

文章编号: 1000-0615(2017)05-0734-12

DOI: 10.11964/jfc.20160810517

暗纹东方鲀饲料中豆粕替代鱼粉的营养生理效应 及其与大豆抗原蛋白的相关性

孔纯¹, 华雪铭^{1,2*}, 杨璐¹, 刘韬¹, 杨景丰¹,
王坛¹, 王刚¹, 吴钊¹, 施永海³, 税春³, 苏美英⁴

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306;

3. 上海市水产研究所, 上海 200433;

4. 烟台南山学院工学院, 山东烟台 265713)

摘要: 选择体质量为(39.84±3.09)g暗纹东方鲀, 分为8组, 分别饲喂等氮等能的高鱼粉组、低鱼粉组、低鱼粉发酵豆粕组、低鱼粉豆粕组4组实用饲料和添加大豆抗原蛋白的半纯化饲料(大豆抗原蛋白含量分别为0%、5%、8%和12.5%), 进行为期两个月的生长实验, 探讨大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀生长和生理生化的影响。结果显示, 用发酵豆粕替代部分鱼粉的低鱼粉发酵豆粕组生长性能显著优于低鱼粉组, 用豆粕替代部分鱼粉的低鱼粉豆粕组与低鱼粉组无显著差异。半纯化饲料中随着大豆抗原蛋白含量增加, 生长率呈现先增后降趋势; 实用饲料和半纯化饲料对肌肉组成有不同程度的影响; 在肝脏丙二醛、总抗氧化能力和血清丙二醛指标中, 低鱼粉豆粕组显著高于低鱼粉组, 低鱼粉发酵豆粕组则与低鱼粉组无显著性差异, 半纯化饲料系列在8%组出现峰值, 显著高于其他组。低鱼粉豆粕组血清谷草转氨酶活性显著高于低鱼粉组, 低鱼粉发酵豆粕组与低鱼粉组相比无显著性差异, 半纯化饲料组谷草转氨酶和谷丙转氨酶呈现先增后减趋势。研究表明, 与豆粕替代鱼粉相比, 用发酵豆粕替代鱼粉更能促进鱼体生长; 大豆抗原蛋白是影响豆粕替代鱼粉效果的重要因素, 但对生长、抗氧化性能和生理生化指标的影响则因大豆抗原蛋白的含量与单独存在与否而异。

关键词: 暗纹东方鲀; 大豆抗原蛋白; 生长; 抗氧化; 生理生化

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

暗纹东方鲀(*Takifugu fasciatus*), 属于鲀形目(Tetraodontiformes), 鲀科(Tetraodontidae), 东方鲀属(*Takifugu*), 常分布在通海或沿海的江河中下游, 其肉质鲜美, 脂肪蛋白含量较高, 具有补虚、祛湿、舒胃、祛痣等功效^[1]。暗纹东方鲀生长速度快、经济价值高, 在我国有着广泛的市场, 开发前景广阔。

研究表明, 暗纹东方鲀幼鱼的适宜蛋白质

需求量为46%~49%^[2], 相比于鲤(*Cyprinus carpio*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)等草食和杂食性经济鱼种, 需要更高含量的饲料蛋白质。为满足暗纹东方鲀对蛋白质的高营养需求, 在目前尚无专用配合饲料的情况下, 常借用鳊鱼饲料进行人工养殖。在该饲料中, 优质鱼粉是主要的蛋白源。据报道, 全球渔获量的35%被用来生产鱼

收稿日期: 2016-08-27 修回日期: 2016-11-17

资助项目: 农业部淡水水产种质资源重点实验室2015年开放课题; 上海市高校能力建设项目(14320502000); 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心专项(ZF1206)

通信作者: 华雪铭, E-mail: xmhua@shou.edu.cn

粉,65%的鱼粉用作水产饲料。然而,以渔养鱼的方式,在不久的将来将造成全球捕捞业难以维持水产养殖的需求,因此对暗纹东方鲀饲料开展鱼粉替代源的研究势在必行。尽管有研究表明玉米蛋白粉可以替代14.8%的鱼粉^[3],但是对于暗纹东方鲀饲料中植物蛋白源替代鱼粉的制约因素尚缺少充分的证据。

一直以来,豆(饼)粕类是水产饲料中使用最多的植物蛋白源之一。同鱼粉相比,豆粕蛋氨酸、赖氨酸和色氨酸等必需氨基酸含量相对较低,其适口性问题在很大程度上限制了豆粕的广泛使用^[4]。除此以外,豆粕中含有大豆抗原蛋白(*antigen protein, AP*)、大豆凝集素、蛋白酶抑制因子和凝集素等多种抗营养因子,也成为豆粕替代鱼粉的可能限制因子。在黄金鲈(*Perca flavescens*)^[5]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[6]、斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[7]和花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[8]等研究中发现,用豆粕替代鱼粉,豆粕中的大豆抗原蛋白可能是造成肠道损伤的重要原因;吴莉芳等^[9]等在饲料中添加60 mg/g大豆球蛋白或40 mg/g β伴球蛋白,均引起鲤、胡鲇(*Clarias fuscus*)和草鱼的肠道损伤。同时,NRC提出抗营养因子的负面效应因实验动物的种类、生长阶段及健康状况而异,也与抗营养因子的单独效应和联合效应有关^[10]。为了减少大豆抗原蛋白对水产动物的负面影响,业内采用加热、发酵和种质改良等方法去除大豆抗原蛋白,其中发酵方法价格低廉,效果也最为良好。经过有益菌发酵处理后的发酵豆粕抗营养因子含量低,大豆蛋白被分解为蛋白小肽,也更利于机体对其的吸收。

目前尚无相关文献报道大豆抗原蛋白对肉食性鱼类的直接影响。因此,本实验以暗纹东方鲀为实验对象,分别配制含有大豆抗原蛋白的实用饲料和半纯化饲料,从生长性能和生理生化角度探讨豆粕对鱼粉替代效果与大豆抗原蛋白的关系,以及大豆抗原蛋白对实验鱼的单独和联合效应,以期为豆粕产品的改良、暗纹东方鲀及其他肉食性鱼类饲料中蛋白源的合理选用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验设计与饲料

实验共设置8组等氮等能饲料:实用饲料(表1)

和半纯化饲料(表2)各4组。实用饲料系列以鱼粉、豆粕和发酵豆粕作为主要蛋白源,发酵豆粕购于上海源耀生物股份有限公司,豆粕购于浙江海皇科技股份有限公司。该系列设置高鱼粉组(FMH,阳性对照)、低鱼粉组(FML,对照组)、低鱼粉发酵豆粕组(FMLF)和低鱼粉豆粕组

表1 实用饲料原料组成及营养水平(风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of practical diets (air dry basis)

