

DOI: 10.11964/jfc.20230514009

发酵棉籽粕对黄颡鱼生长性能、表观消化率和肠道健康的影响



邹峰余, 贾冰玉, 罗智, 刘志博, 柯江, 柳声赞, 谭肖英*
华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070

第一作者: 邹峰余, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: zoufengyu@webmail.hzau.edu.cn

摘要:

【目的】探究发酵棉籽粕对黄颡鱼生长性能、饲料表观消化率及肠道健康的影响。

【方法】实验设计3组饲料: 第一组饲料为基础饲料, 以鱼粉、豆粕等为主要蛋白源, 第二、三组饲料以70%基础饲料+30%未发酵棉籽粕/发酵棉籽粕组成, 饲料中添加三氧化二钼, 以便测定营养物质和能量的消化率。饲料配好后, 投喂初始体重为(6.20±0.2)g的黄颡鱼, 实验持续7周。测定指标包括黄颡鱼生长性能、营养物质(包括能量)消化率、肠道组织学、抗氧化酶活性和基因表达, 以及炎症因子和紧密连接相关基因表达等。

【结果】发酵棉籽粕组的黄颡鱼WGR(167.35%)、SGR(2.01)相比于未发酵棉籽粕组(148.76%和1.86)显著上升。此外, 固态发酵后, 黄颡鱼对棉籽粕干物质消化率由35.64%提升至82.10%, 粗蛋白消化率由77.31%提升至90.04%, 粗脂肪消化率由68.53%提升至88.03%, 能量消化率由48.43%提升至86.24%。相较于未发酵棉籽粕, 发酵棉籽粕显著提升肠道组织的肠绒毛高度以及宽度, 显著降低促炎因子(il6、il8)的mRNA表达, 显著升高抗炎因子(tgf-β)的mRNA表达水平, 显著升高抗氧化相关基因(*cat*、*sod1*、*sod2*、*gpx1*、*keap1*)的mRNA表达, 降低*nrf2*的mRNA表达, 显著提升总抗氧化能力(T-AOC)、CAT以及T-SOD酶活, 降低MDA含量, 显著升高紧密连接相关基因(*zo1*、*zo2*、*claudin1*、*claudin3*、*claudin4*、*occludin*)的mRNA表达水平。此外, 显著降低凋亡诱导相关基因(*caspase3*、*caspase9*、*p53*)的mRNA表达, 显著升高抗凋亡基因*bcl2*的mRNA表达, 显著降低Caspase3、Caspase9的酶活性。

【结论】固态发酵棉籽粕能显著提高黄颡鱼的生长性能以及对棉籽粕的营养物质消化率, 显著缓解棉籽粕对黄颡鱼肠道健康的负面影响。

关键词:黄颡鱼; 棉籽粕; 生长性能; 表观消化率; 肠道健康



通信作者: 谭肖英, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: txy7933@mail.hzau.edu.cn

资助项目: 国家重点研发项目(2024YFD2402000)

收稿日期: 2023-05-14

修回日期: 2023-10-24

文章编号:

1000-0615(2025)03-039613-14

中图分类号: S 963.31

文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

鱼粉(fish meal, FM)一直以来都是水产养殖饲料的最佳蛋白质来源, 具有比例平衡的必需氨基酸、脂肪酸和矿物质等营养物质, 碳水化合物含量低, 不含可导致低适口性和低消化率的抗营养因子^[1]。然



而, 全球鱼粉产量目前不能满足快速增长的水产养殖饲料需求, 鱼粉价格正在稳步上涨^[2-3]。因此, 寻找合适的替代蛋白源是当务之急。在水产养殖饲料中, 人们研究多种蛋白源替代鱼粉。其中, 植物蛋白因其价格低廉、蛋白质含量高以及氨基酸组成较为平衡而备受关注^[4]。

棉籽粕 (cottonseed meal, CSM) 是一种传统的重要植物蛋白来源^[5]。与其他植物蛋白源相比, 具有产量高、蛋白质含量高且价格较低等明显优势。目前, 已作为一种植物蛋白源广泛用于水生动物的饲料配方中, 如鲫 (*Carassius auratus*)^[6] 和尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[7]。然而, 对棉籽粕、棉籽浓缩蛋白 (CPC) 和游离棉酚在水产养殖中的一些研究已获得类似的结果, 即当替代比例过高时, 往往会损害鱼类的生长性能, 推测主要原因是抗营养因子影响营养物质的消化和吸收, 同时产生毒性作用, 最终损害鱼类的生长性能和健康状态^[8-11]。

发酵棉籽粕是通过将棉籽粕与芽孢杆菌或真菌等有益微生物混合进行发酵而得到的^[12-13]。在发酵过程中, 抗营养因子含量下降, 而蛋白质大分子被微生物分泌的酶快速水解成小分子多肽^[12-14]。然而, 目前在水产养殖业中, 对棉籽粕和发酵棉籽粕的比较研究还很少。

黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 是中国重要的淡水养殖鱼类^[15]。由于其肉质鲜嫩以及高存活率, 具有广阔的市场前景。然而, 目前, 鱼粉价格的上涨和资源的短缺成为限制其在水产饲料中广泛应用的主要因素。因此, 寻找合适的植物蛋白源来替代饲料中的鱼粉, 以此降低成本, 提高经济效益, 对促进黄颡鱼养殖业的发展具有重要意义。本研究评价了发酵棉籽粕对黄颡鱼生长性能、消化率及肠道健康状况的影响。

1 材料与方法

1.1 固态发酵棉籽粕的制备

棉籽粕发酵所接种菌液体积为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*, 3%) : 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*, 3%) : 植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*, 6%) = 1 : 1 : 2, 其中各菌种的活菌数为枯草芽孢杆菌 (2.08×10^8 CFU/mL)、酿酒酵母 (1.25×10^7 CFU/mL)、植物乳杆菌 (1.36×10^8

CFU/mL), 添加灭菌水使得初始水分含量为 60%, 植酸酶添加量为 0.1%, 纤维素酶添加量为 1.25%, 放入恒温振荡培养箱中, 发酵温度 37 °C, 先好氧发酵 48 h (采用 3 层透气膜封口, 保持物料蓬松, 每 12 h 搅拌 1 次), 再厌氧发酵 (3 层透气膜加 1 层保鲜膜封口, 将物料压实, 且不搅拌) 48 h, 发酵完成后, 收集发酵原料, 55 °C 烘干 24 h, 粉碎机粉碎至过 40 目筛, 放至 -20 °C 保存。其中枯草芽孢杆菌购自中国典型培养物保藏中心 (武汉); 酿酒酵母和植物乳杆菌均由华中农业大学生命科学技术学院发酵与酶工程教研室惠赠。

1.2 饲料配制

共设计 3 组饲料, 分别是 1 组基础饲料以及 2 组实验饲料, 基础饲料配制参考本实验室之前所设计的饲料配方^[16], 以鱼粉、鸡肉粉、豆粕为主要蛋白质来源, 添加 0.5% Y_2O_3 作为外源指示剂, 实验饲料由 70% 基础饲料和 30% 待测原料组成, 2 种待测原料分别为棉籽粕和发酵棉籽粕。将原料研磨并通过 60 目筛网过筛, 然后彻底混合并用实验室压粒机制成颗粒。所有饲料均在 60 °C 下烘干并在 -20 °C 下储存。实验饲料的配方及营养组分见表 1。

