



大菱鲆利用水解鱼蛋白和牛蛙蛋白的差异

刘晋士^{1,2}, 卫育良^{2,3}, 徐后国^{2,3}, 朱永祥⁴, 梁萌青^{2,3*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

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, 山东 青岛 266237;

4. 江苏中洋集团股份有限公司, 江苏 南通 226600)

摘要: 为探究大菱鲆对不同来源水解蛋白的利用效率, 实验选取太平洋狭鳕和牛蛙下脚料为蛋白来源, 分别制备水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白, 以初始体重为 (8.00±0.01) g 的大菱鲆为研究对象, 进行为期 56 d 的养殖实验。实验设 2 个对照组, 正对照组 (PC) 鱼粉含量为 35.0%, 负对照组 (NC) 鱼粉含量为 26.5%; 设 2 个实验组, 水解鱼组 (FPH) 为 26.5% 的鱼粉和 8.0% 的水解鱼蛋白, 水解牛蛙组 (BPH) 为 26.5% 的鱼粉和 9.5% 的水解牛蛙蛋白。结果显示, FPH 组的终末体重、增重率和特定生长率显著高于 BPH 组和 NC 组, 与 PC 组无显著差异。摄食 6 h 后, 食糜必需氨基酸中赖氨酸、精氨酸、苏氨酸和缬氨酸在 BPH 组的含量显著高于 PC 组; 多数非必需氨基酸在 BPH 组含量最高, 但无显著差异。质子偶联氨基酸转运载体 PAT1 和小肽转运载体 PepT1 的 mRNA 表达量分别在 FPH 组和 BPH 组都显著高于 PC 组和 NC 组; 碱性氨基酸转运载体 CAT1 和 y⁺L 型氨基酸转运载体 y⁺LAT2 的 mRNA 表达量在各处理组中无显著差异。研究表明, 在饲料中添加鳕和牛蛙蛋白水解物均能提高大菱鲆的生长性能, 且水解鱼蛋白的促生长效果优于水解牛蛙蛋白。食糜氨基酸含量及氨基酸和小肽转运载体表达量的结果也表明, 大菱鲆对添加水解鱼蛋白的饲料利用率优于水解牛蛙蛋白。本研究结果为不同蛋白水解物在大菱鲆饲料中的应用提供理论参考。

关键词: 大菱鲆; 水解鱼蛋白; 水解牛蛙蛋白; 生长性能; 氨基酸

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

水产饲料中的蛋白质在鱼类肠道中通常被消化酶分解为氨基酸和部分小肽, 然后通过肠道黏膜上相应的转运通道进入血液, 与氨基酸相比, 小肽能够更容易地被吸收利用^[1]。蛋白水解物是利用蛋白酶或酸等方法水解完整蛋白, 得到富含游离氨基酸和多肽的蛋白产品^[2-4], 易被鱼类等水产动物的肠道消化吸收^[5-6], 具有广阔的应用前景。添加蛋白水解物被认为是一种有效缓解鱼粉短缺的有效途径, 因为其能够最大限度地利用动物加

工过程中的副产物替代饲料中的鱼粉, 从而在减少这些副产物对环境污染的同时, 解决全球水产养殖快速发展所面临的鱼粉短缺问题。

近年来, 众多国内外学者在多种重要的养殖鱼类上开展了水解鱼蛋白研究工作, 其中包括虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[7]、大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*)^[8]、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[9]、舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*)^[10] 和珍珠龙胆石斑鱼 [*Epinephelus fuscoguttatus* (♀) × *E. lanceolatus*

收稿日期: 2021-04-30 修回日期: 2021-10-16

资助项目: 国家自然科学基金 (31972803, 31902387); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2020TD48); 现代农业产业技术体系专项 (CARS-47)

第一作者: 刘晋士 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 1936490185@qq.com

通信作者: 梁萌青, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: liangmq@ysfii.ac.cn



(♂)^[11]等, 发现饲料中适量添加水解鱼蛋白可显著促进养殖鱼类的生长、提高消化率以及非特异性免疫功能^[12-13]。牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 是我国近年来养殖量最大的两栖动物, 年产量超过 30 万 t^[14-15], 主要作为火锅食材, 然而牛蛙在进入火锅店之前加工过程中产生的下脚料很多被直接扔掉, 不仅浪费了蛋白资源, 还造成环境污染。鱼的下脚料被水解成的多肽蛋白应用于水产饲料已经有很多报道, 虽然牛蛙已被证明富含多肽^[16], 但关于牛蛙下脚料的水解物却鲜见报道, 本实验拟将牛蛙下脚料进行水解, 在减轻对环境污染的同时, 寻找可替代鱼粉的优质蛋白源。

本实验旨在研究饲料中水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白替代部分鱼粉对大菱鲆生长性能、体组成、食糜中氨基酸和肠道氨基酸及小肽转运载体表达的影响, 以期为不同蛋白水解物在大菱鲆饲料中的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 水解蛋白的制备

水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白的制备分别以黄线狭鳕 (*Theragra chalcogramma*) 和牛蛙下脚料为原料, 参照 Zheng 等^[17]的方法进行。通过酶(碱性蛋白酶和风味蛋白酶)处理和过滤离心制备鱼水解液和牛蛙水解液, 使用旋转蒸发器浓缩得到浓缩液。水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白的化学组成及氨基酸组成见表 1。

1.2 实验饲料配方与制作

本实验饲料以鱼粉、水解鱼蛋白以及水解牛蛙蛋白为主要动物蛋白源, 以豆粕、谷朊粉和玉米蛋白粉为主要植物蛋白源, 以鱼油和豆油为主要脂肪源, 配制粗蛋白含量约为 50%, 粗脂肪含量约为 10% 的基础饲料。实验饲料设 2 个对照组, 正对照组 (PC) 鱼粉含量为 35.0%, 负对照组 (NC) 鱼粉为 26.5%; 设 2 个实验组, 水解鱼组 (FPH) 为 26.5% 的鱼粉和 8.0% 的水解鱼蛋白, 水解牛蛙组 (BPH) 为 26.5% 的鱼粉和 9.5% 的水解牛蛙下脚料。饲料配方和饲料氨基酸组成分别见表 2 和表 3。所有原料先经粉碎并过 80 目筛网, 然后按照实验配方将原料混合均匀, 加水搅匀后通过制粒机制成等氮等脂、粒径为 3 mm 的颗粒饲料, 置于 55 °C 的烘箱烘干, 于 -20 °C 冷库保存备用。

表 1 水解鱼蛋白、水解牛蛙蛋白的化学组成和氨基酸组成 (干物质)

Tab. 1 Proximate chemical composition and amino acid composition of fish protein hydrolysate and bullfrog protein hydrolysate (dry matter) %

