Han G L, Xiao C L, Cao M X, *et al*. Dietary substitution of soybean meal with red cowpea meal on growth performance, intestinal morphology, liver health, and amino acid metabolism in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(6): 062601. [韩国立, 肖彩玲, 曹梦西, 等. 豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰生长、肠道结构、肝脏健康及氨基酸代谢的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(6): 062601.]

豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰生长、肠道结构、肝脏健康及氨基酸代谢的影响

韩国立[1,2] 肖彩玲[3] 曹梦西[3] 贾景鲁[2] 张志敏[2] 刘昊昆[2]
金俊琰[2] 梁 勇[3*] 韩 冬[2*] 解绶启[2]

(1. 大连海洋大学, 大连 116023; 2. 中国科学院水生生物研究所水产品种创制与高效养殖全国重点实验室, 武汉 430072; 3. 江汉大学环境与健康学院, 持久性有毒污染物环境与健康危害湖北省重点实验室, 武汉 430056)

摘要: 本实验旨在探讨饲料中豇豆(*Vigna unguiculata* L. Walp)粉替代豆粕对斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)生长性能、肠道结构、肝脏健康及对氨基酸代谢能力的影响。研究配制了四组等氮(37%)等脂(8%)的实验饲料, 分别使用豇豆粉替代饲料中0、10%、20%、30%的豆粕, 分别以CON、R10、R20、R30表示。选取240尾斑点叉尾鮰(22.44±0.28) g随机分为4组, 每组3个重复, 进行为期8周的养殖实验。实验结果表明, R10、R20组增重率显著高于CON组, 各替代组特定生长率显著高于CON组, R10组摄食量显著高于其余各组(P<0.05), 随着替代水平的上升, 斑点叉尾鮰摄食量呈下降趋势。肠道切片HE染色结果显示替代组杯状细胞数量与绒毛高度的比值显著提升(P<0.05), R20组环壁肌层厚度显著高于CON组(P<0.05)。肝脏切片HE染色及TUNEL染色结果未见明显炎症或凋亡, 蛋白质合成基因(*mtor*、*p70s6k*、*eif2b*)呈上升趋势。研究结果表明, 使用豇豆粉替代饲料中不超过30%的豆粕不影响斑点叉尾鮰的生长性能, 对肝脏蛋白质代谢无负面影响, 且可改善中肠组织形态。

关键词: 豇豆粉; 肠道结构; 肝脏健康; 氨基酸代谢; 斑点叉尾鮰

中图分类号: S965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)06-062601-10

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0448 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0448

豆粕是大豆加工后的产物, 因其蛋白质含量较高、产量稳定、成本低廉, 作为主要植物性蛋白源被广泛用于水产饲料[1,2]。然而, 豆粕中必需氨基酸比例不均衡, 尤其缺乏蛋氨酸和赖氨酸[3], 且含有胰蛋白酶抑制剂、凝集素、皂苷、植酸等多种抗营养因子, 以及大量的非淀粉多糖[4], 在水产饲料中使用配比不当会降低饲料适口性, 同时抗营养因子易诱发食源性肠炎, 影响营养物质的吸收进而抑制水产动物生长[5]。此外, 豆粕的使用量依赖于大豆的进口量, 近年来中国大豆进口量已占粮食进口总量的60%以上[6], 受地缘政治冲突和运输风险影响, 大豆供给和价格波动风险不断上升[7], 难以满足水产饲料业的实际需求, 开发和利用新型蛋白源以降低或替代豆粕在水产饲料中的应用是当下水产饲料业关注的焦点之一[8]。

豇豆(*Vigna unguiculata* L. Walp)原产于撒哈拉以南非洲, 是一种气候适应性极强的豆科植物, 能在边缘环境生长, 特别是可以在重金属污染的土壤中生长, 并且其植株对重金属的富集水平整体较低[9]。豇豆富含膳食纤维、水溶性维生素、矿物质及具有抗氧化活性的生物活性肽, 相较于大豆, 其含有更为丰富的赖氨酸和色氨酸[10—12], 已有研究表明,

收稿日期: 2025-12-22; **修订日期:** 2026-02-13

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2400605); 国家特色淡水鱼产业技术体系(CARS-46); 湖北省重点研发项目 (2023BBB067)资助 [Supported by National Key R & D Program of China (2023YFD2400605); the Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-46); the Key R & D Project of Hubei Province (2023BBB067)]

作者简介: 韩国立(2001—), 男, 硕士研究生; 主要从事鱼类生理生态学研究。E-mail: hanguoli@ihb.ac.cn

通信作者: 梁勇(1976—), E-mail: ly76@263.net 韩冬(1979—), E-mail: hand21cn@ihb.ac.cn *共同通信作者

©The Author(s) 2026. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

豇豆提取物在多种体内外实验中表现出抗炎、改善糖尿病和高脂血症的作用[13]。从产业可行性来看, 豇豆在我国种植历史悠久, 适应性强, 可作为与主粮作物间作或轮作的作物, 在不占用优质耕地的前提下保障一定的原料供应基础。价格方面, 作为本土化生产的豆类, 其市场价格受国际大豆贸易波动的影响通常较小, 具有更好的成本可控性与供应链稳定性。因此, 开发利用豇豆等本土蛋白源, 有助于降低水产饲料行业对进口豆粕的依赖, 提升产业链韧性。本研究旨在从营养生理学层面, 为这一替代策略提供实证依据。目前豇豆在水产饲料中的应用研究较少。国内在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)中有过相关报道[14, 15], 结果显示配合饲料中使用印度豇豆可显著提升生长性能。国外在罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)研究中证明豇豆粉或豇豆浓缩蛋白可部分替代鱼粉[16, 17], 是潜在的替代性植物蛋白源。然而, 关于豇豆粉替代豆粕的研究尚属空白。并且豇豆含有胰蛋白酶抑制剂、寡糖和酚类化合物等抗营养因子[18]。其对养殖对象的具体影响仍不清楚, 亟须通过养殖试验进行系统评估。

斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)属鲇形目, 鮰科, 真鮰属, 原产于北美[19]。因其肉质细嫩鲜美, 无肌间刺、营养丰富等特点在我国养殖规模日益扩大, 已经成为主要特色养殖品种之一。至2024年, 其养殖产量已达526249吨[20]。斑点叉尾鮰为杂食偏肉食性鱼类, 饲料蛋白需求在32%—40%[21, 22], 豆粕是其饲料中常用的植物蛋白源[23]。因此, 开展豆粕替代研究具有重要产业价值。本研究以豇豆粉作为替代蛋白源, 设定豆粕替代水平为10%、20%和30%, 旨在探究豇豆粉在斑点叉尾鮰饲料中的适宜替代比例及其对肠道、肝脏健康和氨基酸代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料与伦理声明

