



大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的需求量

宋博文^{1,2,3}, 杨航^{1,2,3}, 冷向军^{1,2,3}, 徐祺^{1,2,3}, 姚文祥^{1,2,3}, 李小勤^{1,2,3*}

(1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

2. 上海海洋大学, 农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海 201306;

3. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 为确定大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的需求量, 在含锰 5.2 mg/kg 的半精制饲料中分别添加 0、4、8、16、32 和 64 mg/kg 锰 (以 $MnSO_4 \cdot H_2O$ 形式), 制成 6 种不同锰水平的饲料 (5.2、9.6、13.5、20.7、38.3 和 67.9 mg/kg), 投喂初始体重 (16.00±0.07) g 的大口黑鲈幼鱼 10 周。结果显示, 在基础饲料中添加锰, 可显著提高大口黑鲈幼鱼的增重率, 降低饲料系数, 各组增重率与饲料系数在锰含量达到 13.5 mg/kg 后基本稳定。随饲料中锰含量的增加, 血清 T-SOD、Mn-SOD 活性和全鱼、脊椎骨中的锰含量上升, 并在饲料锰含量达到 20.7 mg/kg 后趋于稳定, 而血清丙二醛含量则表现为下降的趋势。全鱼铁、骨铁、骨锌和全鱼锰沉积率随饲料锰含量的增加而下降。研究表明, 在半精制饲料中补充锰可以促进大口黑鲈幼鱼生长、提高饲料利用率、血清抗氧化能力、全鱼和骨锰的沉积。以增重率、饲料系数、全鱼锰和骨锰为评价指标, 经折线回归分析, 大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的需求量分别为 18.3、20.5、21.1 和 23.4 mg/kg 干物质。

关键词: 大口黑鲈; 锰; 生长; 饲料利用; 矿物质沉积

中图分类号: S 963.73⁺⁴

文献标志码: A

锰是鱼类生长、发育、繁殖的必需微量元素, 在许多生理生化过程中起着至关重要的作用, 包括糖类、脂质和蛋白质代谢^[1]。锰也是许多酶, 如精氨酸酶、丙酮酸羧化酶和锰超氧化物歧化酶的组成部分或辅助因子, 如糖基转移酶^[2-3]。大量研究表明, 鱼类缺乏锰会导致存活率、增重率、摄食量、组织锰含量及免疫功能下降^[4-5], 严重缺锰会出现骨骼畸形、白内障等症状^[6-7]。饲料缺锰会导致黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)^[8]、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[9] 肝脏 Mn-SOD 的活性下降; 金头鲷 (*Sparus aurata*)^[10]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[11]、异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*)^[12]、黄颡鱼^[8] 的增重率降低; 异育银鲫^[12]、

黄颡鱼^[8]、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[4] 的饲料利用率下降; 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[7]、黄颡鱼^[8] 的躯体短小。目前, 一些鱼类对饲料锰的需求量已经被确定, 例如黄颡鱼为 5.5 mg/kg^[8]、军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 为 15.4 mg/kg^[13]、虹鳟为 4.8 mg/kg^[14]、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 为 16 mg/kg^[15]。以上结果表明, 不同鱼类对锰需求量存在较大的差异。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 又名加州鲈, 为太阳鱼科 (Centrarchidae) 黑鲈属 (*Micropterus*), 是近年来养殖发展十分迅速的鱼类。目前, 关于大口黑鲈营养需求量的研究已有一些报道, 如蛋白质^[16]、脂肪^[17]、氨基酸^[18] 及部分维生素^[19-21]

收稿日期: 2021-06-13 修回日期: 2021-09-10

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项 (2019YFD0900203)

第一作者: 宋博文 (照片), 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: 728675998@qq.com

通信作者: 李小勤, 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: xqli@shou.edu.cn



的需求, 而有关微量元素需求量的研究较少, 关于大口黑鲈对锰的需求量尚未见报道。鉴于锰在营养代谢中的重要性, 考虑到生产中多为添加无机锰, 故本研究以硫酸锰为锰源, 在半精制饲料中添加不同水平的锰, 考察饲料锰水平对大口黑鲈生长、饲料利用、血清抗氧化指标及不同微量元素组织沉积的影响, 以确定大口黑鲈对饲料中锰的需求量。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

