

发酵棉籽粉替代鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼生长、饲料利用性能及肠道菌群的影响

吴光德^{1,2}, 兰鲲鹏^{1,2}, 陈旭^{2,3}, 王芸², 周传朋², 林黑着², 马振华^{2,3,4}, 王珺^{2,4}

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南海水产研究所/农业农村部水产品加工重点实验室, 广东广州 510300
3. 中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心, 海南三亚 572018
4. 海南省深远海渔业资源高效利用与加工重点实验室, 海南三亚 572018

摘要: 发酵棉籽粉是一种优质植物蛋白原料, 具有替代饲料鱼粉的潜力。为评估发酵棉籽粉作为卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*) 饲料蛋白源的适宜性及适宜替代水平, 用发酵棉籽粉分别替代卵形鲳鲹幼鱼饲料中0% (对照组)、25%、50%、75%和100%的鱼粉 (基础饲料中鱼粉质量分数为35%), 配制成5种实验饲料, 饲喂幼鱼 [初始体质量为 (12.57±0.25) g] 7周, 探究了发酵棉籽粉替代鱼粉对幼鱼存活、生长和饲料利用性能及肠道菌群组成的影响。结果显示, 发酵棉籽粉替代组的存活、生长、饲料利用率以及蛋白质、脂肪沉积效率均低于鱼粉对照组, 而25%和50%替代组与对照组无显著性差异 ($P>0.05$)。但当发酵棉籽粉替代75%~100%鱼粉时, 刺激了卵形鲳鲹肝脏的抗氧化系统, 使总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性高于对照组。此外肝脏HE染色切片显示其细胞空泡化现象加剧, 100%替代组的血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量降低, 肝脏合成蛋白能力可能下降。发酵棉籽粉高水平替代鱼粉会影响卵形鲳鲹的肠道菌群组成, 表现为有益菌丰度下降、有害菌丰度上升, 从而影响了肠道菌群功能。综合考虑生长性能和鱼体健康, 建议卵形鲳鲹饲料中发酵棉籽粉替代鱼粉水平以25%为宜。

关键词: 卵形鲳鲹; 发酵棉籽粉; 生长; 饲料利用; 肠道菌群

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Effects of replacement of fish meal by fermented cottonseed meal on growth performance, feed utilization and intestinal bacteria community of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)

WU Guangde^{1,2}, LAN Kunpeng^{1,2}, CHEN Xu^{2,3}, WANG Yun², ZHOU Chuanpeng², LIN Heizhao², MA Zhenhua^{2,3,4}, WANG Jun^{2,4}

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China
2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of Aquatic Product Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China
3. Tropical Aquaculture Research and Development Center, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Sanya 572018, China
4. Key Laboratory of Efficient Utilization and Processing of Marine Fishery Resources of Hainan Province, Sanya 572018, China

收稿日期: 2023-03-07; 修回日期: 2023-04-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32172984); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金 (2020TD55, 2022XT0404); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助 (2021SD09)

作者简介: 吴光德 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类营养与饲料。E-mail: 843007708@qq.com

通信作者: 王珺 (1979—), 女, 研究员, 博士, 研究方向为水产动物营养与饲料学。E-mail: jwang@scsfr.ac.cn

Abstract: Fermented cottonseed meal (FCSM) is a high-quality plant protein ingredient with potential to replace fishmeal in feed. To evaluate the suitability of FCSM as a protein source in the diet of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) and its appropriate replacement level, we had fed the juveniles with initial body mass of (12.57±0.25) g for seven weeks by five diets to replace 0% (Control group), 25%, 50% and 100% of fishmeal by FCSM, and the fish meal in reference diet was 35%. Then we investigated the effects of FCSM replacement of fishmeal on the survival, growth, feed utilization performance and intestinal microflora of the juveniles. The results show that the survival, growth, feed efficiency, dietary protein and lipid deposition rates were lower in FCSM treatments compared with those in reference diet, while the differences between 25%, 50% replacement groups and the reference diet were not significant ($P>0.05$). However, the liver antioxidant system was stimulated, and the activities of total superoxide dismutase (T-SOD) and catalase (CAT) in 75%–100% replacement groups were higher than those in the control group. In addition, the liver hematoxylin-eosin-stained sections show that the cellular vacuolation phenomenon was aggravated. The contents of total protein, albumin and globulin in serum in 100% replacement group were reduced, and the protein synthesis capacity of liver might be impaired. High-level replacement of fish meal by FCSM affected the composition of intestinal flora, with the abundance of beneficial bacteria decreasing and that of harmful bacteria increasing. Taking into account both growth performance and fish health, it is recommended to replace fish meal with 25% FCSM in the diet for *T. ovatus*.

Keywords: *Trachinotus ovatus*; Fermented cottonseed meal; Growth; Feed utilization; Intestinal flora

近几十年来世界水产养殖业不断发展, 养殖产量逐年升高^[1], 对饲料的需求量也随之增加。与陆生动物相比, 水生动物对饲料蛋白质的需求量更高^[2], 因此水产养殖业需要大量的蛋白原料。鱼粉是水产饲料中最重要的蛋白源, 其氨基酸组成可满足大多数鱼类的营养需求。然而, 随着全球渔业资源逐渐衰退^[3], 鱼粉的价格不断升高, 产量也难以长期满足水产动物饲料的需求。因此, 寻求新型的饲料蛋白原料替代饲料中的鱼粉一直是水产养殖业亟待解决的问题^[4]。

棉籽粉作为植物蛋白质原料具有产量高、价格低的优点。2022年世界棉花产量约2 534万吨(数据来源: 美国农业部 www.usda.gov), 其副产物棉籽每年产量超过1 000万吨^[5]。棉籽粉是棉籽经过一系列工序提取棉籽油后的副产物, 其蛋白质含量高^[6], 而价格仅为鱼粉的1/3, 如果能替代或部分替代养殖动物饲料中的鱼粉, 则可以显著降低饲料价格, 具有巨大的市场潜力。但棉籽粉中的游离棉酚、环丙烯脂肪酸、植酸和单宁等物质具有一定的营养拮抗作用, 降低了饲料的适口性, 限制了棉籽粉在饲料中的使用量。近年来, 棉籽粉的发酵工艺取得了较大进展, 使棉籽粉中蛋白溶出率以及益生菌、小分子肽和氨基酸等营养物质含量有所提升, 促进了生物对棉籽粉的吸收利用^[7-8], 为其替代饲料中的鱼粉、豆粕等蛋白质原料提供了可能。已有研究显示, 发酵棉籽粉可以部分替代饲料中的鱼粉和豆粕等蛋白源, 例如用发酵棉籽粉替代黑鲷

(*Acanthopagrus schlegelii*) 饲料中8%的鱼粉对其生长速度和饲料利用率无显著性影响, 但更高的替代水平则会导致鱼的生长速度下降^[9]; 以发酵棉籽粉替代凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 饲料中50%的鱼粉对其生长速度和饲料利用率无显著性影响, 但随着替代水平的升高, 对虾的各项指标均显著下降^[10]。这些研究结果表明不同养殖动物对棉籽粉的耐受存在明显的种属差异性, 在应用前必须对其适宜的添加量进行实验评估。

卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*) 为暖水性鱼类, 主要分布于东南亚和地中海的热带和亚热带地区^[11], 具有肉质细嫩、抗逆性强和广盐性等特点^[12], 是中国南方广泛养殖的鱼类。2021年中国卵形鲳鲹养殖产量已达到24.4万吨^[13]。目前已对卵形鲳鲹的营养需求如蛋白质^[14]、氨基酸^[15]、脂肪^[16-18]、碳水化合物^[19]、维生素^[20]和矿物质^[21]及各类添加剂^[22]等开展了研究。作为肉食性鱼类, 卵形鲳鲹对饲料蛋白质的需求量较高[~42% (质量分数)^[23]]。探究发酵棉籽粉替代鱼粉, 能增加卵形鲳鲹饲料蛋白源, 确保蛋白源的多元化。目前关于发酵棉籽粉在卵形鲳鲹饲料中的应用效果和适宜用量的研究尚未见报道。本研究探讨发酵棉籽粉替代饲料中不同水平的鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼存活、生长和饲料利用性能的影响, 评估其适宜的替代量, 并从营养沉积效率、血清生化指标、抗氧化能力、肠道菌群等角度深入分析发酵棉籽粉对卵形鲳鲹的影响机制, 为发酵棉籽粉在卵形鲳鲹饲料中的应用提

