

DOI: 10.11758/yykxjz.20150314

http://www.yykxjz.cn/

蛹肽蛋白替代鱼粉对大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.) 幼鱼生长、饲料利用、消化代谢酶及免疫性能的影响*

梅琳 周慧慧 麦康森 徐玮 何良^①

(中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室 青岛 266003)

摘要 选取蛹肽蛋白分别替代大菱鲂幼鱼配合饲料中0、15%、30%、45%、60%、75%的鱼粉,配制成6种等氮等能的饲料饲喂大菱鲂幼鱼(19.84±0.04 g) 56 d,以研究蛹肽蛋白替代鱼粉的效果。结果显示,大菱鲂幼鱼的特定生长率、饲料效率随替代水平的提高而降低,30%及以上替代组显著低于对照组($P<0.05$);鱼体粗蛋白、粗脂肪水平随替代水平的提高而降低,分别在75%和30%及以上替代组显著降低,鱼体水分和灰分含量随替代水平的提高而升高,分别在75%和30%及以上替代组显著升高($P<0.05$)。摄食率随替代水平升高呈先上升后下降的趋势,在30%替代组呈现出最高的摄食率,且显著高于对照组($P<0.05$)。饲料干物质的表观消化率在42.53%–54.36%之间,且当替代水平达到75%时显著低于对照组($P<0.05$);而蛋白质表观消化率在71.67%–86.89%之间,仅45%和75%替代组显著低于对照组($P<0.05$)。各替代组肝脏超氧化物歧化酶活性均高于对照组,在45%和60%替代组出现显著性差异($P<0.05$)。综上所述,蛹肽蛋白可以替代大菱鲂幼鱼饲料中15%的鱼粉而不影响其生长摄食、饲料利用以及与消化、代谢、免疫相关的酶的活性。

关键词 蛹肽蛋白;大菱鲂;蛋白源;替代

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)03-0085-08

鱼粉是一种不可再生资源,也是目前水产饲料的主要蛋白源。近十年来,水产养殖业迅速发展,其产量已超过了野生捕捞的产量,所消耗鱼粉占鱼粉总产量的比例也翻了一番(Naylor *et al*, 2009)。因此,寻找替代鱼粉的新型蛋白源仍然是水产营养饲料研究的重点与难点(Krishnankutty, 2005)。大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.)是一种在欧洲和东亚具有较高消费需求的鱼种,主要依靠规模化工厂养殖,其配合饲料蛋白质需求较高(Caceres-Martinez *et al*, 1984; 王际英等, 2014),目前主要依靠高价的鱼粉作为蛋白源(Bonaldo *et al*, 2011)。已有学者致力于寻找经济、可持续的高质量蛋白源作为鱼粉的替代蛋白源。当前的研究大多数集中于利用植物蛋白源,例如玉米蛋白粉(Regost *et al*, 1999)、去皮豌豆和去皮羽扇豆粕(Burel *et al*, 2000)、

豆粕(Yigit *et al*, 2010)、大豆浓缩蛋白(Day *et al*, 2000)、菜粕分离蛋白(Nagel *et al*, 2012)、小麦蛋白(Dietz *et al*, 2012);另有一些研究利用动物蛋白,包括家禽粉(Yigit *et al*, 2006)和黑水虻预蛹粉(Kroeckel *et al*, 2012)或者是复合植物蛋白(Fournier *et al*, 2004; Bonaldo *et al*, 2011)来替代大菱鲂配合饲料中的鱼粉,但替代蛋白源的适口性、抗营养因子和氨基酸不平衡等问题限制着其在水产饲料中的广泛应用。

蚕蛹是缫丝业的主要副产品,其重量占干蚕茧的60%,每年蚕茧缫丝产生的蚕蛹产量可达50万t,已经被国家卫生部认可为一种新的食物来源(Zhu, 2004)。研究显示,蚕蛹可以用于鲤鱼(Nandeesh, 1990、1999、2000; Rangacharyulu *et al*, 2003)、细鳞鲷(Nandeesh *et al*, 1998)、泰国多刺鱼(Mahata *et al*,

* 公益性行业(农业)科研专项项目(201303053)资助。梅琳, E-mail: alovlylin@163.com

① 通讯作者: 何良, 教授, E-mail: hegen@ouc.edu.cn

收稿日期: 2014-05-16, 收修改稿日期: 2014-06-23

1994)、胡子鲶(Habib *et al*, 1994)和家禽(Khatun *et al*, 2003)配合饲料中替代鱼粉。本研究使用的蛹肽蛋白是由广州市农业科学研究所的科技人员利用航空选育的菌种对蚕蛹及一些植物蛋白配伍后的复合蛋白源发酵之后获得的产物。这种新型的蛋白源具有氨基酸比例平衡、抗营养因子含量低、适口性好等优点(赵祥杰等, 2009)。邝哲师等(2010)在断奶仔猪基础日粮中添加 2.5%和 5%的蛹肽蛋白部分替代鱼粉, 仔猪生长迅速, 血液综合蛋白质系数、白蛋白含量、丙氨酸氨基转移酶、碱性磷酸酶以及 L-乳酸脱氢酶等均高于对照组。目前为止, 未有已发表研究对蛹肽蛋白在水生动物上的蛋白质营养价值进行评价。因此, 本研究旨在通过投喂使用蛹肽蛋白梯度替代鱼粉的饲料, 考察其对大菱鲆幼鱼的生长摄食、饲料利用、消化和免疫性能的影响, 评价蛹肽蛋白作为大菱鲆配合饲料新型蛋白源的潜力, 为蛹肽蛋白在水产饲料行业中的推广应用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 饲料原料与配方

