

# 饲料中添加两种蛋白水解物对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus* L.)幼鱼生长性能 及肠道组织学结构的影响\*

牟玉超<sup>1,2</sup> 柳 茜<sup>1,2</sup> 卫育良<sup>1</sup> 梁萌青<sup>1,3</sup>① 郑珂珂<sup>1</sup> 徐后国<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306;  
3. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071)

**摘要** 本研究共配制了 3 种等氮等脂的实验饲料, 其中, 对照组饲料使用 15% 鱼粉提供部分饲料蛋白, 2 个实验组饲料分别用鱼水解蛋白和鸡水解蛋白替代了饲料中 10% 的鱼粉蛋白。对初始体重为 4.16 g 左右的大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.) 幼鱼进行了为期 12 周的投喂, 研究了其对大菱鲆生长性能及肠道组织学结构的影响。结果显示, 鱼水解蛋白组(PHf)的特定生长率、饲料效率、蛋白效率比和蛋白质沉积率较对照组(FM)无显著差异( $P>0.05$ ), 但显著高于鸡水解蛋白组(PHc) ( $P<0.05$ ); 3 组实验鱼的摄食率无显著差异( $P>0.05$ ); PHf 和 PHc 组的鱼体蛋白含量显著高于 FM 组 ( $P<0.05$ ), 3 组实验鱼的脂肪含量无显著差异( $P>0.05$ )。PHf 和 PHc 组的鱼体肌肉必需氨基酸含量显著高于 FM 组 ( $P<0.05$ )。PHf 和 PHc 组的前肠和中肠黏膜皱襞高度大于 FM 组, 且 PHf 组较 FM 组差异显著 ( $P<0.05$ ); 3 组实验鱼的前肠和中肠上皮细胞的高度无显著差异 ( $P>0.05$ ); FM 组前肠和中肠的肠壁厚度大于其他 2 组, 且显著大于 PHf 组 ( $P<0.05$ )。大菱鲆饲料中使用鱼水解蛋白替代部分鱼粉蛋白在生长性能及肠道组织学结构方面要优于使用鸡水解蛋白。

**关键词** 鸡水解蛋白; 鱼水解蛋白; 生长性能; 肠道组织学结构; 大菱鲆

**中图分类号** S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)02-0083-08

随着水产养殖业的发展, 对鱼粉的需求不断增加, 导致鱼粉价格不断上涨, 供不应求。植物蛋白因其来源广泛、价格低廉等优点可作为鱼粉替代源, 但由于植物蛋白源含有抗营养因子、氨基酸不平衡等缺陷, 限制了其在水产饲料中的添加量(周岐存等, 2005; Bureau *et al*, 1998; Francis *et al*, 2001; Gomes *et al*, 1995; 陈伟, 2009<sup>1)</sup>; El-Saidy *et al*, 2003; 庄平等, 2002)。

水解蛋白是富含低分子寡肽的一类蛋白产品, 通过鱼体内源蛋白酶、内切型或外切型商品蛋白酶限定性酶解获得, 富含必需氨基酸、牛磺酸、矿物质及微量元素等(熊光权等, 1992; Liasset *et al*, 2008)。饲料中添加部分水解蛋白在对增强鱼类免疫力、提高鱼类成活率、增重率及提高饲料利用率方面有一定促进作用(李清等, 2005; Infante *et al*, 1997; Cahu *et al*, 1999;

\*公益性行业专项(NO.201303053)和国家自然科学基金项目(31172423)共同资助 [This work was supported by the Project of Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (NO.201303053), and National Natural Science Foundation of China (NO.31172423)]. 牟玉超, E-mail: muyuchao@163.com

① 通讯作者: 梁萌青, 研究员, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2015-12-02, 收修改稿日期: 2016-02-14

1) Chen W. Effects of antinutritional factors on the utilization of soybean proteins by Japanese flounder, (*Paralichthys olivaceus*). Doctoral Dissertation of Ocean University of China, 2009 [陈伟. 抗营养因子对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)利用大豆蛋白源的影响. 中国海洋大学博士研究生学位论文, 2009]

于辉等, 2003)。近年来, 各国学者就饲料中添加水解蛋白对大西洋鲑(*Salmo salar*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)和鲤鱼(*Cyprinus carpio*)幼鱼的影响进行了研究, 发现适度使用鱼水解蛋白可显著促进生长、提高消化率以及非特异性免疫功能(Liaset *et al.*, 2003; 胡梦红等, 2007), 但鸡肉蛋白水解物对鱼类生长性能的影响鲜见报道。

本研究以大菱鲆幼鱼为对象, 研究了在高植物蛋白含量饲料中使用鸡水解蛋白和鱼水解蛋白分别替代部分鱼粉对大菱鲆幼鱼生长性能、肌肉氨基酸组成及肠道组织学结构的影响, 为不同蛋白水解物在肉食性鱼类饲料中的合理利用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 水解蛋白的制备

