



荚膜甲基球菌蛋白替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、血清生化指标和肠道健康的影响

梁伟兴¹, 王嘉², 谭北平¹, 迟淑艳^{1*}

(1. 广东海洋大学水产学院, 水产动物营养与饲料实验室, 广东湛江 524088;

2. 恺勒司(上海)商务信息咨询有限公司, 上海 200041)

摘要: 为了研究荚膜甲基球菌蛋白 (MBM) 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼生长性能和肠道健康的影响, 实验以鱼粉含量 40% 为对照组 (MBM0), 在饲料中添加 2%、4%、8% 和 12% 的荚膜甲基球菌蛋白 (MBM), 分别替代饲料中鱼粉含量的 5% (MBM5)、10% (MBM10)、20% (MBM20) 和 30% (MBM30), 配制 5 组等氮等脂饲料, 投喂初始体质量为 (28.85±0.04) g 的石斑鱼 8 周。结果显示, 各组石斑鱼存活率均为 100%; 各替代组增重率、特定增长率、摄食率、饲料系数和蛋白质效率与对照组相比无显著差异; 各替代组血清甘油三酯、总胆固醇含量、低密度脂蛋白含量和谷草转氨酶活性显著低于对照组, 各组间血清白蛋白和高密度脂蛋白含量无显著性差异; 各替代组肠道总抗氧化能力和超氧化物歧化酶活性高于对照组, 丙二醛含量低于对照组, 但均无显著性差异; 各组肠道肌层厚度无显著差异, MBM10、MBM20 和 MBM30 组肠道绒毛高度和宽度与对照组相比无显著差异, MBM10、MBM20、MBM30 组和对照组肠道绒毛高度显著高于 MBM5 组, MBM30 组肠道绒毛宽度显著高于 MBM5 组。实验表明, 当基础饲料中鱼粉含量为 40% 时, MBM 可替代 30% 的鱼粉, 对珍珠龙胆石斑鱼的存活率、生长性能和饲料利用率不产生负面影响, 并对降低石斑鱼血脂水平和提高肠道抗氧化能力有一定的促进作用。本研究证实了荚膜甲基球菌蛋白在珍珠龙胆石斑鱼饲料中使用的可行性, 对节省石斑鱼饲料鱼粉的使用, 降低养殖成本具有推动作用。

关键词: 珍珠龙胆石斑鱼; 荚膜甲基球菌蛋白; 鱼粉替代; 生长性能; 肠道健康

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

鱼粉是水产养殖动物配合饲料的重要蛋白源^[1-2], 但由于受到环境污染、过度捕捞和全球气候变化等因素的影响, 全球鱼粉产量逐年降低, 导致价格上涨、养殖成本增加。非鱼粉蛋白源的开发利用受到广泛关注。单细胞蛋白 (single-cell protein, SCP) 是一种由非致病微生物利用废渣、废气、废水进行工业化大规模培养生产的一类蛋白源^[3], 生产过程不与人争粮, 不与粮争地, 受环

境影响程度低。

荚膜甲基球菌 (*Methylococcus capsulatus*) 是革兰氏阴性菌, 可利用天然气中的甲烷生产菌体蛋白, 生产的过程能增加碳捕捉、储存和利用, 生产的产品蛋白含量高且氨基酸组成均衡, 富含磷脂、维生素、钙和磷^[4]。在畜禽方面, 饲料中加入荚膜甲基球菌蛋白 [methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) bacteria meal, MBM] 能帮助仔猪早

收稿日期: 2022-03-28 修回日期: 2022-07-29

资助项目: 国家重点研发计划 (2019YFD0900200); 广东省普通高校重点领域专项-服务乡村振兴重点领域专项 (2020ZDZX1034); 湛江市科技计划项目 (2020A02001)

第一作者: 梁伟兴 (照片), 从事水产动物营养与饲料方面研究, E-mail: 2551368876@qq.com

通信作者: 迟淑艳, 从事水产动物营养与饲料方面研究, E-mail: chishuyan77@163.com



期快速生长,减少仔猪断奶期腹泻,提升背膘猪肉质量,提高猪肉在速冻和解冻过程中的稳定性^[5-7],还能改善肉鸡(*Gallus gallus domesticus*)鸡肉风味,减少鸡肉在速冻、解冻和运输过程中醛类物质的挥发^[8]。饲料中添加18%和36%的由荚膜甲基球菌、食酸产碱杆菌(*Alcaligenes acidovorans*)、短芽孢杆菌(*Bacillus brevis*)和坚强芽孢杆菌(*B. firmus*)连续有氧发酵生产的菌体蛋白,可显著提高大西洋鲑(*Salmo salar*)的特定增长率^[9],添加30%的MBM能改善大西洋鲑由于豆粕所引发的肠炎症状^[10]。以上的研究表明,MBM能够改善动物生长,促进消化道健康,提高产品品质。

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂)具有生长速率快,抗病力强的优点,是我国石斑鱼主要的养殖种类^[11]。珍珠龙胆石斑鱼的蛋白质需求在40%~55%^[12],其饲料主要蛋白源仍是鱼粉,研究替代鱼粉的优质蛋白源对石斑鱼养殖的可持续发展意义重大。本实验降低石斑鱼饲料中鱼粉的含量并添加MBM,探讨

该蛋白源在石斑鱼饲料中的应用效果。

1 材料与方法

1.1 实验设计和饲料配制

以鱼粉含量40%为对照组(MBM0),在饲料中添加2%、4%、8%和12%的MBM,分别替代饲料中鱼粉含量的5%(MBM5)、10%(MBM10)、20%(MBM20)和30%(MBM30),配制5组等氮等脂饲料(表1)。饲料原料粉碎后过60目筛,所有原料混合均匀后制成粒径为3mm的颗粒饲料,自然风干至水分约为10%,分装密封后置于-20℃冰箱中存放待用。饲料所用鱼粉与MBM营养组分如表2所示。

1.2 实验鱼和养殖管理

养殖实验在广东海洋大学海洋生物研究基地进行。实验所用珍珠龙胆石斑鱼购自湛江市东海岛东南鸿运鱼苗场,于基地水泥池驯养10d,期

表1 基础配方和营养成分(干物质)