本实验以酪蛋白、明胶、鱼粉、大豆浓缩蛋白和玉米蛋白粉为主要蛋白源, 以鱼油、豆油、磷脂油为主要脂肪源, 制作半精制基础饲料, 以硫酸锰 ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 含 Mn 31.5%, 分析纯, 上

海源耀生物股份有限公司) 为锰源, 在基础饲料中分别添加 0、4、8、16、32 和 64 mg/kg 锰, 配制 6 种等氮等能实验饲料, 测其锰含量 (以干物质计算) 分别为 5.2、9.6、13.5、20.7、38.3 和 67.9 mg/kg (分别命名为 Mn-5、Mn-10、Mn-14、Mn-21、Mn-38 和 Mn-68) (表 1)。

各主要原料经粉碎过 60 目筛后, 按配方比例准确称量并逐级混匀, 用单螺杆挤压机 (SLP-45, 中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所) 将混匀后的饲料制成直径为 2 mm 的沉性颗粒饲料 [制粒温度 (85 ± 5) °C], 通风阴凉处晾干后, 于 4 °C 冰箱中保存备用。各饲料配方组成和常规成分见表 1。

1.2 实验鱼和饲养管理

实验所用大口黑鲈采购于浙江湖州某养殖场, 养殖实验在上海海洋大学滨海基地进行, 养殖模

表 1 饲料组成及营养水平 (风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of diets (air-dry basis)

项目 items	Mn-5	Mn-10	Mn-14	Mn-21	Mn-38	Mn-68
原料 ingredients						
酪蛋白/(g/kg) casein	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0
明胶/(g/kg) gelatin	45.0	45.0	45.0	45.0	45.0	45.0
鱼粉/(g/kg) fish meal	190.0	190.0	190.0	190.0	190.0	190.0
大豆浓缩蛋白/(g/kg) soybean protein concentrate	130.0	130.0	130.0	130.0	130.0	130.0
糊精/(g/kg) dextrin	110.0	110.0	110.0	110.0	110.0	110.0
α -淀粉/(g/kg) α -starch	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
玉米蛋白/(g/kg) corn gluten meal	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
酵母膏/(g/kg) yeast extract	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
鱼油/(g/kg) fish oil	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0
豆油/(g/kg) soybean oil	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
大豆磷脂/(g/kg) soybean phospholipid	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
微晶纤维素/(g/kg) microcrystalline cellulose	30.0	30.0	30.0	29.9	29.9	29.8
磷酸二氢钙/(g/kg) $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
多维/(g/kg) vitamin premix ¹⁾	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
多矿/(g/kg) mineral premix ²⁾	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
硫酸锰/(mg/kg) $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.0	12.7	25.4	50.8	101.6	203.2
合计 total	1 000.0	1 000.0	1 000.0	1 000.0	1 000.0	1 000.0
营养组成 nutrient composition						
粗蛋白质/(g/kg) crude protein	502.5	504.5	503.9	502.7	504.7	503.5
粗脂肪/(g/kg) crude lipid	120.1	120.2	121.0	122.1	122.0	122.0
灰分/(g/kg) ash	63.9	63.5	63.8	62.8	63.8	64.2
水分/(g/kg) moisture	85.5	83.5	84.5	86.1	85.8	86.8
锰(干物质)/(mg/kg) Mn (dry matter)	5.2	9.6	13.5	20.7	38.3	67.9

注: 1) 维生素预混料(每千克), 维生素A 10 000 IU, 维生素D₃ 3 000 IU, 维生素E 150 IU, 维生素K₃ 12.17 mg, 维生素B₁ 20 mg, 维生素B₂ 20 mg, 维生素B₃ 100 mg, 维生素B₆ 22 mg, 维生素B₁₂ 0.15 mg, 维生素C 1 000 mg, 生物素 0.6 mg, 叶酸 8 mg, 肌醇 500 mg。2) 矿物质预混料(mg/kg)(不含锰), 铜 5.25, 锌 35, 铁 120, 镁 15, 碘 0.6, 硒 0.53, 钴 0.45。

Notes: 1) vitamin premix (per kg), vitamin A 10 000 IU, vitamin D₃ 3 000 IU, vitamin E 150 IU, vitamin K₃ 12.17 mg, vitamin B₁ 20 mg, vitamin B₂ 20 mg, vitamin B₃ 100 mg, vitamin B₆ 22 mg, vitamin B₁₂ 0.15 mg, vitamin C 1 000 mg, biotin 0.6 mg, folic acid 8 mg, inositol 500 mg. 2) mineral premix (mg/kg) (without manganese), copper 5.25, zinc 35, iron 120, magnesium 150, iodine 0.6, selenium 0.53, cobalt 0.45.

