，血清胆固醇、血脂水平显著升高。Pei-Jun Ni 等利用 6 种等蛋白（30%）但含有不同脂肪水平（0.59%–8.01%）的饲料投喂草鱼 9 周发现，适宜饲料脂肪水平（3.60%–5.02%）显著提高草鱼增重率和摄食率；而与适宜饲料脂肪水平相比，过低（0.59%）或过高（8.01%）饲料脂肪水平均会显著抑制嗜水气单胞菌感染后鱼体头肾、脾脏、皮肤等组织器官的溶菌酶、酸性磷酸酶、补体和 IgM 的产生水平，显著增加草鱼皮肤出血和损伤的发生率。在粗脂肪水平为 6% 的饲料中，通过替代猪油补充花生四烯酸（使占饲料脂肪酸总量为 5.19%）可以显著抑制草鱼肝脏脂合成相关基因表达以及促进脂质分解基因的表达，从而降低肝脏内脂肪的积累，而在饲料添加花生四烯酸的基础上，继续添加 0.1% 的乙酰水杨酸则会显著抑制脂质分解相关基因的表达，抑制花生四烯酸降肝脂的功效，导致肝脂积累。在粗脂肪水平为 6% 的饲料中，补充适量的脂肪酶（1193 U/kg）同样可以显著提高草鱼生长性能。

碳水化合物是动物体重要的能量来源，而且相对于蛋白质和脂肪更为廉价。鱼类可以利用饲料中的碳水化合物，起到节约饲料蛋白和脂肪作用，但是鱼类对碳水化合物没有特定的需求，而且存在利用限制。鱼类对饲料中碳水化合物利用受多种因素的影响，包括鱼的种类、添加碳水化合物的水平、碳水化合物来源及其加工工艺等。Wenjing Cai 等利用 3 种等蛋白（32%）但含有不同碳水化合物水平（15.9%，21.21%，45.45%）的饲料投喂草鱼 8 周发现，摄食高水平碳水化合物（45.45%）后，鱼体糖酵解效率升高，产生充足脂合成的中间产物，导致鱼体脂肪蓄积，进一步诱导机体瘦素的产生，从而抑制草鱼的食欲，使草鱼的摄食量显著下降，导致鱼体增重率、饲料蛋白质效率均显著低于低水平（15.9%）和中水平（21.21%）碳水化合物组；而低水平碳水化合物组由于需要更多的饲料蛋白质分解用于机体供能，所以其饲料蛋白质效率同样显著低于中水平碳水化合物组。Rui-Xin Li 等利用 3 种不同糖脂比（1.52，5.84，34.84）的等氮等能的饲料投喂草鱼 8 周发现，长时间的高糖脂比饲料适应后，草鱼可以通过增强鱼体糖酵解酶葡萄糖激酶 GK 活性和糖原合成来提高草鱼的糖耐受能力。青鱼分别投喂不同碳水化合物水平（0.6 g/kg – 473.8g/kg）的 6 种等氮饲料 9 周，饲料碳水化合物为 288.4 g/kg 时，鱼体的增重率和特定生长率显著优于其他组，并且相对于对照组（0.6 g/kg），显著提高了肝脏内超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性，显著提高了血清内溶菌酶活性和补体含量，增强鱼体抗氧化能力和抵抗嗜水气单胞菌（*Aeromonas hydrophila*）的能力。

2.3 大宗淡水鱼肠道微生态与健康

鱼体肠道内有着种类丰富的微生物，组成一个高度复杂且动态的微生态系统，对宿主的营养代谢和免疫功能发挥着重要的影响。鱼类肠道微生物的组成受多种因素的影响，主要包括宿主因素（遗传背景、性别、年龄等）、环境因素（水源、食物、药物等）、微生物因素（粘附力、代谢方式、细菌素等）。Gang Yang 等研究发现，对于摄食黑麦草（ryegrass）的草鱼，不同肠道区系的肠道菌群存在明显不同，前肠和中肠优势菌群在门的水平上主要是变形菌门、厚壁菌门、放线菌门，而在后肠中拟杆菌门和梭杆菌门的丰度显著升高，优势菌群为变形菌门（26.7%）、厚壁菌门（24.7%）、梭杆菌门（19.0%）、拟杆菌门（23.7%）。Yao Tong Hao 等同样发现，草鱼分别摄食鱼粉（高蛋白低纤维）、配合饲料和苏丹草（低蛋白高纤维）3 种饮食后，草鱼后肠菌群在门的水平上主要是梭

杆菌门、变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门等；鱼粉组后肠丰度最高的是梭杆菌门(76.1%)，而配合饲料组和苏丹草组的草鱼后肠中丰度最高的是厚壁菌门(分别为 52.0%和 54.5%)，梭杆菌门的丰度均显著降低(分别为 6.0%和 4.1%)。Lei Zhou 等研究表明，摄食配合饲料的草鱼使用嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)进行攻毒，中肠肠道组织进行病理切片观察发现，攻毒 12 h 后出现肠绒毛出现损伤症状，在攻毒 6-9 d 时肠绒毛变形、脱落，损伤最严重，与此对应的，肠道菌群检测发现，攻毒前的肠道优势菌主要是变形菌门、梭杆菌门、厚壁菌门、拟杆菌门，而在攻毒 6-9 d 后，梭杆菌门的丰度显著下降，而拟杆菌门和厚壁菌门的丰度显著升高。Hao Cui 等研究表明，异育银鲫的饲料中添加 3%岩藻多糖(来源于裙带菜)显著提高鱼体增重率、肠道消化酶活性、以及中后肠中杯状细胞的数目，同时还发现异育银鲫肠道优势菌群在门的水平上主要是梭杆菌门、变形菌门、拟杆菌门，而在饲料中添加 3%岩藻多糖后，在门的水平上梭杆菌门丰度显著升高，变形菌门丰度下降，在属的水平上，鲸杆菌属(*Cetobacterium*)和气单胞菌(*Aeromonas*)属丰度显著增加，邻单胞菌属(*Plesiomonas*)丰度显著下降。鳙鱼(*Hypophthalmichthys nobilis*)后肠肠道内优势菌在门的水平上主要是变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、梭杆菌门、蓝藻细菌门，而在鱼体暴露于 13.99 mg/L 重金属铅后，肠道出现白细胞浸润、杯状细胞显著增多以及炎症基因显著高表达，同时肠道内变形菌门和拟杆菌门的丰度显著增加，而梭杆菌门、蓝藻细菌门、厚壁菌门的丰度显著下降。团头鲂早期发育阶段需要经历食性转变，由肉食性(主要以浮游动物为食)转变为草食性(主要以浮萍、苦草、黑藻等水生植物为食)，研究表明与动物浮游饵料期相比，饵料过渡期和草食期的鱼体肠道内梭杆菌门的丰度显著降低，变形菌门和放线菌门的丰度显著上升。

2.4 大宗淡水鱼功能性饲料

功能性饲料添加剂能够提高养殖鱼类的生长性能，改善鱼体免疫调控能力，增强其抗病(细菌病、病毒病、寄生虫病)和抵抗来自养殖环境和饲料的应激。提升草鱼的肌肉品质与口感成为草鱼养殖中一项重要的研究内容，饲料中补充适量的杜仲(*Eucommia ulmoides*)来源的活性物质，包括槲皮素、绿原酸、槲子苷、槲子酸等不仅可以显著提高草鱼增重率，还可以通过降低肌肉内脂肪含量、增加肌肉内胶原蛋白含量、增加肌肉内美味氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸)的含量、增加肌肉纤维密度等改善鱼体肌肉品质。饲料中补充二甲基- β -丙酸噻亨氢溴酸盐 Br-DMPT 和核苷酸可以通过

增加草鱼肌肉中鲜味氨基酸（天冬氨酸、谷氨酸）和甜味氨基酸（丝氨酸、丙氨酸和甘氨酸）和多不饱和脂肪酸（EPA、DHA）的含量来改善肌肉营养价值和风味。Shenping Cao 等研究表明，饲料中添加 500 mg/kg 大豆异黄酮不仅可以提高草鱼的生长性能，还增强鱼体免疫应答，提高对嗜水气单胞菌的抵抗力。

Zhi Luo 等研究表明，饲料中添加 4% 小球藻粉可以通过调控中枢神经系统与摄食相关基因的表达来增强鲫鱼的食欲，提高鱼体增重率，并且降低饲料系数。饲料中补充黄芪多糖、姜黄素、紫松果菊（*Echinacea purpurea*）、苹果酸和柠檬酸均可以增强鲫鱼（*Carassius auratus*）肠道消化酶活性，增强鱼体抗氧化能力，从而提高鱼体的生长性能。饲料中补充牛磺酸、茶多酚均可以增强青鱼肠道消化酶活性，增强鱼体抗氧化能力，从而提高鱼体的生长性能。团头鲂饲料中添加 0.50 mg/kg 酵母硒和 50 mg/kg 茶多酚不仅提高团头鲂的生长性能，还通过增强鱼体抗氧化能力从而提高其对亚硝酸盐的耐受。

2.5 大宗淡水鱼养殖环境、饲料加工和投饲

鱼在特定的水体环境中生活，水的好坏直接影响着鱼的生长性能与健康水平。与传统池塘养殖相比，池塘内循环流水槽养殖系统（又称“跑道鱼”）内养殖的草鱼肌肉硬度增加、肌肉内水分和脂肪含量降低、呈味氨基酸和多不饱和脂肪酸含量升高，显著改善鱼体肌肉品质。氨氮水平是影响鱼体生长的重要环境因子，在相同养殖系统内，当水温由 19°C 升高至 29°C 时，草鱼对饲料蛋白利用率下降，排泄的氨氮显著升高。充足的碳源可以显著提高生物絮凝剂去除水中氨氮的效率，Guangjun Wang 等研究表明在零换水条件的池塘中，当水体 C/N 比大于 15 时，生物絮凝剂可以显著降低池塘中氨氮水平，而且使用生物絮凝剂替代饲料 10% 蛋白源还可以提高鲫鱼的生长性能和抗氧化能力。Han-Dong Li 等同样表明，池塘水体直接添加生物絮凝剂，可以将异育银鲫（*Carassius auratus gibelio* var. CAS III）的饲料蛋白水平由 34% 降至 24% 而不影响鱼的存活率和增重率，而且当饲料蛋白降为 29% 时，鱼体增重率显著增加和抗氧化能力显著增强。镉（Cd）是水体中广泛存在重金属污染物之一，可以在鱼体组织内逐步积累而引起食品安全风险，Yanan Cai 等研究表明异育银鲫暴露于含镉水体中 30d，低水平的镉（1 mg/L）可以显著提高鱼体摄食率和增重率，而高水平的镉（2 mg/L、4 mg/L）则会显著抑制鱼体摄食率和增重率。

利用 5 种糖源（小麦、大麦、玉米、白高粱、木薯）制作膨化饲料投喂大规格草鱼（ 400.77 ± 7.45 g）发现，饲养 16 周内玉米组草鱼的增重率和蛋白质效率最低，而越冬实验期（16 周）后，大麦组草鱼的体重损伤率最大，所以在膨化工艺条件下，小麦、木薯和白高粱是大规格草鱼适合的糖源。Ruiqiang Zhang 等研究表明，基础饲料基础上添加 2% 坡缕石（Palygorskite 又称凹凸棒石）可以显著提高饲料制粒量、降低细粒率、增加饲料淀粉的糊化程度和节省能耗，而且投喂团头鲂 6 周发现，与不添加坡缕石相比，生长性能没有显著差异。对异育银鲫研究发现，低鱼粉（3%）饲料基础上添加 150-175mg/kg 蛋白酶，如果制作成颗粒饲料（ 80 ± 5 °C, 10 – 15 s）投喂异育银鲫 12 周，可以显著提高其对粗蛋白的消化率和鱼体增重率，而如果制作成膨化饲料（ 110 ± 5 °C, 10 – 15 s）则使蛋白酶失去促消化和促生长作用。钟娟等研究表明，与每天连续投喂相比，投喂 6 d 后饥饿 1 d 或者投喂 5 d 后饥饿 2 d，草鱼通过显著提高投喂期的摄食率获得补偿生长，增重率没有显著差异，而投喂 4 d 后饥饿 3 d 虽然投喂期摄食率显著上升，但是增重率显著下降。Yebing Yu 等研究表明，与每天连续摄食添加凝结芽孢杆菌（*Bacillus coagulans*）的饲料相比，摄食 5 d 基础饲料后再摄食 2 d 含凝结芽孢杆菌饲料的异育银鲫在生长性能上没有显著差异，且鱼体抗氧化能力更强。在摄食频率为 3 次/d 条件下，团头鲂摄食率为 4%-5% 时显著提高鱼体肠道消化酶活性、增强对饲料利用率、促进生长相关基因（生长激素基因 GH、胰岛素样生长因子 IGF-1）的表达，从而提高其生长性能；根据折线模型，以特定生长率为指标，团头鲂最佳摄食率为 4.57%。

摘自水产饲料创新团队微信公众号（待续）

科学研究

虾青素对大鳞副泥鳅生长、饲料利用、体色及基因表达的影响

刘明哲 姚金明 赵静 夏长革 牛小天 王桂芹

吉林农业大学动物科学技术学院 吉林农业大学图书馆 吉林省长春市新立城水库管理局 吉林农业大学动物生产及产品质量安全教育部重点实验室 吉林农业大学现代农业技术教育部国际合作联合实验室 吉林农业大学吉林省动物营养与饲料科学重点实验室

摘要：为探讨虾青素（Astaxanthin）对不同体色大鳞副泥鳅（*Paramisgurnus dabryanus*）生长、饲料利用、体色及相关基因表达的影响，采用 2×2 试验设计，配制等能（17.7 MJ/kg）、等氮（35.7% CP）且虾青素添加量分别为 0 mg/kg 和 150 mg/kg 的试验饲料，以初始体重为（ 11 ± 0.70 ）g 的黑褐色和金黄色大鳞副泥鳅为试验对象，分 4 组（I 组（对

对照组)：黑褐色×0 mg/kg、II组(添加组)：黑褐色×150 mg/kg、III组(对照组)：金黄色×0 mg/kg、IV组(添加组)：金黄色×150 mg/kg)，每组3重复，每重复50尾，分别投喂2种试验饲料，养殖周期为60 d。结果表明，饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅平均增重率(WG)、特定生长率(SGR)、饲料效率(FE)和蛋白质效率(PER)均有显著性影响，其中II组和IV组的WG、SGR、FE和PER均显著高于I组和III组($P < 0.05$)，而I组和III组、II组和IV组之间的WG、SGR、FE和PE均无显著性影响。饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤组织中的类胡萝卜素含量和黑色素含量均有显著性影响，其中IV组的类胡萝卜素含量最高，显著高于其他各组($P < 0.05$)；而黑色素含量与之恰恰相反，IV组黑色素含量显著低于其他各组($P < 0.05$)。饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中SOX10和MITF基因表达量均有显著性影响，IV组的皮肤和肌肉组织中SOX10和MITF的mRNA表达量显著低于其他各组($P < 0.05$)，同时各组SOX10在肌肉组织中的mRNA表达量均显著低于皮肤组织的表达量($P < 0.05$)，MITF在肌肉组织中的mRNA表达量则均显著高于皮肤组织的表达量($P < 0.05$)。体色与虾青素二者交互作用对两种体色大鳞副泥鳅的生长、皮肤组织中黑色素含量、皮肤和肌肉组织中SOX10和MITF基因表达量均无显著性影响，对皮肤组织中类胡萝卜素含量有显著性影响($P < 0.05$)。综合以上结果，虾青素添加组(150 mg/kg)能够促进不同体色大鳞副泥鳅的生长和饲料利用，降低其皮肤组织中的黑色素含量，提高类胡萝卜素含量，并抑制体色相关基因SOX10和MITF的mRNA表达，改善金黄色大鳞副泥鳅的体色。

关键词：虾青素；大鳞副泥鳅；生长；体色；基因表达；

Effects of Dietary Astaxanthin Level on Growth, Feed Utilization, Skin Color and Related Gene

Expression of Paramisgurnus dabryanus

LIU Mingzhe YAO Jinming ZHAO Jing XIA Changge NIU Xiaotian WANG Guiqin

College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University Jilin Agricultural University
Library Administration Bureau in Xin Li Cheng Reservoir Ministry of Education Laboratory of Animal
Production and Quality Security, Jilin Agricultural University Joint Laboratory of Modern Agricultural
Technology International Cooperation, Ministry of Education, Jilin Agricultural University Jilin Provincial
Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science, Jilin Agricultural University

Abstract: This experiment was aimed to investigate the effects of astaxanthin on growth, feed utilization, skin color and related gene expression of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin color, used 2×2

experimental design. Two isoenergetic (17.7 MJ/kg) and isonitrogenous (35.7 % CP) experimental diets were formulated with different levels of astaxanthin (0 mg/kg, 150 mg/kg). Initial weight (11 ± 0.70) g of black brown and golden *Paramisgurnus dabryanus* as test object with four groups (I groups (Control group): black brown \times 0 mg/kg, II groups (Add group): black brown \times 150 mg/kg, III groups (Control group): golden \times 0 mg/kg, IV groups (Add group): golden \times 150 mg/kg), 3 replicates per group and 50 *Paramisgurnus dabryanus* per replicate and were reared with 2 experimental diets of 60 days. The results showed that the dietary astaxanthin level for weight gain (WG), specific growth rate (SGR), feed efficiency (FE) and protein efficiency ratio (PER) had significantly impact of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin color, II and IV group with WG, SGR, FE and PER separately were significantly higher than that of I and III group ($P < 0.05$), but between I and III group, II and IV group with WG, SGR, FE and PER had not significantly different. The dietary astaxanthin level for carotenoid and melanin content all had significantly impact of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin color, which the carotenoid content was the highest of IV group and was significantly higher than other groups ($P < 0.05$), the melanin content and on the contrary, IV group of melanin content was significantly lower than other groups ($P < 0.05$). The dietary astaxanthin level for the skin and muscle tissue with SOX10 and MITF gene mRNA expression all had significantly impact of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin color, IV group with SOX10 and MITF gene mRNA expression of the skin and muscle tissue was significantly lower than other groups ($P < 0.05$), and four groups of SOX10 expression with the muscle tissue were significantly lower than skin tissue ($P < 0.05$), four groups of MITF expression with the muscle tissue were significantly higher than skin tissue ($P < 0.05$). The interaction effect of skin color and astaxanthin all had no significant effect on the growth, melanin content of skin, Sox10 and MITF gene mRNA expression of skin and muscle tissue, but had significant effect on carotenoid content of the skin ($P < 0.05$). In conclusion, Astaxanthin addition group (150 mg/kg) can promote the growth and feed utilization of *Paramisgurnus dabryanus*, reduce the melanin content and increase the carotenoid content in the skin tissue, inhibit the skin color related genes for SOX10 and MITF mRNA expression, and improve the skin color of golden *Paramisgurnus dabryanus*.