项目 items	MBM0	MBM5	MBM10	MBM20	MBM30
鱼粉 fishmeal	40.00	38.00	36.00	32.00	28.00
荚膜甲基球菌蛋白 ^A MBM	0.00	2.00	4.00	8.00	12.00
鸡肉粉 chicken meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
豆粕 soybean meal	12.50	12.50	12.50	12.50	12.50
小麦谷朊粉 wheat gluten meal	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
小麦面粉 wheat flour	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
棉籽蛋白 cottonseed protein	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
豆油 soybean oil	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
鱼油 fish oil	2.00	2.15	2.31	2.62	2.93
大豆卵磷脂 soybean lecithin	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	1.60	1.76	1.92	2.24	2.56
维生素C vitamin C	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
多维多矿 ^B vitamin & mineral premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
甜菜碱 betaine	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
抗氧化剂 antioxidant	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	2.25	1.94	1.62	0.99	0.36
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养成分含量^C nutrient content					
水分 moisture	10.57	11.00	10.71	10.61	10.70
粗蛋白 crude protein	50.24	50.71	50.93	51.19	50.40
粗脂肪 ether extract	9.72	9.47	9.80	9.93	9.82
灰分 ash	18.67	17.20	14.91	12.82	12.81

注: ^A荚膜甲基球菌蛋白(FeedKind[®])由Calysta, (美国)惠赠; ^B多维多矿预混料购自中国青岛玛斯特生物科技有限公司; ^C近似组分为实验测量值
Notes: ^A methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) bacteria meal (FeedKind[®]) was courtesy of Calysta, Inc., USA; ^B vitamin premix and mineral premix purchased from Qingdao Master Biotech Co., Ltd, China; ^C proximate composition was measured values

表 2 荚膜甲基球菌蛋白和鱼粉的养分组成 (干物质)

Tab. 2 Composition of the FM and MBM (dry matter)

项目 items	进口鱼粉 FM	荚膜甲基球菌蛋白 MBM	%
水分 moisture	8.99	4.6	
粗蛋白 crude protein	72.00	74.1	
粗脂肪 ether extract	8.84	8.17	
精氨酸 Arg	3.71	4.21	
组氨酸 His	1.48	1.42	
异亮氨酸 Ile	2.77	2.94	
亮氨酸 Leu	4.74	5.04	
赖氨酸 Lys	5.06	3.78	
甲硫氨酸 Met	1.97	1.73	
苯丙氨酸 Phe	2.52	2.91	
苏氨酸 Thr	2.77	2.87	
缬氨酸 Val	3.19	3.89	
甘氨酸 Gly	4.03	3.33	
丝氨酸 Ser	2.76	2.20	
酪氨酸 Tyr	2.33	1.81	
天冬氨酸 Asp	6.36	5.82	
谷氨酸 Glu	9.00	7.28	
半胱氨酸 Cys	0.53	0.35	
丙氨酸 Ala	4.25	4.70	
脯氨酸 Pro	2.72	2.52	

间投喂商品饲料 (广东粤海饲料集团股份有限公司, 粗蛋白含量为 50%)。养殖实验分为 5 组, 每组 3 个重复 (0.3 m³ 的玻璃钢化桶)。分组前所有石斑鱼禁食 24 h, 挑选体型均匀的均重为 (28.84±0.04) g 健康个体随机分到每个重复中 (30 尾)。养殖周期为 56 d, 每天在 8:00 和 16:00 定时投喂, 记录摄食率并按照采食情况调整投料量。养殖水体经过沉淀和沙滤, 养殖桶每天换水量为 70%~100%, 水温为 (30.0±1.0) °C、水体 pH 值为 (7.1±0.1)、盐度为 (28.5±1.5)、氨氮低 0.05 mg/L、溶解氧高于 5.0 mg/L。

1.3 样品采集

养殖实验结束, 禁饲 24 h, 用丁香酚 (1:10 000) 对石斑鱼进行麻醉后取样。记录每桶鱼数量和总质量, 用于计算存活率 (SR)、增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR)、饲料系数 (FCR) 等。每桶随机选 3 尾鱼测量体质量和体长后放于 -20 °C 冰箱中保存, 备测全鱼常规组分。每桶随机选 6 尾鱼采血, 血液放 4 °C 冰箱静置过夜, 以 4 000 r/min

的转速离心 12 min, 取上清液放于 -80 °C 冰箱保存。每桶随机选 3 尾鱼解剖取内脏和肝脏分别称重, 用于计算脏体比 (VSI) 和肝体比 (HSI), 取鱼体两侧肌肉保存在 -20 °C 冰箱中, 用于检测肌肉组分。无菌状态下随机取 6 个肠道和肝脏组织, 随机选 2 个肠道和肝脏组织样品放于装有 4% 甲醛的 10 mL 离心管中进行固定, 用于制备组织石蜡切片, 其余 4 个肠道和肝脏组织样品立即放在液氮中, 用于检测肝脏和肠道组织酶活性。

1.4 指标测量和数据处理

生长指标 SR、WGR、SGR、FCR、蛋白质效率 (PER)、肥满度 (CF)、VSI 及 HSI 计算公式:

存活率 (survival rate, SR, %) = $N_1/N_0 \times 100\%$;

增重率 ((weight gain rate, WGR, %) = $(W_1 - W_0) / W_0 \times 100\%$;

特定生长率 (special growth rate, SGR, %/d) = $(\ln W_1 - \ln W_0) / d \times 100\%$;

饲料系数 (feed coefficient rate, FCR) = $F / (W_1 - W_0)$;

摄食率 (feed intake rate, FIR) = $F / [(W_1 + W_0) / 2] / d \times 100\%$;

蛋白质效率 (protein efficiency rate, PER) = $(W_1 - W_0) / (F \times P)$;

肥满度 (condition factor, CF, g/cm³) = W_1 / L^3 ;

脏体比 (viscerosomatic index, VSI, %) = $W_2 / W_1 \times 100\%$;

肝体比 (hepatosomatic index, HSI, %) = $W_3 / W_1 \times 100\%$

式中, N_1 、 N_0 为实验结束时鱼总数和实验开始时鱼总数 (尾), W_1 、 W_0 为实验结束时鱼均重和实验开始时鱼均重 (g), F 、 P 为实验过程鱼摄食饲料干物质和粗蛋白含量 (%), d 为实验总天数 (d), L 为鱼体长 (cm), W_2 、 W_3 为鱼内脏重和肝重 (g)。