鱼水解蛋白采用太平洋狭鳕鱼(*Theragra chalcogramma*)鱼排。鱼水解蛋白的制备方法参照Zheng等(2012)的方法, 酶解液使用旋转蒸发器(BUCHI)浓缩得到浓缩液, 然后冷冻干燥保存备用。鸡水解蛋白选自商用。

### 1.2 鱼水解蛋白、鸡水解蛋白分子量分布及氨基酸组成测定

鱼水解蛋白(PHf)和鸡水解蛋白(PHc)分子量分布采用卫育良等(2014)的方法, 氨基酸组成的测定在6 mol/L HCl中110℃水解24 h, 采用日立L-8900全自动氨基酸测定仪测定。2种水解蛋白产品PHf、PHc的分子量组分及氨基酸组成分别见表1和表2。

表1 不同来源水解蛋白的分子量分布(%)

Tab.1 Molecular weight distribution of two protein hydrolysates (%)

分子量 Molecular weight (Da)	PHf <sup>1</sup>	PHc <sup>2</sup>
10000–5000	0.10	0.19
5000–2000	1.33	3.22
2000–1000	6.65	12.62
1000–500	22.72	27.38
200–500	55.16	45.18
100–200	2.35	3.65
<100	11.69	7.76

1: 鱼水解蛋白; 2: 鸡水解蛋白, 下同

1: Fish protein hydrolysate; 2: Chicken protein hydrolysate; the same as below

表2 鱼水解蛋白和鸡水解蛋白的氨基酸组成(%干物质)

Tab.2 The amino acid composition of fish protein hydrolysate and chicken protein hydrolysate (% dry matter)

氨基酸 Amino acid(%)	PHf	PHc
天冬氨酸 Asp	6.78	7.01
苏氨酸 Thr	3.07	3.13
丝氨酸 Ser	3.35	3.01
谷氨酸 Glu	10.88	12.52
甘氨酸 Gly	5.12	13.49
丙氨酸 Ala	4.67	7.17
半胱氨酸 Cys	0.57	0.51
缬氨酸 Val	3.30	3.10
蛋氨酸 Met	1.92	1.10
异亮氨酸 Ile	2.88	2.32
亮氨酸 Leu	5.12	4.13
酪氨酸 Tyr	1.85	1.35
苯丙氨酸 Phe	2.86	2.47
赖氨酸 Lys	6.10	4.74
组氨酸 His	1.51	1.61
精氨酸 Arg	4.54	5.03
牛磺酸 Tau	0.77	0.12
总氨基酸 TAA	65.33	72.82
必需氨基酸 EAA	31.32	27.63
非必需氨基酸 NEAA	34.01	45.19
EAA/TAA	47.94	37.94
EAA/NEAA	92.08	61.14

### 1.3 实验饲料

本实验以红鱼粉、植物蛋白(豆粕、玉米蛋白粉、谷朊粉)及鱼水解蛋白(PHf)、鸡水解蛋白(PHc)为蛋白源, 以鱼油为脂肪源。不添加水解蛋白为对照组(FM), 2种水解蛋白分别替代10%的鱼粉蛋白, 制作成3种等氮、等脂的饲料, 饲料配方见表3。所有原料粉碎过80目筛, 将原料充分混匀, 制成粒径为3 mm的饲料, 在烘箱55℃下烘干, 然后-20℃保存备用。饲料氨基酸组成见表4。

### 1.4 实验鱼及养殖管理

养殖实验选用初始体重为(4.16±0.01) g的大菱鲆幼鱼, 养殖实验在烟台开发区天源水产有限公司开展。实验开始前, 将鱼苗暂养14 d, 使其适应养殖环境。实验采用自然光照, 养殖系统采用水体体积为120 L的玻璃钢桶, 养殖用水为深井海水, 流水养殖模式, 流速为5 L/min, 水温为(14.0±0.5)℃, 连续充气, 溶氧>7 mg/L, 盐度为30.0±0.5, pH为7.5–8.0。生长实验开始时, 停食24 h, 选择大小均匀、体格健壮且体表无病的大菱鲆幼鱼, 称重后随机分配在

12 个玻璃钢桶内(3 个处理组, 每组 4 个重复), 每桶 25 尾鱼, 每天用实验饲料饱食投喂 2 次(06:30 和 16:30), 投喂结束 30 min 后, 对残饵进行统计, 并换水 1/2。养殖周期为 12 周。

表 3 实验饲料配方和营养组成(%)  
Tab.3 Formulation and proximate chemical composition of experimental diets (%)