Keyword: astaxanthin; *Paramisgurnus dabryanus*; growth; skin color; gene expression;

虾青素 (Astaxanthin) 又被称为虾黄素, 是一种脂溶性类胡萝卜素, 广泛存在于水生动植物 (虾、蟹、观赏鱼等)、植物 (叶、花、果实、藻类) 中, 具有促生长、着色、抗氧化、增强免疫力、提高存活率等作用, 被广泛应用于水产养殖业。有研究报道, 饲料

中添加虾青素能够促进红草金鱼（red *Carassius auratus*）生长，提高免疫力，改善体色^[1]。还有研究发现其能够提高大黄鱼（*Larimichthys crocea*）的抗氧化力和改善其体色^[2]；促进南美白对虾（*Penaeus vannamei* Boone）生长和提高其成活率^[3]。而其他学者在锦鲤^[4]（*Cyprinus carpio* L.）、金鱼^[5]、七彩神仙鱼^[6]（*Symphysodon haraldi*）、虹鳟^[7,8]（*Oncorhynchus mykiss*）等的研究报道中也得到类似结果。

大鳞副泥鳅（*Paramisgurnus dabryanus*）隶属于鲤形目、鳅科、花鳅亚科，副泥鳅属，其营养丰富，具有低脂高蛋白、口感佳的特点，被称为“水中人参”，是东南亚地区主要经济养殖鱼类^[9]，其体色通常呈现黑褐色，极少呈现金黄色。体色是鱼类重要的遗传性状之一，受基因的调控，同时还被类胡萝卜素、黑色素、嘌呤和鸟嘌呤等物质和激素所影响^[10]。在人工养殖过程中，由于饲料中类胡萝卜素含量不足导致鱼体鲜艳度不足^[11]，降低其观赏价值，造成严重的经济损失。因此，利用营养调控手段，通过高效环保的添加剂来改善观赏鱼的体色品质和经济价值势在必行。

大鳞副泥鳅体色通常呈现黑褐色，其体色突变体为金黄色，所以其除了具有食用价值外，还具有一定的观赏价值。目前关于大鳞副泥鳅育种^[12]、疾病^[13]和营养^[14]等研究已有相关报道。而关于大鳞副泥鳅的试验，本课题组已做了初步研究，并筛选出最适金黄色大鳞副泥鳅生长与改善体色的虾青素添加量为 150 mg/kg^[15]，故本试验在此基础上继续研究虾青素对不同体色大鳞副泥鳅生长、饲料利用、体色及其相关基因表达的比较研究，深入探讨不同体色大鳞副泥鳅的体色与体色相关基因之间的关系，为金黄色大鳞副泥鳅作为观赏鱼品种的饲料开发、体色改善及其相关分子研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验饲料及营养成分

以鱼粉、玉米蛋白粉、去皮豆粕和小麦麸为蛋白源，鱼油和玉米油为脂肪源，糊精和面粉为糖源，同时添加维生素预混料和无机盐预混料，配制 2 组不同虾青素水平（0 mg/kg 和 150 mg/kg；提取于雨生红球藻，浓度为 2%；西安泽邦生物科技有限公司）的等氮（35.7%）、等能（17.7 MJ/kg）饲料，用蛋氨酸和赖氨酸调整饲料等蛋白质水平。将饲料原料粉碎并过 60 目筛后称重、混匀，加工成粒径为 1.5 mm 的颗粒饲料，自然风干后置于 -20 °C 条件下保存、待用。试验饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 试验饲料组成及营养水平 / % (干物质基础)

Table 1. Composition and nutrient level of experimental diets / % (DM basis)

原料组分 / %	虾青素水平 / mg/Kg	
	0	150
鱼粉	20	20
小麦麸	11	11
鱼油	2	2
糊精	5	5
玉米蛋白粉	15	15
玉米油	2	2
去皮豆粕	30	30
面粉	10	10
氯化胆碱	0.5	0.5
蛋氨酸	0.5	0.5
赖氨酸	0.3	0.3
维生素预混料 ¹	1	1
矿物质预混料 ²	1	1
磷酸二氢钙	1.7	1.7
	营养水平 / %	
粗蛋白	35.77	35.65
粗脂肪	7.56	7.61
粗灰分	6.37	6.35
水分	5.63	5.48
总能 / MJ/kg	17.73	17.68

注: 1. 维生素预混料向每千克饲料提供: 叶酸 5.3 mg、生物素 0.05 mg、抗坏血酸(35%) 110 mg、烟酸 30 mg、泛酸钙 25 mg、肌醇 65 mg、VA 2500 IU、VB₁ 6 mg、VB₂ 6 mg、VB₆ 8 mg、VB₁₂ 0.02 mg、VD₃ 2 000 IU、VE 15 mg、VK₃ 3 mg;

2. 矿物质预混料向每千克饲料提供: 硫酸锰 20 mg、硫酸镁 10 mg、氯化钾 98 mg、氯化钠 365 mg、硫酸锌 40 mg、碘化钾 5 mg、无水硫酸铜 35 mg、硫酸铁 105 mg、亚硒酸钠 0.1 mg。

1.2 饲养管理

饲养试验于吉林农业大学水产养殖试验室进行。试验前, 将黑褐色和金黄色大鳞副泥鳅分别暂养在水族箱中, 驯化 14 d, 投喂基础日粮。分组前, 禁食 1 d, 挑选规格相同、健康的两种体色大鳞副泥鳅 (11 ± 0.70) g 各 300 尾, 每种体色试验鱼随机分配到 6 个控温循环水族箱中, 每组试验饲料随机投喂每种体色试验鱼的 3 个水族箱, 每天饱食投喂两次 (08: 00, 17: 00), 投喂 1 h 后观察水族箱中残饵情况, 用虹吸管吸出残饵烘干称重, 并及时调整投喂量。试验期间, 每 3 d 换水一次, 换水量为 1/3, 同时记录

每天的投喂量和水温。试验期间溶解氧大于 5.0 mg/L, 氨氮小于 0.5 mg/L, pH 值 7.1 ± 0.1 , 水温 24 ± 1 °C, 饲养时间为 60 d。

1.3 样品采集和指标测定

采样前, 禁食 1 d, 每个水族箱中随机捞取 10 尾试验鱼, 用麻醉剂 MS-222 将鱼麻醉, 并称重, 然后在无菌操作台中解剖, 采集皮肤和肌肉组织, 一部分皮肤组织用于色素含量的检测, 另一部分皮肤组织和肌肉组织放入液氮中速冻后转移到 -80 °C 条件下保存待用。并检测以下指标:

$$\text{平均增重率 WG/\%} = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$$

$$\text{特定生长率 SGR/\%/d} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$$

$$\text{饲料效率 FE/\%} = 100 \times (W_t - W_0) / W_f$$

$$\text{蛋白质效率 PER/\%} = 100 \times (W_t - W_0) / (W_f \times \text{CP})$$

式中: t 为试验时间 /d; W_0 、 W_t 分别为试验初始和结束时大鳞副泥鳅的总重量 /g; W_f 为摄入饲料的质量 /g; CP 为饲料粗蛋白质含量 /%。

利用上海酶联生物科技有限公司的 ELISA 试剂盒 (鱼类专用) 检测试验鱼皮肤组织中类胡萝卜素和黑色素含量。

1.4 提取组织总 RNA 及荧光定量 PCR

利用 Trizol 法提取总 RNA。取皮肤、肌肉、肝胰脏组织冻样 100 - 200 mg, 放在高压灭菌后盛有液氮的研钵中研磨成粉末, 转移至盛有 1 mL Trizol 裂解液的 1.5 mL 无核酸酶 EP 管中, 根据 Trizol 说明书提取总 RNA。然后分别利用 1 % 琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪对所提取总 RNA 的完整性及纯度和浓度进行检测。以检测合格的总 RNA 为模板, 根据常州天地人和生物有限公司的反转录试剂盒说明书进行操作, 反转录获得的 cDNA 置于 -20 °C 条件下保存, 用于 SOX10 和 MITF 基因的检测。

利用 Primer 5.0 软件设计鱼类体色相关基因 SOX10 和 MITF 的特异性引物 (表 2), 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 以 β -ACTIN 为参照基因。

荧光定量 PCR 反应体系为 25 μ L, 将上下游引物各 0.5 μ L、12.5 μ L 2 \times SYBR 预混液 (TaKaRa, Japan)、1 μ L cDNA 模板和无核酸酶水 10.5 μ L 加入 PCR 管中, 将气泡轻轻弹碎后混匀, 放入 ViiA7 Realtime PCR 仪中开始分析。扩增条件为: 95 °C 条件下预变性 1 min; 95 °C 条件下变性 5 s, 58 °C 条件下退火 30 s, 进行 40 个循环。数据采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行分析, 取 3 次重复的平均值。

表 2 引物信息

Table 2. Primer information

引物	序列 (5'-3')	序列 (3'-5')	长度 / bp	GenBank
<i>β-ACTIN</i>	TCTTGGGTATGGAGTCTTGCGGT	TCTTGATTTTCATTGTGCTGGGG	189	NM_130923.2
<i>SOX10</i>	ATGCCCGTGCAGTGGA	TTGCGTCTGCGTGGCTGGT	417	JQ217143.1
<i>TYR</i>	AGATGTGGAGTCGGTGCT	CCTCTTCCTCGCGCTAT	629	KU751776.1

1.5 统计分析

试验结果利用 SPSS 21.0 统计软件进行单因素方差分析、双因素方差分析及 Duncan's 法多重比较，数据采用平均值 ± 标准差的形式表示，显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅生长和饲料利用的影响

由表 3 可知，在本试验条件下，饲料中添加虾青素对大鳞副泥鳅的 WG、SGR、FE 和 PER 均有显著性影响 ($P < 0.05$)。其中 I 组和 III 组、II 组和 IV 组之间不同体色大鳞副泥鳅的 WG、SGR、FE 和 PER 均无显著性影响，但 II 组和 IV 组的 WG、SGR、FE 和 PER 均显著高于 I 组和 III 组 ($P < 0.05$)，即添加虾青素组的大鳞副泥鳅 WG、SGR、FE 和 PER 均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。体色与虾青素的交互作用对不同体色大鳞副泥鳅的 WG、SGR、FE 和 PER 均无显著性影响。

表 3 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅生长和饲料利用的影响

Table 3. Effects of the dietary astaxanthin level on the growth and feed utilization of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin color

组别	体色	虾青素水平 (mg/kg)	终末体重 (g)	平均增重率 (%)	特定生长率 (%)	饲料效率 (%)	蛋白质效率 (%)
I 组 (对照组)	黑褐色	0	21.33±0.76 ^b	92.96±9.71 ^b	1.09±0.08 ^b	60.70±5.51 ^b	1.70±0.15 ^b
II 组 (添加组)	黑褐色	150	27.28±0.40 ^a	147.71±11.24 ^a	1.51±0.07 ^a	76.67±5.72 ^a	2.15±0.16 ^a
III 组 (对照组)	金黄色	0	21.64±0.14 ^b	97.10±12.30 ^b	1.13±0.10 ^b	62.06±4.82 ^b	1.73±0.13 ^b
IV 组 (添加组)	金黄色	150	27.42±0.45 ^a	144.85±10.22 ^a	1.49±0.06 ^a	76.01±3.53 ^a	2.13±0.10 ^a
主效应							
	黑褐色	-	24.30±3.30 ^b	120.34±31.42 ^b	1.30±0.24 ^b	68.69±7.09 ^b	1.92±0.29 ^b
	金黄色	-	24.53±3.18 ^b	120.96±28.05 ^b	1.31±0.21 ^b	69.04±8.53 ^b	1.93±0.24 ^b
	-	0	21.49±0.52 ^b	95.03±10.17 ^b	1.11±0.09 ^b	61.38±4.69 ^b	1.72±0.13 ^b
	-	150	27.35±0.39 ^a	146.28±9.74 ^a	1.50±0.07 ^a	76.34±4.27 ^a	2.14±0.12 ^a
双因素方差分析 P 值							
	体色		0.453	0.992	0.878	0.906	0.907
	虾青素水平		0.000	0.000	0.000	0.001	0.001
	体色×虾青素水平		0.784	0.594	0.596	0.735	0.735

注：1. 同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)；2. “-”表示无。

2.2 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤组织色素含量的影响

由表 4 可知，在本试验条件下，饲料中添加虾青素对大鳞副泥鳅皮肤组织中的类胡

胡萝卜素含量和黑色素含量均有显著性影响 ($P < 0.05$)。其中I组和II组的类胡萝卜素含量极显著低于黑色素含量 ($P < 0.01$)；III组和IV组的类胡萝卜素含量极显著高于黑色素含量 ($P < 0.01$)。同时I组至IV组的类胡萝卜素含量显著上升 ($P < 0.05$)，黑色素含量显著下降 ($P < 0.05$)；且I组的类胡萝卜素含量显著低于II组 ($P < 0.05$)，II组极显著低于III组 ($P < 0.01$)，III组显著低于IV组 ($P < 0.05$)；I组的黑色素含量显著高于II组 ($P < 0.05$)；II组极显著高于III组 ($P < 0.01$)，III组显著高于IV组 ($P < 0.05$)。

体色与虾青素水平的交互作用对大鳞副泥鳅皮肤组织中的类胡萝卜素含量有极显著性影响 ($P < 0.01$)，对黑色素含量无显著性影响。

表 4 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤组织色素含量的影响

Table 4. Effects of the dietary astaxanthin level in skin tissues pigment conten of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin

color				
组别	体色	虾青素水平 (mg/kg)	类胡萝卜素	黑色素
I 组	黑褐色	0	0.59±0.06 ^{Bd}	5.54±0.40 ^{Aa}
II 组	黑褐色	150	1.23±0.11 ^{Bc}	4.67±0.23 ^{Ab}
III 组	金黄色	0	5.54±0.39 ^{Ab}	0.91±0.08 ^{Bc}
IV 组	金黄色	150	7.62±0.50 ^{Aa}	0.46±0.04 ^{Bd}
主效应				
	黑褐色	-	0.91±0.08 ^d	5.12±0.34 ^a
	金黄色	-	6.58±0.52 ^a	0.69±0.06 ^d
	-	0	3.06±0.25 ^c	3.22±0.26 ^b
	-	150	4.43±0.36 ^b	2.58±0.13 ^c
双因素方差分析 P 值				
体色			0.000	0.000
虾青素水平			0.000	0.001
体色×虾青素水平			0.005	0.198

注：1. 肩标不同大写字母表示同行数据差异显著 ($P < 0.05$)；肩标不同小写字母表示同列数据差异显著 ($P < 0.05$)；($P < 0.01$) 表示差异极显著；2. “-”表示无；3. 下表同。

2.3 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅体色相关基因表达的影响

由表 5 可知，在本试验条件下，饲料中添加虾青素对各组大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达均有显著性影响 ($P < 0.05$)。I 组至 IV 组的皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量均显著下降 ($P < 0.05$)，且 IV 组的皮肤和肌肉组织中的 SOX10 和 MITF 基因表达量显著低于其他各组 ($P < 0.05$)；同时各组 SOX10 基因在肌肉组织中的 mRNA 表达量均显著低于皮肤组织的表达量 ($P < 0.05$)，MITF 基因在肌

肉组织中的 mRNA 表达量则均显著高于皮肤组织的表达量 ($P < 0.05$)。体色与虾青素水平的交互作用对两种体色大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量均无显著性影响。

表 5 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量的影响

Table 5. Effects of the dietary astaxanthin level on SOX10 and MITF gene expression in skin and muscle tissue of *Paramisgurnus dabryanus* with different skin color

组别	体色	虾青素水平 (mg/kg)	SOX10		MITF	
			皮肤	肌肉	皮肤	肌肉
I 组	黑褐色	0	7.74±0.62 ^{Ba}	3.16±0.22 ^{Ca}	3.64±0.33 ^{Ca}	31.22±2.13 ^{Aa}
II 组	黑褐色	150	6.11±0.49 ^{Bb}	2.46±0.17 ^{Db}	2.95±0.23 ^{Cb}	26.95±1.50 ^{Ab}
III 组	金黄色	0	2.10±0.21 ^{Bc}	1.34±0.10 ^{Dc}	1.68±0.15 ^{Cc}	13.07±1.21 ^{Ac}
IV 组	金黄色	150	1.08±0.10 ^{Bd}	0.71±0.06 ^{Cd}	1.13±0.10 ^{Bd}	9.84±0.74 ^{Ad}
主效应						
	黑褐色		6.93±0.57 ^a	2.81±0.16 ^a	3.30±0.26 ^a	29.09±2.86 ^a
	金黄色		1.59±0.11 ^d	1.03±0.08 ^d	1.41±0.12 ^d	11.45±0.98 ^d
		0	4.92±0.38 ^b	2.25±0.15 ^b	2.66±0.19 ^b	22.14±2.06 ^b
		150	3.60±0.24 ^c	1.59±0.11 ^c	2.04±0.18 ^c	18.40±1.43 ^c
双因素方差分析 P 值						
体色			0.000	0.000	0.000	0.000
虾青素水平			0.000	0.000	0.001	0.002
体色×虾青素水平			0.237	0.072	0.571	0.561

3 讨论

3.1 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅生长和饲料利用的影响

虾青素又被称为虾黄素，是一种酮式类胡萝卜素。目前有大量研究证明虾青素能够促进鱼体的生长，如张宝龙等^[1,16]对红草金鱼和狮子头金鱼的研究中发现饲料中添加适量虾青素能够显著促进鱼体的生长；王海芳等^[3]研究发现饲料中添加适量虾青素能够提高南美白对虾的生长和存活率；王军辉等^[4]、Bazyar 等^[2]、Yesilayer 等^[8]的研究也得到相似的结果。本课题组姚金明^[15]的研究已证明，饲料中添加虾青素 150 mg/kg 能够显著促进金黄色大鳞副泥鳅的 WG 和 SGR。本研究条件下也得到相同的结果，II 组和 IV 组的 WG、SGR、FE 和 PER 均显著高于 I 组和 III 组，即添加虾青素组的黑褐色和金黄色大鳞副泥鳅 WG、SGR、FE 和 PER 显著高于对照组，而体色和虾青素水平的二者交互作用

对鱼体的生长没有显著性影响。虾青素是类胡萝卜素的一种，而类胡萝卜素是维生素 A 的前体物质，维生素 A 在鱼类生长发育和维持正常生理功能是必不可少的微量元素，并能够促进鱼体生长和饲料利用效率^[4]，故虾青素促进鱼体生长的原因可能是其能够改善维生素 A 在机体中蓄积。

3.2 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤组织中类胡萝卜素和黑色素含量的影响

虾青素近年来被广泛应用到观赏鱼饲料中改善鱼体体色，其主要是鱼体皮肤组织中红色系色素，同时它又是类胡萝卜素的合成终点。当虾青素进入鱼体后，能够与肌红蛋白发生非特异性结合，直接沉积在组织中，从而改善鱼体体色及鲜艳度。Weeratunge 等^[5]对金鱼的研究发现虾青素能够在 10 天内有效改善其体色；Bazyar 等^[7]、Yesilayer 等^[8]对虹鳟的研究发现饲料中添加虾青素能够提高鱼体皮肤组织中类胡萝卜素的沉积；韩星星等^[2]对大黄鱼投喂含有虾青素和叶黄素的饲料 30 天后，发现鱼体背部和腹部的类胡萝卜素含量显著升高，显著改善体色。邓成等^[17]研究发现豹纹鳃棘鲈（*Plectropomus leopardus*）的体色差异与黑色素含量有关，体色鲜艳度与类胡萝卜素含量有关。在本试验条件下，研究发现饲料中添加虾青素对大鳞副泥鳅皮肤组织中的类胡萝卜素含量和黑色素含量均有显著性影响。各组之间均存在显著性差异，且 I 组至 IV 组类胡萝卜素含量显著上升，黑色素含量显著下降，IV 组皮肤组织中的类胡萝卜素含量最高，黑色素含量最低。这说明虾青素具有调控大鳞副泥鳅皮肤组织中色素沉积的作用。同时各组大鳞副泥鳅皮肤组织中的类胡萝卜素与黑色素含量之间也存在显著性差异，I 组和 II 组的类胡萝卜素含量极显著低于黑色素含量；III 组和 IV 组的类胡萝卜素含量极显著高于黑色素含量。这表明黑色素可能是黑褐色大鳞副泥鳅皮肤组织中的主要色素系，而类胡萝卜素可能是金黄色大鳞副泥鳅皮肤组织中主要色素系之一。试验结果发现体色和虾青素水平二者交互作用对大鳞副泥鳅皮肤组织中的黑色素含量无显著性影响；对类胡萝卜素含量有极显著性影响（ $P < 0.01$ ）。