供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计与饲料配制

本实验所用的发酵棉籽粉由新疆希普生物科技股份有限公司提供, 主要原料的粗营养数据见表1表注。以发酵棉籽粉为饲料蛋白源分别替代饲料中0% (对照组)、25%、50%、75%和100%的鱼粉, 配制5种实验饲料(表1)。棉籽粉中的游离棉酚会与饲料中的赖氨酸和蛋氨酸相结合^[24-26], 因此本研究参照Wang等^[6]的方法在含发酵棉籽粉的饲料中补充了赖氨酸和蛋氨酸, 以达到氨基酸平衡。所有饲料原料均经过粉碎机粉碎并过60目筛, 将所有粉碎好的原料按饲料配方称量后混合均匀, 卵磷脂充分溶解在鱼油中, 手工将油脂微小颗粒搓散, 各种原料用腰鼓式立式混合机(牧羊SYTH0.1, 中国)混合均匀。在搅拌期间逐渐加入饲料质量35%的蒸馏水形成团状, 并用膨化机(VALVA SL685, 中国)挤压成直径2.5 mm的沉性颗粒饲料, 在空调房吹干后用-20℃冰箱保存备用。

1.2 实验鱼与养殖管理

实验在中国水产科学研究院南海水产研究所三亚热带水产研究开发中心进行, 在海南省陵水县新村港用小网箱(长100 cm×宽100 cm×高150 cm)进行养殖。实验用卵形鲳鲹幼鱼购自陵水德林诚信水产养殖有限公司育苗场, 购买后先用商品饲料驯化2周以适应养殖环境。正式实验开始前幼鱼禁食24 h, 然后挑选健康幼鱼600尾[初始质量为(12.57±0.25) g]随机分配在20个网箱中, 每个网箱养殖30尾, 放入网箱前称量鱼的初始体质量。网箱随机分配给5个饲料处理组, 每组4个重复(网箱)。每天08:00和17:00饱食投喂, 记录每个网箱中鱼的摄食量、死亡数量和体质量, 饲喂7周, 每2周对网箱进行1次清洗, 去除网衣上的附着生物。养殖水温28~32℃, 溶解氧质量浓度大于5.0 mg·L⁻¹, 盐度28.0‰~31.2‰, pH 7.4~8.0, 氨氮质量浓度小于0.05 mg·L⁻¹。

1.3 样品采集与处理

养殖实验结束时禁食24 h, 然后用50 mg·L⁻¹丁香酚(成都艾科达化学试剂有限公司)进行麻醉。记录每个网箱中鱼的尾数和总质量, 从每个网箱随机取4尾鱼称体质量, 测量体长, 解剖后内脏

和肝脏分别称质量, 计算肝体比、脏体比和肥满度; 随机取3尾鱼于-20℃保存, 用于鱼体营养组成分析; 随机取6尾鱼用1 mL注射器在尾静脉抽血, 抽取后立即离心(转速3 800 r·min⁻¹, 15 min), 取上清液-80℃保存, 用于血清生化指标检测。然后, 2尾取中肠及肝脏, 用体积分数为4%的多聚甲醛溶液保存, 用于组织病理切片制作与观察, 2尾取中肠和肝脏用于各类酶活性的检测, 2尾取中肠用于肠道菌群的检测, 以上样品均用液氮速冻后转移到-80℃低温冰箱保存。

1.4 样品生化分析

鱼体和饲料营养组成分析均采用AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000)的方法, 其中: 水分测定采用105℃烘干恒重法(24 h); 粗蛋白测定采用凯氏定氮法; 粗脂肪测定采用索氏抽提法; 灰分测定采用箱式电阻炉灼烧法。肝脏切片制作, 组织经脱水浸蜡、包埋、切片后, 分别用苏木素-伊红逐步染色, 并脱水封片。血浆中的总蛋白(Total protein, TP)、白蛋白(Albumen, ALB)、球蛋白(Globulin, GLB)和尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)委托广州新海医院检验中心采用贝克曼全自动生化分析仪(Hitachi 7180, 日本)和迈克生物有限公司的试剂盒进行测定。用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒和单功能光吸收酶标仪(VersaMax, Molecular Devices, 美国)检测胃、肠道和肝脏总蛋白浓度, 胃蛋白酶、胰蛋白酶、肠道α-淀粉酶、肠道脂肪酶、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、血清过氧化氢酶(CAT)活性和总抗氧化能力(T-AOC)。

委托杭州明科生物技术有限公司对肠道菌群进行高通量测序分析, 经过肠道菌群基因组DNA抽提、16S rRNA V4-V5区PCR扩增、荧光定量、Illumina PE文库构建、Illumina PE测序等步骤得到949 940个有效序列, 对序列进行聚类分析、BLAST比对、物种分类信息获取等一系列处理后, 再利用Origin 2022和Graphpad prism 9.0软件绘图, 得到肠道菌群多样性等数据和图表。

1.5 数据计算与统计分析

1) 成活率=实验结束时网箱中鱼的尾数/实验开始时网箱中鱼的尾数×100%;

2) 体质量增长率=(实验结束时所有鱼的总质量-实验开始时所有鱼的总质量)/实验开始时所有鱼的总质量×100%;

表1 实验饲料组成及营养组成(干物质)
Table 1 Formulation and proximate composition of reference and experimental diets (Dry mass)

原料 Ingredient	发酵棉籽粉替代鱼粉比例 Proportion of FCSM replacement				
	0%	25%	50%	75%	100%
鱼粉 ^① Fish meal	35.00	26.25	17.50	8.75	0.00
发酵棉籽粉 ^② Fermented cottonseed meal	0.00	11.47	22.94	34.41	45.00
大豆浓缩蛋白 ^③ Soy protein Conc	13.00	13.00	13.00	13.00	13.00
鸡肉粉 ^④ Chicken meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
赖氨酸 L-Lysine	0.00	0.21	0.42	0.63	0.85
蛋氨酸 DL-methionine	0.00	0.10	0.19	0.29	0.39
高筋面粉 ^⑤ Gluten flour	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
诱食剂 ^⑥ Attractant	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
卵磷脂 Lecithin	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
鱼油 Fish oil	6.00	6.50	7.00	7.50	8.00
维生素和矿物质预混料 ^⑦ Vitamin and mineral premix	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 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
维生素 Vitamin C	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
骨粉 Bone meal	13.20	9.67	6.15	2.62	0
营养成分分析(干基) Analyzed proximate composition (Dry basis)					
水分 Moisture	9.5±0.2	8.3±0.1	10.4±0.1	11.0±0.1	9.9±0.1
粗蛋白 Crude protein	40.6±0.3	41.6±0.3	43.3±0.3	44.6±0.1	44.9±0.1
粗脂肪 Crude lipid	9.7±0.1	9.7±0.2	9.8±0.1	9.8±0.15	9.8±0.1
粗纤维 Crude fiber	0.33	1.62	2.91	4.20	5.39
灰分 Ash	21.4±0.1	18.1±0.2	14.2±0.1	10.9±0.1	8.6±0.1
游离棉酚质量分数 Free gossypol mass fraction/(mg·kg ⁻¹)	0	29.93	59.85	89.78	119.70

注: ① 水分 7.1% (质量分数, 后同)、粗蛋白 68.0%、粗脂肪 8.0%、粗纤维 0.2%、灰分 16.4%; ② 水分 7.2%、粗蛋白 59.7%、粗脂肪 1.7%、粗纤维 11.4%、灰分 6.6%; ③ 水分 9.0%、粗蛋白 65.0%、粗脂肪 0.5%、粗纤维 0.1%、灰分 2.6%; ④ 水分 9.0%、粗蛋白 65.0%、粗脂肪 5.0%、粗纤维 2.6%、灰分 12.1%; ⑤ 水分 9.7%、粗蛋白 16.4%、粗脂肪 1.0%、粗纤维 0.6%、灰分 1.5%; ⑥ 诱食剂为二甲基-β-丙酸噻亭 (Dimethyl-β-propiothetin, DMPT)、甘氨酸、牛磺酸等比例混合; ⑦ 维生素和矿物质预混料物质质量分数 (mg·kg⁻¹): 维生素 A 乙酸酯 150 000 IU, 维生素 D₃ 75 000 IU, dl-α-生育酚乙酸酯 2 500, 亚硫酸氢烟酰胺甲萘醌 250, 硝酸硫铵 (维生素 B₁) 320, 核黄素 (维生素 B₂) 700, 盐酸吡哆醇 (维生素 B₆) 500, 氰钴胺 (维生素 B₁₂) 4, 肌醇 4 000, L-抗坏血酸-2-磷酸酯 5 500, 烟酰胺 3 800, D-泛酸钙 1 600, 叶酸 80, D-生物素 4, 铜 (甘氨酸铜络合物) 200, 一水硫酸亚铁 1 800, 硫酸锰 450, 硫酸锌 5 500, 碘酸钙 100, 亚硒酸钠 15, 硫酸钴 50, 乙氧基喹啉 0~300, 二丁基羟甲苯 0~750。