饲料、全鱼和肌肉组分 采用 105 °C 烘箱恒重检测水分含量。采用索氏抽提法检测粗脂肪含量, 抽提溶剂为乙醚 (沸点 30~60 °C), 抽提时间为 2 h。采用杜马斯 (LECO、FP-528) 定氮法检测粗蛋白含量。肌肉氨基酸委托广东恒兴饲料实业股份有限公司检测。

血清、肝脏和肠道酶活性 称取 1 g 肠道或肝脏组织后加入 9 mL 生理盐水, 冰上匀浆后使用 3 500 r/min 的转速离心 10 min 使其分层, 吸出上清液放 -80 °C 冰箱保存, 用于酶活性的测定。

血清、肝脏和肠道酶活性采用试剂盒检测(南京建成生物工程研究所有限公司),操作方法严格按照说明书进行。

肝脏和肠道组织学分析 肝脏和肠道组织经甲醛固定后经石蜡包埋,切片脱蜡,苏木精伊红(H.E)染色,脱水封片后制成肝脏和肠道组织H.E染色切片。用显微镜观察并在 $\times 100$ 倍和 $\times 400$ 倍下拍照,图片分析使用软件Image-Pro Plus 6.0(Media Cybernetics, Inc., 美国),每张肠道切片随机选取20根绒毛测量绒毛高度和宽度,随机选取20个位点测量肠道肌层厚度。每张肝脏切片随机选择5个视野统计肝脏空泡化程度。

数据分析 实验数据用软件SPSS 20.0做单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间多重比较采用Duncan法。实验数据表示方式为平均值 \pm 标准误(mean \pm SE), $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、饲料利用和形态学指标的影响

各组石斑鱼成活率均达到100%,摄食率、饲料系数和蛋白质效率无显著性差异($P > 0.05$)。5%~30%替代组石斑鱼增重率和特定生长率与对照组相比均无显著性差异($P > 0.05$)。石斑鱼肝体比和脏体比均随MBM替代量的增加而升高,MBM20和MBM30组肝体比显著高于MBM0、MBM5和MBM10组($P < 0.05$),MBM30组脏体比显著高于MBM0、MBM5、MBM10和MBM20组

($P < 0.05$),MBM10组肥满度显著低于MBM0组($P < 0.05$)(表3)。

2.2 MBM 对珍珠龙胆石斑鱼体组分的影响

各替代组全鱼水分显著低于对照组($P < 0.05$)。全鱼粗脂肪含量随着MBM替代水平升高而升高,MBM20和MBM30组显著高于MBM0、MBM5和MBM10组($P < 0.05$)。各组全鱼粗蛋白,肌肉水分、肌肉粗蛋白和肌肉粗脂肪均无显著性差异($P > 0.05$)(表4)。

2.3 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼肌肉氨基酸的影响

添加MBM对杂交石斑鱼肌肉氨基酸总量,必需氨基酸和鲜味氨基酸总量均无显著性影响($P > 0.05$)(表5)。

2.4 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼血清生化指标的影响

MBM0组血清甘油三脂、总胆固醇、总蛋白、低密度脂蛋白含量和谷草转氨酶活性显著高于所有替代组($P < 0.05$),各组间血清白蛋白和高密度脂蛋白含量无显著性差异($P > 0.05$),MBM0组谷丙转氨酶活性显著高于MBM5组($P < 0.05$),MBM0组谷丙转氨酶活性与MBM10、MBM20和MBM30组无显著性差异($P > 0.05$)(表6)。

2.5 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼血清、肠道和肝脏组织抗氧化能力的影响

各组血清和肠道丙二醛含量,总抗氧化能力

表3 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、饲料利用和形态学指标的影响

Tab. 3 Effects of MBM replacement of fish meal on growth performance, feed utilization and morphological indices of *E. fuscoguttatus* ♀ \times *E. lanceolatus* ♂

项目 items	MBM0	MBM5	MBM10	MBM20	MBM30
成活率/% SR	100	100	100	100	100
增重率/% WGR	201.40 \pm 4.83 ^{ab}	210.81 \pm 6.15 ^a	199.96 \pm 1.68 ^{ab}	205.77 \pm 2.85 ^a	187.46 \pm 7.47 ^b
特定生长率/(%/d) SGR	2.04 \pm 0.03 ^{ab}	2.10 \pm 0.04 ^a	2.03 \pm 0.01 ^{ab}	2.12 \pm 0.05 ^a	2.01 \pm 0.06 ^b
摄食率/% FIR	1.79 \pm 0.03	1.89 \pm 0.15	1.75 \pm 0.01	1.73 \pm 0.02	1.75 \pm 0.03
饲料系数 FCR	1.00 \pm 0.01	1.03 \pm 0.10	0.98 \pm 0.01	0.94 \pm 0.02	0.99 \pm 0.03
蛋白质效率 PER	1.99 \pm 0.01	2.11 \pm 0.01	2.01 \pm 0.01	2.09 \pm 0.06	2.01 \pm 0.07
肥满度/% CF	2.58 \pm 0.07 ^a	2.45 \pm 0.03 ^{ab}	2.38 \pm 0.01 ^b	2.42 \pm 0.05 ^{ab}	2.51 \pm 0.06 ^{ab}
肝体比/% HSI	1.34 \pm 0.10 ^b	1.49 \pm 0.11 ^b	1.39 \pm 0.08 ^b	2.09 \pm 0.05 ^a	2.04 \pm 0.08 ^a
脏体比/% VSI	6.33 \pm 0.19 ^c	6.91 \pm 0.07 ^{bc}	6.83 \pm 0.20 ^{bc}	7.49 \pm 0.39 ^{ab}	7.71 \pm 0.06 ^a

注:数值用平均值 \pm 标准误($n=3$)表示,上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$);下同

Notes: all data are expressed as mean \pm SE ($n=3$), values in the same line having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$); the same below

表 4 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼体组分的影响 (湿重)

Tab. 4 Effects of MBM replacement of fish meal on body composition of *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ (wet weight) %