原料/% ingredient	饲料 diets			
	FMH	FML	FMLF	FMLS
鱼粉 fish meal	52.8	43.0	35.0	35.0
豆粕 soybean meal	0	15.0	15.0	27.0
发酵豆粕 fermented soybean meal	0	0	11.3	0
肉粉 meat meal	2	2.0	2.0	2.0
血粉 blood meal	3	3.0	3.0	3.0
玉米蛋白粉 corn gluten meal	1.5	1.5	1.5	1.5
α-淀粉 α-starch	28.1	25.0	22.3	21.6
鱼油 fish oil	2.4	3.0	3.5	3.5
磷酸二氢钙 Ca (H ₂ PO ₄) ₂			1.0	1.0
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
复合多维多矿 ¹ compound vitamins and minerals	1.5	1.5	1.5	1.5
羧甲基纤维素钠 sodium carboxymethylcellulose	5	2.3	0	0
赖氨酸 lysine	0	0	0.1	0.1
蛋氨酸 methionine	0	0	0.1	0.1
硫代甜菜碱 DMPT	0.2	0.2	0.2	0.2
乌贼膏 squid ointment	3	3.0	3.0	3.0
鱼粉替代量 replacement of fish meal	0	18.5	33.7	33.7
营养水平/% nutrient levels				
粗蛋白 crude protein	42.6	42.9	43.2	43.2
粗脂肪 crude fat	7.8	7.8	7.8	7.8
粗灰分 crude ash	13	14.5	11.7	11.8
水分 moisture	7.9	7.3	8.3	7.2
总能/(MJ/kg) gross energy	18.31	18.70	18.96	18.88
大豆抗原蛋白含量/% content of soybean antigenic proteins	0	4.9	4.9	8.8

注:¹来自广州信豚水产技术有限公司

Notes: Compound vitamins and compound minerals were obtained from Guangzhou Sintun Co., Ltd

表2 半纯化饲料原料组成及营养水平(风干基础)

Tab. 2 Composition and nutrient levels of semi-purified diets (air dry basis)

	饲料 diets			
	AP0	AP5	AP8	AP12.5
原料/% ingredients				
鱼粉 fish meal	6.0	6.0	3.0	3.0
酪蛋白 casein	42.5	24.5	16.5	
α -淀粉 α -starch	22.0	22.0	22.0	22.0
糊精 dextrin	10.0	10.6	11.0	11.4
大豆分离蛋白(含抗原蛋白) ¹ soybean isolated protein (including antigen protein)		15.7	25.2	39.3
鱼油 fish oil	3.2	3.3	3.4	3.5
豆油 soybean oil	3.2	3.3	3.4	3.5
羧甲基纤维素钠 sodium carboxymethylcellulose	3.0	3.0	3.0	3.0
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	3.4	3.5	3.4	3.8
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
复合多维 ² compound vitamins	1.0	1.0	1.0	1.0
复合多矿 ² compound minerals	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 Ca ₂ (H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.8	2.4	3.0
赖氨酸 lysine		0.5	0.7	1.1
蛋氨酸 methionine		0.4	0.5	0.8
苏氨酸 threonine		0.2	0.3	0.4
硫代甜菜碱 DMPT	0.2	0.2	0.2	0.2
乌贼膏 squid ointment	3.0	3.0	3.0	3.0
营养水平/% nutrient levels				
粗蛋白 crude protein	42.8	43.1	42.9	42.7
粗脂肪 crude fat	7.7	7.7	7.8	7.8
粗灰分 crude ash	5.7	6.5	6.4	7.2
水分 moisture	8.6	8.6	8.5	8.5
总能/(MJ/kg) gross energy	18.87	18.98	18.95	18.94
大豆抗原蛋白含量/% content of soybean antigenic proteins	0	5	8	12.5

注: 1. 大豆分离蛋白来自上海源耀生物股份有限公司; 2. 复合多矿、复合多维均来自浙江海皇科技股份有限公司

Notes: 1. Soybean isolated protein were obtained from Shanghai Yuanyao Biotechnology Co., Ltd. 2. Compound vitamins and compound minerals were obtained from Hangzhou Haihuang Feed Development Co., Ltd

(FMLS)共4组, 其中FMH组不含豆粕和发酵豆粕, FML组用豆粕替代FMH中18.5%的鱼粉, 且与目前生产中常用的饲料配方相似。FMLF与

FMLS组则在FML组的基础上分别用发酵豆粕和豆粕替代部分鱼粉。除FMH组外, 其余三组均有不同含量的大豆抗原蛋白, FML和FMLF组为4.9%, FMLS组为8.8%。上述设计旨在探讨豆粕和发酵豆粕对鱼粉的替代效果差异。

半纯化饲料系列以酪蛋白、大豆分离蛋白为作为主要蛋白源, 同时, 大豆分离蛋白也是大豆抗原蛋白(其中球蛋白179.74 mg/g, β 伴球蛋白138.18 mg/g)的载体。该系列中AP0为对照组, 无大豆抗原蛋白, AP5, AP8和AP12.5分别在对照组基础上添加不同比例的大豆分离蛋白, 使抗原蛋白的最终含量分别为5%, 8%和12.5%, 从理论上探讨不同含量的大豆抗原蛋白对实验动物的影响以及豆粕和发酵豆粕对鱼粉替代效果差异与大豆抗原蛋白是否相关联。

8种饲料中FMLS和AP8组虽含有相似含量的大豆抗原蛋白(8%), 但前者大豆抗原蛋白与其他抗营养因子混合存在, 后者大豆抗原蛋白单独存在, 以此比较大豆抗原蛋白的单独和联合效应差异。

按照配方设计, 除油脂外的其余饲料原料粉碎、过60目筛网、均匀混合, 制备成粉状料。每次投喂前加油加水, 制成圆饼状。用以上8组饲料饲养暗纹东方鲀8周, 每组4个重复, 每个重复45尾鱼。

1.2 实验动物与饲养管理

实验所用暗纹东方鲀初始体质量为(39.84±3.09) g, 购于上海市水产研究所。饲养试验在位于上海市浦东新区惠南镇滨海新区的上海海洋大学滨海养殖基地进行。每个养殖池为10 m³, 用网箱分割为4个养殖单元, 8个养殖池共32个养殖单元, 消毒后直接使用, 随机分为8组。用购买的鳗鱼商品饲料驯化一周, 摄食正常后开始正式实验。实验期间, 每天表观饱食投喂两次(8:30和16:30), 每次投喂量为体质量的1.0%~1.5%粉状料, 粉状料根据配方添加鱼油或豆油, 按粉状料:水(w/v)=1:0.7加水, 搅拌成团后, 制备成圆饼状, 置于饵料台中投喂。投喂量根据暗纹东方鲀体质量和摄食情况加以调整, 且无天然饵料补充。实验期间养殖用水为过滤池塘水, 养殖池水深70~80 cm, 温度20~35℃之间; 不定期吸污换水, 24 h连续充气; 溶解氧(DO)含量大于5 mg/L, 氨氮含量小于0.6 mg/L。养殖时间为2015年6月26日—2015年8月26日。

1.3 样品采集与测定

生长性能测定 养殖实验结束前禁食24 h, 捞出网箱内所有暗纹东方鲀, 计数称重, 并计算如下指标:

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

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

饲料系数(feed coefficient ratio, FCR)=总投饵量/(终末总重-初始总重+死亡总重);

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER, %)= $100 \times (\text{终末总重} - \text{初始总重}) / (\text{总投饵量} \times \text{饲料蛋白质含量})$ 。

