

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,扬州 225000)

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

中图分类号:S963

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)06-2799-09

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

收稿日期:2019-12-11

基金项目:国家自然科学基金项目(31972799);江苏省大学生创新创业训练计划项目(201911117107Y)

作者简介:张鑫(1999—),男,江苏泰兴人,本科生,研究方向为水生动物营养与饲料。E-mail: zhangxin_909@163.com

*通信作者:苗淑彦,副教授,硕士生导师, E-mail: shuyanmiao@126.com

喂牙鲮 (*Paralichthys olivaceus*) 时, 牙鲮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, 牙鲮的 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-26 III, 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。

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 °C, 溶解氧浓度不低于 5.5 mg/L。

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

续表 1

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, VE 240 mg, VK 10 mg, VB₁ 25 mg, VB₂ 45 mg, VB₁₂ 10 mg, VC 2 000 mg, 烟酸 nicotinic acid 200 mg, VB₆ 20 mg, 生物素 biotin 60 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 cellulose 1 473 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, Na₂SeO₃ 20 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

1.3 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:

$$WGR(\%) = 100 \times (W_t - W_0) / W_0;$$

$$SGR(\%/d) = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t;$$

$$SR(\%) = 100 \times N_t / N_0;$$

$$FCR = I_t / (W_t - W_0);$$

$$PER(\%) = 100 \times (W_t - W_0) / W_p。$$

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/%	特定增长率 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

Channa argus ($n=3$)

U/mg prot

组别 Groups	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

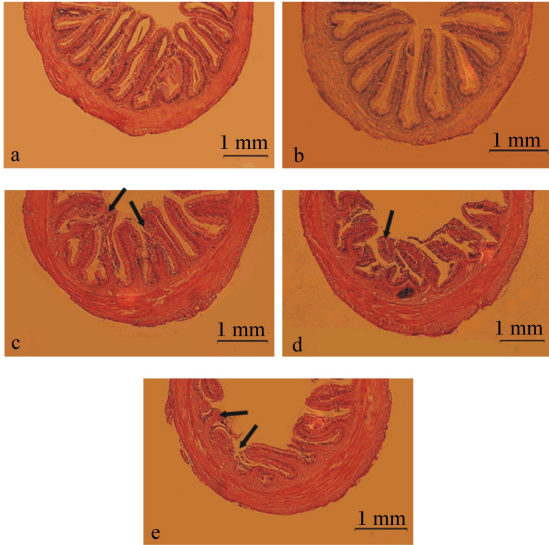
2.4 豆粕替代鱼粉对乌鳢肠道组织形态的影响

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。

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, 大菱鲆 (*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, 鳃鱼 (*Elopich-*

thys 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。



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 *Channa argus*

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: 豆粕替代一定比例的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, 显著降低饲料中的蛋白质的利用率, 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与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:

- [1] FAO. Inland water resources and aquaculture service. Fishery resources division. Review of the state of world aquaculture [M]. Rome: FAO Fisheries Circular, 1997: 1-163.
- [2] FRANCIS G, MAKKAR H P S, BECKER K. Antinutritional factors present in plant-derived Alternate fish feed ingredients and their effects in fish [J]. Aquaculture, 2001, 199(3/4): 197-227.
- [3] 周歧存, 麦康森, 刘永坚, 谭北平. 动植物蛋白源替代鱼粉研究进展 [J]. 水产学报, 2005(3): 404-410.
- [4] HARDY R W, KISSIL G W M. Trends in aquaculture feeding [J]. Feed Mix, 1997, 5: 31-37.
- [5] 向泉, 周兴华, 陈建, 等. 饲料中豆粕蛋白替代鱼粉蛋白对齐口裂腹鱼幼鱼生长性能、体成分及血液生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2012, 36(5): 723-731.
- [6] 罗智, 刘永坚, 麦康森, 等. 石斑鱼配合饲料中发酵豆粕和豆粕部分替代白鱼粉的研究 [J]. 水产学报, 2004, 28(2): 175-181.
- [7] SANDERSON G W, JOLLY S O. The value of *Phaffia* yeast as a feed ingredient for salmonid fish [J]. Aquaculture, 1994, 124(1/2/3/4): 193-200.
- [8] 刘襄河, 叶继丹, 王子甲, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉比例对牙鲆生长性能及生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(3): 450-458.
- [9] 王亚如. 豆粕替代鱼粉对花鲈生长性能和肠道健康的影响 [D]. 硕士学位论文. 厦门: 集美大学, 2017.
- [10] 聂国兴, 李学军, 乔志刚, 等. 乌鳢营养需要的初步研究 [J]. 水利渔业, 2002, 22(1): 8-9, 11.
- [11] AOAC. Official methods of analysis of AOAC Interna-

