



## 饲料中添加酶解鸡浆对大口黑鲈肝脏抗氧化能力、肠道物理屏障和肠道菌群的影响

冯转东<sup>1</sup>, 廖瑞生<sup>1</sup>, 孙皓<sup>1</sup>, 刘欣平<sup>1</sup>, 陈拥军<sup>1</sup>,  
向泉<sup>1</sup>, 谭北平<sup>2</sup>, 林仕梅<sup>1\*</sup>

(1. 西南大学水产学院, 西南大学淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400716;

2. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088)

**摘要:** 为评价酶解鸡浆在大口黑鲈健康养殖方面的功效, 本实验用 3.5% 的鱼溶浆 (SW) 和酶解鸡浆 (EC) 分别等量替代基础饲料中的鱼粉, 配制成 3 种等脂 (EE 11.3%) 实验饲料, 在室内循环系统饲喂初始体质量为 (9.25±0.13) g 的大口黑鲈 8 周。结果显示, 各处理组大口黑鲈增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR) 和摄食率 (FR) 均无显著差异。EC 组肝脏总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性、丙二醛 (MDA) 含量以及抗炎细胞因子 (TGF-β) 和促炎细胞因子 (IL-8) 基因表达量均显著优于对照组 (基础饲料) 和 SW 组。同其他处理组相比, 添加酶解鸡浆后, 肠道紧密连接蛋白 (*occludin*、*zo-1* 和 *claudin-1*) 基因相对表达量显著上调, 而血清中二胺氧化酶 (DAO) 活性、D-乳酸 (D-Lac) 和脂多糖 (LPS) 含量显著降低。同时观察到酶解鸡浆会影响大口黑鲈肠道菌群的丰度 (OTUs 和 Chao1), 在属水平上增加潜在益生菌芽孢杆菌丰度, 降低部分潜在有害菌如志贺氏菌属、不动杆菌属、弧菌属和支原体的丰度。进一步表型预测发现, 添加酶解鸡浆会显著降低革兰氏阴性菌比例, 增加革兰氏阳性菌比例。研究表明, 饲料中添加酶解鸡浆不影响大口黑鲈的生长, 还会增强肝脏的抗氧化能力和肠道物理屏障, 改善肠道菌群。酶解鸡浆可作为大口黑鲈饲料的优质蛋白源。

**关键词:** 大口黑鲈; 酶解鸡浆; 抗氧化能力; 肠道菌群

中图分类号: S 963

文献标志码: A

鱼粉是肉食性鱼类的优质蛋白源, 因资源、价格和储存等因素导致应用受限。如何降低肉食性鱼饲料中鱼粉的用量, 提高陆生动物加工副产物作为饲料产品的利用效率, 是现代动物营养与饲料研究的重要课题。鸡骨架作为鸡肉分割生产的主要副产物, 由鸡骨、鸡肉和鸡皮等组成, 占鸡总重的 20%~22%<sup>[1]</sup>, 我国每年约有 400 万 t 鸡骨架, 资源极为丰富。近年来, 畜禽骨因其营养和保健功能而引起人们的高度关注, 陆续有研究

者以鸡骨架为原料, 经过酶解反应制备成相关产品, 已被广泛应用于饲料、食品、医药等领域。

目前, 畜禽骨受限于加工、技术以及投入等因素, 其开发利用相对滞后, 绝大多数畜禽鲜骨被简单加工成肉骨粉等附加值低的饲料产品, 甚至作为废物被抛弃。鸡骨架是所有畜禽骨肉中蛋白质含量最高的原料, 可达 16%, 胶原蛋白和粘多糖含量高达 90%, 氨基酸比例均衡且富含呈味氨基酸<sup>[2]</sup>。研究表明, 酶解禽副产物可以改善肉

收稿日期: 2022-01-06 修回日期: 2022-03-03

资助项目: 蓝色粮仓科技创新专项 (2019YFD0900200); 重庆市生态渔产业技术体系专项 (2022); 重庆市水产科技创新联盟项目 (2022)

第一作者: 冯转东 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 911853423@qq.com

通信作者: 林仕梅, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: linsml98@163.com



鸡、猪的生长性能<sup>[3-4]</sup>、降低小鼠 (*Mus musculus*) 炎症反应<sup>[5]</sup>。添加适宜的酶解禽副产物还可改善鱼虾的生长性能、肠道健康<sup>[6]</sup>, 调节肠道微生物<sup>[7]</sup>, 提高机体抗病力<sup>[8]</sup>。

鱼溶浆作为鱼粉生产过程中的副产物, 富含蛋白质、小肽和游离氨基酸, 在水产饲料中得到广泛应用<sup>[9]</sup>, 鱼溶浆酶解后对鱼类的生长效果更好<sup>[10]</sup>。而鸡骨架经过酶解后得到酶解鸡浆, 其酸溶蛋白、小分子肽和游离氨基酸含量更为丰富, 在改善珍珠龙胆石斑鱼 [*Epinephelus lanceolatus* (♂) × *E. fuscoguttatus* (♀)]<sup>[11]</sup>、大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)<sup>[12]</sup> 的生产性能和健康方面效果明显, 且比鱼溶浆更具价格和资源优势, 当前推荐添加量为 2%~4%<sup>[13]</sup>。前期的研究发现, 不同工艺的酶解鸡浆显著影响大口黑鲈生长<sup>[13]</sup>。鱼溶浆和酶解鸡浆在水产动物上的应用效果如何目前尚无比较研究。为此, 本实验以我国重要的养殖经济鱼类大口黑鲈为研究对象, 通过生长性能、肝脏健康以及肠道微生物等指标, 系统评价酶解鸡浆添加在大口黑鲈饲料中的可行性, 为合理利用畜禽副产物提供理论依据, 同时为酶解鸡浆相关标准的制定提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

以蒸汽鱼粉、豆粕和棉籽蛋白为蛋白源, 面粉为淀粉源配制基础饲料, 分别用鱼溶浆 (SW, 商用)、酶解鸡浆 (EC, 青岛佰伟英格生物科技有限公司, 表 1) 等量替代饲料中 3.5% 的鱼粉, 配制成 3 种等脂 (11.3%) 的实验饲料。实验饲料组成及营养水平见表 2。饲料原料粉碎过 80 目筛, 采取逐级稀释法混合均匀, 制成粒径为 2.5 mm 的颗粒饲料, 自然风干后于 4 °C 冰柜中保存备用。

### 1.2 实验鱼与饲养管理

实验大口黑鲈来自重庆市三峡生态渔业股份有限公司, 暂养在室内玻璃缸中, 用商品饲料驯化 1 周。禁食 24 h, 选取体质健康、活力较好、初始体质量为 (9.25±0.13) g 的大口黑鲈, 随机分为 3 个处理, 每个处理下设 3 个重复, 每个重复 25 尾鱼, 在室内淡水循环养殖系统 (容积 180 L) 饲养 56 d。养殖水源为曝气自来水, 日饱食投喂 2 次 (8:30、17:30), 光照周期为 12 L : 12 D。养殖期间水温 25.0~28.0 °C, 溶解氧 ≥ 6.5 mg/L, 氨氮 ≤