1.3 饲养管理以及粪便收集

实验用黄颡鱼购于武汉市当地渔场, 初始体重为 (6.20 ± 0.2) g。所有实验程序均遵循华中农业大学关于实验动物使用的伦理规范, 并经华中农业大学伦理委员会批准。正式实验前先暂养于华中农业大学水产养殖基地养殖系统 (300 L 养殖桶, 直径 75 cm, 高 75 cm) 中, 药浴消毒, 并用基础组饲料驯养 2 周, 让其适应实验条件与实验饲料。本实验在室内静水养殖系统中进行。将所有实验鱼分别放养于 9 个养殖桶 (容积 300 L) 中, 每个养殖桶中放养 20 尾无畸形、标准体型的鱼, 水源为曝气自来水。每种饲料设 3 个重复, 将饲料完全随机地分配到 3 个养殖桶中。每天按照体重的 2%~3% 作为投喂量, 并根据鱼体质量变化调整投喂量, 每天投喂 2 次 (8:30、16:30)。每天记录摄食量和死亡数量。喂食期间, 每天喂食前吸出粪便及残饵, 然后换水 1/3, 并及时监测水质变化。整个实验期间, 水温为 28.3~29.4 °C, pH 为 8.50 ±

表 1 饲料配方和成分分析

原料 ingredients		对照组 control group	未发酵组 unfermented group	发酵组 fermented group
鱼粉 fish meal		250	175	175
鸡肉粉 chicken meat meal		200	140	140
豆粕 soybean meal		130	91	91
小麦面粉 wheat starch		200	140	140
玉米蛋白粉 corn gluten meal		50	35	35
玉米油 corn oil		18	12.60	12.60
鱼油 fish oil		20	14	14
抗坏血酸 ascorbyl-2-polyphosphate		10	7	7
多维 vitamin premix		5	3.50	3.50
多矿 mineral premix		5	3.50	3.50
胆碱 chloride		5	3.50	3.50
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O		10	7	7
Y ₂ O ₃		0.50	0.35	0.35
纤维素 cellulose		96.50	67.55	67.55
未发酵棉籽粕 unfermented cottonseed meal		0	300	0
发酵棉籽粕 fermented cottonseed meal		0	0	300
组分分析 proximate analysis				
干物质/% dry matter		92.62	91.54	92.12
粗蛋白/% crude protein		42.33	44.83	45.94
粗脂肪/% crude lipid		10.84	8.71	8.01
总能量/(kJ/g) total energy		20.15	20.16	20.16
游离棉酚/(mg/kg) free gossypol		--	162.56	95.79
植酸/(mg/g) phytic acid		3.26	27.49	19.27
单宁/(mg/g) tannins		0.79	6.39	3.62

注: 多维和多矿参照Luo等^[17], --代表未检出。多维(mg/kg), 视黄醇乙酸酯 3, 维生素D₃ 0.025, 维生素E 30, 维生素K₃-MNB 7, 盐酸硫胺 6, 核黄素 3, 盐酸吡多醇片 12, D-泛酸钙 30, 维生素B₃ 50, 维生素B₇ 1, 叶酸 6, 维生素B₁₂ 0.03。多矿(mg/kg), FeSO₄·7H₂O 40, ZnSO₄·7H₂O 40, CuSO₄·5H₂O 2, MnSO₄·H₂O 8, CaO₃·6H₂O 3, Na₂SeO₃ 0.05, CoSO₄ 0.05。

Notes: Vitamin premix and Mineral premix according to Luo *et al.* ^[17]; --, not detectable. Vitamin premix (mg/kg), retinyl acetate 3; cholecalciferol 0.025, dl- α -tocopheryl acetate 30, menadione nicotinamide bisulfite 7, thiamine hydrochloride 6, riboflavin 3, pyridoxine hydrochloride 12, D-calcium pantothenate 30, niacin 50, biotin 1, folic acid 6, cyanocobalamin 0.03. Trace mineral premix (mg/kg), FeSO₄·7H₂O 40, ZnSO₄·7H₂O 40, CuSO₄·5H₂O 2, MnSO₄·H₂O 8, CaO₃·6H₂O 3, Na₂SeO₃ 0.05, CoSO₄ 0.05.

0.30, 其间不断充气增氧, 保持溶解氧含量不低于 5 mg/L, 氨氮浓度不高于 0.1 mg/L, 亚硝酸盐浓度不高于 0.005 mg/L。每 2 周和实验末对实验鱼进行称重。实验持续 7 周。在正式实验开始 1 周后, 开始收集粪便, 粪便收集采用虹吸法, 每次投饵后 6 h 内, 每隔 2 h 收集 1 次粪便。通过虹吸管将粪便吸至装有筛绢网的盆中过滤, 用 5 mL 胶头滴管吸取新鲜、成型、饱满及包膜完好的粪便颗粒, 吸水纸吸干表面水分后放入离心管内。收集的粪便, 置于 60 °C 烘箱中烘干, 研磨粉碎后, 密封于自封袋中并

于-20 °C 冰箱保存, 直到粪便样品够分析用。

1.4 样品采集

在为期 7 周的饲喂实验结束时, 所有鱼在取样前禁食 24 h。鱼用 MS-222(100 mg/L 水) 麻醉, 然后计数和称重以确定存活率、增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR)。在得到每缸鱼的最终总重量后, 每缸随机抽取 9 尾鱼, 称重、测量并在冰上解剖, 得到肝脏、肠道和内脏样本, 用于计算脏体比 (VSI)、肝体比 (HSI) 以及肠体比 (ISI)。其中 6 尾鱼的肠道组织在液氮中迅速冷冻并储存在-80 °C 以进行 RNA 提取,

另外 3 尾鱼的肠道组织用 4% 多聚甲醛固定, 用于组织学观察。为分析肠道相关酶活性, 每缸再随机抽取 6 条鱼, 收集肠道组织, 立即液氮冷冻, -80°C 保存备用。

1.5 计算公式

各类生长指标计算公式:

增重率 (WGR, %)=(末体重-初体重)/初体重 $\times 100\%$

特定生长率 (SGR, %/d)=(ln 末体重-ln 初体重)/ $t\times 100\%$

饲料系数 (FCR)=饲料摄入量/鱼体增重

摄食率 (FI)=饲料摄入量/[$(\text{末体重}+\text{初体重})/2\times t$] $\times 100\%$

成活率 (%)=末鱼数量/初鱼数量 $\times 100\%$

肥满度 (CF, g/cm^3)=鱼体重/体长 $^3\times 100$

肝体比 (HSI, %)=肝脏重/鱼体重 $\times 100\%$

脏体比 (VSI, %)=内脏重/鱼体重 $\times 100\%$

肠体比 (ISI, %)=肠道重/鱼体重 $\times 100\%$

1.6 消化率测定

水分测定采用 105°C 烘箱干燥恒重法。采用凯氏定氮法 (K9860 全自动凯氏定氮仪) 测定样品总氮含量, 将测定结果乘以 6.25 即得粗蛋白含量; 粗脂肪含量采用索氏抽提法, 提取有机试剂为乙醚; 总能的测定采用热量氧弹仪 (6200 Isoperibol Calorimeter) 进行; 采用电感耦合等离子发射光谱仪测定饲料及粪便中的钷含量。消化率计算方法参照 Lee 等^[18]。以上每项测定 3 个平行。

1.7 肠道组织切片制作、染色及分析

石蜡切片及 H.E 染色参照 Wei 等^[19]。大致流程: 乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片 (厚度为 $5\sim 7\ \mu\text{m}$) 和染色。染色的过程: 二甲苯脱蜡-100%-50% 乙醇逐级复水-苏木精染色-流水冲洗返蓝-50%-95% 乙醇逐级脱水-伊红染色-二甲苯透明-中性树胶封片-镜检拍照。通过光学显微镜 (Olympus BX53, 日本) 对处理过的组织切片进行成像, 并通过 Image J (version 1.51, National Institute of Health, 美国) 进行形态学测量。

1.8 肠道酶活性测定

总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性和总抗氧化能力 (T-AOC) 采用

南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定, 丙二醛 (MDA) 含量、Caspase3 和 Caspase9 酶活性均采用碧云天生物技术的商业化试剂盒进行测定, 操作过程参照试剂盒说明书。