原料 Ingredients (%)	FM	PHf	PHc
鱼粉 Fish meal	15.00	8.00	8.00
豆粕 Soybean meal	24.00	24.00	24.00
玉米蛋白粉 Corn gluten meal	12.00	12.00	12.00
谷朊粉 Wheat gluten	18.00	18.00	18.00
鱼水解蛋白 PHf		6.20	
鸡水解蛋白 PHc			5.30
小麦粉 Wheat meal	12.30	12.60	13.50
鱼油 Fish oil	8.70	9.20	9.20
卵磷脂 Soy lecithin	1.00	1.00	1.00
维生素混合物 <sup>1</sup> Vitamin premix	1.50	1.50	1.50
矿物质混合物 <sup>2</sup> Mineral premix	1.50	1.50	1.50
氯化胆碱 Choline chloride	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙 CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.00	2.00	2.00
维生素 C Vitamin C	0.50	0.50	0.50
L-赖氨酸 L-lysine	0.80	0.80	0.80
D/L-蛋氨酸 D/L-methionine	0.40	0.40	0.40
L-精氨酸 L-arginine	0.30	0.30	0.30
营养成分 Proximate composition			
粗蛋白 Crude protein	50.24	50.23	50.46
粗脂肪 Crude lipid	11.33	11.29	11.31
灰分 Ash	7.24	7.23	6.36

1: 维生素混合物(mg/kg or g/kg 饲料): 硫胺素, 25 mg; 核黄素, 45 mg; 盐酸吡哆醇, 20 mg; 维生素 B12, 0.1 mg; 维生素 K3, 10 mg; 肌醇, 800 mg; 泛酸, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 叶酸, 20 mg; 生物素, 1.20 mg; 维生素 A, 32 mg; 维生素 D, 5 mg; 维生素 E, 120 mg; 次粉 18.67 g

2: 矿物质混合物(mg/kg or g/kg 饲料): 氟化钠, 2 mg; 碘化钾, 0.8 mg; 氯化钴, 50 mg; 硫酸铜, 10 mg; 硫酸铁, 80 mg; 硫酸锌, 50 mg; 硫酸镁, 1200 mg; 磷酸二氢钙, 3000 mg; 氯化钠, 100 mg; 沸石粉, 15.51 g

1: Vitamin premix (mg/kg or g/kg diet): thiamine 25 mg, riboflavin 45 mg, pyridoxine 20 mg, vitamin B12 0.1 mg, menadione 10 mg, inositol 800 mg, pantothenate 60 mg, tocopherol acetate 200 mg, folic acid 20 mg, biotin 1.2 mg, vitamin A 32 mg, vitamin D 5 mg, vitamin E 120 mg, wheat flour 18.67 g

2: Mineral premix (mg/kg or g/kg) diet: NaF 2 mg; KI 0.8 mg; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 50 mg; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 10 mg; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 80 mg; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 50 mg; MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 1200 mg; Ca (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 3000 g; NaCl 100 g; Mordenzeo 15.51 g

### 1.5 样品采集及生化指标测定

实验开始时, 随机取 10 尾鱼保存于-20℃以供后

续的鱼体成分分析实验。实验结束时, 停食 24 h, 每桶鱼称总重, 然后随机取 5 尾鱼, 保存于-20℃用于鱼体成分分析。每桶取 3 尾鱼, 取其前肠及中肠保存于 Davidson's 固定液(95%乙醇 330 ml, 甲醛 220 ml, 冰醋酸 115 ml, 纯水 335 ml)中, Davidson's 固定液的固定 24 h, 此后转移至 70%乙醇中保存。

饲料和鱼体样品在 105℃烘干至恒重, 通过失重法测定干物质含量, 然后进行生化测定。粗蛋白采用凯氏定氮法; 粗脂肪采用索氏抽提法; 灰分的测定需先在电炉上炭化后再在马福炉中 550℃燃烧 3 h, 失重法测定。

肠道组织切片, 先用乙醇脱水, 石蜡包埋, LEICA RM2235 型切片连续切片, HE 染色, 中性树脂封片, Nikon E800 型显微镜下观察、拍照。

表 4 饲料氨基酸组成(%干物质)

Tab.4 The amino acid composition of experimental diets (% dry matter)

氨基酸 Amino acid(%)	FM	PHf	PHc
天冬氨酸 Asp	2.86	2.74	2.74
苏氨酸 Thr	1.43	1.37	1.40
丝氨酸 Ser	1.92	1.84	1.89
谷氨酸 Glu	10.54	10.05	10.55
甘氨酸 Gly	1.67	1.67	2.08
丙氨酸 Ala	2.07	2.01	2.17
半胱氨酸 Cys	0.53	0.73	0.75
缬氨酸 Val	1.81	1.75	1.86
蛋氨酸 Met	0.89	0.53	0.69
异亮氨酸 Ile	1.61	1.59	1.69
亮氨酸 Leu	3.56	3.45	3.66
酪氨酸 Tyr	1.58	1.45	1.60
苯丙氨酸 Phe	2.72	2.67	3.22
赖氨酸 Lys	2.31	2.36	2.47
组氨酸 His	1.02	0.93	1.13
精氨酸 Arg	1.93	2.25	2.52
牛磺酸 Tau	0.14	0.16	0.12
总氨基酸 TAA	38.59	37.55	40.51
必需氨基酸 EAA	17.28	16.90	18.64
非必需氨基酸 NEAA	21.31	20.64	21.88
EAA/TAA	44.80	45.02	46.04
EAA/NEAA	81.18	81.89	85.40