3.3 饲料中添加虾青素对不同体色大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量的影响

体色是鱼类的重要遗传性状之一，除了受到外界因素和生理状态影响外^[18,19,20]，还受到体色基因的调控，如 SOX10 和 MITF 基因。SOX10 是 SOX 基因家族一员，编码 481 个氨基酸，有研究发现在神经嵴细胞向色素细胞分化的过程中，SOX10 能够调控黑

色素细胞分化和 MITF 的表达^[21]。Elworthy 等^[22]研究发现在斑马鱼黑色素细胞中的转录因子 SOX10 能够结合启动子 MITF α 并激活其表达，从而使黑色素细胞分化。MITF 被发现源于突变小鼠，它对调节色素细胞的发育和分化尤为重要^[23]。殷浩然等^[24]在对锦鲤早期发育的研究中发现，MITF 在其原肠期与神经胚期时基因表达量最高，说明其在胚胎发育早期的体色形成过程中可能发挥着重要的作用。田雪等^[25]在对红色锦鲤体色发生过程的研究中发现 MITF α 在鱼体 1 日龄的基因表达量最高，显著高于其他日龄。田儒品等^[26]在中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)的研究中利用 PCR 技术检测发现其肌肉组织中的 MITF 基因表达量最高，显著高于皮肤组织的表达量。李康乐等^[27]对瓯江彩鲤的研究发现 SOX10 在皮肤和肌肉中均表达，在“粉花”鱼体的黑色皮肤中 SOX10 的基因表达量最低。而在本试验条件下的结果与上述相关报道存在一定差异性，结果显示 SOX10 和 MITF 在大鳞副泥鳅皮肤和肌肉中均表达，且饲料中添加 150 mg/kg 虾青素对各组大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量均有显著性影响。在 I 组至 IV 组的皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量显著下降，且 IV 组的皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量最低；同时各组 SOX10 在肌肉组织中的基因表达量均显著低于皮肤组织的表达量，各组 MITF 在肌肉组织中的基因表达量则均极显著高于皮肤组织的表达量。此结果表明虾青素能够调控大鳞副泥鳅体色相关基因 SOX10 和 MITF 的表达，由于 SOX10 能够结合并激活 MITF 基因的表达，故它们在大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中的表达趋势相似；同时 SOX10 和 MITF 基因表达强弱与大鳞副泥鳅皮肤组织中黑色素细胞的含量成正相关，这表明 SOX10 和 MITF 对大鳞副泥鳅体色相关的黑色素细胞与非黑色素细胞的形成具有重要的作用；同时虾青素具有抑制 SOX10 和 MITF 基因表达的功能，对金黄色大鳞副泥鳅具有改善体色的作用。体色和虾青素水平的二者交互作用对不同体色大鳞副泥鳅皮肤和肌肉组织中 SOX10 和 MITF 基因表达量均无显著性影响。

4 结论

本试验结果结合本课题组姚金明^[15]的研究发现，饲料中添加 150 mg/kg 虾青素能够提高不同体色大鳞副泥鳅的生长和饲料利用，提高鱼体皮肤组织中类胡萝卜素含量，降低其黑色素含量，同时能够抑制体色相关基因 SOX10 和 MITF 的 mRNA 表达，改善金黄色大鳞副泥鳅的体色。

参考文献：略

原文刊登在《《吉林农业大学学报录用定稿》》网络首发时间: 2020-09-03 10:05:00

饲料研发

添加牛磺酸和硒酵母对改善棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲷饲料鱼粉的作用

张静雅 任幸 李伟业 王力 王岩
浙江大学海洋学院 舟山市水产研究所

摘要: 本试验旨在研究添加牛磺酸和硒酵母对改善棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲷 (*Centropristis striata*) 饲料鱼粉的作用。采用双因素试验设计, 设 2 个饲料鱼粉替代水平和 2 个牛磺酸与硒酵母混合物的添加水平。对照 (PC) 饲料鱼粉水平为 35%, 利用棉籽浓缩蛋白分别替代 PC 饲料中鱼粉的 60%(H) 和 80%(L); 在相同鱼粉替代水平下, 分别添加 (ST) 或不添加 (N) 牛磺酸与硒酵母的混合物。5 种试验饲料分别为 PC、HST、LST、HN 和 LN 饲料。选择初始体重为 (29.5±0.5)g 的条纹锯鲷 360 尾, 分为 5 组 (每组 3 个重复, 每个重复 24 尾鱼), 分别投喂 5 种试验饲料。试验期 10 周。结果表明: 摄食不同饲料对鱼摄食率、生长、饲料利用效率、鱼体组成 (粗灰分和磷含量除外) 以及养殖废物排放量均未产生显著影响 ($P>0.05$), 但显著影响成活率 ($P<0.05$)。摄食 HST 和 LST 饲料的鱼成活率显著高于摄食 PC 和 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)。摄食 PC、HST 和 LST 饲料的鱼粗灰分和磷含量显著低于摄食 HN 和 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)。摄食 PC 饲料与摄食 LST 饲料时养殖效益接近, 与摄食 HST、HN 和 LN 饲料时的养殖效益存在明显差异。摄食 PC 饲料的鱼血浆谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 活性显著高于摄食 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$), 摄食 PC 和 LST 饲料的鱼肝脏丙二醛 (MDA) 含量显著低于摄食 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)。由此可见, 添加牛磺酸和硒酵母未明显提高利用棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲷饲料中鱼粉的水平, 但在一定程度上有益于改善摄食低鱼粉水平饲料时鱼的成活率和养殖效益。

关键词: 牛磺酸; 硒酵母; 条纹锯鲷; 鱼粉替代; 存活; 养殖效益;

Influence of Taurine and Selenium Yeast Supplementation on Replacing Fish Meal with Cottonseed Protein Concentrate in Black Sea Bass (*Centropristis striata*) Diet

ZHANG Jingya REN Xing LI Weiye WANG Li WANG Yan

Ocean College, Zhejiang University Zhoushan Fisheries Research Institute

Abstract: This trial was conducted to evaluate the influence of taurine and selenium yeast supplementation on replacing fish meal with cottonseed protein concentrate (CPC) in black sea bass (*Centropristis striata*) diet. A two factor trial design was adopted, including two dietary fish meal replacement levels and two taurine and selenium yeast supplementation levels. The control (PC) diet contained 35% fish meal, and CPC was used as a fish meal substitute to replace 60%(H) and 80%(L) of the fish meal in PC diet. At the same fish meal replacement level, a taurine and selenium yeast mix was added (ST) or not added (N). The five test diets were

abbreviated as PC,HST,LST,HN,LN. A total of 360 *Centropristis striata* with initial body weight of(29.5±0.5)g were divided into 5 groups(each group contained 3 replicates and each replicate contained 24 fish)which were fed with the test diets. The feeding trial lasted for 10 weeks. The results showed that no significant differences were found in feed intake,growth,feed conversion ratio,body composition(except ash and phosphorus contents)and waste outputs among fish fed with different diets($P>0.05$). The survival rate of fish fed HST and LST diets was significantly higher than that of fish fed PC and LN diets($P<0.05$). The ash and phosphorus contents of fish fed PC,HST and LST diets were significantly lower than those of fish fed HN and LN diets($P<0.05$). The farming benefit of the fish fed PC diet was close to that of fish fed LST diet,but was obviously different from that of fish fed HST,HN and LN diets. The plasma glutathione peroxidase(GPx)activity of fish fed PC diet was significantly higher than that of fish fed LN diet($P<0.05$),and the liver malondialdehyde(MDA)content of fish fed PC and LST diets was significantly lower than that of fish fed LN diet($P<0.05$). In conclusion,the taurine and selenium yeast supplementation cannot significantly elevate fish meal replacement level by CPC in *Centropristis striata* diet,but to a certain extent,can improve the survival rate and farming benefits of fish fed low fish meal diets.

Keyword: taurine; selenium yeast; *Centropristis striata*; fish meal replacement; survival; farming benefits;

Author: WANG Yan,professor,E-mail:ywang@zju.deu.cn;

替代水产饲料中鱼粉的研究始于 20 世纪 70 年代中期^[1],迄今仍然是水产动物营养和饲料研究的热点。随着饲料配方技术水平的提高,鱼类饲料中的鱼粉水平不断被降低^[2],但利用植物性蛋白质原料完全替代肉食性鱼类饲料中的鱼粉仍是一个难题。通常情况下,通过添加植物性蛋白质原料将饲料鱼粉水平降低到一定程度后,鱼类生长速度随鱼粉替代水平增加而逐渐减慢。例如,通过添加豆粕将饲料鱼粉水平降低至 21%导致花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 生长速度显著变慢^[3];通过添加棉粕将饲料鱼粉水平降低至 34%导致大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 生长率降低^[4]。一般认为,植物性蛋白质原料中蛋白质消化率低、氨基酸不平衡(缺乏部分必需氨基酸或功能性氨基酸)、存在抗营养因子等是限制其替代饲料鱼粉水平的重要因素^[5],但涉及上述多种因素所产生的限制作用及其交互影响的定量分析尚未见报道。此外,植物性蛋白质原料中牛磺酸和硒的含量均低于鱼粉^[6,7],因此,利用植物性蛋白质原料替代鱼粉往往导致饲料中牛磺酸和硒含量减少。牛磺酸是动物体内广泛分布的一种 β -氨基酸,具有抗氧化及调节机体免疫、渗透压和神经活动等多种生理功能^[8]。硒与半胱氨酸结合所形成的硒代半胱氨酸参与合

成各种硒蛋白，包括与动物生长密切相关的硒蛋白 W、碘甲腺原氨酸脱碘酶（iodothyronine deiodinase,Dio）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase,GPx）和硫氧蛋白还原酶（thioredoxin reductase,TR）等^[9,10,11,12]。鉴于牛磺酸和硒的重要生理功能，推测牛磺酸和硒缺乏有可能是限制利用植物性蛋白质原料大量替代饲料鱼粉的重要因素。当利用大豆浓缩蛋白替代饲料鱼粉时，在饲料中适度添加牛磺酸可改善细点牙鲷（*Dentex dentex*）^[13]、加利福尼亚湾石首鱼（*Totoaba macdonaldi*）^[14]和虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）^[15]的生长性能；当利用豆粕或发酵豆粕替代饲料鱼粉时，在饲料中适度添加硒可改善卵形鲳鲹（*Trachinotus ovatus*）^[5]和尖吻鲈（*Lates calcarifer*）^[16,17]的生长性能。

条纹锯鲷（*Centropristis striata*）俗称美洲黑石斑，原产于美洲，2002 年被引进我国进行人工养殖，在山东、浙江等省沿海地区已形成一定的养殖规模。有关条纹锯营养需求及其对不同饲料蛋白质源的利用能力方面已有一些研究报道。Alam 等^[18]指出，通过添加豆粕可将条纹锯饲料鱼粉水平降低至 16%；而 Anderson 等^[19]指出利用脱酚棉籽蛋白粉可完全替代条纹锯饲料中的鱼粉。此外，张清雯等^[20]报道摄食含 0.62~0.92 mg/kg 硒的饲料可改善条纹锯生长性能和机体的抗氧化能力。尽管有关条纹锯饲料牛磺酸和硒的需求量尚未见报道，但根据对其他鱼类的研究结果，推测同时添加牛磺酸和硒可能有益于提高利用棉籽浓缩蛋白（cottonseed protein concentrate,CPC）替代条纹锯饲料中鱼粉的水平。因此，本试验旨在研究添加牛磺酸和硒酵母对利用棉籽浓缩蛋白替代条纹锯饲料鱼粉的影响，以期完善条纹锯饲料配方技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物、饲料原料和试验饲料

表 1 主要饲料原料营养水平(风干基础)
Table 1 Nutrient levels of main feed ingredients (air-dry basis)

项目 Items	干物质 Dry matter/%	粗蛋白质 Crude protein/%	粗脂肪 Crude lipid/%	粗灰分 Ash/%	总能 Gross energy/ (MJ/kg)
鱼粉 Fish meal	92.3	66.8	11.0	16.4	18.6
棉籽浓缩蛋白 Cottonseed protein concentrate	93.1	62.0	0.6	7.6	17.4
鸡肉粉 Poultry by-product meal	95.6	68.4	11.8	12.2	20.4
豆粕 Soybean meal	89.1	47.7	2.0	6.1	17.4
小麦粉 Wheat flour	86.6	16.5	2.1	1.1	15.7
蛋白质混合物 Protein mix	90.5	61.5	1.4	4.2	15.0

条纹锯鲷购自舟山市普陀区优辰水产养殖专业合作社，试验前用活水船运至舟山市水产研究所朱家尖试验基地，并暂养在一套室内流水养殖试验系统中。该养殖试验系统

由 36 个直径 68.5 cm、高 73.0 cm、容积 200 L 的聚乙烯水槽组成，水源为经过沉淀、砂滤的海水。暂养期间，每天 09:00 和 15:00 投喂鱼粉水平为 35% 的试验饲料。

试验所用棉籽浓缩蛋白、牛磺酸、硒酵母均为公司产品。其他饲料原料，如鱼粉（产地新西兰）、鸡肉粉（产地美国）、豆粕、面粉和蛋白质混合物等购自浙江科盛饲料股份有限公司。主要饲料原料营养水平见表 1。

对照（PC）饲料粗蛋白质水平为 43%，粗脂肪水平为 11%，鱼粉水平为 35%。采用 2×2 试验设计，设 2 个饲料鱼粉替代水平（H：利用棉籽浓缩蛋白替代 PC 饲料中鱼粉的 60%；L：利用棉籽浓缩蛋白替代 PC 饲料中鱼粉的 80%）和 2 个牛磺酸与硒酵母的添加水平（ST：添加牛磺酸与硒酵母的混合物；N：不添加牛磺酸与硒酵母的混合物）。4 个试验饲料分别简写为 HST、LST、HN 和 LN 饲料。牛磺酸和硒酵母的混合物中含 825 g/kg 的牛磺酸和 280 mg/kg 的硒。所有试验饲料粗蛋白质和粗脂肪水平相同，分别为 43% 和 11%。

表 2 试验饲料组成及营养水平(风干基础)
Table 2 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis) %

项目 Items	饲料 Diets				
	PC	HST	LST	HN	LN
原料 Ingredients					
鱼粉 Fish meal	35.0	14.0	7.0	14.0	7.0
棉籽浓缩蛋白 Cottonseed protein concentrate		22.6	30.2	22.6	30.2
牛磺酸与硒酵母的混合物 Taurine and selenium yeast mix	0.6	0.6	0.6		
鸡肉粉 Poultry by-product meal	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
豆粕 Soybean meal	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0
蛋白质混合物 Protein mix	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
小麦粉 Wheat flour	15.5	15.5	15.5	15.5	15.5
氯化胆碱 Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
膨润土 Bentonite	5.1	1.3		1.9	0.6
赖氨酸 Lys	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
蛋氨酸 Met	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
维生素和矿物质预混料 Vitamin and mineral premix ¹⁾	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
鱼油 Fish oil	6.4	8.6	9.3	8.6	9.3
合计 Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
营养水平 Nutrient levels ²⁾					
干物质 Dry matter	86.6	85.9	85.2	87.7	88.1
粗蛋白质 Crude protein	43.3	43.5	43.5	43.6	43.9
粗脂肪 Crude lipid	9.8	10.0	10.7	11.2	11.2
粗灰分 Ash	15.0	9.8	8.2	10.2	8.8
磷 Phosphorus	1.5	1.3	1.3	1.3	1.2
总能 Gross energy/(MJ/kg)	17.3	17.9	18.4	18.8	18.9
牛磺酸 Taurine/(g/kg)	7.3	6.2	5.8	1.3	0.9
硒 Selenium/(mg/kg)	2.5	2.1	1.9	0.4	0.2

1) 维生素和矿物质预混料为每千克饲料提供 Vitamin and mineral premix provided the following per kg of diets: VA18 000 IU, VD₃3000 IU, VE 225 mg, VK₃15 mg, VB₁30 mg, VB₂30 mg, VB₆37.5 mg, VB₁₂0.15 mg, D-生物

素 D-biotin 1.2 mg, D-泛酸钙 D-calcium pantothenate 90 mg, 叶酸 folic acid 9 mg, 烟酰胺 niacinamide 150 mg, VC 270 mg, 肌醇 inositol 300 mg, 乙氧基喹啉 ethoxyquinoline 7.5 mg, FeSO₄ 180 mg, CuSO₄·5H₂O 5 mg, MnSO₄·4H₂O 15 mg, ZnSO₄ 75 mg, MgSO₄·7H₂O 120 mg, CoCO₃ 0.9 mg, KI 0.975 mg, Na₂SeO₃ 0.375 mg, C₁₄H₁₉NO 5 mg。2) 干物质、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分、磷和总能为实测值, 其他为计算值。Dry matter, crude protein, crude lipid, ash, phosphorus and gross energy were measured values, while the others were calculated values.