1.9 基因表达分析

根据文献^[19], 总 RNA 的提取方法参照 Invitrogen 的 TRIzol 说明书进行。通过琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop ND-2000 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 测定总 RNA 的浓度和纯度。以提取的总 RNA 为模板, 采用 TaKaRa 反转录试剂盒合成第一链 cDNA, 然后在巢式 PCR 仪上进行反转录反应。反应结束后, 将产物保存于 -20°C 备用。采用 SYBR[®] Premix Ex TaqTM II 试剂盒 (TaKaRa) 在 MyiQTM 2 Two-Color Real-Time PCR Detection System 分析检测仪 (Bio-Rad) 上进行实时荧光定量 PCR (qPCR), 检测黄颡鱼组织的基因表达, 荧光定量引物见表 2。本实验选用双内参, 用 GeNorm 进行标准化, 选择 8 种管家基因 (*18s rRNA*、*b2m*、*ubce*、*tuba*、*gapdh*、*rpl7*、*tbp*、*elfa*) 对它们进行转录水平稳定性检测。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算相对表达水平。

1.10 统计分析

采用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行统计分析, 所有数据结果均用平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE, $n=3$) 表示。使用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行不同组间指标差异性统计检验, 若不同组间的差异显著, 则采用 Duncan 氏多重比较来检验不同处理组间的差异显著性, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生长性能、饲料利用及形体指标

3 组饲料喂养的黄颡鱼存活率无差异, 而未发酵棉籽组黄颡鱼的 WGR、SGR 等指标在 3 组中最低, 基础组最高, 发酵棉籽粕组次之; 未发酵棉籽粕组饲料系数最高, 发酵棉籽粕组次之, 基础组最低; 未发酵棉籽粕组肝体比最高, 基础组肠体比最低, 其他两组间无显著性差异; 脏体比和肥满度在三组间无显著差异 (表 3)。结果显示, 未发酵棉籽粕降低黄颡鱼的生长性能, 发酵棉籽粕添加到饲料中可显著提升黄颡鱼生长性能。

表 2 荧光定量 PCR 基因引物

Tab. 2 Primers used for quantitative real-time PCR

基因 gene	正向引物(5'-3') forward primer (5'-3')	反向引物(5'-3') reverse primer (5'-3')	基因编号 GenBank no.
<i>bcl2</i>	GAGTTCGGTAGCACCTTTG	AGGGGTGGAATATGGATGCT	XM027173525
<i>caspase3</i>	CTCATTGTGTTGCGTGTTC	CACTGGGATTTTCATCGAATTATCT	KY072821
<i>caspase9</i>	CACAGCACCAAGGCTAGATGA	TCCTGGAAATGTTGAGTAGGACA	KY053837
<i>p53</i>	TGGGAAAACGAAGAGCAAAT	ATCGGAGGTGACAGGGACA	HQ419002
<i>bax</i>	TGACCCCAGCCATAAGAACT	CGCCACCTTGGAGAACACTT	KY072819
<i>mdm2</i>	TTTTACCATGAAGGAGGTT	AAAGCTCGTGGTCTTTGAC	XM_027166056
<i>sod1</i>	CCTCAAAGGCACAGGAGAAG	AATCGGCAGTCACATTACCC	XM_027171881
<i>sod2</i>	TCATGCAGCTTACCATAGC	CTGTGGTTCTCTCCACCAT	XM_027166181
<i>gpx1</i>	GATCAGACAGAGGCGTGACA	GCTGAGCTCTGCTGTACGTG	MN062284
<i>cat</i>	CGTTTAGCCGCTACTGATCC	CTGGAATCAGGGGGTAGTCA	KX455919
<i>nrf2</i>	GTGAAGGGGAAACACAGA	GCTCGTCCATGTCAGAGTCA	KX455917
<i>keap1</i>	CGAATCGCATTGCTTAGTCA	CGGAACATAAAAGGTGGTGGA	XM_027133478
<i>occludin</i>	AGGAGGCTATGGCTCAAACA	CAAGGACAGAATCGCACAGA	XM_027155195
<i>claudin1</i>	CATCAGACGGCAGTTCTTCA	TGCTGGACCTCTGAACTCT	XM_027176967
<i>claudin3</i>	CATCTGGATGACCTGTGTGG	AATCATGACCTTTGCCTTGG	XM_027148913
<i>zo1</i>	ACTACGGCATGGAACCAG	CCTGGTTGTAGCCACGATT	XM_027173133
<i>zo2</i>	ATCGCAAAGCGAGAACCCTAA	ATGGGTACCCTGGGTGTA	XM_027162424
<i>il1β</i>	CTGTGTGTTGGGGATTGTG	GGGTATTCACCGACTCGAA	MF770571
<i>il6</i>	ATGCCTACCTAGAGCAGGA	GTGAAGCTGTGCAGAATGGA	XM_027176013
<i>il8</i>	GACTGCGATGCTTTGTGAAG	TCAGGCAGACCTTCATTCT	KY218792
<i>tnf-β</i>	CGGTGGTCATCTCACACATC	CAGCTCAAACACCCCAAAT	XM_027146388
<i>il10</i>	TCCTGCTTTCTTGTGACA	GAATAGTGCGGTGTCCAGGT	KY218793
<i>tgf-β</i>	ACAGGTCCAAAGTTGATGG	CACATCCACAAGAAGCTGGA	XM_027154377
<i>tnf-α</i>	TCTGCTTACCATCTTCGTG	GGCACCAGCTTCTTGACTTC	XM_027165847
<i>rpl7</i>	GGCAAATGTACAGGAGCGAG	GCCTTGTGAGCTTGACGAA	KP938522
<i>tuba</i>	TCAAAGCTGGAGTCTCGGT	AATGGCCTCGTTATCCACCA	KP938526
<i>b2m</i>	GCTGATCTGCCATGTGAGTG	TGTCTGACACTGCAGCTGTA	KP938520
<i>ubce</i>	TCAAGAAGAGCCAGTGGAGG	TAGGGGTAGTCGATGGGGAA	KP938524
<i>tbp</i>	AGCAAAGAGTGAGGAGCAGT	ACTGCTGATGGGTGAGAACA	KP938525
<i>gapdh</i>	TTTCAGCGAGAGAGACCCAG	ATGACTCTCTGGCACCTCC	KP938521
18S rRNA	AGCTCGTAGTTGGATCTCGG	CGGGTATTCAGGCGAGTTG	KP938527
<i>elfa</i>	GTCTGGAGATGCTGCCATTG	AGCCTTCTTCAACGCTCT	KU886307

2.2 黄颡鱼对棉籽粕及发酵棉籽粕营养物质表观消化率

黄颡鱼对发酵棉籽粕的干物质、粗蛋白、粗脂肪、能量的消化率均显著高于未发酵棉籽粕(表4)。

2.3 肠道 H.E 染色

未发酵棉籽粕组相较于对照组, 肠道绒毛的长度和宽度都显著性下降, 说明肠道出现组织损伤。发酵棉籽粕组肠道绒毛高度及宽度相较于未发酵组都出现显著上升, 说明肠道损伤

表 3 发酵棉籽粕对黄颡鱼生长及饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of fermented cottonseed meal on growth and feed utilization of *P. fulvidraco*

项目 items	对照组 control group	未发酵组 unfermented group	发酵组 fermented group
IBW/(g/尾)	6.19±0.01	6.19±0.01	6.21±0.02
FBW/(g/尾)	17.76±0.18 ^c	15.41±0.13 ^a	16.61±0.14 ^b
成活率/% survival rate	100	100	100
WGR/%	186.93±2.64 ^c	148.76±1.77 ^a	167.35±1.79 ^b
SGR/(%/d)	2.15±0.02 ^c	1.86±0.01 ^a	2.01±0.01 ^b
FI/(%/d)	2.14±0.02	2.13±0.03	2.10±0.02
FCR	1.08±0.03 ^a	1.22±0.01 ^c	1.12±0.01 ^b
CF	1.54±0.04	1.55±0.03	1.58±0.02
VSI/%	4.98±0.09	4.90±0.11	5.10±0.05
ISI/%	1.13±0.01 ^a	1.26±0.05 ^b	1.30±0.04 ^b
HSL/%	1.22±0.08 ^a	1.44±0.05 ^b	1.18±0.03 ^a

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。
Notes: Different lowercase letters of peer data shoulder label indicate significant difference ($P<0.05$), the same below.