式为室内网箱养殖, 实验为期 10 周。正式实验前先用基础饲料驯化 4 周, 取 18 个网箱(网箱规格 1.2 m×1.5 m×1.2 m), 放置于 3 个室内水泥池(5.0 m×3.0 m×1.2 m) 中。挑选 450 尾体质健壮、规格均匀、平均初始体重为 (16.00±0.07) g 的大口黑鲈幼鱼, 随机分组至 18 个网箱中, 每个网箱放 25 尾鱼, 实验共 6 个处理, 每个处理设 3 个重复。每天投喂饲料 2 次(8:00、16:00), 达到饱食状态。实验期间, 每 5 日吸污换水 1 次, 水源为过滤后的池塘水, 水体溶解氧>5 mg/L, 水温 26~30 °C, pH 7.2~7.9, 氨氮含量<0.2 mg/L, 亚硝酸盐含量<0.1 mg/L, 锰含量<10 µg/L。

1.3 样品采集

实验开始前, 取 10 尾鱼作为初始样本。在养殖实验结束后停止投喂 24 h, 对每个网箱中的鱼称重, 统计尾数和采食量, 计算成活率、增重率和饲料系数。每个网箱随机取 2 尾鱼用于全鱼常规成分与微量元素含量的测定。每个网箱再随机取 4 尾鱼进行体长、体质量的测定, 于尾静脉处采血, 静置过夜后, 血液样本离心 10 min (3 000 r/min), 取血清于-80 °C 冰箱保存, 然后对鱼进行解剖, 对肌肉、内脏团和肝脏进行称量采集, 解剖后的鱼体用微波加热的方式分离脊椎骨, 洗净、烘干、装袋, -20 °C 保存。实验过程中操作人员严格遵守实验动物相关伦理规范。

1.4 常规成分分析

对原料、饲料及鱼体进行常规成分测定。采用 105 °C 常压干燥法测定水分含量, 通过凯氏定氮仪测定粗蛋白质含量, 通过氯仿-甲醇抽提法测定粗脂肪含量, 通过 550 °C 马弗炉高温灼烧法测定灰分含量。

1.5 血清抗氧化指标

血清总超氧化物歧化酶(T-SOD)、锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化酶法。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性测定采用 BioTek 法。丙二醛(MDA)含量测定采用 TBA 法。过氧化氢酶(CAT)活性测定采用钼酸铵法。试剂盒均由上海哈灵生物有限公司提供。

1.6 微量元素含量测定

饲料、全鱼和脊椎骨的微量元素铁、铜、锰、锌含量测定采用电感耦合等离子体发射光谱法^[22]。称取样品 0.2 g 于微波消解罐中, 加入 10 mL 硝酸,

加盖放置 1 h, 旋紧罐盖, 放入微波消解仪变温加热消解 8 h 35 min。冷却后取出, 缓慢打开罐盖排气, 用少量水冲洗内盖, 将消解罐放在超声水浴箱中超声脱气 5 min, 用水定容至 50 mL。将定容后的样品溶液注入电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-MS, 美国赛默飞世尔科技公司)测定, 以元素的特征谱线波长定性, 待测元素谱线信号强度与元素浓度呈正比时进行定量分析。

1.7 计算公式及统计方法

成活率 (survival rate, SR, %) = $N_t/N_0 \times 100\%$

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

饲料系数 (feed conversion ratio, FCR) = $W_f / (W_t - W_0)$

肝体比 (hepatosomatic index, HSI, %) = $W_h / W \times 100\%$

脏体比 (viscerosomatic index, VSI, %) = W_v / W

肥满度 (condition factor, CF, g/cm³) = $W/L^3 \times 100$

矿物质沉积率 (mineral retention rate, MR, %) = $(W_t \times W_{tm} - W_0 \times W_{0m}) / (W_f \times W_{fm}) \times 100\%$

蛋白质效率比 (protein efficiency ratio, PER) = $(W_t - W_0) / (W_f \times W_{fp})$

蛋白质沉积率 (protein retention rate, PRR, %) = $(W_t \times W_{tp} - W_0 \times W_{0p}) / (W_f \times W_{fp}) \times 100\%$