式中, N_t (尾)和 N_0 (尾)分别为实验末期和初期暗纹东方鲀的存活数; W_t (g)、 W_0 (g)分别为实验末期和初期的平均体质量;

每网箱取5尾暗纹东方鲀的完整肝脏、头肾, 吸干表面水分后称重, 计算肝体比、头肾指数。计算方法如下:

肝体比(hepatosomatic index, %)= $100 \times W_l/W_t$;

头肾指数(head kidney index, %)= $100 \times W_h/W_t$ 。

式中, W_l (g)和 W_h (g)为完整肝脏和头肾重量, W_t (g)为实验末期体质量。

肌肉常规营养测定 生长实验结束后, 每网箱取5尾鱼, 取侧线以上两侧肌肉。肌肉经过冷冻干燥测量水分, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测常规营养成分: 粗蛋白用凯氏定氮仪测定(GB/T6432-94); 粗脂肪用索式抽提法测定(GB/T6433-2006); 粗灰分按GB/T6438-92方法测定; 肌肉氨基酸经盐酸水解后采用氨基酸分析仪(Model S7130, Syknam)测定(GB/T 18246-2000)。

抗氧化指标测定 每网箱取10尾鱼, 用丁香酚麻醉后, 迅速剪开腹部, 暴露心脏抽血。将血液放入1.5 mL离心管中, 静置4 h, 2000 r/min离心10 min, 取上清液即为血清, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。每网箱取4尾鱼, 取肝脏, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。测定时肝脏组织加入生理盐水进行匀浆($w/v=1:9$), 3000 r/min离心10 min, 取上清液, 24 h内完成测定。血清过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和总抗氧化能力(T-AOC), 肝脏过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)均采用南京建成生物工程有限公司试剂盒检测。

血清生化分析指标测定 同上方法获得血清, 用迈瑞全自动生化分析仪测定谷丙转氨酶

(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)。

1.4 数据处理

实验数据以平均数 \pm 标准差(mean \pm SD)形式表示。利用SPSS 17.0软件, 分别对实用饲料系列和半纯化饲料系列的数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 影响显著时再进行Duncan氏多重比较, $P<0.05$ 表示差异显著; 对FMLS和AP8两组数据进行 t 检验(t -test), $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 饲料中大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀生长的影响

结果表明, 各组存活率无显著性差异(表3)。

实用饲料系列中增重率FMLF组最高, 显著高于其他组($P<0.05$), FMLS与对照组FML相比无显著性差异($P>0.05$), 阳性对照组FMH显著高于对照组FML($P<0.05$)。以上结果说明豆粕替代部分鱼粉不影响实验鱼的生长, 而用发酵豆粕部分替代鱼粉还能起到促生长作用。半纯化饲料系列中, 抗原蛋白组的增重率均不同程度高于

表3 暗纹东方鲀生长性能

Tab. 3 Growth performance of obscure puffer

组别 groups	存活率/% SR	增重率/% WGR	饲料系数 FCR	蛋白质效率/% PER
FMH	97.78 \pm 2.22 ^a	56.45 \pm 0.72 ^c	2.08 \pm 0.06 ^b	1.08 \pm 0.05 ^c
FML	99.44 \pm 1.11 ^a	48.29 \pm 2.75 ^a	2.48 \pm 0.08 ^c	0.95 \pm 0.08 ^b
FMLF	95.56 \pm 4.06 ^a	66.65 \pm 1.07 ^d	1.89 \pm 0.06 ^a	1.14 \pm 0.07 ^{cd}
FMLS	94.07 \pm 4.63 ^a	51.30 \pm 2.12 ^{ab}	2.50 \pm 0.22 ^c	0.82 \pm 0.09 ^a
AP0	94.07 \pm 8.41 ^A	39.71 \pm 1.77 ^A	2.86 \pm 0.04 ^C	0.68 \pm 0.02 ^A
AP5	97.22 \pm 2.80 ^A	64.90 \pm 3.83 ^D	1.74 \pm 0.12 ^A	1.26 \pm 0.12 ^C
AP8	97.04 \pm 5.13 ^A	56.46 \pm 3.39 ^{C*}	1.92 \pm 0.09 ^{A*}	1.29 \pm 0.04 ^{C*}
API2.5	97.78 \pm 1.81 ^A	44.98 \pm 4.34 ^B	2.40 \pm 0.03 ^B	1.11 \pm 0.02 ^B

注: 差异显著性在实用饲料系列用小写字母表示, 在半纯化饲料系列用大写字母表示, 数据肩标有相同字母表示差异不显著($P>0.05$), 不同字母表示差异显著($P<0.05$); AP8组的肩标*表示FMLS和AP8组之间差异显著($P<0.05$)。下表同

Notes: Lowercases were used to show the difference among the practical diets, and capitals being to show the difference among the semi-purified diets. Values with same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). Values in the AP8 with * mean significant difference between the FMLS group and the AP8 group ($P<0.05$), the same below

对照组($P<0.05$),随着大豆抗原蛋白含量的增加,增重率出现先升后降的趋势,AP5表现出最高的增重率,即低浓度的抗原蛋白更能促进实验鱼的生长。在相似抗原蛋白含量的情况下,半纯化饲料系列的AP8组比实用饲料系列的FMLS有更高的增重率($P<0.05$)。

饲料系数指标中,FMLF和FMH均显著低于对照组FML($P<0.05$),FMH显著低于FMLF组($P<0.05$)。AP0对照组饲料系数显著高于其他组($P<0.05$),随着抗原蛋白含量增加,饲料系数呈现先降后升的趋势,与生长性能正好相反。AP8饲料系数显著低于FMLS组($P<0.05$)。

蛋白质效率FMH和FMLF均显著高于对照组FML($P<0.05$),与增重率结果类似。但FMLS显著低于对照组,说明当鱼粉用量降低至43.0%时,再用豆粕替代部分鱼粉虽然不影响增重,但是影响了蛋白质沉积;半纯化饲料系列中结果与增重率相同,表明低抗原蛋白含量可以促进机体蛋白质沉积。AP8组和FMLS组比较结果与增重率相同。

在实用饲料中,随着鱼粉用量的减少(抗原蛋白含量的增加),肝体比和头肾指数呈现逐渐减小的趋势,尽管FMLF和FMLS组间无显著差异,但与FMH组比较,发现发酵豆粕对鱼粉的替代效果显著优于豆粕对鱼粉的替代效果。在半纯化饲料中,抗原蛋白含量的多寡不影响肝体比和头肾指数(表4)。

2.2 饲料中大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀肌肉组成的影响

在实用饲料系列中,发酵豆粕或豆粕替代

表4 暗纹东方鲀形态学指标
Tab. 4 Morphology of obscure puffer %

组别 groups	肝体比 hepatosmatic index	头肾指数 head kidney index
FMH	15.15±1.28 ^b	0.49±0.11 ^c
FML	14.97±1.42 ^{ab}	0.46±0.08 ^{bc}
FMLF	14.1±0.75 ^{ab}	0.41±0.1 ^{ab}
FMLS	13.88±1.44 ^a	0.37±0.08 ^a
AP0	14.35±1.71 [^]	0.41±0.11 [^]
AP5	14.93±1.32 [^]	0.40±0.11 [^]
AP8	15.11±1.61 [^]	0.41±0.08 [^]
AP12.5	14.38±1.73 [^]	0.44±0.1 [^]

