

“耐粗饲”选育的大黄鱼对低鱼粉饲料的利用效果

张森^{1,2}, 何佳伦^{1,2}, 王秋荣^{1,2}, 王志勇^{1,2}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

[摘要] 为探究采用基因组选择技术选育出的“耐粗饲”大黄鱼对低鱼粉饲料的利用效果, 用鱼粉配比为27%和47%的两种市售大黄鱼饲料, 分别对“耐粗饲”选育大黄鱼和普通大黄鱼(对照组)进行为期180 d的喂养, 然后测定各组大黄鱼的生长指标、肌肉体成分、脂肪酸组成、肠道消化酶和肝脏抗氧化酶活性。结果显示: 降低饲料中的鱼粉配比会导致大黄鱼生长速度减慢, 且肌肉中的多不饱和脂肪酸(PUFA)和高不饱和脂肪酸(HUFA)含量降低, 肠道中的胰蛋白酶活性、肝脏中的总抗氧化能力(T-AOC)和过氧化氢酶(CAT)活性也降低, 饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)含量升高; “耐粗饲”选育的大黄鱼在喂养低鱼粉饲料的条件下, 生长速度和肌肉中PUFA与HUFA含量均显著高于普通大黄鱼, 肠道消化酶活性和肝脏T-AOC也明显高于普通大黄鱼, 饲料效率也略高于普通大黄鱼。表明“耐粗饲”选育的大黄鱼能够更好地适应和利用低鱼粉饲料, 可利用遗传选育技术培育适应低鱼粉饲料的新养殖品种。

[关键词] 大黄鱼; 低鱼粉饲料; 选育; 肌肉脂肪酸; 肠道消化酶; 肝脏抗氧化酶

[中图分类号] S 963

The Utilization Effect of Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*)

Bred by "Resilient-feed" on Low Fishmeal Feed

ZHANG Sen^{1,2}, HE Jialun^{1,2}, WANG Qiurong^{1,2}, WANG Zhiyong^{1,2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea of Ministry of Agriculture(Jimei University),
Xiamen 361021, China)

Abstract: To investigate the utilization effects of low fishmeal diets on genetically selected "resilient-feed" large yellow croaker, two commercially available large yellow croaker feeds with fishmeal ratios of 27% and 47% were used. These feeds were respectively fed to "resilient-feed" bred large yellow croaker and normal large yellow croaker (control group) for a period of 180 days. Subsequently, growth indicators, muscle composition, fatty acid composition, intestinal digestive enzymes, and liver antioxidant enzyme activity were determined for each group of large yellow croaker. The results revealed that reducing the fishmeal ratio in the feed led to a slower growth rate of large yellow croaker, accompanied by a decrease in the content of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and high unsaturated fatty acids (HUFA) in the muscle, as well as a reduction in pancreatic protease activity in the intestine, total antioxidant capacity (T-AOC), and catalase (CAT) activity in the liver. Additionally, there was an increase in saturated fatty acids (SFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) content. Under the conditions of feeding low fishmeal diets, "resilient-feed" bred large yellow croaker exhibited significantly higher growth rates and PUFA and

[收稿日期] 2023-03-22

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(32130110); 农业部海水鱼产业技术体系项目(CARS-47-G04)

[作者简介] 张森(1997—), 男, 硕士生, 从事水产动物遗传与育种方向研究。通信作者: 王志勇(1963—), 男, 博士, 教授, 博导, 主要从事水产生物遗传育种与生物技术研究。E-mail: zywang@jmu.edu.cn

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

HUFA content in muscle compared to normal large yellow croaker. Moreover, intestinal digestive enzyme activity and liver T-AOC were significantly higher in "resilient-feed" bred large yellow croaker, and feed efficiency was slightly higher as well. These findings indicate that "resilient-feed" bred large yellow croaker are better adapted to and utilize low fishmeal diets more efficiently, suggesting the potential for utilizing genetic selection techniques to cultivate new aquaculture species adapted to low fishmeal diets to develop new aquaculture species.

Keywords: *Larimichthys crocea*; low fishmeal feed; breed; muscle fatty acids; intestinal digestive enzymes; antioxidant enzymes in the liver

0 引言

鱼粉作为传统的海洋动物蛋白原料的代表,因其蛋白质含量高、必需氨基酸平衡、适口性好、易吸收等优点,被公认是最优质的水产饲料蛋白源^[1]。鱼粉生产量受到海洋生物资源衰退影响而大幅度下降,鱼粉早已供不应求,且价格上涨,在水产饲料生产中寻求合适的鱼粉替代蛋白源或选育适应低鱼粉饲料新品种已成为水产养殖业近几年的研究热点之一。大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 属硬骨鱼纲 (Osteichthys) 鲈形目 (Perciformes) 石首鱼科 (Sciaenida) 黄鱼属 (*Larimichthys*), 是我国近海主要养殖的经济鱼类之一。大黄鱼对饲料中蛋白质的含量要求较高,目前以非鱼粉蛋白替代鱼粉配制大黄鱼配合饲料已被广泛研究^[2-9]。