项目 items	MBM0	MBM5	MBM10	MBM20	MBM30
全鱼水分 body moisture	73.14±0.18 ^a	72.02±0.40 ^b	72.22±0.10 ^b	72.27±0.10 ^b	72.20±0.07 ^b
全鱼粗蛋白 body crude protein	16.63±0.41	17.28±0.30	16.56±0.24	16.51±0.03	16.61±0.27
全鱼粗脂肪 body ether extract	3.88±0.30 ^b	4.39±0.33 ^{ab}	4.56±0.53 ^{ab}	5.06±0.26 ^a	5.07±0.31 ^a
肌肉水分 muscle moisture	78.00±0.08	77.75±0.17	77.61±0.13	77.89±0.09	77.72±0.31
肌肉粗蛋白 muscle crude protein	17.87±0.47	18.48±0.12	18.15±0.41	18.21±0.22	18.48±0.31
肌肉粗脂肪 muscle ether extract	1.18±0.07	1.30±0.09	1.26±0.09	1.25±0.05	1.24±0.10

表 5 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼肌肉氨基酸的影响

Tab. 5 Effects of MBM replacement of fish meal on muscular amino acids of *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂ %

项目 items	MBM0	MBM5	MBM10	MBM20	MBM30
精氨酸 Arg	4.85±0.04 ^a	4.97±0.02 ^b	5.18±0.02 ^a	5.17±0.03 ^a	5.03±0.02 ^b
组氨酸 His	1.84±0.06 ^b	1.89±0.01 ^{ab}	1.97±0.01 ^a	1.97±0.01 ^a	1.97±0.03 ^a
赖氨酸 Lys	7.84±0.27	8.16±0.02	8.02±0.03	8.18±0.07	8.15±0.10
蛋氨酸 Met	2.59±0.07	2.64±0.03	2.60±0.03	2.57±0.01	2.63±0.02
异亮氨酸 Ile	3.49±0.09 ^{ab}	3.62±0.06 ^a	3.32±0.01 ^b	3.42±0.08 ^{ab}	3.37±0.04 ^b
亮氨酸 Leu	6.65±0.25 ^{ab}	6.86±0.07 ^a	6.31±0.01 ^{ab}	5.94±0.57 ^b	6.49±0.08 ^{ab}
苯基丙氨酸 Phe	3.32±0.16 ^b	3.82±0.15 ^a	3.56±0.02 ^{ab}	3.70±0.03 ^a	3.71±0.11 ^a
苏氨酸 Thr	4.10±0.14	4.15±0.02	3.93±0.02	4.01±0.01	4.04±0.05
缬氨酸 Val	3.43±0.11	3.62±0.06	3.48±0.01	3.56±0.06	3.56±0.06
必需氨基酸 EAA	38.11±0.98	39.72±0.32	38.37±0.03	38.51±0.83	38.94±0.44
天冬氨酸 Asp	10.11±0.33 ^a	10.40±0.07 ^a	8.97±0.02 ^b	9.20±0.02 ^b	9.17±0.10 ^b
丝氨酸 Ser	3.50±0.10	3.55±0.04	3.46±0.02	3.51±0.02	3.53±0.03
谷氨酸 Glu	13.25±0.41	13.60±0.02	13.50±0.08	13.73±0.08	13.65±0.11
甘氨酸 Gly	4.44±0.06	4.53±0.11	4.66±0.02	4.63±0.08	4.66±0.12
丙氨酸 Ala	5.04±0.08 ^c	5.19±0.04 ^b	5.25±0.01 ^{ab}	5.35±0.36 ^{ab}	5.56±0.11 ^a
酪氨酸 Tyr	2.80±0.06	3.16±0.29	2.84±0.03	2.96±0.02	2.97±0.09
脯氨酸 Pro	3.56±0.01 ^{ab}	3.63±0.05 ^a	3.64±0.02 ^a	3.61±0.07 ^a	3.41±0.07 ^b
鲜味氨基酸 FAA	37.68±0.86	38.68±0.22	37.56±0.07	38.07±0.09	38.08±0.15
总含量 TAA	80.80±1.94	83.77±0.62	80.69±0.04	81.50±0.74	81.89±0.63

和超氧化物歧化酶活性均无显著性差异 ($P>0.05$)。各组肝脏总抗氧化能力和超氧化物歧化酶活性均无显著性差异 ($P>0.05$)，MBM0 组肝脏丙二醛含量显著高于其余各组 ($P<0.05$) (表 7)。

2.6 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼肠道和肝脏形态学的影响

观察肠道形态学并统计肠道绒毛高度、绒毛

宽度和肌层厚度 (图版 I)，结果显示，MBM5 组肠道绒毛高度显著低于 MBM0 组 ($P<0.05$)，随后随着 MBM 的增加绒毛高度增加，MBM10、MBM20 和 MBM30 组绒毛高度大于 MBM0 组但无显著性差异 ($P>0.05$)。绒毛宽度的变化趋势与绒毛高度的一致，MBM10、MBM20、MBM30 组绒毛宽度与 MBM0 无显著性差异 ($P>0.05$)。所有组肌层厚度无显著性差异 ($P>0.05$) (图 1)。

表 6 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼血清生化指标的影响

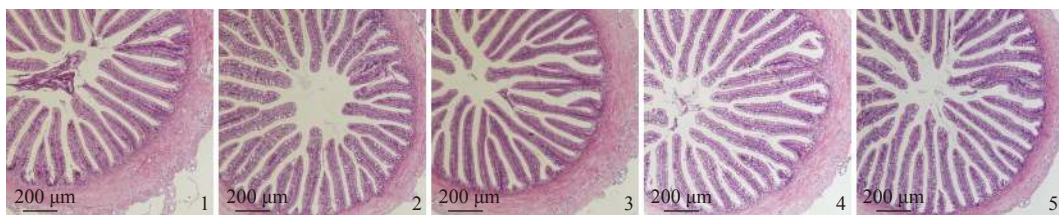
Tab. 6 Effects of MBM replacement of fish meal on serum biochemical indices of *E. fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂

项目 items	MBM0	MBM5	MBM10	MBM20	MBM30
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.85±0.03 ^a	0.59±0.04 ^b	0.31±0.03 ^c	0.32±0.02 ^c	0.32±0.02 ^c
总胆固醇/(mmol/L) CHO	1.65±0.05 ^a	1.28±0.01 ^b	1.21±0.03 ^b	1.22±0.05 ^b	1.32±0.04 ^b
总蛋白/(g/L) TP	35.92±0.90 ^a	31.33±0.57 ^b	30.98±0.74 ^b	30.47±1.51 ^b	31.74±1.47 ^b
白蛋白/(g/L) ALB	7.33±0.59	7.52±0.29	6.89±0.22	7.61±0.18	6.83±0.22
高密度脂蛋白/(mmol/L) HDL	1.21±0.04	1.16±0.02	1.10±0.01	1.18±0.02	1.17±0.04
低密度脂蛋白/(mmol/L) LDL	0.69±0.06 ^a	0.54±0.03 ^b	0.44±0.06 ^b	0.51±0.04 ^b	0.42±0.05 ^b
谷草转氨酶/(U/L) AST	43.23±5.10 ^a	22.23±6.49 ^b	18.15±1.02 ^b	25.75±3.75 ^b	21.23±1.76 ^b
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	209.88±11.74 ^a	169.50±6.49 ^b	182.74±3.10 ^{ab}	185.43±10.66 ^{ab}	182.39±12.39 ^{ab}