表 1 鱼溶浆和酶解鸡浆的营养成分

Tab. 1 Nutritional composition and oxidation index of stickwater and enzymatic chicken pulp

项目 items	组别 groups	
	SW	EC
<b>营养组成/% nutrition component</b>		
水分 moisture	43.52	38.77
粗蛋白 crude protein	40.95	35.59
粗脂肪 crude lipid	1.82	4.21
粗灰分 crude ash	7.48	12.16
钙 Ca	0.73	0.59
磷 P	0.46	0.86
<b>氨基酸/% amino acids</b>		
天门冬氨酸 Asp	2.26	2.74
谷氨酸 Glu	4.49	5.03
丝氨酸 Ser	1.19	1.04
甘氨酸 Gly	3.37	3.57
丙氨酸 Ala	2.11	2.18
脯氨酸 Pro	1.84	2.30
酪氨酸 Tyr	0.52	0.76
胱氨酸 Cys	0.21	0.24
组氨酸 His*	2.70	1.07
精氨酸 Arg*	3.71	2.91
苏氨酸 Thr*	1.21	1.02
缬氨酸 Val*	1.08	1.04
蛋氨酸 Met*	0.68	0.48
异亮氨酸 Ile*	0.83	0.89
亮氨酸 Leu*	1.80	1.78
苯丙氨酸 Phe*	0.90	0.82
赖氨酸 Lys*	2.27	0.95
酸溶蛋白(占蛋白) acid soluble protein	85.66	76.24
总氨基酸 total amino acids	31.84	29.45
<b>氧化指标 oxidation index</b>		
挥发性盐基氮/(mg/100 g) TVB-N	364	164
酸价/(mg/g) AV	1.68	0.75

注: SW. 鱼溶浆; EC. 酶解鸡浆, 下同。\*. 鱼体必需氨基酸  
Notes: SW. stickwater; EC. enzymatic chicken pulp, the same below. \*. essential amino acids

0.48 mg/L, pH 7.5~8.5。

### 1.3 样品的制备与分析

样品采集 生长实验结束后禁食 24 h, 以 0.01% MS-222 麻醉后逐条称重计数。摄食 6 h 后, 每个重复先随机选取 4 尾, 采用 1 mL 注射器从尾静脉取血, 静置待血清析出后, 离心 (4 000 r/min,

表 2 实验饲料组成及营养水平 (风干基础)

项目 items	组别 groups			%
	对照 control	SW	EC	
<b>原料 ingredient</b>				
秘鲁蒸汽鱼粉 Peru steam fish meal	40.00	36.50	36.50	
鱼溶浆 stickwater		3.50		
酶解鸡浆 enzymatic chicken mashes				3.50
豆粕 soybean meal	18.50	18.50		18.50
棉籽蛋白 cottonseed protein	15.00	15.00		15.00
小麦面筋蛋白 wheat gluten	3.00	3.00		3.00
面粉 flour	9.00	9.00		9.00
鱼油 fish oil	2.00	2.00		2.00
大豆卵磷脂 soy lecithin	1.50	1.50		1.50
豆油 soybean oil	4.00	4.00		4.00
维生素预混料 <sup>a</sup> vitamin premix	1.50	1.50		1.50
矿物质预混料 <sup>b</sup> mineral premix	1.50	1.50		1.50
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50		0.50
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1.50	1.50		1.50
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	2.00	1.88		1.81
赖氨酸 lysine	0.00	0.08		0.13
蛋氨酸 methionine	0.00	0.04		0.06
<b>营养成分 nutritional levels</b>				
粗蛋白 crude protein	49.42	48.39		48.20
粗脂肪 crude lipid	11.31	11.09		11.17
粗灰分 crude ash	11.45	11.51		11.49

注: a. 维生素预混料, 维生素A 18 mg/kg, 维生素D<sub>3</sub> 5 mg/kg, 维生素E 150 mg/kg, 维生素C 500 mg/kg, 维生素B<sub>1</sub> 16 g/kg, 维生素B<sub>6</sub> 20 g/kg, 维生素B<sub>12</sub> 6 g/kg, 维生素K<sub>3</sub> 18 g/kg, 核黄素 40 g/kg, 肌醇 320 g/kg, 泛酸 60 g/kg, 烟酸 80 g/kg, 叶酸 5 g/kg, 生物素 2 g/kg, 乙氧基喹啉 100 g/kg, b. 矿物质预混料, 钠 30 mg/kg, 钾 50 mg/kg, 镁 100 mg/kg, 铜 4 mg/kg, 铁 25 mg/kg, 锌 35 mg/kg, 锰 12 mg/kg, 碘 1.6 mg/kg, 硒 0.2 mg/kg, 钴 0.8 mg/kg

Notes: a. vitamin premix, VA 18 mg/kg, VD<sub>3</sub> 5 mg/kg, VE 150 mg/kg, VC 500 mg/kg, VB<sub>1</sub> 16 g/kg, VB<sub>6</sub> 20 g/kg, VB<sub>12</sub> 6 g/kg, VK<sub>3</sub> 18 g/kg, riboflavin 40 g/kg, inositol 320 g/kg, calcium-D-pantothenate 60 g/kg, niacinamide 80 g/kg, folic acid 5 g/kg, biotin 2 g/kg, ethoxyquin 100 g/kg, b. mineral premix: Na 30 mg/kg, K 50 mg/kg, Mg 100 mg/kg, Cu 4 mg/kg, Fe 25 mg/kg, Zn 35 mg/kg, Mn 12 mg/kg, I 1.6 mg/kg, Se 0.2 mg/kg, Co 0.8 mg/kg

10 min) 取上清液, 用于血清生化指标的测定。并于冰上解剖分离其肝脏和肠道, 氮速冻后保存于-80 °C 超低温冰箱中, 用于生理生化指标的测定。每个重复再单独随机取 2 尾, 用 0.01% MS-222 麻醉后, 取约 0.2 g 的肝脏 (中心区域) 和 0.5 cm 的肠道组织 (中肠中段), 分别放入 1.5 mL 无 RNA 酶离心管装的 200 μL RNA/DNA 样品保护液 (TaKaRa, 日本) 中, 液氮速冻后保存于-80 °C 超低温冰箱, 用于基因相对表达量的测定。收集其肠道内容物, 放入 1.5 mL 无 RNA 酶无菌试管中, 液氮冷冻后, 置于-80 °C 冰箱中用于微生物组测序。

**原料与饲料营养成分的测定** 采用国际通用标准方法对部分原料和饲料常规营养成分进行测定。水分采用 105 °C 烘干恒重法测定; 粗蛋白质采用凯式定氮法测定; 粗脂肪采用索式抽提法

测定; 粗灰分采用 550 °C 马弗炉煅烧法测定; 鱼溶浆和酶解鸡浆氨基酸含量使用日立 L-8800 型氨基酸自动分析仪测定; 挥发性盐基氮参照 GB 5009.8—016 进行测定。