刘灵婕等^[10]用无鱼粉无鱼油饲料喂养大黄鱼幼鱼,发现个体间生长及基因表达都存在显著差异。以这些实验幼鱼作为参考群,本实验室建立基于全基因组关联分析 (GWAS), 筛选到的主要位点分子标记的遗传选育技术,于 2019 年培育出首批“耐粗饲”选育大黄鱼^[11]。本研究对这批幼鱼和同期培育的普通大黄鱼幼鱼,用鱼粉配比不同的两种等氮等能商品饲料进行养殖对比实验,观测两者的生长性能和饲料利用率,同时对实验鱼的肌肉常规营养成分、脂肪酸组成、肠道消化酶和肝脏抗氧化酶活性进行测定和比较分析,综合评估“耐粗饲”选育大黄鱼幼鱼对低鱼粉饲料的利用效果,初步剖析其机理,为“耐粗饲”大黄鱼进一步选育提供参考依据,为减少饲料中鱼粉蛋白使用提供一条有效的途径。

1 材料与方法

1.1 实验鱼与实验饲料

实验所用选育组大黄鱼为 2019 年春季应用基因组选择技术培育出的“耐粗饲”大黄鱼^[11], 对照组大黄鱼为同期培育的普通大黄鱼。实验所用饲料为两种市售大黄鱼配合饲料 FM47 和 FM27, 鱼粉配比分别为 47% (FM47) 与 27% (FM27)。实验饲料常规营养成分组成如表 1 所示。

表 1 实验饲料常规营养成分组成 (干物质)

Tab. 1 The conventional nutrient composition of experimental diets (dry matter)

饲料 Diet	粗蛋白 CP	粗脂肪 EE	粗灰分 Ash	总能 GE
FM47	43.85%	7.15%	13.07%	15.98 kJ/g
FM27	43.21%	5.64%	12.62%	15.77 kJ/g

1.2 饲养管理

养殖实验在宁德市三沙湾海上网箱进行,实验设 4 个组,分别为选育高鱼粉组 (SFM47)、选育低鱼粉组 (SFM27)、对照高鱼粉组 (CFM47)、对照低鱼粉组 (CFM27)。每组选取 3000 尾规格相近的大黄鱼幼鱼,分别饲养于 8m × 4m × 6m 的网箱中。实验开始前各组都是使用 FM47 饲料饲养。整个养殖实验持续 180 d (20191120—2020520), 实验期间海水温度为 10 ~ 22℃, 盐度为 26 ~ 30, 溶解氧含量 > 5 mg/L, 氨氮含量 < 0.05 mg/L。

1.3 样品采集和测定

1.3.1 样品采集

养殖对比实验开始时(第1天)和结束时(第180天)于每个网箱随机捞取50尾大黄鱼,在第30、60、120和150天于每个网箱中随机捞取30尾大黄鱼,测定形态指标(体重、体长);在第60、120、180天从网箱中随机取10尾大黄鱼,于冰面上解剖,取出小肠(剔除内容物和脂肪),置于 -80°C 冰箱,用于肠道消化酶的测定。第180天取10尾大黄鱼,采集背部肌肉于 -20°C 冰箱中保存,用于常规营养成分和脂肪酸的测定;采集肝脏用于抗氧化酶的测定。取样前均对实验鱼饥饿处理24 h,以丁香酚(体积分数0.01%)进行麻醉。

1.3.2 肌肉常规营养成分和脂肪酸的测定

将背部肌肉放在冷冻干燥机中冷冻干燥至恒重,搅碎后混匀用于肌肉常规营养成分和脂肪酸的测定。

1) 常规营养成分测定:粗蛋白采用凯式定氮法测定;粗脂肪采用索式提取法测定;粗灰分采用高温灼烧法(550°C)测定。

2) 脂肪酸测定:参考国家标准 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准食品中脂肪酸的测定》中的水解法提取样品中的脂肪酸。采用岛津气相色谱仪 GC2010 对脂肪酸进行分析。上机载气——氮气;分流比 100:1;进样口温度 270°C ;检测器温度 280°C 。升温程序:初始温度 100°C 保持 13 min,然后以 $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 180°C 并保持 6 min,再以 $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200°C 并保持 20 min,最后以 $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 230°C 并保持 10.5 min。用面积归一法求得各脂肪酸质量分数。

1.3.3 消化酶及抗氧化酶的测定

肠道消化酶活性(蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶)和肝脏抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT、丙二醛 MDA)活性及总抗氧化能力 T-AOC 的测定均采用南京建成生物工程研究所检测试剂盒测定,具体测定方法参考试剂盒说明书。

1.4 数据分析

存活率(survival rate, SR) = $(N_t/N_0) \times 100\%$;

体增重(weight gain, WG, g) = $W_t - W_0$;

增重率(weight gain rate, WGR) = $((W_t - W_0)/W_0) \times 100\%$;

特定生长率(specific growth rate, SGR, d^{-1}) = $((\ln W_t - \ln W_0)/d) \times 100\%$;

饲料系数(feed conversion ratio, FCR) = $F/(W_t - W_0)$ 。

其中: N_0 为养殖实验开始时实验鱼数量; N_t 为养殖实验结束时实验鱼存活数量; W_0 为大黄鱼初始平均体重(g); W_t 为大黄鱼终末平均体重(g); F 为每尾鱼平均摄食饲料总量(g); d 为养殖天数。

实验数据采用 SPSS17.0 进行统计处理。实验结果用平均值 \pm 标准差(Means \pm SD)表示。对实验数据进行双因素方差分析(two-way ANOVA),显著性水平设为 0.05,若差异显著则用 LSD 法进行多重比较。