得到缓解 (图 1 和图 2)。

2.4 肠道炎症因子相关基因表达

在黄颡鱼肠道组织中, 发酵棉籽粕组 *il6*、*il8* 的 mRNA 表达水平显著低于未发酵棉籽粕组, *tgf-β* 的表达水平显著高于未发酵组 (图 3)。

2.5 肠道氧化应激相关基因表达及酶活性

在黄颡鱼肠道组织中, 发酵棉籽粕组 *cat*、*sod1*、*sod2*、*gpx1*、*keap1* 等抗氧化相关基因的

表 4 黄颡鱼对未发酵/发酵棉籽粕干物质、粗蛋白、粗脂肪和能量的表观消化率(干物质基础)

Tab. 4 Apparent digestibility of dry matter, crude protein, crude lipid and energy in unfermented and fermented cottonseed meal of yellow catfish (dry matter basis)

项目 items	未发酵组 unfermented group	发酵组 fermented group
干物质 dry matter	35.64±0.74 ^a	82.10±1.02 ^b
粗蛋白 crude protein	77.31±1.43 ^a	90.04±1.62 ^b
粗脂肪 crude lipid	68.53±1.21 ^a	88.03±0.83 ^b
能量 energy	48.43±0.47 ^a	86.24±0.82 ^b

mRNA 表达均显著高于未发酵棉籽粕组, *nrf2* 基因的 mRNA 表达水平显著低于未发酵棉籽粕组 (图 4)。发酵棉籽粕组 CAT 酶活性, T-SOD 活性以及总抗氧化能力均显著高于未发酵棉籽粕组, MDA 含量显著低于未发酵棉籽粕组 (图 5-a~d)。结果显示, 固态发酵能显著缓解棉籽粕对黄颡鱼肠道组织造成氧化损伤。

2.6 肠道紧密连接相关基因表达

在黄颡鱼肠道组织中, 发酵棉籽粕组 *claudin1*、*claudin3*、*claudin4*、*occludin*、*zo1*、*zo2* 等紧密连接相关基因的 mRNA 表达水平均显著高于未发酵棉籽粕组 (图 6)。

2.7 肠道凋亡相关基因表达及酶活性影响

在黄颡鱼肠道组织中, 发酵棉籽粕组 *caspase3*、*caspase9* 以及 *p53* 基因的 mRNA 表达水

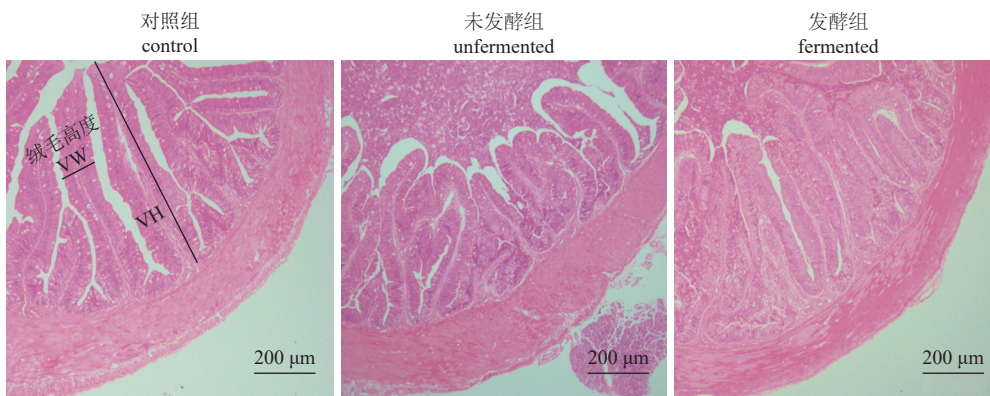


图 1 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后的黄颡鱼肠道组织结构的 H.E 染色切片

VW. 肠道绒毛宽度; VH. 肠道绒毛高度。

Fig. 1 H.E staining slices of intestinal structure of *P. fulvidraco* after replacement of fish meal with cottonseed meal and fermented cottonseed meal

VW. intestinal villous width; VH. intestinal villous height.

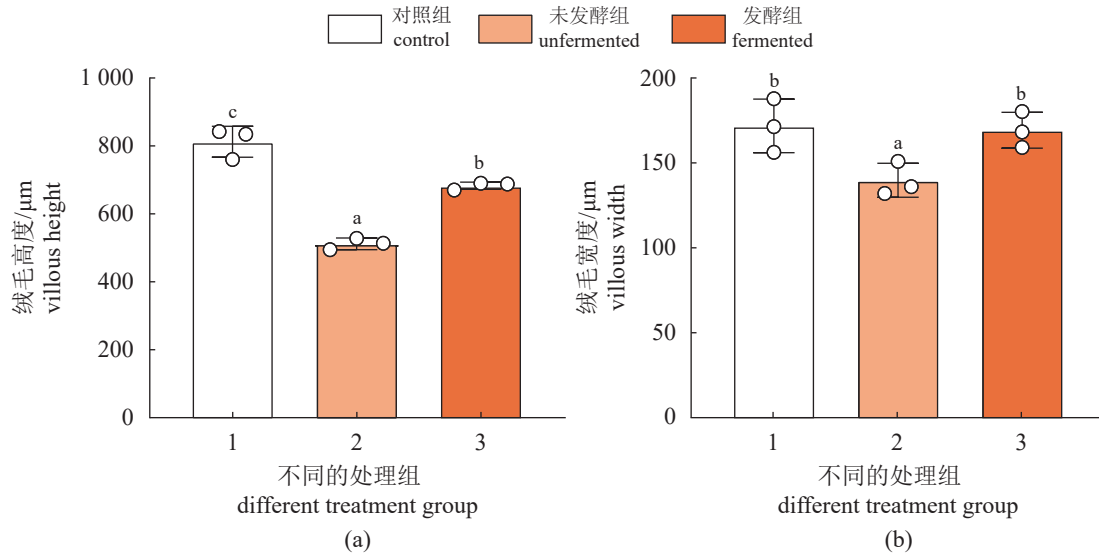


图2 肠道组织 H.E 染色切片的定量分析

(a) 肠道绒毛高度。(b) 肠道绒毛宽度。不同字母表示差异显著, $P < 0.05$, 下同。

Fig. 2 Quantitative analysis of H.E staining slices of intestinal tissue

(a) the parameter of intestinal mucosal fold height; (b) the parameter of intestinal mucosal fold width. Different letters indicate significant different, $P < 0.05$, the same below.