表 7 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼血清、肠道和肝脏组织组织抗氧化能力的影响

Tab. 7 Effects of MBM replacement of fish meal on antioxidant capacity of serum, intestine and liver of *E. fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂

项目 items	MBM0	MBM5	MBM10	MBM20	MBM30
血清丙二醛/(nmol/mg) MDA	3.84±0.34	4.57±0.29	5.05±1.05	4.38±0.42	5.71±1.03
血清总抗氧化能力/(mmol/L) T-AOC	0.64±0.02	0.61±0.02	0.62±0.02	0.61±0.01	0.65±0.01
血清超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	21.96±2.23	22.42±0.02	19.05±1.17	21.66±0.77	19.60±1.46
肠道丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	3.39±1.22	2.04±0.71	2.45±0.12	2.15±0.14	2.07±0.16
肠道总抗氧化能力/(mmol/L prot) T-AOC	0.11±0.01	0.13±0.01	0.11±0.01	0.11±0.02	0.14±0.01
肠道超氧化物歧化酶/(U/mL prot) SOD	130.27±6.31	147.71±0.59	137.24±0.94	139.49±6.10	152.22±9.96
肝脏丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	2.88±0.18 ^a	1.98±0.11 ^b	1.49±0.11 ^{bc}	1.38±0.10 ^c	1.43±0.26 ^{bc}
肝脏总抗氧化能力/(mmol/L prot) T-AOC	1.06±0.12	1.19±0.05	1.17±0.04	1.22±0.08	1.28±0.17
肝脏超氧化物歧化酶/(U/mL prot) SOD	155.42±8.15	157.72±14.57	146.26±11.50	148.35±19.07	128.51±11.06



图版 I 珍珠龙胆石斑鱼肠道形态学观察

1. MBM0 组, 2. MBM5 组, 3. MBM10 组, 4. MBM20 组, 5. MBM30 组; 下同

Plate I Intestinal morphology observation of *E. fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂

1. MBM0 group, 2. MBM5 group, 3. MBM10 group, 4. MBM20 group, 5. MBM30 group; the same below

观察肝脏形态学(图版 II)并对肝脏空泡化程度进行统计,结果显示,肝脏空泡化面积随 MBM 替代量的增加而增加,MBM10、MBM20 和 MBM30 组肝脏空泡化面积无显著性差异 ($P>0.05$),但显著高于 MBM5 组和 MBM0 组 ($P<0.05$)(图 2)。

3 讨论

3.1 珍珠龙胆石斑鱼生长性能的变化

实验在养殖背景一致的条件下,珍珠龙胆石

斑鱼饲料中 MBM 添加到 12%, 替代饲料中 30% 的鱼粉时,与对照组相比,鱼体存活、生长性能和饲料利用率未产生显著变化。研究表明,在大西洋鲑的饲料中添加 36% 的含有荚膜甲基球菌的复合菌体蛋白可获得比对照组更好的生长性能^[5]。在五条鲷 (*Seriola quinqueradiata*) 的研究中发现,MBM 替代 25% 的鱼粉对五条鲷生长、存活和饲料利用也未造成显著性影响,但是,当替代水平超过 50% 时,鱼体生长性能显著下降^[13]。大西洋庸

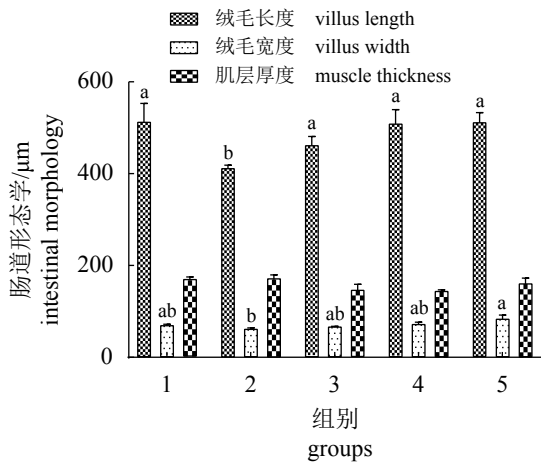


图 1 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼肠道绒毛长度、绒毛宽度和肌层厚度的影响

Fig. 1 Effects of MBM replacement of fish meal on Intestinal villi length, villi width and muscle thickness of *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂

鳎 (*Hippoglossus hippoglossus*) 饲料中摄食含 MBM 超过 18% 后, 鱼增重和饲料利用显著降低^[14]。MBM 中含有与鱼粉相似的蛋白质含量和氨基酸组成, 能较好地被鱼类吸收利用, 可替代饲料中一定比例鱼粉, 但由于品种、生长阶段、养殖环境、饲料营养水平等因素的不同, 荚膜甲基球菌蛋白在不同鱼类饲料中的适宜添加量存在一定的差异。

3.2 珍珠龙胆石斑鱼体成分和形态学的变化

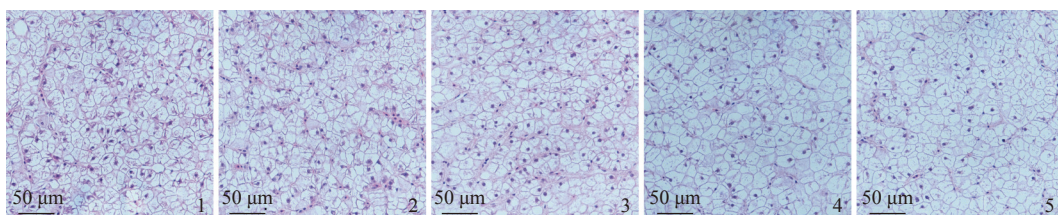
研究发现, 用 MBM 替代饲料中 25%、50%、75% 的鱼粉, 对五条鲷全鱼水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分均无显著性影响, 当替代量达到 100% 时全鱼粗蛋白和粗脂肪显著下降, 灰分显著升高^[13]。用菌体蛋白替代饲料中氨基酸总含量的 6.25%、12.50%、25.00% 和 50.00% 显著升高养殖初期的大西洋鲑全鱼干物质含量, 但对全鱼粗蛋白和灰分无显著影响, 对养殖后期的大西洋鲑全鱼干物质、粗蛋白、粗脂肪和灰分均无显著性差异^[15]。添加 10% 扭托甲基球菌 (*M. extorquen*) 蛋白对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 全鱼水分、粗蛋白、粗