鱼粉主要影响肌肉粗脂肪和灰分含量($P<0.05$),而在半纯化饲料中,抗原蛋白含量的多寡主要影响肌肉水分、粗脂肪和灰分含量($P<0.05$);两种系列的饲料对肌肉蛋白质含量均无显著影响($P>0.05$)(表5)。

表5 暗纹东方鲀肌肉组成(干样)

Tab. 5 Muscle composition of obscure puffer (dry basis) %

组别 groups	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude fat	粗灰分 crude ash
FMH	78.94±0.62 ^a	89.14±0.58 ^a	1.81±0.17 ^a	5.64±0.11 ^a
FML	79.04±0.40 ^a	89.47±1.86 ^a	1.88±0.13 ^a	6.07±0.07 ^b
FMLF	79.10±1.14 ^a	89.30±2.45 ^a	2.25±0.07 ^b	5.84±0.11 ^{ab}
FMLS	78.90±1.42 ^a	89.01±2.91 ^a	1.87±0.13 ^a	5.55±0.04 ^a
AP0	78.93±0.31 ^{AB}	87.94±0.33 ^A	1.82±0.06 ^A	5.33±0.03 ^A
AP5	78.32±0.80 ^A	91.02±1.68 ^A	1.98±0.12 ^{AB}	5.55±0.10 ^{AB}
AP8	78.87±0.22 ^{AB}	89.01±0.84 ^A	2.35±0.16 ^D	5.93±0.24 ^{BC*}
AP12.5	79.11±0.61 ^B	88.49±0.25 ^A	2.07±0.08 ^{BC}	6.04±0.07 ^C

肌肉中必需氨基酸含量在实用饲料系列各组间无显著性差异,FMLS组含量最低;半纯化饲料组随着抗原蛋白增加,必需氨基酸总量呈现先增后减趋势,但无显著性差异。两种系列的饲料中,总氨基酸含量变化趋势与必需氨基酸相同(表6)。

2.3 饲料中大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀抗氧化能力的影响

实用饲料系列中的肝脏抗氧化能力指标,FMH和FMLS组均显著高于对照组FML($P<0.05$),而FMLF组与对照组无显著差异。在半纯化饲料系列中,从AP5、AP8、AP12.5组,随抗原蛋白含量的增加,过氧化氢酶CAT呈现逐渐上升的趋势,超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和总抗氧化能力(T-AOC)呈现先升后降的趋势,AP0组除了丙二醛显著低于所有组外($P<0.05$),SOD和T-AOC显著高于AP5和AP12.5组($P<0.05$),CAT则显著高于其他三组($P<0.05$);AP8组除了SOD指标显著高于FMLS组外,其他抗氧化指标均低于FMLS组($P<0.05$)(表7)。结果显示实用饲料中用豆粕替代部分鱼粉会加大鱼体肝脏的抗氧化压力,增加脂质过氧化风险,而用发酵豆粕替代等量的鱼粉则无显著影响,此时低浓度的大豆抗原蛋白并不会对机体肝脏造成氧化损伤。

表 6 肌肉氨基酸组成(干物质)
Tab. 6 Amino acid composition of obscure puffer muscles (dry basis)

氨基酸 AA	FMH	FML	FMLF	FMLS	AP0	AP5	AP8	AP12.5	%
必需氨基酸 EAA									
Lys	4.08±0.31 ^{ab}	4.99±0.05 ^c	4.24±0.58 ^b	4.08±0.36 ^{ab}	3.88±0.06 ^A	3.58±0.31 ^A	3.76±0.21 ^A	3.71±0.05 ^A	
Thr	2.30±0.18 ^a	2.35±0.02 ^a	2.40±0.25 ^a	2.29±0.19 ^a	1.99±0.03 ^A	2.09±0.17 ^A	2.23±0.14 ^A	2.16±0.14 ^A	
Val	1.61±0.23 ^a	1.51±0.02 ^a	1.63±0.23 ^a	1.56±0.17 ^a	1.29±0.01 ^A	1.40±0.16 ^A	1.57±0.18 ^A	1.50±0.08 ^A	
Met	1.11±0.32 ^{ab}	1.41±0.01 ^b	1.10±0.16 ^{ab}	0.91±0.26 ^a	0.99±0.06 ^A	1.00±0.21 ^A	0.95±0.02 ^A	1.06±0.22 ^A	
Ile	1.39±0.21 ^a	1.29±0.01 ^a	1.42±0.23 ^a	1.36±0.18 ^a	1.08±0.02 ^A	1.19±0.16 ^A	1.35±0.18 ^A	1.26±0.11 ^A	
Leu	3.39±0.25 ^a	3.51±0.01 ^a	3.53±0.35 ^a	3.35±0.22 ^a	2.94±0.04 ^A	3.05±0.20 ^A	3.20±0.20 ^A	3.12±0.19 ^A	
Phe	1.95±0.06 ^a	1.83±0.00 ^a	1.98±0.33 ^a	1.99±0.05 ^a	1.85±0.02 ^A	1.73±0.13 ^A	1.75±0.06 ^A	1.76±0.04 ^A	
His	1.82±0.08 ^{ab}	2.13±0.05 ^d	2.03±0.14 ^{cd}	1.93±0.12 ^{bc}	1.86±0.02 ^B	1.68±0.06 ^A	1.63±0.02 ^{A*}	1.64±0.02 ^A	
Arg	2.70±0.20 ^a	2.77±0.03 ^a	2.78±0.25 ^a	2.63±0.13 ^a	2.29±0.02 ^A	2.37±0.17 ^A	2.51±0.14 ^A	2.44±0.16 ^A	
TEAA*	20.35±1.70 ^a	21.78±0.20 ^a	21.10±2.14 ^a	20.10±0.99 ^a	18.18±0.23 ^A	18.09±1.15 ^A	18.95±0.96 ^A	18.65±0.94 ^A	
非必需氨基酸 NEAA									
Pro	1.72±0.13 ^a	1.87±0.02 ^a	1.78±0.12 ^a	1.73±0.05 ^a	1.66±0.09 ^A	1.61±0.14 ^A	1.63±0.05 ^A	1.55±0.09 ^A	
Ser	2.63±0.11 ^a	2.75±0.00 ^a	2.71±0.20 ^a	2.61±0.14 ^a	2.43±0.03 ^A	2.45±0.11 ^A	2.53±0.08 ^A	2.48±0.14 ^A	
Glu	7.94±0.44 ^a	8.32±0.01 ^a	8.31±0.83 ^a	7.83±0.46 ^a	6.95±0.08 ^A	7.18±0.38 ^A	7.41±0.34 ^A	7.23±0.42 ^A	
Gly	2.34±0.15 ^a	2.34±0.01 ^a	2.30±0.09 ^a	2.26±0.08 ^a	2.17±0.06 ^A	2.18±0.10 ^{AB}	2.32±0.07 ^{AB}	2.35±0.05 ^B	
Ala	2.70±0.14 ^a	2.83±0.00 ^a	2.77±0.18 ^a	2.68±0.06 ^a	2.50±0.04 ^A	2.51±0.12 ^A	2.60±0.09 ^A	2.62±0.03 ^A	
Cys	0.37±0.06 ^a	0.41±0.00 ^a	0.38±0.03 ^a	0.35±0.01 ^a	0.33±0.01 ^A	0.33±0.04 ^A	0.34±0.02 ^A	0.40±0.13 ^A	
Tyr	1.57±0.07 ^a	1.63±0.00 ^a	1.62±0.17 ^a	1.54±0.06 ^a	1.41±0.02 ^A	1.39±0.03 ^A	1.40±0.03 ^A	1.41±0.07 ^A	
Asp	4.42±0.31 ^a	4.88±0.01 ^b	4.59±0.24 ^{ab}	4.37±0.11 ^a	4.00±0.04 ^A	4.06±0.23 ^A	4.16±0.14 ^A	4.17±0.28 ^A	
TNEAA*	23.68±1.35 ^a	25.03±0.04 ^a	24.47±1.82 ^a	23.38±0.69 ^a	21.44±0.29 ^A	21.71±1.11 ^A	22.41±0.78 ^A	22.21±0.80 ^A	
TAA*	44.03±3.05 ^a	46.81±0.24 ^a	45.57±3.94 ^a	43.47±1.67 ^a	39.62±0.48 ^A	39.80±2.27 ^A	41.36±1.74 ^A	40.86±1.74 ^A	

