

DOI: 10.11758/yykxjz.20160426001

http://www.yykxjz.cn/

小麦蛋白替代鱼粉及大豆蛋白对日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*)和黑鲷(*Sparus macrocephalus*) 血清生化指标及肝脏抗氧化指标的影响*

成艳波¹ 张月星^{1①} 董智勇¹ 路冰岩² 王永超¹

(1. 浙江海洋大学 国家海洋设施养殖工程技术研究中心 舟山 316022;

2. 广州市联鲲生物科技有限公司 广州 511483)

摘要 本研究通过在低鱼粉型膨化饲料中添加不同比例的混合型小麦蛋白(GWT, 由小麦蛋白、低筋面粉和牛磺酸分别以 77.5%、20.5%和 2.0%的比例混合而成), 逐步替代饲料中低温干燥鱼粉(LT-FM)或大豆浓缩蛋白(SPC), 饲喂日本黄姑鱼(*Nibea japonica*)[初始体重为(12.83±0.91) g]和黑鲷(*Sparus macrocephalus*)幼鱼[初始体重为(15.40±0.02) g] 59 d, 研究其对 2 种鱼类血清生化指标和肝脏抗氧化指标的影响。本研究配制 8 种等氮、等能饲料(粗蛋白: 44.1%–45.6%、总能: 21.5–22.0 MJ/kg), 其中, 对照组饲料以 LT-FM(20.0%)和 SPC(21.4%)为主蛋白源, 6 种实验饲料以 GWT 分别替代对照组饲料中 33.3%、66.7%和 100%的 LT-FM 或 SPC 蛋白, 另配制 1 种实验饲料(联合替代组), 用 GWT 替代对照组饲料中 50%的 LT-FM 和 SPC 蛋白。结果显示, 用 GWT 替代对照组饲料中的 LT-FM 对日本黄姑鱼血清总蛋白(TP)、甘油三酯(TG)和肝脏丙二醛(MDA)含量以及肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性均无显著影响($P>0.05$), 但显著降低了血清总胆固醇(TC)、葡萄糖(GLU)含量($P<0.05$)。相较对照组, GWT 高比例(66.7%和 100%)替代 LT-FM 引起日本黄姑鱼血清 SOD 活性的显著升高($P<0.05$)。GWT 替代对照组饲料中 LT-FM 或(和)SPC 均未对黑鲷幼鱼血清中的 TP、TG、TC、GLU 含量、肝脏 MDA 含量和血清 SOD 活性产生显著影响($P>0.05$), 而 GWT 完全替代 LT-FM 组、GWT 替代 33.3%和 66.7%SPC 组以及 GWT 联合替代组的黑鲷幼鱼肝脏 SOD 活性均显著上升($P<0.05$)。总之, 在本研究中, 日本黄姑鱼相较黑鲷对低鱼粉饲料中鱼粉用量的进一步下降更为敏感, GWT 高比例甚至完全替代 LT-FM 和 SPC, 未对黑鲷血清生化指标和肝脏抗氧化指标造成显著影响。本研究首次以小麦蛋白作为饲用蛋白源替代 LT-FM 和 SPC 在日本黄姑鱼和黑鲷中开展研究; 实验采用低鱼粉型(20%)膨化实用饲料作为对照组。

关键词 日本黄姑鱼; 黑鲷; 小麦蛋白; 低温干燥鱼粉; 大豆蛋白; 血清生化指标

中图分类号 S963 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2017)03-0106-09

日本黄姑鱼(*Nibea japonica*), 属鲈形目, 石首鱼科, 黄姑鱼属, 是一种摄食凶猛的肉食性鱼类, 主要分布于中国南海及日本的南部海域(柴学军等, 2009)。

黑鲷(*Sparus macrocephalus*), 属鲈形目, 鲷科, 棘鲷属, 主要分布于西太平洋海域, 如我国渤海、黄海、东海及台湾海峡等(马晶晶等, 2009)。2 种鱼类都是

* “海洋科学”浙江省重中之重学科开放课题(20130102)资助[This work was supported by the Open Foundation from Marine Sciences in the Most Important Subjects of Zhejiang Province (20130102)]. 成艳波, E-mail: yanbo198908@126.com

① 通讯作者: 张月星, 讲师, E-mail: yuexing.zhang@zjou.edu.cn

收稿日期: 2016-04-26, 收修改稿日期: 2016-04-29

目前我国东海海区常见的网箱养殖及增殖放流品种(楼宝等, 2002; Ma *et al.*, 2008)。

小麦蛋白是小麦淀粉加工后的副产品, 相较鱼粉和大豆浓缩蛋白有更高的粗蛋白含量和表观消化率(Draganovic *et al.*, 2011; Apper-Bossard *et al.*, 2013), 也具备 Gatlin 等(2007)提出的鱼粉替代蛋白源应具备的营养特性, 是一种理想的饲用优质植物蛋白源。相较鱼粉, 小麦蛋白具有产量大、供应稳定、价格经济等优点。因此, 探究小麦蛋白替代鱼粉作为具有一定养殖规模的名特优品种的饲用主蛋白, 具有重大的经济意义。相比大豆浓缩蛋白, 小麦蛋白还具有抗营养因子少和含硫氨基酸相对含量高等优点。本研究拟通过小麦蛋白替代鱼粉及大豆浓缩蛋白的研究, 以期对肉食性海水鱼类的低鱼粉型实用配方研发提供理论参考。

血液是鱼体内一种与自身代谢、营养组成和生理健康等密切相关的流体组织。其生化指标可反映出鱼体受环境和饵料营养等因子影响的状况。肝脏是鱼体重要的代谢器官, 与体内营养物质代谢密切相关。因此, 鱼类血液及肝脏生化指标常用作评估其代谢状况及器官病变的重要指标, 也可用于评估鱼粉替代蛋白源在饲料配方中应用的可行性及有效性。