分析指标 analysis index	水解鱼蛋白 fish protein hydrolysate	水解牛蛙蛋白 bullfrog protein hydrolysate
化学组成 chemical composition		
粗蛋白 crude protein	80.52	68.15
粗脂肪 crude lipid	0.17	1.72
氨基酸 amino acid		
必需氨基酸 EAA		
苏氨酸 Thr	2.95	2.56
缬氨酸 Val	3.18	2.44
蛋氨酸 Met	1.94	1.03
异亮氨酸 Ile	2.85	2.07
亮氨酸 Leu	4.91	3.68
苯丙氨酸 Phe	2.62	2.38
赖氨酸 Lys	5.24	3.82
组氨酸 His	1.34	1.25
精氨酸 Arg	4.18	4.26
总必需氨基酸 Σ EAA	29.21	23.49
非必需氨基酸 NEAA		
牛磺酸 Tau	0.70	0.08
天冬氨酸 Asp	6.81	5.74
丝氨酸 Ser	3.12	3.49
谷氨酸 Glu	11.34	9.44
甘氨酸 Gly	4.61	10.32
丙氨酸 Ala	4.28	5.03
胱氨酸 Cys	0.56	0.42
酪氨酸 Tyr	1.84	1.64
总非必需氨基酸 Σ NEAA	33.25	36.18

注: EAA. 必需氨基酸; NEAA. 非必需氨基酸; Σ EAA. 总必需氨基酸; Σ NEAA. 总非必需氨基酸, 下同。
Notes: EAA. essential amino acid; NEAA. non-essential amino acid; Σ EAA. total essential amino acid; Σ NEAA. total non-essential amino acid, the same below.

1.3 实验用鱼和养殖管理

本实验所有操作严格遵守实验动物福利伦理和动物实验安全审查规范, 并按照中国水产科学研究院黄海水产研究所动物实验伦理审查委员会制定的规章制度执行。本实验以初始体重为 (8.00±0.01) g 的大菱鲆幼鱼 (购自山东海阳水产有限公司) 为对象, 在山东省海阳市黄海水产有限公司进行周期为 56 d 的养殖实验。开始实验前, 将鱼暂养 7 d 以适应养殖环境, 然后对大菱鲆幼鱼

表 2 实验饲料配方及营养成分组成 (干物质)

Tab. 2 Formulation and proximate chemical composition of experimental diets (dry matter) %

原料组成 ingredients	PC	FPH	BPH	NC
鱼粉 fish meal	35.00	26.50	26.50	26.50
豆粕 soybean meal	16.00	16.00	16.00	21.00
谷朊粉 wheat gluten	5.00	5.00	5.00	6.00
玉米蛋白粉 corn gluten meal	10.00	10.00	10.00	15.00
水解鱼蛋白 fish protein hydrolysate	0.00	8.00	0.00	0.00
水解牛蛙蛋白 bullfrog protein hydrolysate	0.00	0.00	9.50	0.00
小麦粉 wheat meal	24.30	24.00	22.50	21.10
鱼油 fish oil	2.50	3.30	3.30	3.20
豆油 soybean oil	2.50	2.50	2.50	2.50
卵磷脂 soybean lecithin	1.50	1.50	1.50	1.50
三氧化二钇 yttrium oxide	0.10	0.10	0.10	0.10
矿物质混合物 ¹⁾ mineral premix	0.50	0.50	0.50	0.50
维生素混合物 ²⁾ vitamin premix	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 choline chloride	0.40	0.40	0.40	0.40
维生素 C vitamin C	0.20	0.20	0.20	0.20
化学组成 proximate composition				
水分 moisture	7.32	7.15	5.61	5.86
粗蛋白 crude protein	50.00	50.03	49.57	49.71
粗脂肪 crude lipid	9.91	10.38	9.18	10.71
灰分 ash	8.31	8.09	8.41	8.12

注: 矿物质预混料和维生素预混料均为海水鱼专用, 购自青岛赛格林生物工程技术有限公司; 1) 矿物质混合物(mg/kg 饲料)为氟化钠 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 1 200 mg, 磷酸二氢钙 3 000 mg, 氯化钠 100 mg, 沸石粉 3.49 g; 2) 维生素混合物(mg/kg 饲料)为硫胺素 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 8.66 g; PC. 正对照组, FPH. 水解鱼蛋白组, BPH. 牛蛙水解蛋白组, NC. 负对照组。

Notes: mineral premix and vitamin premix, designed for marine fish, were purchased from Qingdao Green Biological Engineering Co., Ltd., Qingdao, China; 1) mineral premix (mg/kg) diet NaF 2 mg, KI 0.8 mg, CoCl₂·6H₂O 50 mg, CuSO₄·5H₂O 10 mg, FeSO₄·7H₂O 80 mg, ZnSO₄·7H₂O 50 mg, MnSO₄·4H₂O 1 200 mg, Ca(H₂PO₄)₂·2H₂O 3 000 mg, NaCl 100 mg, mordenzeo 3.49 g; 2) vitamin premix (mg/kg) 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 1.20 mg, vitamin A 32 mg, vitamin D 5 mg, vitamin E 120 mg, wheat flour 8.66 g. PC. positive control group, FPH. fish protein hydrolysate group, BPH. bullfrog protein hydrolysate group, NC. negative control group.

饥饿处理 24 h, 选取健康有活力的大菱鲂幼鱼随机分配到 12 个桶中 (4 个处理组, 每个处理 3 个重复), 每桶 30 尾鱼。养殖期间, 在室内进行流水养殖, 每天早 (07:30) 晚 (17:30) 分别进行人工缓慢投喂至表观饱食。养殖过程中, 水温为 14~16 °C; 盐度为 30~31; pH 值为 7.4~8.2; 溶解氧含量为 5~7 mg/L。每天将残余的饲料和粪便及

表 3 实验饲料的氨基酸组成 (干物质)

Tab. 3 Amino acid composition of experimental diets (dry matter) %

氨基酸 amino acid	PC	FPH	BPH	NC
必需氨基酸 EAA				
苏氨酸 Thr	1.83	1.76	1.87	1.56
缬氨酸 Val	2.45	2.31	2.47	2.16
蛋氨酸 Met	0.90	0.88	1.03	0.75
异亮氨酸 Ile	1.98	1.91	2.13	1.73
亮氨酸 Leu	4.00	3.83	4.07	3.75
苯丙氨酸 Phe	2.44	2.26	2.05	2.11
赖氨酸 Lys	2.66	2.64	2.56	2.10
组氨酸 His	1.37	1.23	1.07	1.05
精氨酸 Arg	2.71	2.53	2.55	2.12
总必需氨基酸 Σ EAA	20.35	19.37	19.80	17.34
非必需氨基酸 NEAA				
牛磺酸 Tau	0.49	0.45	0.29	0.34
天冬氨酸 Asp	3.88	3.78	3.96	3.39
丝氨酸 Ser	1.99	1.96	2.14	1.78
谷氨酸 Glu	9.27	9.14	9.55	8.47
甘氨酸 Gly	1.96	1.85	3.42	1.65
丙氨酸 Ala	2.66	2.68	3.49	2.16
胱氨酸 Cys	7.59	7.26	7.97	6.80
酪氨酸 Tyr	1.77	1.63	1.63	1.57
总非必需氨基酸 Σ NEAA	29.62	28.75	32.45	25.89