**肝脏抗氧化及肠道通透性指标测定** 采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性 (WST-1 法)、过氧化氢酶 (CAT) 活性 (钼酸铵法) 以及丙二醛 (MDA) 含量 (TBA 法)。采用 ELISA 商用试剂盒 (上海优选生物科技有限公司) 测定血清中二胺氧化酶 (DAO) 活性以及 D-乳酸 (D-Lac) 和脂多糖 (LPS) 含量。

**mRNA 提取, 逆转录和基因表达分析** 肝脏及肠道总 RNA 使用 RNAiso Plus 试剂 (TaKaRa, 日本) 提取, 使用 NanoDrop2000 超微量分光光度计 (Thermo Fisher, 美国) 测定总 RNA 浓度并适当

稀释至 1 000 ng/ $\mu$ L。随后使用反转录试剂盒 FastKing-RT SuperMix (天根生化科技有限公司, 北京) 将提取的总 RNA 反转录为 cDNA, 并用 DEPC 水稀释后备用。实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 反应体系为 20  $\mu$ L, 其中上下游引物各 1  $\mu$ L、cDNA 2  $\mu$ L、10  $\mu$ L 2 $\times$ NovoStart<sup>®</sup> SYBR qPCR SuperMix Plus (Novoprotein, 上海) 和无酶水 6  $\mu$ L。

定量仪器为实时定量 PCR 仪 (Bio-rad - CFX96)。RT-PCR 的程序为 95  $^{\circ}$ C 预变性 1 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 20 s; 60  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 40 个循环, 之后形成熔解曲线。引物序列见表 3。通过定量 PCR 得出每对引物每个浓度 cDNA 的  $C_t$  值, 目的基因的相对 mRNA 表达归一化到  $\beta$ -actin(内参基因), 并使用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法测定<sup>[14]</sup>。

表 3 实时荧光定量 (RT-PCR) 引物设计序列

Tab. 3 Primers pair sequences for RT-PCR

基因 genes	上游引物(5'-3') forward primer	下游引物(5'-3') reverse primer	产物长度/bp product size	登录号 GenBank
<i>sod</i>	CCACCAGAGGTCTCACAGCA	CCACTGAACCGAAGAAGGACT	158	XM_038713969.1
<i>cat</i>	TGGTGTTCACGGATGAGATGG	GGAGAAGCGGACAGCAATAGG	179	XM_038704976.1
<i>IL-8</i>	CGTTGAACAGACTGGGAGAGATG	AGTGGGATGGCTTCATTATCTTGT	112	XM_038704088.1
<i>IL-10</i>	CGGCACAGAAATCCCAGAGC	CAGCAGGCTCACAAAATAAACATCT	119	XM_038696252.1
<i>IL-1<math>\beta</math></i>	CGTGACTGACAGCAAAAAGAGG	GATGCCAGAGCCACAGTTC	166	XM_038733429.1
<i>TGF-<math>\beta</math></i>	GCTCAAAGAGAGCGAGGATG	TCCTCTACCATTCGCAATCC	118	XM_038693206.1
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	CTTCGTCTACAGCCAGGCATCG	TTTGGCACACCGACCTCACC	161	XM_038710731.1
<i>zo-1</i>	ATCTCAGCAGGGATTTCGACG	CTTTTGGCGTGGCGTTGG	208	XM_038701018.1
<i>claudin-1</i>	CCAGGGAAGGGGAGCAATG	GCTCTTTGAACAGTGCAGC	160	XM_038713307.1
<i>occludin</i>	GATATGGTGGCAGCTACGGT	TCCTACTGCGGACAGTGTG	198	XM_038715419.1
$\beta$ -actin	AAAGGGAAATCGTGCCTGAC	AAGGAAGGCTGGAAGAGGG	184	XM_038695351.1

16S *rRNA* 测序 原始数据委托生物公司测序和文库构建, 数据结果在百迈克生物云平台 (BMKCloud) 进行分析。使用 Power Soil DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories) 从样品中提取细菌总 RNA。采用 PCR(正向引物: 5'-ACTCCTACGGAGGCAGCA-3'; 反向引物: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 并使用 HiSeq 平台 (Illumina, 美国) 进行测序。剔除掉低质量序列后, 得到干净的测序数据 (clean reads), 序列相似性  $\geq 97\%$  被归为同一操作分类单元 (OTU)。将 OTU 的代表性序列与微生物参考数据库进行比对, 获得对应物种的分类信息, 使用 QIIME 软件生成不同分类水平的物种多度表, 并使用 VennDiagram R 软件包进行可视化。使用 Metastats 分析各组间菌属水平的显著差异。计算微生物 Alpha 多样性指数中 Chao1、ACE、香农指数 (Shannon) 和辛普森指数 (Simpson) 指数<sup>[15]</sup>, 并统计 OTU 覆盖率 (coverage)。采用 BugBase 工具进行菌群表型预测分析<sup>[16]</sup>。

#### 1.4 计算公式

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

摄食率 (feeding ratio, FR, %/d) =  $F / [(W_t + W_0) / 2 \times t] \times 100\%$ ;

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

蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER, %) =  $(W_t - W_0) / (F \times F_p)$ ;

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

式中,  $W_t$  和  $W_0$  分别为终末鱼体质量和初始鱼体质量 (g);  $t$  为养殖实验天数 (d);  $F$  为投饲量 (g);  $N_t$  和  $N_0$  分别为终末尾数和初始尾数 (尾);  $W$  为鱼体质量 (g);  $L$  为鱼体长 (cm);  $F_p$  为饲料蛋白质含量 (%)。

#### 1.5 数据分析

实验数据均以平均值  $\pm$  标准差 (mean  $\pm$  SD,  $n=3$ ) 表示, 采用 SPSS 25.0 软件进行方差齐性检验和单因素分析 (One-Way ANOVA), 若达到显著水平, 则进行 Tukey 氏多重比较, 显著水平设为  $P < 0.05$ 。图形绘制采用 GraphPad Prism 7.0 软件 (美国)。

## 2 结果

### 2.1 酶解鸡浆对大口黑鲈生长性能的影响

各处理组实验鱼终末体质量分布差异较大(图1), 而FBW差异不显著(表4)。大口黑鲈的WGR、SGR、PFR和FCR无组间差异( $P>0.05$ )(表4)。各处理组FR无显著差异, 存活率SR均为100%( $P>0.05$ )。

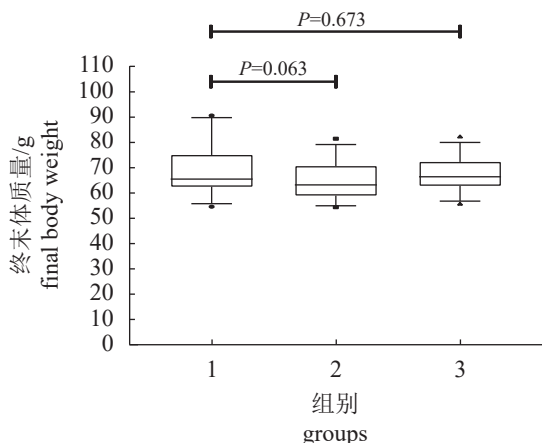


图1 酶解鸡浆对大口黑鲈终末体质量的影响

1. 对照组, 2. 鱼溶浆组, 3. 酶解鸡浆组。箱线图中线代表鱼体终末体质量中位数

Fig. 1 Effects of EC on final body weight of *M. salmoides*

1. control, 2. SW, 3. EC. The middle line in the boxplot represents the median final weight of the fish