小麦蛋白替代鱼粉对军曹鱼(*Rachycentron canadum*) (杨珺, 2010)¹⁾、欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*) (Robaina *et al.*, 1999)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) (Kaushik *et al.*, 1995; de Francesco *et al.*, 2004)等血清生化指标的影响均见报道, 而相关研究在日本黄姑鱼和黑鲷中却尚未开展。本研究通过在饲料中添加不同比例的混合型小麦蛋

白(GWT), 逐步替代优质低温干燥鱼粉(Low-temperature dried fish meal, LT-FM)或大豆浓缩蛋白(Soy protein concentrate, SPC), 研究其对日本黄姑鱼和黑鲷幼鱼血清生化指标和肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量的影响, 拟在生理生化水平上对小麦蛋白在 2 种肉食性鱼类膨化饲料中应用的可行性及有效性作出准确评估。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验以低温干燥鱼粉(LT-FM)、大豆浓缩蛋白(SPC)和混合型小麦蛋白(GWT)为饲用主蛋白源, 其中, GWT 由小麦面筋蛋白(Vital wheat gluten, VWG)、低筋面粉和牛磺酸分别以 77.5%、20.5%和 2.0%的比例混合而成。LT-FM、SPC 和 VWG 3 种原料的营养组成详见表 1。实验配制了 8 种等氮等能饲料(粗蛋白为 44.1%–45.6%、总能为 21.5–22.0 MJ/kg)。其中, 对照组(V0)饲料以 LT-FM(20.0%)和 SPC(21.4%)为主蛋白源; 6 种实验饲料以 GWT 分别替代对照组饲料中 33.3%、66.7%和 100%的 LT-FM 蛋白(分别以 VF1、VF2、VF3 表示)或 SPC(分别以 VS1、VS2、VS3 表示); 另配制联合替代组(VFS), 用 GWT 同时替代对照组饲料中 50%的 LT-FM 和 50%的 SPC。饲料配方及其化学组成详见表 2。原料经粉碎、混匀后, 使用双螺杆挤压膨化机(牧羊 MY56X2A), 制成粒径为 3.5–3.8 mm 的膨化颗粒。实验饲料经干燥后, –20℃贮藏备用。

表 1 饲料原料营养组成(g/kg 干物质)

Tab.1 Composition of three feed ingredients used in the experiment(g/kg of the dry matter)

营养组成 Composition	低温干燥鱼粉 ¹ LT-FM	小麦面筋蛋白 ² VWG	大豆浓缩蛋白 ³ SPC
干物质 Dry matter (DM)	913.0	935.0	925.0
粗蛋白 Crude protein	748.0	837.0	694.0
粗脂肪 Crude fat	117.0	44.0	47.0
淀粉 Starch	–	74.0	–
灰分 Ash	122.0	10.0	58.0
总能 Gross energy (MJ/kg)	21.8	22.0	20.1

1: 丹麦 Triple nine 鱼粉公司; 2: 比利时 Syral Belgium N.V, AMYGLUTEN 110; 3: 益海嘉里集团秦皇岛金海粮油有限公司; “–”表示含量未检测

1: Triple nine®, Denmark; 2: AMYGLUTEN 110, Syral Belgium N.V, Belgium; 3: YIHAI®, Wilpromil, Glodensea Grain and Oil Industry Co., Ltd, Wilmar, Qinhuaungdao, China; Dash indicated data were not analyzed

1) Yang J. Study on utilization of four plant protein sources for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. Master's Thesis of Guangdong Ocean University, 2010, 21 [杨珺. 军曹鱼(*Rachycentron canadum*)对四种植物蛋白源的利用研究. 广东海洋大学硕士研究生学位论文, 2010, 21]

表2 饲料配方及化学组成(g/kg干物质)
Tab.2 Feed formulation and chemical composition (g/kg of the dry matter)

原料 Ingredients	实验饲料 Diets							
	V0	VF1	VF2	VF3	VS1	VS2	VS3	VFS
混合型小麦蛋白 GWT ¹	—	69.0	138.0	207.0	69.0	138.0	207.0	207.0
鱼粉 LT-FM	200.0	133.0	66.0	—	200.0	200.0	200.0	100.0
大豆浓缩蛋白 SPC	214.0	214.0	214.0	214.0	142.0	71.0	—	107.0
其他混合蛋白 ² Other protein combination	190.0	190.0	190.0	190.0	190.0	190.0	190.0	190.0
面粉 Wheat flour	266.4	250.4	234.6	217.8	262.9	259.1	255.4	236.3
鱼油 Fish oil	84.0	89.0	94.0	99.0	84.0	84.0	84.0	92.0
大豆卵磷脂 Soy lecithin	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
预混料 Premix ³	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	14.0	17.0	20.0	23.0	14.5	14.5	14.5	19.0
氯化胆碱 Choline chloride	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
晶体氨基酸混合物 ⁴ Crystalline amino acid mixture	—	6.0	11.8	17.6	6.0	11.8	17.5	17.1
成分分析 Analyzed content								
水分 Moisture	49.0	46.0	43.0	44.0	43.0	43.0	43.0	45.0
粗蛋白 Crude protein	441.0	447.0	444.0	449.0	447.0	451.0	456.0	454.0
粗脂肪 Crude fat	135.0	136.0	139.0	142.0	140.0	141.0	131.0	140.0
灰分 Ash	76.0	69.0	61.0	54.0	72.0	68.0	64.0	59.0
总能 Gross energy (MJ/kg)	21.5	21.6	21.6	22.0	21.5	21.7	21.8	22.0