将饲料原料粉碎并过 80 目筛。根据饲料配方逐一称重各种原料, 依次用手搅拌混合均匀, 最后加入鱼油并用手搓匀。将手工混合均匀的原料转入饲料搅拌机, 加入适量水并混合 10 min。用 SLP-450 型单螺杆饲料膨化机(中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所(挤出直径为 3 mm、长度为 8 mm 的饲料颗粒。待饲料在室温(25°C)下风干后, 将其装入塑料袋, 密封、保存在冰箱(-20°C)中。试验饲料组成及营养水平见表 2。

1.2 养殖试验与饲养管理

试验开始前 7 d, 从暂养水槽中挑选出 450 尾个体大小相近的鱼, 驯养在 15 个试验水槽中(容积为 200 L, 每个水槽内放养 30 尾鱼), 驯养期间每天 09:00 和 15:00 按饱食量投喂 PC 饲料。试验开始前 24 h, 将驯养的鱼停食, 然后将所有鱼集中在 2 个水槽中。每次随机捕捞 24 尾鱼, 群体称重后依次放入 15 个试验水槽, 每个饲料处理(PC、HST、LST、HN 和 LN 饲料)设 3 个重复。试验鱼初始体重为(29.5±0.5)g(n=15)。从剩余的驯养鱼中随机挑选 3 组鱼(每组 15 尾), 测量其体长、体重和肝脏重, 并将所取的鱼样本保存在-20°C下用于分析鱼体初始组成。

养殖试验时间为 10 周, 试验期间每天 09:00 和 15:00 按饱食量投喂试验饲料。每天 17:00(投喂饲料 2 h 后)用虹吸的方法清除水槽底部沉积的粪便。每天 24 h 连续流水(流速为 0.03 L/s), 用表面温度计和 HOBO Pendant UA-002-64 水温记录仪(Onset, 美国)测定试验水槽内水温(水温记录仪每隔 30 min 测量并记录 1 次水温数据)。每周用 IS/Mill-E 盐度计(AS ONE Corporation, 日本)测量盐度。试验期间水槽内平均水温为(21.5±2.5)°C(17.0~28.9°C), 平均盐度为(24±2)‰(21‰~27‰)。

1.3 样品采集

试验结束时, 将各组的鱼停食 24 h, 然后依次用丁香酚(浓度为 80 mg/L)麻醉、捕捞并成批称重。从每个水槽中随机取 3 尾鱼, 测量其体长、体重和肝脏重, 然后保存在-20°C下作为分析鱼体组成的样品。从投喂 PC、LST 和 LN 饲料的水槽内各捕捞 3 尾个体大小相近的鱼(每个水槽捕捞 1 尾, 共 9 尾鱼), 用经 1%肝素钠润洗的 1 mL 注射器从尾静脉处抽血并转入 1.5 mL 离心管中, 离心(4°C、3 000 r/min)15 min 后将血浆转入

2 mL 冻存管并迅速保存在液氮中。取血后测量鱼体长和体重，解剖取出肝脏，转入 1.5 mL 离心管并迅速保存在液氮中。血浆和肝脏样品运回实验室后-80℃保存待测。

1.4 饲料原料、试验饲料和鱼体组成分析

将试验鱼样品在室温下解冻、称重，在高压灭菌锅中蒸煮（120℃）20 min 后匀浆、烘干（105℃）、称重、粉碎（过 80 目筛）。根据 AOAC(1995)^[21]方法分别测定饲料原料、试验饲料和鱼体的水分、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和磷含量。其中，粗蛋白质含量用 FOSS-8400 全自动凯氏定氮仪（FOSS，瑞典）测定，粗脂肪含量用 SZF-06A 脂肪抽提仪（上海新嘉电子有限公司）测定。此外，用 EA-3000 CHNS 元素分析仪（Euro Vector，意大利）测定样品碳含量，用 Parr-6200 氧弹量热仪（Parr，美国）测定样品总能。

1.5 血浆和肝脏中抗氧化酶活性以及脂质过氧化产物的测定

将血浆样品在 4℃下化冻，分别用试剂盒方法测定超氧化物歧化酶（superoxide dismutase,SOD）、GPx 和过氧化氢酶（catalase,CAT）活性以及丙二醛（malondialdehyde,MDA）含量。所用 SOD、GPx、CAT 和 MDA 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。将肝脏样品化冻，按 1：4（质量体积比）的比例加入 0.86%的生理盐水后在冰水浴中匀浆（转速 500 r/min），将匀浆液离心（4℃、12 000 r/min）5 min，取上清液。用考马斯亮蓝法测定上清液蛋白质含量^[22]，用上述试剂盒方法分别测定肝脏中的 SOD、GPx 和 CAT 活性以及 MDA 含量。

1.6 数据计算与统计分析

摄食率（FI）、增重（WG）、饲料系数（FCR）、营养物质或能量储积效率[氮储积效率（NRE）、磷储积效率（PRE）、碳储积效率（CRE）、能量氮储积效率（ERE）]、饱满度（CF）、肝体比（HSI）和废物排放量[氮废物排放量（NW）、磷废物排放量（PW）、碳废物排放量（CW）]按下列公式计算：

$$\begin{aligned} \text{FI}(\%/d) &= 100 \times I / [(N_t + N_0) / 2 \times \\ &\quad (W_0 / N_0 + W_t / N_t) / 2 \times t]; \\ \text{WG}(\text{g}) &= W_t / N_t - W_0 / N_0; \\ \text{FCR} &= I / (W_t - W_0 + W_d); \\ \text{NRE}(\%) &= 100 \times (W_t \times C_{Nt} - W_0 \times \\ &\quad C_{N0} + W_d \times C_{Nd}) / (I \times C_{Nf}); \\ \text{PRE}(\%) &= 100 \times (W_t \times C_{Pt} - W_0 \times \\ &\quad C_{P0} + W_d \times C_{Pd}) / (I \times C_{Pf}); \\ \text{CRE}(\%) &= 100 \times (W_t \times C_{Ct} - W_0 \times \\ &\quad C_{C0} + W_d \times C_{Cd}) / (I \times C_{Cf}); \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
ERE(\%) &= 100 \times (W_t \times C_{Et} - W_0 \times C_{E0} + W_d \times C_{Ed}) / (I \times C_{Ef}); \\
CF(\text{g}/\text{cm}^3) &= 100 \times W_s / L_s^3; \\
HSI(\%) &= 100 \times W_L / W_s; \\
NW(\text{g}/\text{kg 鱼产量}) &= 1000 \times (I \times C_{Nf}) \times (1 - NRE/100) / (W_t - W_0 + W_d); \\
PW(\text{g}/\text{kg 鱼产量}) &= 1000 \times (I \times C_{Pf}) \times (1 - PRE/100) / (W_t - W_0 + W_d); \\
CW(\text{g}/\text{kg 鱼产量}) &= 1000 \times (I \times C_{Cf}) \times (1 - CRE/100) / (W_t - W_0 + W_d)。
\end{aligned}$$

式中：I 为试验期间每个水槽内投喂的饲料质量 (g); W_0 和 W_t 分别为试验开始和结束时试验鱼体重 (g); N_0 和 N_t 分别为试验开始和结束时每个水槽内试验鱼尾数; t 为养殖试验时间 (d); W_d 为每个水槽内死鱼的质量 (g); C_{N0} 、 C_{Nt} 和 C_{Nd} 分别为试验开始和结束时鱼体的粗蛋白质含量以及死鱼的鱼体粗蛋白质含量 (%); C_{P0} 、 C_{Pt} 和 C_{Pd} 分别为试验开始和结束时鱼体的磷含量以及死鱼的鱼体磷含量 (%); C_{C0} 、 C_{Ct} 和 C_{Cd} 分别为试验开始和结束时鱼体碳含量以及死鱼的鱼体碳含量 (%); C_{E0} 、 C_{Et} 和 C_{Ed} 分别为试验开始和结束时鱼体总能以及死鱼的鱼体总能 (%); C_{Nf} 、 C_{Pf} 、 C_{Cf} 以及 C_{Ef} 分别为饲料粗蛋白质、磷、碳和总能含量 (%); W_s 、 L_s 和 W_L 分别为试验结束时所取鱼样品的体质量 (g)、体长 (cm) 和肝脏质量 (g)。

采用双因素方差分析检验饲料鱼粉替代水平、牛磺酸和硒酵母添加水平以及二者间的交互作用对试验鱼成活率、FI、WG、FCR、NRE、PRE、CRE、ERE、CF、HSI、NW、PW、CW 和鱼体组成 (水分、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分、碳、磷含量和总能) 的影响。为了确定棉籽浓缩蛋白可替代的饲料鱼粉水平, 采用单因素方差分析和 Duncan 氏多重比较法检验摄食 PC、HST、LST、HN 和 LN 饲料的鱼之间上述指标的差异以及摄食 PC、LST 和 LN 饲料的鱼之间血浆和肝脏抗氧化酶 (SOD、GPx 和 CAT) 活性以及 MDA 含量的差异。表示为百分数的数据 (成活率、FI、NRE、PRE、CRE、ERE、HSI 和鱼体组成等) 在进行方差分析前先进行反正弦变换。依据生长速度 (WG)、饲料蛋白质利用效率 (NRE)、饲料成本 (FCR) 和养殖污染 (NW) 综合评价摄食不同饲料 (PC、HST、LST、HN、LN 饲料) 时的养殖效益。双因素和单因素方差分析、Duncan 氏多重比较和聚类分析利用 SPSS 20.0 软件完成, 数据表示为平均值±标准差, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 条纹锯鲈的成活率、摄食率、生长和饲料利用效率

从表 3 可见, 添加牛磺酸和硒酵母可显著影响成活率和 NRE($P<0.05$), 饲料鱼粉替代水平与添加牛磺酸和硒酵母的交互作用可显著影响 FCR($P<0.05$)。饲料鱼粉替代水平、添加牛磺酸和硒酵母以及二者间的交互作用对 FI、FBW、WG、PRE、CRE 和 ERE 均无显著影响 ($P>0.05$)。摄食 PC、HST、LST、HN 和 LN 饲料的鱼之间在 FI、FBW、WG、FCR、NRE、PRE、CRE 和 ERE 方面均无显著差异 ($P>0.05$), 但摄食 HST 和 LST 饲料的鱼成活率显著高于摄食 PC 和 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)。

表 3 条纹锯鲈的成活率、摄食率、生长和饲料利用效率
Table 3 Survival rate, feed intake, growth and feed utilization efficiency of *Centropristis striata* ($n=3$)

项目 Items	饲料 Diets					P 值 P-value		
	PC	HST	LST	HN	LN	鱼粉替 代水平 Fish meal replacement level	牛磺酸和 硒酵母 Taurine and selenium yeast	交互 作用 Interaction
末重 FBW/g	66.4±2.5	61.7±2.5	63.2±3.2	59.9±2.5	57.6±3.7	0.843	0.119	0.405
增重 WG/g	36.6±2.2	32.4±2.6	33.5±2.9	30.5±2.2	28.3±4.1	0.805	0.135	0.466
摄食率 FI/(%/d)	1.49±0.19	1.37±0.02	1.27±0.07	1.33±0.02	1.36±0.09	0.431	0.535	0.181
饲料系数 FCR	1.46±0.21	1.48±0.06	1.24±0.04	1.45±0.09	1.62±0.20	0.702	0.072	0.039
氮储积效率 NRE/%	27.6±5.6	27.0±1.8	31.3±0.6	25.1±3.7	22.7±4.2	0.581	0.015	0.081
磷储积效率 PRE/%	36.7±8.8	36.1±3.5	40.5±4.1	49.2±4.8	44.7±10.9	0.994	0.050	0.283
碳储积效率 CRE/%	28.5±5.2	27.1±4.9	33.1±3.6	26.8±5.2	24.1±6.5	0.588	0.160	0.179
能量储积效率 ERE/%	31.2±6.9	28.5±5.4	34.3±2.2	25.0±4.2	26.4±5.8	0.217	0.064	0.429
成活率 Survival rate/%	84.72±0.02 ^b	94.44±0.02 ^a	93.33±0.02 ^a	87.50±0.03 ^{ab}	80.00±0.04 ^b	0.100	0.001	0.277

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

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

2.2 条纹锯鲈的 CF、HSI 和鱼体组成

从表 4 可见, 添加牛磺酸和硒酵母可显著影响粗灰分和磷含量 ($P<0.05$), 饲料鱼粉替代水平与添加牛磺酸和硒酵母的交互作用可显著影响 HSI($P<0.05$)。饲料鱼粉替代水平、添加牛磺酸和硒酵母以及二者间的交互作用对 CF 及鱼体水分、粗蛋白质、粗脂肪、碳含量和总能均无显著影响 ($P>0.05$)。摄食 PC、HST、LST、HN 和 LN 饲料的鱼之间在 CF、HSI 及鱼体水分、粗蛋白质、粗脂肪、碳含量和总能方面均无显著差异 ($P>0.05$), 但摄食 PC、HST 和 LST 饲料的鱼粗灰分和磷含量显著低于摄食 HN 和 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)。

表 4 条纹锯鲷 CF、HSI 和鱼体成分组成

Table 4 Condition factor, hepatosomatic index and body composition of *Centropristis striata*

项目 Items	饲料 Diets						P 值 P-value		
	初始 Initial	PC	HST	LST	HN	LN	鱼粉替 代水平 Fish meal replacement level	牛磺酸和 硒酵母 Taurine and selenium yeast	交互 作用 Interaction
饱满度 Condition factor/ (g/cm ³)	2.85±0.10	3.37±0.30	2.91±0.17	3.18±0.31	2.84±0.24	3.04±0.23	0.131	0.463	0.809
肝体比 Hepatosomatic index/%	1.98±0.33	1.79±0.48	1.59±0.21	1.47±0.20	1.44±0.04	1.95±0.35	0.181	0.249	0.044
水分 Moisture/%	69.5±0.3	69.9±1.0	70.0±1.1	69.8±0.7	70.6±1.0	68.8±1.0	0.215	0.808	0.293
粗蛋白质 Crude protein/%	16.8±0.2	16.6±0.3	16.6±0.0	16.4±0.2	16.3±0.5	16.4±0.1	0.860	0.460	0.344
粗脂肪 Crude lipid/%	8.5±0.3	9.3±0.6	9.1±1.1	9.4±0.5	8.7±0.3	9.6±0.5	0.231	0.857	0.562
碳 Carbon/%	15.1±0.7	15.2±0.8	15.3±1.0	15.8±0.9	15.6±1.0	15.7±0.9	0.634	0.933	0.807
粗灰分 Ash/%	5.2±0.0	4.3±0.1 ^b	4.3±0.1 ^b	4.2±0.1 ^b	4.6±0.1 ^a	4.6±0.1 ^a	0.456	0.001	0.405
磷 Phosphorus/%	1.19±0.05	0.93±0.04 ^b	0.93±0.02 ^b	0.88±0.01 ^b	1.05±0.03 ^a	1.02±0.07 ^a	0.198	0.001	0.768
总能 Gross energy/ (MJ/kg)	7.2±0.1	7.5±0.3	7.4±0.5	7.5±0.2	7.1±0.3	7.7±0.4	0.168	0.840	0.397

2.3 条纹锯鲷的养殖废物排放和养殖效益

从表 5 可见，添加牛磺酸和硒酵母可显著影响 NW(P<0.05)。饲料鱼粉替代水平、添加牛磺酸和硒酵母以及二者间的交互作用对 PW 和 CW 无显著影响 (P>0.05)。摄食 PC、HST、LST、HN 和 LN 饲料的鱼之间在 NW、PW 和 CW 方面无显著差异(P>0.05)。从图 1 可见，根据 WG、FCR、NRE 和养殖氮废物排放量进行聚类分析结果表明，摄食 PC 饲料与摄食 LST 饲料时养殖效益接近，与摄食 HST、HN 和 LN 饲料时存在明显差异。

表 5 条纹锯鲷养殖的氮、磷、碳废物排放量

Table 5 Wastes of nitrogen, phosphorus and carbon of *Centropristis striata*

g/kg 鱼产量

项目 Items	饲料 Diets					P 值 P-value		
	PC	HST	LST	HN	LN	鱼粉替 代水平 Fish meal replacement level	牛磺酸和 硒酵母 Taurine and selenium yeast	交互 作用 Interaction
氮废物排放量 NW	73.9±18.2	75.2±5.7	59.4±2.9	75.7±9.3	88.3±18.3	0.800	0.046	0.052
磷废物排放量 PW	14.1±4.3	12.6±1.2	9.3±1.0	9.7±1.5	10.9±3.6	0.400	0.591	0.102
碳废物排放量 CW	371.2±100.4	440.0±50.5	352.4±10.3	439.1±62.3	528.8±125.6	0.981	0.076	0.074

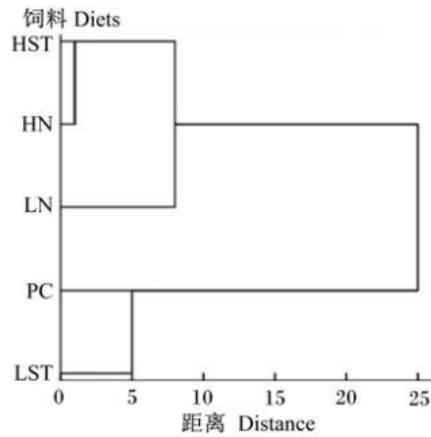


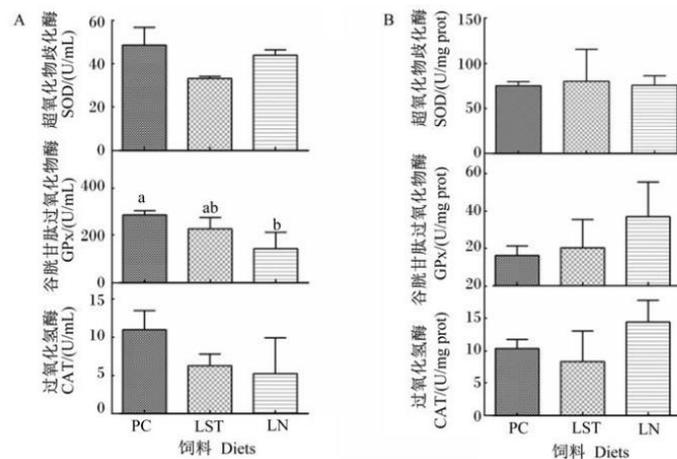
图 1 摄食试验饲料时条纹锯鲷的养殖效益

Fig.1 Farming benefits of *Centropomus striata* fed test diets

2.4 条纹锯鲷的血浆和肝脏抗氧化酶活性以及 MDA 含量

从图 2 可见, 摄食 PC、LST 和 LN 饲料的鱼之间血浆 GPx 活性存在显著差异 ($P<0.05$)。摄食 PC 饲料的鱼血浆 GPx 活性显著高于摄食 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)，但血浆 SOD 和 CAT 活性无显著差异 ($P>0.05$)。摄食 PC、LST 和 LN 饲料的鱼肝脏 SOD、GPx 和 CAT 活性无显著差异 ($P>0.05$)。

从图 3 可见, 摄食 PC、LST 和 LN 饲料的鱼之间血浆 MDA 含量无显著差异 ($P>0.05$)，但肝脏 MDA 含量存在显著差异 ($P<0.05$)。摄食 PC 和 LST 饲料的鱼肝脏 MDA 含量显著低于摄食 LN 饲料的鱼 ($P<0.05$)。



A: 血浆 plasma; B: 肝脏 liver。

数据柱标相同小写字母或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)，不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。

Value columns with the same small letter or no letter mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letters mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

图 2 条纹锯鲷的血浆和肝脏中抗氧化酶活性

Fig.2 Activities of antioxidative enzymes in plasma and liver of *Centropomus striata*

3 讨论

3.1 添加牛磺酸和硒酵母对改善棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲈饲料鱼粉水平的作用