Note: ① Moisture 7.1% (Mass fraction, the same below), crude protein 68.0%, crude lipid 8.0%, crude fiber 0.2%, ash 16.4%; ② Moisture 7.2%, crude protein 59.7%, crude lipid 1.7%, crude fiber 11.4%, ash 6.6%; ③ Moisture 9.0%, crude protein 65.0%, crude lipid 0.5%, crude fiber 0.1%, ash 2.6%; ④ Moisture 9.0%, crude protein 65.0%, crude lipid 5.0%, crude fiber 2.6%, ash 12.1%; ⑤ Moisture 9.7%, crude protein 16.4%, crude lipid 1.0%, crude fiber 0.6%, ash 1.5%; ⑥ The palatability enhancer is a mixture of dimethyl-β-propionate, glycine and taurine; ⑦ Composition of vitamin and mineral premixa (mg·kg⁻¹): Retinyl acetate 150 000 IU, Vitamin D₃ 75 000 IU, dl-α-tocopherol acetate 2 500 mg, Mena-dione nicotinamide bisulfite 250, Vitamin B₁ 320, Riboflavin (Vitamin B₂) 700, Vitamin B₆ 500, Vitamin B₁₂ 4, Inositol 4 000, Cholesalicylate 5 500, Nicotinamide 3 800, D-calcium pantothenate 1 600, Folic acid 80, D-biotin 4, Copper (Copperdiglycinate) 200, Ferrous sulfate monohydrate 1 800, Manganese (II) sulfate monohydrate 450, Zinc (Zinc sulfate monohydrate) 5 500, Iodine (calcium iodate) 100, Selenium (Sodium selenite) 15, Cobalt (Cobalt sulfate hydrate) 50, Ethoxyquin 0~300, Dibutylhydroxytoluene 0~750.

3) 摄食率 = $[2 \times \text{总摄食干质量} / (\text{实验结束时所有鱼的总质量} + \text{实验开始时所有鱼的总质量})] / \text{养殖时间} \times 100\%$;

4) 饲料利用率 = $(\text{实验结束时所有鱼的总质量} - \text{实验开始时所有鱼的总质量}) / \text{总摄食干质量}$;

5) 蛋白沉积率 = $(\text{实验结束时所有鱼的总质量} \times \text{实验结束时鱼体蛋白质质量分数} - \text{实验开始时所有鱼的总质量} \times \text{实验开始时鱼体蛋白质质量分数}) / (\text{总摄食干质量} \times \text{饲料烘干时蛋白质质量分数}) \times 100\%$;

6) 脂质沉积率 = $(\text{实验结束时所有鱼的总质量} \times \text{实验结束时鱼体脂质质量分数} - \text{实验开始时所有鱼的总质量} \times \text{实验开始时鱼体脂质质量分数}) / (\text{总摄食干质量} \times \text{饲料烘干时脂质质量分数}) \times 100\%$;

7) 脏体比 = $\text{内脏质量} / \text{鱼体质量} \times 100\%$;

8) 肝体比 = $\text{肝脏质量} / \text{鱼体质量} \times 100\%$;

9) 肥满度 = $\text{鱼体质量} \times 100 / \text{鱼体体长}^3$;

$$10) S = N_{\text{Obs}} \frac{n_1 (n_1 - 1)}{2 (n_2 + 1)};$$

$$11) H = - \sum_{i=1}^{N_{\text{Obs}}} \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N};$$

$$12) D = \frac{\sum_{i=1}^{N_{\text{Obs}}} n_i (n_i - 1)}{N(N-1)};$$

式中: S 为 Chao1 指数; N_{Obs} 为观测到的 OTU 数目; n_1 为只含有 1 条序列的 OTU 数目; n_2 为只含有 2 条序列的 OTU 数目; H 为 Shannon 指数; n_i 为第 i 个 OTU 所含的序列段数; N 为所有的序列段数; D 为 Simpson 指数。

数据采用单因素方差分析 (ANOVA), 若差异显著 ($P < 0.05$), 用 Tukey's 检验进行多重比较分析, 所有数据在方差分析前先进行方差齐性检验。统计分析通过 IBM SPSS 26 软件进行, 鱼粉的替代量与各因变量之间的线性或二项式关系用正交多项式分析, 结果以 “平均数 \pm 标准误 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)” 表示。所有测定指标均为 3 个重复 ($n=3$)。

2 结果

2.1 对存活、生长和饲料利用性能的影响

卵形鲳鲹的成活率、体质量增长率、饲料利用率、蛋白沉积率和脂肪沉积率均随着饲料中发酵棉籽粉替代鱼粉水平的升高而降低 (表 2); 0% 对照组和 50% 替代组的成活率显著高于 100% 替代组 ($P < 0.05$), 其余各组之间差异不显著 ($P > 0.05$); 各

组之间体质量增长率的差异未达到显著性水平; 饲料利用率、蛋白沉积率和脂肪沉积率呈相似的变化趋势, 均为对照组显著高于 100% 替代组 ($P < 0.05$), 其余各组之间差异不显著; 成活率、饲料利用率、蛋白沉积率和脂肪沉积率均与替代水平呈显著的线性负相关性 ($P < 0.05$); 发酵棉籽粉替代鱼粉各处理组原摄食率均高于对照组, 但各组之间的差异均未达到显著性水平 ($P > 0.05$)。

2.2 对鱼体营养组成和形体指标的影响

发酵棉籽粉替代饲料鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼的营养成分 (表 3) 和形体指标 (表 4) 均具有显著性影响。鱼体水分质量分数与发酵棉籽粉替代水平呈显著正相关性 ($P < 0.05$), 粗脂肪质量分数则与替代水平呈显著负相关 ($P < 0.05$)。75% 和 100% 替代组的鱼体水分质量分数显著高于对照组 ($P < 0.05$), 而其粗脂肪质量分数则显著低于对照组 ($P < 0.05$)。100% 替代组鱼体蛋白质质量分数最低, 但与其他各组之间的差异未达到显著性水平。发酵棉籽粉替代组的肝体比均显著低于对照组 ($P < 0.05$)。发酵棉籽粉替代鱼粉对脏体比和肥满度的影响不显著。

2.3 对消化酶活性和抗氧化酶活性的影响

替代组卵形鲳鲹的胃蛋白酶活性, 以及肠道胰蛋白酶与 α -淀粉酶活性均低于对照组, 但差异均未达到显著性水平 (表 5)。肠道 α -淀粉酶和脂肪酶活性与替代水平分别存在显著的线性负相关和正相关关系 ($P < 0.05$); 发酵棉籽粉替代组的肠道脂肪酶活性均高于对照组, 25% 和 100% 替代组与对照组的差异达到显著性水平。各组间卵形鲳鲹肝脏 T-AOC、CAT 活性及 T-SOD 无显著性差异, 75% 和 100% 替代组肝脏 T-SOD 和 CAT 活性均高于对照组, 但肝脏 T-AOC 则均低于对照组。

2.4 对肝脏组织形态和血清生化指标的影响

各饲料处理组间卵形鲳鲹的肝脏 HE 染色切片如图 1 所示, 发酵棉籽粉替代饲料鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼的肝脏产生了一定程度的负面影响, 替代组的肝脏均存在不同程度的细胞质空泡化现象; 与对照组相比, 75% 和 100% 替代组的细胞质空泡化现象明显。

各饲料处理组间卵形鲳鲹血清的总蛋白、白蛋白和球蛋白含量无显著性差异 (图 2), 但 100% 替代组总蛋白、白蛋白和球蛋白含量均下降, 说明肝脏合成蛋白的能力可能下降。此外与对照组相比, 100% 替代组血清尿素氮含量大幅上升, 说明发酵棉籽粉高水平替代鱼粉可能对卵形鲳鲹肾脏的

表2 不同发酵棉籽粉替代鱼粉水平下卵形鲳鲹幼鱼的存活、生长和饲料利用性能
Table 2 Survival, growth and feed utilization of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements

指标 Index	发酵棉籽粉替代鱼粉水平 Replacement of fish meal by FCSM					单因素方差分析 ANOVA ($P>F$)	线性趋势 Linear trend ($P>F$)	二次趋势 Quadratic trend ($P>F$)
	0% (对照组 Control)	25%	50%	75%	100%			
成活率 Survival/%	85.00±5.09 ^b	80.00±6.94 ^{ab}	85.00±6.31 ^b	72.50±5.34 ^{ab}	63.33±2.72 ^a	0.061	0.010	0.210
终末质量 FBW/g	42.34±3.92	40.78±2.62	39.87±1.49	39.14±3.80	35.08±1.38	0.487	0.095	0.648
体质量增长率 WGR/%	239.8±31.9	226.7±20.0	217.6±10.2	212.81±29.4	181.07±12.7	0.471	0.087	0.692
摄食率 FR/(%·d ⁻¹)	3.15±0.03	3.27±0.10	3.21±0.04	3.29±0.08	3.31±0.14	0.659	0.203	0.856
饲料利用率 FE	0.64±0.06 ^b	0.59±0.07 ^{ab}	0.61±0.01 ^{ab}	0.54±0.06 ^{ab}	0.45±0.05 ^a	0.116	0.016	0.348
蛋白沉积率 PR/%	28.32±1.75 ^b	27.12±2.86 ^{ab}	26.21±1.64 ^{ab}	21.94±3.14 ^{ab}	17.17±1.78 ^a	0.020	0.002	0.225
脂肪沉积率 LR/%	76.79±9.80 ^c	67.04±4.14 ^{bc}	64.41±1.43 ^{bc}	48.73±4.11 ^{ab}	25.50±4.63 ^a	0.000	0.000	0.079

注: 同行不同上标字母表示差异显著 ($P<0.05$), F 代表显著性概率。后表同此。

Note: Values with different letters within the same row are significantly different ($P<0.05$). F represents the probability of significance. The same case in the following tables.