1: 由小麦蛋白、面粉和牛磺酸分别以 77.5%、20.5%和 2.0%的比例混合而成; 2: 豆粕、花生粕和南极磷虾粉按 70 : 70 : 50 比例混合; 3: 预混料中, 多维和多矿的混合比例为 2 : 1, 多维组成(每千克饲料含量): 维生素 A 20 mg, 维生素 B₁ 12 mg, 维生素 B₂ 10 mg, 维生素 B₆ 15 mg, 维生素 B₁₂ 8 mg, 烟酰胺 100 mg, 抗坏血酸 1000 mg, 泛酸钙 40 mg, 生物素 2 mg, 叶酸 10 mg, 维生素 E 400 mg, 维生素 K₃ 20 mg, 维生素 D₃ 10 mg, 肌醇 200 mg, 玉米蛋白粉 150 mg; 多矿组成(每千克饲料含量): CuSO₄·5H₂O 10 mg, FeSO₄·H₂O 300 mg, ZnSO₄·H₂O 200 mg, MnSO₄·H₂O 100 mg, KI (10% I) 80 mg, Na₂SeO₃ (10% Se) 67 mg, CoCl₂·6H₂O (10% Co) 5 mg, NaCl 100 mg, 沸石 638 mg; 4: 晶体氨基酸混合物: VF1、VF2、VF3 中添加混合氨基酸为 L-赖氨酸、DL-蛋氨酸、L-精氨酸、L-苏氨酸(37 : 4 : 11 : 8); VS1、VS2、VS3 中添加混合氨基酸为 L-赖氨酸、L-精氨酸、L-苏氨酸(61 : 21 : 8); VFS 中添加混合氨基酸为 L-赖氨酸、DL-蛋氨酸、L-精氨酸、L-苏氨酸(100 : 2 : 47 : 22); “—”表示该原料组分在对应饲料中无添加

1: Mixture of vital wheat gluten, wheat flour and taurine (mixing ratio: 77.5%, 20.5% and 2.0%); 2: Mixture of soybean meal, peanut meal and krill meal (70 : 70 : 50); 3: Vitamin premix (mg/kg diet): Vitamin A 20 mg, Vitamin B₁ 12 mg, Vitamin B₂ 10 mg, Vitamin B₆ 15 mg, Vitamin B₁₂ 8 mg, Niacin amide 100 mg, Ascorbic acid 1000 mg, Calcium pantothenate 40 mg, Biotin 2 mg, Folic acid 10 mg, Vitamin E 400 mg, Vitamin K₃ 20 mg, Vitamin D₃ 10 mg, Inositol 200 mg, Corn protein powder 150 mg; Mineral premix (mg/kg diet): CuSO₄·5H₂O 10 mg, FeSO₄·H₂O 300 mg, ZnSO₄·H₂O 200 mg, MnSO₄·H₂O 100 mg, KI (10% I) 80 mg, Na₂SeO₃ (10% Se) 67 mg, CoCl₂·6H₂O (10% Co) 5 mg, NaCl 100 mg, Zeolite 638 mg. Vitamin premix: mineral premix=2 : 1; 4: Amino acid mixtures added in VF1, VF2, and VF3 were L-lysine, DL-Methionine, L-Arginine, and L-Threonine mixed with the ratio of 37 : 4 : 11 : 8; Amino acid mixtures added in VS1, VS2, and VS3 were L-lysine, L-Arginine, and L-Threonine mixed as the ratio of 61 : 21 : 8; Amino acid mixtures added in VFS were L-lysine, DL-Methionine, L-Arginine, and L-Threonine mixed with the ratio of 100 : 2 : 47 : 22; Dash indicated no addition of ingredient in diet

1.2 实验鱼

日本黄姑鱼幼鱼由浙江省海洋水产研究所西轩岛增殖基地提供, 黑鲷幼鱼购自浙江舟山登步岛黑鲷苗种场。暂养 2 周后, 禁食 1 d, 用 MS-222 轻微麻醉, 选取健康和体格匀称的个体, 随机分配至 48 个 250 L 圆形玻璃纤维养殖缸(每种鱼 24 个养殖缸)。养殖密度分别为日本黄姑鱼 26 条/缸, 初始体重为(12.83±0.91) g, 黑鲷 35 条/缸, 初始体重为(15.40±0.02) g。

1.3 养殖系统与饲料投喂

养殖实验在浙江省海洋水产研究所中挪海水鱼类营养与饲料联合实验室进行。采用室内流水养殖系统, 实验用水为沉淀砂滤后的海水, 盐度约为 28, 每缸进水速率为 2 L/min, 缸中放置 1 个纳米气石, 保证溶氧>6.0 mg/L。实验期间, 平均水温为 28℃, 采用自然光照, 养殖时间为 59 d, 每种饲料喂养 3 个缸的实验鱼。采用人工投喂, 每天 4 次(06:40, 09:50,

13:00 和 16:10), 每次 30 min, 确保实验鱼明显饱食。投喂前 5 min, 停水停气以便观察摄食状况, 投喂结束后, 用虹吸法收集残饵并定量, 再进行缸底吸污。

1.4 样品采集与分析

养殖结束后, MS-222 轻度麻醉所有实验鱼, 称重。每缸随机取 5 条鱼, 进行血液样本(尾静脉抽血)和肝脏样品采集。将采集有血样的 EP 管置于冰盒中, 待其完全凝固后, 4000×g、4℃, 离心 10 min, 取上清, 液氮速冻, -80℃保存待分析。肝脏样品在冰盘上充分研磨后, 迅速转移至 1.8 ml 的冻存管中, 液氮速冻后, -80℃保存待分析。

血清总蛋白(TP)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和葡萄糖(GLU)等含量, 谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性均使用美国 Beckman Coulter AU5800 系列全自动生化分析仪及该公司总蛋白(双缩脲法)、甘油三酯(GPO-POD 法)、总胆固醇(酶法)、葡萄糖(氧化酶法)、丙氨酸氨基转移酶(速率法)和天冬氨酸氨基转移酶(速率法)等试剂盒测定。血清和肝脏 SOD 活性