首先, 分析鱼粉和蛹肽蛋白的常规组分和氨基酸组成(表 1), 然后使用蛹肽蛋白分别替代 0、15%、30%、45%、60%、75%的鱼粉配制 6 种等氮($50.33\% \pm 0.05\%$)、等能(17.28 ± 0.06 MJ/kg)的饲料, 饲料配方和常规营养成分分析见表 2。为了防止因为蛹肽蛋白中氨基酸不平衡可能导致的幼鱼生长受损, 在每个替代组都添加晶体氨基酸(赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、精氨酸), 使其必需氨基酸补充至对照组的水平, 同时添加复合诱食剂(甜菜碱: 硫代甜菜碱: 苏氨酸: 丙氨酸: 5'-磷酸肌苷=4: 2: 2: 1: 1)提高饲料的诱食效果。本研究采用三氧化二铋作为消化率测定的指示物。饲料制作前, 所有的饲料原料粉碎后过 60 目筛, 然后按照配方中的比例梯度混合均匀, 加入鱼油搓匀, 再加入适量水揉匀以便制粒。利用双螺杆挤条机[F-26(II), 华南理工大学]将搓揉均匀的原料挤成直径为 4 mm 的颗粒, 制成的颗粒在 45℃烘箱烘干 12 h, 并储存于-20℃冰箱中备用。

1.2 养殖与管理

养殖实验于 2012 年 10-12 月在国家海洋科研中心(青岛, 山东)实验基地进行, 为期 56 d。养殖系统为室内海水循环系统, 由玻璃纤维圆形水族箱(400 L)连接而成, 配备砂滤罐、泡沫分离器及生物塔等水质净化装置。实验鱼购自山东青岛胶南, 且在实验前用

商业料(七好生物科技公司, 青岛)驯化 14 d, 每天饲喂两次使其基本适应养殖环境。选择体重为(19.84 ± 0.04) g 的健康鱼苗 600 尾进行实验, 随机分配到 24 个水族箱中, 每桶 25 尾鱼苗, 每个处理组设置 4 个重复。实验期间, 每天分别于 08:00 和 18:00 饱食投喂两次, 投喂 1 h 后将剩余残饵虹吸出来并记录残饵颗粒数目, 用于计算摄食率。试验进行第 29 天开始, 每次投喂后 5-6 h 利用虹吸法收集粪便, 并保存于-20℃冰箱中用于消化率的测定。实验期间水温保持在 15-18℃、盐度 27-29, 24 h 曝气, 溶氧保持在 7 mg/L。

1.3 样品采集与分析

实验结束, 实验鱼饥饿 24 h 后称量每桶中鱼的重量并记录鱼的数量, 用于计算成活率、特定生长率、饲料效率。每个水族箱中随机取 5 尾幼鱼, 用 1 ml 一次性针管从尾静脉取血置于抗凝管中, 在 4℃冰箱

表 1 蛹肽蛋白与鱼粉的营养成分和氨基酸组成模式(%干重)
Tab.1 The nutritional compositions of fermented silkworm pupae and fish meal (% dry weight)

| 项目 Items | 鱼粉 Fish meal | 蛹肽蛋白 Fermented silkworm pupae |
|---------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| 干物质 Dry matter | 90.19 | 90.83 |
| 粗蛋白 Crude protein | 71.72 | 54.32 |
| 粗脂肪 Crude lipid | 7.76 | 10.25 |
| 灰分 Crude ash | 21.98 | 6.15 |
| 必需氨基酸 Essential amino acid | | |
| 精氨酸 Arg | 3.48 | 2.53 |
| 组氨酸 His | 2.36 | 1.04 |
| 异亮氨酸 Ile | 2.61 | 1.76 |
| 亮氨酸 Leu | 4.46 | 3.13 |
| 赖氨酸 Lys | 4.73 | 2.46 |
| 蛋氨酸 Met | 1.72 | 0.83 |
| 苯丙氨酸 Phe | 2.45 | 2.16 |
| 苏氨酸 Thr | 2.25 | 1.61 |
| 缬氨酸 Val | 2.89 | 1.89 |
| 色氨酸 Trp | 0.87 | 0.75 |
| 非必需氨基酸 Non-essential amino acid | | |
| 丙氨酸 Ala | 3.89 | 1.87 |
| 天门冬氨酸 Asp | 5.28 | 4.43 |
| 半胱氨酸 Cys | 0.71 | 0.18 |
| 谷氨酸 Glu | 8.00 | 6.13 |
| 甘氨酸 Gly | 4.17 | 1.93 |
| 丝氨酸 Ser | 2.23 | 1.83 |
| 酪氨酸 Tyr | 1.91 | 1.85 |
| 脯氨酸 Pro | 1.30 | 1.75 |
| 必需氨基酸总量 EAA | 27.91 | 18.20 |
| 氨基酸总量 TAA | 55.41 | 38.17 |
| (EAA/TAA)/% | 50.38 | 47.68 |

静置 24 h, 然后离心(3000 r/min, 10 min), 取上清液即血浆, 速冻于液氮中, 随后转至 -80°C 冰箱保存。取血后立即解剖分离肝脏、肠道, 在液氮中速冻后, 转至 -80°C 冰箱保存, 用于测定代谢、免疫、消化相关酶活。另外, 随机取 4 尾鱼测量体重、体长、肝重, 用于计算肥满度和肝体比。取样结束后, 每箱随机取 5 尾保存于 -20°C 冰箱, 用于鱼体组成的测定, 包括水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分含量等。原料、饲料以及鱼体的干物质、粗蛋白、粗脂肪、灰分含量测定按照 AOAC (1995)的方法进行分析。干物质的测定采用 105°C 烘干至恒重的方法; 蛋白质的测定采用凯氏定氮法, 利用 Kjeldahl 全自动分析仪(2300-Auto-analyzer,