本试验中, 饲料鱼粉替代水平、添加牛磺酸和硒酵母以及二者间的交互作用对条纹锯鲈的 FI、WG、PRE、CRE 和 ERE 均无显著影响; 摄食 PC 饲料的鱼与摄食 HST、LST、HN 和 LN 饲料的鱼之间在 FI、WG、FCR、NRE、PRE、CRE 和 ERE 等方面均无显著差异。这些结果表明通过添加棉籽浓缩蛋白将饲料鱼粉水平从 35%降低到 7%不会对条纹锯摄食、生长和食物利用效率产生显著的负面影响, 而添加牛磺酸和硒酵母不会显著增加利用棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲈饲料鱼粉的水平。值得指出的是, 双因素方差分析表明添加牛磺酸和硒酵母可显著影响 NRE。然而, 尽管摄食 HST 饲料的鱼 WG、NRE 和 ERE 略高于摄食 HN 饲料的鱼, 摄食 LST 饲料的鱼 WG、NRE 和 ERE 略高于摄食 LN 饲料的鱼, 单因素方差分析表明摄食 HST、LST、HN 和 LN 饲料的鱼之间 WG、NRE 和 ERE 差异不显著。鉴于方差分析结果受重复间数据离散程度的影响较大, 综合上述结果初步认为饲料中添加牛磺酸和硒酵母可一定程度上增加条纹锯鲈生长速度和饲料蛋白质利用效率。Wu 等^[23]报道, 在饲料中添加牛磺酸可增加利用大豆浓缩蛋白替代卵形鲳鲹饲料鱼粉的水平; Wang 等^[5]报道, 在饲料中添加硒酵母可增加利用豆粕替代卵形鲳鲹饲料鱼粉的水平。与上述研究结果相比, 本试验中同时添加牛磺酸和硒酵母增加利用棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲈饲料鱼粉水平的作用不显著, 表明牛磺酸和硒对鱼类的生理功能可能因种类而异。此外, 有关牛磺酸和硒对鱼类生长和食物利用是否存在交互影响尚未确定, 因此在鱼类饲料中同时添加牛磺酸和硒酵母与单独添加牛磺酸或硒酵母的效果孰优孰劣还有待进一步的试验检验。

Sullivan 等^[24]报道, 条纹锯鲈的致死温度上限为 33.6°C。本试验中, 驯养阶段水温一度高达 31.8°C, 驯养阶段水温过高可能是导致试验鱼成活率 (80%~94%) 较低的重要原因。摄食 HST 和 LST 饲料的鱼成活率显著高于摄食 HN 和 LN 饲料的鱼, 表明在相同饲料鱼粉替代水平下添加牛磺酸和硒酵母有益于提高条纹锯鲈的成活率; 摄食 HST 饲料的鱼成活率与摄食 LST 饲料的鱼无显著差异, 而摄食 HN 饲料的鱼成活率与摄食 LN 饲料的鱼无显著差异, 表明利用棉籽浓缩蛋白替代饲料鱼粉不会导致条纹锯鲈死亡率增加。研究表明, 添加 5 g/kg 的牛磺酸可显著提高军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 摄食低鱼粉水平饲料 (利用酵母蛋白作为鱼粉替代物) 时的成活率^[25]; 添加 30~60 g/kg 的牛磺酸可显著提高鰺鱼 (*Seriola quinqueradiata*) 摄食无鱼粉饲料 (利用豆粕作为鱼粉

替代物)时的成活率^[26]。然而,添加硒不会显著影响摄食低鱼粉水平饲料时卵形鲳鲹(利用豆粕作为鱼粉替代物)^[5]和尖吻鲈(利用发酵豆粕作为鱼粉替代物)^[17]的成活率。根据本试验和上述研究结果,推测添加牛磺酸可能是改善条纹锯鲈成活率的主要原因。

3.2 添加牛磺酸和硒酵母对条纹锯鲈养殖效益的影响

研究表明,在饲料中添加 5 g/kg 牛磺酸或 1 g/kg 硒酵母可提高卵形鲳鲹的 NRE,同时有助于降低摄食低鱼粉水平饲料(利用大豆浓缩蛋白或豆粕替代鱼粉)时的 NW^[5,23]。本试验中,添加牛磺酸和硒酵母可显著影响条纹锯鲈的 NRE 和 NW;摄食 HST 饲料的鱼 NRE 略高于摄食 HN 饲料的鱼,同时摄食 LST 饲料的鱼 NRE 略高于摄食 LN 饲料的鱼;摄食 LST 饲料的鱼 NW 和 CW 略低于摄食 LN 饲料的鱼。这些结果与添加牛磺酸或硒可提高卵形鲳鲹的 NRE,同时有助于降低摄食低鱼粉水平饲料的鱼的 NW 的观点^[5,23]一致。有关在饲料中添加牛磺酸或硒对鱼类养殖 CW 影响的研究尚未见报道,本试验发现,条纹锯鲈养殖产生的 CW 远多于 NW 和 PW,利用棉籽浓缩蛋白替代鱼粉以及在饲料中添加牛磺酸和硒酵母不会显著影响 CW。

鱼类养殖效益可体现在生长、FCR、NRE 以及环境影响等多个方面^[27,28]。基于上述指标的一维(单一指标)评价表明饲料中添加牛磺酸和硒酵母对改善条纹锯鲈养殖效益的作用往往不一致。Zhang 等^[29]建议在一维评价的基础上进行多维综合评价,以避免不同维度的评价结果不一致或相互矛盾。本试验中,基于生长速度(WG)、饲料蛋白质利用效率(NRE)、饲料成本(FCR)和养殖氮污染(NW)进行聚类分析的结果表明,摄食 PC 和 LST 饲料时的养殖效益接近,而摄食 HST 和 HN 饲料时的养殖效益接近,摄食 LST 饲料时的养殖效益明显有别于摄食 HST、HN 和 LN 饲料时,这进一步证实了添加牛磺酸和硒酵母有益于改善摄食低鱼粉水平饲料时条纹锯鲈的养殖效益。

3.3 添加牛磺酸和硒酵母影响条纹锯鲈生长和饲料利用的机理

研究表明,在饲料中添加牛磺酸可改善细点牙鲷^[13]、加利福尼亚湾石首鱼^[14]和虹鳟^[15]的生长;在饲料中添加有机硒可促进虹鳟^[9]、尖吻鲈^[16,17]、军曹鱼^[30]和大西洋鲷(Sparus aurata)^[31]的生长。Zhang 等^[32]报道,在饲料中添加 1 g/kg 牛磺酸可显著提高青鱼(Mylopharyngodon piceus)的消化酶活性。Wang 等^[9]报道,虹鳟生长与硒蛋白 W 表达密切相关;Khan 等^[10]报道,硒蛋白 Dio 可将甲状腺激素(T₄)转化为三碘甲腺原氨酸(T₃),进而调节动物生长。与鱼粉相比,植物性蛋白质原料中牛磺酸和硒含量较低^[6,7],故利用植物性蛋白质原料大量替代鱼粉往往导致饲料牛磺酸和硒含量降低。动物

血浆中硒蛋白 GPx 活性与硒营养状态密切相关^[33]。本试验中, 摄食 PC、LST 和 LN 饲料的牛磺酸和硒含量随鱼粉替代水平增加而减少, 摄食 PC、LST 和 LN 饲料的鱼血浆 GPx 活性亦逐渐降低, 表明在饲料中添加牛磺酸和硒酵母能够改善摄食低鱼粉饲料时条纹锯鲈的硒营养状态, 由此推测硒可能是限制棉籽浓缩蛋白替代饲料鱼粉的原因之一。

动物代谢过程中所产生的活性氧自由基 (ROS) 如不能被及时清除可导致脂质 (如 ω -3 和 ω -6 脂肪酸) 氧化, 产生 MDA 等脂质氧化产物, 严重时可引起细胞凋亡^[34]。SOD、GPx 和 CAT 是细胞内重要的抗氧化酶^[35], 其中 GPx 能够通过谷胱甘肽途径将过氧化氢 (H_2O_2) 还原为水和氧气^[36]。研究表明, 在饲料中添加牛磺酸可显著提高青鱼摄食低鱼粉水平饲料 (利用豆粕替代鱼粉) 时血清 SOD 和 GPx 活性, 降低 MDA 含量^[32]; 在饲料中添加牛磺酸可显著降低加利福尼亚湾石首鱼摄食低鱼粉水平饲料 (利用大豆浓缩蛋白替代鱼粉) 时肝脏 MDA 含量^[37]; 在饲料中添加硒酵母可显著提高尖吻鲈摄食低鱼粉水平饲料 (利用豆粕或发酵豆粕替代鱼粉) 时血清 GPx 活性^[16,17]。本试验中, 摄食 PC 和 LST 饲料的鱼肝脏 MDA 含量显著低于摄食 LN 饲料的鱼, 表明在饲料中添加牛磺酸和硒酵母可减轻条纹锯肝脏的氧化损伤。

4 结论

在饲料中添加牛磺酸和硒酵母未显著增加利用棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲈饲料鱼粉的水平, 但在一定程度上有益于提高条纹锯鲈养殖成活率和养殖效益。

参考文献: 略

原文刊登在《动物营养学报》2020,32(07),3291-3302 DOI:10.3969/j.issn.1006-267x.2020.07.039

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

张鑫 韩蓓 胡俊涛 刘令军 陈越洋 许文静 苗淑彦
扬州大学动物科学与技术学院

摘要: 本试验旨在研究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, 以确定乌鳢饲料中豆粕替代鱼粉的适宜比例。以豆粕分别替代含 45% 鱼粉饲料中 0(D1 组)、20%(D2 组)、30%(D3 组)、40%(D4 组) 和 60%(D5 组) 的鱼粉, 配制成 5 种等氮 (粗蛋白质含量 44%) 等脂 (粗脂肪含量 9%) 的试验饲料, 饲喂乌鳢 6 周。养殖试验在室内流水纤维玻璃钢桶 (200 L) 中进行, 将 225 尾平均体重为 (19.07±0.07) g 的乌鳢随机分为 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复放养 15 尾。结果显示: 豆粕替代不同比例鱼粉对乌鳢的存活率 (SR) 没有显著影响 ($P>0.05$)。D3、D4 和 D5 组的增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR) 和蛋白质效率 (PER) 显著低于 D1 组 ($P<0.05$),

同时 D4 和 D5 组的饲料系数 (FCR) 显著高于 D1、D2 和 D3 组 ($P < 0.05$)；而 D1 和 D2 组间各生长性能指标均无显著差异 ($P > 0.05$)。豆粕替代不同比例鱼粉对乌鳢肌肉中粗蛋白质和粗灰分的含量没有显著影响 ($P > 0.05$)，并且乌鳢肌肉水分和粗脂肪含量在 D1、D2 和 D3 组间均无显著差异 ($P > 0.05$)，但 D4 和 D5 组肌肉水分含量显著低于 D1 组 ($P < 0.05$)，粗脂肪含量显著高于 D3 组 ($P < 0.05$)。乌鳢肠道糜蛋白酶活性 D1 组与 D2 组无显著差异 ($P > 0.05$)，但显著高于其他 3 组 ($P < 0.05$)；肠道胰蛋白酶和胃蛋白酶活性均以 D5 组最低，且 D5 组显著低于 D1、D2 组 ($P < 0.05$)。此外，豆粕替代 30%~60% 的鱼粉后，乌鳢肠道损伤明显，肠壁厚度不均匀，肠道褶皱短而稀疏。综上，在本试验条件下，从生长性能、蛋白质利用及肠道组织形态不受影响的角度考虑，在含 45% 鱼粉的乌鳢饲料中豆粕替代鱼粉的比例不宜超过 20%。

关键词： 乌鳢; 豆粕; 生长性能; 蛋白酶活性; 肠道组织形态;

Effects of Replacement of Fish Meal by Soybean Meal on Growth Performance, Protein Utilization and Intestinal Tissue Morphology of *Channa argus*

ZHANG Xin HAN Bei HU Juntao LIU Lingjun CHEN Yueyang XU Wenjing MIAO Shuyan

College of Animal Science and Technology, Yangzhou University

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of replacement of fish meal by soybean meal on growth performance, protein utilization and intestinal tissue morphology of *Channa argus* (*C. argus*), to obtain the suitable replacement proportion of fish meal by soybean meal in the diet of *C. argus*. A basal diet (group D1) was formulated using 45% fish meal as the main protein source, then different levels of soybean meal were used to replace 20% (group D2), 30% (group D3), 40% (group D4) and 60% (group D5) of fish meal on the basis of the basal diet, to make five isonitrogenous (crude protein content was 44%) and isoenergetic (crude lipid content was 9%) experimental diets. A total of 225 *C. argus* with the average body weight of (19.07 ± 0.07) g were randomly divided into 5 groups with 3 replicates in each group. Each group had 15 *C. argus*, which were stored in a 200 L indoor water fiberglass tank, and fed experimental diets for 6 weeks. The results showed that no significant difference in the survival rate (SR) was found among groups ($P > 0.05$). The weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) and protein efficiency ratio (PER) in groups D4 and D5 were significantly lower than those in group D1 ($P < 0.05$). The feed conversion rate (FCR) in groups D4 and D5 was significantly higher than that in groups D1, D2 and D3 ($P < 0.05$); there were no significant difference in growth performance indices between groups D1 and D2 ($P > 0.05$). Soybean meal replaced different proportion of fish meal had no significant differences in the contents of crude protein and ash in muscle ($P > 0.05$), and the contents of crude lipid and moisture in muscle were not significantly

different among groups D1,D2 and D3($P>0.05$),while the moisture content in groups D4 and D5 was significantly lower than that in group D1($P<0.05$),and crude lipid was significantly higher than that in group D3($P<0.05$). The intestinal chymotrypsin activity in groups D4 and D5 had no significant difference($P>0.05$),but significantly higher than that in the other 3 groups($P<0.05$). The lowest intestinal trypsin and pepsin activities were found in group D5($P<0.05$),and significantly lower than those in groups D1 and D2($P<0.05$).In addition,obvious intestinal damage,including the uneven thickness of intestinal wall,the short and sparse intestinal folds,was found in the *C. argus* when replacing 30% to 60% fish meal with soybean meal. Taken together,considering the perspective of no effects on the growth performance,protein utilization and intestinal tissue morphology,the replacement proportion of fish meal by soybean meal should not exceed 20% in the *C. argus* diet which containing 45% fish meal.

Keyword : *Channa argus*; soybean meal; growth performance; protease activity; intestinal tissue morphology;

目前,水产养殖业以每年 10%的增速高速发展^[1],对水产配合饲料的需求也随之高速增长^[2]。由于具有蛋白质含量高、必需氨基酸均衡、消化利用率高等特点,鱼粉成为水产饲料中的优质蛋白质源^[3]。然而,全球鱼粉生产已无法满足不断增长的水产养殖需求,持续上涨的鱼粉价格与市场供需不平衡的状况对水产养殖业的发展产生了极大的负面效应。因此,寻找鱼粉的替代原料成为全球水产养殖业的一个重要课题^[4]。

由于具有氨基酸组成较为平衡和市场供应稳定等特点,豆粕被广泛应用于水产配合饲料中^[5]。罗智等^[6]研究发现,以 14%的发酵豆粕代替鱼粉饲喂点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*),点带石斑鱼的增重率(WGR)和特定生长率(SGR)等指标均未受到显著影响。Sanderson 等^[7]研究发现,用豆粕替代饲料中 65%的鱼粉时,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的生长也未受到显著影响。而刘襄河等^[8]发现,分别以 11%和 16%的豆粕替代鱼粉饲喂牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)时,牙鲆的生长和饲料利用均未受到显著影响,但当豆粕替代量达到 41%时,牙鲆的 WGR 显著降低。王亚如等^[9]在研究豆粕替代鱼粉对花鲈(*Lateolabrax maculatus*)肠道健康的影响时发现,当豆粕替代量超过 50%时,花鲈的肠道组织形态和肠黏膜屏障功能受到损伤。以上研究说明,豆粕对鱼类生长及健康的影响与鱼的种类、饲料中豆粕的添加量等因素密切相关。

乌鳢(*Channa argus*)广泛分布于我国南北水域,因其生长速度快、营养价值高和养殖潜力大而成为我国优质的经济鱼类。本试验通过在饲料中添加豆粕替代不同比例的

鱼粉, 研究其对乌鳢生长性能、蛋白质利用和肠道组织形态的影响, 以探究乌鳢配合饲料中适宜的豆粕添加量, 从而为提高大豆蛋白在鱼类配合饲料中的利用效率、降低饲料成本提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验饲料组成及制作

参考聂国兴等^[10]的研究确定乌鳢的饲养标准及饲料营养水平。对照组 (D1 组) 饲料主要蛋白质源为鱼粉、鸡肉粉、血球蛋白粉和玉米蛋白粉, 其中鱼粉的添加量为 45%; 在对照组饲料的基础上, 用豆粕分别替代 20%(D2 组)、30%(D3 组)、40%(D4 组) 和 60%(D5 组) 的鱼粉, 配制 4 种试验饲料。试验饲料组成及营养水平见表 1, 氨基酸组成及含量见表 2。配制饲料前, 先将所有原料粉碎过 80 目筛, 混匀后加入鱼油和大豆卵磷脂充分混合, 再加入适量水混匀, 用双螺杆挤压机 (F-26III, 广州华南理工大学) 制成 3.0 mm×4.0 mm 的颗粒料, 于 50°C 干燥后置于 -20°C 冰箱中保存。各组饲料及饲料原料中的营养成分, 包括干物质、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分含量参照 AOAC(1995)^[11]提供的方法测定, 饲料中氨基酸含量采用液相色谱法^[12]测定。

表 1 试验饲料组成及营养水平 (干物质基础)
Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis) %

项目 Items	组别 Groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
原料 Ingredients					
鱼粉 Fish meal	45.00	36.00	31.50	27.00	18.00
高筋面粉 Strong flour	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00
豆粕 Soybean meal		13.20	19.70	26.30	39.50
纤维素 Cellulose	14.10	9.40	7.20	4.80	0.10
鸡肉粉 Chicken meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
血球蛋白粉 Spray-dried blood cells	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
玉米蛋白粉 Spray-dried blood cells	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
鱼油 Fish oil	1.60	2.10	2.30	2.60	3.10
维生素预混料 Vitamin premix ¹⁾	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
矿物质预混料 Mineral premix ²⁾	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
项目 Items	组别 Groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
氯化胆碱 Choline chlorine (95%)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels					
干物质 DM	90.45	89.52	90.19	89.07	89.30
粗蛋白质 Crude protein	44.32	44.33	44.30	44.31	44.32
粗脂肪 Crude lipid	9.10	9.09	9.04	9.09	9.08
粗灰分 Ash	10.44	10.30	10.38	10.37	10.42

1) 维生素预混料为每千克饲料提供 Vitamin premix provided the following per kg of diets:VA 32 mg,VD 5 mg,VE240 mg,VK 10 mg,VB₁25 mg,VB₂45 mg,VB₁₂10 mg,VC 2 000 mg, 烟酸 nicotinic acid 200 mg,VB₆20 mg, 生物素 biotin60 mg, 肌醇 inositol 800 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 60 mg, 叶酸 folic acid 20 mg, 微晶纤维素 microcrystalline cellulose1 473 mg。2) 矿物质预混料为每千克饲料提供 Mineral premix provided the following per kg of diets:CuSO₄·5H₂O 10 mg,Na₂SeO₃20 mg,MnSO₄·H₂O 45 mg,CoCl₂·6H₂O(1%)50 mg,ZnSO₄·H₂O 50 mg,Ca(IO₃)₂(1%)60 mg,FeSO₄·H₂O 80 mg,MgSO₄·7H₂O 1 200 mg, 沸石粉 zeolite powder 3 485 mg。