注: TEAA: 总必需氨基酸; TNEAA: 总非必需氨基酸; TAA: 总氨基酸

Notes: TEAA. total essential amino acid; TNEAA. total nonessential amino acid; TAA. total amino acid

就血清抗氧化指标而言, 在实用饲料系列中, CAT指标FMLF显著高于对照组FML($P<0.05$), FMLS则显著低于对照组($P<0.05$), SOD和MDA指标在低鱼粉饲料三组间无显著差异(表8)。阳性对照FMH出现CAT最低值和MDA最高值。在半纯化饲料组, CAT活性随着抗原蛋白添加量的增加而增加, SOD在AP0组出现高值, 在AP5、AP8、AP12.5组间呈现上升趋势, MDA则出现先增后减的趋势。以上结果说明用豆粕或发酵豆粕替代部分鱼粉, 使鱼粉用量从52.8%降低至35.0%, 虽不会增加血清抗氧化压力, 但相比较而言, 豆粕替代源组的血清抗氧化压力大于发酵豆粕替代源组, 即一定范围内大豆抗原蛋白

表 7 暗纹东方鲀肝脏抗氧化指标

Tab. 7 Antioxidant indices in liver of obscure puffer

组别 groups	U/mg prot			
	过氧化氢酶 CAT	超氧化物歧化酶 SOD	丙二醛 MDA	总抗氧化能力 T-AOC
FMH	19.71±0.53 ^b	30.02±1.99 ^c	10.65±0.60 ^b	0.34±0.00 ^b
FML	14.72±0.12 ^a	18.20±1.52 ^a	5.68±0.30 ^a	0.25±0.04 ^a
FMLF	14.42±0.32 ^a	17.75±0.90 ^a	6.05±0.54 ^a	0.27±0.02 ^a
FMLS	26.04±1.73 ^c	27.70±0.96 ^{bc}	16.35±1.50 ^c	0.44±0.04 ^c
AP0	34.70±0.91 ^D	28.14±0.69 ^C	6.40±0.53 ^A	0.37±0.04 ^B
AP5	14.69±0.70 ^A	25.54±0.74 ^B	8.72±0.36 ^B	0.29±0.03 ^A
AP8	18.29±0.33 ^{B*}	31.30±0.43 ^{D*}	10.92±1.11 ^{C*}	0.38±0.02 ^{B*}
AP12.5	25.80±1.14 ^C	22.23±0.69 ^A	8.18±0.49 ^D	0.28±0.03 ^A

表8 暗纹东方鲀血清抗氧化指标

组别 groups	过氧化氢酶/ (U/mL) CAT	超氧化物歧化酶/ (U/mL) SOD	丙二醛/ (nmol/mL) MDA
FMH	7.80±1.32 ^a	499.77±15.58 ^a	18.16±1.30 ^b
FML	10.30±1.10 ^b	494.50±8.08 ^a	12.73±0.09 ^a
FMLF	14.95±1.24 ^c	534.26±35.93 ^a	12.27±0.75 ^a
FMLS	8.01±0.36 ^a	522.13±19.09 ^a	15.56±2.27 ^{ab}
AP0	4.13±0.19 ^A	528.77±9.21 ^B	14.80±2.73 ^A
AP5	6.20±1.03 ^B	470.15±13.45 ^A	18.06±1.65 ^{AB}
AP8	7.92±0.01 ^C	499.95±3.37 ^{AB}	19.12±1.62 ^B
AP12.5	11.83±0.37 ^D	510.42±27.55 ^B	15.29±2.31 ^{AB}

含量的增加易造成丙二醛积累, 增加血清脂质过氧化的风险。

2.4 饲料中大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀血清生化的影响

暗纹东方鲀血清生化指标中, 实用饲料系列组中谷草转氨酶(AST)活性在FMLS组呈现最大值, 显著高于对照组FML($P<0.05$), FMLF与对照组FML相比所有血清生化指标均无显著性差异。半纯化饲料系列中, AST活性和谷丙转氨酶(ALT)活性呈现先增后减的趋势, 白蛋白(ALB)含量、总蛋白(TP)含量在AP5、AP8、AP12.5组间呈现随着抗原蛋白含量增加而增加的趋势, AP0组出现ALB含量最大值(表9)。

3 讨论

3.1 饲料中豆粕部分替代鱼粉时大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀生长的影响

业界普遍认为豆粕大量替代鱼粉会抑制水产动物的生长, 尤其是偏肉食性鱼类, 原因可能与饲料的适口性、豆粕中的抗营养因子含量有关^[11-12]。发酵豆粕经过有益微生物处理后, 蛋白类物质分解为多肽、氨基酸等物质, 豆粕品质得到改善, 同时大豆抗原蛋白含量大幅度降低, 具有促生长的效果^[13]。本研究中, 与用豆粕替代相同比例鱼粉(FMH/FMLF/FMLS、FML/FMLF/FMLS)或替代更大比例鱼粉(FMH/FML/FMLF)相比, 发酵豆粕之所以表现出比豆粕更好的替代效果, 与上述两个原因也不无关系。