脂肪和灰分均无显著性影响^[16]。可见饲料中使用菌体蛋白对鱼体组分的影响会因养殖种类、养殖阶段和饲料营养水平等因素的不同而产生差异。本实验 MBM 替代鱼粉后全鱼水分显著降低, 对全鱼和肌肉粗蛋白含量未造成显著影响。本实验中各组石斑鱼全鱼粗脂肪含量随 MBM 替代量的增加而升高, 在 MBM20 和 MBM30 组显著升高, 与肝体比和脏体比的变化趋势一致, 各组肌肉粗脂肪含量无显著性差异, 提示 MBM 的替代增加了石斑鱼内脏中脂肪的含量。在其他的研究中, 用菌体蛋白替代饲料 50% 的总氨基酸会提高养殖后期大西洋鲑的肝体比^[15]。相对于仅摄食鱼粉 (鱼粉 59.14%) 或者鱼粉-豆粕 (鱼粉 41.24%, 豆粕 20.00%) 饲料的 2 个组, 大西洋鲑摄食补充了 30% 的菌体蛋白的饲料后, 肝体比显著升高^[6]。

本实验 MBM 的使用对石斑鱼肌肉氨基酸总量、鲜味氨基酸总量和必需氨基酸总量都未产生显著影响。鱼肌肉组织氨基酸组成可反映饲料的氨基酸组成模式, 饲料氨基酸均衡即饲料中氨基酸组成接近于养殖动物氨基酸需求量, 氨基酸平衡能提高动物对蛋白质和氨基酸的储存和利用, 氨基酸的不平衡会导致饲料的转化率降低, 影响蛋白质利用率^[17]。从氨基酸均衡性的角度来看, 荚膜甲基球菌蛋白是一种相对优质的饲料蛋白源。

3.3 珍珠龙胆石斑鱼血清生化和机体抗氧化能力的变化

甘油三酯和总胆固醇是血脂的重要组成部分, 其含量的高低可反映机体脂质代谢和机体健康情况。肝脏是鱼类脂质代谢的主要器官, 血脂水平能反映肝脏对脂质的代谢能力和受损情况^[18]。血清低密度脂蛋白主要负责将脂类物质从肝脏运往外周组织供其利用^[19], 而高密度脂蛋白负责将脂类物质运往肝脏进行代谢^[20]。MBM 替代鱼粉对石斑鱼血清高密度脂蛋白含量无显著影响, 血清甘油三酯、总胆固醇含量和低密度脂蛋白含量显著



图版 II 珍珠龙胆石斑鱼肝脏形态学的影响

Plate II Liver morphology observation of *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂

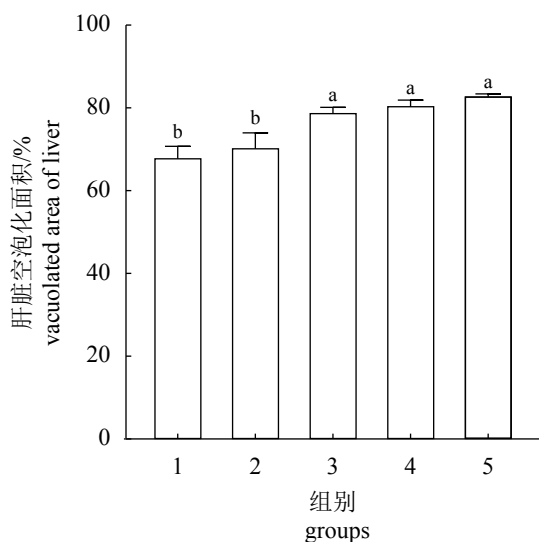


图2 MBM 替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼肝脏空泡化面积的影响

Fig. 2 Effects of MBM replacement of fish meal on liver vacuolation area of *E. fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂

降低, MBM 减少了脂质从肝脏运往外周组织的过程。综上提示, MBM 替代鱼粉后石斑鱼肝脏脂肪分解代谢降低, 脂肪合成积累上升。菌体蛋白脂质组成中主要是磷脂, 磷脂有助于脂类的吸收利用, 能降低血脂水平^[21]。提取菌体蛋白的脂类用于成年貂 (*Martes* sp.) 的饲料后, 血浆总胆固醇、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白含量降低^[22], 结果与本实验结果类似。血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性的异常升高是肝脏功能受损的标志^[23-24]。本实验 MBM 替代鱼粉后石斑鱼血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性均降低, 表明 MBM 对石斑鱼肝脏组织不造成损伤, 并对肝脏起到一定的保护作用。

抗氧化性能反映体内消除氧化自由基的能力, 与机体的健康息息相关^[25]。本实验各组肠道抗氧化指标、肝脏总抗氧化能力和超氧化物歧化酶活性无显著性差异。大西洋鲑豆粕组饲料 (鱼粉含量 41.24%、豆粕含量 20.00%) 中添加 30% 菌体蛋白可以改善由于豆粕引起的肠道损伤^[6]。本实验饲料中豆粕含量降低, 对肠道和肝脏未产生损伤应激。使用 MBM 替代鱼粉后, 肠道丙二醛含量降低, 超氧化物歧化酶活性升高, 表明 MBM 对提高石斑鱼肠道抗氧化能力有一定的促进作用; 肝脏丙二醛含量显著降低, MBM 能提高肝脏组织的抗氧化能力, 改善肝脏健康情况, 与前面的结果相呼应。