### 1.6 计算及统计分析方法

增重率(Weight gain rate, %)=100×(终末体重-初始体重)/初始体重

特定生长率(Specific growth rate, %/d)=100×[ln(终末体重)-ln(初始体重)]/实验天数

摄食率(Feeding rate, %/d)=100×总干物质摄食量/[实验天数×(初始体重+终末体重)/2]

饲料效率(Feed efficiency)=鱼体增重(湿重)/总干物质摄食量

蛋白效率比(Protein efficiency ratio)=(终末体重-初始体重)/蛋白摄入量

蛋白质沉积率(Protein retention, %)=100×鱼体蛋白质贮存量/蛋白摄入量

采用 SPSS 17.0 统计软件对实验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 当差异达到显著水平( $P<0.05$ ), 进行邓肯多重比较(Duncan's multiple range tests), 数据表示为平均值±标准差(Mean±SD)。

## 2 结果

### 2.1 不同水解蛋白对大菱鲂幼鱼生长性能及饲料利用的影响

水解蛋白对大菱鲂幼鱼生长性能的影响见表 5。3 组实验鱼的成活率在 98%以上, 且 3 组之间无显著差异( $P>0.05$ )。3 组实验鱼之间的摄食率无显著差异( $P>0.05$ ); PHf 组的增重率、特定生长率与 FM 组之间无显著差异( $P>0.05$ ), 但显著高于 PHc 组( $P<0.05$ ); FM 与 PHf 组的饲料效率、蛋白质效率、蛋白质沉积率无显著差异( $P>0.05$ ), 但显著高于 PHc 组( $P<0.05$ )。

表 5 不同水解蛋白对大菱鲂幼鱼生长性能的影响(平均值±标准差)

Tab.5 The effects of dietary inclusion of two different protein hydrolysates on growth performance of juvenile turbot(Mean±SD)

项目 Items	FM	PHf	PHc
成活率 Survival rate(%)	99.0±2.0	98.0±2.3	98.0±2.1
增重率 Weight gain rate(%)	592.69±7.60 <sup>a</sup>	579.46±6.54 <sup>ab</sup>	446.49±5.94 <sup>c</sup>
特定生长率 Specific growth rate(%/d)	2.30±0.01 <sup>a</sup>	2.28±0.01 <sup>ab</sup>	2.02±0.01 <sup>c</sup>
摄食率 Feeding rate(%/d)	1.34±0.02	1.33±0.02	1.35±0.04
饲料效率 Feed efficiency	1.33±0.01 <sup>a</sup>	1.33±0.02 <sup>a</sup>	1.22±0.0 <sup>b</sup>
蛋白效率比 Protein efficiency ratio	2.30±0.03 <sup>a</sup>	2.26±0.04 <sup>a</sup>	2.08±0.06 <sup>b</sup>
蛋白沉积率 Protein retention(%)	33.81±0.30 <sup>a</sup>	33.00±0.65 <sup>a</sup>	29.91±0.96 <sup>b</sup>

注: 同行数据上标不同字母表示存在显著差异( $P<0.05$ ), 下同

Note: Values in the same row with different superscripts were significantly different ( $P<0.05$ ). The same as below

### 2.2 不同水解蛋白对大菱鲂鱼体化学组成及肌肉氨基酸组成的影响

PHf 和 PHc 组的鱼体化学组成中(表 6), 粗蛋白含量无显著差异( $P>0.05$ ), 但显著高于 FM 组( $P<0.05$ ); 粗脂肪含量 3 个实验组间无显著差异( $P>0.05$ ); FM、PHc 组的灰分含量显著高于 PHf 组( $P<0.05$ ), FM 和 PHc 组之间无显著差异( $P>0.05$ )。

在测得的肌肉的 16 种氨基酸中(表 7), PHf 组鱼体牛磺酸含量显著高于其他 2 组( $P<0.05$ ), FM、PHf、PHc 组呈鲜味氨基酸天冬氨酸、呈甜味氨基酸甘氨酸含

表 6 不同水解蛋白对大菱鲂幼鱼体化学组成的影响(%干物质)(平均值±标准差)

Tab.6 The effects of dietary inclusion of two different protein hydrolysates on body chemical compositions of juvenile turbot (% dry matter) (Mean±SD)

项目 Items	FM	PHf	PHc
粗蛋白 Crude protein	63.24±0.49 <sup>b</sup>	65.45±0.65 <sup>a</sup>	65.57±0.93 <sup>a</sup>
粗脂肪 Crude lipid	17.05±0.49	17.88±0.79	18.23±1.48
灰分 Ash	14.74±0.30 <sup>a</sup>	13.65±0.14 <sup>b</sup>	14.59±0.51 <sup>a</sup>

表 7 不同水解蛋白对大菱鲂幼鱼肌肉氨基酸组成的影响(%干物质)(平均值±标准差)