(WST-1 法)及肝脏丙二醛(MDA, TBA 法)含量采用南京建成试剂盒测定。

1.5 统计方法

使用 SPSS 17.0 软件对实验鱼各指标进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 若差异显著($P < 0.05$), 则进行 Duncan 多重比较分析。对联合替代组 and 对照组实验鱼的各指标进行独立样本 t 检验, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 GWT 替代 LT-FM 或 SPC 对日本黄姑鱼的影响

本研究分析了用 GWT 按不同比例替代饲料中的 LT-FM 或 SPC, 对日本黄姑鱼血清生化指标(TP、TG、TC、GLU 含量及 ALT、AST、SOD 活性)、肝脏 MDA 含量和 SOD 活性的影响见表 3。从表 3 可以看出, 养殖结束时, GWT 替代 LT-FM 对黄姑鱼血清中的 TP 和 TG 含量、ALT 和 AST 活性、肝脏 SOD 活性和

表 3 GWT 替代 LT-FM 或 SPC 对日本黄姑鱼血清生化指标及肝脏抗氧化指标的影响

Tab.3 Effects of dietary LT-FM or SPC replaced by GWT on plasma biochemical indices, liver anti-oxidative indices of *N. japonica*

项目 Items	替代水平 Replacing level (%)				P	Pooled S.E.M
	0	33.3	66.7	100		
GWT 替代 LT-FM LT-FM replaced by GWT						
血清生化指标 Biochemical indices in plasma						
TP (g/L)	30.50	34.30	36.30	36.90	0.16	1.43
TG (mmol/L)	10.14	8.07	7.08	6.22	0.23	1.82
TC (mmol/L)	4.02 ^a	3.22 ^{ab}	3.39 ^{ab}	3.07 ^b	0.04	0.27
GLU (mmol/L)	14.42 ^a	8.03 ^b	7.86 ^b	6.81 ^b	0.01	1.78
ALT (U/L)	59.00	36.50	72.80	42.80	0.71	22.30
AST (U/L)	170.00	151.00	183.00	131.00	0.90	52.30
SOD (U/ml)	19.80	19.60 ^{ab}	21.50 ^b	21.50 ^b	0.01	0.34
肝脏抗氧化指标 Anti-oxidative indices in liver						
MDA (nmol/mg prot)	15.74	5.47	7.69	6.06	0.12	3.40
SOD (U/mg prot)	462.00	431.00	435.00	442.00	0.94	27.50
GWT 替代 SPC SPC replaced by GWT						
血清生化指标 Biochemical indices in plasma						
TP (g/L)	30.50	34.80	33.30	34.40	0.09	1.43
TG (mmol/L)	10.14	10.50	8.86	5.64	0.21	1.82
TC (mmol/L)	4.02	3.79	3.68	3.26	0.56	0.27
GLU (mmol/L)	14.42	8.56	9.03	10.69	0.13	1.78
ALT (U/L)	59.00	40.00	28.80	59.20	0.66	22.30
AST (U/L)	170.00	131.00	109.00	174.00	0.76	52.30
SOD (U/ml)	19.80	19.70	19.00	20.20	0.18	0.34
肝脏抗氧化指标 Anti-oxidative indices in liver						
MDA (nmol/mg prot)	15.74	6.16	4.63	14.48	0.19	3.40
SOD (U/mg prot)	462.00	459.00	408.00	440.00	0.06	27.50

注: 结果用平均值表示($n=3$), 相同字母者表示差异不显著($P > 0.05$), 表 5 同

Note: Data were the mean of 3 individual samples, same letter indicated no significant different ($P > 0.05$), the same as Tab.5

MDA 含量均无显著影响($P>0.05$),但对血清中的 TC 和 GLU 含量及 SOD 活性等均影响显著($P<0.05$)。其中, GWT 100%替代 LT-FM 组的血清 TC 和 GLU 含量最低, SOD 活性最高。GWT 替代 SPC,对黄姑鱼血清生化指标和肝脏抗氧化指标的影响均不显著($P>0.05$)。

2.2 GWT 替代 50% LT-FM 和 SPC 对日本黄姑鱼的影响

用 GWT 同时替代饲料中 50% LT-FM 和 50% SPC,对日本黄姑鱼血清生化指标及部分肝脏指标的影响见表 4。从表 4 可以看出,替代组除 TG 和 GLU 含量显著低于对照组($P<0.05$)外,其他指标较对照组均无显著差异($P>0.05$)。

2.3 GWT 替代 LT-FM 或 SPC 对黑鲷的影响

用 GWT 按不同比例替代饲料中 LT-FM 或 SPC 对黑鲷血清生化指标及部分肝脏指标的影响见表 5。

表 4 GWT 替代 50% LT-FM 和 SPC 对日本黄姑鱼血清生化指标及肝脏抗氧化指标的影响(平均值±标准差, $n=3$)

项目 Items	V0	VFS	$P> t $
血清生化指标 Biochemical indices in plasma			
TP (g/L)	30.50±2.50	36.00±2.40	0.05
TG (mmol/L)	10.14±3.15	3.98±2.06	<0.05
TC (mmol/L)	4.02±0.47	2.56±1.07	0.10
GLU (mmol/L)	14.42±3.09	7.50±1.19	0.02
ALT (U/L)	59.00±38.50	78.80±75.00	0.70
AST (U/L)	170.00±91.00	193.00±120.00	0.81
SOD (U/ml)	19.80±0.60	21.40±0.90	0.07
肝脏抗氧化指标 Anti-oxidative indices in liver			
MDA (nmol/mg prot)	15.74±5.89	8.65±0.85	0.11
SOD (U/mg prot)	462.00±39.0	365.00±45.00	0.09