2 结果

2.1 大黄鱼生长情况

从图1可见,各组大黄鱼初始体重差异不显著,但从第30天起,SFM27组体重就显著高于CFM27组($P < 0.05$)。如表2所示:选育组 and 对照组中投喂 FM47 饲料的大黄鱼末均重、增重率和特定生长率均高于同组别投喂

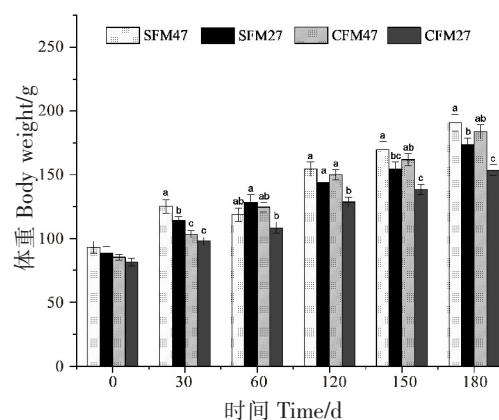


图1 各组大黄鱼在实验过程中体重变化情况

Fig.1 Histogram of comparison of weight changes of each group of large yellow croaker during the experiment

FM27 饲料的大黄鱼, 即 FM47 组的饲料系数低于 FM27 组。喂食同种饲料条件下, 选育组大黄鱼的末均重和末均体长均高于对照组, 其中投喂 FM27 饲料时差异显著 ($P < 0.05$)。投喂 FM47 饲料的选育组大黄鱼增重率和特定生长率低于对照组; 投喂 FM27 饲料的选育组大黄鱼增重率和特定生长率高于对照组。SFM27 组大黄鱼存活率低于其他实验组。

表 2 实验大黄鱼的生长性能和饲料利用率

Tab. 2 Growth performance and feed coefficient of large yellow croaker in each experimental groups

项目 Items	选育组 Breeding group		对照组 Control group	
	SFM47	SFM27	CFM47	CFM27
初始均重 W_0/g	93.29 ± 24.31	88.57 ± 28.05	85.34 ± 13.24	81.42 ± 16.26
末均重 W_t/g	190.81 ± 50.67 ^a	173.76 ± 38.06 ^{ab}	183.81 ± 40.06 ^{ab}	153.72 ± 32.75 ^c
初均体长 Initial body length/cm	16.96 ± 1.56 ^a	16.57 ± 1.72 ^{ab}	15.92 ± 2.12 ^b	16.04 ± 1.17 ^b
末均体长 Final body length/cm	22.37 ± 1.94 ^a	21.98 ± 1.64 ^a	22.23 ± 1.7 ^a	20.86 ± 1.56 ^b
体增重 WG/g	97.52	85.19	98.47	72.30
增重率 WGR/%	104.53	96.18	115.39	88.85
特定生长率 SGR/%	0.39	0.37	0.42	0.35
存活率 SR/%	90.24	82.05	93.15	91.44
饲料系数 FCR	2.53	3.14	2.54	3.26

注: 同一行数据上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different superscript letters on the same row of data indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.2 大黄鱼肌肉成分

初始肌肉成分分析结果 (见表 3) 显示, 选育组与对照组大黄鱼肌肉粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量都基本一致。终末肌肉成分分析结果 (见表 3) 显示, 各组大黄鱼肌肉中的粗蛋白、粗脂肪和粗灰分质量分数差异均不显著 ($P > 0.05$)。

表 3 大黄鱼初始及终末肌肉成分分析结果 (干物质)

Tab. 3 The muscles proximate compositions of large yellow croaker at the initial and the final stage (dry matter)

单位 Unit: %

项目 Items	初始 The initial		终末 The final			
	选育组 Breeding group	对照组 Control group	SFM47	SFM27	CFM47	CFM27
粗蛋白 CP	57.12 ± 0.14	57.65 ± 0.94	55.94 ± 2.25	56.15 ± 2.19	56.2 ± 1.43	55.67 ± 2.14
粗脂肪 EE	35.12 ± 0.47	34.37 ± 0.78	39.44 ± 0.55	39.19 ± 0.26	39.46 ± 0.80	40.00 ± 0.25
粗灰分 ASH	7.76 ± 0.39	7.98 ± 0.12	4.62 ± 0.04	4.67 ± 0.35	4.34 ± 0.19	4.34 ± 0.08

2.3 大黄鱼肌肉脂肪酸组成

各组大黄鱼肌肉脂肪酸的组成如表 4 所示, 共检测到 22 种脂肪酸, 其中包括饱和脂肪酸 (SFA) 7 种, 单不饱和脂肪酸 (MUFA) 6 种, 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 9 种, 而 PUFA 中含高度不饱和脂肪酸 (HUFA) 5 种。不管是选育组还是对照组, 投喂 FM47 饲料的大黄鱼肌肉中 SFA 和 MUFA 质量分数均显著低于投喂 FM27 饲料的大黄鱼 ($P < 0.05$), 而 PUFA 和 HUFA 质量分数均显著高于投喂

FM27 饲料的大黄鱼 ($P < 0.05$)。投喂相同饲料时,选育组大黄鱼肌肉中 MUFA 质量分数显著低于对照组 ($P < 0.05$),HUFA、DHA 和 EPA 质量分数显著高于对照组 ($P < 0.05$)。投喂 FM27 饲料时,选育组大黄鱼肌肉中 PUFA 质量分数也显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