FOSS, Hillerød, 丹麦)检测; 粗脂肪采用乙醚提取法(36680-analyer, BUCHI, Flawil, 瑞士)进行测定; 灰分则采用在马弗炉中 550°C 燃烧失重法检测; 能量利用弹式热量计检测。另外, 鱼粉和蛹肽蛋白的氨基酸(除色氨酸)含量测定采用酸水解法, 色氨酸采用碱水解法。

间接法测定消化率: 将每个水族箱多次收集的粪便混合到一起, 在 105°C 下烘干, 然后使用凯氏定氮仪测定粪便粗蛋白, 三氧化二钪含量则是用电感耦合高频等离子发光分析仪测定(Wang *et al*, 2014)。淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)以及超氧化物歧化酶(SOD)的活性均是利用南京建成生物公司的试剂盒测定。

表 2 饲料配方和基本组成(%干物质)

Tab.2 Diet formulation and chemical proximate composition of the experimental diets (% dry matter)

| 项目 Items | 替代水平 Replacement level | | | | | |
|---|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 15% | 30% | 45% | 60% | 75% |
| 鱼粉 Fish meal | 65 | 55.25 | 45.5 | 35.75 | 26 | 16.25 |
| 蛹肽蛋白 FSP | 0 | 13.5 | 27 | 40 | 53 | 66.5 |
| 小麦粉 Wheat | 23.15 | 20.15 | 16.72 | 13.95 | 10.99 | 7.56 |
| 大豆卵磷脂 Phospholipid | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 鱼油 Fish oil | 6.5 | 5.6 | 5 | 4.2 | 3.6 | 3 |
| 维生素预混料 Vitamin premix ¹ | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 矿物质预混料 Mineral premix ² | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 氯化胆碱 Choline chloride (99%) | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 丙酸钙 Calcium propionic acid | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 乙氧基喹啉 Ethoxyquin | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| 磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 |
| 海藻酸钠 Sodium alginate | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 氨基酸预混料 Chrystal amino acid ³ | 0 | 0.15 | 0.43 | 0.75 | 1.06 | 1.34 |
| 复合诱食剂 Attractant | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 三氧化二钪 Yttria | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 基本成分 Proximate analysis | | | | | | |
| 总能 Gross energy (MJ/kg) | 17.21 | 17.22 | 17.28 | 17.28 | 17.32 | 17.38 |
| 粗蛋白 Crude protein | 50.31 | 50.32 | 50.40 | 50.35 | 50.26 | 50.33 |
| 粗脂肪 Crude lipid | 13.46 | 13.23 | 12.38 | 12.80 | 12.55 | 12.88 |
| 水分 Moisture | 7.85 | 8.69 | 10.03 | 8.25 | 7.75 | 10.30 |

注 1 维生素预混料 (mg/kg 饲料): 维生素 B₁, 25; 核黄素, 45; 叶酸, 20; 维生素 A, 32; 维生素 D₃, 5; 维生素 E, 240; 维生素 K, 10; 维生素 C, 2000; 微生物 B₁₂, 10; 生物素, 60; 肌醇, 800; 烟酸, 200; 泛酸钙, 60; 维生素 B₆, 20; 沸石粉, 1473

注 2 矿物质预混料(mg/kg 饲料): 七水硫酸镁, 1200; 七水硫酸铜, 10; 七水硫酸铁, 80; 一水硫酸锌, 50; 一水硫酸锰, 45; 氯化钴, 5; 硒酸钠, 20; 碘酸钙, 60; 沸石粉, 8485

注 3 氨基酸预混料(mg/kg 饲料): 在 15%、30%、45%、60%、75%替代组的添加量分别为: 精氨酸 0.10, 0.60, 1.20, 1.80, 2.30; 赖氨酸: 0.80, 2.00, 3.40, 4.80, 6.00; 蛋氨酸: 0.50, 1.20, 1.90, 2.60, 3.30; 苏氨酸: 0.10, 0.50, 1.00, 1.40, 1.80

Note 1 Vitamin premix (mg/kg diet): thiamin, 25; riboflavin, 45; folic acid, 20; retinyl acetate, 32; cholecalciferol, 5; tocopheryl acetate, 240; menadione sodiumbisulphite, 10; ascorbic acid, 2000; cyanocobalamin, 10; biotin, 60; inositol, 800; niacin, 200; pantothenate, 60; pyridoxine HCl, 20; zeolite powder, 1473

Note 2 Mineral premix (mg/kg diet): MgSO₄·7H₂O, 1200; CuSO₄·7H₂O, 10; FeSO₄·7H₂O, 80; ZnSO₄·H₂O, 50; MnSO₄·H₂O, 45; CoCl₂, 5; Na₂SeO₃, 20; calcium iodate, 60; zeolite powder, 8485

Note 3 Amino acid premix(mg/kg diet): The respective content in 15%, 30%, 45%, 60%, and 75% replacement treatment: Arginine: 0.10, 0.60, 1.20, 1.80, and 2.30; Lysine: 0.80, 2.00, 3.40, 4.80, and 6.00; Methionine: 0.50, 1.20, 1.90, 2.60, and 3.30; Threonine: 0.10, 0.50, 1.00, 1.40, and 1.80

1.4 计算公式与数据处理分析

生长与饲料利用的计算公式如下:

特定生长率(Specific growth rate, *SGR*, %BW/d)=
 $\ln(\text{终末体重})/(\text{初始体重})/\text{养殖时间} \times 100\%$

摄食率(Daily feed intake, *DFI*, %/d)=摄食量/[养
 殖时间 \times (初始体重+终末体重)/2] $\times 100\%$

