

饲料中可消化淀粉对大口黑鲈生长、体组成 和非特异性免疫指标的影响

苟仕潘, 陈乃松*, 徐祥泰, 刘子科, 尹佳

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 配制 6 种可消化淀粉水平(5.93%、8.71%、11.96%、15.11%、18.16%和 21.74%)的等氮和等脂饲料,以实验鱼的生长、体组成、血糖及非特异免疫等作指标,评定大口黑鲈饲料中可消化淀粉的适宜水平。用上述 6 种饲料饲喂初始体质量(28.36 ± 0.10)g 的大口黑鲈 48 d,每种饲料 3 个重复,每个重复 35 尾鱼。采用表观饱食投喂,每天饲喂 2 次。结果显示,饲料中可消化淀粉为 21.74% 时,实验鱼的成活率最低($P < 0.05$)。可消化淀粉超过 8.71% 时,实验鱼的终末体质量、特定生长率和摄食率显著下降($P < 0.05$)。可消化淀粉为 11.96% 时,饲料效率和蛋白质效率达到最高($P < 0.05$)。随着可消化淀粉的增加,饲料中脂肪和淀粉的消化率显著降低($P < 0.05$),但蛋白质的消化率差异不显著($P > 0.05$);全鱼、肌肉、内脏及肝脏的蛋白质含量显著降低($P < 0.05$),而脂肪含量在可消化淀粉上升至 8.71% 时达到最高,之后又逐渐降低($P < 0.05$);肝体比、脏体比、肝糖原含量及血清 AST 和 ALT 活性显著升高($P < 0.05$);血红蛋白含量呈逐渐降低的趋势($P < 0.05$)。可消化淀粉高于 11.96% 时,实验鱼餐后 3 至 12 h 血糖持续升高,呈现长时间的高血糖。可消化淀粉为 8.71% 时,血清蛋白质含量和血清补体活性最高($P < 0.05$)。可消化淀粉为 11.96% 时,血清溶菌酶活性和头肾白细胞呼吸爆发活性最高($P < 0.05$)。以特定生长率和蛋白质效率为指标作折线回归得出,饲料中可消化淀粉的适宜水平分别为 9.22% 和 10.05%。本研究表明,大口黑鲈利用饲料中可消化淀粉的能力有限。

关键词: 大口黑鲈; 饲料; 可消化淀粉; 生长; 血糖; 体组成; 非特异性免疫

中图分类号: S 963

文献标志码: A

虽然鱼类对饲料中的碳水化合物没有特定的需求,但其具有重要的生理功能^[1]。碳水化合物可为鱼类提供能量,且比蛋白质和脂肪更为廉价。饲料中适宜水平的碳水化合物能够起到节约蛋白质和有效降低饲料成本的作用^[2]。而且淀粉作为天然黏合剂,可以提高饲料的水中稳定性从而降低营养物质的流失。然而,鱼类特别是肉食性鱼类,与畜禽动物相比,对饲料中可消化碳水化合物的利用能力较低^[2-3]。鱼类摄食过量的可消化碳水化合物的饲料后往往表现出持续的高血糖,肝糖原沉积过多,从而引起一系列生理机能的异常,例如:肝脏肿大甚至肝细胞坏死,生长下降,或

死亡率上升等^[3-4]。到目前为止,对于产生这种状况的生理基础尚不完全清楚。有研究显示,可能是鱼体肌肉中胰岛素受体数量相对较少^[5]。但也有研究认为是鱼体己糖激酶活性不足,导致肌肉组织对葡萄糖的利用率较低^[2,6]。同时,对于饲料中过量的碳水化合物是否会引起鱼类的代谢应激和免疫机能下降尚有争议^[7-9]。另外,因水产养殖和饲料业的不断发展,鱼粉的价格日益上涨,在鱼类饲料中常以植物性蛋白质原料部分替代鱼粉,但植物性蛋白质原料不可避免地含有较多的可消化碳水化合物,这容易造成肉食性鱼类饲料中的可消化碳水化合物超过其耐受能力。

收稿日期:2015-03-04 修回日期:2015-05-06

资助项目:上海市科委地方院校能力建设项目(10320503100);水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心项目(ZF1206)

通信作者:陈乃松,E-mail:nschen@shou.edu.cn

因此,保持肉食性鱼类饲料中适宜的可消化碳水化合物水平,对于高效、经济和抗逆饲料的研发具有重要意义。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 是一种典型的肉食性鱼类。目前,我国大口黑鲈的年养殖产量已达到 20 多万吨,但是,专用于大口黑鲈养殖的高效配合饲料尚未开发成功,生产上主要以冰鲜杂鱼作饲料。国内外对于大口黑鲈营养需求的研究主要涉及到饲料的蛋白质和必需氨基酸需求量^[10-11],脂肪的需求量及能蛋比^[12]和动植物性原料对鱼粉的替代等^[13]。而对于大口黑鲈饲料中可耐受的碳水化合物水平,仅有 Amoah 等^[3]和谭肖英等^[14]进行了相关研究,但就生长指标而言,二者的研究结论并不一致,且未对大口黑鲈的餐后血糖变化及相关免疫指标进行过研究。本研究通过生长实验,评估饲料中不同可消化淀粉水平对大口黑鲈的生长、饲料效率、养分消化率、体组成、血糖、肝脏损伤以及非特异性免疫和血液学指标的综合影响,以期得出大口黑鲈饲料中可消化淀粉的适宜水平,为配制经济和高效的大口黑鲈实用配合饲料提供参考。

1 材料与与方法

1.1 实验饲料

实验饲料以鱼粉和大豆油分别作为蛋白质和脂肪的主要来源,α-淀粉作为可消化淀粉的主要来源,按照 4.5%、8.0%、11.5%、15.0%、18.5% 和 22.0% 的梯度水平,配制成等蛋白质(47.5%),等脂肪(10.5%),实测可消化淀粉水平分别为 5.93%、8.71%、11.96%、15.11%、18.16% 和 21.74% 的 6 种饲料(表 1)。添加玉米醇溶蛋白包膜的晶体氨基酸,以使饲料的必需氨基酸组成与大口黑鲈鱼体的必需氨基酸组成相类似^[15]。0.3% 的 Cr₂O₃ 作为指示剂以测定相关营养成分的表观消化率。微晶纤维素和沸石粉被用作饲料的填充剂。

实验饲料的制作:单项饲料原料经过超微粉碎,过 60 目筛后配料,按逐级扩大法混合均匀;再加入油脂混合均匀;最后加入适量的水经混匀后制粒。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。

表 1 实验饲料的配方及组分分析(干饲料)

Tab. 1 Formulation and proximate analysis of trial diets (dry diet)

原料 ingredients	饲料 diets					
	D5.93	D8.71	D11.96	D15.11	D18.16	D21.74
固定成分/ %						
^a constant ingredient	78.00	78.00	78.00	78.00	78.00	78.00
α-淀粉/ %	4.50	8.00	11.50	15.00	18.50	22.00
α-starch						
微晶纤维素/ %	7.50	6.00	4.50	3.00	1.50	0.00
microcrystalline cellulose						
沸石粉/ %	10.00	8.00	6.00	4.00	2.00	0.00
zeolite powder						
概略组分分析 proximate analysis						
粗蛋白质/ %	47.50	47.46	47.66	47.54	47.67	47.52
crude protein						
粗脂肪/ %	10.61	10.65	10.72	10.79	10.71	10.87
crude lipid						
可消化淀粉/ %	5.93	8.71	11.96	15.11	18.16	21.74
digestible starch						
总能/(MJ/kg)	16.44	16.92	17.55	18.08	18.60	19.23
gross energy						