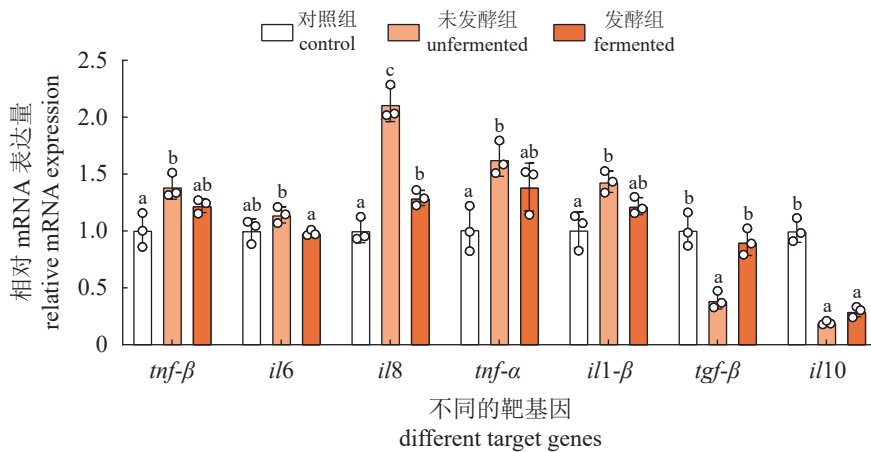


图3 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后对黄颡鱼肠道炎症因子相关基因表达影响

不同字母表示不同处理组之间差异显著, $P < 0.05$, 下同。

Fig. 3 Effects of cottonseed meal and fermented cottonseed meal on expression of genes associated with inflammatory factors in the intestine of *P. fulvidraco*

Different letters indicate significant difference between different treatment groups, $P < 0.05$, the same below.

平均显著低于未发酵组, 而 *bcl2* 基因的表达水平则是显著高于未发酵组 (图 7)。同时, Caspase3、Caspase9 的酶活性也与 *caspase3* 等凋亡诱导基因的表达水平趋势一致 (图 8-a~b)。结果显示, 将棉籽粕进行发酵后可以缓解肠道凋亡的产生。

3 讨论

以往的研究表明, 当在饲料中使用高比例

的棉籽粕和菜籽粕混合替代鱼粉时, 会导致黄颡鱼生长性能显著下降, 饲料系数增加^[16], 这与本研究得到的结果一致。此外, 也有类似的研究表明, 高水平的植物蛋白源替代会对鱼类的生长性能造成损害, 这可能是由于抗营养因子和氨基酸失衡所导致^[10]。同时, 本研究发现固态发酵可以显著缓解棉籽粕对黄颡鱼生长性能的损害, 降低饲料系数, 其原因可能是游离

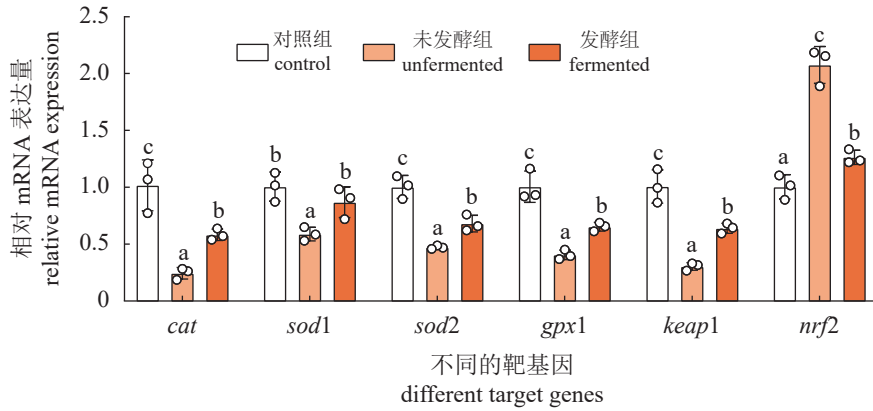


图 4 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后对黄颡鱼肠道氧化应激相关基因表达的影响

Fig. 4 Effects of cottonseed meal and fermented cottonseed meal on expression of genes associated with oxidative stress in the intestinal of *P. fulvidraco*

棉酚含量的降低。

作为本研究的一个重要发现, 与棉籽粕组

相比, 发酵棉籽粕组显著提高了黄颡鱼对干物

质、粗蛋白、粗脂肪和能量的表观消化率。

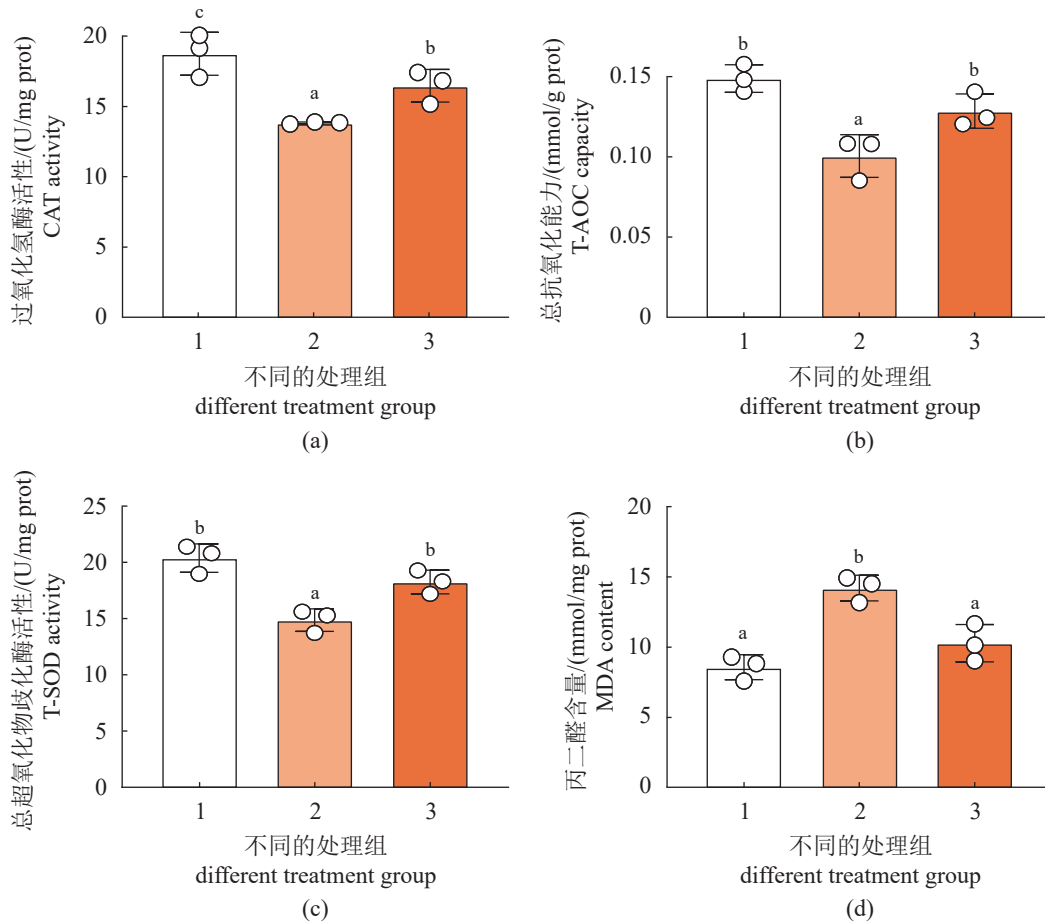


图 5 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后对黄颡鱼肠道氧化应激相关酶活性的影响

(a) 过氧化氢酶活性; (b) 总抗氧化能力; (c) 总超氧化物歧化酶活性; (d) 丙二醛含量。

Fig. 5 Effects of cottonseed meal and fermented cottonseed meal on enzyme activities associated with oxidative stress in the intestinal of *P. fulvidraco*

(a) CAT activity; (b) T-AOC capacity; (c) T-SOD activity; (d) MDA content.