表3 不同发酵棉籽粉替代鱼粉水平下卵形鲳鲹鱼体的营养组成 (湿基)
Table 3 Proximate composition of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements (wet basis)

指标 Index	发酵棉籽粉替代鱼粉水平 Replacement of fish meal by FCSM					单因素方差分析 ANOVA ($P>F$)	线性趋势 Linear trend ($P>F$)	二次趋势 Quadratic trend ($P>F$)
	0% (对照组 Control)	25%	50%	75%	100%			
水分质量分数 Mass fraction of moisture/%	65.93±0.67 ^a	66.37±0.32 ^{ab}	67.13±0.19 ^{ab}	68.30±0.54 ^{bc}	70.26±0.58 ^c	0.000	0.000	0.083
粗蛋白质质量分数 Mass fraction of crude protein/%	18.00±0.35	18.43±0.22	18.34±0.55	18.25±0.36	17.72±0.31	0.673	0.542	0.189
粗脂肪质量分数 Mass fraction of crude lipid/%	10.31±0.53 ^c	9.72±0.25 ^{bc}	9.42±0.09 ^{bc}	8.48±0.35 ^b	6.57±0.25 ^a	0.000	0.000	0.017
灰分质量分数 Mass fraction of ash/%	4.30±0.17	4.21±0.05	4.43±0.13	4.25±0.06	4.65±0.17	0.162	0.089	0.256

表4 不同发酵棉籽粉替代鱼粉水平下卵形鲳鲹鱼体的形体指标
Table 4 Physical indexes of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements

指标 Index	发酵棉籽粉替代鱼粉水平 Replacement of fish meal by FCSM					单因素方差分析 ANOVA ($P>F$)	线性趋势 Linear trend ($P>F$)	二次趋势 Quadratic trend ($P>F$)
	0% (对照组 Control)	25%	50%	75%	100%			
肝体比 HIS/%	1.39±0.13 ^b	0.91±0.05 ^a	1.02±0.05 ^a	1.14±0.08 ^{ab}	1.06±0.04 ^a	0.002	0.083	0.007
脏体比 VSI/%	6.34±0.16	6.21±0.14	5.80±0.41	6.31±0.16	6.44±0.19	0.388	0.686	0.124
肥满度 CF/(g·cm ⁻³)	3.09±0.06	3.11±0.06	3.09±0.05	3.18±0.05	3.04±0.05	0.395	0.837	0.241

尿素氮排泄功能造成了负面影响。

2.5 对肠道菌群的影响

多样性分析结果显示, 除 100% 替代组外, 其余 3 个替代组的 Chao1 指数均高于对照组; 发酵棉籽粉的 Shannon 指数, 除 50% 替代组外, 均低于对照组。各饲料处理组肠道菌群的 Simpson 值与

发酵棉籽粉的替代水平呈显著正相关。各饲料处理组间肠道菌群的多样性指数的差异未达到显著性水平 ($P>0.05$, 图 3)。

各处理组卵形鲳鲹肠道菌群在门水平和属水平的比例见图 4 和图 5。用发酵棉籽粉替代 75%~100% 鱼粉对卵形鲳鲹肠道菌群的群落结构产生了

表5 不同发酵棉籽粉替代鱼粉水平下卵形鲳鲹的肠道消化酶活性和肝脏抗氧化酶活性
Table 5 Digestive enzyme activities and hepatic antioxidant enzyme activities of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements

指标 Index	发酵棉籽粉替代鱼粉水平 Replacement of fish meal by FCSM					单因素 方差分析 ANOVA ($P>F$)	线性趋势 Linear trend ($P>F$)	二次趋势 Quadratic trend ($P>F$)
	0% (对照组 Control)	25%	50%	75%	100%			
胃蛋白酶活性 Pepsin activity/(U·mg ⁻¹)	71.73±6.91	60.93±6.15	62.17±4.13	62.08±5.94	58.18±4.95	0.518	0.133	0.637
肠道胰蛋白酶活性 Intestinal trypsin activity/(U·mg ⁻¹)	2 119.7±392.6	1 902.7±619.7	1 606.1±223.0	1 705.5±390.6	1 482.0±232.6	0.700	0.193	0.760
肠道α-淀粉酶活性 Intestine α-amylase activity (U·mg ⁻¹)	1.53±0.17	1.39±0.24	1.36±0.13	0.97±0.21	0.98±0.13	0.123	0.015	0.944
肠道脂肪酶活性 Intestinal lipase activity/(U·g ⁻¹)	1.40±0.06 ^a	1.73±0.08 ^b	1.60±0.02 ^{ab}	1.54±0.03 ^{ab}	1.73±0.11 ^b	0.018	0.026	0.536
肝脏超氧化物歧化酶活性 T-SOD of liver/(U·mg ⁻¹)	444.86±33.68	432.68±29.54	445.68±17.98	484.21±37.00	450.95±13.16	0.794	0.540	0.802
肝脏过氧化氢酶活性 CAT of liver/(U·mg ⁻¹)	39.59±7.73	46.32±6.51	41.83±3.32	50.94±4.31	48.02±0.49	0.494	0.174	0.792
肝脏总抗氧化能力 T-AOC of liver/(mmol·g ⁻¹)	0.33±0.03	0.20±0.02	0.25±0.02	0.24±0.01	0.25±0.04	0.063	0.125	0.061

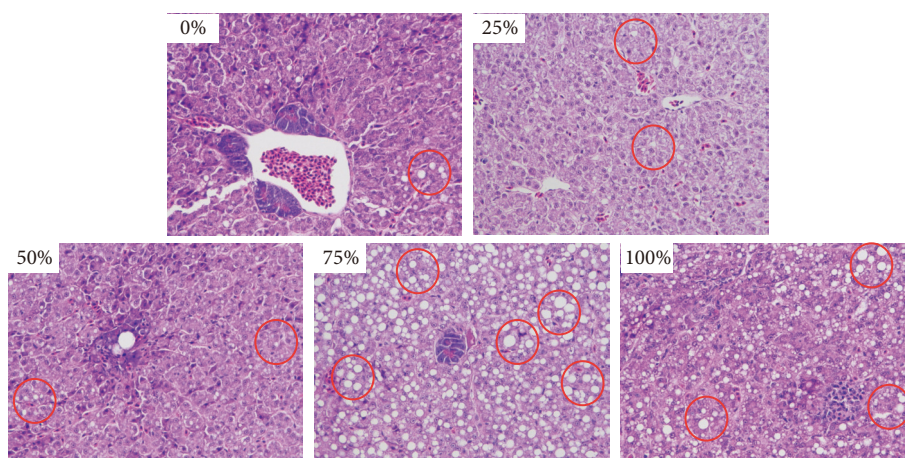


图1 不同发酵棉籽粉替代鱼粉水平下卵形鲳鲹肝脏 HE 染色切片 (400×, 红圈代表细胞质空泡化现象)

Fig. 1 Hematoxylin-eosin (HE) stained liver sections of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements (400×, red circles represent cytoplasmic vacuolization)

显著性影响。在门水平上,变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和软壁菌门在肠道菌群中的比例较高(合计>95%)。随着替代水平的提高,变形菌门的丰度增加,厚壁菌门和拟杆菌门的丰度减少。在属水平上,无色杆菌属(*Achromobacter*)、代尔夫特菌属(*Delftia*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)、潘多拉菌属(*Pandora*)、未排位拟杆菌 S24-7 (*Bacteroidales* S24-7 group_norank) 和乳杆菌属(*Lactobacillus*) 占肠道菌群的比例较高,当发酵棉籽粉替代水平达到或高于 75% 时,无色杆菌属、代尔夫特菌属、短波单胞菌属、潘多拉菌属、支原体(*Mycoplasma*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、*Candidatus* *Bacilloplasma* 丰度增加,未排位拟杆菌 S24-