注:a 固定成分(%干饲料):鱼粉 42.60,谷朊粉 8.00;豆粕 2.70,玉米蛋白粉 3.00,血球粉 10.00,鲑鱼内脏粉 0.90,酵母提取物 1.00,多维* 0.80,多矿** 1.00,豆油 5.10,粗磷脂 2.20,三氧化二铬 0.30,必需氨基酸混合物*** 0.40

* 多维(IU 或 mg/kg 干饲料):维生素 A 16 000 IU,维生素 D₃ 8 000 IU,维生素 K₃ 14.72,维生素 B₁ 17.80,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 800,烟酰胺 79.20,D-泛酸钙 73.60,叶酸 6.40,生物素 0.64,肌醇 320,氯化胆碱 1 500, L-肉碱 100, ** 多矿(mg/kg 干饲料):铜(CuSO₄) 2.00,锌(ZnSO₄) 34.40,锰(MnSO₄) 6.20,铁(FeSO₄) 21.10,碘[Ca(IO₃)₂] 1.63,硒(Na₂SeO₃) 0.18,钴(CoCl₂) 0.24,镁(MgSO₄·H₂O) 52.70, *** 必需氨基酸混合物(%):苏氨酸 57.00,蛋氨酸 43.00

Notes:a constant ingredient (% dry diet):fish meal 42.60,wheat gluten meal 8.00, soybean meal 2.70, corn gluten meal 3.00, spray-dried blood meal 10.00, squid viscera meal 0.90, brewer's yeast extract 1.00, vitamin premix * 0.80, mineral premix ** 1.00, soybean oil 5.10, crude phospholipid 2.20, chromic oxide 0.30, essential amino acid (EAA) mixture *** 0.40

* Vitamin premix (IU or mg/kg dry diet):vitamin A 16 000 IU, vitamin D₃ 8 000 IU, vitamin K₃ 14.72, vitamin B₁ 17.80, vitamin B₂ 48, vitamin B₆ 29.52, vitamin B₁₂ 0.24, vitamin E 160, vitamin C 800, niacinamide 79.20, D-calcium pantothenate 73.60, folic acid 6.40, biotin 0.64, inositol 320, choline chloride 1 500, L-carnitine 100, ** mineral premix (mg/kg dry diet):Cu (CuSO₄) 2.00, Zn (ZnSO₄) 34.40, Mn (MnSO₄) 6.20, Fe (FeSO₄) 21.10, I [Ca(IO₃)₂] 1.63, Se (Na₂SeO₃) 0.18, Co (CoCl₂) 0.24, Mg (MgSO₄·H₂O) 52.70, *** EAA mixture (%):threonine 57.00, methionine 43.00

1.2 养殖实验的设计与饲养管理

实验用大口黑鲈鱼苗在室内循环养殖系统中进行 2 个月实验条件下的驯化,期间投喂上海农好饲料有限公司生产的大黄鱼饲料(粗蛋白质含量为 50%)。驯化后的鱼苗经 24 h 饥饿处理,挑选体格健壮和体质量相近的鱼称重并分组。实验鱼按 6 种饲料处理,每处理 3 个重复,随机分配到 18 个容量为 800 L 的玻璃钢水槽中,每水槽放养初始体质量为 (28.36 ± 0.10) g 的实验鱼 35 尾。实验期间采取表观饱食投喂,每天投喂 2 次(8:00 和 16:00),详细记录摄食量;若有死鱼,及时捞出并称重和记录。采用虹吸方式清理残饵和粪便,排污后流失的水体以经 24 h 曝气的自来水补充。循环水养殖系统的水体经海绵和珊瑚砂过滤并经紫外线灭菌处理,循环水的流量为 $0.3 \text{ m}^3/\text{h}$,水温被控制于 $(27 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$,pH 为 (7.2 ± 0.2) ,氨氮小于 $(0.15 \pm 0.05) \text{ mg/L}$,溶氧高于 6 mg/L 。采用自然光照。养殖实验共持续 48 d。

1.3 样品的采集与分析

样品采集 养殖实验开始时随机抽取 15 尾鱼于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于初始样本的体组成分析。养殖实验开始 1 周后参考 Lee^[16] 的方法收集粪便。粪便收集的流程:饲喂后 30 min,用虹吸法清除存在的残饵和粪便,打开粪便采集装置持续 4 h,将包膜完整的粪便保存于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 。全部的粪便收集工作结束后,将粪便冷冻干燥,筛除鱼鳞,保存备用。养殖实验结束时,实验鱼经 24 h 的饥饿,统计每水槽的鱼尾数及总质量;从中随机抽取 12 尾鱼,其中 5 尾置于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于鱼体组成的分析,其余的 7 尾被用作测定体型,抽取血液,解剖。采用 2 mL 注射器从实验鱼尾静脉采血 1 mL, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下静置 4 h 后离心 ($836 \times g$, 10 min, $4 \text{ }^\circ\text{C}$),取血清于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于免疫等指标的分析。抽血后解剖出内脏和肝脏,称重后于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于肝糖原和内脏的组成分析。另取侧线上方背部肌肉于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于肌肉组成分析。

继续投喂饲养剩余的实验鱼 1 周,消除因采样所产生的干扰后,实验鱼经 24 h 的禁食与再投喂处理,采集 5 个时间点(饲前 3 h,饲后 3、6、12 和 24 h)的静脉血,用于血糖变化的观测。采样时分别从每水槽及每时间点各取 3 尾鱼,获取的血清于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。余下的实验鱼再经 3 d

饲养,每水槽随机取 6 尾鱼,各取静脉血 1 mL,置于含肝素钠的抗凝管中,混匀后于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于血液学指标的测定。采血后立即取出头肾,进行头肾白细胞呼吸爆发活性的测定。

饲料、粪便及鱼体组成的分析 饲料、全鱼、肌肉、内脏和粪便的分析方法如下:粗蛋白质采用凯氏定氮仪(Kjeltec 2300, FOSS, 丹麦)测定;水分采用 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温烘干失重法测定;粗灰分采用马弗炉(上海实验仪器公司)于 $550 \text{ }^\circ\text{C}$ 下灼烧法测定;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、内脏和粪便的粗脂肪采用氯仿-甲醇法测定^[17];饲料粗纤维采用粗纤维测定仪(FT12, Gerhardt, 德国)测定;饲料总能采用氧弹仪(6200, Parr, 美国)测定;饲料和粪便中的 Cr_2O_3 采用 Divakaran 等^[18] 的方法测定。饲料及粪便中的可消化淀粉和总淀粉的测定方法参照 AOAC 法^[19]。肝糖原采用蒽酮法进行测定^[20]。

免疫指标分析 采用比浊法测定血清溶菌酶活力^[21]。采用双缩脲法测定血清蛋白质含量^[22]。血清补体活性测定采用经典途径的分析方法^[23]。头肾白细胞的分离参照陈乃松等^[24] 的方法进行。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^[25]。

血液学指标分析 血清葡萄糖浓度、谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。用氰化高铁试剂测定血红蛋白含量^[26]。以 Natt and Herrick 计数液^[27] 将血液稀释 200 倍后,用血球计数板计数红细胞。红细胞比容采用 Wintrobe 法($2 \text{ } 264 \times g$ 离心)测定^[28]。

1.4 计算公式

存活率(survival rate, SR, %) = 初始鱼尾数/终末鱼尾数 $\times 100$

摄食率(feed intake, FI, g/尾/d) = 干饲料摄入量/[(初始尾数 + 终末尾数)/2 \times 实验天数]