### 2.2 酶解鸡浆对大口黑鲈肝脏抗氧化和免疫力的影响

EC组大口黑鲈肝脏T-SOD和CAT活性显著优于其他实验组, 相较对照组分别提升了40.72%和47.60%, 而MDA含量最低( $P<0.05$ )(图2-a)。EC组*sod*基因mRNA水平显著高于对照组37.50%

( $P<0.05$ ), 与SW组无显著差异( $P>0.05$ )(图2-a)。而SW组*cat*基因mRNA水平显著低于对照组( $P<0.05$ ), 与EC组无显著差异(图2-b)。

此外, 实验组肝脏促炎细胞因子*IL-8*和*TNF- $\alpha$* 表达量分别显著低于对照组53.94%和81.95%( $P<0.05$ ), 而EC组抗炎细胞因子*TGF- $\beta$* 和*IL-10*表达水平显著高于其他处理组( $P<0.05$ )(图3)。

### 2.3 酶解鸡浆对大口黑鲈肠道物理屏障的影响

EC组显著上调肠道紧密连接蛋白*zo-1*、*claudin*和*occludin-1*的mRNA表达水平( $P<0.05$ ), 相较鱼粉提升了65.76%、78.78%和65.97%(图4)。同时观察到, EC组血清中DAO活性、D-lac和LPS含量显著低于其他实验组( $P<0.05$ ), 相较鱼粉分别降低了30.10%、17.54%和33.78%(表5)。

### 2.4 酶解鸡浆对大口黑鲈肠道菌群的影响

9个样品测序共获得719 389对reads, 平均产生79 234条clean reads。SW和EC组肠道微生物 $\alpha$ -多样性OTUs和Chao1指数显著优于对照组( $P<0.05$ ), SW组ACE指数显著高于对照组21.05%, 与EC组无显著差异(表6)。各处理组Shannon指数和Simpson指数无显著差异( $P>0.05$ )。

大口黑鲈肠道优势菌群为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和放线菌门(Actinomycetes)(图5-a)。添加EC后, 肠道中变形菌门的丰度从30.62%下降至21.30%、拟杆菌门的丰度从16.76%下降至11.68%、厚壁菌门的丰度从17.71%上升至27.14%、放线菌门的丰度从7.83%下降至13.15%, 但无统计学差异( $P>0.05$ )。Metastats分析发现, EC组芽孢杆菌属(*Bacillus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、罗氏菌属(*Rothia*)和链霉菌属(*Strepto-*

表4 酶解鸡浆对大口黑鲈生长性能的影响

Tab. 4 Effects of EC on the growth performance of *M. salmoides*

项目 items	组别 groups		
	对照 control	SW	EC
初始平均体质量/g IBW	9.27±0.02	9.25±0.08	9.26±0.08
终末平均体质量/g FBW	68.57±0.40	64.99±2.41	67.47±1.00
增重率/% WGR	639.53±6.23	605.61±33.36	631.49±7.37
特定增长率/(%/d) SGR	3.34±0.03	3.22±0.04	3.31±0.01
饲料系数 FCR	1.09±0.01	1.08±0.03	1.13±0.02
蛋白质效率/% PER	1.92±0.02	1.92±0.05	1.84±0.04
摄食率/(%/d) FR	2.76±0.03	2.81±0.10	2.86±0.06
存活率/% SR	100.00	100.00	100.00

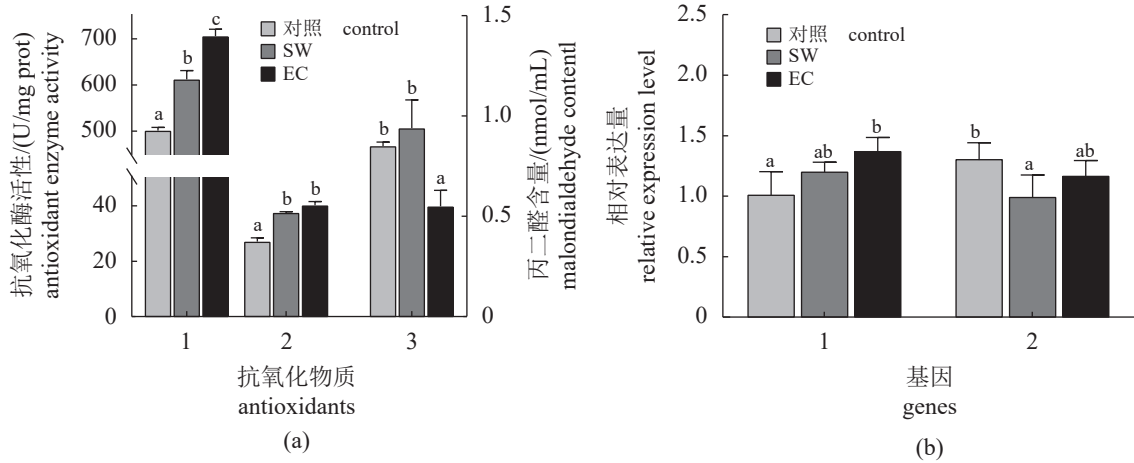


图 2 酶解鸡浆对大口黑鲈肝脏抗氧化能力 (a) 及相关基因表达水平 (b) 的影响

图中数据肩标不同字母表示组间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同

Fig. 2 Effects of EC on antioxidant capacity (a) and expression of antioxidant genes (b) in the liver of *M. salmoides*

(a) 1. T-SOD, 2. CAT, 3. MDA; (b) 1. *sod*, 2. *cat*. Values in the same row with different letter superscripts were significantly difference ( $P < 0.05$ ), the same below

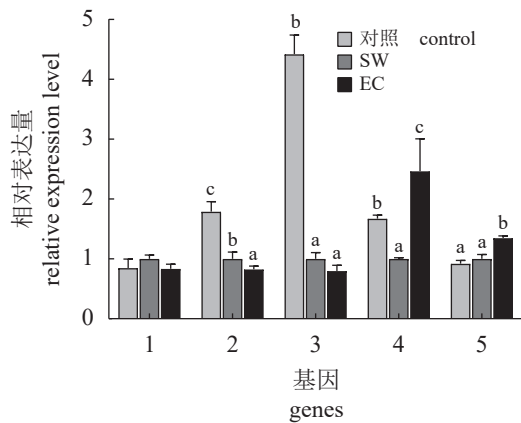


图 3 酶解鸡浆对大口黑鲈肝脏免疫基因表达水平的影响

Fig. 3 Effects of EC on the expression of immune related genes in the liver of *M. salmoides*