7 和乳杆菌属丰度降低。

肠道菌群功能预测结果如图 6 所示,与对照组相比,发酵棉籽粉替代全部鱼粉导致卵形鲳鲹代谢一级通路下很多二级通路,包括碳水化合物、氨基酸、辅助因子、维生素、脂代谢、聚糖(Glycan)的相对比例均低于对照组,表征肠道菌群对营养物质的吸收代谢能力变差。

3 讨论

3.1 发酵棉籽粉替代鱼粉对卵形鲳鲹生长与饲料利用性能的影响

本研究结果显示,用发酵棉籽粉替代饲料中 25%~50% 的鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼的成活率、体质

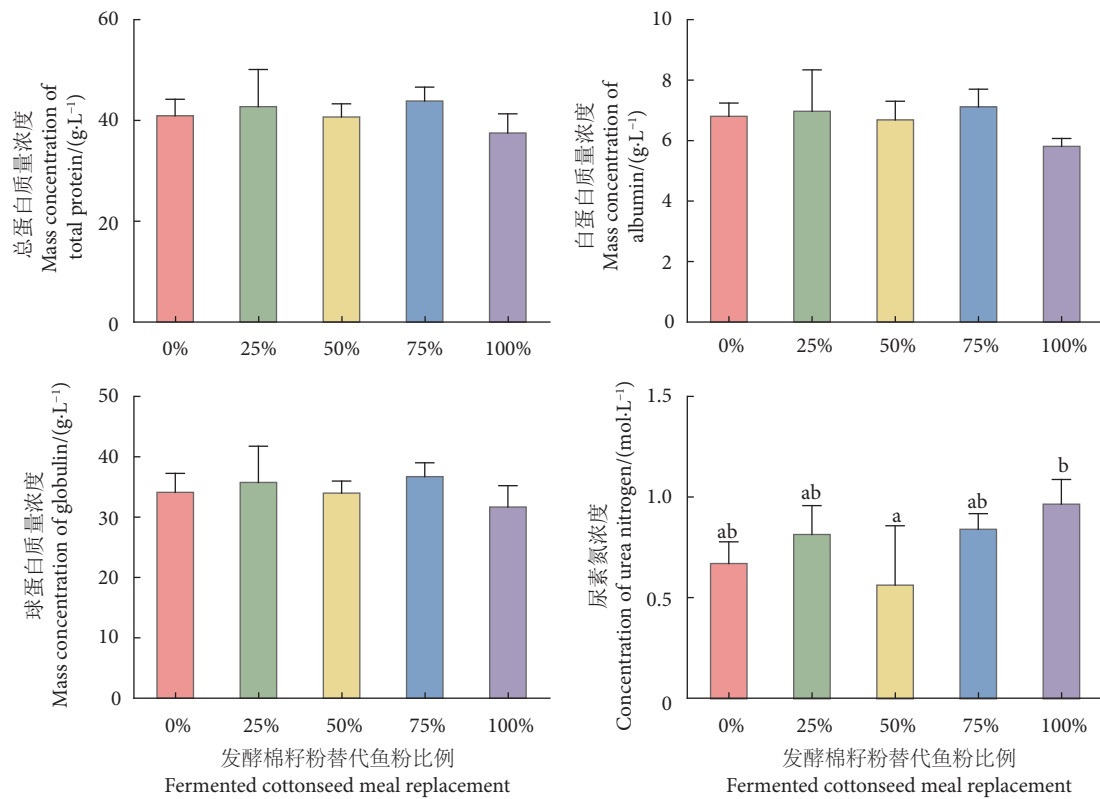


图2 不同发酵棉籽粉替代鱼粉水平下卵形鲳鲹的血清总蛋白、白蛋白、球蛋白和尿素氮浓度
注: 方柱上不同字母表示具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 2 Contents of serum total protein, albumin, globulin and blood urea nitrogen of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements

Note: Different letters on the bars are significantly different ($P < 0.05$).

量增长率、饲料利用性能均未造成显著影响,但当发酵棉籽粉替代量达到 75%~100% 时,上述指标均显著降低,这可能是由于高替代水平饲料中游离棉酚等有害物质的含量超过了卵形鲳鲹幼鱼的耐受水平而对其正常的生理造成了一定损害。对虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[27] 和大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*)^[28] 的研究也发现,棉籽粉含量较低时对其生长无显著性影响,当超过一定范围时,实验鱼的生长和饲料利用性能均随着替代水平的上升而下降。值得注意的是,用少量脱酚棉籽粉替代鱼粉可提高多鳞鱈 (*Sillago sihama*)^[29]、乌苏里拟鲿 (*Pseudobagrus ussuriensis*)^[30] 和三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*)^[31] 的体质量增长率。这些现象也说明不同水生动物种类对游离棉酚的耐受程度存在明显的种属差异^[32-33]。

另一方面,卵形鲳鲹的生长受到其对饲料营养利用性能的影响。胃和肠道是食物消化最重要的场所,动物对饲料原料消化能力的高低是影响其营养利用效率的重要因素,有研究显示美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 可以有效地消化棉籽粉,其消化率

与鱼粉相当^[34]。目前尚无有关卵形鲳鲹对发酵棉籽粉蛋白消化率的报道。本研究测定了卵形鲳鲹消化酶活性和营养沉积率,因为消化酶活性是反映动物消化能力的重要指标,而营养沉积率则可直观表征动物对营养成分同化吸收能力的高低。本研究中棉籽粉饲料组的胃蛋白酶、肠道胰蛋白酶和肠道 α -淀粉酶活性均低于对照组,且蛋白质沉积率与饲料中发酵棉籽粉水平呈显著负相关,这些结果说明卵形鲳鲹对棉籽粉蛋白消化和吸收同化的能力低于鱼粉。对多鳞鱈^[29] 的研究也发现类似现象。以往的研究发现游离棉酚会与赖氨酸和蛋氨酸等含硫氨基酸结合,且会降低肠道对氨基酸和小肽的吸收能力^[35],这些可能是本研究中卵形鲳鲹蛋白质沉积率下降的原因。值得注意的是,发酵棉籽粉组的肠道脂肪酶活性均高于对照组,表明发酵棉籽粉可能起到了激活卵形鲳鲹脂肪消化酶的作用,但发酵棉籽粉组的鱼体脂肪含量却低于对照组,这可能是由于在实验鱼对饲料蛋白源利用能力下降的情况下,更多的脂肪被分解用于提供鱼体所需的能量,从而导致鱼体脂肪沉积减少。

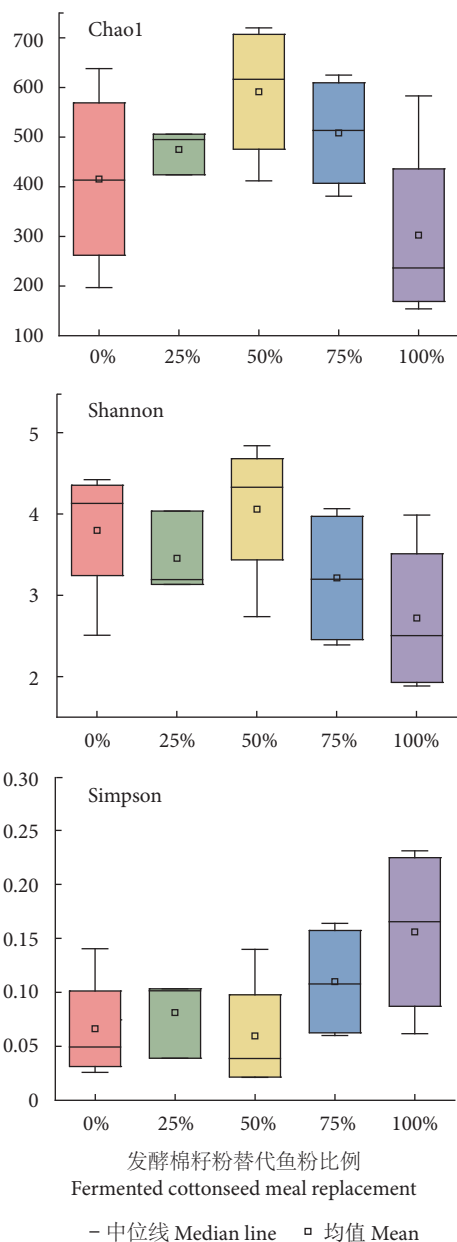


图3 不同发酵棉籽粉替代水平下卵形鲳鲹的肠道菌群物种多样性指标

Fig. 3 Species diversity indexes of intestinal flora of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements

此外，用发酵棉籽粉替代鱼粉会增加饲料的粗纤维含量。有研究显示，饲料中纤维素质量分数介于 5%~15% 时可增加营养物质在胃肠道的停留时间，从而可提高罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 成虾的生长速度^[36]；而饲料中纤维素质量分数介于 10%~20% 时，不会对舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 的蛋白质沉积率和生长性能产生显著性影响^[37]。因此，粗纤维含量的增加可能并不是高水平替代组卵形鲳鲹生长性能下降的原因之一。