饲料效率(Feed efficiency, *FE*, %)=体增重/摄食
 量 $\times 100\%$

肝体比(Hepatosomatic index, *HSI*, %)=肝脏湿重/
 终末体重 $\times 100\%$

肥满度(Condition factor, *CF*, %)=终末体重/体
 长³ $\times 100\%$

干物质、蛋白质的表观消化率则按照以下的计算
 公式(Cho *et al*, 1990):

干物质的消化率(*ADC* of dry matter, %)= $[1 - D_Y/F_Y] \times 100\%$

蛋白质的消化率(*ADC* of protein, %)= $[1 - (F/D \times D_Y/F_Y)] \times 100\%$

式中,*F*为粪便的蛋白含量,*D*为饲料的蛋白含量,
*D_Y*为饲料中 Y_2O_3 的含量, *F_Y*为粪便中 Y_2O_3 的含量。

获得的所有实验数据先进行方差齐性检验,当 $P < 0.05$ 时,认为满足方差齐性检验,在通过方差齐性检验的基础上再进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)。若差异显著,进行 Turkey's 多重比较,当 $P < 0.05$ 时认为存在显著性差异。本实验数据使用 SPSS 17.0 软件进行处理。

2 结果

2.1 存活、生长、饲料利用与消化率

整个养殖实验过程中没有大菱鲆死亡,各组的存活率均为 100%。

如表 3 所示,大菱鲆幼鱼的终末体重、特定生长率和饲料效率随替代水平升高而下降,且在蛹肽蛋白替代 30%及以上鱼粉时显著低于对照组($P < 0.05$)。摄食率随替代水平升高呈先上升后下降的趋势,在 30%替代组呈现出最高的摄食率,且显著高于对照组($P < 0.05$)。饲料干物质的表观消化率在 42.53%–54.36%之间,且当替代水平达到 75%时显著低于对照组($P < 0.05$);而蛋白质表观消化率在 71.67%–86.89%之间,仅 45%和 75%替代组显著低于对照组($P < 0.05$)(图 1)。

表 3 饲喂处理组饲料大菱鲆幼鱼的生长和饲料利用

Tab.3 The growth performance and feed utilization of juvenile turbot fed with the experimental diets (Mean \pm SD)

| 项目 Items | 替代水平 Replacement level | | | | | |
|--------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | 0 | 15% | 30% | 45% | 60% | 75% |
| 初始体重 <i>IBW</i> (g) | 19.83 \pm 0.09 | 19.84 \pm 0.02 | 19.88 \pm 0.04 | 19.86 \pm 0.04 | 19.84 \pm 0.03 | 19.82 \pm 0.04 |
| 终末体重 <i>FBW</i> (g) | 61.67 \pm 0.42 ^a | 57.63 \pm 4.65 ^a | 49.17 \pm 3.62 ^b | 44.55 \pm 4.11 ^b | 35.29 \pm 3.62 ^c | 25.31 \pm 1.86 ^d |
| 特定生长率 <i>SGR</i> (%BW/d) | 2.03 \pm 0.02 ^a | 1.90 \pm 0.14 ^{ab} | 1.61 \pm 0.13 ^{bc} | 1.44 \pm 0.16 ^c | 1.02 \pm 0.19 ^d | 0.43 \pm 0.13 ^e |
| 摄食率 <i>DFI</i> (%BW/d) | 1.52 \pm 0.01 ^{bc} | 1.74 \pm 0.04 ^{abc} | 1.87 \pm 0.25 ^a | 1.79 \pm 0.11 ^{ab} | 1.76 \pm 0.09 ^{ab} | 1.47 \pm 0.06 ^c |
| 饲料效率 <i>FE</i> (%) | 1.21 \pm 0.01 ^a | 1.00 \pm 0.09 ^{ab} | 0.83 \pm 0.16 ^b | 0.77 \pm 0.13 ^{bc} | 0.56 \pm 0.09 ^c | 0.30 \pm 0.09 ^d |

注:数据后不同的上标表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Values with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

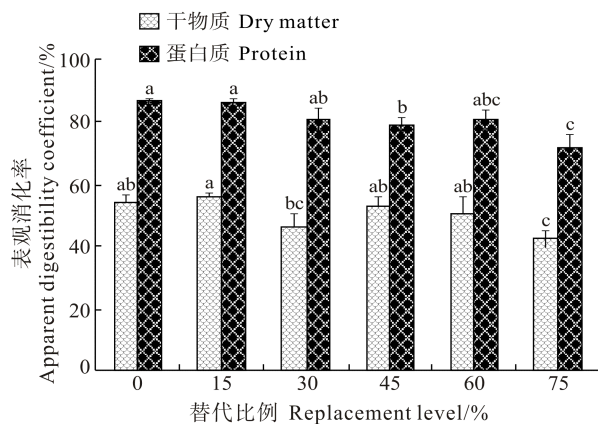


图 1 饲喂不同处理饲料大菱鲆幼鱼干物质和蛋白质的表观消化率

Fig.1 *ADC* of dry matter and protein of juvenile turbot fed with the experimental diets

2.2 鱼体组成、肝体比、肥满度

大菱鲆鱼体水分、粗脂肪、粗蛋白和灰分含量分析数据见表 4。鱼体的水分和灰分随替代水平升高而升高,水分含量在 75%替代组产生显著性差异,而灰分在 30%替代组出现显著升高($P < 0.05$)。鱼体粗蛋白和粗脂肪含量随替代比例升高而降低,粗蛋白在 75%替代组与对照组相比下降,粗脂肪含量在 30%及以上替代组出现显著性差异($P < 0.05$)。肝体比和肥满度在各组之间没有显著性差异($P > 0.05$)(表 5)。