1. *IL-1β*, 2. *IL-8*, 3. *TNF-α*, 4. *IL-10*, 5. *TGF-β*

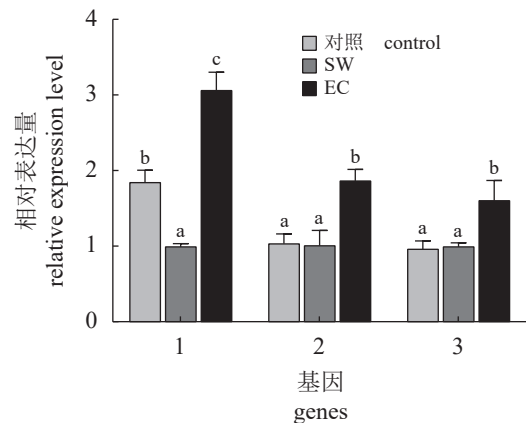


图 4 酶解鸡浆对大口黑鲈肠道紧密连接蛋白基因表达水平的影响

Fig. 4 Effects of EC on the expression of tight junction protein genes in the intestine of *M. salmoides*

1. *occludin*, 2. *zo-1*, 3. *claudin-1*

表 5 酶解鸡浆对大口黑鲈肠道通透性的影响

Tab. 5 Effects of EC on the intestinal permeability of *M. salmoides*

项目 items	组别 groups		
	对照 control	SW	EC
D-乳酸( $\mu\text{mol/L}$ ) D-Lac	555.36 $\pm$ 12.22 <sup>b</sup>	528.59 $\pm$ 10.59 <sup>b</sup>	388.95 $\pm$ 8.15 <sup>a</sup>
二胺氧化酶(U/mL) DAO	18.52 $\pm$ 1.78 <sup>b</sup>	22.51 $\pm$ 0.42 <sup>c</sup>	15.27 $\pm$ 2.35 <sup>a</sup>
脂多糖(EU/L) LPS	307.21 $\pm$ 23.82 <sup>b</sup>	288.81 $\pm$ 8.34 <sup>b</sup>	203.41 $\pm$ 9.74 <sup>a</sup>

注: EU是内毒素的效价单位, 同行中上标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同

Notes: "EU" is short for "endotoxin unit", in the same row, values with different lowercase letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ), the same below

表 6 酶解鸡浆对大口黑鲈肠道微生物  $\alpha$ -多样性的影响Tab. 6 Effects of EC on intestinal microbiota  $\alpha$  diversity of *M. salmoides*

项目 items	丰富度 richness estimates			均匀度 evenness estimates		覆盖度/% coverage
	OTUs	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	
对照 control	431.00±52.20 <sup>a</sup>	646.98±93.68 <sup>a</sup>	580.22±46.55 <sup>a</sup>	6.87±2.07	0.94±0.10	99.50±0.00
SW	702.00±26.15 <sup>b</sup>	783.19±19.72 <sup>b</sup>	791.80±25.85 <sup>b</sup>	8.06±0.17	0.99±0.00	99.33±0.00
EC	776.98±27.73 <sup>b</sup>	763.27±21.03 <sup>ab</sup>	776.98±27.73 <sup>b</sup>	7.37±1.13	0.97±0.04	99.29±0.00

*myces*) 相对丰度显著上升, 而不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、大肠杆菌-志贺氏菌属 (*Escherichia-shigella*)、支原体 (*Mycoplasma*) 和弧菌属 (*Vibrio*) 相对丰度下降 ( $P<0.05$ ) (图 5-a, 图 6)。BugBase 表型预测发现, 添加 SW 和 EC 可改变肠道微生物表型, 导致革兰氏阴性菌相对丰度分别下降 17.04% 和 21.95%, 革兰氏阳性菌分别上升 38.96% 和 50.24% ( $P<0.05$ ) (图 7)。

### 3 讨论

本实验结果显示, 酶解鸡浆等量替代鱼粉对大口黑鲈具有同等的生长效果, 表现出与鱼溶浆一定的等效关系, 充分体现酶解鸡浆的产品优势。在珍珠龙胆石斑鱼<sup>[11]</sup>和大菱鲆<sup>[7]</sup>上发现, 添加适宜的酶解鸡副产物同样不会影响鱼类的生长性能。前期的研究证实, 不同工艺的酶解鸡浆对大口黑鲈生长性能的影响有显著差异<sup>[13]</sup>。这些结果表明, 酶解鸡副产物替代鱼粉是可行的, 其替代比例因鱼种、饲料配方、工艺等因素而不同。此外, 鸡肉副产物在军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)<sup>[17]</sup>、金头鲷 (*Sparus aurata*)<sup>[18]</sup> 等鱼类中替代一定比例鱼粉的生产效果也得到肯定。

动物机体对氨基酸的吸收主要通过不同底物特异性的氨基酸转运蛋白或肠道小肽转运蛋白 (PepT1) 以二肽和三肽的形式进入肠上皮细胞, 吸收效率更高。相较于鱼粉, 鱼溶浆和酶解鸡浆含有丰富的可溶蛋白、小肽和游离氨基酸。研究表明, 饲料中添加适量小肽可提高大口黑鲈<sup>[19]</sup>的生长性能。在对珍珠龙胆石斑鱼<sup>[11]</sup>中的研究显示, 酶解鸡浆可以提高肠道胰蛋白酶的活性, 从而有利于鱼类生长。鱼溶浆在水产饲料上应用的积极效果<sup>[9]</sup>已得到证实, 并作为本实验的阳性对照。本实验中鱼溶浆和酶解鸡浆的蛋白质含量仅为鱼粉蛋白质含量的 60% 和 52%, 等量 (3.5%) 替代鱼粉并没有显著影响大口黑鲈的生长性能。这与鱼溶浆和酶解鸡浆中小肽和游离氨基酸的含量有关,

可能是其生物学效价高于鱼粉的重要原因之一。酶解鸡浆对大口黑鲈生长性能和饲料效率的改善效果不仅是其蛋白质的营养作用, 可能还与含有一些特殊生物活性物质 (如粘多糖、磷脂质等) 有关, 值得深入研究。此外, 从本实验结果看, 酶解鸡浆的促生长效果优于鱼溶浆, 这可能是二者小肽分子量分布和游离氨基酸含量差异所致。大量研究表明, 饲料中添加适量的动物蛋白水解物对肉食性鱼类具有促生长作用, 但添加量过高会抑制鱼类的生长<sup>[20]</sup>。主要原因是鱼体对日粮氨基酸的吸收不同步, 过高水解度的动物蛋白因游离氨基酸含量高而致使鱼体对日粮蛋白质利用率降低。因此, 肉食性鱼饲料中酶解鸡浆的科学使用还需要进一步解析。