时用虹吸管吸出, 并定期对养殖用桶进行清洗。

1.4 样品采集及常规指标测定

样品采集 实验开始前, 随机取 6 尾健康有活力的大菱鲂作为初始鱼, 取样样本保存于-20 °C, 用于后续鱼体成分分析。取样前, 对所有鱼进行 24 h 饥饿处理, 称取每桶鱼的总重量并记录尾数, 用于计算相关生长指标。随后再次进行饱食投喂, 在最后一次投喂 6 h 后, 每组随机取 4 尾鱼, 用 MS222 (1 : 10000, 体积比) 麻醉实验鱼, 从内脏团中分离出肠道, 取中肠内容物即肠道食糜至 1.5 mL 离心管, 然后将肠道组织液氮速冻用于肠道基因表达水平分析 (刮取肠道食糜等内容物时, 注意防止肠道黏膜损伤)。取完肠道组织后的鱼在背部相同位置取肌肉, 保存于-20 °C 冰箱中, 用于肌肉粗成分和氨基酸的测定。最后, 每个养殖桶随机取 2 尾鱼置于-20 °C 冰箱中保存, 用于测量鱼体组成和形体指标。所有分子实验样品置于-80 °C

超低温冰箱中保存备用。

常规指标测定 饲料和全鱼样品在 105 °C 下烘干至恒重后求得水分含量; 采用凯氏定氮法 (VELP UDK142 全自动蛋白测定仪, 意大利) 测定粗蛋白质含量; 采用氯仿-甲醇法测定粗脂肪含量 (FOSS SOXTEC 2050 索氏抽提仪, 瑞典); 采用失重法测定灰分含量, 样品在马弗炉中灼烧 6 h (550 °C)。将样品在 110 °C 下放入 6 mol/L 的 HCl 中水解 22~24 h, 然后采用日立 L-8900 型氨基酸分析仪 (Hitachi L-8900 全自动氨基酸分析仪, 日本) 测定饲料和肌肉中的全氨基酸组成。

肠道转运载体相关基因表达 采用 RNAiso Plus (TaKaRa) 提取肠道中的总 RNA, 采用 Prime Script™ RT 试剂盒 (TaKaRa) 反转录成 cDNA。采用实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 分析不同处理之间 mRNA 的相对定量表达。内参基因选取 *β-actin*。基因表达分析主要集中在肠道 B0 中性氨基酸转运载体 1 (B0AT1, SLC6A19)、碱性氨基酸转运载体 1 (CAT1, SLC7A1)、质子偶联氨基酸转运载体 1 (PAT1, SLC36A1)、y⁺L 型氨基酸转运载体 2 (y⁺LAT2, SLC7A6) 和小肽转运载体 1 (PepT1, SLC15A1)。使用 SYBR® Premix Ex Taq™ (TaKaRa) 及罗氏定量 PCR 仪 (Roche Light Cycler 96) 进行荧光定量 PCR 实验。反应体系包括 2 μL cDNA 模板, 10 μL SYBR® Premix Ex Taq™ (2×), 0.8 μL 上游引物 (10 μmol/L), 0.8 μL 下游引物 (10 μmol/L) 及 6.4 μL 纯水。

qRT-PCR 程序设定: 95 °C 5 min; 90 °C 5 s, 55 °C 20 s, 72 °C 10 s, 40 次循环。后接熔解曲线绘制 (58~95 °C, 每分钟升高 1.85 °C) 以确定 PCR 产物的特异性。每个样品 2 个重复。采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法计算靶基因的相对表达量。

1.5 数据分析

存活率 (survival rate, SR, %) = 实验结束每桶鱼尾数 / 实验开始每桶鱼尾数 × 100%

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

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) = $(\ln \text{终末体重} - \ln \text{初始体重}) / \text{养殖天数} \times 100\%$

摄食率 (feed intake, FI, %/d) = 总干物质摄食量 / [养殖天数 × (初始体重 + 终末体重) / 2] × 100%

饲料效率 (feed efficiency, FE) = (终末体重 - 初始体重) / 摄入饲料总量

蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER) =

(终末体重 - 初始体重) / (摄入饲料总量 × 饲料蛋白质含量)

蛋白质沉积率 (protein productive value, PPV, %) = [(实验终末鱼体蛋白含量 - 实验初始鱼体蛋白含量) / 蛋白质摄入量] × 100%

所有统计分析均采用 SPSS 16.0 软件, 对实验各数据进行单因素方差分析 (ANOVA) 检验, 当不同处理之间存在显著差异 ($P < 0.05$) 时, 采用 Tukey 氏法进行多重比较, 所有数值以平均值 ± 标准误 (mean ± SE) 表示。

2 结果

2.1 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲆生长性能及饲料利用的影响

不同饲料处理对大菱鲆生长及饲料利用的影响见表 4。FPH 组的终末体重、增重率和特定生长率显著高于 BPH 组和 NC 组 ($P < 0.05$), 与 PC 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。BPH 组的终末体重、增重率和特定生长率虽与 PC 组和 NC 组都无显著差异, 但高于 NC 组且低于 PC 组。4 个处理组的存活率、摄食率、饲料效率、蛋白质效率和蛋白质沉积率均无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.2 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对鱼体成分及肌肉氨基酸组成的影响

水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对鱼体成分的影响见表 5。4 个处理组的水分、粗蛋白和粗脂肪含量无显著差异 ($P > 0.05$)。NC 组的灰分显著高于 FPH 组 ($P < 0.05$), 与 PC 组和 BPH 组无显著差异 ($P > 0.05$)。

水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲆肌肉氨基酸组成的影响见表 6。4 个处理组的大菱鲆肌肉总氨基酸、必需氨基酸和非必需氨基酸均无显著差异 ($P > 0.05$)。但必需氨基酸中缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、组氨酸、精氨酸以及总氨基酸含量在 FPH 组都是最高的, 它们在 BPH 组的含量与 PC 组接近。非必需氨基酸中的天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸和甘氨酸含量在 FPH 组则是最低的, 甘氨酸和总非必需氨基酸在 BPH 组含量最高。

2.3 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲆中肠食糜中氨基酸组成的影响

食糜中必需氨基酸总量无显著差异 ($P > 0.05$), 但必需氨基酸中赖氨酸和精氨酸在 BPH 组的含量

表 4 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂生长和饲料利用的影响

Tab. 4 Effects of fish protein hydrolysate and bullfrog protein hydrolysate on the growth and feed utilization of *S. maximus*