表 2 试验饲料中氨基酸组成与含量

Table 2 Amino acid composition and contents of experimental diets

氨基酸 Amino acids	组别 Groups				
	D1	D2	D3	D4	D5
必需氨基酸 EAA/%					
赖氨酸 Lysine	2.63	2.54	2.49	2.45	2.36
苏氨酸 Threonine	1.56	1.54	1.53	1.52	1.50
异亮氨酸 Isoleucine	1.54	1.55	1.56	1.57	1.58
缬氨酸 Valine	2.00	1.98	1.97	1.96	1.95
亮氨酸 Leucine	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30
苯丙氨酸 Phenylalanine	1.69	1.75	1.77	1.80	1.86
蛋氨酸 Methionine	0.98	0.90	0.86	0.82	0.74
酪氨酸 Tyrosine	1.25	1.26	1.27	1.27	1.29
组氨酸 Histidine	1.05	1.06	1.06	1.07	1.08
精氨酸 Arginine	2.18	2.25	2.28	2.32	2.39
必需氨基酸总和 Sum of EAA	17.80	17.74	17.69	17.67	17.63
非必需氨基酸 NEAA/%					
半胱氨酸 Cysteine	0.41	0.44	0.46	0.48	0.52
丙氨酸 Alanine	2.55	2.43	2.37	2.31	2.19
天冬氨酸 Aspartic acid	3.41	3.52	3.56	3.62	3.72
谷氨酸 Glutamic acid	5.35	5.62	5.75	5.89	6.16
甘氨酸 Glycine	2.29	2.14	2.07	1.99	1.85
丝氨酸 Serine	1.63	1.69	1.72	1.75	1.81
脯氨酸 Proline	1.84	1.89	1.91	1.93	1.98
非必需氨基酸总和 Sum of NEAA	17.48	17.73	17.84	17.97	18.23
必需氨基酸/非必需氨基酸 EAA/NEAA	1.02	1.00	0.99	0.99	0.97

1.2 试验动物及养殖管理

试验用乌鳢由江苏省盐城市射阳县河丰淡水养殖专业合作社提供, 养殖试验在扬州大学水产养殖温室内进行。所有乌鳢于循环水泥池 (2.0 m×2.0 m×0.6 m) 中暂养 2 周, 并饱食投喂商用配合饲料 (浙江兴龙马实业有限公司产品, 粗蛋白质含量为 45%)。试验开始前所有鱼禁食 24 h, 然后选择体质健壮、平均体重为 (19.07±0.07)g 的乌鳢 225 尾, 随机分为 5 组, 每组设 3 个重复, 每个重复放养 15 尾, 养殖容器为 200 L 的纤维玻璃钢桶。养殖期间, 每日投喂试验饲料 2 次 (08:00 和 18:00), 并根据摄食情况调整投喂量至饱食水平, 投喂 1 h 后收集残饵并烘干, 试验周期为 6 周。试验期间连续充气, 每日换水量为 1/2, 养殖水温为 27.5~31.5℃, 溶解氧浓度不低于 5.5 mg/L。

1.3 样品采集

养殖试验结束后,停喂乌鳢 24 h,逐尾鱼称重后记录终末体重,计算 WGR 和 SGR;计数每桶鱼的尾数,计算存活率 (SR);烘干并称量收集的残饵,计算饲料系数 (FCR) 和蛋白质效率 (PER)。

每组预留 2 尾鱼用于肠道组织形态取样,其余称重后逐尾解剖,取全肠道置于离心管中,并立即放入液氮中;去鳞片和表皮,取其背鳍以下、侧线以上的肌肉于密封袋中,该流程在冰上进行。最后将上述所采集的样品置于-80℃冰箱保存待测。

将每组预留的 2 尾乌鳢取出,解剖后取肠道后肠,后肠划分依据参考刘红梅^[13]。将后肠切成长度为 1 cm 左右的小段置于波恩氏液中固定,于 4℃冰箱保存待测。

1.4 指标测定

1.4.1 生长性能指标

生长性能指标计算公式如下:

$$\begin{aligned} \text{WGR}(\%) &= 100 \times (W_t - W_0) / W_0; \\ \text{SGR}(\%/d) &= 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t; \\ \text{SR}(\%) &= 100 \times N_t / N_0; \\ \text{FCR} &= I_t / (W_t - W_0); \\ \text{PER}(\%) &= 100 \times (W_t - W_0) / W_p. \end{aligned}$$

式中: W_0 为初始体重(g); W_t 为终末体重(g); t 为试验天数 (d); N_0 为初始鱼尾数; N_t 为终末鱼尾数; I_t 为每尾鱼平均摄入饲料质量(g); W_p 为每尾鱼平均摄入蛋白质总量(g)。

1.4.2 肌肉中营养成分含量

肌肉中水分、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分含量参照 AOAC(1995)^[11]提供的方法测定。

1.4.3 肠道蛋白酶活性

对全肠道样品称重后,加 9 倍体积的生理盐水,在冰水浴中匀浆,匀浆液于 3 000 r/min 离心 10 min 后取上清,4℃保存。肠道中糜蛋白酶、胰蛋白酶和胃蛋白酶的活性均采用试剂盒测定,组织匀浆液的蛋白质浓度采用考马斯亮蓝法进行测定,所有试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

1.4.4 肠道组织形态观察

采用苏木精-伊红 (HE) 染色法制作切片后观察肠道组织形态,具体方法参考林佳洁^[14]的研究。

1.5 数据统计与分析

采用 Excel 2003 和 SPSS 20.0 软件对所有数据进行统计分析，数据以平均值±标准差 (mean±SD) 表示，显著水平为 $P<0.05$ ，差异显著时以 Turkey's 法检测比较组间差异显著性。

2 结果

2.1 豆粕替代鱼粉对乌鳢生长性能的影响

豆粕替代鱼粉对乌鳢生长性能的影响见表 3。豆粕替代不同比例鱼粉对乌鳢的 SR 没有产生显著影响 ($P>0.05$)。乌鳢的终末体重、WGR 及 SGR 在 D1 和 D2 组间没有显著差异 ($P>0.05$)，二者均显著高于 D4 和 D5 组 ($P<0.05$)，而 D4 和 D5 组间无显著差异 ($P>0.05$)；D3 组乌鳢的终末体重、WGR 及 SGR 显著低于 D1 组 ($P<0.05$)，但与其余 3 组无显著差异 ($P>0.05$)。D4 和 D5 组乌鳢的 FCR 显著高于其余 3 组 ($P<0.05$)，但 D1、D2 和 D3 组间无显著差异 ($P>0.05$)。D4 和 D5 组乌鳢的 PER 显著低于其余 3 组 ($P<0.05$)，并且 D3 组乌鳢的 PER 显著低于 D1 和 D2 组 ($P<0.05$)，而 D1 和 D2 组间无显著差异 ($P>0.05$)。

表 3 豆粕替代鱼粉对乌鳢生长性能的影响

Table 3 Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth performance of *Channa argus* ($n=3$)

组别 Groups	初始体重 IBW/g	终末体重 FBW/g	增重率 WGR/%	特定生长率 SGR/(%/d)	饲料系数 FCR	蛋白质效率 PER/%	存活率 SR/%
D1	19.01±0.05	38.13±3.40 ^a	100.65±17.98 ^a	1.65±0.21 ^a	1.13±0.19 ^b	105.09±6.34 ^a	91.11±3.85
D2	19.00±0.05	35.31±1.56 ^{ab}	86.86±8.77 ^{ab}	1.47±0.11 ^{ab}	1.08±0.07 ^b	100.51±9.74 ^a	91.11±10.11
D3	19.00±0.05	33.44±0.80 ^{bc}	76.01±4.66 ^{bc}	1.35±0.06 ^{bc}	1.34±0.14 ^b	87.83±3.10 ^b	86.67±6.67
D4	19.00±0.03	30.40±0.68 ^c	60.00±3.39 ^c	1.12±0.05 ^c	1.75±0.14 ^a	69.17±3.94 ^c	93.33±4.10
D5	19.01±0.05	30.54±1.11 ^c	60.62±5.45 ^c	1.12±0.08 ^c	1.88±0.24 ^a	71.94±6.79 ^c	93.33±6.67

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 ($P>0.05$)，不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), and with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

2.2 豆粕替代鱼粉对乌鳢肌肉营养成分含量的影响

豆粕替代鱼粉对乌鳢肌肉营养成分含量的影响见表 4。豆粕替代不同比例鱼粉对乌鳢肌肉中粗蛋白质和粗灰分含量没有显著影响 ($P>0.05$)。乌鳢肌肉水分和粗脂肪含量在 D1、D2 和 D3 组间均无显著差异 ($P>0.05$)，但当豆粕替代鱼粉比例超过 40% 时，肌肉水分和粗脂肪含量受到了较大影响，其中 D4 和 D5 组肌肉水分含量显著低于 D1 组 ($P<0.05$)，而粗脂肪含量显著高于 D3 组 ($P<0.05$)。

表 4 豆粕替代鱼粉对乌鳢肌肉营养成分含量的影响

Table 4 Effects of replacing fish meal with soybean meal on muscle nutrient contents of *Channa argus* (n=3) %

组别 Groups	水分 Moisture	粗脂肪 Crude lipid	粗蛋白质 Crude protein	粗灰分 Ash
D1	80.08±0.35 ^a	1.92±0.31 ^{ab}	17.95±0.44	1.68±0.38
D2	79.95±0.40 ^{ab}	1.94±0.72 ^{ab}	18.17±0.42	1.69±0.71
D3	79.81±0.33 ^{ab}	1.87±0.27 ^b	17.94±0.28	1.71±0.26
D4	79.00±0.73 ^b	2.01±0.91 ^a	18.81±0.68	1.77±0.91
D5	78.91±0.70 ^b	2.02±0.67 ^a	18.94±0.60	1.78±0.67

2.3 豆粕替代鱼粉对乌鳢肠道蛋白酶活性的影响

豆粕替代鱼粉对乌鳢肠道蛋白酶活性的影响结果见表 5。随着豆粕替代鱼粉比例的增加，乌鳢肠道糜蛋白酶活性先降低后趋于稳定，其中，D1 和 D2 组间无显著差异 (P>0.05),D3 组显著低于 D1 组且显著高于 D4 和 D5 组 (P<0.05)，而 D4 和 D5 组间无显著差异 (P>0.05)；乌鳢肠道胰蛋白酶活性以 D1 组最高，D5 组最低，但 D2、D3 和 D4 组间无显著差异 (P>0.05)，且 D3、D4 和 D5 组间无显著差异 (P>0.05)；乌鳢肠道胃蛋白酶活性以 D5 组最低，且显著低于 D1 和 D2 组 (P<0.05)，但 D1、D2、D3 和 D4 组间无显著差异 (P>0.05)，同时 D3、D4 和 D5 组间也无显著差异 (P>0.05)。

表 5 豆粕替代鱼粉对乌鳢肠道蛋白酶活性的影响

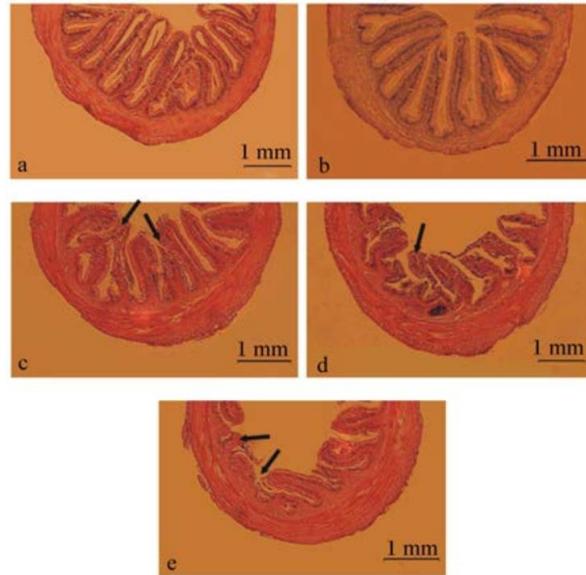
Table 5 Effects of replacing fish meal with soybean meal on intestinal protease activities of

组别 Groups	<i>Channa argus</i> (n=3)			U/mg prot
	糜蛋白酶 Chymotrypsin	胰蛋白酶 Trypsin	胃蛋白酶 Pepsin	
D1	23.02±0.82 ^a	2 113.38±105.15 ^a	16.49±2.00 ^a	
D2	21.94±2.14 ^{ab}	1 657.46±354.57 ^b	16.11±0.51 ^a	
D3	19.47±1.37 ^b	1 248.39±166.42 ^{bc}	14.21±1.83 ^{ab}	
D4	13.04±0.62 ^c	1 266.15±73.23 ^{bc}	13.23±1.36 ^{ab}	
D5	13.78±0.81 ^c	1 040.87±57.46 ^c	11.53±0.36 ^b	

2.4 豆粕替代鱼粉对乌鳢肠道组织形态的影响

如图 1 所示，豆粕替代不同比例鱼粉不同程度地影响了乌鳢的肠道组织形态。其中，D1 和 D2 组乌鳢肠道结构完整，褶皱长而紧密，肠壁完整；D3 组乌鳢肠道肠壁厚度不均匀，肠道褶皱形态与 D1 组差异不大，但褶皱相对稀疏且宽度较大，部分褶皱受到破坏；与 D1 和 D2 组相比，D4 和 D5 组乌鳢肠道肠壁增厚，褶皱短而粗、分布稀疏，

且多处褶皱受到损伤。



a,b:D1 和 D2 组肠道褶皱长而均匀,分布密集,肠壁厚度均匀,肠道完整性好; c:D3 组肠道褶皱长而粗,分布相对稀疏,箭头所示部分褶皱破裂,且肠壁厚度不均匀; d:D4 组肠道肠壁厚度增加,褶皱短而粗,分布稀疏,且多处褶皱受到损伤,箭头示肠道褶皱受到破坏; e:D5 组肠道肠壁厚度增加且不均匀,褶皱短而粗,分布稀疏,箭头示褶皱结构被严重破坏。

a,b:the intestinal folds of groups D1 and D2 were long and uniform with dense distribution,uniform intestinal wall thickness and good intestinal integrity;c:the intestinal folds in group D3 were long and thick,relatively sparse in distribution,with multiple folds ruptured as indicated by arrows,and uneven intestinal wall thickness;d:the thickness of intestinal wall increased in group D4,and the folds were short and thick with sparse distribution,moreover,multiple folds were damaged,and the arrows showed that intestinal folds were destroyed;e:the thickness of intestinal wall in group D5 was increased and uneven,with short and thick folds and sparse distribution,and arrows showed that the fold structure was seriously damaged.

图 1 豆粕替代鱼粉对乌鳢肠道组织形态的影响

Fig.1 Effects of replacing fish meal with soybean meal on intestinal tissue morphology of *C. argus*

3 讨论

研究表明,豆粕替代饲料中高比例鱼粉会对鱼类的生长性能产生不利影响。例如,李宗升^[15]的研究发现,随着豆粕替代鱼粉比例(0、20%、30%、40%)的提高,大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)幼鱼的 SGR 和 WGR 呈现下降趋势,FCR 有上升趋势。谢敏等^[16]研究发现,当饲料中使用超过 20%的豆粕替代鱼粉时,鳊鱼(*Elopichthys bambusa*)的 WGR 和 SGR 显著下降,FCR 显著升高。饲料中豆粕替代鱼粉高比例引起生长性能下降可能与肠道健康和豆粕氨基酸不平衡有关。

张帆等^[17]研究表明,当大黄鱼(*Larimichthys crocea*)饲料中豆粕替代鱼粉比例为 40%~45%时,肠壁的厚度明显变小。张锦秀等^[18]使用分离大豆蛋白替代不同鱼粉,研究其对幼建鲤(*Cyprinus carpio var.Jian*)肠道组织结构的影响时也发现,当饲料中豆粕

添加量为 60%~100%时, 幼建鲤的前、后肠出现上皮顶端细胞脱落、固有层变宽, 肠上皮完整性受损。在本研究中, 当豆粕替代鱼粉比例超过 30%时, 乌鳢肠道内多处褶皱出现破裂, 且褶皱高度明显降低, 肠道组织结构受到损伤, 从而严重影响了乌鳢的肠道健康。该结论与 Escaffre 等^[19]的研究结果一致, 即: 豆粕替代一定比例鱼粉会造成鱼类肠道组织的破坏, 从而对鱼类的肠道健康产生不利影响^[20]。实际上, 大豆原料中固有的抗营养因子, 如蛋白酶抑制因子、大豆凝集素、大豆皂苷和植酸等, 能够通过改变鱼类肠道黏膜形态和通透性, 显著降低饲料中蛋白质的利用率, 从而影响鱼体对饲料中营养物质的吸收和利用^[21]。例如, Krogdahl 等^[22]通过向鱼粉基础饲料中添加不同水平的胰蛋白酶抑制因子 (0、0.74%、1.11%、1.48%) 饲喂虹鳟, 结果发现虹鳟的蛋白质消化率由 93%降低至 70%, 且肠道蛋白酶活性与蛋白质消化率呈线性相关; Wee 等^[23]研究发现, 饲料中添加 5~10 g/kg 的植酸会使鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 的生长性能显著下降; Buttle 等^[24]的研究揭示, 大豆凝集素在鱼体内能够与肠道上皮细胞结合, 从而导致鱼类肠道的病理性变化。在本研究中, 当豆粕替代鱼粉比例超过 30%时, 饲料中的胰蛋白酶抑制因子含量根据李莹等^[25]的方法估算超过 1.35 mg/kg, 而乌鳢的肠道褶皱高度变低、分布稀疏, FCR 显著上升, 故高添加量的豆粕对肠道健康的影响可能与豆粕中的抗营养因子有关, 在乌鳢中二者的相关性还需要进一步的研究。另外, 蛋白酶作为鱼类肠道内的重要蛋白质分解酶^[26], 其活性能够反映鱼类对饲料蛋白质的分解能力^[27]。在本研究中, 乌鳢肠道中胰蛋白酶、糜蛋白酶和胃蛋白酶的活性随着饲料中豆粕添加量的升高而降低, 表明较高添加量的豆粕影响了乌鳢对饲料蛋白质的利用。

研究证明, 豆粕对鱼类生长和饲料利用的影响也与豆粕中氨基酸组成和含量的不平衡有关^[28]。Andrews 等^[29]也认为大豆蛋白的氨基酸不平衡是其与鱼粉蛋白的差异之处。艾庆辉等^[28]研究发现, 大豆蛋白的过量使用将造成饲料中氨基酸组成和含量的不平衡。在本研究中, 随着饲料中豆粕添加量的增加, 饲料中蛋氨酸的含量呈明显的下降趋势, 而谷氨酸的含量逐渐上升。Nwanna 等^[30]研究表明, 饲料中蛋氨酸缺乏会显著降低鲤鱼的蛋白质和脂肪沉积量。Sveier 等^[31]研究发现, 饲料中蛋氨酸缺乏会显著降低大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的生长性能和蛋白质利用率。在本研究中, 随着豆粕替代鱼粉比例的增加, 乌鳢的 FCR 逐渐上升, 而 WGR 则逐渐下降。冷向军等^[32]研究发现, 在无鱼粉饲料中添加蛋氨酸能显著提高奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*×*O.aureus*) 的生长性能和营养物质消化率。同时, Caballero-Solares 等^[33]研究发现使用添加谷氨酸的饲料饲喂大