增重率(weight gain rate, WGR, %) = [终末体质量 - 初始体质量] / 初始体质量 $\times 100$

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

饲料效率(feed efficiency, FE) = (终末体质量 - 初始体质量) / 摄入干饲料总量

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

(终末体质量 - 初始体质量)/摄入蛋白质总量

肝体比 (hepatosomatic index, HSI, %) = 鱼肝重/鱼体质量 × 100

脏体比 (viscerosomatic index, VSI, %) = 鱼内脏重/鱼体质量 × 100

营养物质的表观消化率 (apparent digestibility coefficient, ADC, %) = [1 - (粪便中营养物质含量/饲料中营养物质含量) × (饲料中 Cr₂O₃ 含量/粪便中 Cr₂O₃ 含量)] × 100

蛋白质沉积率 (protein deposition rate, PDR, %) = 体粗蛋白质沉积量/摄入粗蛋白质总量 × 100

脂肪沉积率 (lipid deposition rate, LDR, %) = 体粗脂肪沉积量/摄入粗脂肪总量 × 100

1.5 数据处理和统计分析

数据以平均值 ± 标准误 (mean ± SE) 表示。采用 SPSS 17.0 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 $P < 0.05$ 。通过折线回归法和 NRM 软件评定饲料中可消化淀粉的适宜需求量。

2 结果

2.1 可消化淀粉水平对生长及饲料营养素利用的影响

饲料中可消化淀粉高于 D18.16 的水平时, 实验鱼的成活率降低 ($P < 0.05$)。可消化淀粉高于 D8.71 的水平时, 实验鱼的终末体质量、特定生长率、增重率和摄食率均显著降低 ($P < 0.05$); 饲料效率在 D11.96 组达到最高, 显著高于 D5.93、D8.71 和 D15.11 组 ($P < 0.05$), 但与其他各组差异不显著 ($P > 0.05$); D18.16 和 D21.74 组的饲料效率又显著高于 D5.93 组 ($P < 0.05$) (表 2)。

表 2 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈成活率和生长的影响
Tab. 2 Effects of DDS levels on survival and growth performance of largemouth bass

饲料 diets	指标 index						
	成活率/% SR	初始体质量 /g initial body weight	终末体质量 /g final body weight	特定生长率/ (%/d) SGR	增重率 /% WGR	摄食率/(g/d) FI	饲料效率 FE
D5.93	100.00 ± 0.00 ^a	28.28 ± 0.08	97.71 ± 1.32 ^a	2.58 ± 0.05 ^a	245.52 ± 4.66 ^a	1.09 ± 0.02 ^a	1.33 ± 0.01 ^c
D8.71	100.00 ± 0.00 ^a	28.32 ± 0.07	97.56 ± 1.49 ^a	2.57 ± 0.06 ^a	244.49 ± 5.26 ^a	1.05 ± 0.03 ^a	1.37 ± 0.04 ^{bc}
D11.96	100.00 ± 0.00 ^a	28.37 ± 0.08	93.15 ± 1.15 ^b	2.47 ± 0.05 ^b	228.34 ± 4.04 ^b	0.95 ± 0.02 ^b	1.43 ± 0.01 ^a
D15.11	100.00 ± 0.00 ^a	28.36 ± 0.09	87.24 ± 1.96 ^c	2.33 ± 0.06 ^c	207.62 ± 8.88 ^c	0.90 ± 0.03 ^b	1.36 ± 0.01 ^{bc}
D18.16	98.10 ± 2.52 ^{ab}	28.44 ± 0.07	80.99 ± 1.07 ^d	2.18 ± 0.05 ^d	184.78 ± 3.75 ^d	0.79 ± 0.01 ^c	1.38 ± 0.02 ^{ab}
D21.74	96.19 ± 0.95 ^b	28.45 ± 0.06	77.25 ± 0.89 ^d	2.09 ± 0.04 ^d	171.82 ± 3.13 ^d	0.72 ± 0.02 ^d	1.40 ± 0.01 ^{ab}

注: 数据表示为平均值 ± 标准误; 同列数值带有不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Notes: Values are expressed as mean ± SE; Column values with different superscripts indicate a significant difference ($P < 0.05$), The same as the following

D11.96 组的蛋白质效率最高, 除与 D21.74 组差异不显著外 ($P > 0.05$), 显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。蛋白质消化率和蛋白质沉积率未受到饲料中可消化淀粉水平的显著影响 ($P > 0.05$)。D8.71 组的脂肪消化率显著高于 D21.74 组 ($P < 0.05$), 但与其他各组差异不显著 ($P > 0.05$)。D8.71 和 D11.96 组脂肪沉积率显著高于 D18.16 和 D21.74 组 ($P < 0.05$)。随着饲料中可消化淀粉的增加, 淀粉的消化率显著降低, 至 D18.16 组达到最低 ($P < 0.05$), 但 D18.16 组与 D21.74 组的差异不显著 ($P > 0.05$) (表 3)。

经折线模型回归分析, 饲料中可消化淀粉不高于 9.22% 时, 实验鱼的特定生长率最大 (图 1); 饲料中可消化淀粉的水平为 10.05% 时, 蛋白质效率达到最大值 (图 2)。

2.2 可消化淀粉水平对鱼体组成的影响

随着饲料中可消化淀粉水平的提高, D5.93 组全鱼的蛋白质含量显著高于 D15.11 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$), D5.93 组的肌肉蛋白质含量显著高于 D18.16 组 ($P < 0.05$), 内脏的蛋白质含量呈显著降低的趋势 ($P < 0.05$); 全鱼、肌肉和内脏的脂肪含量均在 D8.71 组达到最高, 此后降低, 至

表 3 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈饲料营养素利用的影响
Tab.3 Effects of DDS levels on nutrient utilization in largemouth bass

饲料 diets	指标 index					
	蛋白质效率 PER	蛋白质消化率/% protein digestibility	蛋白质沉积率/% PDR	脂肪消化率/% lipid digestibility	脂肪沉积率/% LDR	淀粉消化率/% starch digestibility
D5.93	2.80 ± 0.02 ^c	96.07 ± 0.06	47.87 ± 0.76	95.64 ± 0.17 ^{ab}	116.65 ± 3.67 ^{ab}	93.14 ± 0.69 ^a
D8.71	2.89 ± 0.04 ^{bc}	96.21 ± 0.17	47.91 ± 1.29	95.95 ± 0.05 ^a	127.57 ± 4.32 ^a	91.13 ± 0.15 ^{ab}
D11.96	3.00 ± 0.03 ^a	96.03 ± 0.04	49.84 ± 1.05	95.79 ± 0.22 ^{ab}	127.79 ± 2.28 ^a	89.16 ± 0.85 ^b
D15.11	2.86 ± 0.03 ^{bc}	95.76 ± 0.23	46.84 ± 0.15	95.52 ± 0.17 ^{ab}	115.19 ± 6.02 ^{ab}	85.21 ± 0.94 ^c
D18.16	2.90 ± 0.04 ^{bc}	96.16 ± 0.10	46.96 ± 1.15	95.42 ± 0.19 ^{ab}	108.34 ± 5.57 ^b	82.80 ± 0.28 ^d
D21.74	2.96 ± 0.03 ^{ab}	95.88 ± 0.22	47.74 ± 0.71	95.22 ± 0.28 ^b	103.18 ± 5.76 ^b	83.71 ± 0.98 ^{cd}