项目 items	PC	FPH	BPH	NC
初始体重/g initial body weight	8.01±0.01	7.99±0.01	7.97±0.00	8.00±0.03
终末体重/g final body weight	43.87±1.65 ^{ab}	48.01±1.13 ^a	38.40±1.68 ^{bc}	35.82±0.49 ^c
存活率/% survival rate	84.62±8.88	93.38±1.40	88.46±11.54	74.23±8.22
增重率/% weight gain rate	448.32±20.68 ^{ab}	500.18±14.18 ^a	379.96±20.97 ^b	347.74±6.07 ^b
特定生长率/(%/d) special growth rate	2.83±0.06 ^{ab}	2.99±0.04 ^a	2.62±0.07 ^{bc}	2.49±0.01 ^c
摄食率/(%/d) feed intake	2.00±0.08	1.91±0.05	1.94±0.08	2.03±0.11
饲料效率 feed efficiency ratio	1.16±0.06	1.25±0.05	1.13±0.07	1.04±0.06
蛋白质效率 protein efficiency ratio	2.31±0.12	2.50±0.09	2.28±0.14	2.11±0.12
蛋白质沉积率/% protein productive value	38.91±5.02	38.81±1.87	35.67±1.91	33.47±0.47

注: 同一行数据中不同上标字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。

Notes: Data in the same row not sharing same superscript were significantly different ($P<0.05$), the same below.

表 5 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂体成分的影响

Tab. 5 Effects of fish protein hydrolysate and bullfrog protein hydrolysate on body composition of *S. maximus* %

体成分 body composition	PC	FPH	BPH	NC
粗脂肪 crude lipid	3.63±0.18	4.30±0.07	3.63±0.34	3.24±0.27
粗蛋白 crude protein	16.21±0.44	15.52±0.17	15.62±0.32	15.69±0.30
水分 moisture	76.51±0.38	76.50±0.33	77.02±0.59	77.13±0.14
灰分 ash	3.60±0.16 ^{ab}	3.28±0.02 ^b	3.48±0.10 ^{ab}	3.91±0.08 ^a

表 6 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂肌肉氨基酸组成的影响(干物质)

Tab. 6 Effects of fish protein hydrolysate and bullfrog protein hydrolysate on muscle amino acid composition of *S. maximus* (dry matter) %

氨基酸 amino acid	PC	FPH	BPH	NC
必需氨基酸 EAA				
苏氨酸 Thr	3.37±0.07	3.65±0.10	3.72±0.08	3.74±0.09
缬氨酸 Val	3.90±0.10	4.08±0.09	3.90±0.06	3.97±0.09
蛋氨酸 Met	2.25±0.15	2.32±0.11	2.30±0.14	2.37±0.13
异亮氨酸 Ile	3.84±0.12	3.98±0.08	3.85±0.07	3.92±0.11
亮氨酸 Leu	6.52±0.18	6.72±0.08	6.56±0.15	6.67±0.18
苯丙氨酸 Phe	3.55±0.13	3.62±0.10	3.62±0.10	3.62±0.13
赖氨酸 Lys	7.51±0.20	7.63±0.15	7.58±0.14	7.67±0.18
组氨酸 His	1.82±0.06	1.86±0.02	1.79±0.04	1.76±0.05
精氨酸 Arg	4.88±0.14	4.99±0.07	4.89±0.15	4.88±0.16
总必需氨基酸 Σ EAA	38.00±0.89	38.86±0.50	38.21±0.82	38.60±0.97
非必需氨基酸 NEAA				
牛磺酸 Tau	0.45±0.01	0.52±0.02	0.42±0.04	0.50±0.02
天冬氨酸 Asp	8.59±0.19	8.45±0.21	8.54±0.18	8.63±0.21
丝氨酸 Ser	3.32±0.09	3.29±0.07	3.38±0.10	3.35±0.09
谷氨酸 Glu	14.72±0.42	14.68±0.25	14.85±0.35	14.96±0.39
甘氨酸 Gly	3.92±0.14	3.89±0.03	4.03±0.12	3.92±0.12
丙氨酸 Ala	4.75±0.08	4.78±0.06	4.70±0.09	4.80±0.12
胱氨酸 Cys	0.73±0.02	0.85±0.07	0.76±0.02	0.76±0.09
酪氨酸 Tyr	2.93±0.09	3.13±0.01	3.01±0.12	3.04±0.09
总非必需氨基酸 Σ NEAA	39.52±1.12	39.60±0.58	39.68±1.03	39.96±1.14

显著高于其他 3 组 ($P < 0.05$); 苏氨酸和缬氨酸在 BPH 组的含量显著高于 PC 组和 FPH 组 ($P < 0.05$), 与 NC 组无显著差异 ($P > 0.05$); 苯丙氨酸在 BPH 组和 NC 组的含量显著高于 PC 组 ($P < 0.05$), 与 FPH 组无显著差异 ($P > 0.05$) (表 7)。非必需氨基酸中丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸以及总非必需氨基酸的含量在 BPH 组和 NC 组显著高于 PC 组 ($P < 0.05$),

与 FPH 组无显著差异 ($P > 0.05$); 天冬氨酸含量在 BPH 组也显著高于 PC 组 ($P < 0.05$), 与 FPH 组和 NC 组无显著差异 ($P > 0.05$); 丙氨酸在 BPH 组的含量显著高于其他 3 组 ($P < 0.05$); 胱氨酸含量在 NC 组显著高于 PC 组 ($P < 0.05$), 与 BPH 组和 FPH 组无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 7 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂食糜氨基酸组成的影响 (干物质)

Tab. 7 Effects of fish protein hydrolysate and bullfrog protein hydrolysate on chyme amino acid composition of *S. maximus* (dry matter)

氨基酸 amino acid	PC	FPH	BPH	NC
必需氨基酸 EAA				
苏氨酸 Thr	1.06±0.06 ^b	1.13±0.03 ^b	1.36±0.04 ^a	1.23±0.03 ^{ab}
缬氨酸 Val	1.28±0.06 ^b	1.39±0.03 ^b	1.61±0.01 ^a	1.69±0.00 ^a
蛋氨酸 Met	0.98±0.18	0.72±0.18	0.92±0.16	0.69±0.25
异亮氨酸 Ile	1.09±0.07	1.07±0.19	1.39±0.14	1.19±0.23
亮氨酸 Leu	2.39±0.18	2.49±0.29	2.79±0.01	3.11±0.23
苯丙氨酸 Phe	0.95±0.05 ^b	1.19±0.07 ^{ab}	1.33±0.04 ^a	1.44±0.13 ^a
赖氨酸 Lys	0.89±0.07 ^b	0.92±0.10 ^b	1.51±0.05 ^a	0.89±0.01 ^b
组氨酸 His	0.57±0.02	0.63±0.03	0.69±0.05	0.60±0.02
精氨酸 Arg	0.94±0.03 ^b	1.03±0.04 ^b	1.36±0.04 ^a	0.99±0.07 ^b
总必需氨基酸 Σ EAA	10.14±0.57	10.56±0.48	12.96±0.14	11.84±0.78
非必需氨基酸 NEAA				
牛磺酸 Tau	1.40±0.18	1.30±0.11	1.05±0.03	1.53±0.13
天冬氨酸 Asp	2.40±0.14 ^b	2.63±0.15 ^{ab}	3.02±0.11 ^a	2.71±0.04 ^{ab}
丝氨酸 Ser	1.19±0.07 ^b	1.30±0.02 ^{ab}	1.46±0.04 ^a	1.46±0.05 ^a
谷氨酸 Glu	4.09±0.23 ^b	4.95±0.06 ^{ab}	5.31±0.11 ^a	5.41±0.29 ^a
甘氨酸 Gly	0.81±0.09 ^b	0.97±0.03 ^{ab}	1.15±0.03 ^a	1.12±0.10 ^a
丙氨酸 Ala	1.44±0.06 ^b	1.58±0.10 ^b	2.06±0.00 ^a	1.54±0.06 ^b
胱氨酸 Cys	4.40±0.15 ^b	4.91±0.16 ^{ab}	5.46±0.11 ^{ab}	5.88±0.43 ^a
酪氨酸 Tyr	1.10±0.16	1.03±0.13	1.22±0.03	1.19±0.07
总非必需氨基酸 Σ NEAA	16.81±1.02 ^b	18.66±0.15 ^{ab}	20.75±0.45 ^a	20.83±1.05 ^a