表 5 GWT 替代 LT-FM 或 SPC 对黑鲷血清生化指标及肝脏抗氧化指标的影响
Tab.5 Effects of dietary LT-FM or SPC replaced by GWT on plasma biochemical indices, liver anti-oxidative indices of *S. macrocephalus*

项目 Items	替代水平 Replacing level (%)				P	Pooled S.E.M
	0	33.3	66.7	100		
GWT 替代 LT-FM LT-FM replaced by GWT						
血清生化指标 Biochemical indices in plasma						
TP (g/L)	40.00	39.10	38.40	44.00	0.25	1.38
TG (mmol/L)	17.08	17.83	15.05	21.36	0.60	3.43
TC (mmol/L)	10.46	10.40	9.59	10.77	0.88	1.15
GLU (mmol/L)	4.49	4.14	5.16	4.48	0.68	0.16
ALT (U/L)	14.80	12.80	19.70	21.00	0.59	3.18
AST (U/L)	57.00	57.00	100.00	92.00	0.50	11.40
SOD (U/ml)	19.30	21.00	20.50	18.80	0.21	1.04
肝脏抗氧化指标 Anti-oxidative indices in liver						
MDA (nmol/mg prot)	1.41	1.04	0.97	0.76	0.32	0.42
SOD (U/mg prot)	199.00 ^a	201.00 ^{ab}	203.00 ^{ab}	223.00 ^b	0.02	3.99
GWT 替代 SPC SPC replaced by GWT						
血清生化指标 Biochemical indices in plasma						
TP (g/L)	40.00	41.20	35.50	40.70	0.58	1.38
TG (mmol/L)	17.08	17.66	15.93	20.86	0.87	3.43
TC (mmol/L)	10.46	10.32	8.37	10.60	0.60	1.15
GLU (mmol/L)	4.49	4.40	5.43	4.99	0.69	0.16
ALT (U/L)	14.80	16.70	16.20	14.70	0.97	3.18
AST (U/L)	57.00	75.00	89.00	65.00	0.67	11.37
SOD (U/ml)	19.30	17.50	19.00	18.30	0.96	1.04
肝脏抗氧化指标 Anti-oxidative indices in liver						
MDA (nmol/mg prot)	1.41	0.93	0.86	0.74	0.36	0.42
SOD (U/mg prot)	199.00 ^a	221.00 ^b	235.00 ^b	219.00 ^{ab}	<0.01	3.99

注: GWT 替代 LT-FM 组 ALT、AST 平均值分别为 17.8、83 U/L; GWT 替代 SPC 组 ALT、AST 平均值分别为 15.9、76 U/L

Note: Means of ALT and AST activities in the group of dietary LT-FM replaced by GWT were 17.8 U/L and 83 U/L respectively; Means of ALT and AST activities in the group of dietary SPC replaced by GWT were 15.9 U/L and 76 U/L, respectively

由表5可知, 养殖实验结束时, 除肝脏SOD活性外, 其余指标均无显著影响($P>0.05$)。其中, GWT替代LT-FM时, 肝脏SOD活性随替代比例增加而显著升高, 100%替代组的肝脏SOD活性最高, 显著高于对照组($P<0.05$), 但较33.3%和66.7%替代组无显著差异($P>0.05$)。GWT替代SPC时, 33.3%和66.7%替代组的肝脏SOD活性显著高于对照组和100%替代组($P<0.05$)。

2.4 GWT替代50%LT-FM和50%SPC对黑鲷的影响

用GWT同时替代50%LT-FM和50%SPC对黑鲷血清生化指标及部分肝脏指标的影响见表6。从表6可以看出, 替代组除肝脏SOD酶活显著高于对照组($P<0.05$)外, 其他指标较对照组均无显著差异($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 小麦蛋白对日本黄姑鱼和黑鲷血清TP、TG、TC和GLU含量的影响

鱼类可通过改变自身代谢模式(包括蛋白质和能量代谢方式), 以适应不同营养特性的饵料及摄入水平。在正常生理状态下, 鱼体可通过合成及分解代谢的调节, 使自身营养指标处于相对稳定状态。TP、TG和GLU是蛋白质、脂质和糖类三大营养物质消化吸收后在鱼体血液里的最主要存在形式。血液中一定

含量的营养物质是维持鱼类生存所必需的。同时, 血液中营养物质含量的变化也可反应出机体三大营养物质代谢的基本情况。因此, 鱼类的血清生化指标通常用作判定鱼体健康与否的标准。肝脏是蛋白质合成的主要场所, 鱼血清中的TP和鱼体肝脏功能密切相关, 血清中TP含量一定程度上可以反映肝脏的健康程度和饲料的质量状况(宋文新, 2009)¹⁾。也有研究指出, 血清中蛋白质的含量与免疫补体的含量有一定的关联(Sitj -Bobadilla *et al*, 2005)。本研究中小麦蛋白替代鱼粉或大豆蛋白的所有处理对日本黄姑幼鱼、黑鲷幼鱼均未产生显著影响。孙宏等(2014)、黎慧等(2014)和彭翔等(2012)的研究也发现, 在饲料中添加植物性蛋白不会引起黑鲷TP的显著改变。

血清中TG和TC含量与鱼体内脂肪代谢相关, 而GLU则与糖类代谢密不可分。本研究中, 小麦蛋白替代鱼粉或大豆蛋白的处理对黑鲷血清中TG、TC和GLU均无显著影响, 相同的替代处理在赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)研究中也有相似的结果(未发表)。高比例小麦蛋白替代LT-FM会引起日本黄姑鱼TC的显著下降。植物蛋白替代鱼粉引起养殖动物血清TC含量下降的现象在虹鳟(de Francesco *et al*, 2004; Kaushik *et al*, 1995)、欧洲鲈(Robaina *et al*, 1999)、金头鲷(*Sparus aurata*) (Gómez-Requeni *et al*, 2004)、大菱鲆(*Psetta maxima*) (现命名为*Scophthalmus maximus*) (Regost *et al*, 1999)等研究中也报道。Kaushik等