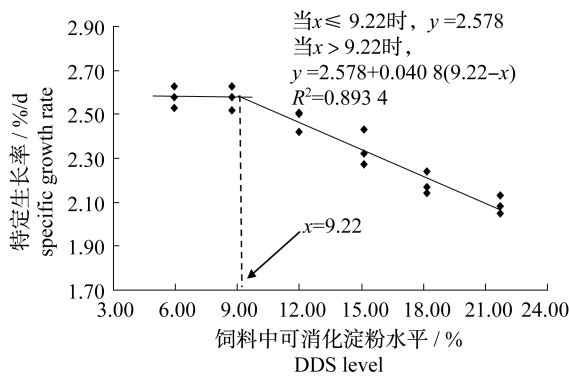


图 1 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈特定生长率的折线回归分析

Fig.1 Broken - line regression analysis of DDS level against specific growth rate of largemouth bass

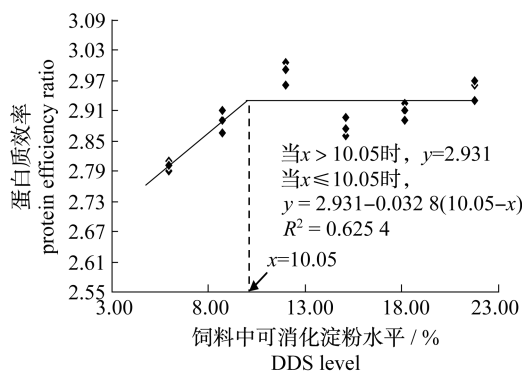


图 2 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈蛋白质效率的折线回归分析

Fig.2 Broken - line regression analysis of DDS level against protein efficiency ratio in largemouth bass

D21.74 组达到最低 ($P < 0.05$); 全鱼和内脏的水分含量均呈现升高的趋势, 在 D21.74 组达到最高值 ($P < 0.05$), 而肌肉水分含量下降后又升高,

D8.71 组最低 ($P < 0.05$), 但与 D15.11 组差异不显著 ($P > 0.05$)。全鱼和肌肉的灰分含量未受到饲料中可消化淀粉含量上升的显著影响 ($P > 0.05$), 但内脏灰分含量显著降低 ($P < 0.05$) (表 4)。

随着饲料中可消化淀粉水平的增高, 实验鱼肝体比、脏体比及肝糖原含量均呈上升趋势 (表 5)。D5.93 和 D8.71 组的肝体比和肝糖原含量显著低于 D11.96 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$); D5.93 ~ D11.96 组的脏体比显著低于 D15.11 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$)。饲料中可消化淀粉高于 8.71% 时, 肝脏的蛋白质含量显著降低 ($P < 0.05$); 脂肪含量在 D8.71 组达到最高, 此后显著降低 ($P < 0.05$)。

2.3 可消化淀粉水平对餐后血糖的影响

实验鱼餐后不同时间的血糖水平随着饲料中可消化淀粉的增加呈现出不同的变化 (表 6)。D5.93 ~ D11.96 组的餐后血糖在 3 h 最高, 但与餐后 6 h 的水平差异不显著 ($P > 0.05$), 餐后 12 h 的血糖显著低于餐后 6 h ($P > 0.05$), 高血糖的持续时间为餐后的 3 ~ 6 h。D15.11 ~ D21.74 组的餐后血糖浓度持续上升, 均于餐后 12 h 达到最高值, 高血糖持续时间为餐后 3 ~ 12 h。实验鱼餐后同一时间点的血糖水平也受到饲料中可消化淀粉含量的显著影响。餐后 3 h, D5.93 组血糖浓度显著低于 D18.16 和 D21.74 组 ($P < 0.05$); 餐后 6 h, D5.93 组血糖浓度显著低于 D15.11 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$); 餐后 12 h, D5.93 ~ D11.96 组显著低于 D15.11 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$)。餐后 24 h, 各组血糖恢复到基础水平 (-3 h), 但 D21.74 组仍显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。

表 4 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈鱼体组成的影响
Tab. 4 Effects of DDS levels on body composition of largemouth bass

饲料 diets	指标 index			
	粗蛋白质 crude protein	粗脂肪 crude lipid	水分 moisture	灰分 ash
全鱼 whole fish body				
D5. 93	17. 47 ± 0. 08 ^a	8. 90 ± 0. 21 ^{ab}	70. 86 ± 0. 14 ^b	3. 59 ± 0. 08
D8. 71	17. 15 ± 0. 10 ^{ab}	9. 32 ± 0. 22 ^a	70. 95 ± 0. 21 ^b	3. 47 ± 0. 10
D11. 96	17. 19 ± 0. 12 ^{ab}	9. 09 ± 0. 12 ^a	70. 71 ± 0. 12 ^b	3. 29 ± 0. 09
D15. 11	16. 99 ± 0. 09 ^b	8. 74 ± 0. 32 ^{ab}	70. 79 ± 0. 13 ^b	3. 40 ± 0. 11
D18. 16	16. 94 ± 0. 11 ^b	8. 22 ± 0. 25 ^{bc}	71. 09 ± 0. 23 ^{ab}	3. 54 ± 0. 13
D21. 74	16. 89 ± 0. 14 ^b	7. 95 ± 0. 29 ^c	71. 61 ± 0. 33 ^a	3. 55 ± 0. 10
肌肉 muscle				
D5. 93	19. 90 ± 0. 07 ^a	2. 61 ± 0. 19 ^{bc}	76. 84 ± 0. 18 ^b	1. 20 ± 0. 02
D8. 71	19. 77 ± 0. 08 ^{ab}	3. 35 ± 0. 13 ^a	76. 38 ± 0. 06 ^c	1. 20 ± 0. 02
D11. 96	19. 79 ± 0. 07 ^{ab}	2. 85 ± 0. 09 ^b	76. 85 ± 0. 11 ^b	1. 24 ± 0. 01
D15. 11	19. 78 ± 0. 07 ^{ab}	2. 80 ± 0. 14 ^b	76. 60 ± 0. 15 ^{bc}	1. 25 ± 0. 02
D18. 16	19. 53 ± 0. 10 ^b	2. 26 ± 0. 12 ^c	77. 54 ± 0. 23 ^a	1. 23 ± 0. 02
D21. 74	19. 72 ± 0. 11 ^{ab}	2. 25 ± 0. 19 ^c	77. 66 ± 0. 08 ^a	1. 23 ± 0. 01
内脏 viscera				
D5. 93	9. 68 ± 0. 10 ^a	32. 99 ± 0. 67 ^{ab}	50. 58 ± 0. 37 ^d	1. 02 ± 0. 05 ^a
D8. 71	8. 59 ± 0. 24 ^b	34. 13 ± 0. 46 ^a	51. 41 ± 0. 40 ^{cd}	0. 96 ± 0. 03 ^a
D11. 96	8. 45 ± 0. 20 ^b	34. 01 ± 1. 00 ^a	50. 84 ± 0. 79 ^d	0. 87 ± 0. 03 ^b
D15. 11	7. 99 ± 0. 20 ^b	31. 58 ± 0. 48 ^{bc}	52. 99 ± 0. 38 ^c	0. 76 ± 0. 02 ^c
D18. 16	7. 53 ± 0. 36 ^c	30. 56 ± 0. 76 ^{cd}	54. 58 ± 0. 13 ^b	0. 78 ± 0. 01 ^c
D21. 74	7. 19 ± 0. 21 ^c	28. 65 ± 1. 06 ^d	57. 69 ± 0. 64 ^a	0. 79 ± 0. 01 ^c

表 5 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈肝体比、脏器比、肝脏蛋白质、脂肪及肝糖原含量的影响
Tab. 5 Effects of DDS levels on HSI, VSI and concentrations of protein, lipid and glycogen in the liver
of largemouth bass