2.4 肠道转运载体相关基因表达

肠道中氨基酸转运载体 B0AT1、CAT1、PAT1、y⁺LAT2 以及小肽转运载体 PepT1 的 mRNA 表达量见图 1。中性氨基酸转运载体 B0AT1 的 mRNA 表达量在 FPH 组显著高于 NC 组 ($P < 0.05$), 与 PC 组和 BPH 组无显著差异 ($P > 0.05$); 质子偶联氨基酸转运载体 PAT1 的 mRNA 表达量在 BPH 组显著高于 PC 组和 NC 组 ($P < 0.05$), 与 FPH 组无显著差异 ($P > 0.05$); 碱性氨基酸转运载体 CAT1 和 y⁺L 型氨基酸转运载体 y⁺LAT2 的 mRNA 相对表达量在 4 个处理组中无显著差异 ($P > 0.05$)。小肽转运载体 PepT1 的 mRNA 表达量在 FPH 组和 BPH 组都显著高于 NC 组和 PC 组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂生长性能的影响

水解鱼蛋白对鱼类的生长、代谢、免疫和抗病性等方面的影响, 已有学者进行了大量的研究^[18-20]。同时, 关于水解鱼蛋白对大菱鲂的影响, 本实验团队也进行了大量研究^[21-23], 因此, 本实验水解鱼蛋白替代鱼粉水平是基于以往的研究基础上设定的。结果发现替代 8% 鱼粉的 FPH 组在增重率和特定生长率方面显著高于 BPH 组和 NC 组 ($P < 0.05$), 这表明水解鱼蛋白在替代适量水平鱼粉时, 对大菱鲂生长性能和饲料利用率有积极

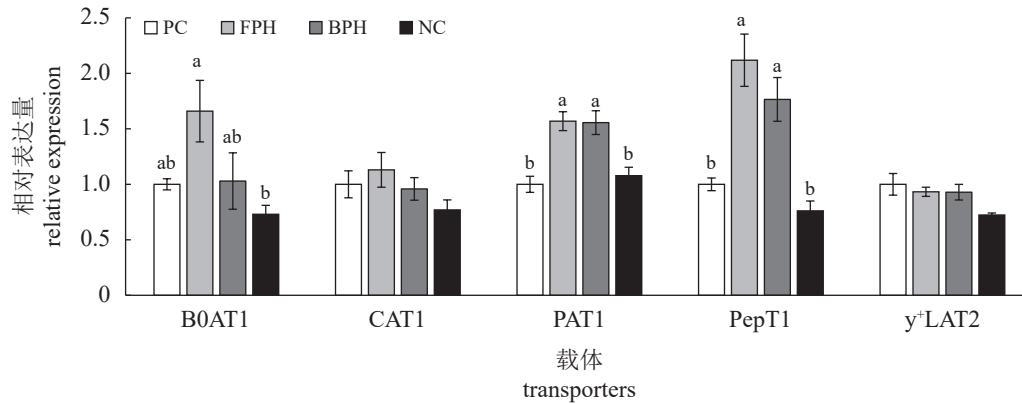


图 1 肠道转运载体相关基因表达

同一基因的柱状图中不同字母表示处理组之间基因表达有显著差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Expression of genes associated with intestinal transporters

Different letters in bars of the same gene indicate significant differences in relative expression level between treatments ($P < 0.05$).

影响, 这与 Wei 等^[24]的研究结果具有一致性, 进一步证明饲料中添加适量的水解鱼蛋白对大菱鲆的生长性能具有促进作用^[25-27]。水解鱼蛋白对大菱鲆生长性能影响的研究已有定论, 但关于水解牛蛙蛋白对大菱鲆的影响却鲜见报道。本研究中替代 9.5% 鱼粉的 BPH 组生长性能明显低于 FPH 组, 优于 NC 组, 略低于 PC 组, 但与 PC 组和 NC 组无显著差异, 这说明在饲料中替代一定量的鱼粉时, 水解牛蛙蛋白有一定的促生长效果, 但是水解牛蛙蛋白的效果低于水解鱼蛋白。牟玉超等^[28]在高植物蛋白的大菱鲆饲料中, 分别用鱼水解蛋白和鸡水解蛋白替代 10% 的鱼粉, 发现鱼水解蛋白在促生长性能上要优于鸡水解蛋白, 与本实验结果相似。张婷婷等^[29]用适量鱼水解蛋白、酵母水解蛋白、猪血水解蛋白和豆粕水解蛋白物替代鱼粉, 对花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 幼鱼进行养殖实验, 通过对生长性能、饲料利用、体成分及血清和肝脏非特异性免疫结果的评价, 也得出鱼水解蛋白替代鱼粉的效果最好。这些研究表明, 不同的蛋白源即使用相同的蛋白酶进行水解, 其得到的水解蛋白对鱼类生长性能的影响也有差异, 而水解鱼蛋白在现有研究的动植物蛋白水解物中, 对鱼类生长的促进作用具有明显的优势。

3.2 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲆肌肉氨基酸组成的影响

Guo 等^[30]和张玲等^[31]的研究发现, 饲料中氨基酸的变化会影响肌肉中氨基酸含量的改变。但是在本研究中, 摄食不同饲料并未引起大菱鲆肌肉中氨基酸的显著变化, 这可能是由于饲料中原