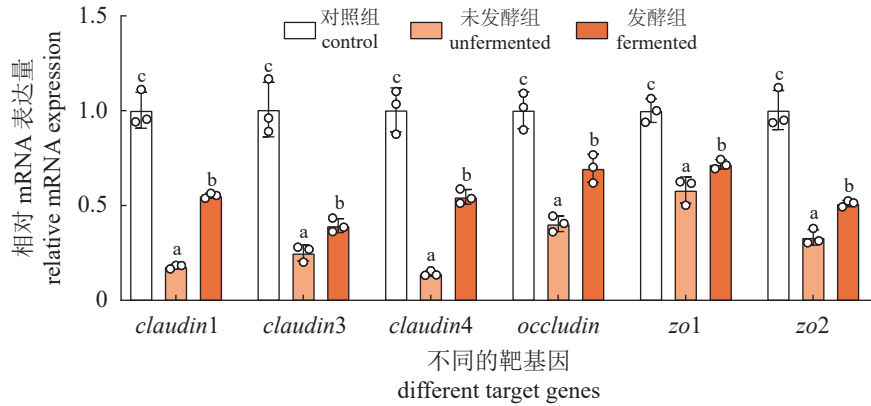


图 6 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后对黄颡鱼肠道紧密连接相关基因表达的影响

Fig. 6 Effects of cottonseed meal and fermented cottonseed meal on expression of genes associated with tight connection in the intestinal of *P. fulvidraco*

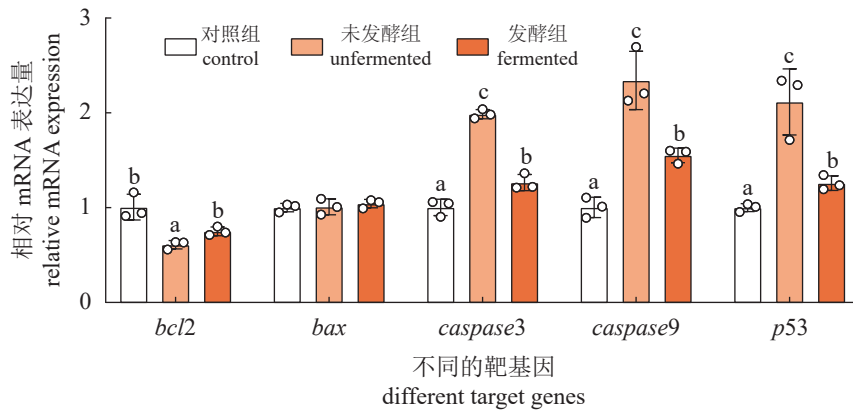


图 7 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后对黄颡鱼肠道凋亡相关基因表达的影响

Fig. 7 Effects of cottonseed meal and fermented cottonseed meal on expression of genes associated with apoptosis in the intestinal of *P. fulvidraco*

Lee 等^[18]测定虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 对棉籽粕干物质、粗蛋白和能量的表观消化率分别为 38.2%、78.9% 和 52.9%。时于惠等^[20]测定大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 对棉籽浓缩蛋白干物质、粗蛋白和能量消化率分别为 37.27%、79.97% 和 43.25%，与本研究黄颡鱼对棉籽粕的营养物质表观消化率相近。干物质表观消化率低通常表明饲料中不可消化物质含量较高^[21]。之前的几项研究报告了植物蛋白的低消化率，并且干物质表观消化率与高纤维或抗营养因子呈负相关^[22-23]。发酵棉籽粕干物质消化率的显著提高可能是由于发酵降低了大分子碳水化合物的含量所致。粗蛋白消化率的提高可能与植酸含量降低有关^[24]。目前，关于鱼体对发酵棉籽粕消化率的研究较少。但据报道，固态发酵提高了棉籽粕营养物质的体外消化率^[25]，在底

物发酵过程中，微生物产生大量的代谢物，如小肽、有机酸^[12]以及消化酶，如蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶^[26]，这些酶对养殖动物的饲料消化率产生有利影响。综上所述，发酵棉籽粕营养物质消化率的提高可能主要与抗营养因子的减少和营养物质分子量的降低有关。

炎症通常可以通过促炎因子的上调和炎症抑制因子的下调来反映^[27-28]。在本研究中，棉籽粕组的肠道促炎因子的基因表达上调，炎症抑制因子基因表达下调。此外，肠绒毛高度和宽度减小，肠绒毛的形态通常可以反映炎症引起的肠组织损伤的严重程度^[3, 29]。因此，推测棉籽粕组黄颡鱼肠道组织产生炎症反应，这与本实验之前的研究结果相似^[16]。同样，Xie 等^[30]也发现，植物蛋白源可导致鱼类的肠道炎症以及组织学损伤。Li 等^[11]发现，用棉籽浓缩蛋白

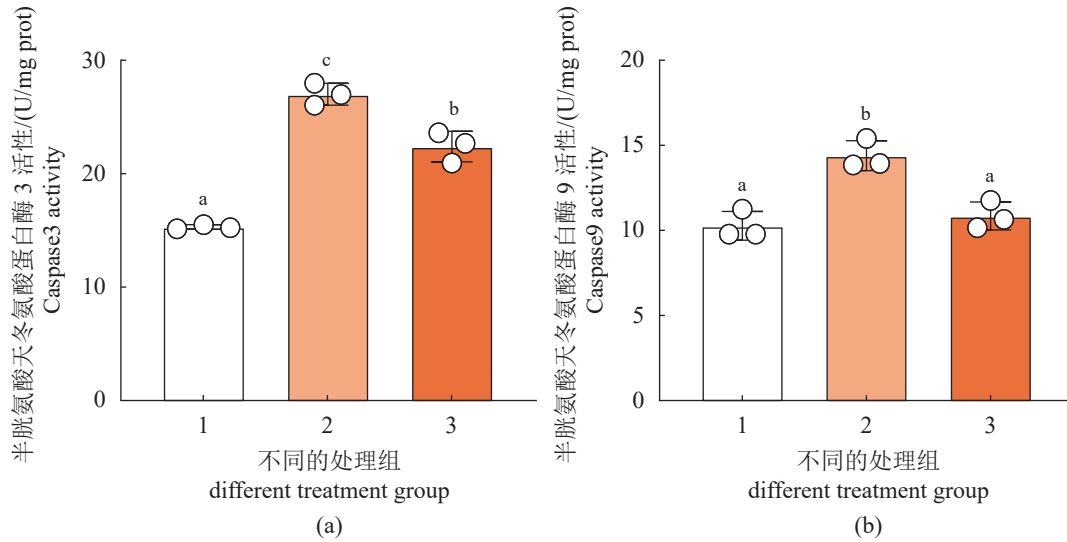


图 8 棉籽粕和发酵棉籽粕替代鱼粉后对黄颡鱼肠道凋亡相关酶活性的影响

(a) Caspase3 酶活性; (b) Caspase9 酶活性。

Fig. 8 Effects of cottonseed meal and fermented cottonseed meal on enzyme activities associated with apoptosis in the intestinal of *P. fulvidraco*

(a) Caspase3 activity; (b) Caspase9 activity.

和外源性棉酚替代豆粕降低了尼罗罗非鱼肠绒毛的高度和宽度, 上调促炎因子的基因表达, 反映炎症的产生。发酵棉籽粕组肠道组织炎症反应有所缓解, 表现为肠绒毛高度和宽度增加, 促炎因子基因表达下调, 炎性抑制因子基因表达上调。金红春^[31]发现, 与棉籽粕相比, 发酵棉籽粕显著降低了青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 血清和肝脏中谷草转氨酶的活性。此外, 类似发酵豆粕等发酵植物蛋白表现出在鱼类肠道炎症缓解作用^[32]。推测固态发酵可通过降低棉籽粕中抗营养因子的含量, 从而有效缓解黄颡鱼肠道组织的炎症反应和组织损伤。

T-AOC、SOD、CAT 和 GPX 是酶促抗氧化防御系统的重要组成部分, 它们的活性直接关系到生物体的抗氧化能力^[33]。丙二醛 (MDA) 是生物体内脂质过氧化的最终产物, 其含量通常可以反映机体氧化损伤的严重程度^[34]。棉籽粕组肠组织抗氧化酶活性及基因表达水平显著降低, 丙二醛含量显著升高。其他类似的研究表明, 棉籽粕和菜籽粕中的抗营养因子, 如游离棉酚、植酸和单宁, 会损害鱼类的抗氧化功能^[35-36]。同时, 有研究表明, 外源棉酚可以对尼罗罗非鱼的肠道造成氧化损伤^[37]。而在发酵棉籽粕组, 这种负面影响明显减轻, 抗氧化相关基因表达和酶活性增加, MDA 含量降低。在