2.3 消化酶、代谢酶、免疫酶活性

从表 6 可以看出,肝脏谷草转氨酶活性各组之间无显著性差异($P > 0.05$);而谷丙转氨酶活性对照组的最高,75%替代组与对照组有显著性差异($P < 0.05$)。

表 4 饲喂各处理组饲料大菱鲂幼鱼的鱼体组成(%湿重)

Tab.4 Proximate whole body composition of turbot fed with the control and the experimental diets (% wet weight)

| 项目 Items | 替代水平 Replacement level | | | | | |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 0 | 15% | 30% | 45% | 60% | 75% |
| 水分 Moisture | 77.93±0.59 ^b | 78.22±0.35 ^b | 79.08±0.43 ^b | 79.01±0.61 ^b | 79.33±0.62 ^b | 81.40±1.33 ^a |
| 粗蛋白 Crude protein | 14.84±0.26 ^a | 14.90±0.18 ^a | 14.80±0.24 ^a | 14.74±0.21 ^a | 14.38±0.41 ^a | 12.74±1.12 ^b |
| 粗脂肪 Crude lipid | 3.22±0.57 ^a | 2.80±0.26 ^{ab} | 1.97±0.41 ^{bc} | 1.82±0.59 ^{bc} | 1.69±0.40 ^c | 1.03±0.43 ^c |
| 灰分 Ash | 3.43±0.08 ^d | 3.55±0.12 ^{cd} | 3.79±0.18 ^{bc} | 3.94±0.14 ^b | 4.09±0.14 ^{ab} | 4.29±0.16 ^a |

注: 数据后不同的上标表示差异显著($P<0.05$)

Note: Values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

表 5 饲喂处理组饲料大菱鲂幼鱼的肝体比、肥满度

Tab.5 Hepatosomatic index and condition factor of juvenile turbot fed with the experimental diets (Mean±SD)

| 项目 Items | 替代水平 Replacement level | | | | | |
|-------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 15% | 30% | 45% | 60% | 75% |
| 肝体比 HSI (%) | 0.99±0.07 | 1.07±0.1 | 1.03±0.05 | 0.98±0.07 | 0.94±0.08 | 0.91±0.09 |
| 肥满度 CF (%) | 4.00±0.34 | 4.36±0.32 | 4.46±0.21 | 4.59±0.32 | 4.26±0.34 | 4.15±0.34 |

注: 数据后不同的上标表示差异显著($P<0.05$)

Note: Values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

表 6 摄食各处理组饲料大菱鲂的蛋白质代谢、消化酶和免疫酶活性

Tab.6 The activities of protein metabolism, digestive and immune enzyme of turbot fed with experimental diets (Mean±SD)

| 项目 Items | 替代水平 Replacement level | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | 0 | 15% | 30% | 45% | 60% | 75% |
| 谷丙转氨酶 ALT (U/g prot) | 82.50±13.14 ^a | 62.87±16.23 ^{ab} | 54.06±10.88 ^{ab} | 67.30±9.01 ^{ab} | 51.44±24.83 ^{ab} | 32.11±16.90 ^b |
| 谷草转氨酶 AST (U/g prot) | 11.99±3.05 | 14.65±2.20 | 14.28±5.26 | 14.83±4.08 | 14.77±5.21 | 12.84±3.63 |
| 胰蛋白酶 Trypsin (U/mg prot) | 820.17±168.34 | 740.14±344.71 | 494.26±79.98 | 753.03±245.43 | 810.69±319.69 | 737.11±209.88 |
| 脂肪酶 Lipase (U/g prot) | 9.96±1.80 | 9.81±3.67 | 8.80±1.88 | 10.04±1.00 | 8.51±2.19 | 7.77±0.52 |
| 淀粉酶 Amylase (U/mg prot) | 0.10±0.02 ^{ab} | 0.11±0.01 ^a | 0.10±0.01 ^{ab} | 0.10±0.01 ^{ab} | 0.08±0.01 ^b | 0.08±0.01 ^b |

注: 数据后不同的上标表示差异显著($P<0.05$)

Note: Values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$)

肠道胰蛋白酶和脂肪酶各组之间无显著性差异($P>0.05$), 淀粉酶的活性 60%、75%替代组显著低于 15%替代组($P<0.05$) (表 6)。肝脏超氧化物歧化酶活性先升高后有所降低, 在 45%和 60%替代组显著高于对照组($P<0.05$) (图 2)。

3 讨论

本研究条件下, 使用蛹肽蛋白替代饲料中不同水平的鱼粉投喂大菱鲂后存活率均为 100%, 说明大菱鲂对本研究下的养殖条件和实验饲料较为适应, 养殖实验成功。

当使用蛹肽蛋白替代大菱鲂幼鱼饲料中 15% 的鱼粉时, 大菱鲂幼鱼的终末体重、特定生长率和饲料效率均无显著性差异($P>0.05$); 但当替代水平提高到 30%及以上时, 其特定生长率、饲料效率受到显著抑

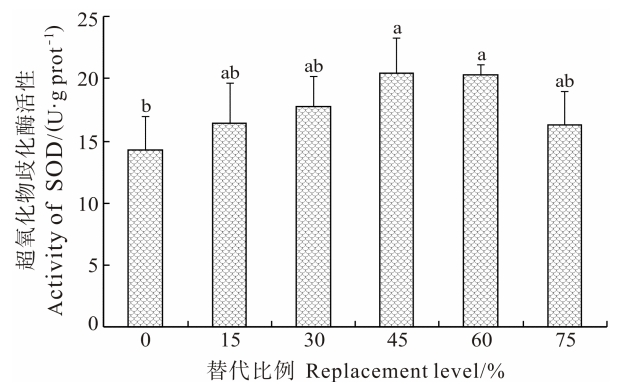


图 2 饲喂不同处理饲料大菱鲂幼鱼超氧化物歧化酶活性
Fig.2 SOD activity of juvenile turbot fed with the experimental diets