表6 GWT替代50%LT-FM和SPC对黑鲷血清生化指标及肝脏抗氧化指标的影响(平均值±标准差, $n=3$)

Tab.6 Effects of 50% replacement of LT-FM and SPC by GWT on plasma biochemical indices, and liver anti-oxidative indices of *S. macrocephalus* (Mean±SD, $n=3$)

项目 Items	V0	VFS	$P> t $
血清生化指标 Biochemical indices in plasma			
TP (g/L)	40.00±2.40	42.10±4.50	0.51
TG (mmol/L)	17.08±5.93	20.61±4.07	0.44
TC (mmol/L)	10.46±2.00	9.47±0.77	0.45
GLU (mmol/L)	0.49±0.28	4.76±0.07	0.18
MDA (nmol/mg prot)	1.41±0.72	0.79±0.01	0.21
ALT (U/L)	14.80±5.50	17.70±4.10	0.51
AST (U/L)	57.00±20.00	93.00±23.00	0.11
SOD (U/ml)	19.30±1.80	19.70±0.90	0.75
肝脏抗氧化指标 Anti-oxidative indices in liver			
MDA (nmol/mg prot)	1.41±0.72	0.79±0.01	0.21
SOD (U/mg prot)	199.00±7.00	216.00±7.00	0.04

1) Song WX. Study on the partial replacement of fish meal by fermented soybean meal in the diet for juvenile black sea bream. Master's Thesis of Zhejiang University, 2009, 42 [宋文新. 黑鲷幼鱼饲料中发酵豆粕部分替代鱼粉的研究. 浙江大学硕士研究生学位论文, 2009, 42]

(2004)指出, 饲料中植物蛋白的添加可能促进了胆汁酸盐的排泄, 并抑制了肠道中胆固醇的重吸收, 进而表现为血清中 TC 含量的下降。也可能是鱼粉等高胆固醇物质在饲料中使用量的下降引起, 而与添加的植物蛋白类别无关。小麦蛋白替代 LT-FM 对日本黄姑鱼血清 TC 影响显著, 而相同替代对黑鲷 TC 则无显著影响, 这可能是不同鱼类的营养代谢机制不同所导致。血清 GLU 含量与动物的摄食水平和饲料中的营养因素相关(Nelssen *et al*, 1985)。在本研究中, 小麦蛋白替代 LT-FM 引起了日本黄姑鱼血清中 GLU 含量的显著下降。表明在饲料鱼粉含量已较低(20.0%)的情况下, 用小麦蛋白进一步替代鱼粉可能会导致不良效果, 也反应出日本黄姑鱼对饲料配方中鱼粉用量的减少较黑鲷更为敏感。

3.2 小麦蛋白对日本黄姑鱼和黑鲷血清 ALT、AST、SOD 活性和肝脏 SOD 活性、MDA 含量的影响

谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)是与体内三大营养(蛋白质、脂质和糖类)物质以及氨基酸代谢过程紧密相关的 2 种酶。ALT 主要参与谷氨酸和丙酮酸间的转氨作用, 而 AST 则主要与谷氨酸和草酰乙酸之间的转氨作用相关。2 种酶皆存在于鱼的肝脏中, 且其活性高低是鱼体内蛋白质合成和分解代谢强弱的重要体现。正常的生理状况下, 血清 ALT 活性极低, 只有在肝功能发生障碍或肝细胞受损时, ALT 才会被释放到血液中, 并表现出较高的血清 ALT 活性。当肝脏或者机体的肌肉组织发生障碍时, 血清中 AST 活性显著上升。血清中 ALT 和 AST 的活性可反映出鱼体肝脏的受损伤情况(Nyblom *et al*, 2004; 梅琳等, 2015)。本研究中, 不同替代处理对日本黄姑鱼和黑鲷血清 ALT、AST 均无显著影响。黑鲷 LT-FM 替代组的 ALT 和 AST 测定值分别为 17.8 U/L 和 83 U/L, 而 SPC 替代组的 ALT 和 AST 测定值分别为 15.9 U/L 和 76 U/L。以上测定值均低于刘颖等(2010)报道的黑鲷血清 ALT(42.7 U/L)、AST(86.0 U/L)值。此差异可能与黑鲷的规格和饲养条件(环境因素或饵料因素)有关。但有关日本黄姑鱼血清 ALT、AST 的数据尚无报道。

肝脏中 SOD 活性、MDA 含量及血清 SOD 活性, 常作为鱼类非特异性免疫指标, 其活性及含量与鱼体内存在的自由基相关(陈度煌等, 2013)。SOD 具有清除鱼体内自由基的能力, 可增强鱼体吞噬细胞的吞噬活性, 促进与免疫相关蛋白的合成(向泉等, 2012)。鱼肝脏 MDA 含量, 常用来指示机体内脂质的过氧化程度(宋志明等, 2015)。MDA 的测定常与 SOD 的测定同步, SOD 活力的高低间接反映机体清除自由基的能