式中, N_t 为终末尾数, N_0 为初始尾数, W_t 为终末体重 (g), W_0 为初始体重 (g), W_f 为摄入饲料量 (g), W_h 为鱼肝脏重量 (g), W_v 为鱼内脏重量 (g), W 为鱼体重 (g), L 为鱼体长 (cm), W_{tm} 为终末全鱼矿物质含量 (mg/kg), W_{0m} 为初始全鱼矿物质含量 (mg/kg), W_{fm} 为饲料矿物质含量 (mg/kg), W_{fp} 为饲料蛋白质含量 (g/kg), W_{tp} 为终末全鱼蛋白质含量 (g/kg), W_{0p} 为初始全鱼蛋白质含量 (g/kg)。

数据均以平均值±标准差 (mean±SD) 表示, 采用 SPSS 24.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 并用 Duncan 氏法进行多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著。采用折线模型对饲料锰含量与大口黑鲈增重率、饲料系数、全鱼锰和骨锰之间的关系进行回归分析。

2 结果

2.1 生长性能和形态学指标

各组间的 SR、CF、VSI 和 HSI 均无显著差异 ($P > 0.05$) (表 2)。随着饲料中锰含量的增加, 大

口黑鲈的 WGR 呈上升后平稳的趋势, FCR 呈下降后平稳的趋势。WGR 与 FCR 均在饲料锰含量达到 13.5 mg/kg (Mn-14 组) 后基本趋于稳定。以

WGR 与 FCR 为指标, 基于折线模型确定的大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的最适需求量分别为 18.3 mg/kg (图 1) 和 20.5 mg/kg (图 2)。

表 2 锰水平对大口黑鲈生长的影响

Tab. 2 Effect of dietary Mn level on growth performance of *M. salmoides*

项目 items	Mn-5	Mn-10	Mn-14	Mn-21	Mn-38	Mn-68
初始平均体重/g IBW	16.03±0.09	15.97±0.05	15.99±0.12	16.01±0.12	15.97±0.17	16.03±0.09
终末平均体重/g FBW	61.40±1.30 ^b	61.90±2.00 ^b	65.00±0.70 ^a	68.10±1.90 ^a	66.70±2.10 ^a	65.80±1.30 ^a
成活率/% SR	85.30±4.60	86.70±2.30	90.70±6.10	92.00±4.00	92.00±6.90	94.70±9.20
增重率/% WGR	283.50±8.10 ^b	287.10±12.80 ^b	306.40±4.20 ^{ab}	325.60±11.90 ^a	317.10±13.20 ^a	311.20±8.40 ^a
饲料系数 FCR	1.07±0.07 ^a	1.03±0.02 ^a	0.98±0.06 ^{ab}	0.92±0.02 ^b	0.92±0.07 ^b	0.91±0.07 ^b
肥满度/(g/cm ³) CF	2.01±0.07	2.05±0.13	2.12±0.16	2.12±0.11	2.15±0.17	2.11±0.16
脏体比/% VSI	8.59±1.04	7.81±1.61	8.22±0.75	7.77±1.15	7.60±1.30	7.61±1.23
肝体比/% HSI	2.41±0.90	2.12±1.48	2.18±0.85	3.29±0.90	2.07±1.04	1.82±1.18

注: 同一行上标字母不同表示差异显著(P<0.05), 下同。

Notes: different superscript letters in the same row indicate significant differences (P<0.05), the same below.

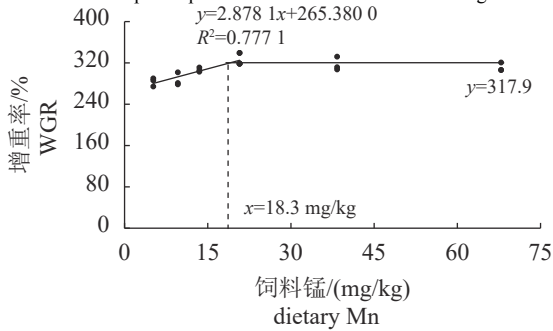


图 1 大口黑鲈增重率与饲料锰水平的关系

Fig. 1 Relationship between weight gain rate and dietary Mn level of *M. salmoides*