Tab.7 The effects of dietary inclusion of two different protein hydrolysates on amino acid composition of muscle of juvenile turbot (% dry matter) (mean ± SD)

氨基酸 Amino acid(%)	FM	PHf	PHc
天冬氨酸 Asp	8.54±0.12	8.04±0.26	8.08±0.18
苏氨酸 Thr	3.78±0.09	3.65±0.13	3.72±0.13
丝氨酸 Ser	3.39±0.08	3.19±0.11	3.25±0.14
谷氨酸 Glu	13.78±0.20	13.56±0.45	13.77±0.20
甘氨酸 Gly	4.03±0.04	3.79±0.10	4.04±0.17
丙氨酸 Ala	5.20±0.13	5.08±0.15	5.23±0.14
半胱氨酸 Cys	0.79±0.04 <sup>b</sup>	0.80±0.07 <sup>b</sup>	1.76±0.14 <sup>a</sup>
缬氨酸 Val	3.91±0.05	4.16±0.17	4.21±0.04
蛋氨酸 Met	2.31±0.04	2.05±0.10	2.54±0.30
异亮氨酸 Ile	3.69±0.02	3.95±0.18	3.93±0.02
亮氨酸 Leu	6.45±0.09	6.78±0.28	6.87±0.16
酪氨酸 Tyr	2.82±0.03 <sup>b</sup>	3.28±0.22 <sup>a</sup>	3.01±0.04 <sup>b</sup>
苯丙氨酸 Phe	3.57±0.07 <sup>c</sup>	5.12±0.27 <sup>a</sup>	4.87±0.29 <sup>b</sup>
赖氨酸 Lys	7.68±0.10 <sup>b</sup>	8.37±0.32 <sup>a</sup>	8.34±0.20 <sup>a</sup>
组氨酸 His	1.70±0.02 <sup>c</sup>	2.08±0.20 <sup>a</sup>	1.91±0.03 <sup>b</sup>
精氨酸 Arg	5.00±0.07	6.16±0.93	5.24±0.12
牛磺酸 Tau	0.12±0.01 <sup>c</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>
总氨基酸 TAA	76.75±0.97	80.13±1.03	80.93±0.52
必需氨基酸 EAA	38.09±0.39 <sup>b</sup>	42.22±1.01 <sup>a</sup>	41.65±0.25 <sup>a</sup>
非必需氨基酸 NEAA	38.66±0.57	37.91±0.07	39.28±0.29
EAA/TAA	49.63±0.11 <sup>c</sup>	52.68±0.59 <sup>a</sup>	51.46±0.10 <sup>b</sup>
EAA/NEAA	98.53±0.44 <sup>c</sup>	111.35±2.64 <sup>a</sup>	106.03±0.41 <sup>b</sup>

量无显著差异( $P>0.05$ ); PHf 和 PHc 组必需氨基酸中的组氨酸及必需氨基酸含量显著高于 FM 组( $P<0.05$ ), PHf 组的必需氨基酸与总氨基酸比值、必需氨基酸与非必需氨基酸比值高于 FM、PHc 组, 并且显著高于 FM 组( $P<0.05$ ), FM、PHc 两者间无显著差异( $P>0.05$ )。

### 2.3 不同水解蛋白对大菱鲆肠道组织的影响

不同水解蛋白对大菱鲆肠道组织结构的影响见

表 8 不同水解蛋白对大菱鲆幼鱼肠道组织的影响(平均值±标准差)

Tab.8 The effects of dietary inclusion of two different protein hydrolysates on intestinal histological structure of juvenile turbot (Mean±SD)

项目 Items ( $\mu\text{m}$ )	FM	PHf	PHc
前肠 Foregut			
黏膜皱襞高度 Mucosal fold height	1040.99±28.52 <sup>b</sup>	1213.35±22.14 <sup>a</sup>	1121.88±70.35 <sup>ab</sup>
肠上皮细胞高度 Enterocyte height	52.09±1.72	51.79±1.27	54.71±1.98
肠壁厚度 Intestinal wall thickness	120.10±8.51 <sup>a</sup>	105.32±2.95 <sup>b</sup>	112.11±2.66 <sup>ab</sup>
中肠 Midgut			
黏膜皱襞高度 Mucosal fold height	710.57±13.81 <sup>b</sup>	786.32±20.82 <sup>a</sup>	744.92±7.81 <sup>b</sup>
肠上皮细胞高度 Enterocyte height	44.92±4.45	43.36±1.52	46.23±3.79
肠壁厚度 Intestinal wall thickness	104.04±2.70 <sup>a</sup>	96.12±3.08 <sup>b</sup>	101.76±3.36 <sup>ab</sup>