饲料 diets	指标 index				
	肝体比 HSI	脏器比 VSI	肝脏蛋白质 liver protein	肝脏脂肪 liver lipid	肝糖原 liver glycogen
D5. 93	3. 21 ± 0. 07 ^d	7. 00 ± 0. 17 ^c	10. 66 ± 0. 13 ^a	4. 53 ± 0. 15 ^c	7. 94 ± 0. 13 ^b
D8. 71	3. 50 ± 0. 05 ^d	7. 46 ± 0. 24 ^c	10. 02 ± 0. 10 ^a	5. 61 ± 0. 09 ^a	8. 14 ± 0. 01 ^b
D11. 96	4. 32 ± 0. 13 ^c	7. 71 ± 0. 40 ^c	8. 01 ± 0. 10 ^b	5. 12 ± 0. 05 ^b	9. 05 ± 0. 21 ^a
D15. 11	5. 05 ± 0. 26 ^b	8. 74 ± 0. 32 ^b	7. 33 ± 0. 11 ^c	4. 94 ± 0. 04 ^b	9. 08 ± 0. 22 ^a
D18. 16	6. 50 ± 0. 29 ^a	9. 61 ± 0. 37 ^{ab}	7. 38 ± 0. 05 ^c	5. 05 ± 0. 09 ^b	9. 34 ± 0. 10 ^a
D21. 74	6. 59 ± 0. 26 ^a	9. 82 ± 0. 50 ^a	6. 55 ± 0. 18 ^d	4. 62 ± 0. 13 ^c	9. 34 ± 0. 02 ^a

表 6 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈餐后血糖浓度变化的影响
Tab. 6 Effects of DDS levels on postprandial serum glucose levels in largemouth bass

饲料 diets	餐后时间 postprandial time (h)				
	-3	3	6	12	24
D5. 93	3. 60 ± 0. 12 ^{BC}	5. 44 ± 0. 96 ^{A,c}	5. 07 ± 0. 18 ^{AB,d}	2. 82 ± 0. 50 ^{C,b}	2. 47 ± 0. 24 ^{C,b}
D8. 71	3. 86 ± 0. 19 ^B	7. 53 ± 0. 97 ^{A,abc}	6. 62 ± 1. 38 ^{A,cd}	3. 07 ± 0. 21 ^{B,b}	2. 88 ± 0. 35 ^{B,b}
D11. 96	3. 12 ± 0. 12 ^{BC}	8. 26 ± 0. 22 ^{A,bc}	7. 19 ± 0. 36 ^{A,cd}	4. 32 ± 0. 64 ^{B,b}	1. 96 ± 0. 37 ^{C,b}
D15. 11	3. 82 ± 0. 48 ^C	8. 52 ± 1. 20 ^{B,abc}	10. 20 ± 1. 64 ^{B,bc}	16. 42 ± 0. 67 ^{A,a}	3. 35 ± 1. 07 ^{C,b}
D18. 16	3. 03 ± 0. 12 ^C	9. 70 ± 1. 13 ^{B,ab}	11. 57 ± 2. 30 ^{B,b}	18. 72 ± 1. 31 ^{A,a}	2. 27 ± 0. 14 ^{C,b}
D21. 74	3. 52 ± 0. 26 ^D	11. 64 ± 1. 15 ^{BC,a}	16. 17 ± 1. 10 ^{AB,a}	21. 25 ± 4. 50 ^{A,a}	7. 71 ± 2. 00 ^{CD,a}

注:同行不同上标大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 同列不同上标小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Notes: Different uppercase superscripts in each row indicate significant differences ($P < 0.05$); Different lowercase superscripts in each column indicate significant differences among dietary treatments ($P < 0.05$)

2.4 可消化淀粉水平对生化指标和非特异性免疫指标的影响

随着饲料中可消化淀粉水平的升高, D5.93 ~ D11.96 组血清谷丙转氨酶活性显著低于 D15.11 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$); 谷草转氨酶活性显著升高 ($P < 0.05$); 血清溶菌酶活性呈现先升高后降低的趋势, 以 D11.96 组最高, 显著高

于其他各组 ($P < 0.05$); 头肾白细胞呼吸爆发活性以 D11.96 组最高, 显著高于 D15.11 ~ D21.74 组 ($P < 0.05$), 但与 D5.93 和 D8.71 组差异不显著 ($P > 0.05$)。血清蛋白质含量和血清补体活性均在 D8.71 组达到最高, 除与 D5.93 组差异不显著外 ($P > 0.05$), 显著高于其他各组 ($P < 0.05$) (表 7)。

表 7 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性及非特异性免疫指标的影响

Tab.7 Effects of DDS levels on serum ALT and AST activities and non-specific immunological indices of largemouth bass

饲料 diets	指标 index					
	谷丙转氨酶活性 /(U/L)	谷草转氨酶活性 /(U/L)	溶菌酶活性 /(unit/ μ L)	呼吸爆发活性 /(OD) respiratory burst activity	血清蛋白质 /(mg/mL) serum protein content	血清补体活性 /(U/mL) serum CH50 activity
	ALT activity	AST activity	lysozyme activity			
D5.93	5.71 \pm 0.22 ^b	10.82 \pm 1.16 ^d	6.14 \pm 0.25 ^b	1.78 \pm 0.07 ^a	37.21 \pm 2.01 ^{ab}	320.63 \pm 4.32 ^a
D8.71	6.19 \pm 0.27 ^b	13.77 \pm 0.54 ^c	6.45 \pm 0.13 ^b	1.86 \pm 0.02 ^a	42.11 \pm 1.21 ^a	343.22 \pm 10.95 ^a
D11.96	6.77 \pm 0.06 ^b	16.14 \pm 0.27 ^b	7.57 \pm 0.13 ^a	1.89 \pm 0.03 ^a	36.62 \pm 1.55 ^b	249.63 \pm 17.43 ^b
D15.11	9.07 \pm 0.52 ^a	17.57 \pm 0.50 ^b	5.26 \pm 0.27 ^c	1.60 \pm 0.10 ^b	35.81 \pm 2.47 ^b	208.16 \pm 17.16 ^c
D18.16	9.70 \pm 0.47 ^a	17.94 \pm 0.39 ^b	4.26 \pm 0.24 ^d	1.32 \pm 0.02 ^c	28.06 \pm 0.69 ^c	181.32 \pm 11.17 ^c
D21.74	9.09 \pm 0.23 ^a	21.36 \pm 1.14 ^a	3.86 \pm 0.47 ^d	1.18 \pm 0.06 ^c	29.35 \pm 0.87 ^{bc}	124.36 \pm 9.98 ^d

2.5 可消化淀粉水平对血液学指标的影响

饲料中可消化淀粉的增加并未引起血液中红细胞数和红细胞压积的显著变化 ($P > 0.05$) (表 8); 但血红蛋白含量呈现出逐渐降低的趋势, 至 D18.16 组时达到最低 ($P < 0.05$)。

表 8 饲料中可消化淀粉水平对大口黑鲈血液学指标的影响

Tab.8 Effects of DDS levels on hematological indices of largemouth bass

饲料 diets	指标 index		
	红细胞数 /(10^{12} cells/L)	红细胞压积 /(L/L)	血红蛋白/(g/L)
	erythrocyte count	haematocrit	haemoglobin
D5.93	2.21 \pm 0.28	0.36 \pm 0.03	59.43 \pm 0.41 ^a
D8.71	2.17 \pm 0.11	0.37 \pm 0.03	57.61 \pm 3.40 ^{ab}
D11.96	2.13 \pm 0.13	0.35 \pm 0.01	52.01 \pm 3.00 ^{bc}
D15.11	2.06 \pm 0.15	0.36 \pm 0.02	51.87 \pm 0.29 ^{bc}
D18.16	2.08 \pm 0.16	0.35 \pm 0.03	46.97 \pm 0.62 ^c
D21.74	2.00 \pm 0.14	0.37 \pm 0.03	47.38 \pm 1.98 ^c