制($P<0.05$)。因此, 本研究中选用的蛹肽蛋白可以替代大菱鲂饲料中 15% 的鱼粉而不影响幼鱼的生长和饲料利用, 这与使用豆粕、玉米蛋白粉、家禽副产品粉

等替代大菱鲂饲料中鱼粉的结果相似(赵贵萍, 2008¹⁾; Regost *et al*, 1999; Yigit *et al*, 2006)。本研究中, 大菱鲂摄食率在较低的蛹肽蛋白替代水平出现显著上升, 这可能是由于鱼粉替代后可消化能量降低, 鱼类为了获得足够的能量而提升摄食率引起的摄食增加(程镇燕, 2010)²⁾; 但随着替代比例进一步提高(75%), 摄食率又出现显著降低, 可能是由于蚕蛹具有难以被大菱鲂幼鱼接受的气味(孙雷民等, 1993), 高替代后抑制摄食的物质超过了大菱鲂的耐受范围; 也有可能是鱼粉含量太低使得饲料中的促摄食物质不足, 无法引起大菱鲂幼鱼的食欲(艾庆辉等, 2006; 刘兴旺等, 2012)。

本研究中, 添加蛹肽蛋白对大菱鲂幼鱼的体组成产生了显著影响, 尤其是粗脂肪的含量从对照组的 3.22% 下降到 75% 替代组的 1.03%。由蛹肽蛋白的化学组成可以看出其脂肪含量高达 10.23%, 随着替代水平提高, 饲料中的脂肪酸组成发生明显改变, 幼鱼无法完成自身的脂类合成, 这可能会导致大菱鲂对脂肪的利用率显著下降(Kroeckel *et al*, 2012)。大菱鲂摄食高含量蛹肽蛋白的饲料后, 其鱼体干物质和粗蛋白含量相较于对照组显著降低, 这样的现象在鱼类摄食植物蛋白替代的饲料研究中也发现(Fournier *et al*, 2004; Nagel *et al*, 2012), 这显示饲料营养不均衡(Tusche *et al*, 2011), 鱼类无法利用摄食到的饲料完成自身蛋白质合成, 进而影响了体重的增加。另一方面, 鱼体的灰分含量随蛹肽蛋白替代鱼粉水平的增加而显著升高。一般认为, 鱼体灰分含量与矿物质的沉积密切相关, 本研究饲料中添加的磷酸二氢钙有助于满足鱼类对钙和磷的需要(段培昌等, 2009), 从而引起矿物质的沉积和鱼体灰分含量上升。也有研究认为, 鱼体灰分含量与鱼体大小有关, 灰分含量的上升是由鱼体重的下降引起的(Shearer, 1994; Rasmussen *et al*, 2000)。

ALT 和 AST 是生物体内最重要的转氨酶, 肝脏中的 ALT 和 AST 活性可以用来衡量鱼类的氨基酸的代谢过程。本研究中 ALT 的活性随替代水平的升高而降低, 说明蛹肽蛋白替代鱼粉后氨基酸的代谢活动较对照组减弱, 肝脏功能受到一定的损害, 这与 Cheng 等(2010)、Li 等(2013)的研究结果相似。SOD 的变化反映了机体自由基的清除能力, 当机体发生氧化损伤时, 脂质过氧化物水平往往升高, 而 SOD 活性降低。蛋白源开发研究中, 替代蛋白源添加可能对

鱼类非特异性免疫产生损伤(林仕梅等, 2007)。但本研究中, SOD 活性随替代比例升高先显著升高后有所降低, 这与孔凡华等(2012)利用南极磷虾粉替代大菱鲂饲料中鱼粉对体内 SOD 活性的影响相似。闵建华等(2009)研究发现, 蚕蛹多肽具有较高抗氧化活性, 对 1-二苯基-2-三硝基苯胍、超氧阴离子自由基和羟自由基都有较强的清除能力。因此, 蛹肽蛋白对大菱鲂体内自由基的清除有重要促进作用, 从而提高了机体防御外界刺激的能力。

各处理组干物质的消化率在 42.53%–54.36% 之间, 且在 75% 的替代水平时显著低于对照组。蚕蛹像其他节肢动物一样, 其外骨骼含有几丁质; 而 Kroeckel 等(2012)的研究发现, 大菱鲂肠道内并没有几丁质酶或者具有几丁质分解活性的微生物, 这可能是影响大菱鲂对蛹肽蛋白消化吸收的重要原因之一。本研究中, 饲料蛋白质的表观消化率在 71.67%–86.89% 之间, 与之前的研究相比, 要高于含有菜粕分离蛋白(57.0%–76.8%) (Nagel *et al*, 2012)和鱼粉水解蛋白(74.2%–77.8%) (Oliva-Teles, 1999)的饲料; 与含有小麦蛋白粉和豆粕(83.8%–83.6%) (Bonaldo *et al*, 2011)、含有玉米蛋白粉(73.5%–88.5%) (Regost *et al*, 1999)的饲料相当; 但低于含有玉米蛋白粉、小麦蛋白粉和羽扇豆粕的混合植物蛋白(95.7%–96.7%) (Fournier *et al*, 2004)的饲料。但是, 对于这些不同实验条件下的结果分析比较困难, 因为营养物质的表观消化率会受到许多因素的影响, 例如饲料配方、投喂策略、粪便收集方式以及计算方法等(Glencross *et al*, 2007)。进一步分析各处理组的肠道消化酶发现, 胰蛋白酶、脂肪酶的活性虽然没有随替代水平提高出现显著性改变($P>0.05$), 但它们和淀粉酶的变化趋势是相似的, 都表现为在 15%–60% 替代水平之间上下波动, 而到 75% 替代水平大幅下降, 淀粉酶活力显著低于对照组($P<0.05$), 这与表观消化率的变化趋势也是一致的。因此, 可以推测适量的蛹肽蛋白对大菱鲂的消化能力没有影响, 但高剂量的蛹肽蛋白将严重影响大菱鲂的消化能力, 表现为消化酶活力降低, 饲料干物质和蛋白质的表观消化率降低, 但其深层机制需要进一步的研究验证。