## 3 讨论

蛋白水解物是富含寡肽和游离氨基酸的蛋白制品, 在自制的鱼水解蛋白及购买的鸡水解蛋白中, 80%以上分子量小于 1000 Da (PHf, 91.92%; PHc, 83.97%) (表 1), 含有丰富的必需氨基酸和呈味氨基酸等(表 2), 具有良好的诱食性。本研究 3 组实验鱼的摄食率之间无显著差异( $P>0.05$ ), 说明组间的生长差异不是由饲料的适口性造成。Silk 等(1985)研究表明, 小肽和游离氨基酸具有独立的吸收机制。小肽的吸收具有吸收速度快、耗能低、载体不易饱和等特点(何吉祥等, 2003)。Srichanun 等(2014)研究发现, 小肽和游离氨基酸含量高的蛋白水解物会降低尖吻鲈(*Lates calcarifer* Bloch)稚鱼的生长性能, 分析其原因可能是这些小分子肽及游离氨基酸使刷状缘膜酶产量减低, 游离氨基酸过早通过肠道导致必需氨基酸吸收不平衡或是游离氨基酸过多导致氨基酸分解代谢增强等, 从而引起生长性能降低。多项研究表明, 适当添加鱼水解蛋白可以促进鱼类的生长性能及提高饲料利用(Tang *et al*, 2008; Zheng *et al*, 2012; Kotzamanis *et al*, 2007)。

本研究中, PHf 组的增重率、特定生长率与 FM 组之间差异不显著( $P>0.05$ ), 但显著高于 PHc 组( $P<0.05$ ), 说明添加鱼水解蛋白的实验组优于鸡水解

表 8。肠道切片显示, PHf 组的前肠皱襞高度显著高于 FM 组( $P<0.05$ ), PHc 组前肠皱襞高度较 FM 组和 PHf 组无显著差异( $P>0.05$ ); PHf 组的中肠黏膜皱襞高度显著高于 FM 和 PHc 组( $P<0.05$ ); 3 组实验鱼的前肠和中肠上皮细胞高度无显著差异( $P>0.05$ ); FM 组前肠和中肠的肠壁厚度大于其他 2 组, 且显著大于 PHf 组( $P<0.05$ ), PHc 组与 FM、PHf 组之间差异不显著( $P>0.05$ )。

蛋白组, PHc 组的饲料效率、蛋白质效率、蛋白质沉积率显著低于其他 2 组( $P<0.05$ ), 说明水解鸡肉蛋白组的饲料利用较低。从鱼水解蛋白与鸡水解蛋白的分子量分布上看无明显差异, 必需氨基酸、蛋氨酸、亮氨酸、异亮氨酸及赖氨酸鸡水解蛋白低于鱼水解蛋白(表 1, 表 2), 但饲料氨基酸蛋氨酸、亮氨酸、异亮氨酸及赖氨酸无显著差别(表 4)。造成生长和饲料利用差异的原因可能是鱼蛋白水解物中含有的牛磺酸是鸡水解蛋白的 6.25 倍, 牛磺酸是一种水溶性氨基酸衍生物, 是重要的条件必需氨基酸, 在高植物蛋白饲料中可显著促进肉食性鱼类的生长。本研究中, 鸡水解蛋白组的牛磺酸水平与鱼水解蛋白组及对照组相比较低, 因而可能影响了大菱鲆的生长性能及饲料利用。

Oliva-Teles 等(1999)研究发现, 鱼水解蛋白没有改善大菱鲆幼鱼的生长及饲料的利用情况, 而本研究是在鱼粉含量较低条件下添加蛋白水解物, 鱼水解蛋白组跟对照组在生长上无显著差异( $P>0.05$ ), 可能的原因是 Oliva-Teles 等(1999)的对照组含有 68.6% 的鱼粉, 分别以 5%、10%和 15%鱼水解蛋白替代鱼粉, 实验饲料中鱼粉最低组为 46.3%, 鱼水解蛋白的作用被高鱼粉所掩盖, 而本研究对照组鱼粉含量为 15%, 而水解蛋白实验组鱼粉含量仅为 8%, 大大低于的 Oliva-Teles 等(1999)的鱼粉用量。

本研究通过观察实验鱼的肠道组织变化,从而评价水解蛋白对大菱鲂幼鱼肠道发育的影响作用。黏膜高度、肠上皮细胞高度、肠壁厚度是评价肠道组织结构变化的重要指标。黏膜高度、肠上皮细胞高度、肠壁厚度从前肠至中肠有逐渐减低的趋势,添加水解蛋白的2组实验鱼的前肠和中肠黏膜皱襞高度大于FM组,并且PHf与FM组差异显著( $P<0.05$ )。黏膜皱襞数量和高度升高,肠道吸收面积增大,吸收营养物质的能力提高。Bonaldo等(2006)和Peng等(2013)研究大豆蛋白分别对埃及鲷(*Solea aegyptiaca*)幼鱼、大菱鲂幼鱼肠道显微结构的影响,发现高水平添加大豆蛋白对其肠道有不利影响,说明蛋白质质量对幼鱼肠道的发育有影响。杨玉荣等(2006)研究发现,日粮中添加80–120 g/kg的大豆活性肽能够提高肉鸡生长初期肠道杯状细胞的数量,增加肠道绒毛长度与隐窝深度的比值,说明适量添加水解大豆蛋白对肉鸡肠道发育有促进作用。肠壁厚度、小肠的节律性伸缩及食糜的机械消化效率密切相关,因此,肠壁厚度会影响小肠的吸收功能。陈付菊等(2013)研究表明,随着年龄的增加,青海湖裸鲤(*Cymnocypris przewalskii*)肠壁厚度逐渐增加,证明青海湖裸鲤可能通过增加肠壁厚度提高肠道的消化吸收功能。Bonaldo等(2011)研究混合植物蛋白对大菱鲂幼鱼生长、肠道组织变化时发现,肠道组织学变化跟生长没有相关关系。本研究与Bonaldo等(2011)实验结果相似,大菱鲂的生长跟肠道组织结构变化相关性不高。添加水解蛋白对大菱鲂幼鱼肠道黏膜皱襞数量及高度有促进作用,尤其是PHf组的促进作用更明显,但水解蛋白组的肠壁厚度小于对照组,与黏膜皱襞长度的结果相反,其原因有待于进一步研究。