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 幼虾的饲料中使用发酵棉籽粕替代豆粕可以提高其抗氧化能力^[38]。同时, 其他许多类似的研究表明, 植物蛋白源的发酵可以减轻对机体造成的氧化损伤, 例如与豆粕相比, 发酵豆粕可以显著提高大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 的总抗氧化能力和抗氧化相关酶活性, 降低血清中 MDA 的含量^[32], 同样, 在中国花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 中, 发酵豆粕显著增强了血清的抗氧化活性和免疫力^[39]。因此, 推测固态发酵降低了棉籽粕中游离棉酚、单宁、植酸等抗营养因子的含量, 从而提高了机体抗氧化能力, 有利于维持抗氧化系统的动态平衡。因此, 固态发酵是对抗植物蛋白源引起的氧化损伤的有效方法。

紧密连接蛋白是生物机体肠道物理保护中十分关键的组成成分, 主要由三类蛋白组成—调节分子 (occludin)、跨膜蛋白 (claudins) 以及闭锁小带蛋白 (ZO)^[40], 是将肠道上皮相邻细胞紧密联系的重要部分, 有助于细胞空隙的填充以及对外来物质的管控及阻挡作用, 构成肠上皮细胞与外界物质交换的管控机制^[41]。肠道的完整性以及受损程度, 通常可以由紧密连接蛋白的基因表达来反映。在本研究中, 未发酵棉籽粕组的紧密连接蛋白的 mRNA 表达均出现显著性下降。与实验室之前研究类似, 王开卓^[42]

在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 饲料中添加棉酚, 发现草鱼肠道紧密连接被破坏, 表现在紧密连接蛋白基因表达随着棉酚添加量上升而下调, 在草鱼肠细胞中进一步验证, 发现了相同的结果, 表明棉酚能通过影响紧密连接蛋白的基因表达从而破坏肠道细胞间结构的完整性。在本研究中, 发酵棉籽粕组相较于未发酵组, 紧密连接蛋白基因均出现显著性上调, 同时结合炎症反应及抗氧化能力进行分析, 说明微生物发酵能降低棉籽粕对黄颡鱼肝脏及肠道造成的损伤, 改善其健康状况, 并且目前推测原因主要是通过降低其中抗营养因子含量, 然而是否存在其他机制还需进一步探究。

有研究显示, 当生物机体产生严重的炎症反应及氧化损伤会诱导组织细胞产生凋亡^[43]。在本研究中, 未发酵棉籽粕组的黄颡鱼肠道凋亡诱导基因 (*caspase3*、*caspase9*、*p53*) 呈现上调趋势, 并且 *Caspase3*、*Caspase9* 的酶活性也出现升高, 据此推测未发酵棉籽粕组的黄颡鱼肠道细胞发生了凋亡。张孟丹^[44]用醋酸棉酚对鲤 (*Cyprinus carpio*) 进行连续口灌, 发现鲤肝脏中凋亡诱导相关基因表达显著上调, 抗凋亡蛋白 *bcl-2* 显著下调。Li 等^[37]以及王开卓^[42]发现棉酚会诱导尼罗罗非鱼和草鱼肠道组织细胞产生凋亡, 与本研究结果相似。本研究首次发现, 固态发酵能够显著缓解棉籽粕诱导的黄颡鱼肠道组织中的细胞凋亡, 究其原因可能是降低了抗营养因子含量, 缓解了组织炎症以及氧化损伤, 从而缓解了细胞凋亡的产生。

4 结论

综上所述, 固态发酵显著提高了黄颡鱼对棉籽粕营养物质的表观消化率, 减轻了棉籽粕对生长性能的伤害, 显著减轻了棉籽粕诱导的黄颡鱼肠道组织的炎症、氧化损伤以及细胞凋亡等不利影响, 是改善棉籽粕饲用品质的一种十分有前景的方法。

参考文献 (References):

- [1] Gatlin D M, Barrows F T, Brown P, *et al.* Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review [J]. *Aquaculture Research*, 2007, 38(6): 551-579.
- [2] Hardy R W. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal [J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(5):770-776.
- [3] Gu M, Jia Q, Zhang Z. Soya-saponins induce intestinal inflammation and barrier dysfunction in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 77: 264-272.
- [4] Al-Thobaiti A, Al-Ghanim K, Ahmed Z, *et al.* Impact of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources on the growth performance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets [J]. *Brazilian Journal of Biology*, 2017, 78: 525-534.
- [5] Robinson E H. Use of cottonseed meal in aquatic animal diets: a review [J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2006, 68(1):14-22.
- [6] Gui D, Liu W, Shao X, *et al.* Effects of different dietary levels of cottonseed meal protein hydrolysate on growth, digestibility, body composition and serum biochemical indices in crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2010, 156(3-4): 112-120.
- [7] Dmsd E S, Gaber M M. Use of cottonseed meal supplemented with iron for detoxification of gossypol as a total replacement of fish meal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets [J]. *Aquaculture Research*, 2015, 35(9): 859-865.
- [8] Bu X, Wang Y, Chen F, *et al.* An evaluation of replacing fishmeal with rapeseed meal in the diet of *Pseudobagrus ussuriensis*: growth, feed utilization, nonspecific immunity, and growth-related gene expression [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2018, 49(6): 1068-1080.
- [9] Wang K Z, Feng L, Jiang W D, *et al.* Dietary gossypol reduced intestinal immunity and aggravated inflammation in on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 814-831.
- [10] Mohammadi M, Imani A, Farhangi M, *et al.* Replacement of fishmeal with processed canola meal in diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): growth performance, mucosal innate immunity, hepatic oxidative status, liver and intestine histology [J]. *Aquaculture*, 2020(518): 734824.
- [11] Li W J, Wu H X, Zhang L, *et al.* Effects of replacing soybean meal protein with cottonseed protein concentrate on the growth condition and intestinal health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27: 2436-2447.
- [12] Tang J W, Sun H, Yao X H, *et al.* Effects of replacement of soybean meal by fermented cottonseed meal on growth performance, serum biochemical parameters and immune function of yellow-feathered broilers[J]. *Asian-Australasian Journal of*