在本研究条件下, 蛹肽蛋白可以替代大菱鲂幼鱼饲料中 15% 的鱼粉而不影响其生长、饲料利用以及与

1) 赵贵萍. 不同豆粕水平的饲料中添加一种酵母培养物(益康 XP)对大菱鲂生长、组织学结构以及肠道菌群的影响. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2008, 34–35

2) 程镇燕. 大黄鱼和鲈鱼对几种水溶性维生素营养需求及糖类营养生理的研究. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2010, 53–54

消化、代谢、免疫相关酶的活性。各项指标显示,影响蛹肽蛋白利用的原因主要集中在适口性、消化率和脂肪代谢等方面,但其对大菱鲂的非特异性免疫具有促进作用,可以考虑通过对蛹肽蛋白的加工处理或者添加外源制剂等方法,进一步提高其在大菱鲂饲料中的鱼粉替代比例,为水产饲料蛋白源的开发奠定基础。

参 考 文 献

- 孔凡华, 梁萌青, 吴立新, 等. 南极磷虾粉对大菱鲂生长、非特异性免疫及氟残留的影响. 渔业科学进展, 2012, 33(1): 54-60
- 王际英, 李宝山, 王世信, 等. 不同加工工艺的饲料对大菱鲂幼鱼生长及养殖水环境的影响. 渔业科学进展, 2014, 35(3): 60-67
- 艾庆辉, 谢小军. 水生动物对植物蛋白源利用的研究进展. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2005, 35(6): 929-935
- 邝哲师, 叶明强, 赵祥杰, 等. 蛹肽蛋白替代鱼粉对断奶仔猪生长及血液指标的影响. 中国蚕业, 2010, 31(1): 26-28
- 刘兴旺, 麦康森, 艾庆辉, 等. 玉米蛋白粉替代鱼粉对大菱鲂摄食、生长及体组成的影响. 水产学报, 2012, 36(3): 466-472
- 孙雷民, 沈蓓英. 蚕蛹异味物质的分离与剖析. 无锡轻工业学院学报, 1993, 12(3): 192-196
- 闵建华, 李建科, 陈婷. 蚕蛹多肽的制备工艺及其体外抗氧化活性. 食品科学, 2009, 30(14): 123-126
- 林仕梅, 麦康森, 谭北平. 菜粕、棉粕替代豆粕对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)生长、体组成和免疫力的影响. 海洋与湖沼, 2007, 38(2): 168-173
- 段培昌, 张利民, 王际英, 等. 新型蛋白源替代饲料中鱼粉对星斑川鲮(*Platichthys stellatus*)幼鱼氨基酸组成的影响. 海洋与湖沼, 2011, 42(2): 229-236
- 赵祥杰, 邝哲师, 叶明强, 等. “蛹肽蛋白”饲料发酵过程中优势微生物菌群的动态变化. 广东蚕业, 2008, 42(4): 37-39
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International, 16th Edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, 1995
- Bonaldo A, Parma L, Mandrioli L, et al. Increasing dietary plant proteins affects growth performance and ammonia excretion but not digestibility and gut histology in turbot (*Psetta maxima*) juveniles. Aquaculture, 2011, 318(1-2): 101-108
- Burel C, Boujard T, Kaushik SJ, et al. Potential of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilisation and thyroid status. Aquaculture, 2000, 188: 363-382
- Caceres-Martinez C, Cadena-Roa M, Metailler R. Nutritional requirements of turbot (*Scophthalmus maximus*): I. A preliminary study of protein and lipid utilization. J World Maricult Soc, 1984, 15(1-4): 191-202
- Cheng Z, Ai Q, Mai K, et al. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture, 2010, 305(1-4): 102-108
- Day OJ, Gonazalez HGP. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. Aquacult Nutr, 2000, 6(4): 221-228
- Dietz C, Kroeckel S, Schulz C, et al. Energy requirement for maintenance and efficiency of energy utilization for growth in juvenile turbot (*Psetta maxima* L.): the effect of strain and replacement of dietary fish meal by wheat gluten. Aquaculture, 2012, 358-359: 98-107
- Fournier V, Huelvan C, Desbruyeres E. Incorporation of a mixture of plant feedstuffs as substitute for fish meal in diets of juvenile turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 2004, 236: 451-465
- Glencross BD, Booth M, Allan GL. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. Aquacult Nutr, 2007, 13(1): 17-34
- Habib MAB, Hasan MR, Akand AM, et al. Evaluation of silkworm pupae meal as a dietary protein source for *Clarias batrachus* fingerling. Aquaculture, 1994, 124: 62-65
- Khatun R, Howlider MAR, Rahman M, et al. Replacement of fish meal by silkworm pupae in broiler diets. Pak J Bio Sci, 2003, 6(11): 955-958
- Krishnankutty N. Plant proteins in fish feed: an additional analysis. Curr Sci, 2005(89): 934-936
- Kroeckel S, Harjes AG, Roth I, et al. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute: Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 2012, 364: 345-352
- Li W, Ai QH, Mai KS, et al. Effects of dietary amino acid patterns on growth and protein metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. Aquaculture, 2013, 406-407: 1-8
- Mahata SC, Bhuiyan AKMA, Zaher M, et al. Evaluation of silkworm pupae meal as a dietary protein source for *Thai sharpunti*, *Puntius gonionotus* (Bleeker). J Aquat Trop, 1994, 9: 77-85
- Nagel F, Dannwitz AV, Tusche K, et al. Nutritional evaluation of rapeseed protein isolate as fish meal substitute for juvenile turbot (*Psetta maxima* L.) — impact on growth performance, body composition, nutrient digestibility and blood physiology. Aquaculture, 2012, 356: 357-364
- Nandeesh MC, Shikant GK, Varghese TJ, et al. Influence of silkworm pupae based diets on growth, organoleptic quality and biochemical composition of catla-rohu hybrid. Aquacult Res Asia, 1998, 4: 211-220
- Nandeesh MC, Gangadhara B, Varghese TJ, et al. Growth response and flesh quality of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with high levels of non-defatted silkworm pupae. Asian Fish Sci, 2000, 13: 235-242
- Nandeesh MC, Gangadhara B, Manissery JK. Silkworm pupae oil and sardine oil as an additional energy source in the diet of common carp (*Cyprinus carpio*). Asian Fish Sci, 1999, 12: 207-215
- Nandeesh MC, Srikanth GK, Keshavanath P, et al. Effects of non-defatted silkworm—pupae in diets on the growth of common carp, *Cyprinus carpio*. Biol Wastes, 1990, 33(1): 17-23
- Naylor RL, Hardy RW, Bureau DP, et al. Feeding aquaculture in an era of finite resources. Proc Natl Acad Sci, 2009, 106(36): 15103-15110
- Oliva-Teles A, Cerqueira AL, Gonçalves P. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. Aquaculture, 1999, 179(1-4): 195-201
- Rangacharyulu PV, Giri SS, Paul BN, et al. Utilization of