#### 4 小结

在高植物蛋白含量的大菱鲂饲料中,用水解蛋白替代10%的鱼粉蛋白不影响大菱鲂的生长,鱼水解蛋白在生长性能上优于鸡水解蛋白,且更能改善大菱鲂肠道组织学结构。

#### 参 考 文 献

- Bonaldo A, Parma L, Mandrioli L, *et al.* Increasing dietary plant proteins affects growth performance and ammonia excretion but not digestibility and gut histology in turbot (*Psetta maxima*) juveniles. *Aquaculture*, 2011, 318(1): 101–108
- Bonaldo A, Roem AJ, Pecchini A, *et al.* Influence of dietary soybean meal levels on growth, feed utilization and gut histology of Egyptian sole (*Solea aegyptiaca*) juveniles. *Aquaculture*, 2006, 261(2): 580–586
- Bureau DP, Harris AM, Cho CY. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 1998, 161(1): 27–43
- Cahu CL, Infante JLZ, Quazuguel P, *et al.* Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old seabass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, 1999, 171(1–2): 109–119
- Chen FJ, Wang HC. Study on histological structure of intestine in *Gymnocypris przewalskii* with different age. *Progress in Veterinary Medicine*, 2013, 34(1): 34–37 [陈付菊, 王洪超. 不同年龄青海湖裸鲤肠道组织结构的比较研究. *动物医学进展*, 2013, 34(1): 34–37]
- El-Saidy DMSD, Gaber MMA. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. *Aquaculture Research*, 2003, 34(13): 1119–1127
- Francis G, Makkar HPS, Becker K. Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 2001, 199(3–4): 197–227
- Gomes EF, Rema P, Kaushik SJ. Replacement of fish meal by plant proteins in the diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Digestibility and growth performance. *Aquaculture*, 1995, 130(2–3): 177–186
- He JX, Ding FQ. Small peptides and their applications in fish nutrition. *Reservoir Fisheries*, 2007, 27(2): 95–97 [何吉祥, 丁凤琴. 小肽及其在鱼类营养中的应用. *水利渔业*, 2007, 27(2): 95–97]
- Hu MH, Wang YM, Xiong BX. The small peptide absorption mechanism and its effect in fish nutrition physiology. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition) Agricultural Science Version*, 2007, 4(1): 39–44 [胡梦红, 王有基, 熊邦喜. 小肽的吸收机制及其对鱼类的营养生理学效应. *长江大学学报(自然科学版: 农学卷)*, 2007, 4(1): 39–44]
- Infante JLZ, Cahu CL, Peres A. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development. *Journal of Nutrition*, 1997, 127(4): 608–614
- Kotzamanis YP, Gisbert E, Gatesoupe FJ, *et al.* Effects of different dietary levels of fish protein hydrolysates on growth, digestive enzymes, gut microbiota, and resistance to *Vibrio anguillarum* in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology*,