从半纯化饲料抗原蛋白单因子实验中可以看出, 饲料中的抗原蛋白含量确实影响实验鱼

表9 暗纹东方鲀血清生化指标

组别 groups	谷草转氨酶/ (U/L) AST	谷丙转氨酶/ (U/L) ALT	白蛋白/ (g/L) ALB	总蛋白/ (g/L) TP
FMH	9.65±0.10 ^a	5.46±0.33 ^b	13.25±0.95 ^a	39.07±0.24 ^{ab}
FML	10.87±2.02 ^a	3.80±0.58 ^a	13.05±0.48 ^a	42.21±0.98 ^d
FMLF	10.29±0.90 ^a	4.20±1.17 ^{ab}	12.50±0.14 ^a	41.20±0.67 ^{cd}
FMLS	15.14±1.22 ^b	3.73±0.85 ^a	12.07±0.78 ^a	40.19±1.06 ^{bc}
AP0	12.00±0.15 ^A	3.49±0.57 ^A	12.85±0.35 ^B	38.31±0.20 ^B
AP5	13.40±1.22 ^A	4.35±0.87 ^{AB}	11.10±0.59 ^A	36.34±0.95 ^A
AP8	15.13±2.49 ^A	5.41±0.91 ^{B*}	12.20±0.76 ^{AB}	40.01±1.04 ^C
AP12.5	12.90±2.28 ^A	4.63±0.83 ^{AB}	12.63±0.35 ^B	41.06±1.40 ^C

的生长, 但与实用饲料结果不同的是, 生长率并非随着抗原蛋白含量的升高而降低, 低浓度的抗原蛋白反而具有促进生长的作用; 而在含有相似含量的抗原蛋白时, 纯化饲料AP8组比实用饲料FMLS组表现出更好的生长性能, 一是可能因为蛋白源种类不同, 纯化饲料原料相比商品饲料原料更易促进生长, 本研究中的饲料系数结果和刘永坚^[14]等对草鱼的研究也证实了这一点; 二是实用饲料中存在多种抗营养因子的相互作用。由于豆粕中含有多种抗营养因子, 相互之间的拮抗或者协同效应, 都会对抗营养作用产生影响。在对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的研究中, Hart等^[15]指出大豆凝集素、胰蛋白酶抑制因子和寡糖3种抗营养因子可能在胰腺内有相同或类似的化学通路, 3种抗营养因子混合添加时, 产生的抗营养信号不同于各抗营养因子单独添加时所产生的信号强度。在对大西洋鲑(*Salmo salar*)的研究中发现^[16], 无论含有大豆皂苷与否, 单独或者混合添加棉子糖和水苏糖, 都能对生长产生轻微影响, 但并不影响蛋白和脂肪代谢, 也并未造成肠道损伤。本研究结果一方面表现出抗原蛋白对生长的剂量效应, 另一方面也表明抗原蛋白的单独效应与其他抗营养因子联合效应的复杂性。目前关于抗营养因子的交互作用, 仅限于单宁与凝集素或皂苷对哺乳类动物的影响^[17-19]。本研究结果提示, 在暗纹东方鲀饲料中抗原蛋白并不是影响豆粕对鱼粉替代效果的唯一因素, 具体作用机理还需进一步研究。

此外, FMLS组含有最高含量的大豆抗原蛋白, 但与对照组FML相比生长无显著性差异, 说明暗纹东方鲀对大豆抗原蛋白具有一定的耐受性, 半纯化饲料实验中生长性能随抗原蛋白浓

度先升后降的结果也证实了此结论; 而以鱼粉为蛋白源的半纯化饲料中添加60 mg/g大豆球蛋白或40 mg/g β 伴球蛋白时, 鲤、草鱼幼鱼和胡鲠生长性能下降^[9]。可见, 不同动物对大豆抗原蛋白的耐受性存在差异, 其背后的生物学机制值得进一步探讨。大豆抗原蛋白也影响肌肉组成, 实用饲料中大豆抗原蛋白虽未对粗蛋白未造成显著影响, 但FMLF组粗脂肪含量显著升高, 灰分显著降低。在斜带石斑鱼^[20]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[21]、黑鲷(*Sparus macrocephalus*)^[22]和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[23]等的研究中发现, 发酵豆粕对肌肉组成或全鱼成分的影响也存在差异, 其作用机制有待进一步研究。半纯化饲料中大豆抗原蛋白的含量增加, 对肌肉水分、粗灰分、粗蛋白和粗脂肪含量均有不同程度的影响; 而在肌肉氨基酸组成中, 发酵豆粕替代组FMLF优于豆粕替代组FMLS。豆粕经过发酵处理后, 蛋白质分解为多肽类物质, 有利于机体的氨基酸吸收, 说明在存在混合抗营养因子的情况下, 降低大豆抗原蛋白含量有利于提升肌肉品质; 半纯化饲料组出现先增后减的趋势, 说明当大豆抗原蛋白单独存在时, 低浓度抗原蛋白不会对肌肉产生负面效应, 超过一定浓度后, 肌肉品质出现下降。

3.2 饲料中大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀抗氧化能力的影响

鱼体内过量的氧化物积累可造成细胞功能损伤, 影响功能的完整性^[24-25], 而抗氧化物质能够保护机体免受过氧化损伤。抗氧化系统包括酶促系统和非酶促系统, 抗氧化酶包括SOD、CAT和谷胱甘肽酶等, 它们在组织中共同对抗自由基, 形成第一道抗氧化防线。SOD催化超氧阴离子经过歧化作用变为过氧化氢和氧, CAT则分解过氧化氢成为水和分子氧^[26]。脂质过氧化是机体抗氧化系统失衡所产生的主要问题, 丙二醛(MDA)作为脂质氧化的最终产物, 对细胞有毒性作用^[27]; 总抗氧化能力是评价机体抗氧化系统功能情况的综合指标, 可以用来衡量机体对外来刺激的代偿能力和机体自由基代谢状态是否正常^[28]。本研究中, FMLS组肝脏虽与其他组一样能通过SOD和CAT的动态变化对抗氧自由基, 但还是表现出了最大的抗氧化压力, 可能与豆粕中所含有的抗原蛋白有关, 因为半纯化饲料抗原蛋白单因子实验证实抗原蛋白是引起抗氧

化压力增大的重要原因。有趣的是, 抗氧化指标在AP8组显示峰值, 而在抗原蛋白添加量最多的AP12.5组反而较低, 可能与氧自由基的过度积累有关。对鲫(*Carassius auratus*)的研究发现, 当肝脏中的毒性物质积累到其所能清除的限度时, 肝脏中的抗氧化物质消耗殆尽, 抗氧化机制遭到破坏^[28]。鱼粉质量评价中, 常用硫巴比妥酸(TBA)方法来检测鱼粉中丙二醛含量, 以此来评价油脂氧化情况。而豆粕和发酵豆粕相比于鱼粉, 油脂含量较低, 所含的丙二醛含量相应较低。当使用全鱼粉制作饲料时, FMH组高含量鱼粉中的丙二醛可能富集在鱼体内, 导致机体丙二醛含量升高。在日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)饲料的鱼粉蛋白与发酵豆粕蛋白配比研究^[29]中也发现全鱼粉组肝胰腺丙二醛含量高于部分替代组。