本研究还发现, 酶解鸡浆能显著提升大口黑鲈肝脏抗氧化酶活性及其相关基因的表达, 降低 MDA 含量, 同时上调肝脏抗炎细胞因子白细胞介素-10 (*IL-10*) 和生长转化因子 (*TGF- $\beta$* ) mRNA 的表达, 下调促炎细胞因子白介素-8 (*IL-8*)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (*TNF- $\alpha$* ) mRNA 的表达。这表明酶解鸡浆可以调节肝脏的炎症反应, 提高抗氧化能力, 进而提高蛋白质的利用率。酶解鸡浆组 SGR 和 PER 值没有降低, 也支持这个结论。这与在大菱鲆<sup>[12]</sup>上的研究结果一致, 可能是因为酶解鸡浆含有抗氧化活性的小肽所致<sup>[21]</sup>。研究证实, 鸡肉蛋白水解物通过促进线粒体脂肪酸  $\beta$ -氧化, 进而减轻小鼠肥胖所带来的炎症反应<sup>[5]</sup>, 在鱼体内, 酶解蛋白还通过腺苷酸活化蛋白激酶 (*AMPK*) 和核转录因子  $\kappa B$  (*NF- $\kappa B$* ) 通路发挥抗炎作用<sup>[22]</sup>。

肠道是鱼类抵御病原入侵的第一道屏障, 其稳定性是肠道生理过程正常发挥的基础<sup>[23]</sup>。通常 LPS、D-Lac 和 DAO 是反映肠道黏膜功能的敏感指标。当屏障功能受损时, 这些物质穿过肠黏膜进入血液循环, 引起肠道应激和炎症反应。而紧密连接蛋白基因 (*occludin*、*zo-1*、*claudin-1*) 具有保护和调节肠道物理屏障的功能<sup>[24]</sup>。本实验结果

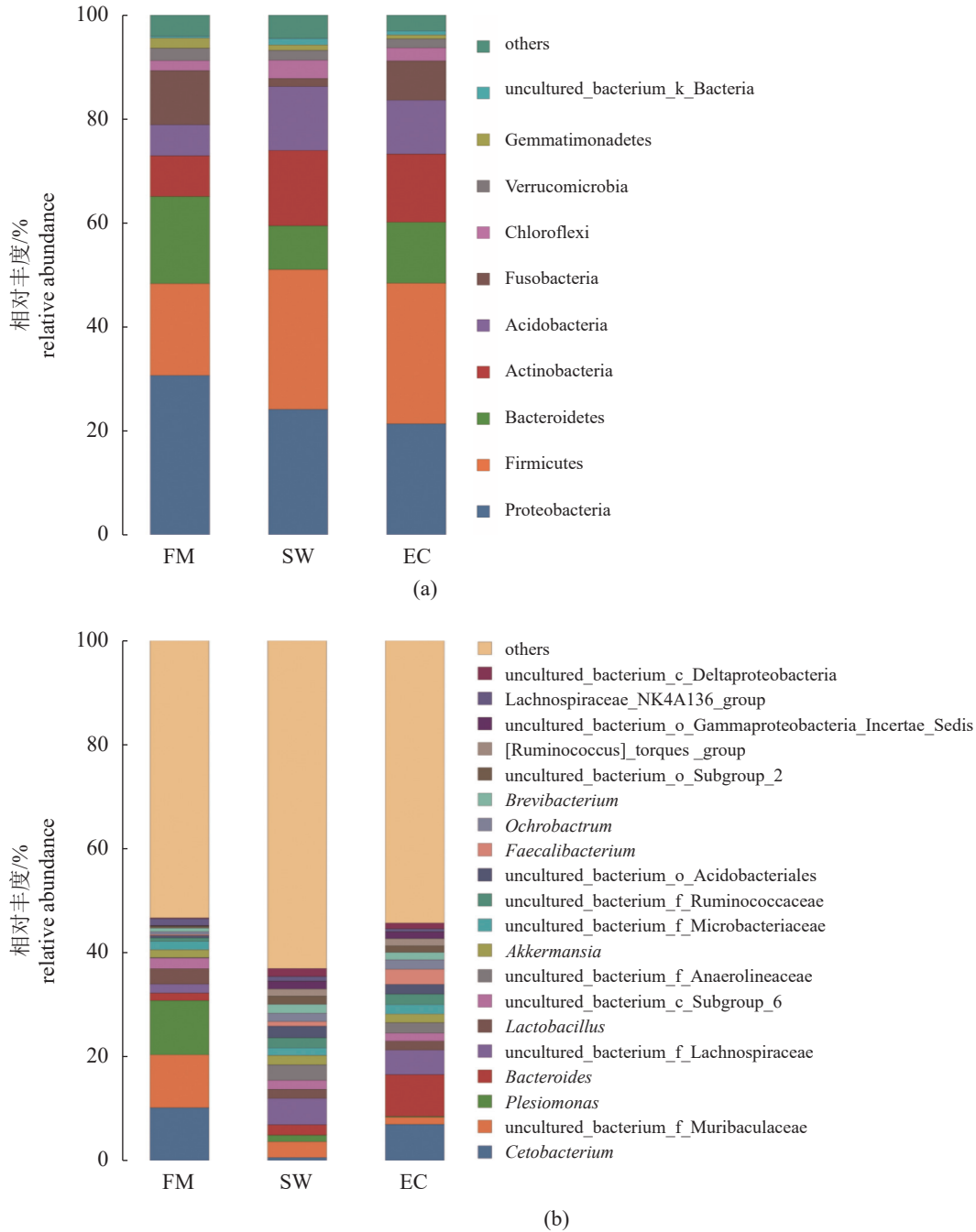


图 5 酶解鸡浆对大口黑鲈肠道微生物相对丰度的影响

(a) 门水平, (b) 属水平

Fig. 5 Effects of EC on the relative abundance of intestinal microorganisms of *M. salmoides*

(a) at phylum level, (b) at genus level

显示, 添加酶解鸡浆能够显著提高大口黑鲈肠道紧密连接蛋白基因的表达水平, 增强肠道物理屏障。在珍珠龙胆石斑鱼<sup>[11]</sup>和仔猪<sup>[25]</sup>中的研究同样发现, 酶解鸡浆能降低炎症因子表达水平, 增强肠黏膜屏障功能。此外, 酶解鸡浆组对肠道的改善效果优于鱼溶浆, 可能与二者的新鲜度有关(即

氧化指标不同)(表 1), 这也正是酶解鸡浆产品的优势所在。

本研究同样证实, 大口黑鲈肠道菌群以厚壁菌门和变形菌门为主, 其次是拟杆菌门和放线菌门<sup>[26]</sup>。饲料中添加酶解鸡浆和鱼溶浆均能提升肠道菌群的丰富度(OTUs、Chao1 和 ACE)。添加酶



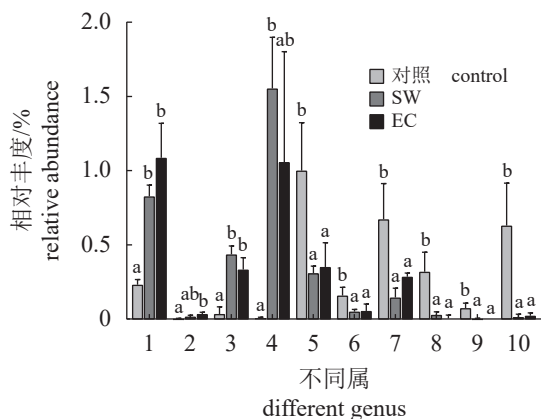


图6 不同处理组肠道菌群的 MetaStats 分析

1. 芽孢杆菌属, 2. 明串珠菌属, 3. 罗氏菌属, 4. 链霉菌属, 5. 不动杆菌属, 6. 放线菌属, 7. 志贺氏菌属, 8. 支原体, 9. 黄杆菌属, 10. 弧菌属