有的大部分必需氨基酸含量已经能满足大菱鲆对生长过程中必需氨基酸的需求。例如赖氨酸和精氨酸, 有研究表明大菱鲆最适赖氨酸和精氨酸需求分别为 2.42% (占饲料蛋白的 5.00%) 和 2.02% (占饲料蛋白的 4.22%)^[32], 而本实验中各处理组的赖氨酸和精氨酸含量均能达到这一水平。因而, 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白的添加并未引起鱼体肌肉中这部分氨基酸含量的显著变化^[33]。此外, 从饲料和肌肉中氨基酸组成的结果来看, 还有一些必需氨基酸如缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸, 假设大菱鲆对缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等在 BPH 组和 FPH 组中利用效率相同, 那么 BPH 组饲料含有的较高含量缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等必需氨基酸理论上会比 FPH 组更多地沉积到肌肉中, 导致这些必需氨基酸在肌肉中产生差异。而本研究中, BPH 组和 FPH 组肌肉中这些必需氨基酸虽无显著差异, 但在数值上均表现为 FPH 组高于 BPH 组, 推测其原因是大菱鲆对水解鱼蛋白来源的缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等利用效率高于水解牛蛙蛋白来源的氨基酸, 导致尽管 BPH 组饲料中的缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等含量较高, 但是并没有将这种饲料中较高含量的优势保持到肌肉中, 最终导致各处理组中这些必需氨基酸无显著差异。因此, 大菱鲆对缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等必需氨基酸利用效率的不同也可能是导致本实验中各处理组中肌肉氨基酸无显著差异的重要原因。同时, 如果这一推测成立, 那么大菱鲆对水解鱼蛋白来源的这些必需氨基酸的高利用率会反映到生长上, 结果就是 FPH 组的生长优于 BPH 组, 而本实验的生长结果也支持了这一推测。

3.3 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂中肠食糜中氨基酸组成的影响

肠道作为动物消化食物的重要场所, 肠道内容物是反映肠道营养代谢、微生态环境状况的主要物质^[34]。中肠内容物即中肠食糜是从胃进入肠道呈半流体的已部分消化的饲料, 可以间接反映大菱鲂对饲料的消化吸收能力。李妙善等^[35]对反刍动物食糜中的肽氮含量进行了测定, 李富伟^[36]对肉鸡回肠末端食糜中的氨基酸进行了测定, 进而得到了小肽和游离氨基酸在消化道中的吸收情况。因此对食糜中氨基酸组成的测定可能也是评价大菱鲂对水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白利用效率的重要指标。在本实验中, 分析食糜氨基酸的组成发现, 多数必需和非必需氨基酸含量在 BPH 组和 NC 组最高, 显著高于 FPH 组和 PC 组, 但 FPH 组与 PC 组之间无显著差异 ($P>0.05$)。其原因除了 BPH 组饲料中原有的部分氨基酸含量较高外, 更重要的原因可能是大菱鲂对水解牛蛙蛋白消化吸收效率低于水解鱼蛋白和鱼粉, 因为同样是含有混合植物蛋白的 NC 组, 其饲料大部分必需氨基酸含量较低的情况下也表现出与 BPH 组类似, 在食糜中大部分氨基酸具有较高的含量。这也可以从生长结果中得到印证, 因为从生长性能的结果可以发现, FPH 组>PC 组>BPH 组>NC 组。因此, 本实验可以得出, 当鱼类对蛋白的利用效率降低时, 会表现在食糜中大部分必需和非必需氨基酸的含量升高。

3.4 水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白对大菱鲂肠道氨基酸和小肽转运载体表达的影响

氨基酸和小肽转运载体在机体的生长代谢、营养健康等方面具有重要作用, 研究氨基酸、小肽转运载体的基因表达对研究鱼类对氨基酸和小肽的吸收利用情况具有重要意义^[37-38]。氨基酸转运具有底物特异性, 肠道中氨基酸的转运根据氨基酸自身特性受多种氨基酸转运载体的调节, 如中性、酸性和碱性氨基酸转运载体等, 小肽的转运则无底物特异性, 均由小肽转运载体介导^[39]。基于此, 本实验选择 B0AT1^[40]、CAT1^[41-42]、PAT1^[43]和 γ^+ LAT2^[44] 作为 4 种代表性氨基酸转运体, 分别对应转运中性氨基酸、碱性氨基酸、亚氨基和甘氨酸、碱性和中性氨基酸; 而小肽转运载体则选择 PepT1, 因为其具有低亲和力、高容量的特点, 也是肠道中小肽转运过程中最主要的转运载体^[45]。

本实验中性氨基酸转运载体 B0AT1、质子偶联氨基酸转运载体 PAT1 以及小肽转运载体 PepT1 的 mRNA 表达量具有显著差异 ($P<0.05$), 并且在 FPH 组和 BPH 组都高于 PC 组和 NC 组, 但碱性氨基酸转运载体 CAT1 和 γ^+ L 型氨基酸转运载体 γ^+ LAT2 的 mRNA 相对表达量在 4 个处理组中无显著差异 ($P>0.05$)。这表明添加水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白的饲料都可上调大菱鲂肠道部分氨基酸和小肽转运载体相关基因表达, 从而促进对氨基酸和小肽的吸收利用, 这一结论与李本相^[46]的研究结果相似。另外, 结合食糜氨基酸数据, 会发现 FPH 组食糜的氨基酸含量普遍低, 对应肠道氨基酸转运载体和小肽转运载体的 mRNA 表达量高, 说明 FPH 更容易被氨基酸和小肽转运载体转运吸收, 但是 BPH 组的食糜大部分氨基酸含量很高, 氨基酸及小肽转运载体的 mRNA 表达量也比较高, 这一不同的结果表明食糜中氨基酸含量变化可能更能反映生长结果, 而氨基酸及小肽转运载体表达, 只能反映大菱鲂在摄食不同蛋白源后肠道吸收小肽和氨基酸的响应程度, 且这种响应可能不一定能直接体现到生长结果上。

4 结论

饲料中添加水解鱼蛋白和水解牛蛙蛋白替代部分鱼粉都能一定程度促进大菱鲂的生长, 虽然饲料中水解牛蛙蛋白的大部分必需氨基酸含量相比水解鱼蛋白更高, 但从生长性能的结果来看, 大菱鲂对水解鱼蛋白的利用效果优于水解牛蛙蛋白, 从食糜中的氨基酸检测结果以及氨基酸和小肽转运载体基因的 mRNA 表达量来看, 水解鱼蛋白更容易被肠道吸收。此外, 本实验对水解牛蛙蛋白的研究只替代一个水平, 结果可能有些片面, 将来有必要针对不同水平的水解牛蛙蛋白替代鱼粉对大菱鲂生长的影响开展探究。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Verri T, Terova G, Dabrowski K, *et al.* Peptide transport and animal growth: the fish paradigm[J]. *Biology Letters*, 2011, 7(4): 597-600.
- [2] Liasset B, Espe M. Nutritional composition of soluble and insoluble fractions obtained by enzymatic hydrolysis of