<https://www.china-fishery.cn>

3.4 珍珠龙胆石斑鱼肝脏和肠道形态学的变化

肠道是鱼类消化和吸收营养物质的主要器官, 其结构主要由浆膜层、肌肉层、黏膜下层和黏膜层组成, 其中黏膜下层和黏膜层向肠腔发出指状突起形成绒毛, 肠道绒毛高度、宽度和密集程度反映了肠道吸收营养物质的能力^[26]。肠道 H.E 染色切片结果显示, MBM 替代组与对照组石斑鱼肠道绒毛宽度无显著性差异, 肠道绒毛高度除 MBM5 组显著低于对照组外, 其余替代组大于对照组但无显著性差异, MBM 替代后, 肠道绒毛密集程度增加。表明 MBM 对提高石斑鱼肠道营养物质吸收能力有一定帮助。在大西洋鲑的实验中发现 MBM 能改善由豆粕所引起的肠炎问题, 推测其原因是 MBM 中磷脂、核苷酸和短肽等成分促进了肠道的健康^[6]。MBM 中精氨酸含量高于鱼粉, 研究表明, 精氨酸能促进石斑鱼肠道组织紧密连接蛋白相关基因的表达, 改善肠道微生物群落结构, 在促进肠道发育、修复肠道损伤、改善肠道屏障功能等方面具有重要作用^[27-29], MBM 的替代增加了石斑鱼对精氨酸的摄入, 从而改善肠道健康水平。肝脏是鱼类物质代谢的重要器官, MBM 替代鱼粉后肝脏组织的空泡化面积显著增加, 印证了 MBM 促进了肝脏组织对脂类物质的合成和积累, 但肝细胞膜界限清晰, 表明 MBM 对石斑鱼肝脏组织未造成损伤。

4 结论

在本实验条件下, 荚膜甲基球菌蛋白替代饲料中 30% 的鱼粉, 对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、饲料利用、存活率和体组分不会产生负面影响, 并且对提高肝脏和肠道组织抗氧化能力、增强肠道对营养物质的吸收能力具有一定的促进作用。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Cao L, Naylor R, Henriksson P, et al. China's aquaculture and the world's wild fisheries[J]. *Science*, 2015, 347(6218): 133-135.
- [2] Han D, Shan X J, Zhang W B, et al. A revisit to fish-meal usage and associated consequences in Chinese aquaculture[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, 10(2): 493-507.

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- [3] 潘世会, 谷珉, 梁振林. 单细胞蛋白在水产配合饲料中应用的研究进展[J]. 河北渔业, 2020(7): 53-56.
Pan S H, Gu M, Liang Z L. Research progress on application of single-cell protein source in aquaculture[J]. Hebei Fisheries, 2020(7): 53-56 (in Chinese).
- [4] Hanson R S, Hanson T E. Methanotrophic bacteria[J]. *Microbiological Reviews*, 1996, 60(2): 439-471.
- [5] Øverland M, Skrede A, Matre T. Bacterial protein grown on natural gas as feed for pigs[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science*, 2001, 51(2): 97-106.
- [6] Øverland M, Kjos N P, Skrede A. Effect of bacterial protein meal grown on natural gas on growth performance and carcass traits of pigs[J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2004, 3(4): 323-336.
- [7] Øverland M, Kjos N P, Olsen E, *et al.* Changes in fatty acid composition and improved sensory quality of back-fat and meat of pigs fed bacterial protein meal[J]. *Meat Science*, 2005, 71(4): 719-729.
- [8] Skrede A, Schøyen H F, Svihus B, *et al.* The effect of bacterial protein grown on natural gas on growth performance and sensory quality of broiler chickens[J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2003, 83(2): 229-237.
- [9] Aas T S, Grisdale-Helland B, Terjesen B F, *et al.* Improved growth and nutrient utilisation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing a bacterial protein meal[J]. *Aquaculture*, 2006, 259(1-4): 365-376.
- [10] Romarheim O H, Øverland M, Mydland L T, *et al.* Bacteria grown on natural gas prevent soybean meal induced enteritis in Atlantic salmon[J]. *The Journal of Nutrition*, 2011, 141(1): 124-130.
- [11] 丁少雄, 刘巧红, 吴昊昊, 等. 石斑鱼生物学及人工繁育研究进展[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(4): 737-752.
Ding S X, Liu Q H, Wu H H, *et al.* A review of research advances on the biology and artificial breeding of groupers[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(4): 737-752 (in Chinese).
- [12] 宋鹏, 邓岳松, 陶业, 等. 珍珠龙胆石斑鱼蛋白质及氨基酸营养研究进展[J]. *广东饲料*, 2021, 30(3): 38-42.
Song P, Deng Y S, Tao Y, *et al.* Research progress on protein and amino acid nutrition of pearl gentian grouper[J]. *Guangdong Feed*, 2021, 30(3): 38-42 (in Chinese).
- [13] Biswas A, Takakuwa F, Yamada S, *et al.* Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal as an alternative protein source for Japanese yellowtail, *Seriola quinqueradiata*[J]. *Aquaculture*, 2020, 529: 735700.
- [14] Aas T S, Hatlen B, Grisdale-Helland B, *et al.* Feed intake, growth and nutrient utilization in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets containing a bacterial protein meal[J]. *Aquaculture Research*, 2007, 38(4): 351-360.
- [15] Storebakken T, Baeverfjord G, Skrede A, *et al.* Bacterial protein grown on natural gas in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*, in freshwater[J]. *Aquaculture*, 2004, 241(1-4): 413-425.
- [16] Hardy R W, Patro B, Pujol-Baxley C, *et al.* Partial replacement of soybean meal with *Methylobacterium extorquens* single-cell protein in feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)[J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49(6): 2218-2224.
- [17] 向泉, 周兴华, 曾本和, 等. 蛋氨酸水平对吉富罗非鱼肌肉氨基酸组成及血清抗氧化能力的影响[J]. *水产学报*, 2016, 40(9): 1359-1367.
Xiang X, Zhou X H, Zeng B H, *et al.* Effects of dietary methionine on muscle acids composition and serum antioxidant ability of GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(9): 1359-1367 (in Chinese).
- [18] 吴春艳. 垂盆草提取物对草鱼脂肪肝模型药效作用研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
Wu C Y. The pharmacodynamic function study of *Sedum sarmentosum* extract in grass carp fatty liver model[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [19] Yun B, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Synergistic effects of dietary cholesterol and taurine on growth performance and cholesterol metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed high plant protein diets[J]. *Aquaculture*, 2012, 324-325: 85-91.
- [20] Deng J, Mai K, Ai Q, *et al.* Interactive effects of dietary cholesterol and protein sources on growth performance and cholesterol metabolism of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 16(4): 419-429.
- [21] Øverland M, Tauson A H, Shearer K, *et al.* Evaluation of methane-utilising bacteria products as feed ingredients