3 讨论

3.1 影响评定鱼类饲料中碳水化合物适宜水平的因素

本研究中, 以特定生长率和蛋白质效率为指

标, 通过折线模型回归分析得出, 大口黑鲈饲料中可消化淀粉的适宜水平分别为 9.22% 和 10.05%。Amoah 等^[3]以米糠、豆粕及面粉为糖源对大口黑鲈的研究发现, 随着饲料无氮浸出物 (NFE) 水平的升高, 大口黑鲈的增重显著下降, 13% 的 NFE 水平下大口黑鲈有最佳的生长及生理指标。谭肖英等^[14]以豆粕和面粉为糖源的研究表明, 饲料的碳水化合物水平 (DNS 法测定) 为 19% 时大口黑鲈的特定生长率和蛋白质效率最高, 饲料系数最低。这 2 个研究得出的结果似乎与本研究的结论不相一致, 究其原因应当主要有以下两方面: 一是实验饲料的糖源及测定或表示方法的不同。已有研究表明, 鱼类对于不同形式的糖源呈现出不同的消化吸收和利用能力^[29-30]。因此, 以无氮浸出物和碳水化合物的定量方法表示饲料中的糖源以评定大口黑鲈饲料中碳水化合物的适宜水平, 不能反映出实验鱼对饲料中糖源的消化吸收率。本研究以实验饲料中的可消化淀粉水平作为糖源的变量, 不仅能更准确地反映出大口黑鲈对饲料中糖的实际吸收状况, 也与实用饲料中常见的糖源相吻合。二是实验饲料的其他主要营养素的平衡状况也会影响评定结果。其中必需氨基酸的平衡以及合适的能蛋比尤其重要。

本实验以优质红鱼粉为主要蛋白源,并通过添加包膜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实验饲料的氨基酸平衡,从而可避免因氨基酸的不平衡而引起的糖原异生。实验饲料的能蛋比也参考了以往的研究结果^[24]。其他方面的因素,如实验鱼的大小或饲养管理等,也会影响到评定结果。本研究实验鱼的生长、饲料效率(1.32 ~ 1.43)和蛋白质效率(2.80 ~ 3.00)等均优于上述对大口黑鲈饲料中糖源利用的研究^[3,14]。这说明本研究的策略是较为合理的。

3.2 可消化淀粉水平对蛋白质的节约作用和对营养物质消化率的影响

通常认为,鱼类饲料中含有适宜的淀粉可以起到节约蛋白质的作用^[1],但即使同样属于肉食性鱼类,其对饲料中糖的耐受力及其对蛋白质的节约作用也会呈现出差别。研究发现,大西洋鲑(*Salmo salar*)^[31]对饲料中淀粉的利用能力较低,饲料中含9%的淀粉时,生长最快,饲料效率最高;大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[32]饲料中的淀粉由5%增加至15%时,其特定生长率及饲料系数未受到显著的负面影响,能够节约6%的饲料蛋白质;军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[33]饲料中含有18.4%的淀粉时有最好的生长和蛋白质效率,但淀粉含量高于24%时,特定生长率显著降低。而海水养殖的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[34]在不抑制鱼体生长的情况下,可利用饲料中高达25%的碳水化合物。本研究显示,饲料中可消化淀粉水平高于8.71%时,大口黑鲈的摄食率和特定生长率显著下降(表2)。由此可见,同为肉食性鱼类的大口黑鲈对饲料中可消化淀粉的利用能力低于大菱鲆、军曹鱼和虹鳟,而与大西洋鲑的情况相似,也就是说,饲料中可消化淀粉作为能量物质供能对大口黑鲈的生长和对饲料蛋白质的节约作用较为有限。这些研究也反映出肉食性鱼类在糖代谢层面上存在着较大的种间差异。

本研究发现,饲料蛋白质的表观消化率较高,且不受饲料中可消化淀粉含量的影响(表3)。这与对大西洋鲑^[31]和军曹鱼^[33]的研究结果相一致。另外,随着淀粉水平的升高,大口黑鲈对饲料中脂肪和淀粉的表观消化率呈现降低的趋势。这一现象在对南方鲈(*Silurus meridionalis* Chen)的

研究中也被发现^[35]。南方鲈饲料中淀粉水平高于12%时,脂肪和淀粉的表观消化率显著降低;饲料中淀粉水平超过18%时,还引起蛋白质的表观消化率显著降低。这说明饲料中过高的淀粉含量不仅制约其自身的表观消化率,同时也会对饲料中其他营养物质的表观消化率有不同程度的影响。由此可见,饲料中保持适度的可消化淀粉水平也有利于相关营养素的消化吸收。

3.3 可消化淀粉水平对鱼体组成和肝功能的影响

随着饲料中可消化淀粉水平的升高,全鱼、肌肉和内脏的蛋白质含量降低,脂肪含量在可消化淀粉上升至8.71%时达到最高,之后反而降低(表4)。对南方鲈^[35]和花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[36]的研究也发现,随着饲料中淀粉的增加,全鱼和肌肉的脂肪含量达到较高的水平后又逐渐降低。这一现象可能与肉食性鱼类对糖的利用较差及高糖引起的摄食率显著下降有关。有研究指出,尽管鱼类能够利用饲料中一定的碳水化合物并转变为鱼体脂肪,但这种转变作用十分有限^[1,37]。对虹鳟^[4]、塞内加尔鲷(*Solea senegalensis* Kaup)^[38]和星突江鲮(*Platichthys stellatus*)^[39]的研究均发现,对鱼体蛋白质及脂肪含量产生影响的因素中,饲料的蛋白质或脂肪含量占主导地位,而饲料碳水化合物产生的影响较小。本研究也发现,随着饲料中可消化淀粉水平的增加,能量水平逐渐升高,引起高淀粉组(高能量)的摄食率显著降低(表2),从而导致实验鱼对饲料蛋白质和脂肪的绝对摄入量减少,同时实验鱼利用碳水化合物转变为体脂肪的能力和对蛋白质的节约作用又有限,从而导致了高淀粉组鱼体的脂肪及蛋白质含量降低。

随着饲料中可消化淀粉的增加,实验鱼的肝体比和脏体比显著升高(表5)。这与花鲈^[36]和尖吻鲈(*Lates calcarifer*)^[40]的研究结果一致。对肝脏的组成分析显示,蛋白质含量和脂肪含量表现出与体组成相似的变化趋势,而肝糖原含量却显著升高(表5),这如同谭肖英等^[14]对大口黑鲈的研究结果。肝糖原的过多沉积以致肝细胞出现肿大或空泡化,引起肝细胞产生病理性变化和肝脏的代谢功能失常^[3]。血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性在一定程度上是反映肝功能受损的特异性指标^[9]。本研究中,血清谷丙转氨酶和谷草

转氨酶活性均随饲料中可消化淀粉水平的增加而升高。同样,对翘嘴红鲌 (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker) 的研究也显示,摄食碳水化合物 27% 和 34% 组的血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性显著高于 0%、14% 和 21% 组^[9]。由此可见,高水平可消化淀粉饲料会加重大口黑鲈肝脏的代谢负担,损伤其肝功能。