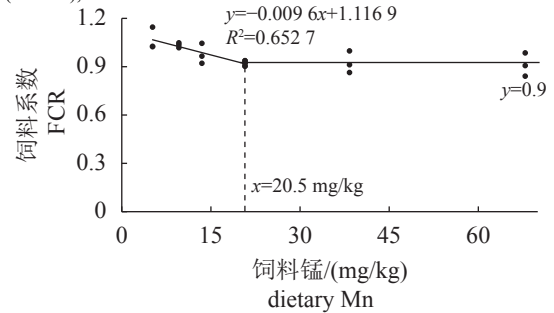


图 2 大口黑鲈饲料系数与饲料锰水平的关系

Fig. 2 Relationship between feed conversion ratio and dietary Mn level of *M. salmoides*

2.2 全鱼组成

饲料中补充锰对全鱼的水分、粗蛋白质、灰分和粗脂肪含量均无显著影响 (P>0.05) (表 3); 全鱼蛋白质效率比、蛋白质沉积率显著增加 (P<0.05), 当饲料锰含量达 13.5 mg/kg 后, 全鱼蛋白质效率比、蛋白质沉积率保持稳定。

2.3 血清抗氧化指标

血清 T-SOD 活性与 Mn-SOD 活性随着饲料锰含量的增加而增强, 当饲料锰含量达到 20.7 mg/kg 时, 上述指标均不再显著变化 (P>0.05) (表 4)。血清 MDA 含量则随着饲料锰含量增加而显著下降 (P>0.05), 当饲料锰含量达到 13.5 mg/kg 时, 血清 MDA 含量保持基本稳定。各组血清 GSH-Px 活

表 3 饲料锰水平对大口黑鲈体组成的影响 (湿重)

Tab. 3 Effects of dietary Mn on whole body composition of *M. salmoides* (wet weight)

项目 items	Mn-5	Mn-10	Mn-14	Mn-21	Mn-38	Mn-68
水分/% moisture	74.80±0.50	74.90±0.80	75.00±0.90	74.70±0.40	74.30±0.70	75.10±0.90
粗蛋白质/% crude protein	15.90±0.20	15.70±0.60	15.80±0.30	15.50±0.20	15.80±0.30	15.60±0.20
灰分/% ash	3.68±0.23	3.74±0.23	3.61±0.14	3.71±0.32	3.93±0.05	3.52±0.16
粗脂肪/% crude lipid	3.22±0.02	3.23±0.12	3.33±0.11	3.31±0.10	3.42±0.15	3.31±0.15
蛋白质效率比 PER	1.85±0.01 ^b	1.82±0.05 ^b	1.97±0.17 ^{ab}	2.10±0.06 ^{ab}	2.21±0.09 ^a	2.15±0.24 ^a
蛋白质沉积率/% PRR	27.60±2.40 ^b	28.20±1.40 ^b	31.90±1.00 ^{ab}	31.90±0.70 ^{ab}	32.80±2.60 ^a	33.10±3.20 ^a

表 4 饲料锰水平对大口黑鲈血清抗氧化指标的影响

Tab. 4 Effects of dietary Mn on serum antioxidant indexes of *M. salmoides*

项目 items		Mn-5	Mn-10	Mn-14	Mn-21	Mn-38	Mn-68
总超氧化物歧化酶/(U/mL)	T-SOD	126.3±2.7 ^c	132.3±3.6 ^{bc}	137.9±5.5 ^{ab}	143.8±3.8 ^a	144.0±2.3 ^a	143.6±4.7 ^a
锰超氧化物歧化酶/(U/mL)	Mn-SOD	39.3±4.3 ^c	46.8±4.6 ^b	52.7±3.3 ^b	57.9±4.7 ^a	65.4±4.6 ^a	65.2±3.4 ^a
丙二醛/(nmol/mL)	MDA	9.4±0.5 ^a	8.6±0.3 ^a	7.5±0.3 ^b	7.3±0.4 ^b	6.8±0.9 ^b	6.7±0.5 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/L)	GSH-Px	107 4.8±32.5	106 9.9±67.3	103 7.4±44.3	106 6.7±90.6	102 1.1±17.1	102 7.6±29.8
过氧化氢酶/(U/mL)	CAT	5.6±0.3	5.8±0.2	6.0±0.1	5.7±0.4	5.9±0.1	5.8±0.3

性与 CAT 活性无显著差异 ($P>0.05$)。

2.4 组织微量元素含量

随着饲料中锰含量的增加, 大口黑鲈全鱼与脊椎骨中的锰含量上升, 当饲料锰含量达到 20.7 mg/kg 后, 全鱼与脊椎骨中锰含量趋于稳定, 而全鱼锰沉积率表现为下降趋势 (表 5)。全鱼铁、骨