Fig. 6 MetaStats analysis of intestinal microbiota communities of *M. salmoides*

1. *Bacillus*, 2. *Leuconostoc*, 3. *Rothia*, 4. *Streptomyces*, 5. *Acinetobacter*, 6. *Actinomyces*, 7. *Escherichia-shigella*, 8. *Mycoplasma*, 9. *Tenacibaculum*, 10. *Vibrio*

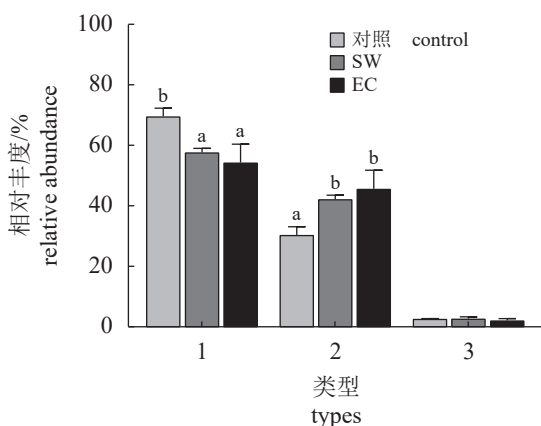


图7 BugBase 表型预测

1. 革兰氏阴性菌, 2. 革兰氏阳性菌, 3. 潜在致病菌

Fig. 7 BugBase Phenotypic prediction

1. Gram negative, 2. Gram positive, 3. potentially pathogenic

解鸡浆后大口黑鲈肠道拟杆菌门丰度降低, 厚壁菌门丰度增加。通常变形菌门被认为是肠道炎症的特征微生物<sup>[27]</sup>, 厚壁菌门通过合成短链脂肪酸 (SCFA) 在宿主营养和代谢中发挥关键作用<sup>[28]</sup>。因此, 在哺乳动物中, 厚壁菌门与拟杆菌门的比值 ( $F/B$ ) 越高, 说明其营养物质运输和利用能力越强<sup>[29]</sup>。本实验中, 还观察到添加鱼溶浆和酶解鸡浆会提升大口黑鲈肠道菌群中  $F/B$  值 (鱼溶浆, 从 1.06 上升至 3.19; 酶解鸡浆, 从 1.06 上升至 2.32)。表明鱼溶浆和酶解鸡浆能降低大口黑鲈肠道炎症

发生的可能性, 同时改善菌群, 促进营养物质的吸收。这可能也是酶解鸡浆组大口黑鲈生长性能没有降低的原因之一。进一步研究发现, 酶解鸡浆能够提升潜在有益菌 (芽孢杆菌属) 的丰度, 降低潜在有害菌 (志贺氏菌属、不动杆菌属、支原体和弧菌属) 的丰度。有研究指出, 在大口黑鲈饲料中添加外源枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 能够提高补体 C3 和 C4 水平, 稳定肠道微生态<sup>[30]</sup>。同时, 志贺氏菌属、不动杆菌属、支原体和弧菌属都是常见的水产动物或人类条件致病菌<sup>[31]</sup>。此外, 菌群表型分析发现, 酶解鸡浆会显著降低大口黑鲈肠道革兰氏阴性菌比例、提高革兰氏阳性菌比例。众所周知, 大多数革兰氏阴性菌会释放脂多糖 (LPS)<sup>[32]</sup>, 诱发肠炎, 损伤肠道健康<sup>[33]</sup>。因此, 认为酶解鸡浆通过调节肠道菌群的结构, 进而改善肠道屏障功能, 这在一定程度上解释了酶解鸡浆组血清 LPS 含量低的原因。

在本实验条件下, 鸡骨架酶解产物通过提高肝脏抗氧化能力、改善肠道功能、调节肠道菌群结构, 实现等量替代 3.5% 鱼粉的目的, 而不影响大口黑鲈生长。酶解鸡浆对肠道健康的改善功能优于鱼溶浆, 其作用机制需要进一步研究。因此, 通过添加陆生动物水解蛋白, 有望进一步降低肉食性鱼饲料中鱼粉用量, 以期达到节约鱼粉的目的。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [1] 李金龙. 鸡骨架综合利用关键技术与产品研发 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014.  
Li J L. Study on key technology and product development of comprehensive utilization of chicken skeleton [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [2] 曾晓房. 鸡骨架酶解及其产物制备鸡肉香精研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2007.  
Zeng X F. Enzymatic hydrolysis characteristics of chicken bone and chicken process flavor preparation of its hydrolysate [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2007 (in Chinese).
- [3] Kwak M G, Park H S, Kim B K, et al. Effects of feeding enzyme-hydrolyzed poultry by-product meal on productivity and blood biochemical characteristics in broilers [J]. *Korean Journal of Poultry Science*, 2021, 48(3):

- 133-142.
- [4] Thuy N T, Ha N C. Effect of replacing marine fish meal with catfish (*Pangasius hypophthalmus*) by-product protein hydrolyzate on the growth performance and diarrhoea incidence in weaned piglets[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2016, 48(7): 1435-1442.
- [5] Aloysius T A, Carvajal A K, Slizyte R, et al. Chicken protein hydrolysates have anti-inflammatory effects on high-fat diet induced obesity in mice[J]. *Medicines (Basel)*, 2018, 6(1): 5.
- [6] Psafakis P, Meziti A, Berillis P, et al. Effects of dietary fishmeal replacement by poultry by-product meal and hydrolyzed feather meal on liver and intestinal histomorphology and on intestinal microbiota of gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. *Applied Sciences*, 2021, 11(19): 8806.
- [7] Hao Y T, Guo R, Jia G W, et al. Effects of enzymatic hydrolysates from poultry by-products (EHPB) as an alternative source of fish meal on growth performance, hepatic proteome and gut microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(6): 1994-2006.
- [8] Ha M S, Lee K W, Kim J, et al. Dietary substitution effect of fish meal with chicken by-product meal on growth, feed utilization, body composition, haematology and non-specific immune responses of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(2): 315-326.
- [9] Zhang Y X, Zhang L, Huang L Y, et al. Evaluation of conventional or hydrolyzed stickwater from food-grade skipjack tuna by-product in diet for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)[J]. *Aquaculture*, 2022, 548: 737714.
- [10] 周露阳, 吴代武, 高敏敏, 等. 鱼溶浆、酶解鱼溶浆和酶解鱼浆完全替代鱼粉对黄颡鱼生长的影响[J]. *水生生物学报*, 2019, 43(3): 504-516.
- Zhou L Y, Wu D W, Gao M M, et al. The effects of fish meal replacement on growth performance of Yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(3): 504-516 (in Chinese).
- [11] 王俊贤. 酶解鸡浆和大豆浓缩蛋白在珍珠龙胆石斑鱼饲料中的应用研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2020.
- Wang J X. Application of enzymatic chicken mash and soy protein concentrate in the feed of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀)[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2020 (in Chinese).
- [12] Zhuang Y W, Zhang W C, Zheng J C, et al. Effects of enzymatic hydrolysis chicken by-product in high plant-based protein diet on growth performance, digestive capacity, antioxidant capacity and non-specific immunity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L. ) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(5): 1578-1589.
- [13] 马卉佳. 酶解鸡浆对大口黑鲈生长、体组成、血浆生化 and 肠道健康的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- Ma H J. Effect of enzymatic hydrolysates of chicken skeleton on the growth, body composition, plasma biochemistry and intestinal health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[D]. Chongqing: Southwest University, 2021 (in Chinese).
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [15] Grice E A, Kong H H, Conlan S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome[J]. *Science*, 2009, 324(5931): 1190-1192.
- [16] Ward T, Larson J, Meulemans J, et al. BugBase predicts organism-level microbiome phenotypes[J]. *bioRxiv*, 2017: 133462.
- [17] Zhou Q C, Zhao J, Li P, et al. Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. *Aquaculture*, 2011, 322-323: 122-127.
- [18] Karapanagiotidis I T, Psafakis P, Mente E, et al. Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(1): 3-14.
- [19] 李向. 小肽和维生素 D<sub>3</sub> 对大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 生长、肝脏代谢和肠道微生物的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- Li X. Effects of small peptides and vitamin D<sub>3</sub> on growth, liver metabolism and intestinal microorganisms of largemouth bass *Micropterus salmoides*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020 (in Chinese).
- [20] Wei Y L, Li B X, Xu H G, et al. Fish protein hydrolysate in diets of turbot affects muscle fibre morphometry,