本实验用鱼购自湖北省武汉市润泽渔业有限公司。在实验开始前, 使用商品饲料(购自武汉市大北农水产有限公司)进行为期2周的暂养和投喂, 正式实验前禁食24h, 选择规格均匀、体质健康的斑点叉尾鮰240尾 [(22.44±0.28) g]随机分配至12个养殖缸(直径: 0.79 m; 水深: 0.58 m; 体积: 285 L)中, 每缸20尾。实验分为4组, 每个处理组设3个重复。在实验期间于8:30和16:30进行2次表观饱食投喂。实验条件: 水温(28±3)℃, 总氨氮<0.1 mg/L, 亚硝酸盐<0.1 mg/L, 溶氧>5.0 mg/L。所有动物实验均遵循实验动物护理与使用指导原则, 并获得中国科学院水生生物学研究所批准(IHB2022–0903)。

1.2 实验饲料

实验饲料以鱼粉、鸡肉粉、棉籽浓缩蛋白、菜粕、豆粕、豇豆粉为主要蛋白源, 豇豆粉的氨基酸组成及化学成分见表 1, 以鱼油和豆油为主要脂肪源, 碳水化合物主要由小麦面粉提供, 饲料配方及化学组成见表 2和表 3, 分别替代饲料中0 (CON)、10%(R10)、20%(R20)、30%(R30)比例的豆粕, 以CON组饲料为对照组饲料。所有原料均按照配方精确称重后混合, 经60目筛网筛分后充分与水混合, 使用螺杆挤压造粒机进行制粒。饲料经60℃烘干后, 于4℃保存备用。

1.3 样品采集

在实验结束时, 当日8:30进行饱食投喂实验鱼, 6h后进行样品采集。捞出每个缸内全部实验鱼, 使用MS-222 (60 mg/L, Sigma, 美国)进行麻醉后, 称取整缸鱼体重量用于计算生长相关指标。每缸中随机挑选6条斑点叉尾鮰, 3条量取体长、体重、肝脏重用于形体指标计算, 3条用于肝脏、肠道与血液学分析。血液采集使用0.2%肝素钠作为抗凝剂, 自尾静脉采集全血后, 经3000×*g* (4℃)离心10min后收

表 1 豇豆粉氨基酸组成及营养成分(%, 干物质)

Tab. 1 Amino acid profile and nutritional composition of the cowpea meal (%, dry matter)

氨基酸组成Amino acid profile	豇豆粉Cowpea meal
必需氨基酸Essential amino acids (EAA)	
赖氨酸 Lys	1.56
蛋氨酸 Met	0.22
异亮氨酸 Ile	0.95
苏氨酸Thr	0.79
组氨酸 His	0.73
缬氨酸 Val	1.11
亮氨酸Leu	1.68
精氨酸Arg	1.44
苯丙氨酸Phe	1.20
非必需氨基酸Non-essential amino acids (NEAA)	
丝氨酸 Ser	0.96
谷氨酸 Glu	3.59
甘氨酸 Gly	0.79
丙氨酸 Ala	0.93
天冬氨酸 Asp	2.55
酪氨酸 Tyr	0.51
脯氨酸 Pro	0.82
营养成分(%, 干物质) Nutritional composition (%, dry matter)	
粗蛋白Crude protein	23.49
粗脂肪Crude lipid	1.50
灰分Ash content	3.20

集上层血浆样本保存于–80℃用于后续相关指标测定, 每条鱼血液采集完后解剖出肝脏与肠道, 肠道截取中肠部分固定于4%多聚甲醛, 肝脏分为2份, 其中一份固定于4%多聚甲醛中, 另一份保存于–80℃用于后续相关指标测定。

生长性能及形体指标相关计算公式:

增重率(WGR, %)=100×(终末体重(g)−初始体重(g))/初始体重(g)

特定生长率(SGR, %/d)=100×[Ln(终末体重(g))−Ln(初始体重(g))]/养殖天数(d)

摄食量(Feed intake, g/尾)=100×(总摄食量(g)/实验结束后尾数)

饲料效率(FE, %)=100×(终末体重(g)−初始体重(g))/总摄食量(g)

肝体比(HSI)=100×肝脏重(g)/全鱼重(g)

肥满度(CF, g/cm^3)=100×全鱼重(g)/体长(cm)^3

1.4　生化分析

总蛋白(TP)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、尿素氮(BUN)、总氨基酸(TAA)和二胺氧化酶(DAO)均使用南京建成研究所试剂盒测定, 相关操作方法按照说明书进行。

表 2　实验饲料配方及化学组成(%, 干物质)

Tab. 2　Formulation and chemical proximate composition of the experimental diet (%, dry matter)

原料 Ingredient	实验饲料 Experimental diet			
	CON	R10	R20	R30
鱼粉Fish meal	4	4	4	4
鸡肉粉Poultry by-product meal	12	12	12	12
棉籽浓缩蛋白Concentrated cottonseed protein	12	12	12	12
菜籽粕Rapeseed meal	12	12	12	12
豆粕Soybean meal	20	18	16	14
面粉Flour	20	20	20	20
豇豆粉Cowpea meal	0	4.2	8.4	12.6
豆油Soybean oil	6.05	6	5.95	5.9
羧甲基纤维素钠Sodium carboxymethyl cellulose	3	3	3	3
微晶纤维素Microcrystalline cellulose	8.14	5.99	3.84	1.69
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	1.5	1.5	1.5	1.5
维生素和矿物质预混料Vitamin and mineral premix	1.2	1.2	1.2	1.2
氯化胆碱Choline chloride	0.11	0.11	0.11	0.11
总计Total	100	100	100	100
化学组成(%, 干物质) Chemical compositions (%, dry matter)				
粗蛋白Crude protein	36.23	37.06	36.49	37.01
粗脂肪Crude lipid	8.01	7.89	7.92	8.00
水分Moisture	9.02	7.89	7.99	7.64

注: 维生素和矿物质预混料购自联鲲集团有限公司(斑点叉尾鮰预混料A228); 所用豇豆粉由江汉大学提供

Note: Vitamin and mineral premix is purchased from Nutriera Group Co., Ltd. (Channel Catfish premix A228), and the cowpea meal is provided by Jianghan University

1.5　肝脏与肠道组织学分析

肠道和肝脏组织经乙醇梯度脱水、二甲苯透明后石蜡包埋, 切片厚度为3 μm。样品采用 HE 染色, 中性树脂封片。使用 Image J 软件测量肠绒毛高度、杯状细胞数量及肌层厚度。

1.6　RT-qPCR分析

肝脏总RNA采用TransZol Up RNA Kit (全式金, 北京, 中国)提取。cDNA合成使用 EasyScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix (全式金, 北京, 中国), 方法按说明书执行。引物依据NCBI序列并使用 Primer3 设计(表 4)。RT-qPCR 使用 SYBR Green Ⅰ预混液(全式金, 北京, 中国), 在 LightCycler 480 Ⅱ (Roche, 瑞士)上进行。*β-actin*为内参基因, 最终通过$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算相对表达水平。

1.7　免疫荧光

组织样品在4% 多聚甲醛中固定过夜, 经蔗糖溶液梯度脱水后, OCT 包埋, 冰冻切片(Leica CM1950, 德国)后置−80℃保存; 使用前切片室温平衡 2—3h, 以 4% 多聚甲醛固定 20min, PBS清洗3次/10min, 在0.3% Triton X-100/PBS中通透处理5min; 室温封闭 2h。之后按如下步骤孵育染色: 一抗孵

表 3　实验饲料氨基酸组成成分(%, 干物质)

Tab. 3　Amino acid composition of the experimental diet (%, dry matter)

氨基酸组成 Amino acid composition	实验饲料Experimental diet			
	Con	R10	R20	R30
必需氨基酸Essential amino acids (EAA)				
赖氨酸Lys	1.89	1.78	1.86	1.85
蛋氨酸Met	0.55	0.45	0.57	0.63
异亮氨酸Ile	1.24	1.18	1.22	1.14
苏氨酸Thr	1.55	1.47	1.52	1.51
组氨酸His	0.91	0.75	0.86	0.85
缬氨酸Val	1.65	1.60	1.73	1.69
亮氨酸Leu	2.27	2.16	2.21	2.20
精氨酸Arg	2.37	2.10	2.29	2.07
苯丙氨酸Phe	1.10	1.05	1.28	1.37
非必需氨基酸Non-essential amino acids (NEAA)				
丝氨酸Ser	1.93	1.85	1.99	1.85
谷氨酸Glu	10.08	9.48	10.31	10.21
甘氨酸Gly	2.02	1.87	2.00	1.91
丙氨酸Ala	1.26	1.19	1.34	1.39
天冬氨酸Asp	3.80	3.51	3.75	3.67
酪氨酸Tyr	0.80	0.63	0.83	0.87
脯氨酸Pro	1.01	0.82	0.90	0.89

育: pRPS6(Ser240/244)一抗按比例稀释, 室温孵育6h; 二抗孵育: PBS 洗 3 次后, 以稀释的 Alexa Fluor™ 568 (Goat anti-Rabbit IgG)孵育 2h; 染核与封片: PBS 洗 3 次, DAPI (1∶1000)染色 5min, 再次PBS 清洗后使用抗荧光淬灭剂封片, 于共聚焦显微镜(Leica SP8, 德国)下拍摄。

1.8 结果与统计

结果数据以平均值±标准误(mean±SE)的方式表示, 采用SPSS 20.0进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 使用Duncan法进行多重比较, 以P<0.05表示差异显著。

表 4 斑点叉尾鮰qPCR所用引物

Tab. 4 Channel catfish's primers used in qPCR analysis

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequence (5′—3′)	登录号 Accession number
rps6	CTGGAGAACGCAAACGCAAA TTGAACAGCTTGCGGATCCT	NM_001200142.1
eif2b	ATCCGCTCTCTCCTGGAGTT TGCCTCGGGACAAGGAAATC	NM_001201107.2
P70s6k	AGCGCAACATCTTGGAGGAA TTCACGTGGCCTTGGCTATT	XM_017491469.3
gcn2	GGGCTTCTTCTCATGGCACT GGCATGGAGGAAGGCTCTTT	XM_047157549.2
asns	GGTGTTCGACCTGAAGCTGA GAGGCTGGAGTCAAGACCAC	XM_017481051.2
atf4	ATCGCCCCTCTCCTTCTCTT TGCCTGAAAATGCATCCCCT	XM_017482287.3
mtor	CTCAACTTTGGTGCTGTGCC GAGACGAGGCAACAGGTTGA	XM_017467113.3
ddit3	GTCGCCTTCCCTTAACTGCT GTCGCTCGATCTCGGCTTTA	XM_017479787.3
bcl2	TGGCAAACCAAAGTCCCTATGA TGGAACATGGACGCTCTCTG	XM_017453640.3
mcll	TTACCAACTTCCCCCGAGGT GCCTGCCACAGTAACAATGG	XM_017472900.1
baxa	AGCTGTGCTGCTGAAGGATT CACATCTTGCGCATGACCAG	NM_001200937.1
baxb	TGGAGAAGCCCTCATAATCAGG AATGCCACGACTGGAGATGG	XM_017459225.3
β-actin	AAGTACCCCATTGAGCACGG TCCAGAGAGGAGGAAGAGGC	XM_017454668.3

2 结果

2.1 生长性能

使用豇豆粉替代不同比例的豆粕对斑点叉尾鮰生长性能产生了不同程度的改善效果 (图 1A和1B)。R10 组的 WGR 显著高于 CON、R20 和 R30 组(P<0.05)。所有替代组的SGR均显著高于对照组(P<0.05)。随着替代比例的增加, 摄食量和 FE 呈下降趋势(图 1C和1D)。R10组的摄食量显著高于CON和R20组 (P<0.05), 而R10 和 R20 组的FE显著高于其他组(P<0.05)。形体指标方面, R20 组的 HSI 显著高于 CON 组(P<0.05), 而 CF各组之间无显著差异(P>0.05; 图 1E和1F)。

2.2 肠道结构及通透性

肠道组织 HE 染色结果显示(图 2A), R20 组的肠道肌层厚度显著高于 CON 组(P<0.05)。使用豇豆粉替代豆粕后, 肠道绒毛上的杯状细胞数量与绒毛高度的比值显著增加, 所有替代组均显著高于 CON 组(P<0.05; 图 2B和2C)。同时, 豇豆粉的添加并未引起血浆中肠道通透性指标 DAO 的变化(P>0.05; 图 2D)。

2.3 肝脏健康

肝脏组织 HE 染色结果未见明显炎性浸润或肝脏损伤, 进一步使用 TUNEL 染色检测凋亡, 对其结果进行统计无显著差异(P>0.05; 图 3A—3C),

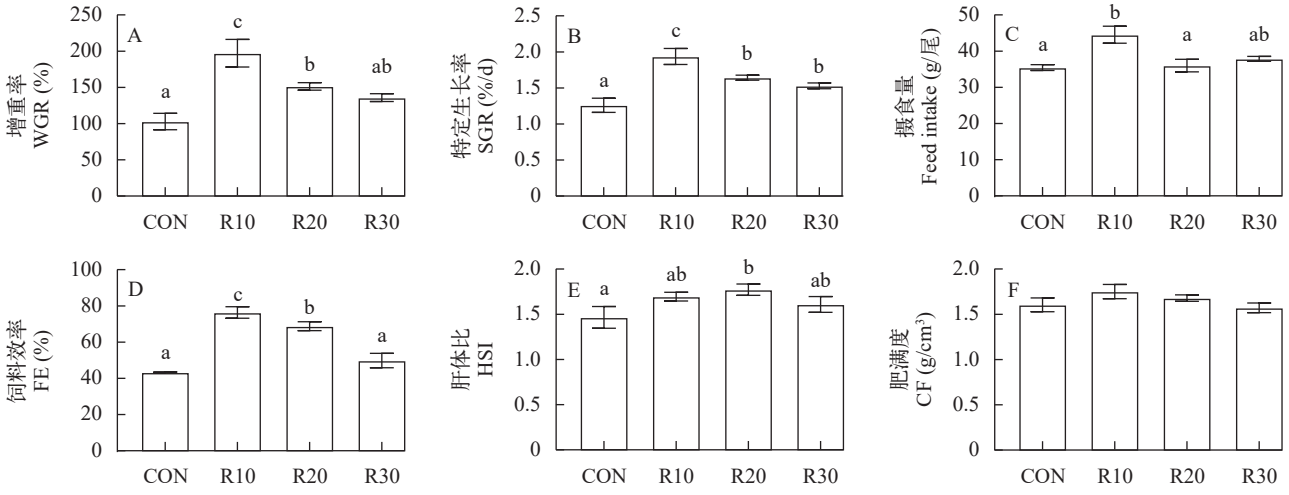

图 1 饲料中使用豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰生长性能的影响

Fig. 1 Effects of substituting cowpea meal for soybean meal on the growth performance of channel catfish

增重率、特定生长率、摄食量、饲料效率, n=3; 肝体比及肥满度, n=6; 图中的结果均以平均值±标准误, 图中上标不同字母表示差异显著性(P<0.05); 下同

WGR, SGR, Feed intake, FE, n=3; HSI, CF, n=6; All results in the figure are presented as mean±SE; Different superscript letters indicate significant differences (P<0.05); The same applies below

血浆中AST水平CON组显著高于R20和R30组(P<0.05), 血浆ALT水平无显著差异(P>0.05; 图 3D和3E)。肝脏凋亡相关基因(*baxb*、*baxa*)的相对表达量无显著差异(P>0.05), 而抗凋亡基因 *bcl2* 在 R20与R30 组均有升高趋势(图 3F)。

2.4　肝脏氨基酸代谢

肝脏氨基酸代谢相关指标中, 肝脏 TAA 水平CON组和R10组显著高于R20组(P<0.05)。R10 组的肝脏 BUN 水平显著低于其他各组 (P<0.05)。肝脏 AST 和 ALT 水平 CON 组均显著高于R10组(P<0.05; 图 4A—4D)。肝脏氨基酸利用相关基因(*p70s6k*、*eif2b*)的相对表达量各替代组均显著高于CON 组(P<0.05)。氨基酸利用抑制相关基因(*ddit3*、*atf4*、*asns*)的相对表达量在R20与R30组均低于CON组(P<0.05)。氨基酸感知基因(*gcn2*)的相对表达量在所有替代组中显著高于CON组(图 4E—4G)。

3　讨论

3.1　豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰生长性能的影响

单一植物蛋白源通常面临氨基酸组成不足、适口性差和消化率低等问题[24, 25], 开发新型植物蛋白源可优化饲料蛋白源的营养成分, 提高养殖鱼类对饲料的摄食和生长表现。本实验使用豇豆粉替代 10%—30% 的豆粕, 对斑点叉尾鮰的生长性能未造成负面影响, WGR和 SGR等生长指标表明, 10%—30%替代量的豇豆粉可以有效替代豆粕, 并显著提升生长性能。

R10组在SGR、WGR、FE和摄食量上显著优于对照组及其他替代组。然而, 随着替代比例的增加, 生长性能和饲料利用未进一步提升, 反而有所下降。这可能与豇豆粉中的抗营养因子(如胰蛋白酶抑制剂、单宁等)的剂量效应有关。此类因子普遍存在于豆科植物蛋白源中, 其中胰蛋白酶抑制剂可通过抑制蛋白酶活性降低蛋白质消化率, 并可能导致代谢性氨基酸损耗[4, 26—29], 虽然关于豇豆粉在斑点叉尾鮰中的研究有限, 但已有相关研究表明, 高水平的植物抗营养因子通常对鱼类生长和饲料利用产生抑制作用[30], 随着替代量的增加, 豇豆粉中含有的抗营养因子可能产生了类似的抑制作用, 从而限制了生长性能的进一步改善。

3.2　豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰肠道结构及通透性的影响

肠道是营养物质吸收的主要器官, 肠道肌层厚度影响食物的机械消化效率[31], 杯状细胞分泌的保护性液体有助于降低食物与消化道的摩擦, 促进食糜在消化道中的顺畅蠕动[32]。在本实验中, 替代组肠道肌层厚度呈增加趋势, R20 组显著厚于 CON组, 且替代组肠道杯状细胞数量与绒毛高度的比值显著增加。DAO被认为是肠道屏障完整性的指标[33]。本实验中各组 DAO 活性无显著差异, 表明肠道屏障未受损, 并且豇豆粉中的膳食纤维可能对肠道功能具有改善作用。本研究结果显示, 豇豆粉替代组中杯状细胞数量显著增加, 这与前人研究中膳食纤维促进杯状细胞增多的结果一致[34]。尽管有文献指出膳食纤维可能通过肠道菌群发酵产生短链脂肪酸(SCFA)进而影响杯状细胞分化[35, 36], 但

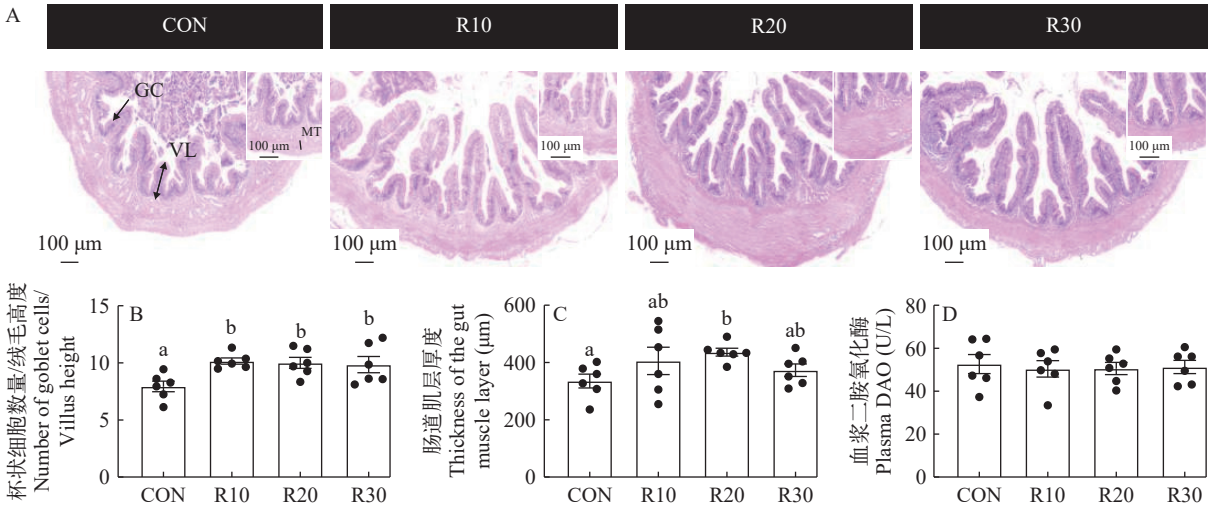

图 2　饲料中使用豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰肠道结构及通透性的影响

Fig. 2　Effects of replacing soybean meal with cowpea meal in diets on intestinal structure and permeability of channel catfish

A. 肠道切片HE染色结果, 标尺: 200 μm; B. 杯状细胞(GC)数量/绒毛高度(VL); C. 肠道肌层(MT)厚度; D. 血浆二胺氧化酶(DAO)水平

A. HE staining results of intestinal sections, scale bar: 200 μm; B. Number of goblet cells/Villus height; C. Muscular thickness; D. Plasma DAO results

本研究未对肠道菌群及 SCFA 进行测定, 因此相关机制仍需进一步验证。在水产动物中豆粕饮食往往会诱发食源性肠炎, 影响肠道上皮完整性[37, 38], 而在本实验中替代0—30%的豆粕并未显示肠道负面影响。综上结果表明豇豆粉在饲料中不仅可作为豆粕替代性植物蛋白源, 同时具有作为功能性饲料原料的潜力。

3.3 豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰肝脏健康的影响

血浆ALT和AST水平是肝脏损伤的特异性指标, 在本实验中, R20和R30组的AST 水平显著低于对照组, ALT 水平无显著差异。AST 活性的下降表明, 豇豆粉的摄入未引起肝脏损伤, 并且可能有助于维持肝脏健康。肝脏组织学观察和 TUNEL 染色结果显示, 未见明显炎症或凋亡信号。凋亡相关基因*baxa*和*baxb*无显著性变化, 而抗凋亡基因*bcl2*在R20与R30组呈上升趋势, 这表明在分子水平上豇豆粉可能促进肝细胞的抗凋亡功能, 帮助肝脏维持稳态。研究表明, 植物蛋白源的使用可能影响鱼类肝脏健康。例如, 在大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)饲料中, 使用25%豆粕替代20%鱼粉即对其

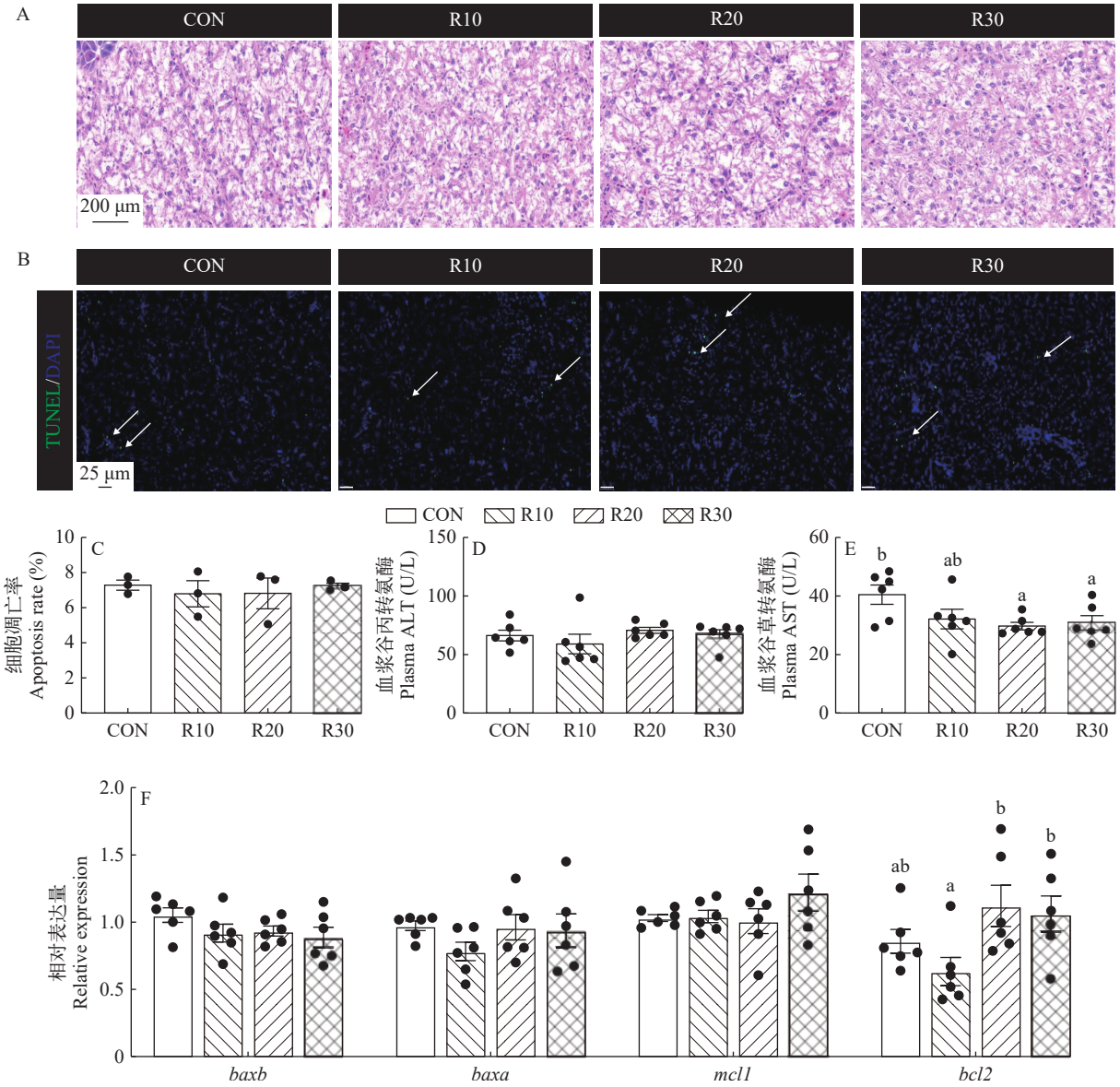

图 3 饲料中使用豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰肝脏健康的影响

Fig. 3 Effects of replacing soybean meal with cowpea meal in diets on liver health of channel catfish

A. 肝脏切片HE染色结果, 标尺: 100 μm; B. 肝脏切片TUNEL染色结果, 标尺: 25 μm; C. 细胞凋亡率统计结果, *n*=3; D. 血浆谷丙转氨酶(ALT)水平; E. 血浆谷草转氨酶(AST)水平; F. 肝脏凋亡相关基因表达

A. HE staining results of liver sections, scale bar: 100 μm; B. TUNEL staining results of liver sections, scale bar: 25 μm; C. Cell apoptosis rate statistics, *n*=3; D. Plasma ALT level; E. Plasma AST level; F. Expression of apoptosis-related genes in the liver

肝脏健康产生了负面影响[39], 但在本实验中并未发现豆粕组或豇豆替代组对斑点叉尾鮰肝脏健康产生负面影响, 这可能是由于豇豆粉中含有某种抗炎症因子从而维持肝脏稳态。综合以上数据充分证明豇豆粉替代豆粕对斑点叉尾鮰的肝脏健康无负面影响, 且呈现一定积极效应。

3.4　豇豆粉对斑点叉尾鮰肝脏氨基酸代谢能力的影响

蛋白质消化后产生的游离氨基酸和小分子肽, 经血液循环运输至各组织, 用于蛋白质合成或分解供能。在分解代谢中, 氨基酸经脱氨基作用生成氨, 最终转化为尿素排出体外[40], 此过程涉及AST与ALT催化的转氨反应, 其产物可进入三羧酸循环供能。在本研究中, R10组肝脏AST与ALT活性显著低于CON组, 同时肝脏BUN水平也显著降低, 而肝脏TAA水平无显著差异。这些结果表明, 与CON组相比, R10组机体可能减少了将氨基酸用于分解供能的比例, 更多地将氨基酸导向了蛋白质合成等途径。蛋白质合成核心通路mTOR下游效应分子*p70s6k*、*rps6*、*eif2b*的表达量显著提升, 其中*p70s6k*磷酸化后会促进*rps6*的磷酸化, 从而增强核糖体的生物合成和mRNA翻译效率, 进一步提高了细胞全局蛋白质合成率[41, 42], 免疫荧光结果直接印证这一结果。这表明摄入豇豆粉后激活了mTOR信号通路, 驱动核糖体生成和蛋白质翻译起始, 最终促进了肝脏的蛋白质合成。同时氨基酸感知通路相关基因 *atf4*、*ddit3* 的表达受到抑制, 氨基酸感知通路相关基因*gcn2*的表达上调, 可能是实验初期豇豆粉替代豆粕引起急性氨基酸不平衡, 强烈激活*gcn2*的表达并导致下游效应基因*atf4*的升高并诱导自噬促进细胞凋亡。但长期适应后的细胞可能启动了负反馈机制来抑制*atf4*的表达, 致使细胞处于较为良好的生长状态, R20和R30组*asns*的表达下调同样印证实验后期氨基酸不平衡得到缓解, 虽然高比例替代下生长性能并未超越 CON 组, 但旺盛的蛋白质合成能力为鱼体的潜在生长提供了代谢基础。

4　结论

豇豆粉在斑点叉尾鮰饲料中替代10%—30%的豆粕, 不会对生长性能造成负面影响, 可改善肠道结构, 增加肠道杯状细胞数量与绒毛高度的比值; 且不会对肝脏健康造成负面影响, 同时使用豇豆粉替代豆粕后可以提升斑点叉尾鮰肝脏蛋白质合成能力。综上所述, 在斑点叉尾鮰饲料中使用豇豆粉

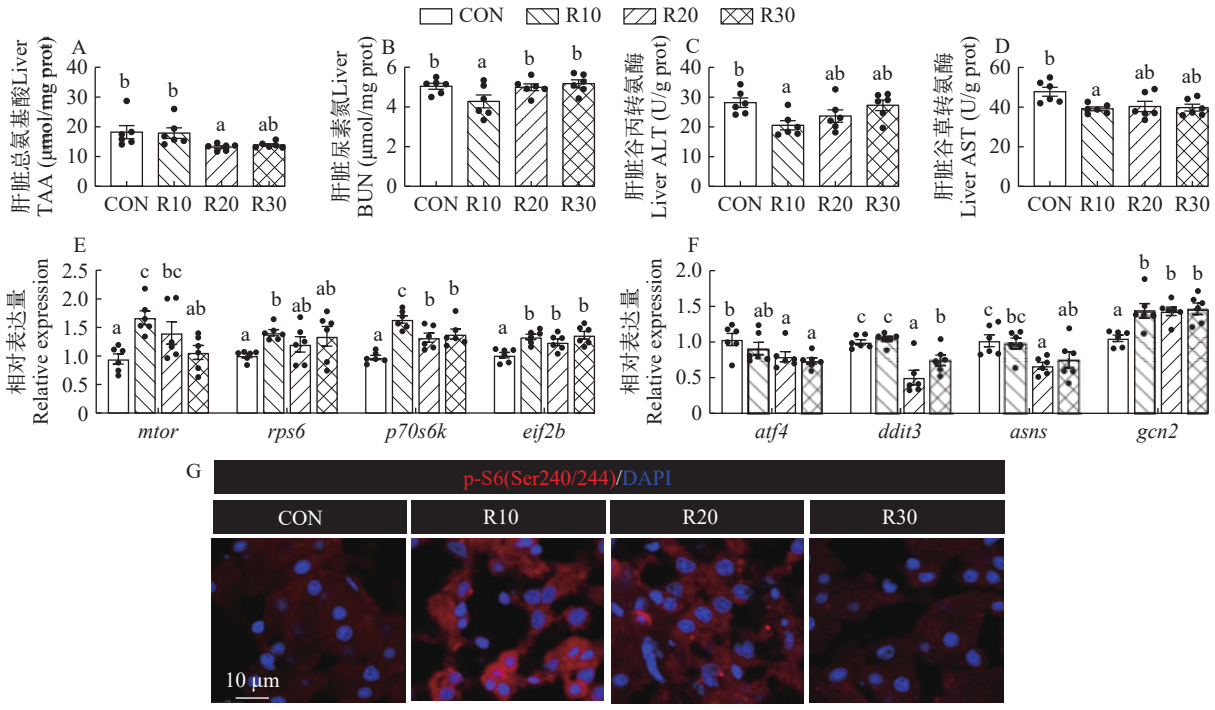

图 4　饲料中使用豇豆粉对斑点叉尾鮰肝脏氨基酸代谢能力的影响

Fig. 4　Effects of dietary cowpea meal on hepatic amino acid metabolism in channel catfish

A. 肝脏总氨基酸(TAA)水平; B. 肝脏尿素氮(BUN)水平; C. 肝脏谷丙转氨酶(ALT)水平; D. 肝脏谷草转氨酶(AST)水平; E. 蛋白质合成相关基因表达: F. 抑制蛋白质合成相关基因表达; G. 肝脏p-S6免疫荧光结果; 标尺: 10 μm

A. Liver TAA level; B. Liver BUN level; C. Liver ALT level; D. Liver AST level; E. Expression of protein synthesis-related genes; F. Expression of protein synthesis-inhibiting genes; G. Immunofluorescence results of liver p-S6; scale bar: 10 μm

替代豆粕具有可行性且具有较大开发潜力。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

[1] Trushenski J T, Kasper C S, Kohler C C. Challenges and opportunities in finfish nutrition [J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2006, **68**(2): 122-140.

[2] Gatlin III D M, Barrows F T, Brown P, *et al*. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review [J]. *Aquaculture Research*, 2007, **38**(6): 551-579.

[3] Hasan M R, Macintosh D J, Jauncey K. Evaluation of some plant ingredients as dietary protein sources for common carp (*Cyprinus carpio* L.) fry [J]. *Aquaculture*, 1997, **151**(1/2/3/4): 55-70.

[4] Francis G, Makkar H P S, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish [J]. *Aquaculture*, 2001, **199**(3/4): 197-227.

[5] Barros M M, Lim C, Klesius P H. Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of Channel catfish (*Ictalurus puctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge [J]. *Aquaculture*, 2002, **207**(3-4): 263-279.

[6] Huang J K, Wei W, Cui Q, *et al*. The prospects for China's food security and imports: Will China starve the world via imports [J]? *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, **16**(12): 2933-2944.

[7] Zhang Y, Li C, Xu Y, *et al*. An attribution analysis of soybean price volatility in China: global market connectedness or energy market transmission [J]? *International Food and Agribusiness Management Review*, 2021, **24**(1): 15-26.

[8] Zou S R, Sun X L, Sun R Q. Research and application of soybean meal reduction replacement technology in aquaculture [J]. *Feed Review*, 2021(7): 51-54. [邹世瑞, 孙雄林, 孙若钦. 豆粕减量替代技术在水产养殖中的研究与应用 [J]. 饲料博览, 2021(7): 51-54.]

[9] Mashiloane T, Mlambo V, Mhlongo G, *et al*. Cowpeas vs. soybeans: Can valorization bridge the nutritional gap for sustainable animal feeding systems in the Global South [J]? *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2025(9): 1657018.

[10] De Macêdo Gonçalves Frota K, Lopes L A R, Silva I C V, *et al*. Nutritional quality of the protein of *Vigna unguiculata* L. Walp and its proteinisolate [J]. *Revista Ciência Agronô mica*, 2017, **48**(5): 792-798.

[11] Antova G A, Stoilova T D, Ivanova M M. Proximate and lipid composition of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivated in Bulgaria [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2014, **33**(2): 146-152.

[12] Tzanova M T, Stoilova T D, Todorova M H, *et al*. Antioxidant potentials of different genotypes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivated in Bulgaria, southern Europe [J]. *Agronomy*, 2023, **13**(7): 1684.

[13] Awika J M, Duodu K G. Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (*Vigna unguiculata*) and their health promoting properties: a review [J]. *Journal of Functional Foods*, 2017(38): 686-697.

[14] Feng D Q, Huang X S, Chen Z D, *et al*. Experiment on feeding *Pennisetum americanum* × *P. purpureum* and *Vigna sinensis sari* Var to grass carp [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2005, **20**(2): 97-99. [冯德庆, 黄秀声, 陈钟佃, 等. 杂交狼尾草、印度豇豆喂草鱼试验研究 [J]. 福建农业学报, 2005, **20**(2): 97-99.]

[15] Feng D Q, Chen Z D, Huang X S, *et al*. Utilization of quality forage as fish fodder in the mountainous red soil area of south China [J]. *Pratacultural Science*, 2006, **23**(2): 57-60. [冯德庆, 陈钟佃, 黄秀声, 等. 南方红壤山区鱼用优质牧草利用技术研究 [J]. 草业科学, 2006, **23**(2): 57-60.]

[16] Olivera-Castillo L, Pino-Aguilar M, LARA-FLORES M, *et al*. Substitution of fish meal with raw or treated cowpea (*Vigna unguiculata* L Walp, IT86-D719) meal in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, **17**(2): 101-111.

[17] Olvera-Novoa M A, Pereira-Pacheco F, Olivera-Castillo L, *et al*. Cowpea (*Vigna unguiculata*) protein concentrate as replacement for fish meal in diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry [J]. *Aquaculture*, 1997, **158**(1/2): 107-116.

[18] Jayathilake C, Visvanathan R, Deen A, *et al*. Cowpea: an overview on its nutritional facts and health benefits [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, **98**(13): 4793-4806.

[19] Robinson E H, Li M H. Channel catfish, *Ictalurus punctatus*, nutrition in the United States: A historical perspective [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2020, **51**(1): 93-118.

[20] Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China Fishery Statistical Yearbook 2025 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2025. [农业农村部渔业渔政管理局. 2025中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2025.]

[21] Feng D L, Guo W Z, Yan N D, *et al*. Effect of expanded rapeseed dietary with different protein levels on growth in channel catfish (*Ictalums punetaus*) [J]. *Feed Industry*, 2014, **35**(10): 23-26. [冯端林, 郭万正, 严念东, 等. 不同蛋白水平的膨化菜籽配合饲料对斑点叉尾鮰生长的影响 [J]. 饲料工业, 2014, **35**(10): 23-26.]

[22] Pan T S, Cheng Y B, Hou G J, *et al*. Effects of different protein levels on the growth of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Feed Research*, 2008(4): 56-58. [潘庭双, 程玉冰, 侯冠军, 等. 不同蛋白水平饲料对斑点叉尾鮰生长的影响 [J]. 饲料研究, 2008(4): 56-58.]

[23] Li M H, Bosworth B G, Lucas P M. Evaluation of various combinations of alternative protein feedstuffs to replace soybean meal in diets for pond-raised channel catfish. [J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2017, **79**(2): 163-167.

[24] Ai Q H, Xie X J. Advance in utilization of plant proteins by aquatic animals [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2005, **35**(6): 929-935. [艾庆辉, 谢小军. 水生动物对植物蛋白源利用的研究进展 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2005, **35**(6): 929-935.]

[25] Hu H H, Han D, Zhu X M, *et al*. Effect of different protein source diets on growth, sensory parameters and flesh texture of on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 2018(70): 13.

[26] Amrutha Gopan S L T V. Anti-nutritional factors in plant-based aquafeed ingredients: Effects on fish and amelioration strategies [J]. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 2020, **13**(12): 1-9.

[27] Kheto A, Choudhury D B, Sarkhel S, *et al*. Anti-nutritional factors: Nutrient interactions, processing interventions, and health aspects [J]. *Food Chemistry*, 2025, **496**(Pt 2): 146746.

[28] Chong R S. Antinutritional factors in plant-based feeds [M]//Kibenge F S B, Baldisserotto B, Chong R S (Eds.), Aquaculture Pathophysiology. America: Academic Press, 2022: 659-668.

[29] Sarwar Gilani G, Chao W X, Cockell K A. Impact of antinutritional factors in food proteins on the digestibility of protein and the bioavailability of amino acids and on protein quality [J]. *The British Journal of Nutrition*, 2012, **108**(S2): S315-S332.

[30] Hart S D, Bharadwaj A S, Brown P B. Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 2010, **306**(1/2/3/4): 310-314.

[31] Chen N N, Zhang L Z, Zhuang P, *et al*. On morphology and histology of the digestive tract in Siberian sturgeon *Acipenser baerii* [J]. *Marine Fisheries*, 2011, **33**(1): 20-27. [陈宁宁, 章龙珍, 庄平, 等. 西伯利亚鲟消化道形态学和组织学的初步研究 [J]. 海洋渔业, 2011, **33**(1): 20-27.]

[32] Liu Y H, Ding Y, Xu J D. Goblet cells and their functions [J]. *World Chinese Journal of Digestology*, 2017, **25**(14): 1279-1286. [刘玥宏, 丁悦, 徐敬东. 肠道杯状细胞及其功能研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2017, **25**(14): 1279-1286.]

[33] Honzawa Y, Nakase H, Matsuura M, *et al*. Clinical significance of serum diamine oxidase activity in inflammatory bowel disease: Importance of evaluation of small intestinal permeability [J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2011, **17**(2): E23-E25.

[34] Hino S, Saita H, Morita T. Non-effect of an antibiotic treatment on dietary fiber-induced goblet cell proliferation in the ileum of rats [J]. *Bioscience*, *Biotechnology, and Biochemistry*, 2013, **77**(8): 1782-1784.

[35] Cao Y, Gao X, Zhang W, *et al*. Dietary fiber enhances TGF-β signaling and growth inhibition in the gut [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2011, **301**(1): G156-G164.

[36] Lundin E, Zhang J X, Huang C B, *et al*. Oat bran, rye bran, and soybean hull increase goblet cell volume density in the small intestine of the golden hamster: A histochemical and stereologic light-microscopic study [J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1993, **28**(1): 15-22.

[37] Zhu W Q, Yuan X Q, Luo H J, *et al*. High percentage of dietary soybean meal inhibited growth, impaired intestine healthy and induced inflammation by TLR-MAPK/NF-κB signaling pathway in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2021(20): 100735.

[38] Wang Z, Yang L, Zhang C, *et al*. Effects of substituting dietary fish meal with soybean meal isolate on growth performance, digestive enzyme activity, and intestinal morphology of spotted seabass (*Lateolabrax maculatus*) [J]. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, 2021(**73**): 1542451.

[39] Yao S, Li W, Cai C, *et al*. Comparative study on the effects of four plant protein sources on the liver and intestinal health of largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2024(2024): 6337005.

[40] Murai T, Akiyama T, Nose T. Use of crystalline amino acids coated with casein in diets for carp [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1981, **47**(4): 523-527.

[41] Fonseca B D, Smith E M, Yelle N, *et al*. The ever-evolving role of mTOR in translation [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2014(36): 102-112.

[42] Wang X, Proud C G. The mTOR pathway in the control of protein synthesis [J]. *Physiology*, 2006(21): 362-369.

DIETARY SUBSTITUTION OF SOYBEAN MEAL WITH RED COWPEA MEAL ON GROWTH PERFORMANCE, INTESTINAL MORPHOLOGY, LIVER HEALTH, AND AMINO ACID METABOLISM IN CHANNEL CATFISH (*ICTALURUS PUNCTATUS*)

HAN Guo-Li[1, 2], XIAO Cai-Ling[3], CAO Meng-Xi[3], JIA Jing-Lu[2], ZHANG Zhi-Min[2], LIU Hao-Kun[2], JIN Jun-Yan[2], LIANG Yong[3], HAN Dong[2] and XIE Shou-Qi[2]

(1. *Dalian Ocean University*, *Dalian* 116023, *China*; 2. *State Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture*, *Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Wuhan* 430072, *China*; 3. *Hubei Key Laboratory of Environmental and Health Effects of Persistent Toxic Substances*, *School of Environment and Health*, *Jianghan University*, *Wuhan* 430056, *China*)

Abstract: This study evaluated the effects of replacing soybean meal (SBM) with cowpea meal (CM) on growth performance, intestinal morphology, liver health, and amino acid metabolism in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Four isonitrogenous (37% crude protein) and isolipidic (8% crude lipid) diets were formulated, in which CM replaced 0, 10%, 20%, and 30% of SBM, designated as CON, R10, R20, and R30, respectively. A total of 240 juvenile channel catfish [initial body weight: (22.44±0.28) g] were randomly distributed into 4 groups with 3 replicates each and fed with the experimental diets for 8 weeks. The results showed that the weight gain rate of the R10 and R20 groups was significantly higher than that of the CON group. The specific growth rate of each substitution group was significantly higher than that of the CON group. However, Feed intake in the R10 group was significantly higher than that in the other groups (P<0.05), and a dose-dependent decrease in feed intake was observed with the increasing CM substitution levels. Histopathological examination of intestinal sections stained with hematoxylin and eosin (H&E) showed that dietary CM supplementation significantly increased the goblet cells to villus height ratio, villus height, and muscle layer thickness in the R20 group was significantly higher than that in the CON group (P<0.05). In contrast, H&E and TUNEL staining of liver tissues revealed no noticeable signs of inflammation or apoptosis. Moreover, the transcriptional expressions of protein synthesis-related genes (*mtor*, *p70s6k*, *eif2b*) exhibited an upregulation trend. In summary, replacing up to 30% of dietary SBM with red cowpea meal did not impair growth performance or liver protein metabolism in channel catfish, while it improved intestinal morphological structure.

Key words: Cowpea meal; Intestinal morphology; Liver health; Amino acid metabolism; *Ictalurus punctatus*