- fish-raw materials[J]. *Process Biochemistry*, 2008, 43(1): 42-48.
- [3] Liasset B, Lied E, Espe M. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry; chemical characterisation and nutritional evaluation[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80(5): 581-589.
- [4] Mach D T N, Nortvedt R. Free amino acid distribution in plasma and liver of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) fed increased levels of lizardfish silage[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(2): e644-e656.
- [5] Rønnestad I, Tonheim S K, Fyhn H J, *et al.* The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings[J]. *Aquaculture*, 2003, 227(1-4): 147-164.
- [6] Zheng K K, Liang M Q, Yao H B, *et al.* Effect of size-fractionated fish protein hydrolysate on growth and feed utilization of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture Research*, 2013, 44(6): 895-902.
- [7] Javaherdoust S, Yeganeh S, Amirkolaie A K. Effects of dietary visceral protein hydrolysate of rainbow trout on growth performance, carcass composition, digestibility and antioxidant enzyme in juvenile *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(1): 134-144.
- [8] 罗兴, 毕清竹, 孟晓雪, 等. 高脂饲料中添加含硫氨基酸对大菱鲆脂肪代谢的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(4): 893-905.
- Luo X, Bi Q Z, Meng X X, *et al.* Effects of supplementation of sulfur-containing amino acids in high-lipid diets on lipid metabolism of turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, 31(4): 893-905 (in Chinese).
- [9] Wu J P, Liu W, Wen H, *et al.* Animal by-products with or without enzymatic hydrolysis completely replacement of fish meal in genetically improved farmed tilapia diets (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(1): 291-301.
- [10] Leduc A, Hervy M, Rangama J, *et al.* Shrimp by-product hydrolysate induces intestinal myotropic activity in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Aquaculture*, 2018, 497: 380-388.
- [11] 符策峰, 李松林, 代敏, 等. 海洋性动物水解蛋白对珍珠龙胆石斑鱼生长、饲料利用及体组成的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(4): 624-633.
- Fu C F, Li S L, Dai M, *et al.* Effects of marine animal protein hydrolysates on growth, feed utilization and body composition of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(4): 624-633 (in Chinese).
- [12] Liasset B, Julshamn K, Espe M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex™ [J]. *Process Biochemistry*, 2003, 38(12): 1747-1759.
- [13] Espe M, Sveier H, Høgøy I, *et al.* Nutrient absorption and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish protein concentrate [J]. *Aquaculture*, 1999, 174(1-2): 119-137.
- [14] 周燕侠, 余开. 关注牛蛙养殖现状, 大力推进健康养殖[J]. 科学养鱼, 2014(10): 13-17.
- Zhou Y X, Yu K. Pay attention to the current situation of bullfrog breeding and vigorously promote healthy breeding [J]. *Scientific Fish Farming*, 2014(10): 13-17 (in Chinese).
- [15] 唐晓玲. 牛蛙养殖现状及前景分析[J]. 江西水产科技, 2019(2): 36-37.
- Tang X L. Analysis of current situation and prospect of bullfrog culture [J]. *Jiangxi Fishery Sciences and Technology*, 2019(2): 36-37 (in Chinese).
- [16] Clarke B T. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications [J]. *Biological Reviews*, 1997, 72(3): 365-379.
- [17] 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*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(3): 297-303.
- [18] Khosravi S, Rahimnejad S, Herault M, *et al.* Effects of protein hydrolysates supplementation in low fish meal diets on growth performance, innate immunity and disease resistance of red sea bream *Pagrus major* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 45(2): 858-868.
- [19] Siddik M A B, Howieson J, Fotedar R. Beneficial effects of tuna hydrolysate in poultry by-product meal diets on growth, immune response, intestinal health and disease resistance to *Vibrio harveyi* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 89: 61-70.