力, 而 MDA 含量的高低则间接反应机体细胞受氧自由基攻击的程度。小麦蛋白含较高的谷氨酰胺, 可占粗蛋白的 35%—40%。谷氨酰胺可作为谷胱甘肽合成的前体, 在鱼体内氧自由基的清除中扮演重要角色(Trichet *et al*, 2010)。Zhu 等(2011)研究发现, 杂交鲟鱼(*Acipenser schrenckii*♀×*Huso dauricus*♂)的血清 SOD 活性随饲料中谷氨酰胺添加量的增加而升高。在饲料中添加适量的谷氨酰胺(0.9%—1.2%), 能显著提高杂交鲟幼鱼的血清非特异性免疫和抗氧化胁迫能力。Cheng 等(2012)以杂交条纹鲈(*Morone chrysops*×*Morone saxatilis*)为研究对象, 发现饲料中添加谷氨酰胺会显著增加细胞间超氧阴离子数量, 而后者能迅速刺激机体产生免疫应答, 从而起到疾病防御的作用(Siwicki *et al*, 1994)。本研究中, 小麦蛋白高比例替代 LT-FM 组(66.7% 和 100% 替代组)的日本黄姑鱼血清 SOD 活性显著升高, 小麦蛋白替代 LT-FM 组、SPC 组以及联合替代组黑鲷的肝脏 SOD 活性在较高替代水平平均表现出显著增长。因此, 小麦蛋白可能因其谷氨酰胺含量的较高, 在一定程度上促进了日本黄姑鱼和黑鲷非特异性免疫应答。小麦蛋白替代一定量的鱼粉对日本黄姑鱼血清 SOD 活性有显著提升, 而替代 SPC 对日本黄姑鱼血清 SOD 活性无影响, 表明血清 SOD 活性与饲料中蛋白源混合比例或小麦蛋白添加水平有关。小麦蛋白替代鱼粉会引起日本黄姑鱼血清 SOD 活性的提升, 而在黑鲷中表现为肝脏 SOD 活性的上升, 说明不同鱼类对同种植物蛋白原料在利用机制上可能存在差异。

4 结论

基于本研究结果, 小麦蛋白替代鱼粉能引起日本黄姑鱼血清 GLU 的显著下降, 但替代大豆浓缩蛋白时未发现类似现象。表明日本黄姑鱼较黑鲷对低鱼粉饲料中鱼粉用量的进一步下降更为敏感。小麦蛋白替代鱼粉或(和)大豆浓缩蛋白均未对黑鲷血清生化指标造成任何影响, 且饲料中适量添加小麦蛋白能一定程度上提高肝脏 SOD 的活性。

参 考 文 献

- Apper-Bossard E, Feneuil A, Wagner A, *et al*. Use of vital wheat gluten in aquaculture feeds. *Aquatic Biosystems*, 2013, 9: 21
- Chai XJ, Hu ZH, Xu JZ, *et al*. Effect of salinity and pH on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate in juvenile *Nibea japonica*. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2009, 28(2): 146–150 [柴学军, 胡则辉, 徐君卓, 等. 盐度和 pH 对日本黄姑鱼幼鱼耗氧

- 率和排氨率的影响. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2009, 28(2): 146–150]
- Chen DH, Zheng LY, Lin JB, *et al.* Effects of different feed and coarse fish on growth and immunity of grouper (*Epinephelus coioides*). Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 28(4): 309–314 [陈度煌, 郑乐云, 林建斌, 等. 不同饲料与小杂鱼对斜带石斑鱼生长和免疫力影响的研究. 福建农业学报, 2013, 28(4): 309–314]
- Cheng Z, Gatlin DM, Buentello A. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). Aquaculture, 2012, 362–363: 39–43
- de Francesco M, Parisi G, Médale F, *et al.* Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 2004, 236(1–4): 413–429
- Draganovic V, van der Goot AJ, Boom R, *et al.* Assessment of the effects of fish meal, wheat gluten, soy protein concentrate and feed moisture on extruder system parameters and the technical quality of fish feed. Animal Feed Science and Technology, 2011, 165(3–4): 238–250
- Gatlin DM, Barrows FT, Brown P, *et al.* Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. Aquaculture Research, 2007, 38(6): 551–579
- Gómez-Requeni P, Mingarro M, Caldach-Giner JA, *et al.* Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 2004, 232(1–4): 493–510
- Kaushik SJ, Coves D, Dutto G, *et al.* Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture, 2004, 230(1–4): 391–404
- Kaushik SJ, Cravedi JP, Lalles JP, *et al.* Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture, 1995, 133(3): 257–274
- Li H, Hua Y, Lu J, *et al.* Effects of replacing fish meal with mixture of meat and bone meal and soy protein isolate on digestive function and serum biochemistry parameters of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition), 2014, 35(1): 43–48 [黎慧, 华颖, 陆静, 等. 肉骨粉和大豆分离蛋白替代鱼粉对黑鲷幼鱼消化性能及血清指标的影响. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2014, 35(1): 43–48]
- Liu Y, Qiao WL, Wei D, *et al.* Study on serum biochemical indexes of *Sparus inacrocephalus*. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2010(16): 307–308, 312 [刘颖, 乔伟亮, 魏东, 等. 黑鲷血清生化指标研究. 现代农业科技, 2010(16): 307–308, 312]
- Lou B, Xu JZ, Wu ZJ, *et al.* The initial report on the cultivation experiments of *Nibeia japonica*. Journal of Shanghai Fisheries University, 2002, 11(4): 324–328 [楼宝, 徐君卓, 吴祖杰, 等. 日本黄姑鱼养殖试验初报. 上海水产大学学报, 2002, 11(4): 324–328]
- Ma JJ, Shao QJ, Xu ZR, *et al.* Effects of dietary n-3 HUFA on growth performance and lipid metabolism in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(4): 639–649 [马晶晶, 邵庆均, 许梓荣, 等. n-3 高不饱和脂肪酸对黑鲷幼鱼生长及脂肪代谢的影响. 水产学报, 2009, 33(4): 639–649]
- Ma JJ, Xu ZR, Shao QJ, *et al.* Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(5): 464–471
- Mei L, Zhou HH, Mai KS, *et al.* Effects of dietary substitution of fishmeal by fermented silkworm pupae on the growth, feed intake, digestion and immunity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(3): 85–92 [梅琳, 周慧慧, 麦康森, 等. 蛹肽蛋白替代鱼粉对大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)幼鱼生长、饲料利用、消化代谢酶及免疫性能的影响. 渔业科学进展, 2015, 36(3): 85–92]
- Nelssen JL, Lewis AJ, Peo ER, *et al.* Effect of dietary energy intake during lactation on performance of primiparous sows and their litters. Journal of Animal Science, 1985, 61(5): 1164–1171
- Nyblom H, Berggren U, Balldin J, *et al.* High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. Alcohol and Alcoholism, 2004, 39(4): 336–339
- Peng X, Song WX, Zhou F, *et al.* Effects of fermented soybean meal replacing fish meal on gastrointestinal tract and serum indexes in black sea bream. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2012, 28(5): 1096–1103 [彭翔, 宋文新, 周凡, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对黑鲷胃肠道和血清指标的影响. 江苏农业学报, 2012, 28(5): 1096–1103]
- 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(1–2): 99–117
- Robaina L, Corraze G, Aguirre P, *et al.* Digestibility, postprandial ammonia excretion and selected plasma metabolites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets with or without wheat gluten. Aquaculture, 1999, 179(1–4): 45–56
- Sitjà-Bobadilla A, Peña-Llopis S, Gómez-Requeni P, *et al.* Effect of fish meal replacement by plant protein sources on non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 2005, 249(1–4): 387–400
- Siwicki AK, Anderson DP, Rumsey GL. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1994, 41(1–4): 125–139
- Song ZM, Liu JY, Zhuang P, *et al.* Influence of low-temperature stress on the antioxidant enzymes activities and malondialdehyde contents in liver of juvenile *Siganus guttatus*. Marine Fisheries, 2015, 37(2): 142–150 [宋志明, 刘鉴毅, 庄平, 等. 低温胁迫对点篮子鱼幼鱼肝脏抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响. 海洋渔业, 2015, 37(2): 142–150]