- and the expression of muscle growth-related genes[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(5): 1780-1791.
- [21] dos Santos Aguilar J G, de Souza A K S, de Castro R J S. Enzymatic hydrolysis of chicken viscera to obtain added-value protein hydrolysates with antioxidant and antihypertensive properties[J]. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 2020, 26(2): 717-725.
- [22] Gao R C, Shu W H, Shen Y, *et al.* Peptide fraction from sturgeon muscle by pepsin hydrolysis exerts anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via MAPK and NF- $\kappa$ B pathways[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2021, 10(1): 103-111.
- [23] Huang C, Wu P, Jiang W D, *et al.* Deoxynivalenol decreased the growth performance and impaired intestinal physical barrier in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 80: 376-391.
- [24] Oshima T, Miwa H, Joh T. Changes in the expression of claudins in active ulcerative colitis[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2008, 23(S2): S146-S150.
- [25] Wang H S, Shen J H, Mu C L, *et al.* Low crude protein diets supplemented with casein hydrolysate enhance the intestinal barrier function and decrease the pro-inflammatory cytokine expression in the small intestine of pigs[J]. *Animal Nutrition*, 2021, 7(3): 770-778.
- [26] Zhao L L, He K, Luo J, *et al.* Co-modulation of liver genes and intestinal microbiome of largemouth bass larvae (*Micropterus salmoides*) during weaning[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1332.
- [27] Shin N R, Whon T W, Bae J W. *Proteobacteria*: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503.
- [28] Machate D J, Figueiredo P S, Marcelino G, *et al.* Fatty acid diets: regulation of gut microbiota composition and obesity and its related metabolic dysbiosis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(11): 4093.
- [29] Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B. The influence of probiotics on the firmicutes/bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1715.
- [30] Du R Y, Zhang H Q, Chen J X, *et al.* Effects of dietary *Bacillus subtilis* DSM 32315 supplementation on the growth, immunity and intestinal morphology, microbiota and inflammatory response of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(6): 2119-2131.
- [31] Behera B K, Bera A K, Paria P, *et al.* Identification and pathogenicity of *Plesiomonas shigelloides* in silver carp[J]. *Aquaculture*, 2018, 493: 314-318.
- [32] 莫婷, 刘马峰, 程安春. 革兰氏阴性菌脂多糖运输系统的构成及作用机制[J]. *微生物学报*, 2018, 58(9): 1521-1530.
- Mo T, Liu M F, Cheng A C. Component and functions of lipopolysaccharide transport system in Gram-negative bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(9): 1521-1530 (in Chinese).
- [33] Wan Y, Fu Y Q, Wang F L, *et al.* Protective effects of a lipid extract from hard-shelled mussel (*Mytilus coruscus*) on intestinal integrity after lipopolysaccharide challenge in mice[J]. *Nutrients*, 2018, 10(7): 860.

## Effects of enzymatic chicken pulp on liver antioxidant capacity, intestinal physical barrier and microflora of *Micropterus salmoides*

FENG Zhuandong<sup>1</sup>, LIAO Ruisheng<sup>1</sup>, SUN Hao<sup>1</sup>, LIU Xinping<sup>1</sup>, CHEN Yongjun<sup>1</sup>,  
XIANG Xiao<sup>1</sup>, TAN Beiping<sup>2</sup>, LIN Shimei<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education,

College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** In order to evaluate the effects of enzymatic chicken mashes on healthy culture of *Micropterus salmoides*, fish meal in basal diet was replaced with 3.5% fish meal by stickwater from fish processing (SW) and enzymatic chicken pulp (EC) by the equal amounts, respectively, and three isolipid (EE 11.3%) diets were prepared. *M. salmoides* with an initial body weight of (9.25±0.13) g were fed in a circulation system for 8 weeks. The results indicated that there were no significant differences in weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) and feeding rate (FR) of *M. salmoides* among all treatment groups. The activity of total superoxide dismutase (T-SOD), content of malondialdehyde (MDA) and expression levels of anti-inflammatory cytokines (*TGF-β*) and pro-inflammatory cytokines (*IL-8*) in liver in EC group were significantly better than those in control group (basal diet) and SW group. Compared with other treatments, after adding EC, the relative expressions of *occludin*, *zo-1* and *claudin-1* in intestinal tract were significantly up-regulated, while the activities of diamine oxidase (DAO), D-lactic acid (D-Lac) and lipopolysaccharide (LPS) contents in serum were significantly decreased. At the same time, it was also observed that EC affected the intestinal microflora abundance (OTUs and Chao1) of *M. salmoides*, increased the (*Bacillus*) at the genus level, and reduced the abundance of potentially probiotic bacteria of some potentially harmful bacteria (*Escherichia-shigella*, *Acinetobacter*, *Vibrio* and *Mycoplasma*). Further phenotypic prediction showed that the addition of EC significantly reduced the proportion of Gram-negative bacteria and increased the proportion of Gram-positive bacteria. All in all, the addition of EC in the diet does not affect the growth of *M. salmoides*, but enhances the antioxidant capacity of liver and intestinal physical barrier and improves intestinal microflora. EC can be used as high-quality protein source for *M. salmoides*.

**Key words:** *Micropterus salmoides*; enzymatic chicken pulp; antioxidant capacity; intestinal microflora

**Corresponding author:** LIN Shimei. E-mail: linsm198@163.com

**Funding projects:** National Key R & D Program of China (2019YFD0900200); Chongqing Ecological Fishery Industry Technical System (2022); Chongqing Fishery Technology Innovation Union (2022)