西洋鲷 (*Sparus aurata*) 能提高大西洋鲷体脂肪的含量。Zhao 等^[34]在研究饲料中添加谷氨酸对草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 的影响时发现, 谷氨酸添加量为 16 g/kg 组草鱼肠道的褶皱高度和胰蛋白酶活性显著低于谷氨酸添加量为 8 g/kg 组。本研究结果表明, 随着饲料中谷氨酸含量的提高, 乌鳢肌肉中粗脂肪含量逐渐上升, 并且高替代比例组 (D4 和 D5 组) 的肠道褶皱高度明显降低。此外, 大豆中的非淀粉多糖会降低鱼类对脂肪的吸收和利用^[35]。王裕玉等^[36]在饲料中添加不同水平的豆粕, 发现乌苏里拟鲮 (*Pseudobagrus ussuriensis*) 的体成分有显著变化, 高豆粕组肌肉中粗蛋白质和粗脂肪含量显著降低。但在本研究中, 肌肉中粗脂肪含量却随着豆粕添加量的增加而逐渐上升, 推测造成这一结果的原因可能与饲料中谷氨酸的含量有关, 据报道, 谷氨酸能显著增强鱼类对脂肪的吸收与利用^[33]。

除了以上因素外, 鱼类对豆粕的耐受能力还与鱼的种类和生长阶段等因素有关^[37]。例如, Lin 等^[38]分别用 0、25%、50%、75%、100% 的豆粕替代鱼粉饲养奥尼罗非鱼幼鱼 8 周后发现, 当饲料中豆粕替代鱼粉比例小于 75% 时, 对奥尼罗非鱼的生长性能和饲料效率无显著影响, 当豆粕替代鱼粉比例达到 100% 时, 奥尼罗非鱼的生长性能和饲料效率均显著降低。张帆等^[17]在研究豆粕替代 0、35%、40%、45% 的鱼粉对大黄鱼幼鱼的影响时发现, 豆粕替代 35% 的鱼粉对大黄鱼的生长性能、肠道和肝脏组织结构没有产生显著影响, 但当豆粕替代鱼粉比例超过 35% 时, 大黄鱼肠道蛋白酶活性显著降低, 且肠道厚度变小、小肠绒毛稀疏。本研究中, 当豆粕替代鱼粉比例为 20% 时, 乌鳢的 WGR、SGR 和 FCR 与纯鱼粉对照组 (D1 组) 无显著差异, 且 PER 显著高于纯鱼粉对照组, 同时该替代比例的豆粕对乌鳢肠道蛋白酶活性和肠道结构未产生显著影响; 但当豆粕替代比例超过 20% 时, 乌鳢的 WGR 和 PER 显著降低, FCR 显著升高, 蛋白酶活性呈下降趋势, 并且肠道结构受到破坏。

4 结论

当乌鳢饲料中豆粕替代鱼粉的比例超过 20% 时, 乌鳢的肠道褶皱短而粗、分布稀疏、部分褶皱受到明显损伤, 蛋白酶活性显著下降, 饲料利用效率和 PER 及乌鳢的 WGR 和 SGR 均显著降低。因此, 在本试验条件下, 乌鳢饲料中豆粕替代鱼粉的比例不宜超过 20%。

参考文献:略

摄食不同水平饲料蛋白质对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肠道组织形态和菌群组成的影响

麦浩彬 郭鑫伟 王金港 迟淑艳 董晓慧 杨奇慧 刘泓宇 章双

广东海洋大学水产动物营养与饲料实验室 广东省水产动物精准营养与高效饲料工程技术研究中心
农业农村部华南水产与畜禽饲料重点实验室

摘要: 为研究饲料蛋白质水平对石斑鱼肠道微生态群落的影响,以红鱼粉和酪蛋白为蛋白源,鱼油和豆油为脂肪源,高筋面粉和玉米淀粉为碳水化合物源,配制 6 组不同蛋白质水平(35%、40%、45%、50%、55%和 60%的等脂等能饲料,分别记为 P35、P40、P45、P50、P55、P60 组),投喂初始质量为(6.50±0.00)g 的珍珠龙胆石斑鱼 *Epinephelus lanceolatus*♂×*Epinephelus fuscoguttatus*♀幼鱼 8 周,试验结束时取其肠道组织观察肠道组织形态,并分析肠道菌群组成。结果表明:P50 组前肠和后肠皱襞高度显著高于 P40、P45 和 P60 组(P<0.05),而皱襞宽度则显著低于 P35 和 P40 组(P<0.05);P50 组中肠和后肠隐窝深度均取到最小值,P50 组各肠段肌层厚度均取到最大值;Illumina MiSeq 测序显示,多样性指数(Shannon、Simpson、Coverage 指数)和 Ace 指数均无显著性差异(P>0.05),P55 和 P60 组的 Chao 指数显著高于 P40、P45 和 P50 组(P<0.05);从门水平上看,各组优势菌落为变形菌门 Proteobacteria、放线菌门 Actinobacteria、厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes,P50 组变形菌门含量最低且厚壁菌门含量最高;从属水平上看,红球菌属 *Rhodococcus*、罗尔斯通氏菌属 *Ralstonia* 和不动杆菌属 *Acinetobacter* 为各组优势菌落,P50 组乳酸杆菌属 *Lactobacillus* 含量最高,不动杆菌属、假单胞菌属 *Pseudomonas* 和互营杆菌属 *Syntrophobacter* 含量均有所下降。研究表明,摄食不同蛋白质水平的饲料对珍珠龙胆石斑鱼肠道菌群多样性无显著性影响,但显著影响肠道菌群丰富度和肠道组织形态,饲料蛋白质水平为 50%时不仅能有效改善肠道组织形态,优化肠道升级,还有助于乳酸菌等有益菌属定植并减少致病菌含量。

关键词: 珍珠龙胆石斑鱼; 蛋白质水平; 肠道组织形态; 肠道菌群;

Effects of dietary protein levels on intestinal tract histomorphology and microflora composition in juvenile pearl gentian grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀)

MAI Haobin GUO Xinwei WANG Jingang CHI Shuyan DONG Xiaohui YANG Qihui LIU

Hongyu ZHANG Shuang

Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, Guangdong Ocean University Research Center for Accurate Nutrition and Highly Efficient Feed Engineering of Aquatic Animals of Guangdong Province Key Laboratory of Aquatic, Livestock and Poultry Feed Science and Technology in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs

Abstract: Juvenile pearl gentian grouper(*Epinephelus lanceolatus*♂× *E. fuscoguttatus*♀) with body weight

6.50 g were reared in a 1 m³ tank and fed isonitrogen and isoenergetic diets containing protein levels of 35%(P35), 40%(P40), 45%(P45), 50%(P50), 55%(P55) and 60%(P60) at water temperature of 28-30 °C for 8 weeks to investigate the effect of the dietary protein level on intestinal tract histomorphology and microflora composition of hybrid grouper. It was found that there was significantly higher villus height in foregut and hindgut in group P50 than that in groups P40, P45 and P60(P<0.05), and significantly lower villus width than that in groups P35 and P40(P<0.05), with the minimal crypt depth in midgut and hindgut in group P50. The maximal muscle thickness was observed in group P50, without significant differences in the diversity indices of Shannon, Simpson, Coverage, and ACE(P>0.05), significantly higher Chao index only in groups P60 and P55 than that in groups P40, P45 and P50(P<0.05). At the phylum level, the dominant colonies of each group were Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria and Bacteroidetes, with the minimal Proteobacteria and the maximal Firmicutes in group P50. At the level of genus, Rhodococcus, Ralstonia, Acinetobacter and Pseudomonas were dominant species, with the maximal Lactobacillus, and lower Acinetobacter, Pseudomonas, and Syntrophobacter in group P50. It can be concluded that the diversity of intestinal flora was not affected significantly by dietary protein levels, while abundance of intestinal flora and intestinal histomorphology is involved in dietary protein levels in pearl gentian grouper, effectively improved intestinal histomorphology in pearl gentian grouper fed diet containing 50% of protein, which helps colonize beneficial bacteria such as Lactobacillus and reduces the content of pathogenic bacteria.

Keyword : *Epinephelus lanceolatus*♂×*E.fuscoguttatus*♀; protein level; intestinal histomorphology; intestinal flora;

蛋白质是饲料中最昂贵的成分,直接影响饲料成本,制约着水产养殖业的发展,为此寻求一个既节约成本又能保证鱼类快速生长的营养方案对优化鱼类养殖业至关重要^[1]。鱼类生长主要是体内蛋白质沉积,而鱼体规格和蛋白质的种类均会影响其需求量。大量研究证实,饲料蛋白质水平为 40%~56%时,可促进石斑鱼健康快速生长^[2,3,4]。早期研究发现,以体质量特定增长率为评价指标,经线性模型得出珍珠龙胆石斑鱼幼鱼(初始体质量为 6.50 g±0.00 g)最适蛋白质需求量为 51.57%^[5]。适宜的蛋白质水平不仅可以增强动物自身免疫力、改善机体肠道组织形态^[6,7],还可优化肠道微生态环境^[8,9],从而提高鱼体增重率。

高蛋白质日粮投喂断奶仔猪会抑制肠绒毛生长,从而提高仔猪腹泻率,而适当降低日

粮蛋白质水平并补充主要氨基酸则有利于改善肠道健康,从而促进机体生长^[10],饲料蛋白质水平能够调节水貂空肠各项形态指标^[11]。此外,作为宿主的一个组成部分的肠道微生物群落也受到饲料蛋白质水平影响。珍珠龙胆石斑鱼 *Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀是由鞍带石斑鱼 *E.lanceolatus*♂和棕点石斑鱼 *E.fuscoguttatus*♀杂交而来,具有肉质鲜美、生长速度快、适应能力强、经济效益高和发展潜力大等特点^[12]。目前的研究表明,石斑鱼肠道菌群组成受水体环境^[13]、摄食类型^[14]、不同生长阶段^[15]、禁食和摄食^[16]等因素的影响,但关于饲料蛋白质水平对珍珠龙胆石斑鱼肠道形态和肠道菌群的影响尚未见报道。本研究中,通过评估珍珠龙胆石斑鱼摄入不同水平蛋白质饲料后的肠道形态及其肠道菌群结构,以期了解饲料蛋白质水平对石斑鱼肠道微生态群落的影响,为龙胆石斑鱼饲料的开发及其增养殖提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

试验用鱼珍珠龙胆石斑鱼幼鱼购自广东省雷州市石斑鱼苗场。试验用水为经过沉淀、沙滤的天然海水。维生素预混料和矿物质预混料由青岛玛斯特生物技术有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 试验饲料配制

以红鱼粉和酪蛋白为蛋白源,鱼油和豆油为脂肪源,高筋面粉和玉米淀粉为糖源,配制 6 组蛋白质水平分别为 35%、40%、45%、50%、55%、60%的等脂等能饲料(记为 P35、P40、P45、P50、P55 和 P60 组),所有原料经粉碎后过 60 目筛,按饲料配方(表 1)准确称取后搅拌均匀,微量组分采取逐级扩大法混合均匀,再通过 V 型立式混合机(浙江正泰电器股份有限公司,JS-14S 型)充分混匀,加入预先称取并混合好的鱼油和豆油,边搅拌边添加适量的水,用双螺杆挤条机(华南理工大学,F-75 型)制成粒径为 2.5 mm 的颗粒饲料。自然风干至水分含量为 10%左右时,用封口袋分装后置于冰箱(-20 °C)中保存备用。

表 1 试验饲料配方和营养水平 (风干基础)
Tab. 1 Ingredients and nutrient levels of the test diets (air-dry basis)

组别 group	原料 ingredient			营养水平 nutrient level				
	酪蛋白 casein	玉米淀粉 corn starch	微晶纤维素 cellulose	水分 moisture	粗蛋白质 crude protein	粗脂肪 crude lipid	粗灰分 crude ash	总能/(MJ·kg ⁻¹) gross energy
P35	5.54	29.00	0.38	10.03	36.05	12.81	6.70	20.23
P40	11.28	23.20	0.44	9.82	41.18	12.54	6.80	20.48
P45	17.04	17.40	0.48	9.84	45.75	14.99	6.82	20.73
P50	22.80	11.60	0.52	9.84	50.48	13.23	8.33	20.99
P55	28.56	5.80	0.56	10.06	55.20	12.51	8.16	21.24
P60	34.32	0.00	0.60	10.23	60.73	13.10	8.36	21.49

注: 原料中还包括红鱼粉 38.00%, 高筋面粉 16.00%, 鱼油 4.30%, 豆油 4.30%, 氯化胆碱 0.30%, 磷酸二氢钙 Ca (H₂PO₄)₂ 1.00%, 维生素预混料 0.30%, 矿物质预混料 0.70%, 维生素 C 0.05%, 乙氧基喹啉 0.03%, 诱食剂 0.10%

Note: The other ingredients include brown fish meal of 38.00%, bread flour 16.00%, fish oil 4.30%, soybean oil 4.30%, choline chloride 0.30%, Ca (H₂PO₄)₂ 1.00%, vitamin premix 0.30%, mineral premix 0.70%, vitamin C 0.05%, ethoxyquin 0.03%, and attractant 0.10%

1.2.2 试验设计及饲养管理

将珍珠龙胆石斑鱼幼鱼在室内玻璃钢桶(1 m³)中驯化 10 d,期间投喂石斑鱼商业配合饲料(广东上上生物科技有限公司,粗蛋白质≥49%,粗脂肪≥8%)。待石斑鱼稳定并适应养殖环境后,挑选健康、规格一致的试验鱼(体质量为 6.50 g±0.00 g)随机分配到 18 个养殖桶中,养殖 8 周。试验共设 6 个处理组,每个处理设 3 个重复,每个重复 30 尾鱼,分别投喂 6 种不同蛋白质含量的试验饲料。每天饱食投喂两次(8:00 和 16:00)。养殖试验在国家(863)项目海水养殖种子工程南方基地进行。

养殖期间,水温为 28~30 °C,海水盐度为 27~29,不间断充氧气,溶解氧≥5 mg/L,氨氮含量≤0.03 mg/L。定期清洗玻璃钢桶,并定时观察石斑鱼摄食情况,根据摄食情况及时调整,记录投喂量和鱼体死亡情况。

1.2.3 样品采集与处理

养殖试验结束后,禁饲 24 h 后取样。将石斑鱼用丁香酚(1 : 10 000)麻醉后,从每个重复取 2 尾鱼解剖,取其肠道并分为前肠、中肠和后肠分别置于 10%甲醛溶液中,用于制作肠道切片;再从每个重复中随机取 3 尾鱼,用 75%酒精擦拭体表,用无菌解剖剪剪开腹部,取出肠道,用 0.9%的无菌生理盐水冲洗肠道外壁,置于-80 °C下保存用于菌落分析。

1.2.4 DNA 提取及 PCR 扩增

根据 E.Z.N.A.[®] soil 试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.)说明书进行总 DNA 抽提,DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测,用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量;用 338-F(5'ACTCCTACGGGAGGCAGCAG 3')和 806-R(5'GGACTACHVGGGTWTCTAAT 3')引物对 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。扩增程序为:95 °C下预变性 3 min;95 °C下变性 30 s,55 °C下退火 30 s,72 °C下延伸 30 s,共进行 27 个循环;最后在 72 °C下再延伸 10 min(PCR 仪,ABI GeneAmp[®] 9700 型)。PCR 扩增体系(共 20 μL)包含:4 μL 5×FastPfu 缓冲液,2 μL 2.5 mmol/L dNTPs,0.8 μL 引物(5 μmol/L),0.4 μL FastPfu 聚合酶,10 ng DNA 模板。

1.2.5 MiSeq 测序及指标计算

使用 20 g/L 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化,用 Tris-HCl 洗脱,洗脱后用连接“Y”接头,使用磁珠筛选去除接头自连片段,利用 PCR 扩增进行文库模板的富集并以 0.1 mol/L 氢氧化钠变性,产生单链 DNA 片段,构建测序文库后,在 Illumina 公司的 MiSeq PE300 平台进

行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

数据分析流程:原始数据→连接质控→优化数据→OUT 聚类→数据分析与信息挖掘。使用 UPARSE 软件(Version 7.1,<http://drive5.com/uparse/>),根据 97%的相似度对序列进行 OTU 聚类,利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>)对每条序列进行物种分类注释,比对 Silva 数据库(SSU123),设置比对阈值为 70%。利用香农指数(Shannon)、辛普森指数(Simpson)、Ace 和 Chao 指数评估各组细菌多样性和丰富度。

1.2.6 H.E 染色、切片

取用 10%甲醛固定好的珍珠龙胆石斑鱼前肠、中肠和后肠样本,分别常规石蜡包埋,切片厚度为 6 μm ,用苏木精-伊红(H.E)染色,在 4 倍全自动生物显微镜(DM600)下观察和拍照,每张切片分别用体视显微镜(SZX7)测定 10 个点的皱襞高度(PH)、皱襞宽度(PW)、隐窝深度(CD)和肌层厚度(MT)数据。

1.3 数据处理

试验数据均以平均值 \pm 标准差(mean \pm S.D.)表示,试验数据用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA),用 Duncan 法进行组间多重比较,显著性水平设为 0.05。

2 结果与分析

2.1 珍珠龙胆石斑鱼肠道组织形态的变化

从图 1 可见:前肠中,饲料蛋白质水平超过 45%时,肌层厚度明显变大,P50 组皱襞比其他组更加浓密;中肠中,P50 组皱襞发育明显比其他组好,皱襞高且规则,而 P40、P55 和 P60 组与其他组相比,皱襞相对较短,形状不规则;后肠中,P35 和 P40 组皱襞出现脱落、变形,随着蛋白质水平升高其现象略有改善,在 P50 组获得良好效果,而随后皱襞又开始变得稀疏、变形且开始有损伤。

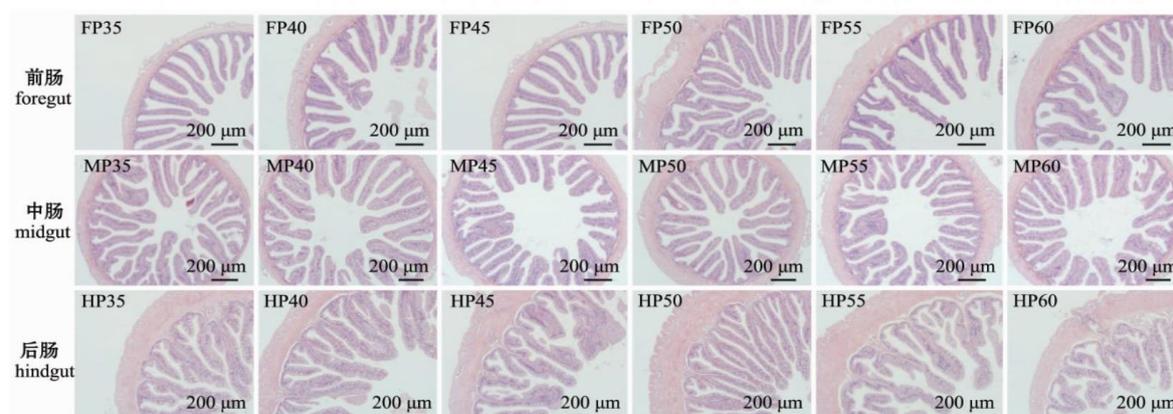


图 1 饲料蛋白质水平对珍珠龙胆石斑鱼前肠、中肠和后肠组织形态的影响

Fig. 1 Effects of dietary protein levels on histomorphology of the foregut, midgut and hindgut of juvenile pearl gentian grouper