3.4 可消化淀粉水平对餐后血糖水平和鱼体健康的影响

可消化淀粉含量不高于 11.96% 时,大口黑鲈的血糖浓度在餐后 3 h 达到最高,至 12 h 时基本恢复到基础水平;但可消化淀粉含量达到 15.11% 以上时,餐后血糖浓度持续升高,在 12 h 达到峰值,呈现出持续的高血糖(表 6)。林小植等^[41]对南方鲇的研究也显示,摄食高淀粉含量的饲料后,血糖浓度在 12 h 达到峰值,淀粉含量越高,高血糖持续的时间越长。另外,对大西洋鲑^[42] (*Gadus morhua*) 和大西洋鲑^[43] 的研究也显示,实验鱼摄食较低淀粉含量的饲料后更能有效地调节血糖浓度恢复到基础水平。本研究对大口黑鲈血糖的观测结果与上述对其他肉食性鱼类的研究结果相吻合,其共性为对血糖的调节能力较差。而长期的高血糖又会损害鱼体的健康,甚至引起死亡率的升高^[3]。

本研究发现,养殖实验的前期阶段各组实验鱼摄食活跃,无死亡发生,但后期高淀粉组的摄食率和成活率显著降低,生长缓慢。养殖实验结束后对相关免疫指标的测定发现,可消化淀粉高于 8.71% 时,实验鱼血清蛋白质含量和血清补体活性显著降低;可消化淀粉超过 11.96% 时,血清溶菌酶活性和头肾白细胞呼吸爆发活性也显著下降。由此可推测,饲料中过高的可消化淀粉引起的持续性营养代谢应激(如持续的高血糖和肝糖原过量沉积)可能为主因,继发的免疫指标下降可能为辅因,最终导致了实验鱼的死亡。这一现象在对其他鱼类的研究中也被发现。翘嘴红鲌^[9]和南方鲇^[44]摄食淀粉水平升高的饲料后,血清溶菌酶活性显著下降。饲料中淀粉水平的增加显著降低团头鲂^[45] (*Megalobrama amblycephala*) 血清补体 C3 和 C4 的活性。南亚野鲮 (*Labeo rohita*)^[46] 的血清蛋白质含量随着饲料淀粉水平的增加而显著降低。高淀粉饲料引起了卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*)^[8] 的血清溶菌酶活性、血清

补体活性、血清蛋白含量及其血液白细胞呼吸爆发活性的显著降低。另外,血液学指标也是反映鱼类正常生理状态的常用指标^[28]。本研究发现,随着饲料中可消化淀粉的增加,大口黑鲈的血红蛋白含量呈逐渐降低的趋势。这表明,过高的可消化淀粉可能引起了大口黑鲈一定程度的贫血。对大西洋鲑^[7] 的研究也发现,鱼体血红蛋白含量与饲料中碳水化合物水平呈负相关关系。因此,饲料中适宜的可消化淀粉对于维持鱼类健康和抵御疾病也同样具有重要意义。

4 结论

以实验鱼的特定生长率和蛋白质效率为指标,通过折线回归分析得出,大口黑鲈饲料中可消化淀粉的适宜水平分别为 9.22% 和 10.05%。以大口黑鲈的餐后血糖变化和非特异性免疫指标作评定,饲料中可消化淀粉水平应不高于 11.96%。本研究的结果可为配制经济和高效的大口黑鲈的实用饲料提供参考。

参考文献:

- [1] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(3): 175 - 194.
- [2] Wilson R. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J]. *Aquaculture*, 1994, 124(1-4): 67 - 80.
- [3] Amoah A, Coyle S D, Webster C D, et al. Effects of graded levels of carbohydrate on growth and survival of largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2008, 39(3): 397 - 405.
- [4] Suarez M D, Sanz A, Bazoco J, et al. Metabolic effects of changes in the dietary protein/carbohydrate ratio in eel (*Angilla anguilla*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture International*, 2002, 10(2): 143 - 156.
- [5] Gutiérrez J, Åsgård T, Fabbri E, et al. Insulin - receptor binding in skeletal muscle of trout [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1991, 9(4): 351 - 360.
- [6] Legate N J, Bonen A, Moon T W. Glucose tolerance and peripheral glucose utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), American eel (*Anguilla rostrata*), and black bullhead catfish (*Ameiurus melas*) [J]. *General and Comparative*

- Endocrinology, 2001, 122(1): 48 - 59.
- [7] Waagbø R, Glette J, Sandnes K, *et al.* Influence of dietary carbohydrate on blood chemistry, immunity and disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. Journal of Fish Diseases, 1994, 17(3): 245 - 258.
- [8] 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 immunology, 2014, 41 (2): 183 - 190.
- [9] Liu B, Xie J, Ge X P, *et al.* Effect of high dietary carbohydrate on growth, serum physiological response, and hepatic heat shock cognate protein 70 expression of the top - mouth culter *Erythroculter ilishaeformis* Bleeker [J]. Fisheries science, 2012, 78 (3): 613 - 623.
- [10] 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.
- [11] Zhou H Y, Chen N S, Qiu X J, *et al.* Arginine requirement and effect of arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(1): 107 - 116.
- [12] 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, 2007, 36(1): 129 - 134.
- [13] Cochran N J, Coyle S D, Tidwell J H. Evaluation of reduced fish meal diets for second year growout of the Largemouth Bass, *Micropterus salmoides* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2009, 40 (6): 735 - 743.
- [14] Tan X Y, Liu Y J, Tian L X, *et al.* The effects of dietary carbohydrate levels on the growth, nutrient composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2005, 44 (suppl. 1): 258 - 263. [谭肖英, 刘永坚, 田丽霞, 等. 饲料中淀粉水平对大口黑鲈 *Micropterus salmoides* 生长、鱼体营养成分组成的影响. 中山大学学报: 自然科学版, 2005, 44(增1): 258 - 263.]
- [15] Chen N S, Liang Q L, Xiao W W, *et al.* Effect of supplementing EAA to lower protein diets on growth, body composition and immunological index of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(2): 263 - 271. [陈乃松, 梁勤朗, 肖温温, 等. 在低蛋白质饲料中补充必需氨基酸对大口黑鲈生长、体组成和免疫指标的影响. 水生生物学报, 2014, 38(2): 263 - 271.]
- [16] Lee S M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. Aquaculture, 2002, 207(1): 79 - 95.
- [17] Lee C, Trevino B, Chaiyawat M, *et al.* A simple and rapid solvent extraction method for determining total lipids in fish tissue [J]. Journal of AOAC international, 1996, 79(2): 487 - 492.
- [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] McCleary B V, McNally M, Rossiter P. Measurement of resistant starch by enzymatic digestion in starch and selected plant materials: collaborative study [J]. Journal of AOAC International, 2002, 85 (5): 1103 - 1111.
- [20] Srivastava S, Pathak P H. Garlic (*Allium sativum*) extract supplementation alters the glycogen deposition in liver and protein metabolism in gonads of female albino rats [J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2012, 4 (2): 126 - 129.
- [21] Sitjà - Bobadilla A, Mingarro M, Pujalte M J, *et al.* Immunological and pathological status of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L) under different long - term feeding regimes [J]. Aquaculture, 2003, 220 (1): 707 - 724.
- [22] Doumas B T, Bayse D D, Carter R J, *et al.* A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation [J]. Clinical Chemistry, 1981, 27(10): 1642 - 1650.
- [23] 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.
- [24] Chen N S, Xiao W W, Liang Q L, *et al.* Effects of dietary lipid to protein ratios on growth performance body composition and non - specific immunity of largemouth (*Micropterus salmoides*) [J]. Journal of