表4 实验各组大黄鱼的肌肉脂肪酸组成(干物质)

Tab.4 The muscle fatty acid composition of experimental large yellow croaker(dry matter)

单位 Unit: %

脂肪酸 Fatty acid	SFM47	SFM27	CFM47	CFM27
C14:0	2.22 ± 0.02 ^a	2.11 ± 0.01 ^c	2.17 ± 0.00 ^b	2.21 ± 0.00 ^a
C15:0	0.19 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.19 ± 0.00	0.18 ± 0.00
C16:0	23.22 ± 0.07 ^b	23.62 ± 0.04 ^a	22.9 ± 0.01 ^c	23.59 ± 0.04 ^a
C16:1 _{n-7}	7.21 ± 0.04 ^a	7.00 ± 0.02 ^b	7.05 ± 0.01 ^b	7.18 ± 0.03 ^a
C17:0	0.44 ± 0.00 ^a	0.41 ± 0.00 ^b	0.44 ± 0.00 ^a	0.42 ± 0.00 ^b
C17:1 _{n-7}	0.29 ± 0.00 ^a	0.28 ± 0.00 ^b	0.28 ± 0.00 ^{ab}	0.28 ± 0.00 ^{ab}
C18:0	5.67 ± 0.02 ^b	5.64 ± 0.02 ^b	5.44 ± 0.03 ^c	5.73 ± 0.01 ^a
C18:1 _{n-9}	27.93 ± 0.05 ^c	30.37 ± 0.07 ^b	30.51 ± 0.10 ^b	30.73 ± 0.07 ^a
C18:2 _{n-6}	15.33 ± 0.02 ^d	15.9 ± 0.04 ^b	16.02 ± 0.03 ^a	15.57 ± 0.03 ^c
C18:3 _{n-6}	0.08 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.09 ± 0.00
C18:3 _{n-3}	1.65 ± 0.02 ^c	1.73 ± 0.02 ^a	1.75 ± 0.00 ^a	1.68 ± 0.01 ^b
C20:0	0.17 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.00 ^a	0.17 ± 0.00 ^b	0.18 ± 0.00 ^{ab}
C20:1 _{n-9}	0.85 ± 0.01 ^b	0.84 ± 0.02 ^{bc}	0.88 ± 0.00 ^a	0.83 ± 0.01 ^c
C20:2 _{n-6}	0.28 ± 0.01 ^b	0.30 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^{ab}	0.29 ± 0.01 ^{ab}
C20:3 _{n-6}	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
C20:4 _{n-6}	0.50 ± 0.01 ^a	0.49 ± 0.00 ^a	0.46 ± 0.00 ^b	0.49 ± 0.00 ^a
C20:3 _{n-3}	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.00
C22:0	0.11 ± 0.00 ^a	0.11 ± 0.00 ^a	0.10 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.00 ^b
C20:5 _{n-3} (EPA)	3.12 ± 0.02 ^a	2.85 ± 0.01 ^c	2.99 ± 0.02 ^b	2.80 ± 0.01 ^d
C22:1 _{n-9}	0.10 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.01 ^a	0.09 ± 0.00 ^{ab}	0.08 ± 0.00 ^b
C24:1 _{n-9}	0.14 ± 0.01 ^a	0.09 ± 0.02 ^b	0.10 ± 0.01 ^b	0.08 ± 0.01 ^b
C22:6 _{n-3} (DHA)	4.80 ± 0.12 ^a	4.09 ± 0.01 ^c	4.28 ± 0.07 ^b	3.93 ± 0.05 ^d
ΣSFA	32.03 ± 0.07 ^c	32.26 ± 0.05 ^b	31.41 ± 0.04 ^d	32.42 ± 0.05 ^a
ΣMUFA	36.51 ± 0.08 ^d	38.67 ± 0.07 ^c	38.91 ± 0.10 ^b	39.19 ± 0.10 ^a
ΣPUFA	25.93 ± 0.14 ^a	25.63 ± 0.03 ^b	26.03 ± 0.12 ^a	25.02 ± 0.03 ^c
ΣHUFA	8.58 ± 0.15 ^a	7.62 ± 0.01 ^c	7.90 ± 0.08 ^b	7.40 ± 0.05 ^d
DHA/EPA	1.54 ± 0.03 ^a	1.43 ± 0.00 ^b	1.43 ± 0.01 ^b	1.40 ± 0.01 ^b
DHA + EPA	7.91 ± 0.14 ^a	6.94 ± 0.01 ^c	7.27 ± 0.08 ^b	6.73 ± 0.05 ^d
其他 Others	5.53 ± 0.01	3.44 ± 0.01	3.65 ± 0.02	3.37 ± 0.05

2.4 大黄鱼肠道消化酶活性

不同时间点各组大黄鱼肠道消化酶活性测定结果如表 5 所示。选育组 and 对照组中投喂 FM47 饲料的大黄鱼肠道脂肪酶和胰蛋白酶活性均高于投喂 FM27 饲料的大黄鱼, 其中, 第 120 天和第 180 天投喂 FM47 饲料的大黄鱼胰蛋白酶活性显著高于投喂 FM27 饲料的大黄鱼。同种饲料喂养条件下, 选育组大黄鱼胰蛋白酶和脂肪酶活性均高于对照组。