- for monogastric animals[J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2010, 64(3): 171-189.
- [22] Müller H, Hellgren L I, Olsen E, *et al.* Lipids rich in phosphatidylethanolamine from natural gas-utilizing bacteria reduce plasma cholesterol and classes of phospholipids: a comparison with soybean oil[J]. *Lipids*, 2004, 39(9): 833-841.
- [23] Song Z D, Li H Y, Wang J Y, *et al.* Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 426-427: 96-104.
- [24] 魏佳丽, 王际英, 宋志东, 等. 酶解磷虾粉替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、体组成及血清生化的影响[J]. *渔业科学进展*, 2016, 37(1): 100-110.
- Wei J L, Wang J Y, Song Z D, *et al.* Effects of the partial substitute for fish meal by hydrolyzed krill meal on growth performance, the body composition and the serum biochemical Parameters of juvenile pearl gentian grouper[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(1): 100-110 (in Chinese).
- [25] 王成强, 李宝山, 王际英, 等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌和酵母培养物对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长、血清生化指标及抗氧化能力的影响[J]. *渔业科学进展*, 2019, 40(4): 47-56.
- Wang C Q, Li B S, Wang J Y, *et al.* Effects of dietary *Bacillus subtilis* and yeast culture on growth, serum biochemical indices and antioxidant capacity of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(4): 47-56 (in Chinese).
- [26] 陈思琦, 程镇燕, 安贸麟, 等. 豆粕替代鱼粉并添加精氨酸对点带石斑鱼消化酶活性和肠道组织结构的影响[J]. *中国饲料*, 2019(1): 57-64.
- Chen S Q, Cheng Z Y, An M L, *et al.* Effect of dietary soybean meal replacing fish meal and supplemented with arginine on digestion and intestinal structure of grouper in *Epinephelus malabaricus*[J]. *China Feed*, 2019(1): 57-64 (in Chinese).
- [27] Van Keulen P, Khan M A, Dijkstra J, *et al.* Effect of arginine or glutamine supplementation and milk feeding allowance on small intestine development in calves[J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(5): 4754-4764.
- [28] 迟淑艳, 韩凤禄, 谭北平, 等. 饲料精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼生长和肠道形态的影响[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(2): 388-394.
- Chi S Y, Han F L, Tan B P, *et al.* Effects of dietary arginine level on growth performance and intestine morphology of juvenile grouper *Epinephelus coioides*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(2): 388-394 (in Chinese).
- [29] 崔晓. 饲料精氨酸对珍珠龙胆石斑鱼肠道物理和免疫屏障的影响机制[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2020.
- Cui X. Effect of dietary arginine on intestinal physical and immunologic barrier of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂×*E. fuscoguttatus*♀)[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2020 (in Chinese).

Effects of methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) bacteria meal replacement of fish meal on growth performance, serum biochemical indices and intestinal health of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)

LIANG Weixing¹, WANG Jia², TAN Beiping¹, CHI Shuyan^{1*}

(1. Aquatic Economic Animal Nutrition and Feed Laboratory, College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Calysta (Shanghai) Business Information Consulting Co., Ltd, Shanghai 200041, China)

Abstract: Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) bacteria meal (MBM), which has the advantages of high protein content and balanced amino acid composition, is a kind of the single-cell protein produced by *M. capsulatus*, which using methane as the sole carbon and energy source. In order to investigate the effects of substituting MBM replacement for fish meal on growth performance and intestinal health of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂), five groups of isonitrogenous and isolipid diets were prepared by adding 2%, 4%, 8% and 12% MBM to replace 5% (MBM5), 10% (MBM10), 20% (MBM20) and 30% (MBM30) fish meal based on control diet, respectively, and hybrid grouper [initial weight (28.85±0.04) g] was fed for 8 weeks. The results showed that the survival rate of grouper in each group was 100%. There were no significant differences in weight gain rate, specific growth rate, feed intake rate, feed conversion ratio and protein efficiency ratio among replacement groups compared with control group ($P>0.05$). In whole fish composition, the moisture in all replacement groups and the ether extract in MBM20 and MBM30 were significantly higher than those in control group ($P<0.05$), but the crude protein of whole fish and the moisture, ether extract, crude protein, total essential amino acids and flavor amino acids of muscle showed no significant difference in all groups ($P>0.05$). Serum triglyceride, total cholesterol, low density lipoprotein and glutamic-oxalacetic transaminase in replacement groups were significantly lower than those in control group ($P<0.05$), but there were no significant differences in serum albumin and high density lipoprotein among all groups ($P>0.05$). Intestinal total antioxidant capacity and superoxide dismutase activity in replacement groups were higher than those in control group, while malondialdehyde content was lower than that in control group, but there were no significant differences ($P>0.05$). There was no significant difference in the thickness of intestinal muscle layer among all groups ($P>0.05$), and no significant difference in the height and width of intestinal villi in MBM10, MBM20 and MBM30 replacement groups compared with control group ($P>0.05$). The height of intestinal villi in MBM10, MBM20 and MBM30 groups and control group were significantly higher than that in MBM5 group ($P<0.05$). The width of intestinal villi in MBM30 group was significantly higher than that in MBM5 group ($P<0.05$). The vacuolated area of liver increased with the increasing replacement of MBM without significant difference ($P>0.05$). In conclusion, when the fish meal content in the basal diet is 40%, MBM can replace at least 30% of fish meal without negatively affecting the survival, growth performance and feed utilization rate of hybrid grouper, and can promote the reduction of blood lipid level, promote the accumulation while reducing the catabolism of lipids in liver and improves of intestinal antioxidant capacity of grouper. This study confirmed the feasibility of using methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) bacteria meal in the diet of *E. fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂, which has a facilitating effect on saving the use of fish meal in the diet of the groupers and reducing the cost of breeding.

Key words: *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂; methanotroph (*Methylococcus capsulatus*) bacteria meal; fish meal replacement; growth performance; intestinal health

Corresponding author: CHI Shuyan. E-mail: chishuyan77@163.com

Funding projects: National Key Research and Development Program of China (2019YFD0900200); Special Project on Key Fields of Guangdong Colleges and Universities-Special Project on Key Fields of Rural Revitalization (2020ZDZX1034); Science and Technology Project of Zhanjiang City (2020A02001)