- [20] Hooper L V, Gordon J I. Commensal host-bacterial relationships in the gut[J]. *Science*, 2001, 292(5519): 1115-1118.
- [21] 牟玉超, 梁萌青, 郑珂珂, 等. 高植物蛋白饲料中不同水平低分子水解鱼蛋白对大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.)幼鱼生长及肝脏IGF-I受体表达的影响[J]. *渔业科学进展*, 2016, 37(3): 49-57.
Mu Y C, Liang M Q, Zheng K K, *et al.* Effects of small molecule weight fish protein hydrolysate in high plant protein diets on the expression of liver IGF-I receptor and the growth of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(3): 49-57 (in Chinese).
- [22] 李本相, 卫育良, 梁萌青, 等. 水解鱼蛋白对大菱鲂生长、体组成及肌纤维组织形态结构的影[J]. *渔业科学进展*, 2019, 40(5): 155-165.
Li B X, Wei Y L, Liang M Q, *et al.* The effects of fish protein hydrolysate on the growth, body composition and morphological structure of muscle fiber of turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(5): 155-165 (in Chinese).
- [23] 卫育良, 徐后国, 梁萌青. 水解鱼蛋白的营养特征及其在水产动物营养饲料中的研究进展[J]. *水产学报*, 2019, 43(10): 2060-2073.
Wei Y L, Xu H G, Liang M Q. Nutritional characteristics of fish protein hydrolysate and related research progress in aquaculture nutrition[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(10): 2060-2073 (in Chinese).
- [24] Wei Y, Liang M, Mu Y, *et al.* The effect of ultrafiltered fish protein hydrolysate level on growth performance, protein digestibility and mRNA expression of PepT1 in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(5): 1006-1017.
- [25] Zamora-Sillero J, Kütter M T, Tesser M B, *et al.* Effect of dietary common carp by-product protein hydrolysates on antioxidant status in different organs of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(1): 110-118.
- [26] Kotzamanis Y P, Gisbert E, Gatesoupe F J, *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[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2007, 147(1): 205-214.
- [27] Tang H G, Wu T X, Zhao Z Y, *et al.* Effects of fish protein hydrolysate on growth performance and humoral immune response in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.)[J]. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2008, 9(9): 684-690.
- [28] 牟玉超, 柳茜, 卫育良, 等. 饲料中添加两种蛋白水解物对大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.)幼鱼生长性能及肠道组织学结构的影响[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(2): 83-90.
Mu Y C, Liu X, Wei Y L, *et al.* Effects of dietary inclusion of two protein hydrolysates on growth performance and intestinal histological structure of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(2): 83-90 (in Chinese).
- [29] 张婷婷, 陈效儒, 梁萌青, 等. 不同蛋白水解物对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)生长性能及非特异性免疫的影响[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(3): 96-105.
Zhang T T, Chen X R, Liang M Q, *et al.* Effects of different protein hydrolysates on growth performance and non-specific immunity of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(3): 96-105 (in Chinese).
- [30] Guo T Y, Zhao W, He J Y, *et al.* Dietary DL-methionyl-DL-methionine supplementation increased growth performance, antioxidant ability, the content of essential amino acids and improved the diversity of intestinal microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2020, 123(1): 72-83.
- [31] 张玲, 刘凯, 张卫东, 等. 饲料中赖氨酸和蛋氨酸水平对鲤鱼生长性能及全鱼、肌肉、内脏团氨基酸含量的影响[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(3): 1618-1632.
Zhang L, Liu K, Zhang W D, *et al.* Effects of dietary levels of lysine and methionine on growth performance and contents of amino acids in whole fish, muscle and visceral mass of carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1618-1632 (in Chinese).
- [32] Peres H, Oliva-Teles A. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2008, 275(1-4): 283-290.
- [33] 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[J]. *水生生物学报*, 2014, 38(5): 910-915.
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- 920.
- Wei Y L, Liang M Q, Zheng K K, *et al.* The effects of fish protein hydrolysate on the digestibility of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(5): 910-920 (in Chinese).
- [34] 白新峰, 贾爱荣, 刘雪, 等. 海参肠道内容物中海藻多糖降解菌的筛选及鉴定 [J]. *生物技术通报*, 2021, 37(6): 147-153.
- Bai X F, Jia A R, Liu X, *et al.* Screening and identification of algal polysaccharide-degrading bacteria in the intestinal contents of sea cucumber [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37(6): 147-153 (in Chinese).
- [35] 李妙善, 王虎成, 张霞. 反刍动物食糜肽氮含量测定方法 [J]. *草业科学*, 2020, 37(4): 784-790.
- Li M S, Wang H C, Zhang X. Determination of peptide nitrogen in ruminant digesta [J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(4): 784-790 (in Chinese).
- [36] 李富伟. 回肠末端食糜法测定肉鸡对小肽和游离氨基酸吸收率的研究 [J]. *当代畜禽养殖业*, 2006(12): 35-38.
- Li F W. Determination of absorptivity of small peptides and free amino acids in broilers by terminal ileal chyme method [J]. *Modern Animal Husbandry*, 2006(12): 35-38 (in Chinese).
- [37] 贺越, 赵圣国, 骆超超, 等. 动物氨基酸运载体的研究进展 [J]. *中国畜牧兽医*, 2020, 47(3): 744-753.
- He Y, Zhao S G, Luo C C, *et al.* Research progress on animal amino acid transporter [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2020, 47(3): 744-753 (in Chinese).
- [38] 张爱华, 张姝, 蔡辉益, 等. 爱拔益加肉仔鸡肠道 *PepT1*、*B⁰AT* 和 *EAAT3* mRNA 的表达差异与发育规律 [J]. *动物营养学报*, 2014, 26(9): 2841-2850.
- Zhang A H, Zhang S, Cai H Y, *et al.* Regional and ontogenetic expression of *PepT1*, *B⁰AT* and *EAAT3* mRNA in intestine of arbor acre broilers [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(9): 2841-2850 (in Chinese).
- [39] 黄薪蓓, 许庆彪, 刘建新. 肠道氨基酸和小肽运载体的基因表达、影响因素与分子调控机制 [J]. *动物营养学报*, 2015, 27(1): 21-27.
- Huang X B, Xu Q B, Liu J X. Gene expression, influence factors and molecular regulation of amino acid and peptide transporters in intestine [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(1): 21-27 (in Chinese).
- [40] Jonas A J, Butler I J. Circumvention of defective neutral amino acid transport in Hartnup disease using tryptophan ethyl ester [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 1989, 84(1): 200-204.
- [41] Fotiadis D, Kanai Y, Palacín M. The SLC3 and SLC7 families of amino acid transporters [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2013, 34(2-3): 139-158.
- [42] He L Q, Yang H S, Hou Y Q, *et al.* Effects of dietary L-lysine intake on the intestinal mucosa and expression of CAT genes in weaned piglets [J]. *Amino Acids*, 2013, 45(2): 383-391.
- [43] 纪鑫. 氨基酸转运蛋白 PAT1 在溶酶体定位机制及其对调控 mTORC1 的意义 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- Ji X. The mechanisms of lysosomal localization of PAT1 and their influences on mTORC1 [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2018 (in Chinese).
- [44] Bröer S. Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia [J]. *Physiological Reviews*, 2008, 88(1): 249-286.
- [45] Verri T, Barca A, Pisani P, *et al.* Di- and tripeptide transport in vertebrates: the contribution of teleost fish models [J]. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 2017, 187(3): 395-462.
- [46] 李本相. 不同小肽对大菱鲆幼鱼生长性能、肌肉组织结构、氨基酸代谢的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- Li B X. The effects of different peptide on the growth, muscle tissue structure, amino acid metabolism of turbot [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019 (in Chinese).

Comparative study on the utilization of protein hydrolysates of fish and *Rana catesbeiana* by turbot (*Scophthalmus maximus*)

LIU Jinshi^{1,2}, WEI Yuliang^{2,3}, XU Houguo^{2,3}, ZHU Yongxiang⁴, LIANG Mengqing^{2,3*}

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

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,

Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China;

4. Jiangsu Zhongyang Group Co., Ltd., Nantong 226600, China)

Abstract: Cod and bullfrog scraps were selected as protein sources to prepare fish protein hydrolysate and bullfrog protein hydrolysate, and four isonitrogenous and isolipidic diets were formulated. *Scophthalmus maximus* with an initial body weight of (8.00±0.01) g was fed for a period of 56 d in order to explore the utilization efficiency of protein hydrolysates from different sources by *S. maximus*. The experimental designed two control groups with no protein hydrolysate, the positive control group contained 35% fish meal and the negative control group including 26.5% fish meal. Two experimental groups had different sources of protein hydrolysates, the FPH group contained 26.5% fish meal and 8.0% fish protein hydrolysate, and the BPH group contained 26.5% fish meal and 9.5% bullfrog protein hydrolysate. The results showed as follows: the final body weight, weight gain rate and special growth rate of the FPH group were significantly higher than those of the BPH and NC groups ($P<0.05$), but there was no significant difference between the FPH and PC groups ($P>0.05$). The concentrations of essential amino acids in chyme including lysine, arginine, threonine and valine in the BPH group were significantly higher than those in the PC group ($P<0.05$). There was no significant difference in the contents of other non-essential amino acids except for taurine and tyrosine, and the concentrations of most amino acids were the highest in the BPH group. The mRNA levels of proton-coupled amino acid transporter PAT1 and small peptide transporter PepT1 in the FPH and BPH groups were significantly higher than those in the PC and NC groups ($P<0.05$). There was no significant difference in the mRNA levels between cationic amino acid transporter CAT1 and Y⁺L-type amino acid transporter Y⁺LAT2 among all treatment groups ($P>0.05$). In conclusion, the addition of protein hydrolysates in the feed could promote growth performance of *S. maximus*, and fish protein hydrolysate showed more beneficial effects on the growth than that of bullfrog protein hydrolysate. The responses of amino acid concentrations in chyme and the expressions of amino acid and small peptide transporters also indicated that the feed utilization efficiency of *S. maximus* supplemented with fish protein hydrolysate was higher than that with bullfrog protein hydrolysate.

Key words: *Scophthalmus maximus*; fish protein hydrolysate; bullfrog protein hydrolysate; growth performance; amino acids

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

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31972803, 31902387); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2020TD48); China Agriculture Research System (CARS-47)