表 5 各组大黄鱼肠道消化酶活性

Tab. 5 Intestinal digestive enzyme activities of large yellow croaker

单位 Unit: (U · mg⁻¹)

时间点 Time	指标 Index	SFM47	SFM27	CFM47	CFM27
第 60 天 The 60th day	淀粉酶 Amylase	0.11 ± 0.02 ^{ab}	0.10 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.00 ^a	0.09 ± 0.02 ^c
	脂肪酶 Lipase	10.51 ± 0.65 ^a	8.33 ± 1.67 ^b	7.97 ± 2.20 ^b	7.22 ± 0.99 ^b
	胰蛋白酶 Trypsin	414.41 ± 56.55	395.28 ± 109.98	376.30 ± 120.37	344.83 ± 22.98
第 120 天 The 120th day	淀粉酶 Amylase	0.10 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.02
	脂肪酶 Lipase	10.57 ± 2.06 ^a	10.07 ± 1.82 ^a	11.60 ± 1.43 ^a	7.10 ± 1.75 ^b
	胰蛋白酶 Trypsin	452.4 ± 106.27 ^a	364.6 ± 73.43 ^{bc}	424.27 ± 73.65 ^{ab}	305.58 ± 28.25 ^c
第 180 天 The 180th day	淀粉酶 Amylase	0.11 ± 0.02 ^a	0.10 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^b
	脂肪酶 Lipase	8.54 ± 1.29 ^a	7.12 ± 1.87 ^b	7.38 ± 1.19 ^{ab}	6.76 ± 0.92 ^b
	胰蛋白酶 Trypsin	521.96 ± 69.15 ^a	353.47 ± 27.55 ^c	460.95 ± 33.69 ^b	306.71 ± 34.28 ^c

2.5 大黄鱼肝脏抗氧化酶活性

各组大黄鱼肝脏抗氧化酶和代谢酶活性的测定结果如表 6 所示。选育组 and 对照组中投喂 FM47 饲料的大黄鱼, CAT 活性均显著高于投喂 FM27 饲料的大黄鱼 ($P < 0.05$); 肝脏总抗氧化能力 (T-AOC) 也高于投喂 FM27 饲料的大黄鱼, 但差异不显著 ($P > 0.05$); 而 MDA 活性则低于投喂 FM27 饲料的大黄鱼, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。各组间大黄鱼肝脏中 SOD、AST 和 ALT 活性均无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 6 大黄鱼肝脏抗氧化酶活性

Tab. 6 Antioxidant enzymes activities in the liver of large yellow croaker

指标 Index	SFM47	SFM27	CFM47	CFM27
总抗氧化能力 T-AOC/(U · mg ⁻¹)	0.78 ± 0.13 ^a	0.63 ± 0.09 ^{ab}	0.81 ± 0.09 ^a	0.59 ± 0.06 ^b
超氧化物歧化酶 SOD/(U · mg ⁻¹)	138.5 ± 12.49	124.63 ± 7.61	135.39 ± 21.00	138.48 ± 11.57
过氧化氢酶 CAT/(U · mg ⁻¹)	47.10 ± 8.00 ^a	32.16 ± 2.33 ^b	44.93 ± 2.56 ^a	34.90 ± 3.42 ^b
丙二醛 MDA/(nmol · mg ⁻¹)	2.26 ± 0.60 ^{ab}	2.87 ± 0.66 ^a	1.94 ± 0.86 ^b	2.40 ± 0.75 ^{ab}

3 讨论

3.1 选育大黄鱼对低鱼粉饲料的适应性

大黄鱼作为肉食性海水鱼类, 非常依赖饲料中的鱼粉和鱼油。许多研究表明, 大黄鱼饲料中鱼粉被其他蛋白大量替代会对其生长性能造成显著影响, 甚至引起损耗^[12]。市售的低鱼粉饲料使用非鱼粉替代蛋白源, 这些蛋白源与鱼粉相比, 往往存在一些营养缺陷^[1-2], 如缺乏某些必需氨基酸、高度不饱和脂肪酸, 以及未知生长因子等成分^[6]。本研究中, 投喂 FM47 饲料的选育组和对照组的生长情况和饲料利用率都显著优于投喂 FM27 饲料, 显示鱼粉是大黄鱼最适的饲料蛋白源。但随着养殖业发

展,鱼粉供不应求,使用非鱼粉蛋白源替代饲料是必然的趋势。本研究中,在投喂低鱼粉饲料的情况下,选育组大黄鱼生长性能明显高于对照组,表明选育组大黄鱼比未选育的对照组对低鱼粉饲料的适应性有了较为显著的改善,即在低鱼粉饲料下也可以取得良好的生长性能,这也证明可以通过遗传选育的方法来获得在低鱼粉甚至无鱼粉饲料喂养下快速生长的大黄鱼品系。需要说明的是,本研究中各组饲料系数都偏高,这可能与养殖对比实验期间(20191120—20200520)经历了大黄鱼越冬期有关。实验中选育组大黄鱼的成活率低于对照组,特别是 SFM27 组大黄鱼存活率最低,类似的实验结果在 Blaufuss 等^[13]研究中有报道,使用植物蛋白源作为饲料主要蛋白源对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 进行人工选育,子代虹鳟无论是在普通配合饲料或无鱼粉饲料喂养条件下,存活率都低于未选育的对照组。这有可能是选育带来的副作用(例如辅助选育的分子标记与某些不利基因相连锁),也可能只是偶然原因导致的偏差。由于条件限制,本研究中每个实验组只有 1 口网箱,未能设置重复组,不同网箱之间除了饲料的差异外,还存在着网箱内微环境(水流等)等方面的差异问题。因此,所进行的“耐粗饲”是否会导致大黄鱼养殖成活率下降,还需要进一步的实验验证。如果最终证明辅助选育的分子标记确实与某些不利基因相连锁,进而影响到养殖成活率,则需要通过多代连续选育、与存活率相关性状进行复合选育等方法加以克服。另一方面,即使 SFM27 组成活率明显低于 CFM27 组,但其总的饲料系数仍然略低于 CFM27 组,因此从投入产出比看,养殖选育大黄鱼的经济效益仍然高于对照组。