- Part A, Molecular and Integrative Physiology, 2007, 147(1): 205–214
- Li Q, Mao HM, Xiao TY. The effect of small peptides on immune function of common carp. *Feed Research*, 2005(5): 1–3 [李清, 毛华明, 肖调义. 小肽对鲤鱼免疫力的影响. *饲料研究*, 2005(5): 1–3]
- Liaset B, Espe M. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of fish-raw materials. *Process Biochemistry*, 2008, 43(1): 42–48
- Liaset B, Julshamn K, Espe M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex™. *Process Biochemistry*, 2003, 38(12): 1747–1759
- Oliva-Teles A, Cerqueira AL, Gonçalves P. The utilization of diets containing high levels of fish protein hydrolysate by turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles. *Aquaculture*, 1999, 179(1): 195–201
- Peng M, Xu W, Ai QH, *et al.* Effects of nucleotide supplementation on growth, immune responses and intestinal morphology in juvenile turbot fed diets with graded levels of soybean meal (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 2013, 392(10): 51–58
- Silk DBA, Grimble GK, Rees RG. Protein digestion and amino acid and peptide absorption. *Proceedings of the Nutrition Society*, 1985, 44(1): 63–72
- Srichanun M, Tantikitti C, Kortner TM, *et al.* Effects of different protein hydrolysate products and levels on growth, survival rate and digestive capacity in Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch) larvae. *Aquaculture*, 2014, 428: 195–202
- Tang H, Wu T, Zhao Z, *et al.* Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.). *Journal of Zhejiang University Science B*, 2008, 9(9): 684–690
- Wei YL, Liang MQ, Zheng KK, *et al.* The effects of fish protein hydrolysate on the digestibility of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(5): 910–920 [卫育良, 梁萌青, 郑珂珂, 等. 水解鱼蛋白对大菱鲂幼鱼消化率的影响. *水生生物学报*, 2014, 38(5): 910–920]
- Xiong GQ, Zhang H. Study on enzyme hydrolysis in low value freshwater fish. *China Fisheries*, 1992(8): 37–38 [熊光权, 张弘. 低值淡水鱼的酶法水解. *中国水产*, 1992(8): 37–38]
- Yang YR, She RP, Zhang RJ, *et al.* Effect of soybean peptide on the structure of broiler intestine mucosa. *Chinese Journal of Animal Science*, 2006, 42(15): 13–15 [杨玉荣, 余锐萍, 张日俊, 等. 大豆活性肽对肉鸡肠道黏膜结构的影响. *中国畜牧杂志*, 2006, 42(15): 13–15]
- Yu H, He JH. The effect of small peptides on growth performances in grass carps. *Journal of Foshan University (Natural Science Edition)*, 2003, 21(4): 56–58 [于辉, 贺建华. 小肽对幼龄草鱼生长性能的影响. *佛山科学技术学院学报(自然科学版)*, 2003, 21(4): 56–58]
- Zheng K, Liang M, Yao H, *et al.* Effect of dietary fish protein hydrolysate on growth, feed utilization and IGF-I levels of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(3): 297–303
- Zhou QC, Mai KS, Liu YJ, *et al.* Advances in animal and plant protein sources in place of fish meal. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(3): 404–410 [周歧存, 麦康森, 刘永坚, 等. 动植物蛋白源替代鱼粉研究进展. *水产学报*, 2005, 29(3): 404–410]
- Zhuang P, Chen XB, Zeng CP, *et al.* Study on optimum dietary animal-plant protein ratio for juvenile *Acipenser sinensis*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2002, 14(1): 61–64 [庄平, 陈喜斌, 曾翠平, 等. 中华鲟幼鲟饲料中适宜动植物蛋白比的研究. *动物营养学报*, 2002, 14(1): 61–64]

(编辑 冯小花)

## Effects of Dietary Inclusion of Two Protein Hydrolysates on Growth Performance and Intestinal Histological Structure of Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

MU Yuchao<sup>1,2</sup>, LIU Xi<sup>1,2</sup>, WEI Yuliang<sup>1</sup>, LIANG Mengqing<sup>1,3</sup>①, ZHENG Keke<sup>1</sup>, XU Houguo<sup>1</sup>

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071)

**Abstract** This experiment used laboratory-made fish protein hydrolysates (PHf) and the commercial chicken protein hydrolysate (PHc) to replace 10% total fish meal protein and designed three isonitrogenous and isoenergetic diets: the control group (FM), PHf group (fish protein hydrolysate) and PHc group (chicken protein hydrolysate). Juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) (4.16±0.01 g) were fed with these three diets for 12 weeks to investigate the effects of different protein hydrolysates on the growth performance and intestinal structure of juvenile turbot. Results of this study showed that the specific growth rate, feed efficiency, protein efficiency ratio and protein retention in FM group and PHf group had no significant difference ( $P>0.05$ ), but both the two groups were significantly higher than the PHc group ( $P<0.05$ ); there was no significant difference in feeding rate in the three groups ( $P>0.05$ ). PHf and PHc had higher crude protein than FM ( $P<0.05$ ), while had no significant difference in crude lipid ( $P>0.05$ ). PHf and PHc had higher essential amino acid content than FM ( $P<0.05$ ). The plica height in foregut and midgut of PHf and PHc were higher than FM, and PHf had significant difference with FM ( $P<0.05$ ), while the intestinal wall thickness of FM was higher than the other two groups, and significantly higher than PHf ( $P<0.05$ ); there was no significant difference in foregut and midgut enterocytes height of the experimental groups ( $P>0.05$ ). These results indicated that the growth response and feed utilization of PHf was superior to PHc, which suggesting that replaced fish meal by fish protein hydrolysates in high plant protein diets had some advantage over chicken protein hydrolysates.

**Key words** Chicken protein hydrolysates; Fish protein hydrolysates; Growth performance; Intestinal structure; *Scophthalmus maximus* L.

① Corresponding author: LIANG Mengqing, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn