

饲料中脂肪与蛋白质比对大口黑鲈生长、体组成和非特异性免疫的影响

陈乃松*, 肖温温, 梁勤朗, 周恒永, 马秀丽, 赵明

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为探讨大口黑鲈饲料中不同脂肪与蛋白质含量比对其生长、体组成和非特异性免疫的影响, 实验设计了8种(D1~D8)不同脂肪与蛋白质含量比的总能递增饲料。D1~D8饲料的脂肪水平递增(9.0%~26.5%), 而蛋白质水平递减(52.0%~31.0%)。用上述饲料饲养体质量为(10.06±0.02)g的大口黑鲈88d, 每饲料设3重复, 每重复30尾鱼。结果显示, 特定生长率、饲料效率、蛋白质消化率、脂肪消化率和脂肪沉积率均以D2组最高, 但随饲料中脂肪与蛋白质含量比的进一步升高呈现显著下降趋势。D3~D5组的蛋白质效率显著高于D1和D8组。D2、D3组与D4组间的蛋白质沉积率差异不显著, 但显著高于其他各组。D1~D4组间的总能消化率差异不显著, 但显著地高于其他各组。饲料中脂肪含量过高对鱼体组成产生显著的影响, 使体脂的积蓄显著增高。随着饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高, 成活率呈显著下降趋势, D1和D2组的成活率显著高于D5~D8组。非特异性免疫分析显示, D4组血清溶菌酶活力和D2组血清补体活性及头肾白细胞呼吸爆发活性为最高。以饲料为单因子作单因素方差分析得出, 满足大口黑鲈最适生长和饲料利用的饲料蛋白质和脂肪水平分别为49.30%和11.50%。以饲料中蛋白质和脂肪水平为自变量, 分别以特定生长率和蛋白质沉积率为因变量进行二元二次回归分析得出, 特定生长率最大时, 饲料中蛋白质、脂肪和脂肪与蛋白质含量比分别为48.20%、12.44%和0.26; 蛋白质沉积率最高时, 饲料中蛋白质、脂肪和脂肪与蛋白质含量比分别为46.42%、13.96%和0.30。以饲料蛋能比为自变量作一元二次回归分析得出, 蛋白质沉积率最大时, 饲料的蛋能比、蛋白质、脂肪和脂肪与蛋白质含量比分别为23.72 mg/kJ、46.16%、14.18%和0.31。研究认为, 饲料的脂肪和蛋白质水平对大口黑鲈的生长、体组成、饲料效率和免疫力有着不同程度的影响; 饲料中过高的脂肪会抑制蛋白质的消化与利用, 表明脂肪对蛋白质的节约作用有限。建议大口黑鲈实用饲料的蛋白质和脂肪水平分别保持在46%~49%和11.5%~14%范围内较为适当。

关键词: 大口黑鲈; 生长; 体组成; 非特异性免疫

中图分类号: Q 493; S 963

文献标志码: A

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*), 又名加州鲈, 是一种典型的肉食性鱼类。自20世纪80年代从美国引进我国后已发展成为我国淡水养殖的主要品种之一, 目前年产量已达到10万t以上。但我国大口黑鲈专用的人工配合饲料尚未开发成功,

养殖生产中主要以冰鲜杂鱼为饵料, 既浪费资源, 又污染环境。因此, 进一步开展大口黑鲈营养研究对于其配合饲料的开发有重要意义。

蛋白质是鱼类所需的重要营养素。饲料中蛋白质的缺乏会造成鱼类生长缓慢、免疫力下降, 但其

含量过高不仅会增加饲料成本, 还会增加鱼类氮的排泄量而造成环境污染^[1]。同时, 当鱼类饲料中可消化能含量较低时, 饲料中的部分蛋白质就会作为能源被消耗掉^[2]。因此, 利用非蛋白质能源节约蛋白质的研究在鱼类营养与饲料学中已成为热点^[1-4]。众多研究表明, 肉食性鱼类对饲料中能量和蛋白质的需求量高于其他鱼类, 且利用脂肪的能力高于利用碳水化合物的能力^[5-6]。所以, 脂肪对蛋白质的节约作用对于肉食性鱼类应会更大。关于鲢鳙鱼类利用脂肪节约蛋白质的报道已有很多^[6-8]。迄今为止, 关于大口黑鲈营养需求的研究尚不全面, 现有的研究涉及蛋白质需要量^[9-10]、脂肪需求量^[11]、能蛋比^[5]、赖氨酸需求量^[12-13]、蛋氨酸需求量^[13-14]和碳水化合物的耐受量^[15]等方面。对于大口黑鲈饲料中最适脂肪与蛋白质含量比的研究, 仅有 Bright 等^[11]在饲料蛋白质水平不变的基础上进行了研究。

本研究采用以鱼粉为主要蛋白源、以大豆油为主要脂肪源的脂肪含量递增、蛋白质含量递减的 8 种不同脂肪与蛋白质含量比的饲料, 通过生长试验对大口黑鲈进行生长、体组成和非特异性免疫的评估, 以确定大口黑鲈饲料最适脂肪与蛋白质含量比, 为大口黑鲈人工饲料的配制提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

设计脂肪含量递增、蛋白质含量递减的 8 种不同脂肪与蛋白质含量比, 总能为 18~21 MJ/kg 的饲料, 其配方和概略组成如表 1。试验饲料以鱼粉、喷雾干燥血球粉等为主要蛋白源, 同时以经玉米醇溶蛋白包膜的晶体必需氨基酸模拟与大口黑鲈肌肉相似的必需氨基酸组成。8 种饲料的蛋白质原料成比例的变化, 保证各饲料的必需氨基酸组成模式基本一致。脂肪源以大豆油为主, 鱼油仅用于补充因鱼粉含量减少所造成的脂肪减少量。

晶体氨基酸采取其质量 5% 的玉米醇溶蛋白进行包膜。将玉米醇溶蛋白溶于 100 倍的 95% 乙醇之中, 再加入待包膜的氨基酸混合均匀, 将混合物于 60 °C 烘干后粉碎, 通过 60 目筛后备用。

试验饲料的制作: 饲料原料经过粉碎, 60 目过筛后配料, 混合均匀后加 35% 的水, 再一次混合均匀。用电动绞肉机制成直径 2~4 mm 的条状, 经

冷冻后切成长约 5~10 mm 的颗粒, 于 -20 °C 保存待用。

1.2 养殖试验的设计与饲养管理

试验用大口黑鲈购自于上海郊区的一个育苗场, 在实验室循环水养殖系统中进行 4 周室内试验条件下的驯化, 期间投喂浙江科盛饲料有限公司生产的鳖饲料(粗蛋白质 ≥ 50%) 并添加 5% 的大豆油。室内驯化后, 经 24 h 饥饿处理, 挑选体格健壮、体质量相近的鱼进行分组与称重。试验鱼按 8 种饲料处理, 每处理 3 重复, 随机分配于 24 个 800 L 的玻璃钢水槽中, 每水槽放养初始体质量为 (10.06 ± 0.02) g 的试验鱼 30 尾。本试验采取表观饱食投喂, 每天投喂两次(8:00 和 16:00)。养殖系统循环水经海绵和珊瑚砂过滤并进行紫外线灭菌处理。试验期间采取自然光照, 水温控制于 (28 ± 1) °C, 氨氮为 (0.25 ± 0.05) mg/L, pH = 7.2 ± 0.2, 不间断充气。养殖试验共持续 88 d。

1.3 样品收集和分析

样品采集 养殖试验开始时抽取 40 尾鱼于 -80 °C 保存, 用于初始样本的体组成分析。投饲 3 周后开始收集粪便, 直至养殖试验结束, 粪便收集参考 Lee^[16]方法。养殖试验结束后, 试验鱼饥饿 24 h, 按水槽统计成活率并称取鱼体总体质量。每水槽随机取出 10 尾鱼, 其中 5 尾于 -80 °C 保存, 用于全鱼组成分析。另外 5 尾进行体长和体质量测量后抽血并解剖: 采用 2.5 mL 注射器每尾鱼尾静脉采血 1.5 mL, 4 °C 静置 4 h 后离心(836 × g, 10 min, 4 °C), 取血清于 -80 °C 下保存, 用于免疫指标的分析; 取血之后的鱼解剖取内脏, 用于内脏组成分析; 最后取侧线上方背部肌肉于 -80 °C 下保存, 用于肌肉组成分析。其它鱼继续饲养, 作免疫分析采样用。

饲料、粪便与鱼体组成分析 饲料、全鱼、肌肉、内脏和粪便的成分分析方法如下: 水分采用 105 °C 恒温烘干失重法; 粗蛋白质采用凯氏定氮仪(Kjeltec 2200, FOSS, 丹麦)测定; 饲料粗脂肪测定采用索氏脂肪测定仪(SOX416, Gerhardt, 德国)测定; 全鱼、肌肉、内脏和粪便脂肪采用氯仿-甲醇法测定^[17]; 粗灰分采用马弗炉(上海实验仪器公司)于 550 °C 下灼烧法测定; 饲料粗纤维采用纤维测定仪(FT12, Gerhardt, 德国)测定; 总能量采用氧弹量热仪(6200, Parr, 美国)测定。饲料和粪便中 Cr₂O₃ 参照 Divakaran^[18]的方法测定。

表 1 试验饲料配方及概略分析(%干饲料)
Tab. 1 Formulation and proximate analysis of trial diets (% dry diet)

饲料 diets	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
基础蛋白质成分 ^a basal protein ingredient	75.20	70.86	66.52	62.19	57.85	53.51	49.18	44.83
固定成分 ^b constant ingredient	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65	6.65
鱼油 fish oil	0.00	0.26	0.52	0.78	1.04	1.30	1.56	1.82
大豆油 soybean oil	2.92	5.45	7.97	10.49	13.02	15.54	18.06	20.59
α -淀粉 α -starch	13.85	14.07	14.29	14.51	14.73	14.95	15.17	15.57
磷酸二氢钙 calcium biphosphate	0.80	0.89	0.98	1.06	1.15	1.24	1.33	1.41
微晶纤维 microcrystalline cellulose	0.00	0.63	1.27	1.92	2.55	3.19	3.83	4.43
沸石粉 zeolite powder	0.00	0.63	1.28	1.92	2.56	3.20	3.83	4.44
必需氨基酸混合物 ^c EAA mixture	0.58	0.56	0.52	0.48	0.45	0.42	0.39	0.26
组分分析 proximate analysis								
脂肪与蛋白质比 lipid to protein ratio	0.17	0.23	0.30	0.38	0.47	0.57	0.69	0.84
粗蛋白质/% crude protein	52.23	49.30	46.37	43.44	40.51	37.57	34.64	31.71
可消化蛋白质/% digestible protein	48.10	46.31	43.32	40.48	36.88	33.87	31.11	26.85
粗脂肪/% crude lipid	9.00	11.50	14.00	16.50	19.00	21.50	24.00	26.50
可消化脂肪/% digestible lipid	7.78	10.05	11.96	14.04	15.93	17.68	19.81	21.33
粗纤维/% crude fibre	0.65	1.24	1.84	2.45	3.05	3.65	4.26	4.86
总能/(MJ/kg) gross energy	18.72	19.15	19.53	19.99	20.36	20.68	21.04	21.47
可消化能/(MJ/kg) digestible energy	16.86	17.28	17.31	17.71	17.02	16.73	16.20	15.92

注: a 基础蛋白质成分(% 基础蛋白质成分). 鱼粉, 69.15; 豆粕, 6.65; 玉米蛋白质, 9.04; 谷朊粉, 5.32; 喷干血球粉, 9.84. b 固定成分(% 干饲料). 酵母粉, 1.00; 鲑鱼内脏粉, 1.00; 磷脂粉, 1.00; 多维*, 0.80; 多矿**, 1.00; 氯化胆碱, 0.30; 酵母提取物, 1.00; 维生素 C(35%), 0.05; 三氧化二铬, 0.50. c 必需氨基酸混合物(% 必需氨基酸混合物). 苏氨酸, 57.09; 蛋氨酸, 42.91.

*多维(IU 或 mg/kg 干饲料). 维生素 A, 16000IU; 维生素 D₃, 8000IU; 维生素 K₃, 14.72; 维生素 B₁, 17.8; 维生素 B₂, 48; 维生素 B₆, 29.52; 维生素 B₁₂, 0.24; 维生素 E, 160; 维生素 C(35%), 800; 烟酰胺, 79.2; 泛酸钙, 73.6; 叶酸, 6.4; 生物素, 0.64; 肌醇, 320; 氯化胆碱, 1500; L-肉碱, 100.

**多矿(mg/kg 干饲料). 铜(CuSO₄), 2.0; 锌(ZnSO₄), 34.4; 锰(MnSO₄), 6.2; 铁(FeSO₄), 21.1; 碘(Ca(IO₃)₂), 1.63; 硒(Na₂SeO₃), 0.18; 钴(CoCl₂), 0.24; 镁(MgSO₄·H₂O), 52.7.

Notes: a basal protein ingredient (% basal protein ingredient). fish meal, 69.15; soybean meal, 6.65; corn gluten meal, 9.04; wheat gluten meal, 5.32; spray-dried blood meal, 9.84. b constant ingredient (% dry diet). brewer's yeast meal, 1.00; squid viscera meal, 1.00; soybean phospholipid, 1.00; vitamin premix*, 0.80; mineral premix**, 1.00; choline chloride, 0.30; brewer's yeast extract, 1.00; ascorbic acid (35%), 0.05; chromic oxide, 0.50. c essential amino acid (EAA) mixture (% EAA mixture). threonine, 57.09; methionine, 42.91.

* Vitamin premix (IU or mg kg⁻¹ diet). vitamin A, 16000 IU; vitamin D, 8000 IU; vitamin K, 14.72; thiamin, 17.8; riboflavin, 48; pyridoxine, 29.52; cyanocobalamin, 0.24; tocopherol acetate, 160; ascorbic acid (35%), 800; niacinamide, 79.2; calcium-D-pantothenate, 73.6; folic acid, 6.4; biotin, 0.64; inositol, 320; choline chloride, 1500; L-carnitine, 100.

** Mineral premix (mg kg⁻¹ dry diet). Cu (CuSO₄), 2.0; Zn (ZnSO₄), 34.4; Mn (MnSO₄), 6.2; Fe (FeSO₄), 21.1; I (Ca(IO₃)₂), 1.63; Se (Na₂SeO₃), 0.18; Co (CoCl₂), 0.24; Mg (MgSO₄·H₂O), 52.7.

免疫指标分析 血清补体活性测定采用经典途径的分析方法^[19]。反应在含有 Ca²⁺和 Mg²⁺的巴比妥缓冲液中进行。致敏绵羊红细胞由兔抗绵羊红细胞溶血素(浙江省玉环县南方试剂厂)混合等体积脱纤维绵羊红细胞于 37 °C 下孵育 5 min 后获得。血清经稀释后按照梯度(0、10、20、30、40、50、60、70 μ L)依次加入 96 孔酶标板中, 用缓冲液调整每孔的反应体积为 150 μ L, 再分别加入 50 μ L 致敏绵羊红细胞, 30 °C 缓慢震荡孵育 60 min, 400 \times g 4 °C 离心 5 min, 取各孔上层液体 160 μ L 加入酶标板, 然后用酶标仪(FLUO star, BMG, 德国)测定各反应体系在 540 nm 处的吸光值。同时, 在等量的致敏绵羊红细胞中加入 150 μ L 蒸馏水或者缓冲液得到全溶血或最小溶血吸光值。分别计算出

各样本的溶血度 Y, 在 log-log 图上绘制[Y/(1-Y)]对血清体积曲线, 得到 50%溶血(CH₅₀)所用血清的体积, 补体活性表示为每毫升血清样品中 CH₅₀ 的单位数。每血清样品四重复测量。血清溶菌酶活力采用比浊法测定^[20]。血清蛋白含量采用考马斯亮蓝比色法测定^[21]。

头肾白细胞分离 头肾白细胞的分离参照陈乃松等^[14]的方法进行。整个分离过程在无菌操作下进行。细胞培养液以 RPMI-1640(Gibco, 美国)为基础配制。细胞密度梯度分离液用 Nycodenz(Axis-shield, 挪威)配制。将分离取得的头肾白细胞悬浮于细胞培养液中, 进行两次离心洗涤(400 \times g, 4 °C, 10 min), 用血球计数板计数, 用台盼蓝排除法计算活细胞的密度, 用细胞培养液

调整活细胞浓度至 1×10^8 cells/mL, 用于头肾白细胞呼吸爆发活性测定。

头肾白细胞呼吸爆发活性测定 头肾白细胞呼吸爆发活性采用氯化硝基四氮唑蓝(NBT) 进行测定^[22]。向 96 孔酶标板中加入 100 μ L 细胞悬液, 再加入 100 μ L 的 0.2%NBT 和 1 μ g/mL 佛波醇酯(phorbol-1, 2-myristate-1, 3-acetate, PMA, Sigma, 美国)的混合溶液, 28 $^{\circ}$ C 孵育 30min 之后加入纯甲醇 100 μ L 终止反应, 70%甲醇洗涤 3 次, 空气中晾干之后分别加入 2 mol/L KOH 和二甲基亚砜(DMSO, Sigma)120 mL 和 140 mL, 以 KOH/DMSO 作空白, 用酶标仪测定各反应体系在 630 nm 处的吸光值。每样品四重复测定。

1.4 计算公式

成活率(%)=100 \times 终末尾数/初始尾数;

摄食量=饲料摄入量/[(初始尾数+终末尾数)/2];

特定增长率(%/d)=100 \times (Ln 终末体质量-Ln 初始体质量)/试验天数;

饲料效率=(终末体质量-初始体质量)/摄入干饲料的量;

蛋白质效率=(终末体质量-初始体质量)/摄入饲料的蛋白质总量;

蛋白质沉积率(%)=100 \times TW_t \times CP_t-TW₀ \times CP₀/摄入饲料的蛋白质总量;

脂肪沉积率(%)=100 \times TW_t \times CL_t-TW₀ \times CL₀/摄入饲料的脂肪总量;

营养物质消化率(%)=100 \times [1-(粪便中营养物质含量/饲料中营养物质含量) \times (饲料中 Cr₂O₃ 含量/粪便中 Cr₂O₃ 含量)]。

式中, TW_t 为试验结束时鱼体总重; TW₀ 为试验开始时鱼体总重; CP_t 为试验结束时全鱼粗蛋白质含量; CP₀ 为试验开始时全鱼粗蛋白质含量; CL_t 为试验结束时全鱼粗脂肪含量; CL₀ 为试验开始时全鱼粗脂肪含量。

1.5 数据处理与统计分析

数据以平均值 \pm 标准误来表示。采用 SPSS17.0 对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 用 Duncan 氏法进行多重差异显著性比较, 显著水平 $P < 0.05$ 。采用 Excel 和 Design-Expert.v 8.0.6 分析软件分别对数据进行一元二次回归分析和二元二次回归分析。

2 结果

2.1 饲料中脂肪与蛋白质含量比对生长及饲料利用的影响

饲料中脂肪与蛋白质含量比对大口黑鲈生长及饲料利用的影响见表 2 和表 3。饲料的脂肪与蛋白质含量比对试验鱼的成活率、特定增长率、摄食量、饲料效率、蛋白质效率、蛋白质沉积率和脂肪沉积率均有显著影响($P < 0.05$)。试验鱼的成活率 D1~D4 组差异不显著($P > 0.05$), 但 D1 和 D2 组显著高于 D5~D8 组($P < 0.05$)。特定增长率、饲料效率和脂肪沉积率均以 D2 组最高, 其他组随着饲料中脂肪与蛋白质含量比的增加均呈现显著降低的趋势($P < 0.05$)。D2 组的摄食量显著高于其他各组($P < 0.05$)。D3~D5 组的蛋白质效率显著高于 D1 和 D8 组($P < 0.05$), 但与其他各组差异不显著($P > 0.05$)。D2 组的蛋白质沉积率最高, 但与 D3 和 D4 组间差异不显著($P > 0.05$), 其他各组显著低于 D2 和 D3 组($P < 0.05$)。

2.2 饲料中脂肪与蛋白质含量比对饲料蛋白质消化率、脂肪消化率、总能消化率的影响

饲料中脂肪与蛋白质含量比对大口黑鲈饲料蛋白质消化率、脂肪消化率和总能消化率的影响见表 4。蛋白质消化率和脂肪消化率均随饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高呈现先升高后降低的趋势($P < 0.05$), 且均以 D2 组最高。D1~D4 组总能消化率差异不显著($P > 0.05$), 但显著高于其他组($P < 0.05$)。

2.3 饲料中脂肪与蛋白质含量比对鱼体组成的影响

饲料中脂肪与蛋白质含量比对大口黑鲈体组成的影响见表 5。饲料中脂肪与蛋白质含量比显著影响了全鱼、肌肉和内脏的蛋白质和脂肪含量。全鱼蛋白质含量以 D1 组最高, 随着饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高均呈现显著降低的趋势($P < 0.05$); D1 和 D2 组的肌肉蛋白质含量与 D3 组差异不显著($P > 0.05$), 但显著高于其他各组($P < 0.05$); 内脏的蛋白质含量 D2~D5 组与 D1 组间无显著差异($P > 0.05$), 但显著高于其他各组($P < 0.05$)。全鱼、肌肉和内脏的脂肪含量均随饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高呈现显著升高的趋势($P < 0.05$), 且均以 D8 组含量最高; 与此同时全鱼和内脏的水分含量与脂肪含量变化呈现出相反趋势, 但肌肉的水

表 2 饲料中脂肪与蛋白质含量比对生长性能的影响(平均值±标准误)
Tab. 2 Effects of dietary lipid to protein ratios on growth performance (mean±SE)

饲料(脂肪与蛋白质比) diets (lipid to protein ratio)	指标 index				
	成活率/% survival	初始体质量/g initial body weight	终末体质量/g final body weight	特定增长率/(%/d) specific growth rate	摄食量/(g/尾) feed intake
D1 (0.17)	98.89±1.11 ^a	10.14±0.07	69.54±0.72 ^b	2.19±0.01 ^b	45.55±0.07 ^b
D2 (0.23)	98.89±1.11 ^a	10.04±0.06	87.04±1.02 ^a	2.45±0.02 ^a	51.68±0.15 ^a
D3 (0.30)	94.44±2.22 ^{ab}	9.99±0.03	70.15±0.79 ^b	2.21±0.01 ^b	42.59±0.14 ^c
D4 (0.38)	95.56±1.11 ^{ab}	9.99±0.05	62.91±0.53 ^c	2.09±0.01 ^c	39.91±0.18 ^d
D5 (0.47)	91.11±1.11 ^b	10.04±0.02	53.14±1.37 ^d	1.89±0.03 ^d	35.87±0.30 ^e
D6 (0.57)	90.00±1.92 ^b	9.96±0.04	48.23±0.96 ^c	1.79±0.02 ^e	34.49±0.39 ^f
D7 (0.69)	82.22±2.94 ^c	10.17±0.06	47.68±1.56 ^c	1.75±0.04 ^e	34.97±0.43 ^f
D8 (0.84)	74.44±2.94 ^d	10.11±0.06	43.87±0.65 ^f	1.66±0.03 ^f	35.73±0.84 ^e

注: 同列数值带有不同上标字母表示差异显著($P<0.05$), 下同。

Notes: Column values with different superscripts indicate significant difference ($P<0.05$). The same notes as this are given in the following tables.

表 3 饲料中脂肪与蛋白质含量比对饲料利用的影响(平均值±标准误)
Tab. 3 Effects of dietary lipid to protein ratios on feed utilization (mean±SE)

饲料(脂肪与蛋白质比) diets (lipid to protein ratio)	指标 index			
	饲料效率 feed efficiency ratio	蛋白质效率 protein efficiency ratio	蛋白质沉积率/% protein deposition rate	脂肪沉积率/% lipid deposition rate
D1 (0.17)	1.30±0.02 ^c	2.49±0.03 ^c	44.54±0.29 ^{bc}	41.56±2.35 ^b
D2 (0.23)	1.48±0.02 ^a	3.01±0.04 ^{ab}	51.57±1.07 ^a	55.17±2.07 ^a
D3 (0.30)	1.40±0.01 ^b	3.02±0.02 ^a	49.65±0.84 ^a	43.96±1.99 ^b
D4 (0.38)	1.32±0.01 ^c	3.03±0.02 ^a	48.40±1.59 ^{ab}	40.14±2.47 ^b
D5 (0.47)	1.20±0.02 ^d	2.96±0.04 ^a	44.08±0.97 ^c	33.75±0.96 ^c
D6 (0.57)	1.09±0.03 ^e	2.90±0.08 ^{ab}	44.75±1.96 ^{bc}	28.47±1.94 ^{cd}
D7 (0.69)	1.02±0.02 ^f	2.96±0.07 ^{ab}	40.89±1.44 ^c	26.65±0.36 ^{de}
D8 (0.84)	0.91±0.02 ^e	2.86±0.06 ^b	35.15±1.48 ^d	22.38±1.19 ^e

表 4 饲料中脂肪与蛋白质含量比对饲料蛋白质、脂肪和总能表观消化率的影响(平均值±标准误)

Tab. 4 Effects of dietary lipid to protein ratios on digestibility coefficient of protein, lipid and energy in diets (mean±SE)

饲料(脂肪与蛋白质比) diets (lipid to protein ratio)	指标 index		
	蛋白质消化率/% protein digestibility coefficient	脂肪消化率/% lipid digestibility coefficient	总能消化率/% energy digestibility coefficient
D1 (0.17)	92.09±0.43 ^{bc}	86.40±0.08 ^b	90.04±0.57 ^a
D2 (0.23)	93.94±0.13 ^a	87.39±0.28 ^a	90.21±0.36 ^a
D3 (0.30)	93.42±0.17 ^b	85.43±0.27 ^c	88.64±0.24 ^a
D4 (0.38)	93.19±0.33 ^b	85.07±0.12 ^c	88.60±0.49 ^a
D5 (0.47)	91.05±0.13 ^{cd}	83.85±0.13 ^d	83.58±0.53 ^b
D6 (0.57)	90.15±0.31 ^d	82.25±0.17 ^e	80.90±0.37 ^c
D7 (0.69)	89.82±0.43 ^d	82.53±0.24 ^e	77.00±1.13 ^d
D8 (0.84)	84.66±0.96 ^e	80.49±0.25 ^f	74.15±0.58 ^e

分含量除 D8 组显著低于其他组外($P<0.05$), 其他组间无显著差异($P>0.05$)。全鱼的灰分含量随饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高呈现降低的趋势; 但肌肉的灰分含量呈现升高的趋势; 然而内脏灰分含量未受显著影响($P>0.05$)。

2.4 饲料中脂肪与蛋白质含量比对非特异性免疫的影响

通过血清溶菌酶活性、蛋白含量、补体活性及头肾白细胞呼吸爆发活性 4 个指标反映饲料中脂肪与蛋白质含量比对试验鱼非特异性免疫的影响

表 5 饲料中脂肪与蛋白质含量比对全鱼、肌肉和内脏组成的影响(平均值±标准误)
 Tab. 5 Effects of dietary lipid to protein ratios on whole-body, muscle and viscera composition (mean±SE)

饲料(脂肪与蛋白质比) diets (lipid to protein ratio)	指标 index			
	粗蛋白质/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	水分/% moisture	粗灰分/% crude ash
全鱼 whole fish body				
D1 (0.17)	17.61±0.08 ^a	3.32±0.07 ^f	76.79±0.07 ^a	1.25±0.01 ^{ab}
D2 (0.23)	16.99±0.09 ^b	4.47±0.10 ^e	75.60±0.37 ^b	1.23±0.02 ^{bc}
D3 (0.30)	16.74±0.11 ^b	4.72±0.07 ^e	76.23±0.19 ^{ab}	1.24±0.02 ^{ab}
D4 (0.38)	16.22±0.19 ^c	5.27±0.15 ^d	75.74±0.09 ^b	1.24±0.01 ^{ab}
D5 (0.47)	16.27±0.13 ^c	5.90±0.12 ^c	74.61±0.24 ^{cd}	1.29±0.01 ^a
D6 (0.57)	16.39±0.12 ^c	5.97±0.13 ^c	74.90±0.26 ^c	1.24±0.17 ^{ab}
D7 (0.69)	15.57±0.11 ^d	6.76±0.15 ^b	74.07±0.11 ^{de}	1.18±0.02 ^c
D8 (0.84)	15.52±0.11 ^d	7.42±0.05 ^a	73.32±0.10 ^f	1.22±0.02 ^{bc}
肌肉 muscle				
D1 (0.17)	19.27±0.04 ^a	1.16±0.06 ^d	79.33±0.07 ^a	2.76±0.07 ^c
D2 (0.23)	19.15±0.08 ^a	1.15±0.02 ^d	79.42±0.08 ^a	2.87±0.06 ^c
D3 (0.30)	18.86±0.12 ^{ab}	1.29±0.04 ^{cd}	79.21±0.05 ^a	2.76±0.06 ^c
D4 (0.38)	18.21±0.23 ^{cd}	1.38±0.05 ^{bc}	79.54±0.08 ^a	2.83±0.04 ^c
D5 (0.47)	18.48±0.09 ^{bc}	1.40±0.09 ^{bc}	79.54±0.07 ^a	3.22±0.08 ^{ab}
D6 (0.57)	18.31±0.19 ^c	1.40±0.12 ^{bc}	79.47±0.20 ^a	3.04±0.04 ^b
D7 (0.69)	17.86±0.11 ^d	1.55±0.03 ^{ab}	79.57±0.19 ^a	3.13±0.05 ^a
D8 (0.84)	18.36±0.21 ^c	1.64±0.01 ^a	78.79±0.12 ^b	3.23±0.05 ^a
内脏 viscera				
D1 (0.17)	11.57±0.34 ^{ab}	10.58±0.06 ^c	72.97±0.17 ^a	1.24±0.05
D2 (0.23)	12.05±0.13 ^a	11.98±0.16 ^c	71.70±0.24 ^a	1.28±0.04
D3 (0.30)	11.81±0.01 ^a	15.19±0.55 ^d	68.39±0.57 ^{bc}	1.23±0.04
D4 (0.38)	12.08±0.08 ^a	14.69±0.36 ^d	69.42±0.40 ^b	1.30±0.03
D5 (0.47)	11.89±0.14 ^a	17.25±0.82 ^c	67.00±0.87 ^c	1.29±0.03
D6 (0.57)	11.18±0.21 ^{bc}	19.54±0.62 ^b	65.22±0.58 ^d	1.20±0.02
D7 (0.69)	10.73±0.13 ^{cd}	23.72±0.43 ^a	60.56±0.32 ^c	1.26±0.03
D8 (0.84)	10.52±0.09 ^d	24.39±0.56 ^a	60.14±0.44 ^c	1.25±0.04

(表 6)。血清溶菌酶活力、补体活性和头肾白细胞呼吸爆发活性均受到饲料中脂肪与蛋白质含量比的显著影响($P<0.05$), 随着饲料中脂肪与蛋白质含量比的增加均呈现先升高后降低的趋势, 且均以 D8 组最低。溶菌酶活力以 D4 组最高; 补体活性以 D2 组最高; 呼吸爆发活性也以 D2 组最高。饲料中脂肪与蛋白质含量比对血清蛋白含量无显著影响($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料中脂肪与蛋白质的最适需求量

本试验的特定生长率、饲料效率和蛋白质沉积率指标均以 D2 组最高, 分别为 2.45、1.48 和 51.57%(表 2, 表 3)。以饲料为单因子作单因素方差分析得出: D2 饲料的蛋白质和脂肪水平(49.30%和 11.50%)是本研究中大口黑鲈饲料的最佳蛋白质和脂肪水平。其中, 饲料效率和蛋白质沉积率均优于

以往的任何对于大口黑鲈的研究^[5,9-15,23]。这也说明本研究采用的试验饲料配方策略是合理的。鱼类生长性能的发挥除了与饲料的蛋白质和能量水平有关外, 饲料氨基酸的平衡性以及必需营养素的满足度也直接影响鱼类的生长性能和饲料效率。本研究以鱼粉为主要蛋白源并通过使用包膜的晶体氨基酸模拟与大口黑鲈肌肉相似的必需氨基酸组成以达到试验饲料的氨基酸平衡, 同时对其他营养素也作了充分的兼顾。

当以饲料中蛋白质水平 X_1 (%)和脂肪水平 X_2 (%)为自变量, 分别以特定生长率(%/d)和蛋白质沉积率(%)为因变量 Y_1 和 Y_2 , 作二元二次回归拟合, 分别得到方程如下:

$$Y_1 = -246.11 - 544.44X_1 + 185.93X_2 + 733.85X_1X_2 + 1712.47X_1^2, R=0.9730;$$

$$Y_2 = -1716.58 - 13282.08X_1 + 1321.29X_2 + 12277.72X_1X_2 + 28643.04X_1^2, R=0.9835。$$

表 6 饲料中脂肪与蛋白质含量比对非特异性免疫的影响(平均值±标准误)
Tab. 6 Effects of dietary lipid to protein ratios on non-specific immunity (mean±SE)

饲料(脂肪与蛋白质比) diets(lipid to protein ratio)	指标 index			
	溶菌酶活性/(U/mL) lysozyme activity	血清蛋白含量/(mg/mL) serum protein content	补体活性/(U/mL) CH ₅₀ activity	呼吸爆发活性/OD respiratory burst activity
D1 (0.17)	3.50±0.06 ^d	25.60±0.39	183.34±19.87 ^b	0.76±0.04 ^b
D2 (0.23)	4.18±0.20 ^e	27.21±1.45	238.61±16.06 ^a	0.96±0.02 ^a
D3 (0.30)	4.60±0.08 ^b	27.35±1.54	173.96±3.35 ^b	0.74±0.02 ^b
D4 (0.38)	5.61±0.10 ^a	27.69±2.19	174.10±3.99 ^b	0.64±0.02 ^c
D5 (0.47)	2.85±0.18 ^e	27.93±0.42	136.86±3.92 ^e	0.51±0.03 ^d
D6 (0.57)	2.40±0.23 ^f	29.05±3.65	119.87±2.07 ^{cd}	0.38±0.01 ^e
D7 (0.69)	2.50±0.03 ^{ef}	30.29±2.38	99.38±1.57 ^{de}	0.32±0.01 ^{ef}
D8 (0.84)	1.91±0.06 ^e	31.55±1.13	84.91±0.69 ^e	0.27±0.01 ^f

二元二次回归分析得出: 特定生长率最大时, 饲料中蛋白质水平、脂肪水平和脂肪与蛋白质含量比分别为 48.20%、12.44%和 0.26; 蛋白质沉积率最高时, 饲料中蛋白质水平、脂肪水平和脂肪与蛋白质含量比分别为 46.42%、13.96%和 0.30。

同时, 本研究以饲料蛋能比为自变量 $X(\text{mg}/\text{kJ})$, 以蛋白质沉积率(%)为因变量 Y 进行一元二次回归拟合, 得到回归方程如下: $Y=-0.1760X^2+8.3502X-49.687$, $R=0.9451$ 。

一元二次回归分析得出: 蛋白质沉积率最大时, 饲料的蛋能比为 23.72 mg/kJ, 饲料中蛋白质水平、脂肪水平和脂肪与蛋白质含量比分别为 46.16%、14.18%和 0.31。

Anderson 等^[10]根据特定生长率结果得出, 0 龄大口黑鲈最适蛋白质需求量为 39.9%, 1 龄大口黑鲈最适蛋白质需求量为 40.8%。钱国英^[23]基于特定生长率、饲料效率和蛋白质效率 3 个指标, 表明 23~29 g 的大口黑鲈最适蛋白质需求量为 42%。Portz 等^[5]研究显示, 生长最快、饲料系数最低、蛋白质效率最高时, 初始体质量为 14.46 g 的大口黑鲈所需饲料最适蛋白质含量分别为 43.59%、44.82%和 42%。以上这些研究结果均低于本研究得出的大口黑鲈饲料最适蛋白质含量。但这些研究中没有对试验饲料的氨基酸平衡性加以考虑^[24], 仅从饲料的粗蛋白质水平出发根据生长等指标的比较而得出评定结论。另外, 试验鱼的生长潜能的充分发挥与饲料中各营养成分之间的配比也有密切关系。

Bright 等^[11]研究表明初始体质量为 16.30 g 的大口黑鲈在饲料蛋白质水平为 40%时, 生长最快且饲料转化率最低所需饲料脂肪水平为 20%, 这

一研究结果高于本研究所得出的饲料最适脂肪含量。但该研究得出的最佳组饲料的蛋白质水平(40%)、脂肪水平(20%)和特定生长率(1.79 %/d)与本研究 D5 饲料的蛋白质和脂肪水平(40%和 19%)以及特定生长率(1.89 %/d)相一致, 却显著低于本研究中 D2 组的特定生长率(2.45 %/d)。这说明, 饲料的蛋白质水平对大口黑鲈饲料中脂肪水平的最适添加量有很大影响。Bright 等^[11]对大口黑鲈和 Burr 等^[25]对红拟石首鱼的研究中还发现饲料的摄入量受到饲料有效能量的影响, 与本研究结果一致。

鱼类饲料中添加非蛋白质能源物质可部分替代蛋白质^[1-4], 提高鱼类对饲料蛋白质的利用效率。对于肉食性鱼类, 饲料中脂肪往往比碳水化合物对蛋白质的节约效应更大, 但不同的鱼类利用脂肪的能力有所不同。有研究表明, 虹鳟的蛋白质需求量为 35%~45%^[26-27], 利用脂肪节约蛋白质的能力较强, 在不影响生长的前提下, 脂肪含量可达到 20%以上^[28]。但 Craig 等^[29]研究表明, 初始体质量为 7.4 g 的军曹鱼与大口黑鲈相似, 增重最大时的饲料蛋白质和脂肪水平分别为 50%和 12%, 且饲料脂肪含量的升高对蛋白质没有节约作用。点带石斑鱼的最适蛋白质需求量为 48%^[30], 对脂肪需求量不超过 12%^[31], 同样与本研究结果相似。Lee 等^[32]研究发现, 牙鲆在饲料蛋白质和脂肪水平分别为 50.4%和 7.5%时, 增重率最大。对大菱鲆^[33]的研究表明, 饲料中蛋白质和脂肪水平分别为 49.4%和 10%时, 增重最大。Hebb 等^[34]研究显示, 美洲拟鲈在饲料蛋白质和脂肪水平分别为 50%和 10%时特定生长率最高。刘兴旺^[35]关于半滑舌鳎的研究表明, 当饲料蛋白质水平为 55%, 脂肪水平为 12%时, 半滑舌鳎表现出最高的特定生长率。由此可见, 对于

同样为肉食性鱼类来说, 饲料中最适蛋白质和脂肪水平有着较大的差异。本研究表明, 大口黑鲈对饲料中脂肪的利用能力低于鲑鳟鱼类, 与军曹鱼、石斑鱼和比目鱼类同, 表现为饲料中脂肪对蛋白质的节约作用有限。

3.2 饲料中脂肪与蛋白质含量比对蛋白质、脂肪和总能消化率的影响

随着饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高, 蛋白质、脂肪和总能的消化率均呈现降低的趋势(表 4), 从而导致饲料中的可消化能量值并没有出现如预期的上升, 而饲料的可消化蛋白质水平却进一步下降(表 1)。这说明随着饲料中脂肪与蛋白质含量比的升高, 导致生长显著下降的主导因素是饲料中蛋白质水平的下降以及蛋白质消化率的下降导致的试验鱼获取蛋白质的进一步减少, 而非能量过高或不足。本研究通过对饲料中相关养分消化率的分析, 反映出大口黑鲈不能耐受饲料中过高的油脂。类似的情况在大菱鲆的研究中也被发现^[36], 这也佐证了 Borges 等^[37]的推测: 消化率的降低是导致塞内加尔舌鳎不能有效利用高脂肪饲料中营养物质的原因。另有研究指出, 饲料中油脂种类的不同对于虹鳟饲料中脂肪的消化和利用有较大的影响^[38]。但 Subhadra 等^[39]认为, 在大口黑鲈饲料中添加 10% 的植物油、禽类油或海水鱼油并无因脂肪源的不同而产生显著的利用率差异。因此, 过高的饲料脂肪水平, 而非脂肪源, 是产生大口黑鲈对饲料中营养物质利用率下降的主要原因。

3.3 饲料中脂肪与蛋白质含量比对鱼体组成的影响

本研究还发现, 尽管全鱼、肌肉和内脏的水分与饲料脂肪含量均呈负相关的关系, 但饲料中过高的脂肪水平显著的影响了大口黑鲈的体组成, 使全鱼、肌肉和内脏的脂肪积蓄明显增加; 当大口黑鲈饲料中脂肪添加量达到 14% 就会使肌肉脂肪含量显著增加而蛋白质含量显著下降(表 5)。相似的结果也出现于对许氏平鲈^[2]、石斑鱼^[31]、军曹鱼^[29]、大西洋鲑^[40]和红拟石首鱼^[41]的研究中。军曹鱼和大西洋鲑的商品鱼常以生鱼片的形式食用, 肌肉脂肪含量的增加能满足消费者的口感和对 n-3 多不饱和脂肪酸的需求^[42]。大口黑鲈一般不以生鱼片的形式食用, 肌肉脂肪含量的过高则背离了消费者的消费取向。因此, 本研究认为饲料中过高的脂肪与蛋白质含量比也可能影响到大口黑鲈的商

品价值。

3.4 饲料中脂肪与蛋白质含量比对非特异性免疫的影响

鱼类的非特异免疫系统在抵抗病原的侵袭和感染中具有重要作用。本研究采用血清溶菌酶活性、补体活性以及头肾白细胞呼吸爆发活性反映大口黑鲈的非特异性免疫力, 3 个指标的变化趋势均与生长指标变化接近一致(表 6)。本试验前期各组鱼摄食均活跃, 无死亡, 但后期表现为高脂肪低蛋白质饲料组成活率的显著下降, D8 组低至 74.44%。这说明营养失调是导致试验鱼免疫力下降甚至死亡的原因。对于其他鱼类的研究表明, 饲料中蛋白质和脂肪的添加量都会影响其免疫机能^[43-44]。杨严鸥等^[45]对黄颡鱼和 Kiron 等^[46]对虹鳟的研究均表明, 蛋白质水平的增加会显著提高其溶菌酶的活性。Sitja 等^[47]关于欧洲鲈的研究表明, 饲料脂肪的增加会降低吞噬细胞的呼吸爆发活性。而 Lin 等^[31]关于点带石斑鱼的研究发现脂肪含量的增加可以增强其溶菌酶活性和白细胞呼吸爆发活性, 但对生长却是不利。Cheng 等^[48]提出, 饲料蛋白质和脂肪水平对白细胞呼吸爆发活性的影响具有交互作用, 低蛋白质水平与高脂肪水平的结合是导致呼吸爆发活性下降的主要原因。以上研究结果表明, 适宜的饲料蛋白质和脂肪含量对于维持健康、抵御病害有着重要意义。

4 结论

本研究表明, 饲料中脂肪与蛋白质含量比对大口黑鲈的生长、体组成、非特异性免疫均产生显著的影响。以饲料为单因子作单因素方差分析得出: 大口黑鲈饲料的最佳蛋白质和脂肪水平分别为 49.30% 和 11.50%。以饲料中蛋白质水平和脂肪水平为自变量, 分别以特定生长率和蛋白质沉积率为因变量进行二元二次回归分析得出: 特定生长率最大时, 饲料中蛋白质水平、脂肪水平和脂肪与蛋白质含量比分别为 48.20%、12.44% 和 0.26; 蛋白质沉积率最高时饲料中蛋白质水平、脂肪水平和脂肪与蛋白质含量比分别为 46.42%、13.96% 和 0.30。而以饲料蛋能比为自变量进行一元二次回归分析得出: 蛋白质沉积率最大时饲料的蛋能比为 23.72 mg/kJ, 此时, 饲料中蛋白质水平、脂肪水平和脂肪与蛋白质含量比分别为 46.16%、14.18% 和

0.31。综合生长、体组成、免疫等指标得出实用饲料的蛋白质和脂肪水平分别保持在 46%~49%, 11.5%~14%范围内较为适当。

本研究的养殖试验是在上海海洋大学与农好饲料有限公司合作的产学研基地完成的。在实施过程中,得到了农好饲料有限公司的大力帮助和支持,对此表示感谢。同时也对靳利娜和仇小洁在试验过程中的帮助表示感谢。

参考文献:

- [1] Li X, Liu W, Jiang Y, *et al.* Effects of dietary protein and lipid levels in practical diets on growth performance and body composition of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings[J]. *Aquaculture*, 2010, 303 (1-4): 65-70.
- [2] Lee S M, Jeon I G, Lee J Y. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*)[J]. *Aquaculture*, 2002, 211(1-4): 227-239.
- [3] Shiau S Y, Lin Y H. Carbohydrate utilization and its protein-sparing effect in diets for grouper (*Epinephelus malabaricus*)[J]. *Animal Science*, 2001, 73(2): 299-304.
- [4] Chou R L, Su M S, Chen H Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Aquaculture*, 2001, 193(1-2): 81-89.
- [5] Portz L, Cyrino J E P, Martino R C. Growth and body composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, 7(4): 247-254.
- [6] Ramezani H. Effects of different protein and energy levels on growth performance of Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius* (Kessler, 1877)[J]. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2009, 4(4): 203-209.
- [7] Karalazos V, Bendiksen E A, Bell J G. Interactive effects of dietary protein/lipid level and oil source on growth, feed utilization and nutrient and fatty acid digestibility of Atlantic salmon[J]. *Aquaculture*, 2010, 311(1-4): 193-200.
- [8] Yigit M, Yardim Ö, Koshio S. The protein sparing effects of high lipid levels in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) with special reference to reduction of total nitrogen excretion[J]. *The Israeli journal of aquaculture-Bamidgeh*, 2002, 54(2): 79-88.
- [9] Tidwell J H, Webster C D, Coyle S D. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) raised in ponds[J]. *Aquaculture*, 1996, 145(1-4): 213-223.
- [10] Anderson R J, Kienholz E W, Flickinger S A. Protein requirements of smallmouth bass and largemouth bass[J]. *The Journal of Nutrition*, 1981, 111(6): 1085-1097.
- [11] Bright L A, Coyle S D, Tidwell J H. Effect of dietary lipid level and protein energy ratio on growth and body composition of largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2005, 36(1): 129-134.
- [12] Dairiki J K, Dias C T S, Cyrino J E P. Lysine requirements of largemouth bass, *Micropterus salmoides*: A comparison of methods of analysis of dose-response trials data[J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 2007, 19 (4): 1-27.
- [13] Coyle S D, Tidwell J H, Webster C D. Response of largemouth bass *Micropterus salmoides* to dietary supplementation of lysine, methionine, and highly unsaturated fatty acids[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2000, 31(1): 89-95.
- [14] 陈乃松, 马建忠, 周恒永, 等. 大口黑鲈对饲料中氨基酸需求量的评定[J]. *水产学报*, 2010, 34(8): 1244-1253.
- [15] 谭肖英, 刘永坚, 田丽霞, 等. 饲料中碳水化合物水平对大口黑鲈 *Micropterus salmoides* 生长、鱼体营养成分组成的影响[J]. *中山大学学报:自然科学版*, 2005, 44(Z1): 258-263.
- [16] Lee S M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*)[J]. *Aquaculture*, 2002, 207(1-2): 79-95.
- [17] 谢音, 屈小英. 食品分析[M]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 44-50.
- [18] Divakaran S, Obaldo L G, Forster I P. Note on the methods for determination of chromic oxide in shrimp feeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(3): 464-467.
- [19] Inglis J E, Radziwon K A, Maniero G D. The serum complement system: a simplified laboratory exercise to measure the activity of an important component of the immune system[J]. *Advances in Physiology Education*, 2008, 32(4): 317-321.
- [20] Sitjà-Bobadilla A, Mingarro M J, Pujalte M, *et al.* Immunological and pathological status of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) under different long-term feeding regimes[J]. *Aquaculture*, 2003, 220(1-4): 707-724.
- [21] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical biochemistry*, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [22] Ai Q, Mai K, Zhang L, *et al.* Effects of dietary β -1, 3 glucan on innate immune response of large yellow

- croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 22(4): 394–402.
- [23] 钱国英. 饲料中不同蛋白质、纤维素、脂肪水平对加州鲈鱼生长的影响[J]. 动物营养学报, 2000, 12(2): 48–52.
- [24] Gómez-Requeni P, Mingarro M, Kirchner S, et al. Effects of dietary amino acid profile on growth performance, key metabolic enzymes and somatotrophic axis responsiveness of gilthead sea bream(*Sparus aurata*) [J]. Aquaculture, 2003, 220(1–4): 749–767.
- [25] Burr G S, Li P, Goff J B, et al. Evaluation of growth performance and whole-body composition of Juvenile hybrid striped Bass *Morone chrysops*×*Morone saxatilis* and red drum *Sciaenops ocellatus* fed high-protein and high-lipid diets[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2006, 37(4): 421–430.
- [26] Cho C Y, Kaushik S J. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. World Review of Nutrition and Dietetics, 1990, 61: 132–172.
- [27] Cho C Y. Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements[J]. Aquaculture, 1992, 100 (1–3): 107–123.
- [28] Eliason E J, Higgs D A, Farrell A P. Effect of isoenergetic diets with different protein and lipid content on the growth performance and heat increment of rainbow trout[J]. Aquaculture, 2007, 272(1–4): 723–736.
- [29] Craig S R, Schwarz M H, McLean E. Juvenile coho (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics[J]. Aquaculture, 2006, 261 (1): 384–391.
- [30] Shiao S Y, Lan C W. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*)[J]. Aquaculture, 1996, 145(1–4): 259–266.
- [31] Lin Y H, Shiao S Y. Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune responses[J]. Aquaculture, 2003, 225(1–4): 243–250.
- [32] Lee S M, Cho S H, Kim K D. Effects of dietary protein and energy levels on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2000, 31 (3): 306–315.
- [33] Lee J K, Cho S H, Park S U, et al. Dietary protein requirement for young turbot (*Scophthalmus maximus L.*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2003, 9 (4): 283–286.
- [34] Hebb C D, Castell J D, Anderson D M, et al. Growth and feed conversion of juvenile winter flounder (*Pleuronectes americanus*) in relation to different protein-to-lipid levels in isocaloric diets[J]. Aquaculture, 2003, 221(1–4): 439–449.
- [35] 刘兴旺. 大菱鲆及半滑舌鳎蛋白质营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [36] Caceres-Martinez C, Cadena-Roa M, Metailler R. Nutritional requirements of turbot (*Scophthalmus maximus*): I. A preliminary study of protein and lipid utilization[J]. Journal of the World Mariculture Society, 1984, 15(1–4): 191–202.
- [37] Borges P, Oliveira B, Casal S, et al. Dietary lipid level affects growth performance and nutrient utilisation of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles[J]. British Journal of Nutrition, 2009, 102 (07): 1007–1014.
- [38] Caballero M, Obach A, Rosenlund G, et al. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2002, 214 (1–4): 253–271.
- [39] Subhadra B, Lochmann R, Rawles S, et al. Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Aquaculture, 2006, 255 (1–4): 210–222.
- [40] Hemre G, Sandnes K. Effect of dietary lipid level on muscle composition in Atlantic salmon *Salmo salar*[J]. Aquaculture Nutrition, 1999, 5(1): 9–16.
- [41] McGoogan B B, Gatlin III D M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus*. I. Effects of dietary protein and energy levels[J]. Aquaculture, 1999, 178(3–4): 333–348.
- [42] Xu J H, Qin J, Yan B L, et al. Effects of dietary lipid levels on growth performance, feed utilization and fatty acid composition of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) reared in seawater[J]. Aquaculture International, 2011, 19(1): 79–89.
- [43] Lall S P. Nutrition and health of fish[M]. Avances en nutrición acuícola V. memorias del V simposium internacional de nutrición acuícola, 2000: 19–22.
- [44] Montero D, Kalinowski T, Obach A, et al. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health[J]. Aquaculture, 2003, 225(1–4): 353–370.
- [45] 杨严鸥, 周黎. 饲料蛋白质水平对黄颡鱼生长、Atp 酶活性和免疫力的影响[J]. 饲料广角, 2006, 14: 41.
- [46] Kiron V, Watanabe T, Fukuda H, et al. Protein nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1995, 111(3): 351–359.
- [47] Sitjà-Bobadilla A, Pérez-Sánchez J. Diet related changes in non-specific immune response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 1999, 9(8): 637–640.
- [48] Cheng A C, Chen C Y, Liou C H, et al. Effects of dietary protein and lipids on blood parameters and

superoxide anion production in the grouper, *Epinephelus*

coioides[J]. Zoological Studies, 2006, 45 (4): 492–502.

Effects of dietary lipid to protein ratios on growth performance, body composition and non-specific immunity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

CHEN Nai-song*, XIAO Wen-wen, LIANG Qin-lang, ZHOU Heng-yong, MA Xiu-li, ZHAO Ming

(College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract: An 88-day feeding test was conducted to estimate the effects of dietary lipid to protein ratios on growth performance, body composition and non-specific immunity in largemouth bass with initial body weight (10.06 ± 0.02) g. Eight diets (D1-D8) were formulated with varying lipid to protein (LIP/PRO, w/w) ratios ranging from 0.17 to 0.84. From D1 to D8, dietary lipid levels were increased (9.0%-26.5%), while dietary protein levels were decreased (52.0%-31.0%). The results of this study suggested that the specific growth rate, feed efficiency ratio (FER), dietary protein digestibility coefficient, dietary lipid digestibility coefficient and lipid deposition of D2-fed fish were the highest. The protein efficiency ratio was significantly higher in fish fed D3-D5, compared with fish fed D1 and D8. The protein deposition rates of D2- and D3-fed fish were significantly higher than those in fish fed D1 and D5-D8. The dietary energy digestibility coefficients among the fish fed D1-D4 were significantly higher than those with other treatments. Excessive dietary lipid had a significant effect on body composition with increased body lipid deposition. The survival rates were significantly higher in fish fed D1 and D2 with higher protein levels, compared with those in fish fed D5-D8 with lower protein levels. The highest activity of lysozyme, CH_{50} and respiratory burst of head kidney leukocytes occurred in D4-, D2- and D2-fed fish, respectively. According to a one-way ANOVA against dietary treatment, the optimal dietary protein and lipid levels for growth and FER of largemouth bass are 49.30% and 11.50%, respectively. Using a second-order polynomial regression analysis, the optimum dietary protein, lipid and lipid to protein ratio (L/P) in the diet for largemouth bass are estimated, based on the specific growth rate (SGR) and protein deposition rate (PDR). With the highest SGR, the optimum dietary protein, lipid and L/P are estimated to be 48.20%, 12.44% and 0.26. With the highest PDR, the optimum dietary protein, lipid and L/P are estimated to be 46.42%, 13.96% and 0.30. A quadratic regression analysis of PDR against dietary protein to energy ratio (P/E) indicates a similar result that the optimum dietary P/E, protein, lipid and L/P requirements of largemouth bass are 23.72 mg/KJ, 46.16%, 14.18% and 0.31, respectively. Based on those results, it could be concluded that largemouth bass growth performance, body composition and non-specific immunity are affected by dietary lipid and protein levels to different extents, and that an excess of dietary lipid inhibits digestion of dietary protein, suggesting that protein-sparing effect of dietary lipid is limited in this fish species. It could be recommended to maintain dietary protein and lipid levels within 46%-49%, and 11.5%-14%, respectively, in the practical feed for largemouth bass.

Key words: *Micropterus salmoides*; growth performance; body composition; non-specific immunity

Corresponding author: CHEN Nai-song. E-mail: nschen@shou.edu.cn