3.2 大黄鱼肌肉体成分分析

体成分的组成是鱼类肌肉营养价值的重要指标,受遗传、生长环境和饵料等多种因素的影响^[14]。本实验结果表明,4 个组之间肌肉营养成分没有显著差异,这表明低鱼粉饲料没有对大黄鱼肌肉体成分产生显著影响。有研究指出,部分动植物蛋白替代鱼粉比例不影响鱼体体成分,如 Bui 等^[15]使用鱼水解蛋白替代真鲷 (*Pagrus major*) 饲料中的鱼粉并没有影响鱼体体成分含量。类似的实验结果在银鲫 (*Carassius auratus gibelio*)^[16]、许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii*)^[17]、卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*)^[18]和虹鳟 (*Irideus*)^[19]的研究中也有报道。但, Liang 等^[20]发现高度替代饲料中的鱼粉蛋白,显著提高了日本鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*) 全鱼水分含量,降低了粗脂肪和粗蛋白质含量。体成分结果的差异可能与饲料组成、水生动物种类和发育阶段等方面有关^[21]。

3.3 大黄鱼肌肉脂肪酸组成分析

脂肪酸作为脂类的主要成分能够为所有营养水平的代谢提供能量^[22],因而对鱼类来说,饲料中不同脂肪酸的含量是决定其体内脂肪酸组成的重要因素^[23]。在许多替代鱼粉的研究中,鱼粉蛋白被其他蛋白源大量替代会显著影响鱼类的肌肉品质,随着非鱼粉蛋白替代水平上升,肌肉中 PUFA、HUFA、DHA 和 EPA 含量逐渐降低^[24-25]。本研究中,FM47 饲料喂养下的选育组大黄鱼,由于肌肉中 C18:1n-9 含量的减少,其 MUFA 含量显著降低,这可能与选育组大黄鱼选择性沉积高不饱和脂肪酸,消耗较多单不饱和脂肪酸来提供能量有关。本研究中,在同种饲料喂养条件下,选育组大黄鱼肌肉中 DHA 和 EPA 含量均显著高于对照组。Schlechtriem 等^[26]使用植物油完全替代大西洋鲑 (*Salmo salar*) 饲料中的鱼油,发现实验大西洋鲑个体间肌肉 HUFA 含量均存在显著差异。苏胜彦等^[27]在黄河鲤 (*Cyprinus carpio*) 新品系选育中发现选育组与对照组相比,生长速度更快且多不饱和脂肪酸含量更高,这与本研究结果相似。本实验结果,表明无论在 FM47 或 FM27 饲料喂养下,选育的“耐粗饲”大黄鱼可以更有效地蓄积肌肉中的高不饱和脂肪酸,可能是因为其 HUFA 合成相关基因的表达量更高、合成能力更强,这将为进一步研究低鱼粉饲料下大黄鱼的脂肪酸合成提供重要依据。

3.4 大黄鱼肠道消化酶活性比较分析

鱼类体内的消化酶活性因其食性不同而呈明显差异^[28]。大黄鱼属肉食性鱼类,有较高的蛋白酶活性和较低的淀粉酶活性,而脂肪酶活性较低与大黄鱼自身消化吸收脂肪的能力有关。在本研究中,投喂 FM47 饲料的大黄鱼肠道胰蛋白酶活性均高于投喂 FM27 饲料的大黄鱼,此结果与 Santigosa

等^[29]、Liu 等^[30]、Liu 等^[31]在不同鱼类中的研究结果一致,均表明部分动植物蛋白替代鱼粉会导致鱼类肠道消化酶活性总体呈现下降趋势。

蛋白酶活性直接反应了鱼对饲料蛋白的消化能力,对大西洋鳕鱼 (*Gadus morhua*)^[32]及黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[33]的研究均证明胰蛋白酶活性显著影响着鱼体的生长速度和饲料转化率。本实验中,同种饲料喂养条件下,选育组大黄鱼胰蛋白酶活性明显高于对照组,同时各组大黄鱼的体增重和饲料系数与每个时期肠道中胰蛋白酶活性有着极强的相关性,由此推测,可能是由于“耐粗饲”大黄鱼对饲料中的鱼粉蛋白源消化利用率更高,刺激了体内消化酶的分泌,从而促进了鱼体的生长,也可能是由于其蛋白酶分泌能力较强,从而促进饲料蛋白质的消化吸收。