- tional[S].Arlington,VA:Association of Official Analytical Chemists,1995:1141.
- [12] 杨菁,孙黎光,白秀珍,等.异硫氰酸苯酯柱前衍生化反相高效液相色谱法同时测定18种氨基酸[J].色谱,2002,20(4):369-371.
- [13] 刘红梅.乌鳢消化系统组织学及消化酶的研究[D].硕士学位论文.青岛:中国海洋大学,2006.
- [14] 林佳洁.发酵豆粕替代鱼粉对黄金鲫生长、免疫及肠道组织的影响[D].硕士学位论文.长春:吉林农业大学,2016.
- [15] 李宗升.鸡肉粉、豆粕替代鱼粉对大菱鲆幼鱼生长、消化酶活性及能量收支的影响[D].硕士学位论文.大连:大连海洋大学,2016.
- [16] 谢敏,曾国清,向建国,等.豆粕部分替代鱼粉对鳊生长、肌肉成分及血浆生化指标的影响[J].江苏农业科学,2018,46(13):165-169.
- [17] 张帆,张文兵,麦康森,等.饲料中豆粕替代鱼粉对大黄鱼生长、消化酶活性和消化道组织学的影响[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2012,42(增刊):75-82.
- [18] 张锦秀,周小秋,倪学勤,等.分离大豆蛋白对幼建鲤生长性能及肠道的影响[J].水产学报,2008,32(1):84-90.
- [19] ESCAFFRE A M,KAUSHIK S,MAMBRINI M.Morphometric evaluation of changes in the digestive tract of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) due to fish meal replacement with soy protein concentrate[J].Aquaculture,2007,273(1):127-138.
- [20] 段晶,王婧瑶,吴莉莉,等.大豆蛋白源替代鱼粉蛋白对鱼类生长、消化及肠道组织的影响[J].大豆科学,2018,37(3):477-482.
- [21] RINGØ E,SPERSTAD S,MYKLEBUST R,et al.Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.); the effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal[J].Aquaculture,2006,261(3):829-841.
- [22] KROGDAHL Å,LEA T B,OLLI J J.Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology,1994,107(1):215-219.
- [23] WEE K L,SHU S W.The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia[J].Aquaculture,1989,81(3/4):303-314.
- [24] BUTTLE L G,BURRELLS A C,GOOD J E,et al.The binding of soybean agglutinin (SBA) to the intestinal epithelium of Atlantic salmon,*Salmo salar* and Rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*, fed high levels of soybean meal[J].Veterinary Immunology and Immunopathology,2001,80(3/4):237-244.
- [25] 李莹,韩云胜,赵青余,等.豆粕与发酵豆粕中主要营养成分、抗营养因子及体外消化率的比较分析[J].中国饲料,2019(23):76-81.
- [26] 刘金兰,严安生,杨广.乌鳢消化系统蛋白酶活性研究[J].湖北农学院学报,1997,17(4):27-31.
- [27] 闫晓波,何昊伦,谭北平,等.去皮豆粕替代鱼粉对多鳞鳊生长性能、肠道消化酶活性和肝脏免疫指标的影响[J].动物营养学报,2019,31(9):4118-4130.
- [28] 艾庆辉,谢小军.南方鲇的营养学研究:饲料中大豆蛋白水平对生长的影响[J].水生生物学报,2002,26(1):57-65.
- [29] ANDREWS J W,PAGE J W.Growth factors in the fish meal component of catfish diets[J].The Journal of Nutrition,1974,104(8):1091-1096.
- [30] NWANNA L C,LEMME A,METWALLY A,et al.Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to supplemental DL-methionine and different feeding strategies[J].Aquaculture,2012,356/357:365-370.
- [31] SVEIER H,NORDÅS H,BERGE G E,et al.Dietary inclusion of crystalline D- and L-methionine; effects on growth, feed and protein utilization, and digestibility in small and large Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J].Aquaculture Nutrition,2001,7(3):169-181.
- [32] 冷向军,田娟,陈丙爱,等.罗非鱼对晶体蛋氨酸、包膜蛋氨酸利用的比较研究[J].水生生物学报,2013,37(2):235-242.
- [33] CABALLERO-SOLARES A,VIEGAS I,SALGADO M C,et al.Diets supplemented with glutamate or glutamine improve protein retention and modulate gene expression of key enzymes of hepatic metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles[J].Aquaculture,2015,444:79-87.
- [34] ZHAO Y,HU Y,ZHOU X Q,et al.Effects of dietary glutamate supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant capacity in intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J].Aquaculture Nutrition,2015,21(6):935-941.
- [35] STOREBAKKEN T,REFSTIE S,RUYTER B.Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture[M]//DRACKLY J K.Soy in animal nutrition.Savoy,IL:Federation of Animal Science Societies,2000:127-170.
- [36] 王裕玉,周歧存,卜宪勇,等.饲料中不同含量豆粕对乌苏里拟鲢生长、体成分及表观消化率的影响[J].水生生物学报,2016,40(4):681-689.
- [37] GOMES E F,REMA P,KAUSHIK S J.Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance[J].Aquaculture,1995,130(2/3):177-186.
- [38] LIN S M,LUO L.Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on

growth, digestive enzymes and transaminase activities
in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis*

niloticus × *O. aureus* [J]. *Animal Feed Science and
Technology*, 2011, 168(1/2):80–87.

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, Yangzhou 225000, China)

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. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(6):2799–2807]

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