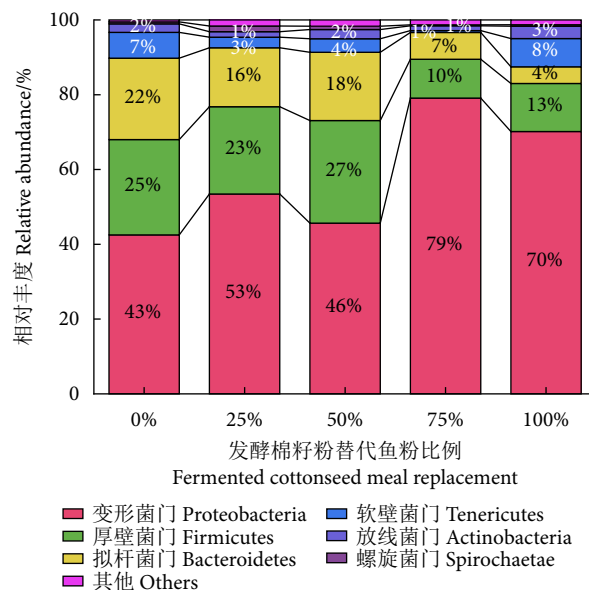


图4 不同发酵棉籽粉替代水平下卵形鲳鲹的肠道菌群组成 (门水平)

Fig. 4 Relative abundance of intestinal flora of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements (Phylum level)

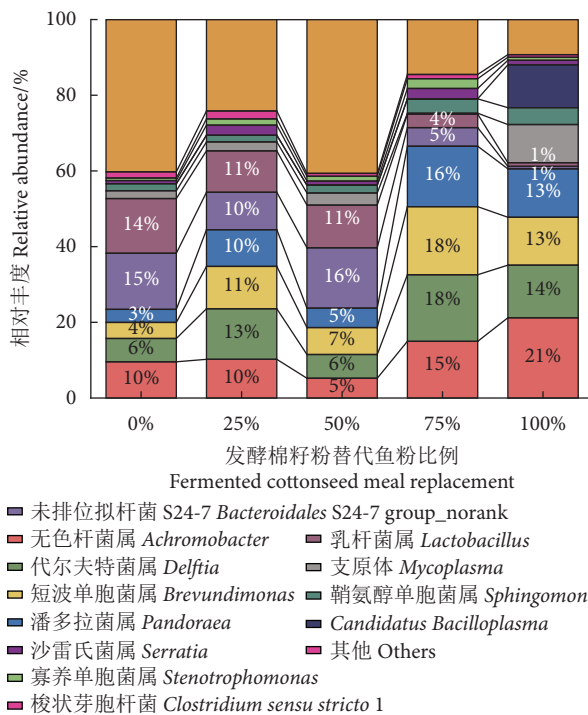


图5 不同发酵棉籽粉替代水平下卵形鲳鲹的肠道菌群组成 (属水平)

Fig. 5 Relative abundance of intestinal flora of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing different FCSM replacements (Genus level)

3.2 发酵棉籽粉替代鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼肠道菌群的影响

肠道菌群从鱼类孵化时开始就定殖于其肠道，

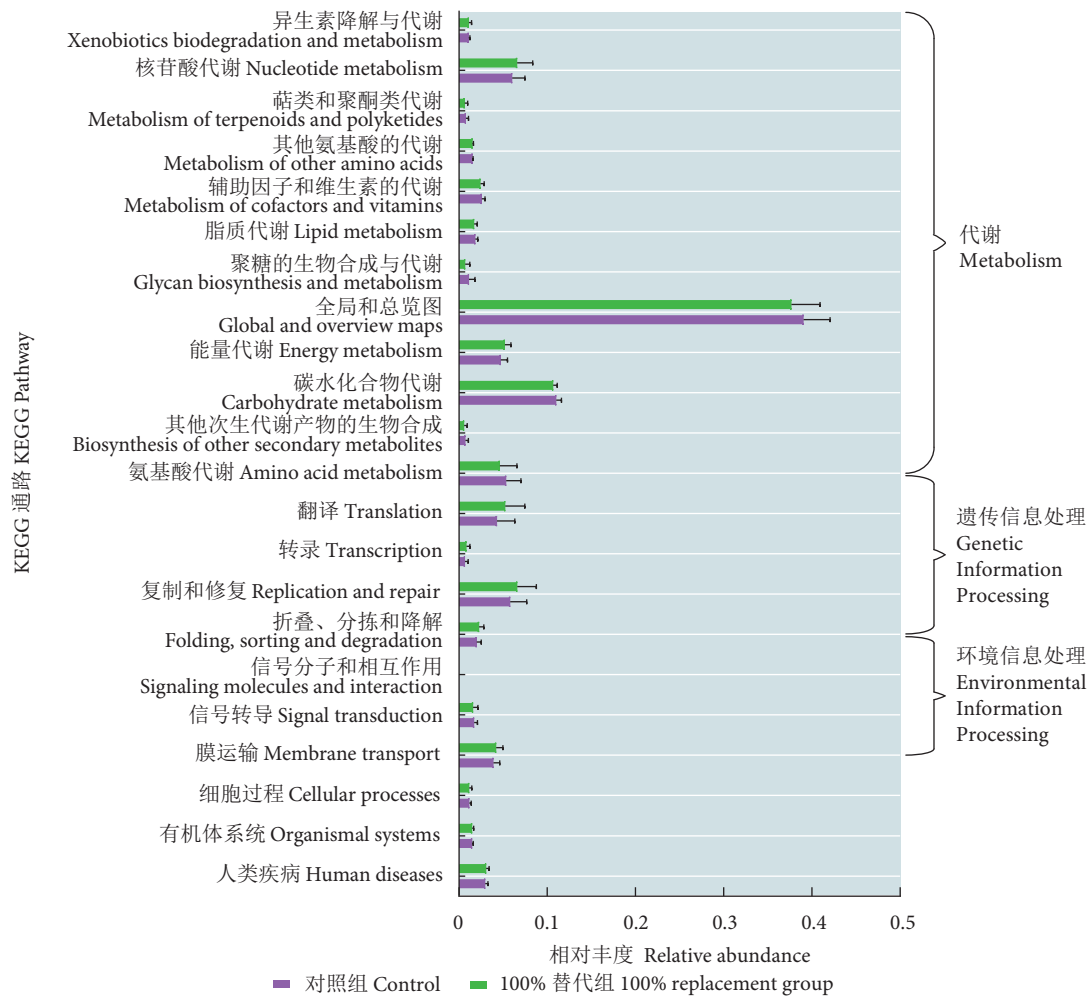


图6 摄食全鱼粉蛋白饲料和全棉籽粉蛋白饲料的卵形鲳鲹肠道菌群功能预测 (KEGG L2)

Fig. 6 Prediction of intestinal flora function of juvenile *T. ovatus* fed with reference and experimental diets containing 100% FCSM replacement (KEGG L2)

食物和外界环境均会引起肠道菌群结构和功能的变化^[38]。本研究显示,变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门是卵形鲳鲹肠道菌群中占比较高的优势菌门,这与兰鲲鹏等^[39]的研究结果相一致。在门水平上,发酵棉籽粉替代75%~100%的鱼粉降低了卵形鲳鲹肠道菌群中厚壁菌门和拟杆菌门的丰度,提高了变形菌门的丰度。有研究指出变形菌门的许多种类具有致病菌属性特征,厚壁菌门具有降解膳食纤维的作用^[40],拟杆菌门和蛋白质与碳水化合物的降解有关^[41],厚壁菌门和拟杆菌门丰度的下降可能会导致菌群对相关营养物质的利用性能降低。在属水平上,发酵棉籽粉替代75%~100%的鱼粉提高了无色杆菌属、代尔夫特菌属、短波单胞菌属和潘多拉菌属的丰度,这些菌被认为是致病菌或条件致病菌^[42-45];同时降低了未排位拟杆菌 S24-7 和乳杆菌属等(多数为益生菌^[46])的丰度。棉籽粉中游离棉酚的毒性作用可能是卵形鲳鲹肠道菌群改变

的重要原因。Li 等^[47]在尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 饲料中分别添加 150 和 300 mg·kg⁻¹ 的游离棉酚,显著降低了肠道菌群的丰富度和多样性,导致肠道大部分代谢产物含量下降,并引起肠道炎症、氧化应激和细胞凋亡。结合门水平和属水平上卵形鲳鲹肠道菌群组成的变化,可知发酵棉籽粉替代75%~100%的鱼粉(游离棉酚计算质量分数为91.53~119.7 mg·kg⁻¹,与Li等^[47]接近)会导致卵形鲳鲹肠道菌群紊乱,这与在饲料中添加棉酚引起尼罗罗非鱼肠道炎症及肠道菌群紊乱的结果一致^[47]。