淀粉酶和脂肪酶活性反映鱼类对碳水化合物和脂肪的利用情况^[33]。而在本研究中,各时间点,选育组与对照组大黄鱼肠道淀粉酶和脂肪酶活性并没有明显的变化趋势,说明大黄鱼对这两种营养物质的消化吸收能力并未受到饲料中鱼粉替代蛋白的影响。本研究测定了三个时间点的肠道消化酶活性,有助于持续跟踪大黄鱼对营养物质的消化利用情况,但由于各时间点取样时的环境条件及生长发育阶段均不同,各时间点的消化酶活性并没可比较性。

3.5 大黄鱼肝脏抗氧化指标比较分析

肝脏作为鱼体内最重要的物质代谢中心,其 T-AOC 的大小可反映机体抗氧化酶系统和非酶促系统对外来刺激的代偿能力,以及机体自由基代谢的状态。本研究中,投喂 FM47 饲料的大黄鱼肝脏中 T-AOC 活性均高于投喂 FM27 饲料的大黄鱼。SOD 与 CAT 是生物体抗氧化酶系的重要组成酶类,对生物体内活性氧自由基的清除起着关键的作用。本研究中,投喂 FM27 饲料的实验组相较投喂 FM47 饲料的实验组 CAT 含量显著降低,这与 Xie 等^[34]的凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 研究结果一致,表明非鱼粉蛋白源替代鱼粉蛋白,会导致大黄鱼抗氧化能力的下降。MDA 是脂类过氧化物的降解产物,具有细胞毒性,其含量升高不利于机体的健康。本研究结果显示,投喂 FM27 饲料的大黄鱼较投喂 FM47 饲料的 MDA 含量升高,这表明饲料中鱼粉替代蛋白含量的上升可能引发大黄鱼的氧化应激反应。

4 结论

本研究用两种不同鱼粉配比的饲料喂养“耐粗饲”选育大黄鱼和普通大黄鱼,对比它们的生长情况、饲料利用能力和机体健康情况,发现“耐粗饲”选育大黄鱼能更好地利用低鱼粉饲料,生长速度有很大程度的提升。

[参考文献]

- [1] AI Q H, MAI K Q, TAN B, et al. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. Aquaculture, 2006, 260:255-263. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.06.043.
- [2] ZHANG L, MAI K S, AI Q H, et al. Use of a compound protein source as a replacement for fish meal in diets of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2008, 39: 83-90. DOI:10.1111/j.1749-7345.2007.00134.x
- [3] 张帆. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea* R) 脂类营养生理和饲料替代蛋白源的研究 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2012.
- [4] 韩星星, 叶坤, 王志勇, 等. 脱脂黑水虻虫粉替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、体成分、血清生化指标及抗氧化能力的影响 [J]. 中国水产科学, 2020, 27(5): 524-535. DOI:10.3724/SP.J.1118.2020.19306.
- [5] WANG X X, LUO H J, WANG D J, et al. Partial substitution of fish meal with soy protein concentrate on growth, liver health, intestinal morphology, and microbiota in juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2023, 2023:3706709(1-15). DOI:10.1155/2023/3706709.
- [6] TIAN S J, WU Y, YUAN J, et al. Replacement of dietary fishmeal by cottonseed protein concentrate on growth performance, feed utilization and protein metabolism of large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. Aquaculture Reports, 2022, <http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