从表 2 可见:前肠中,P50 和 P55 组皱襞高度显著高于其他组($P<0.05$),P50 组皱襞宽度显著低于除 P60 组外的其他组($P<0.05$),隐窝深度各组间并无显著性差异($P>0.05$),皱襞高度与隐窝深度的比值中,P55 组显著高于 P35 和 P40 组($P<0.05$),P50、P55 和 P60 组肌层厚度显著高于 P35、P40 和 P45 组($P<0.05$);中肠中,各组皱襞高度并未见显著性差异($P>0.05$),P50 组的皱襞宽度显著低于 P35 和 P40 组($P<0.05$),P50 组隐窝深度显著低于 P45 组($P<0.05$),P45 组皱襞高度与隐窝深度的比值显著低于其他组($P<0.05$),P50 组肌层厚度显著高于除 P40 组外的其他组($P<0.05$);后肠中,P50 和 P55 组皱襞高度显著高于 P40、P45 和 P60 组($P<0.05$),P50 组皱襞宽度和隐窝深度显著低于 P35 组($P<0.05$),P50 组皱襞高度与隐窝深度的比值显著高于除 P55 组外的其他组($P<0.05$),P50 和 P55 组肌层厚度显著高于 P45 组($P<0.05$)。

表 2 珍珠龙胆石斑鱼肠道显微指标

Tab. 2 Histomorphological microstructure of intestine in juvenile pearl gentian fed diets containing various levels of protein

肠道 intestine	组别 group	皱襞高度(PH) villus height	皱襞宽度(PW) villus width	隐窝深度(CD) crypt depth	皱襞高度/隐窝深度 PH/CD	肌层厚度(MT) muscle thickness
前肠 foregut	P35	344.67±28.32 ^a	29.90±3.30 ^b	38.00±4.59	9.50±0.38 ^a	71.86±6.68 ^a
	P40	369.69±1.34 ^a	30.31±0.40 ^b	38.78±5.54	8.79±2.52 ^a	74.69±0.46 ^a
	P45	350.21±6.67 ^a	29.99±0.12 ^b	35.52±3.42	9.97±1.19 ^{ab}	70.24±4.45 ^a
	P50	433.33±8.81 ^b	25.87±0.52 ^a	36.53±3.04	12.11±1.16 ^{ab}	125.96±10.21 ^b
	P55	432.06±8.85 ^b	29.54±0.05 ^b	35.52±2.03	13.00±0.20 ^b	121.27±2.24 ^b
	P60	366.91±34.07 ^a	29.26±1.02 ^{ab}	37.75±0.59	9.71±0.75 ^{ab}	109.34±12.24 ^b
中肠 midgut	P35	256.34±41.24	34.85±1.23 ^{bc}	32.23±2.08 ^{ab}	7.10±0.00 ^{bc}	58.97±0.77 ^b
	P40	274.69±8.73	38.38±1.49 ^c	34.76±2.04 ^{ab}	7.53±0.36 ^c	62.10±3.77 ^{bc}
	P45	256.94±13.60	32.48±2.89 ^{ab}	35.26±2.96 ^b	6.36±0.15 ^a	57.68±3.08 ^b
	P50	261.49±29.12	27.75±2.56 ^a	30.54±1.02 ^a	7.26±0.07 ^{bc}	66.54±2.87 ^c
	P55	253.80±27.32	29.92±2.04 ^{ab}	32.91±1.63 ^{ab}	6.93±0.22 ^b	54.65±5.11 ^{ab}
	P60	238.37±10.77	29.84±4.85 ^{ab}	30.83±2.97 ^{ab}	7.56±0.19 ^c	48.56±3.67 ^a
后肠 hindgut	P35	423.33±3.27 ^{cd}	40.52±3.21 ^{bc}	39.99±1.49 ^b	10.77±0.56 ^{bc}	119.02±1.16 ^{ab}
	P40	410.19±10.77 ^c	43.85±2.53 ^c	39.30±0.96 ^{ab}	10.07±1.84 ^{ab}	126.23±13.19 ^{ab}
	P45	249.22±6.99 ^a	36.21±2.19 ^{ab}	34.51±4.64 ^{ab}	9.59±0.04 ^{ab}	100.88±25.86 ^a
	P50	434.97±4.10 ^d	33.87±2.45 ^a	33.19±0.70 ^a	12.83±0.18 ^d	141.49±18.85 ^b
	P55	433.32±14.69 ^d	37.37±1.85 ^{ab}	36.83±2.77 ^{ab}	11.49±0.08 ^{cd}	142.18±3.24 ^b
	P60	357.57±3.34 ^b	36.74±3.49 ^{ab}	38.22±2.94 ^{ab}	9.18±0.79 ^a	113.12±14.80 ^{ab}

注: 同列中标有不同字母表示同一组织不同组间有显著性差异 ($P<0.05$), 标有相同字母者表示组间无显著性差异 ($P>0.05$), 下同
 Note: The means with different letters within the same column are significant differences in different groups in same tissue ($P<0.05$), and the means with the same letters within the same column are not significant differences ($P>0.05$), et sequentia

2.2 珍珠龙胆石斑鱼肠道微生物多样性的变化

2.2.1 Alpha 多样性分析

从表 3 可见:各试验组间基于 Ace 指数的 Alpha 多样性无显著性差异($P>0.05$);P55 和 P60 组 Chao 指数显著高于 P40、P45 和 P50 组($P<0.05$);各组间 Shannon 和 Simpson 的多样性指数分别为 4.02~4.95、0.03~0.04,不同蛋白质水平对石斑鱼幼鱼肠道细菌多样性无显著性影响($P>0.05$);各组 Coverage 指数均在 0.99 以上,说明未被检测细菌可能性较少。

表 3 珍珠龙胆石斑鱼肠道 Alpha 多样性 (n=3)

Tab. 3 Alpha diversity in the intestinal tract of juvenile pearl gentian fed diets containing various levels of protein (n=3)

组别 group	序列 sequence	Ace	Chao	Shannon	Simpson	Coverage
P35	29965	794.32±259.37	819.50±0.71 ^{bc}	4.95±1.10	0.04±0.00	0.9969
P40	35671	645.11±3.41	657.06±9.28 ^a	4.17±0.39	0.04±0.00	0.9983
P45	34864	558.15±0.06	558.20±0.01 ^a	4.02±1.15	0.03±0.00	0.9982
P50	31523	661.45±4.57	669.94±14.58 ^{ab}	4.60±0.23	0.04±0.00	0.9984
P55	39221	854.95±133.06	871.30±151.92 ^c	4.73±0.36	0.05±0.02	0.9985
P60	31753	832.52±27.19	858.12±11.48 ^c	4.67±0.58	0.04±0.01	0.9968

2.2.2 肠道菌落结构组成

门水平上定义相对丰度≥10%为占主导地位的细菌群。石斑鱼肠道菌群优势门依次为变形菌门 Proteobacteria、放线菌门 Actinobacteria、厚壁菌门 Firmicutes 和拟杆菌门 Bacteroidetes,且总含量均高于 85%。变形菌门在 P50 组含量最低,在其他组均较高;放线菌门在 P45 组含量最高,在其他组均有所下降且蛋白质水平超过 50%时逐渐降到稳定水平;蛋白质含量超过 45%时,厚壁菌门和拟杆菌门含量均有所升高,其中 P50 组含量较高(表 4)。

表 4 珍珠龙胆石斑鱼肠道中门水平细菌种群及含量

Tab. 4 Communities and relative abundance of bacteria in the intestine of juvenile pearl gentian grouper at the level of phylum %

组别 group	变形菌门 Proteobacteria	放线菌门 Actinobacteria	厚壁菌门 Firmicutes	拟杆菌门 Bacteroidetes	梭杆菌门 Fusobacteria	互养菌门 Synergistetes	绿弯菌门 Chloroflexi	螺旋菌门 Spirochaetae	未分类菌 unidentified bacteria	异常球菌 Deinococcus-Thermus
P35	45.46	27.25	13.04	5.87	0.63	0.98	0.76	0.62	0.71	1.11
P40	44.73	35.69	11.58	3.21	0.08	0.51	0.43	0.86	0.70	0.17
P45	34.51	45.20	12.17	3.56	1.42	0.00	0.27	0.01	0.18	1.12
P50	27.72	24.19	29.55	11.13	3.03	0.00	0.15	0.12	0.32	0.51
P55	36.45	20.50	18.98	9.40	1.32	2.82	1.98	1.78	0.75	0.83
P60	32.81	20.59	19.24	13.56	4.41	1.03	1.03	1.00	1.68	0.22

表 5 珍珠龙胆石斑鱼肠道中属水平细菌种群及含量

Tab. 5 Communities and relative abundance of bacteria in the intestine of juvenile pearl gentian grouper at the level of genus %

组别 group	红球菌属 Rhodococcus	罗尔斯通菌属 Ralstonia	不动杆菌属 Acinetobacter	假单胞菌属 Pseudomonas	大肠杆菌-志贺菌属 Escherichia-shigella	拟杆菌目 S24-7 群 in Bacteroidales	拟杆菌属 Bacteroides	互营杆菌属 Syntrophobacter	乳酸杆菌属 Lactobacillus	未分类毛螺菌科 unidentified bacteria in Lachnospiraceae
P35	23.78	5.87	7.68	4.26	1.94	1.51	1.85	1.4	0.75	0.59
P40	31.77	7.75	8.04	6.25	3.41	1.02	0.27	1.82	0.29	0.58
P45	41.51	7.57	6.28	4.51	4.60	1.17	1.70	0	2.60	1.27
P50	19.08	6.17	3.05	4.07	3.66	5.39	1.79	0	4.48	2.48
P55	15.83	6.03	5.24	4.76	2.01	3.73	1.09	5.52	2.70	1.65
P60	14.72	4.94	4.10	2.42	2.58	1.45	6.95	3.26	1.19	2.79

在属水平上,红球菌属 Rhodococcus、罗尔斯通菌属 Ralstonia 和不动杆菌属 Acinetobacter 是肠道细菌群落中最具优势的 3 个属。从表 5 可见:红球菌属含量在各组

中均为最高,P40 和 P45 组分别高达 31.77%和 41.51%,而其他组只占 14%~24%;各组罗尔斯通菌属数值上差异不大;蛋白质含量超过 45%时,不动杆菌属含量均有所下降,其中 P50 组含量最低;假单胞菌属在 P40 组含量最高,在 P60 组含量最低,而在其他组差异不大;乳酸杆菌属则在 P50 组中含量最高,在其他组含量均有所下降;P45 和 P50 组未检测到互营杆菌属细菌。

以样品的 OUT 数为依据构建 Venn 图,比较分析 P35、P50 和 P60 组间细菌多样性。从图 2 可见:3 个处理组克隆样品 OUT 数分别为 310、294 和 409,总数为 1013,其中有 153 个共同 OUT,占总数 15.10%;P35、P50 和 P60 组单独具有的 OUT 数分别为 59、54 和 119,分别占总数的 5.82%、5.33%和 11.74%;P35 与 P50、P35 与 P60、P50 与 P60 组共有 OUT 数分别为 177、277 和 216,分别占其中两组总数的 29.30%、38.53%和 30.73%。这显示了以不同蛋白质水平的饲料喂养珍珠龙胆石斑鱼,对其肠道结构影响具有一定的相似性,尽管相似性高,但各组在多样性中均有一定的差异性。

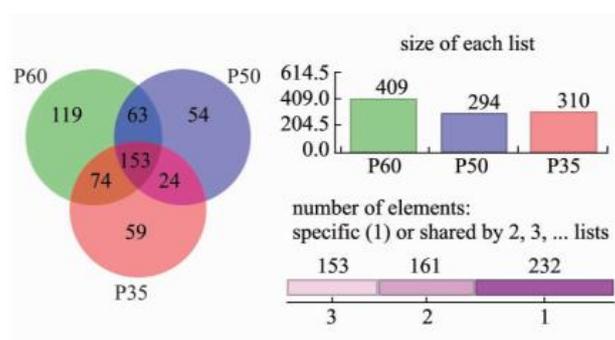


图 2 P35、P50 和 P60 组的 OUT 分析
Fig. 2 Common OTU analysis of groups P35, P50, and P60

3 讨论

3.1 饲料蛋白质水平对珍珠龙胆石斑鱼肠道组织形态的影响

肠道隐窝深度、肌层厚度,以及皱襞的高度、宽度和疏密程度等是衡量动物消化吸收能力的重要指标。肠道隐窝是肠壁凹陷的结构,隐窝深度影响动物对营养物质吸收的能力;皱襞越高越宽越浓密,表明肠道吸收表面积越大,越有利于提高营养物质的吸收效率;肌层厚度则表示肠壁肌肉收缩能力,收缩能力强则有利于物质的吸收和运输^[17,18]。适宜的饲料蛋白质水平有利于优化畜禽肠道结构,改善肠道对营养物质的吸收消化能力,从而促进机体生长^[19]。然而,饲料蛋白质水平对海水鱼类肠道组织形态学的影响研究报道较少,本试验中,50%饲料蛋白质水平组鱼体肠道皱襞高度、密度均优于其余各组,该水平下

石斑鱼增重率最高^[5]。类似结果在建鲤^[20]和团头鲂^[21]中也被发现,表现为饲料蛋白质水平显著影响鱼类肠道皱褶的发育,且皱褶高度和肠道绒毛密度与其生长表现出一致的变化趋势,提示饲料蛋白质水平对鱼类肠道发育的影响可能与其生长直接相关。另外,本试验表明,适宜的蛋白质水平还能增大肠道皱襞高度与隐窝深度的比值和肌层厚度值。皱襞高度与隐窝深度的比值与肠道功能密不可分,是体现肠道黏膜分化程度的标志,其数值越大表示消化吸收能力越强。在本试验中,饲料蛋白质水平改善皱襞高度与隐窝深度的比值主要表现在前肠和后肠的 P50 和 P55 组。蛋白质水平超过 45%时,前肠肌层厚度值显著升高,在 P50 组达到最大值,此后随蛋白质水平升高,肌层厚度值略有下降;P50 组中肠肌层厚度值虽与 P40 组相比无显著性差异,但却显著高于其他组;P50 和 P55 组后肠肌层厚度值显著高于 P45 组。综上所述,P50 组肠道形态发育较之其他组好,皱襞高度与隐窝深度的比值和肌层厚度值均保持在水下高水平下。因此,鱼体摄入的蛋白质水平适宜时,可以较好地改善肠道形态发育,促进消化吸收机能,更好地满足生长。

3.2 饲料蛋白质水平对珍珠龙胆石斑鱼肠道菌群组成的影响

肠道有益菌属可通过改善宿主免疫调节功能、营养吸收能力和内环境调节能力来促进宿主生长^[22],而有害菌属则会增加肠道黏膜层的通透性,从而导致细菌和其他大分子穿过黏膜屏障^[23]。因此,建立良好的肠道微生态系统对于鱼类健康生长至关重要。

从门水平上看,本试验各组并未出现新的优势菌种,饲料蛋白质水平虽然不同,但各组优势菌群种类相同,只是其数量有所改变。有研究指出,脊椎动物尤其是哺乳动物的优势菌门为变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门^[24],本研究结果显示,珍珠龙胆石斑幼鱼肠道优势菌门为变形菌门、放线菌门、厚壁菌门和拟杆菌门,与饲料蛋白质水平对卵形鲳鲆^[8]肠道优势菌群的研究结果相似。变形菌门是细菌中最大的一门,普遍存在于海洋生物肠道之中,是罗非鱼腐败过程中的优势菌门^[25],其含量过高会破坏肠道微生态环境,增加机体患病可能性^[26]。放线菌门属于条件致病菌,其中某些营腐生生活菌可分泌许多胞外酶和次生代谢产物等物质参与自然界氮素循环,而某些放线菌却为致病菌,可在机体免疫能力低的时候侵染机体,产生慢性或亚急性疾病^[27]。厚壁菌门在宿主肠道中被认为是促进纤维素分解^[28]和帮助多糖发酵^[29]的重要菌群。拟杆菌门则与 DNA、蛋白质和脂质等有机物的转换密切相关,并参与糖类、胆汁酸和类固醇代谢^[30]。本试验结果显示,P50 组变形菌门和放线菌门含量有所降低,厚壁菌门和拟杆菌门含量有所升高,这有利于促进机体肠道对营养物质的转换和吸收。有研究指出,厚壁菌门与拟杆菌门的比值与动物肥胖相关,

但究竟是正相关还是负相关至今仍存在争议^[31,32],这可能是由于物种差异或机体的自身健康状况所致。本试验中厚壁菌门与拟杆菌门的比值随饲料蛋白质水平的升高呈先升后降趋势,在 P40 组达到最大值,P60 组达到最小值,其趋势与全鱼粗脂肪含量随蛋白质水平变化的趋势一致^[7],这也验证了厚壁菌门与拟杆菌门的比值影响脂代谢,由此猜想鱼体增重率提高的原因可能是脂肪对蛋白质起了节约作用。另外,蛋白质含量过低(P35 组)或过高(P60 组),有益菌含量减少而变形菌门含量增多(相对 P50 组),这可能是由于变形菌门适应性较强,在低蛋白质环境下仍能争夺大量营养用于自身繁殖,并竞争大量的肠道黏附位点,从而导致有益菌含量减少。另一方面,机体分解肠道中高蛋白质饲料会加剧消化器的负担,长久的积累可能会造成系统缺陷,最终导致致病菌侵入肠道并大量繁殖。

从属水平来说,各组肠道红球菌属、罗尔斯通氏菌属和不动杆菌属为优势菌群。红球菌属可参与工业合成和转化、生物去污,产生许多生物表面活性剂及生物絮凝剂等,具有较好的生态价值,然而,在生物学上却常为许多动物的致病菌,如马红球菌能够通过破坏动物呼吸系统,从而引起机体产生病变^[33]。罗尔斯通氏菌属和不动杆菌属是致病菌,可分别导致人体产生菌血症、败血症和各种炎症^[34],并使鳟和印度鲤等水产动物产生溃疡等病症^[35]。假单胞菌属为条件致病菌,在环境良好的作用下,能产生多种抗生素和活性小分子物质,具有抗菌溶菌作用,而在不良环境下会使鱼体体表溃烂,体内肿胀充血等^[36]。乳酸菌属是水生动物的有益菌,主要是通过分泌乳酸等有机酸降低 pH 来抑制革兰氏致病菌扩散,对增强肠道免疫力、改善肠道结构、提高抗病力等具有重要意义^[37]。Liu 等^[20]研究显示,饲料蛋白质水平影响建鲤幼鱼肠道乳酸菌的含量,低蛋白质组乳酸菌含量显著低于其他各组,而嗜水气单胞菌含量显著高于其他各组。本试验中,低蛋白质组乳酸菌含量同样有所下降,与此同时,P50 组乳酸菌属含量有所提高,而红球菌属和不动杆菌属含量均有所下降,这反映了该蛋白质水平有利于肠道良好微生态的构建。另外,在对畜禽的研究发现,低蛋白质日粮可有效减少仔猪肠道致病菌的繁殖,并增加乳酸杆菌等益生菌在肠道定植,从而缓解仔猪肠道功能紊乱等问题^[38]。而在本试验中,低蛋白质组致病菌尚无明显减少,这可能是由于物种差异所致,石斑鱼更倾向于利用蛋白质提供能量,对碳水化合物利用能力较弱,而仔猪则能够更好地利用碳水化合物供能。此外,肠道微生物的组成与众多因素有关,其中包括养殖环境、养殖种类、饲料成分和养殖对象的不同生长阶段等^[39],因此,多角度评估肠道微生物对宿主生长产生的影响显得尤为重要。

参考文献:略