- Animal Sciences*, 2012, 25(3): 393.
- [13] Zhang W J, Xu Z R, Zhao S H, *et al.* Development of a microbial fermentation process for detoxification of gossypol in cottonseed meal [J]. *Animal Feed Science & Technology*, 2007, 135(1-2): 176-186.
- [14] Sun H, Tang J W, Yao X H, *et al.* Improvement of the nutritional quality of cottonseed meal by *Bacillus subtilis* and the addition of papain[J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2012, 14(4): 563-568.
- [15] Zhang M, Hou C, Li M, *et al.* Modulation of lipid metabolism in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) as affected by feeding frequency and environmental ammonia[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(1): 115-122.
- [16] Han Y K, Xu Y C, Luo Z, *et al.* Fish meal replacement by mixed plant protein in the diets for juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*: effects on growth performance and health status [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2022 (2022) 2677885: .
- [17] Luo Z, Tan X Y, Zheng J L, *et al.* Quantitative dietary zinc requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and effects on hepatic intermediary metabolism and antioxidant responses [J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1-2): 150-155.
- [18] Lee S H, Makc B, Rwh A, *et al.* Apparent digestibility of protein, amino acids and gross energy in rainbow trout fed various feed ingredients with or without protease [J]. *Aquaculture*, 2020, 524: 735270.
- [19] Wei X L, Hogstrand C, Chen G H, *et al.* Zn induces lipophagy via the deacetylation of Beclin1 and alleviates Cu-induced lipotoxicity at their environmentally relevant concentrations[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8): 4943-4953.
- [20] 时于惠, 祝书杰, 谭北平, 等. 大口黑鲈对六种非粮蛋白源的表观消化率 [J]. *水生生物学报*, 2022, 46(8): 1187-1196.
- Shi W H, Zhu S J, Tan B P, *et al.* Apparent digestibility of six new non-grain protein ingredients for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, 46(8): 1187-1196 (in Chinese).
- [21] Li M H, Oberle D F, Lucas P M. Apparent digestibility of alternative plant-protein feedstuffs for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) [J]. *Aquaculture Research*, 2013, 44(2): 282-288.
- [22] Zhou Q C, Yue Y R. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* [J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43(6): 806-814.
- [23] Luo Z, Tan X Y, Chen Y D, *et al.* Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. *Aquaculture*, 2008, 285(1-4): 141-145.
- [24] Ngandzali B O, Zhou F, Xiong W, *et al.* Effect of dietary replacement of fish meal by soybean protein concentrate on growth performance and phosphorus discharging of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17: 526-535.
- [25] Feng J, Liu X, Xu Z R, *et al.* The effect of *Aspergillus oryzae* fermented soybean meal on growth performance, digestibility of dietary components and activities of intestinal enzymes in weaned piglets [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 134(3-4): 295-303.
- [26] 和 小黑. 棉粕源枯草芽孢杆菌发酵饲料消化酶活性的研究 [D]. 乌鲁木齐: 石河子大学, 2014.
- He X H. A study on digestive enzymes activity of *Bacillus subtilis* fermented feed from cottonseed meal [D]. Urumqi: Shihezi University, 2014 (in Chinese).
- [27] Gaddi P J, Crane M J, Masahito K, *et al.* IL-10 mediated regulation of liver inflammation during acute murine cytomegalovirus infection [J]. *Plos One*, 2012, 7(8): 520-521.
- [28] Hart K M, Fabre T, Sciruba J C, *et al.* Type 2 immunity is protective in metabolic disease but exacerbates NAFLD collaboratively with TGF- β [J]. *Science Translational Medicine*, 2017(9) : 396.
- [29] Krogdahl A, Bakke-McKellep A M, Baeverfjord G. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, 9(6): 361-371.
- [30] Xie M, Xie Y, Li Y, *et al.* The effects of fish meal replacement with ultra-micro ground mixed plant proteins (uPP) in practical diet on growth, gut and liver health of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 19: 100558.
- [31] 金红春. 微生物发酵脱毒棉粕及在青鱼养殖上的利用研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011.
- Jin H C. Studies on the microbial fermentation detoxification cottonseed meal and used on breeding black carp [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [32] Li C Q, Zhang B, Zhou H H, *et al.* Beneficial influences of dietary *Aspergillus awamori* fermented soybean meal on oxidative homeostasis and inflammatory response in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 93: 8-

- 16.
- [33] Martinez A, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2005, 15: 75-88.
- [34] Ding Z, Zhang Y, Ye J, *et al.* An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diet of *Macrobrachium nipponense*: growth, nonspecific immunity, and resistance to *Aeromonas hydrophila*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(1): 295-301.
- [35] Burel C, Boujard T, Kaushik S J, *et al.* Effects of rapeseed meal-glucosinolates on thyroid metabolism and feed utilization in rainbow trout[J]. *General & Comparative Endocrinology*, 2001, 124(3): 343-358.
- [36] Chen A J, Ge X P, Lian X Q. An evaluation of replacing fish meal with cottonseed meal in the diet of juvenile ussuri catfish *Pseudobagrus ussuriensis*: growth, antioxidant capacity, non-specific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* [J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 829-837.
- [37] Li W J, Zhang L, Wu H X, *et al.* Intestinal microbiota mediates gossypol-induced intestinal inflammation, oxidative stress, and apoptosis in fish[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022(70): 6688-6697.
- [38] Han F L, Qian J Z, Qu Y Y, *et al.* Partial replacement of soybean meal with fermented cottonseed meal in a low fishmeal diet improves the growth, digestion and intestinal microbiota of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 20: 27.
- [39] Rahimnejad S, Lu K, Wang L, *et al.* Replacement of fish meal with *Bacillus pumillus* SE5 and *Pseudozyma aphidis* ZR1 fermented soybean meal in diets for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 987-997.
- [40] Peterson L W, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2014, 14(3): 141-153.
- [41] Shen L, Weber C R, Raleigh D R, *et al.* Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo[J]. *Annual Review of Physiology*, 2011, 73(1): 283.
- [42] 王开卓. 棉酚对草鱼肠道结构和免疫屏障的作用及其机制 [D]. 成都: 四川农业大学, 2019.
- Wang K Z. Effects of gossypol on the intestinal structure and immune barrier and the related mechanisms in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [43] Zhang J, Xu Q, Ma D. Inhibition of thioredoxin reductase by natural anticancer candidate β -lapachone accounts for triggering redox activation-mediated HL-60 cell apoptosis[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2022, 180: 244-252.
- [44] 张孟丹. 醋酸棉酚对鲤肝脏毒性及致毒机理的研究 [D]. 新乡: 河南师范大学, 2019.
- Zhang M D. The toxicity and mechanism of hepatotoxicity induced by gossypol acetate in *Cyprinus carpio* [D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2019 (in Chinese).

Effects of fermented cottonseed meal on growth performance, apparent digestibility and intestinal health of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

ZOU Fengyu, JIA Bingyu, LUO Zhi, LIU Zhibo, KE Jiang,
LIU Shengzan, TAN Xiaoying*

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: To investigate the effects of fermented cottonseed meal on the apparent digestibility of diets and intestinal health in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*), three dietary groups were designed. The first group consisted of a basic diet, with fish meal and soybean meal as the primary protein sources. The second and third groups were composed of 70% basic diet supplemented with 30% unfermented or fermented cottonseed meal, respectively. The weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) of *P. fulvidraco* fed the fermented cottonseed meal diet were significantly higher than those of fish fed the unfermented cottonseed meal diet. Solid-state fermentation of cottonseed meal significantly enhanced its digestibility in *P. fulvidraco*, with dry matter digestibility increasing from 35.64% to 82.10%, crude protein digestibility from 77.31% to 90.04%, crude fat digestibility from 68.53% to 88.03%, and energy digestibility from 48.43% to 86.24%. Compared with unfermented cottonseed meal, the fermented meal significantly increased intestinal villus height and width, decreased mRNA expression of pro-inflammatory factors (*il6* and *il8*), and increased mRNA expression of anti-inflammatory factor *tgf-β*. Additionally, the fermented meal significantly increased mRNA expression of antioxidant-related genes (*cat*, *sod1*, *sod2*, *gpx1*, and *keap1*), while decreasing *nrf2* mRNA expression. Total antioxidant capacity (T-AOC), catalase (CAT), and total superoxide dismutase (T-SOD) activities were significantly elevated, and malondialdehyde (MDA) content was reduced. The mRNA expression levels of tight junction-related genes (*zo1*, *zo2*, *claudin1*, *claudin3*, *claudin4*, and *occludin*) were also significantly increased. Furthermore, mRNA expression of apoptosis-related genes (*caspase3*, *caspase9*, and *p53*) was significantly decreased, while the mRNA expression of the anti-apoptosis protein *bcl2* was significantly elevated, and enzyme activities of Caspase3 and Caspase9 were significantly reduced. In conclusion, solid-state fermentation of cottonseed meal can significantly improve growth performance and nutrient digestibility in *P. fulvidraco* and mitigate the adverse effects of cottonseed meal on intestinal health.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; cottonseed meal; growth performance; apparent digestibility; intestinal health

Corresponding author: TAN Xiaoying. E-mail: txy7933@mail.hzau.edu.cn

Funding projects: National Key Research and Development Program of China (2024YFD2402000)