- ferment silkworm pupae silage in feed for carps. *Bioresour Technol*, 2003, 86(1): 29–32
- Rasmussen RS, Ostenfeld TH. Effect of growth rate on quality traits and feed utilisation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 2000, 184(3): 327–337
- Regost C, Arzel J, Kaushik SJ. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 1999, 180: 99–117
- Shearer KD. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, 1994, 119(1): 63–88
- Tusche K, Wuertz S, Susenbeth A, *et al.* Feeding fish according to organic aquaculture guidelines EC 710/2009: influence of potato protein concentrates containing various glycoalkaloid levels on health status and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 2011, 319: 122–131
- Wang Q, He G, Wang X, *et al.* Dietary sulfur amino acid modulations of taurine biosynthesis in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 2014, 422: 141–145
- Yigit M, Erdem M, Koshio S, *et al.* Substituting fish meal with poultry by-product meal in diets for black sea turbot *Psetta maeotica*. *Aquacult Nutr*, 2006, 12(5): 340–347
- Yigit M, Ergün S, Türker A, *et al.* Evaluation of soybean meal as a protein source and its effect on growth and nitrogen utilization of black sea turbot (*Psetta maeotica*) juveniles. *J Mar Sci Tech*, 2010, 18(5): 682–688
- Zhu LS. Exploitation and utilization of the silkworm *Antheraea pernyi*. *Northern Sericulture*, 2004, 25(101): 32–33

(编辑 冯小花)

Effects of Dietary Substitution of Fishmeal by Fermented Silkworm Pupae on the Growth, Feed Intake, Digestion and Immunity of Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

MEI Lin, ZHOU Huihui, MAI Kangsen, XU Wei, HE Gen^①

(Key laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract Fish meal is a major protein source in aquafeeds especially for carnivorous fish species. Increasing demand, unstable supply and high price of fish meal with expansion of aquaculture made it necessary to search for alternative protein source. Fermented silkworm pupae is a compound protein of both silkworm pupae and some plant proteins and was a promising substitute for fish meal. To evaluate fermented silkworm pupae as an alternative for fish meal, a 56-day feeding trial in an in-door seawater recirculating system was conducted to investigate the effects of fishmeal replacement by fermented silkworm pupae (FSP) on growth performance, feed utilization blood physiology and enzymatic activities of juvenile turbot with initial average weight of (19.84±0.04 g). Six isonitrogenous and isocaloric practical diets were formulated to replace fishmeal at 0%, 15%, 30%, 45%, 60%, and 75% levels with FSP. Each diet was randomly fed to quadruplicate groups of fish. With the increasing FSP level, the specific growth rate (SGR) and feed efficiency (FE) decreased and was significantly different at over 30% replacement levels ($P<0.05$). Whole body protein and lipid content decreased with the increasing FSP substitution level, and was significantly different at 75% and 30% replacement level respectively ($P<0.05$). However, whole body moisture and ash content increased with the increasing fishmeal replacement level, and significant difference was shown at 75% and 30% replacement level respectively ($P<0.05$). ADC of dry matter (42.53%–54.36%) was significantly lower than the control at 75% replacement level ($P<0.05$); while ADC of protein (71.67%–86.89%) decreased significantly only when 45% or 75% fish meal was replaced by FSP ($P<0.05$). Hepatic SOD activity in all treatments was higher than the control and was significantly different at 45% and 60% replacement levels ($P<0.05$). Results of the present study indicated that FSP could replace 15% fish meal in the diets of juvenile turbot without compromising growth performance, feed utilization, blood parameters and enzymatic activities.

Key words Fermented silkworm pupae; Turbot (*Scophthalmus maximus* L.); Protein source; Substitution

① Corresponding author: HE Gen, E-mail: hegen@ouc.edu.cn