碳水化合物代谢和氨基酸代谢是肠道菌群产生短链脂肪酸的主要途径^[48-50]。发酵棉籽粉完全替代鱼粉会造成上述通路占比下降,从而导致肠道菌群代谢产生的短链脂肪酸减少,而短链脂肪酸在生物体的能量代谢调节中起到了至关重要的作用,其能抑制肝脏脂肪积累,调节生物体内脂肪的沉积和血糖的稳态^[51-54],并改善线粒体功能^[55-57],缺乏短链

脂肪酸会抑制卵形鲳鲹的生长^[58]，这可能是导致100%替代组体质量增长率下降的主要原因之一。

3.3 棉籽粉替代鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼肝脏和免疫应激的影响

肠道吸收各类物质，通过淋巴管和血液循环抵达肝脏，肝脏是动物利用营养物质和代谢有毒有害物质的主要器官，其形体指标是鱼类健康的参考指标之一^[59]。本研究中，发酵棉籽粉替代组的肝体比均低于对照组(表4)，当饲料中发酵棉籽粉替代量高于50%时，卵形鲳鲹肝脏中T-SOD和CAT活性均高于对照组，T-AOC低于对照组，实验鱼抗氧化系统稳态可能被破坏^[60]。且100%替代组血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量下降，肝脏合成蛋白功能可能受损。卵形鲳鲹肝脏切片结果显示，75%和100%替代组的肝脏细胞空泡化现象明显高于对照组，表明肝脏健康受到了一定影响。这可能是由于棉酚摄入量超过了鱼体的代谢能力，其在鱼类肝脏中积累，达到一定量时引起了肝脏组织结构的变化^[35]。棉酚能通过自身的醛基与氨基反应形成希夫碱基，或者通过酚羟基形成氢键^[61]，从而对组织产生毒性作用，如：导致巨噬细胞进行程序性凋亡^[62]、通过ROS-SIRT1-p53-PUMA途径诱导男性生殖干细胞线粒体凋亡^[63]和通过诱导转化生长因子- $\beta 1$ ^[64]并下调细胞周期素D1^[65]抑制细胞增殖等。浓缩棉籽蛋白替代鱼粉也会对肝脏的组织结构产生影响，Liu等^[66]研究显示浓缩棉籽蛋白替代75%的鱼粉导致大口黑鲈肝脏油红O染色切片中红色脂滴面积显著增加，肝脏脂肪堆积加剧，高替代组的肝细胞边界消失，肝细胞体积缩小，核固缩，空泡化变性加剧，相似的现象在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[67]中也有发现。说明发酵棉籽粉和浓缩棉籽蛋白高水平替代鱼粉均会对水产动物的肝脏健康造成损伤，而棉酚沉积则是诱发肝脏细胞空泡化现象的主要原因，这也解释了高替代水平下卵形鲳鲹肝体比和脏体比显著降低的原因。

肝脏和肠道通过肝肠循环互相作用，肝脏经胆道将胆汁酸和抗菌分子输送到肠道从而控制细菌生长^[68]，对肠道菌群起到调节作用。发酵棉籽粉高水平替代鱼粉导致肝脏损伤，可能使肝脏调节菌群组成的能力减弱，导致肠道致病菌和条件致病菌丰度上升。高含量的游离棉酚是引发这一系列现象的主要原因，如何进一步脱除发酵棉籽粉中的游离棉酚仍是工业界值得关注的问题。

4 结论

本研究结果显示，发酵棉籽粉可以作为卵形鲳鲹的饲料蛋白源部分替代鱼粉。用发酵棉籽粉作为饲料蛋白源替代25%~50%的鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼的成活率、生长和饲料利用性能无显著性影响，但50%替代组的体质量增长率有一定程度降低。当替代量达到75%~100%时，会对卵形鲳鲹幼鱼肝脏组织和肠道菌群群落结构造成负面影响。基于本研究的结果，建议卵形鲳鲹饲料中发酵棉籽粉替代鱼粉水平以25%为宜。

参考文献:

- [1] FAO. The state of the world fisheries and aquaculture [M]. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2022: 1-3.
- [2] WU G Y. Recent advances in animal nutrition and metabolism [M]. Berlin: Springer Cham, 2022: 237-261.
- [3] BRITTEN G L, DUARTE C M, WORM B. Recovery of assessed global fish stocks remains uncertain[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(31): e2108532118.
- [4] COTTRELL R S, BLANCHARD J L, HALPERN B S, et al. Global adoption of novel aquaculture feeds could substantially reduce forage fish demand by 2030[J]. Nat Food, 2020, 1: 301-308.
- [5] KHAN M A, WAHID A, AHMAD M, et al. Cotton production and uses [M]. Berlin: Springer, 2020: 978-981.
- [6] WANG J, CLARK G, JU M, et al. Effects of replacing menhaden fishmeal with cottonseed flour on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile red drum *Sciaenops ocellatus*[J]. Aquaculture, 2020, 523: 735217.
- [7] 余忠丽, 辉辉, 王俊青, 等. 一种酶解发酵生产棉籽蛋白的方法: CN112219934B [P]. 2021-07-16.
- [8] LIM S J, LEE K J. A microbial fermentation of soybean and cottonseed meal increases antioxidant activity and gossypol detoxification in diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. J World Aquac Soc, 2011, 42(4): 494-503.
- [9] 孙宏, 叶有标, 姚晓红, 等. 发酵棉籽粕部分替代鱼粉对黑鲷幼鱼生长性能, 体成分及血浆生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(5): 1238-1245.
- [10] SUN H, TANG J W, YAO X H, et al. Effects of replacement of fish meal with fermented cottonseed meal on growth performance, body composition and haemolymph indexes of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* Boone, 1931[J]. Aquac Res, 2016, 47(8): 2623-2632.
- [11] LIU B, GUO H Y, ZHU K C, et al. Growth, physiological, and molecular responses of golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758) reared at different salinities[J]. Fish Physiol Biochem, 2019, 45: 1879-1893.
- [12] XUN P W, ZHOU C P, HUANG X L, et al. Effects of dietary sodium acetate on growth performance, fillet quality, plasma biochemis-