- 26;101313. DOI:10.1016/j.aqrep.2022.101313.
- [7] LI J, ZHANG L, MAI K S, et al. Potential of several protein sources as fish meal substitutes in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 41:278-283. DOI:10.1111/j.1749-7345.2010.00368.x.
- [8] KE Q Z, WANG J Y, BAI Y L, et al. GWAS and genomic prediction revealed potential for genetic improvement of large yellow croaker adapting to high plant protein diet [J]. Aquaculture, 2022, 553:738090. DOI:10.1016/j.aquaculture.2022.738090.
- [9] WANG J, AI Q H, MAI K S, et al. Effects of dietary ethoxyquin on growth performance and body composition of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. Aquaculture, 2010, 306(1): 80-84. DOI:10.1016/j.aquaculture.2010.06.024.
- [10] 刘灵婕, 林晓煜, 王秋荣, 等. 无鱼粉无鱼油饲料喂养下大黄鱼幼鱼个体间生长及相关基因表达差异 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2020, 25(6):401-410.
- [11] 国家海水鱼产业技术研发中心. 国家海水鱼产业技术体系年度报告(2019) [R]. 青岛:中国海洋大学出版社, 2020: 69-74.
- [12] WANG P, ZHOU Q C, FENG J, et al. Effect of dietary fermented soybean meal on growth, intestinal morphology and microbiota in juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea* [J]. Aquaculture Research, 2019, 50:748-757. DOI:10.1111/are.13929.
- [13] BLAUFUSS P, BLEDSOE J, GAYLORD T, et al. Selection on a plant-based diet reveals changes in oral tolerance, microbiota and growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed a high soy diet [J]. Aquaculture, 2020, 525(5): 35-46. DOI:10.1016/j.aquaculture.2020.735287.
- [14] SANKIAN Z, KHOSRAVI S, KIM Y, et al. Effect of dietary protein and lipid level on growth, feed utilization, and muscle composition in golden mandarin fish *Siniperca scherzeri* [J]. Fish Aquatic Sci, 2017, 20:1-6. DOI:10.1186/s41240-017-0053-0.
- [15] BUI H T D, KHOSRAVI S, FOURNIER V, et al. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates [J]. Aquaculture, 2014, 418/419:11-16. DOI:10.1016/j.aquaculture.2013.09.046.
- [16] HU M H, WANG Y J, WANG Q, et al. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio* [J]. Aquaculture, 2008, 275:260-265. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.01.005.
- [17] LEE S M, AZARM H M, CHANG K H, et al. Effects of dietary inclusion of fermented soybean meal on growth, body composition, antioxidant enzyme activity and disease resistance of rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. Aquaculture, 2016, 459:110-116. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.03.036.
- [18] 易新文, 陈瑞爱, 徐家华, 等. 鸡肉粉替代鱼粉对卵形鲳鲅生长、饲料利用和抗氧化力的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2019, 49:17-24.
- [19] QUINTON C D, KAUSE A, KOSKELA J, et al. Breeding salmonids for feed efficiency in current fishmeal and future plant-based diet environments [J]. Genetics Selection Evolution, 2007, 39:431-446. DOI:10.1186/1297-9686-39-4-431.
- [20] LIANG X F, HU L, DONG Y C, et al. Substitution of fish meal by fermented soybean meal affects the growth performance and flesh quality of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Animal Feed Science and Technology, 2017, 220:1-12. DOI:10.1016/j.anifeeds.2017.03.006.
- [21] YANG H F, BIAN Y H, HUANG L L, et al. Effects of replacing fish meal with fermented soybean meal on the growth performance, intestinal microbiota, morphology and disease resistance of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. Aquaculture Reports, 2022, 22:100954. DOI:10.1016/j.aqrep.2021.100954.
- [22] NEVES M, CASTRO B B, VIDAL T, et al. Biochemical and populational responses of an aquatic bioindicator species, *Daphnia longispina*, to a commercial formulation of a herbicide (Primextra © Gold TZ) and its active ingredient (S-metolachlor) [J]. Ecological Indicators, 2015, 53:220-230. DOI:10.1016/j.ecolind.2015.01.031.
- [23] LI M M, ZHANG M, MA Y C, et al. Dietary supplementation with n-3 high unsaturated fatty acids decreases serum lipid levels and improves flesh quality in the marine teleost golden pompano *Trachinotus ovatus* [J]. Aquaculture, 2020, 516:

734632. DOI:10.1016/j.aquaculture.2019.734632.
- [24] ZHOU J S, LIU S S, JI H, et al. Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24:424-433. DOI:10.1111/anu.12574.
- [25] ZAPATA D B, LAZO J P, HERZKA S Z, et al. The effect of substituting fishmeal with poultry by product meal in diets for *Totoaba macdonaldi* juveniles [J]. Aquaculture Research, 2016, 47:1778-1789. DOI:10.1111/are.12636.
- [26] SCHLECHTRIEM C, BRON J E, TOCHER D R, et al. Inter-individual variation in total fatty acid compositions of flesh of Atlantic salmon smolts-fed diets containing fish oil or vegetable oil [J]. Aquaculture Research, 2007, 38:1045-1055. DOI:10.1111/j.1365-2109.2007.01759.x.
- [27] 苏胜彦, 张成锋, 董在杰, 等. 黄河鲤新品系 G3 代选育进展: 饲喂高糖类饲料对其生长性能和脂肪酸组分的影响 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2018, 39:99-103.
- [28] HIDALGO M C, UREA E, SANZ A, et al. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: proteolytic and amylase activities [J]. Aquaculture, 1999, 170:267-283. DOI:10.1016/S0044-8486(98)00413-X.
- [29] SANTIGOSA E, SÁNCHEZ J, MÉDALE F, et al. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources [J]. Aquaculture, 2008, 282:68-74. DOI:10.1016/j.aquaculture.2008.06.007.
- [30] LIU X R, HAN B, XU J, et al. Replacement of fishmeal with soybean meal affects the growth performance, digestive enzymes, intestinal microbiota and immunity of *Carassius auratus* gibelio ♀ × *Cyprinus carpio* ♂ [J]. Aquaculture Reports, 2020, 18:100472. DOI:10.1016/j.aqrep.2020.100472.
- [31] LIU H, DONG X H, TAN B P, et al. Effects of fish meal replacement by low-gossypol cottonseed meal on growth performance, digestive enzyme activity, intestine histology and inflammatory gene expression of silver sillago (*Sillago sihama* Forsskal) (1775) [J]. Aquaculture Nutrition, 2020, 26:1724-1735. DOI:10.1111/anu.13123.
- [32] LEMIEUX H, BLIER P H, DUTIL J D, et al. Do digestive enzymes set a physiological limit on growth rate and food conversion efficiency in the Atlantic cod (*Gadus morhua*)? [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1999, 20:293-303. DOI:10.1023/A:1007791019523.
- [33] 秦钦, 陈校辉, 蒋广震, 等. 5 个黄颡鱼家系组幼鱼生长、体组成和消化酶活力的比较 [J]. 基因组学与应用生物学, 2018, 37:768-773.
- [34] XIE S W, LIU Y J, ZENG S L, et al. Partial replacement of fish-meal by soy protein concentrate and soybean meal based protein blend for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2016, 464:296-302. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.07.002.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)