3.3 饲料中大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀血清生化影响

血液生化指标往往能够表征鱼类的营养、健康和环境的适应状况。谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)产生于肝脏细胞, 通常在细胞质中发挥作用, 血清中含量较低。正常情况下肝脏ALT升高表明机体氨基酸合成代谢增加, 蛋白质分解作用下降, 有利于机体氮沉积^[30]。在应激条件下, 肝脏细胞通透性增加或坏死, 导致AST和ALT大量游离到血液, 所以血清中AST和ALT活力被用作肝脏损伤的指示物^[31]。总蛋白、白蛋白在体内主要维持细胞营养和血液渗透压^[32], 总蛋白和白蛋白能反映出肝脏中蛋白合成功能状况^[33]。FMLS组和半纯化饲料系列血清AST显著升高, 提示饲料中大豆抗原蛋白的存在不利于实验鱼的肝脏健康; FMLS组总蛋白和白蛋白不同程度地低于FMH或FML组, 可能是由于豆粕过量替代鱼粉时, 多种抗营养因子同时存在而产生的综合负面效应造成了对肝脏的负面影响。半纯化饲料系列随着抗原蛋白添加浓度的增加, 血清ALT含量相对稳定, 而总蛋白和白蛋白出现增加的趋势, 推测大豆抗原蛋白对于机体氨基酸和蛋白质的合成代谢无不利影响。上述结果再次提示抗原蛋白单独效应与其他抗营养因子联合效应的差异。

4 结论

① 饲料中用豆粕部分替代(33.7%)的鱼粉,

增加了暗纹东方鲀的抗氧化压力,提高了肝损伤的风险,降低了生长性能;使用去除大豆抗原蛋白的发酵豆粕替代鱼粉,可显著提高生长性能。

②大豆抗原蛋白是影响豆粕对鱼粉替代效果的重要因素;大豆抗原蛋白对暗纹东方鲀生长、抗氧化性能和生理生化指标的影响因大豆抗原蛋白的含量及单独存在与否而异。

参考文献:

- [1] 苏锦祥. 中国动物志[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
Su J X. Fauna of China[M]. Beijing: Science Press, 2002 (in Chinese).
- [2] 王晓晨, 李勇, 周邦维, 等. 东方鲀属鱼类营养需求特点与饲料研发新进展[J]. 饲料工业, 2014(10): 33-38.
Wang X C, Li Y, Zhou B W, *et al.* Advanced research and development on nutrient requirement characteristics and feed in Fugu[J]. Feed Industry Magazine, 2014(10): 33-38(in Chinese).
- [3] 钟国防, 钱曦, 华雪铭, 等. 玉米蛋白粉替代鱼粉对暗纹东方鲀溶菌酶活性及c型溶菌酶mRNA表达的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1121-1128.
Zhong G F, Qian X, Hua X M, *et al.* Effects of feeding with corn gluten meal in lysozyme activity and c-lysozyme gene expression in *Fugu obscurus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(7): 1121-1128(in Chinese).
- [4] 高美云, 张通, 刘宾, 等. 豆粕抗营养因子及其生物改性的研究[J]. 中国饲料, 2010(3): 37-41.
Gao M Y, Zhang T, LIU B, *et al.* The study on anti-nutritional factor in soybean and its nutritional value by microbial fermentation[J]. China Feed, 2010(3): 37-41(in Chinese).
- [5] 邢秀苹. 豆粕对黄金鲈生长、肠道组织及非特异性免疫的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
Xing X P. Effects of soybean meal on the growth, intestinal tissue and non-specific immunity of *Perca flavescens*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [6] 张帆, 张文兵, 麦康森, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉对大黄鱼生长、消化酶活性和消化道组织学的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2012, 42: 208(S1): 75-82.
Zhang F, Zhang W B, Mai K S, *et al.* Effects of replacement of dietary fish meal by soybean on growth, digestive enzyme activity and digestive tract histology of juvenile large yellow croaker, *pseudosciaena crocea* R[J]. Periodical of Ocean University of China, 2012, 42: 208(S1): 75-82(in Chinese).
- [7] 邹文超, 闫洋洋, 杨红玲, 等. 豆粕部分替代鱼粉对斜带石斑鱼生长、免疫和肠道健康的影响[C]. 厦门: 第九届世界华人鱼虾营养学术研讨会, 2013.
Zou W C, Yan Y Y, Yang H L, *et al.* Effect of partially replacing fishmeal with soybean meal on the growth performance, immune response and intestinal health of *Epinephelus coioides*[C]. Xiamen: The ninth symposium of world's Chinese scientists on nutrition and feeding of finfish and shellfish, 2013 (in Chinese).
- [8] 张艳秋. 利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的潜力及机理[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
Zhang Y Q. The potential and mechanism to replace fish meal with soybean meal in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicas*) diet[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014 (in Chinese).
- [9] 吴莉芳, 孙泽威, 秦贵信, 等. Glycinin和 β -Conglycinin对不同食性鱼类生长及肠道组织的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(2): 59-66.
Wu L F, Sun Z W, Qin G X, *et al.* Effects of dietary Glycinin and β -Conglycinin on growth performance and intestinal tissue of fishes with different food habits[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2011, 39(2): 59-66(in Chinese).
- [10] National Research Council (NRC). Nutrient requirements of fish and shrimp[M]. Washington D C: The National Academies, 2011, 232-246.
- [11] Bureau D P, Harris A M, Young Cho C. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 1998, 161(1-4): 27-43.
- [12] 艾庆辉, 谢小军. 水生动物对植物蛋白源利用的研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2005, 35(6): 51-57.
Ai Q H, Xie X J. Advance in utilization of plant proteins by aquatic animals[J]. Periodical of Ocean University of China, 2005, 35(6): 51-57(in Chinese).
- [13] 姚琨, 李富伟, 李兆勇. 发酵豆粕概述[J]. 饲料与畜牧, 2011(12): 32-38.