- Fisheries of China, 2012, 36(8):1270-1280. [陈乃松,肖温温,梁勤朗,等. 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. 水产学报, 2012, 36(8):1270-1280.]
- [25] Ai Q H, Mai K S, 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.
- [26] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2):248-254.
- [27] Arnold J E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs [J]. Veterinary Clinical Pathology, 2005, 34(2):115-123.
- [28] Sandnes K, Lie Ø, Waagbø R. Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. Journal of Fish Biology, 1988, 32(1):129-136.
- [29] Spannhof L, Plantikow H. Studies on carbohydrate digestion in rainbow trout [J]. Aquaculture, 1983, 30(1-4):95-108.
- [30] Peres H, Oliva-Teles A. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles [J]. Aquaculture, 2002, 205(3):287-299.
- [31] Hemre G I, Sandnes K, Lie Ø, *et al.* Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: growth and feed utilization [J]. Aquaculture Research, 1995, 26(3):149-154.
- [32] Zeng L, Lei J L, Ai C X, *et al.* Protein-sparing effect of carbohydrate in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different salinities [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2015, 33(1):57-69.
- [33] Ren M C, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effect of dietary carbohydrate level on growth performance, body composition, apparent digestibility coefficient and digestive enzyme activities of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L [J]. Aquaculture Research, 2011, 42(10):1467-1475.
- [34] Brauge C, Medale F, Corraze G. Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in seawater [J]. Aquaculture, 1994, 123(1-2):109-120.
- [35] Fu S J, Xie X J. Effect of dietary carbohydrate levels on growth performance in *Silurus meridionalis* Chen [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(4):393-398. [付世建, 谢小军. 饲料碳水化合物水平对南方鲈生长的影响. 水生生物学报, 2005, 29(4):393-398.]
- [36] Dou B S, Liang M Q, Zheng K K, *et al.* Effects of dietary carbohydrate level on growth, physiology and body composition of Japanese sea bass *Lateolabrax japonicus* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(1):46-54. [窦兵帅, 梁萌青, 郑珂珂, 等. 饲料中碳水化合物水平对鲈鱼生长、生理状态参数及体组成的影响. 渔业科学进展, 2014, 35(1):46-54.]
- [37] Hemre G I, Kahrs F. 14C-glucose injection in Atlantic cod, *Gadus morhua*, metabolic responses and excretion via the gill membrane [J]. Aquaculture Nutrition, 1997, 3(1):3-8.
- [38] Dias J, Rueda-Jasso R, Panserat S, *et al.* Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, lipid deposition and metabolic hepatic enzymes in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup) [J]. Aquaculture Research, 2004, 35(12):1122-1130.
- [39] Lee S M, Lee J H. Effect of dietary glucose, dextrin and starch on growth and body composition of juvenile starry flounder *Platichthys stellatus* [J]. Fisheries Science, 2004, 70(1):53-58.
- [40] Catacutan M R, Coloso R M. Growth of juvenile Asian seabass (*Lates calcarifer*) fed varying carbohydrate and lipid levels [J]. Aquaculture, 1997, 149(1):137-144.
- [41] Lin X Z, Luo Y P, Xie X J. Effects of dietary carbohydrate level on glycolytic enzymes and serum glucose concentrations in the juvenile southern catfish after feeding [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(3):304-310. [林小植, 罗毅平, 谢小军. 饲料碳水化合物水平对南方鲈幼鱼餐后糖酵解酶活性及血糖浓度的影响. 水生生物学报, 2006, 30(3):304-310.]
- [42] Hemre G I, Lie Ø, Sundby A. Dietary carbohydrate utilization in cod (*Gadus morhua*): metabolic responses to feeding and fasting [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1993, 10(6):455-463.
- [43] Hemre G I, Sandnes K, Lie Ø. Blood chemistry and organ nutrient composition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed graded amounts of wheat starch [J].

- Aquaculture Nutrition, 1995, 1(1): 37–42.
- [44] Li Q, Xie X J, Luo Y P, *et al.* Effect of dietary starch level on immunity in the southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(4): 557–562. [李强, 谢小军, 罗毅平, 等. 饲料淀粉水平对南方鲇免疫的影响. 水生生物学学报, 2007, 31(4): 557–562.]
- [45] Ren M C, Jia W J, Ge X P, *et al.* Effects of dietary starch levels on growth performance, digestive enzyme activities and muscle composition of adult blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1494–1502. [任鸣春, 贾文锦, 戈贤平, 等. 饲料不同淀粉水平对团头鲂成鱼生长性能、消化酶活性及肌肉成分的影响. 水产学报, 2014, 38(9): 1494–1502.]
- [46] Alexander C, Sahu N P, Pal A K, *et al.* Haemato-immunological and stress responses of *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings: effect of rearing temperature and dietary gelatinized carbohydrate [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2011, 95(5): 653–663.

Effects of dietary digestible starch levels on growth performance, body composition, and non-specific immunological index of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

GOU Shipan, CHEN Naisong*, XU Xiangtai, LIU Zike, YIN Jia

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

Abstract: Six isonitrogenous and isolipidic diets with increasing digestible starch levels (5.93%, 8.71%, 11.96%, 15.11%, 18.16%, 21.74%) were formulated to determine suitable level of digestible starch in diets for largemouth bass (*Micropterus salmoides*), based on growth performance, body composition, serum glucose and non-specific immunological index. Each diet was randomly assigned to triplicate tanks, in each of which 35 fish with an average initial weight of (28.36 ± 0.10) g were stocked. Fish were fed to apparent satiation twice daily (8:00 and 16:00) for 48 days. At the end of feeding test, the lowest survival rate was showed with fish fed a diet containing 21.74% dietary digestible starch (DDS) ($P < 0.05$). Final body weight, specific growth rate and feed intake occurred to a significant declining tendency with DDS levels being higher than 8.71% ($P < 0.05$). Feed efficiency and protein efficiency ratio, however, were the highest with fish fed 11.96% DDS ($P < 0.05$). With an increasing DDS level, apparent digestibility coefficients (ADCs) of dietary lipid and starch were found to be lower ($P < 0.05$), but ADCs of dietary protein showed no significant differences ($P > 0.05$). Meanwhile, in the whole body, muscle, viscera and liver of test fish, protein concentrations significantly decreased, but lipid concentrations became the highest in fish fed the diet containing up to 8.71% DDS, and then declined ($P < 0.05$). With a DDS level increasing, hepatosomatic index, viscerosomatic index, liver glycogen content, activities of serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase significantly increased, but hemoglobin content gradually declined ($P < 0.05$). In fish fed diets containing higher than 11.96% DDS, serum glucose concentrations constantly increased from 3 to 12 h postprandial, and a continuous hyperglycaemia was observed. The highest serum protein content and complement activity (CH50) were found with fish fed the diet with 8.71% DDS ($P < 0.05$), whereas activities of serum lysozyme and respiratory burst of head kidney leukocytes occurred to fish fed the diet with 11.96% DDS ($P < 0.05$). Based on broken-line regression analysis of specific growth rate and protein efficiency ratio against DDS levels, the suitable inclusion levels of digestible starch in the diet for largemouth bass were 9.22% and 10.05%, respectively. It can be concluded from this study that largemouth bass have a limited ability to utilize DDS efficiently.

Key words: *Micropterus salmoides*; feed; digestible starch; growth performance; serum glucose; body composition; non-specific immunity

Corresponding author: Chen Naisong. E-mail: nschen@shou.edu.cn