- Sun H, Ye YB, Yao XH, *et al.* Effects of partial replacement of fish meal by fermented cottonseed meal on growth performance, body composition and plasma biochemical indices of juvenile black sea bream. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(5): 1238–1245 [孙宏, 叶有标, 姚晓红, 等. 发酵棉籽粕部分替代鱼粉对黑鲷幼鱼生长性能、体成分及血浆生化指标的影响. *动物营养学报*, 2014, 26(5): 1238–1245]
- Trichet VV. Nutrition and immunity: An update. *Aquaculture Research*, 2010, 41(3): 356–372
- Xiang X, Zhou XH, Chen J, *et al.* Effect of dietary replacement of fish meal protein with soybean meal protein on the growth, body composition and hematology indices of *Schizothorax prenanti*. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(5): 723–731 [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. *水产学报*, 2012, 36(5): 723–731]
- Zhu Q, Xu QY, Xu H, *et al.* Dietary glutamine supplementation improves tissue antioxidant status and serum non-specific immunity of juvenile hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii*♀ × *Huso dauricus*♂). *Journal of Applied Ichthyology*, 2011, 27(2): 715–720

(编辑 马璀璨)

Effects of Dietary Replacement of Fish Meal and Soy Protein by Wheat Gluten on Plasma Biochemical Indices and Liver Anti-Oxidative Indices of *Nibea japonica* and *Sparus macrocephalus*

CHENG Yanbo¹, ZHANG Yuexing¹①, DONG Zhiyong¹, LU Bingyan², WANG Yongchao¹

(1. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022;

2. Guangzhou Nutriera Biotechnology Co., Ltd, Guangzhou 511483)

Abstract GWT is an ingredient blend mixing vital wheat gluten, wheat flour and taurine with the ratio of 77.5%, 20.5%, and 2.0%, respectively. This study was conducted to evaluate GWT as a protein source to compare with low-temperature dried fish meal (LT-FM) and soy protein concentrate (SPC) in extruded practical diet to feed to juvenile giant croaker (*Nibea japonica*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*). Plasma biochemical indices and liver anti-oxidative indices of the two fish species were tested as fish health indicators in this study. Eight diets had been formulated, including a control diet with LT-FM (20%) and SPC (21.4%), six diets with decreasing percentages of LT-FM or SPC replaced by GWT (replacing levels were 33.3%, 66.7% and 100%, respectively, on protein basis) and one diet with both 50% of LT-FM and SPC was replaced by GWT. Each diet was fed to triplicate tanks of giant croaker with an initial weight of (12.83±0.91) g (26 fish per tank) and black sea bream with an initial weight of (15.40±0.02) g (35 fish per tank). All fish were reared in a sea-water flow-through system for 59 days. The results showed that there was no significant effect of replacing LT-FM by GWT on total protein (TP) content, plasma triglyceride (TC), and MDA content and liver SOD activity in giant croaker ($P>0.05$). However, total cholesterol (TG) and glucose (GLU) contents in plasma were significantly decreased ($P<0.05$), whereas the plasma SOD activity of juvenile giant croaker increased significantly ($P<0.05$) when 66.7% and 100% of dietary LT-FM was replaced by GWT. Partial or total replacement of LT-FM or SPC by GWT had no significant effect on plasma levels of TP, TG, TC and GLU, liver MDA content and plasma SOD activity of black sea bream ($P>0.05$). In contrast, significant increase of liver SOD activity was found when total LT-FM, 33.3% and 66.7% of SPC, and 50% of LT-FM and SPC in both were replaced by GWT in diet of black sea bream. To conclude, giant croaker was more sensitive than black sea bream to the significant reduction of LT-FM in the low fish meal based diet, with the changes of plasma biochemical indices and liver anti-oxidative indices. Highlights of the present study: firstly, it is the first study using GWT as main protein source in extruded diets for giant croaker and black sea bream; secondly, a low fishmeal (20%) containing extruded practical diet was used as the control.

Key words *Nibea japonica*; *Sparus macrocephalus*; Wheat gluten; Low-temperature dried fish meal; Soy protein concentrate; Plasma biochemical indices

① Corresponding author: ZHANG Yuexing, E-mail: yuexing.zhang@zjou.edu.cn