- Yao K, Li F W, Li Z Y. Summary of fermented soybean meal[J]. Feed and Husbandry, 2011(12): 32-38(in Chinese).
- [14] 刘永坚, 田丽霞, 刘栋辉, 等. 实用饲料补充结晶或包膜赖氨酸对草鱼生长、血清游离氨基酸和肌肉蛋白质合成率的影响[J]. 水产学报, 2002, 26(3): 252-258.
- Liu Y J, Tian L X, Liu D H, *et al.* Influence of practical diet supplementation with free or coated lysine on the growth, plasma free amino acids and protein synthesis rates in the muscle of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(3): 252-258(in Chinese).
- [15] Hart S D, Bharadwaj A S, Brown P B. Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Aquaculture, 2010, 306(1-4): 310-314.
- [16] Sørensen M, Penn M, El-Mowafi A, *et al.* Effect of stachyose, raffinose and soya-saponins supplementation on nutrient digestibility, digestive enzymes, gut morphology and growth performance in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Aquaculture, 2011, 314(1-4): 145-152.
- [17] Francis G, Makkar H P S, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish[J]. Aquaculture, 2001, 199(3-4): 197-227.
- [18] Fish B C, Thompson L U. Lectin-tannin interactions and their influence on pancreatic amylase activity and starch digestibility[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1991, 39(4): 727-731.
- [19] Freeland W J, Calcott P H, Anderson L R. Tannins and saponin: Interaction in herbivore diets[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 1985, 13(2): 189-193.
- [20] 罗智, 刘永坚, 麦康森, 等. 石斑鱼配合饲料中发酵豆粕和豆粕部分替代白鱼粉的研究(英文)[J]. 水产学报, 2004, 28(2): 175-181.
- Luo Z, Liu Y J, Mai K S, *et al.* Partial replacement of fish meal by soybean protein in diets for grouper *Epinephelus coioides* juveniles[J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(2): 175-181(in Chinese).
- [21] 彭松, 张敏, 李小勤, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对凡纳滨对虾生长、肌肉成分和血淋巴非特异性免疫的影响[J]. 淡水渔业, 2015, 45(5): 70-75.
- Peng S, Zhang M, Li X Q. Effects of replacing fish meal with fermented soybean on growth, muscle composition and non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei*[J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(5): 70-75(in Chinese).
- [22] 宋文新. 黑鲷幼鱼饲料中发酵豆粕部分替代鱼粉的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- SONG W X. Partial replacement of fish meal by fermented soybean meal in diets for juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009. (in Chinese)
- [23] 李惠, 黄峰, 胡兵, 等. 发酵豆粕替代鱼粉对斑点叉尾鲷生长和饲料表观消化率的影响[J]. 淡水渔业, 2007, 37(5): 41-44.
- LI H, HUANG F, HU B, *et al.* Effects of replacement of fish meal with fermented soybean in the diet for channel catfish (*Ictalurus punctatus*) on growth performance and apparent digestibility of feed[J]. Freshwater Fisheries, 2007, 37(5): 41-44(in Chinese).
- [24] Sturve J, Almroth B C, Förlin L. Oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sewage treatment plant effluent[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 70(3): 446-452.
- [25] Han H, Kim D, Lee D, *et al.* Pathogenicity of *Edwardsiella tarda* to olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel)[J]. Journal of Fish Diseases, 2006, 29(10): 601-609.
- [26] Tovar-Ramírez D, Mazurais D, Gatesoupe J F, *et al.* Dietary probiotic live yeast modulates antioxidant enzyme activities and gene expression of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae[J]. Aquaculture, 2010, 300(1-4): 142-147.
- [27] Liu X, Xi Q, Yang L, *et al.* The effect of dietary Panax ginseng polysaccharide extract on the immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30(2): 495-500.
- [28] 张春玲, 胡俊峰, 王丕文, 等. 苯并(a)芘对鲫鱼肝脏总抗氧化能力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2004, 21(5): 325-326.
- Zhang C L, HU J F, WANG P W, *et al.* Effects of B(a)P on T-AOC in liver of *Carassius auratus*[J]. Journal of Environment and Health, 2004, 21(5): 325-326(in Chinese).
- [29] 丁志丽, 张易祥, 叶金云, 等. 鱼粉蛋白与发酵酶解豆粕蛋白不同配比对日本沼虾生长及免疫性能的影响

- [J]. 动物营养学报, 2015, 27(1): 154-164.
- Ding Z L, Zhang Y X, Ye J Y, *et al.* Effects of different protein ratios of fish meal to fermented and enzymolysis soybean meal on growth and immune performance of oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(1): 154-164(in Chinese).
- [30] Yan Q, Xie S, Zhu X, *et al.* Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. Aquaculture Nutrition, 2007, 13(3): 163-169.
- [31] Strange R J, Schreck C B, Golden J T. Corticoid stress responses to handling and temperature in Salmonids[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1977, 106(3): 213-218.
- [32] 强俊, 杨弘, 王辉, 等. 饲料蛋白水平对低温应激下吉富罗非鱼血清生化指标和HSP70 mRNA表达的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37(3): 434-443.
- Qiang J, Yang H, Wang H, *et al.* Effects of different dietary protein levels on serum biochemical indices and expression of liver HSP70 mRNA in GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) under low temperature stress[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(3): 434-443(in Chinese).
- [33] 刘襄河, 叶继丹, 王子甲, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉比例对牙鲆生长性能及生化指标的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(3): 450-458.
- Liu X H, Ye J D, Wang Z J, *et al.* Partial replacement of fish meal by meal in diets for juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(3): 450-458(in Chinese).

Nutritional physiological effects of soybean meal substituting for fish meal in the feed of obscure puffer (*Takifugu fasciatus*) and its relationship with soybean antigenic proteins

KONG Chun¹, HUA Xueming^{1,2*}, YANG Lu¹, LIU Tao¹, YANG Jingfeng¹,
WANG Tan¹, WANG Gang¹, WU Zhao¹, SHI Yonghai³, SHUI Chun³, SU Meiyong⁴

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Germplasm Resources, Ministry of Agriculture,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai 200443, China;

4. College of Engineering, Yantai Nanshan University, Yantai 265713, China)

Abstract: To study the effects of soybean antigenic proteins on growth, physiology and biochemistry in obscure puffer (*Takifugu fasciatus*), the fish with initial weight (39.84±3.09) g were randomly allocated to 8 groups, fed with 8 isonitrogenous and isoenergetic diets which were the practical diets containing high level fish meal (FMH), low level fish meal (FML), fermented soybean meal partially replacing fish meal in FML(FMLF), soybean meal partially replacing fish meal in FML (FMLS) and the semi-purified diets with different levels (0%, 5%, 8% and 12.5%) of soybean antigenic proteins respectively (AP0, AP5, AP8 and AP12.5) for two months. The results showed that the growth performance of FMLF were significantly higher than that of FML, while that in FMLS was not significantly different with FML. The growth of purified diets was increased, followed by decreasing tendency with the level of soybean antigenic protein. The nutritional composition of the muscle was affected by practical feed and semi-purified feed with varying degrees. The malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity (T-AOC) in liver and MDA in serum of soybean meal replacing group were significantly higher than those of FML, but the fermented soybean meal replacing group had no significant difference with the FML. The soybean antigenic proteins level of 8% of purified diets had the peak value in antioxidant capacity that were significantly higher than all the other groups. The glutamic oxaloacetic transaminase (AST) of FMLS in serum was significantly higher than the FML and AST of the FMLF had no significant difference with the FML, while the AST and glutamic-pyruvic transaminase (ALT) of purified diets were fluctuated with the level of soybean antigenic protein. Above results indicated that fish meal partially substituted by fermented soybean meal could promote the growth of obscure puffer compared to soybean meal partially replacing fish meal. Soybean antigenic protein was an important factor affecting the effects of fish meal replacement with soybean meal. The influence of soybean antigenic protein on growth, oxidation resistance and biochemical indexes varied with its content, existence state, alone or in combination with other anti-nutritional factors in diet.

Key words: *Takifugu fasciatus*; soybean antigenic proteins; growth; antioxidant; physiology and biochemistry

Corresponding author: HUA Xueming. E-mail: xmhua@shou.edu.cn

Funding projects: Opening Project of Key Laboratory of Freshwater Aquatic Germplasm Resources of Ministry of Agriculture, China in 2015; Capacity Building of Universities in Shanghai (14320502000); Shanghai Collaborative Innovation Center for Aquatic Animal Genetics and Breeding (ZF1206)