- try, and immune function of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. *Aquac Nutr*, 2022, 2022: 1-11.
- [13] 农业农村部渔业渔政管理局, 全球水产技术推广总站, 中国水产学会. 2022 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2022: 22.
- [14] WANG F, HAN H, WANG Y, et al. Growth, feed utilization and body composition of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus* fed at different dietary protein and lipid levels[J]. *Aquac Nutr*, 2013, 19(3): 360-367.
- [15] ZHOU C P, HUANG Z, LIN H Z, et al. Effects of dietary leucine on glucose metabolism, lipogenesis and insulin pathway in juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquac Rep*, 2021, 19: 100626.
- [16] LIU K, LIU H, CHI S Y, et al. Effects of different dietary lipid sources on growth performance, body composition and lipid metabolism-related enzymes and genes of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquac Res*, 2018, 49(2): 717-725.
- [17] LI M M, ZHANG M, MA Y C, et al. Dietary supplementation with n-3 high unsaturated fatty acids decreases serum lipid levels and improves flesh quality in the marine teleost golden pompano *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquaculture*, 2020, 516: 734632.
- [18] FANG H H, ZHAO W, XIE J J, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, hepatic health, lipid metabolism and intestinal microbiota on *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquac Nutr*, 2021, 27(5): 1554-1568.
- [19] ZHOU C P, GE X P, LIN H Z, et al. Effect of dietary carbohydrate on non-specific immune response, hepatic antioxidative abilities and disease resistance of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2014, 41(2): 183-190.
- [20] XUN P W, LIN H Z, WANG R X, et al. Effects of dietary vitamin B₁ on growth performance, intestinal digestion and absorption, intestinal microflora and immune response of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 506: 75-83.
- [21] WANG J, GATLIN III D M, LI L H, et al. Dietary chromium polynicotinate improves growth performance and feed utilization of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) with starch as the carbohydrate[J]. *Aquaculture*, 2019, 505: 405-411.
- [22] TAN X H, SUN Z Z, HUANG Z, et al. Effects of dietary hawthorn extract on growth performance, immune responses, growth-and immune-related genes expression of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) and its susceptibility to *Vibrio harveyi* infection[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, 70: 656-664.
- [23] 马学坤. 卵形鲳鲹幼鱼对饲料中蛋白能量比和几种必需氨基酸需求的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 26.
- [24] HARDY R W. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal[J]. *Aquac Res*, 2010, 41(5): 770-776.
- [25] National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp [M]. New York: National Academies Press, 2011: 238.
- [26] WILSON R P, ROBINSON E H, POE W E. Apparent and true availability of amino acids from common feed ingredients for channel catfish[J]. *J Nutr*, 1981, 111(5): 923-929.
- [27] ZHAO W, LIU Z L, NIU J. Growth performance, intestinal histomorphology, body composition, hematological and antioxidant parameters of *Oncorhynchus mykiss* were not detrimentally affected by replacement of fish meal with concentrated dephenolization cottonseed protein[J]. *Aquac Rep*, 2021, 19: 100557.
- [28] XU X Y, YANG H, ZHANG C Y, et al. Effects of replacing fishmeal with cottonseed protein concentrate on growth performance, flesh quality and gossypol deposition of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Aquaculture*, 2022, 548: 737551.
- [29] LIU H, DONG X H, TAN B P, et al. Effects of fish meal replacement by low-gossypol cottonseed meal on growth performance, digestive enzyme activity, intestine histology and inflammatory gene expression of silver sillago (*Sillago sihama* Forsskål) (1775) [J]. *Aquac Nutr*, 2020, 26(5): 1724-1735.
- [30] BU X Y, CHEN A J, LIAN X Q, et al. An evaluation of replacing fish meal with cottonseed meal in the diet of juvenile Ussuri catfish *Pseudobagrus ussuriensis*: growth, antioxidant capacity, non-specific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila*[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 829-837.
- [31] XIE S C, ZHOU Q C, ZHANG X S, et al. Effect of dietary replacement of fish meal with low-gossypol cottonseed protein concentrate on growth performance and expressions of genes related to protein metabolism for swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. *Aquaculture*, 2022, 549: 737820.
- [32] LI M H, ROBINSON E H. Use of cottonseed meal in aquatic animal diets: a review[J]. *N Am J Aquac*, 2006, 68(1): 14-22.
- [33] ROMANO G B, SCHEFFLER J A. Lowering seed gossypol content in glanded cotton (*Gossypium hirsutum* L.) lines[J]. *Plant breed*, 2008, 127(6): 619-624.
- [34] GAYLORD T G, GATLIN III D M. Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*)[J]. *Aquaculture*, 1996, 139(3/4): 303-314.
- [35] 王开卓. 棉酚对草鱼肠道结构和免疫屏障的作用及其机制 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2019: 1-2.
- [36] GONZÁLEZ-PEÑA M C, GOMES S Z, MOREIRA G S. Effects of dietary fiber on growth and gastric emptying time of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879)[J]. *J World Aquac Soc*, 2002, 33(4): 441-447.
- [37] DIAS J, HUELVAN C, DINIS M T, et al. Influence of dietary bulk agents (silica, cellulose and a natural zeolite) on protein digestibility, growth, feed intake and feed transit time in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles[J]. *Aquat Living Resour*, 1998, 11(4): 219-226.
- [38] LIU C, ZHAO L P, SHEN Y Q. A systematic review of advances in intestinal microflora of fish [J]. *Fish Physiol Biochem*, 2021, 47: 2041-2053.
- [39] 兰鲲鹏, 吴光德, 王珺, 等. 饲料中添加菊粉对卵形鲳鲹幼鱼存活、生长和肠道菌群的影响 [J]. *南方水产科学*, 2022, 18(5): 55-65.
- [40] SUN Y G, ZHANG S S, NIE Q X, et al. Gut firmicutes: relationship with dietary fiber and role in host homeostasis [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2022: 1-16. DOI: 10.1080/10408398.2022.2098249.

- [41] THOMAS F, HEHEMANN J H, REBUFFET E, et al. Environmental and gut bacteroidetes: the food connection[J]. *Front Microbiol*, 2011, 2: 93.
- [42] MENETREY Q, SORLIN P, JUMAS-BILAK E, et al. *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia*: emerging pathogens well-armed for life in the cystic fibrosis patients' lung [J]. *Genes*, 2021, 12(5): 610.
- [43] YIN Z Q, LIU X B, QIAN C Q, et al. Pan-genome analysis of *Delftia tsuruhatensis* reveals important traits concerning the genetic diversity, pathogenicity, and biotechnological properties of the species[J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(2): e02072-21.
- [44] LIU L, FENG Y, WEI L, et al. Genome-based taxonomy of *Brevundimonas* with reporting *Brevundimonas huaxiensis* sp. nov[J]. *Microbiol Spectr*, 2021, 9(1): e00111-21.
- [45] SINGH S, SAHU C, PATEL S S, et al. *Pandora* *apista* bacteremia in a COVID-positive man: a rare coinfection case report from North India[J]. *J Lab Phys*, 2021, 13(2): 192-194.
- [46] ZHANG Z S, WANG X M, HAN S W, et al. Effect of two seaweed polysaccharides on intestinal microbiota in mice evaluated by illumina PE250 sequencing[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 112: 796-802.
- [47] LI W J, ZHANG L, WU H X, et al. Intestinal microbiota mediates gossypol-induced intestinal inflammation, oxidative stress, and apoptosis in fish[J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(22): 6688-6697.
- [48] WANG M M, WICHENCHOT S, HE X W, et al. *In vitro* colonic fermentation of dietary fibers: fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2019, 88: 1-9.
- [49] ATSUMI S, HANAI T, LIAO J C. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels[J]. *Nature*, 2008, 451(7174): 86-89.
- [50] XU Y Q, ZHU Y, LI X T, et al. Dynamic balancing of intestinal short-chain fatty acids: the crucial role of bacterial metabolism[J]. *Trends Food Sci Tech*, 2020, 100: 118-130.
- [51] KONDO T, KISHI M, FUSHIMI T, et al. Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(13): 5982-5986.
- [52] de VADDER F, KOVATCHEVA-DATCHARY P, GONCALVES D, et al. Microbiota-generated metabolites promote metabolic benefits via gut-brain neural circuits[J]. *Cell*, 2014, 156(1/2): 84-96.
- [53] GE H F, LI X F, WEISZMANN J, et al. Activation of G protein-coupled receptor 43 in adipocytes leads to inhibition of lipolysis and suppression of plasma free fatty acids[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(9): 4519-4126.
- [54] HONG Y H, NISHIMURA Y, HISHIKAWA D, et al. Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(12): 5092-5099.
- [55] SAHURI-ARISOYLU M, BRODY L P, PARKINSON J R, et al. Re-programming of hepatic fat accumulation and 'browning' of adipose tissue by the short-chain fatty acid acetate[J]. *Int J Obes*, 2016, 40(6): 955-963.
- [56] JIA Y M, HONG J, LI H F, et al. Butyrate stimulates adipose lipolysis and mitochondrial oxidative phosphorylation through histone hyperacetylation-associated β 3-adrenergic receptor activation in high-fat diet-induced obese mice[J]. *Exp Physiol*, 2017, 102(2): 273-281.
- [57] GAO Z G, YIN J, ZHANG J, et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice[J]. *Diabetes*, 2009, 58(7): 1509-1517.
- [58] 荀鹏伟. 卵形鲳鲹饲料脂肪需求量及短链脂肪酸的营养功能研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2022: 105.
- [59] DU Z Y, TURCHINI G M. Are we actually measuring growth? An appeal to use a more comprehensive growth index system for advancing aquaculture research[J]. *Rev Aquac*, 2022, 14(2): 525-527.
- [60] DENG J M, MAI K S, CHEN L Q, et al. Effects of replacing soybean meal with rubber seed meal on growth, antioxidant capacity, non-specific immune response, and resistance to *Aeromonas hydrophila* in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 44(2): 436-444.
- [61] DODOU K. Investigations on gossypol: past and present developments[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2005, 14(11): 1419-1434.
- [62] LIN Q R, LI C G, ZHA Q B, et al. Gossypol induces pyroptosis in mouse macrophages via a non-canonical inflammasome pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 292: 56-64.
- [63] HE X, WU C Y, CUI Y H, et al. The aldehyde group of gossypol induces mitochondrial apoptosis via ROS-SIRT1-p53-PUMA pathway in male germline stem cell[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100128-100140.
- [64] JIANG J, YE W, LIN Y C. Gossypol inhibits the growth of MAT-LyLu prostate cancer cells by modulation of TGF β /Akt signaling[J]. *Int J Mol Med*, 2009, 24(1): 69-75.
- [65] ZHANG M C, LIU H P, GUO R B, et al. Molecular mechanism of gossypol-induced cell growth inhibition and cell death of HT-29 human colon carcinoma cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(1): 93-103.
- [66] LIU Y L, LU Q S, XI L W, et al. Effects of replacement of dietary fishmeal by cottonseed protein concentrate on growth performance, liver health, and intestinal histology of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 2308.
- [67] BIAN F, ZHOU H G, WANG C, et al. Effects of replacing fishmeal with different cottonseed meals on growth, feed utilization, haematological indexes, intestinal and liver morphology of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Aquac Nutr*, 2017, 23(6): 1429-1439.
- [68] TRIPATHI A, DEBELIUS J, BRENNER D A, et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(7): 397-411.