铁、骨锌和全鱼锰沉积率则随着饲料锰含量的增加而下降。全鱼铜、骨铜、全鱼锌以及铁、铜、锌在全鱼中的沉积率在各组间无显著差异 ($P>0.05$)。以全鱼锰和骨锰为指标, 基于折线模型确定的大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的最适需求量分别为 21.1 mg/kg (图 3) 和 23.4 mg/kg (图 4)。

表 5 饲料锰水平对大口黑鲈全鱼和脊椎骨微量元素含量的影响 (干重)

Tab. 5 Effects of dietary Mn on trace minerals contents in whole body and vertebra of *M. salmoides* (dry basis)

项目 items		Mn-5	Mn-10	Mn-14	Mn-21	Mn-38	Mn-68
全鱼 whole fish							
锰/(mg/kg)	Mn	7.3±0.3 ^d	8.9±0.3 ^c	10.2±0.2 ^b	11.6±0.4 ^a	11.6±0.1 ^a	12.4±0.9 ^a
铁/(mg/kg)	Fe	75.8±1.0 ^a	70.0±4.2 ^b	68.9±0.8 ^{bc}	67.4±3.7 ^{bc}	68.3±2.9 ^{bc}	64.1±2.3 ^c
铜/(mg/kg)	Cu	4.6±0.1	4.1±0.8	3.8±0.5	4.2±0.8	3.9±0.5	4.5±0.3
锌/(mg/kg)	Zn	32.6±0.1	31.3±1.6	29.8±0.4	30.2±2.3	29.7±1.0	27.4±1.0
锰沉积率/%	Mn retention	90.2±0.7 ^a	73.7±4.7 ^b	69.0±2.5 ^c	57.5±2.3 ^d	31.0±2.6 ^e	19.8±3.8 ^f
铁沉积率/%	Fe retention	26.3±1.4	24.2±1.7	25.2±1.8	25.9±1.9	26.4±3.5	24.6±3.7
铜沉积率/%	Cu retention	39.0±4.5	31.6±13.8	30.4±8.5	40.7±14.1	34.5±12.3	45.2±4.7
锌沉积率/%	Zn retention	58.2±4.7	57.7±2.4	57.2±3.4	61.5±5.3	62.4±3.8	56.6±0.6
脊椎骨 vertebra							
锰/(mg/kg)	Mn	31.4±1.6 ^b	31.5±1.8 ^b	33.8±1.3 ^b	38.7±1.7 ^a	38.2±2.8 ^a	41.3±3.7 ^a
铁/(mg/kg)	Fe	134.1±2.3 ^{ab}	136.5±3.9 ^{ab}	139.7±3.5 ^a	134.0±5.9 ^{ab}	131.0±4.7 ^b	119.6±2.8 ^c
铜/(mg/kg)	Cu	8.5±1.1	8.2±0.3	8.2±0.3	7.9±0.8	8.7±0.9	7.1±1.3
锌/(mg/kg)	Zn	60.9±2.4 ^a	59.1±3.6 ^a	56.9±4.9 ^a	54.3±3.4 ^{ab}	49.0±4.1 ^{bc}	46.7±3.6 ^c

3 讨论

3.1 饲料锰对大口黑鲈生长性能的影响

在本实验中, 基础饲料中添加适量的锰, 可显著提高大口黑鲈幼鱼的增重率, 降低饲料系数, 增重率和饲料系数均在饲料锰水平 13.5~67.9 mg/kg 的范围内保持稳定。以增重率与饲料系数为指标, 经折线回归分析, 大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的最适需求量分别为 18.3 和 20.5 mg/kg。本

研究确定的大口黑鲈幼鱼锰需求量低于皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*)^[23] (28.9 mg/kg), 与斜带石斑鱼^[24] (21.2 mg/kg) 相当, 高于黄颡鱼^[8] (5.5 mg/kg)、军曹鱼^[13] (15.4 mg/kg)、虹鳟^[14] (4.8 mg/kg) 和尼罗罗非鱼^[9] (7 mg/kg)。

在本实验中, 基础饲料含锰 5.2 mg/kg, 该组除生长性能较低外, 成活率、肥满度、脏体比和肝体比或体组成 (水分、粗蛋白质、灰分和粗脂肪含量) 与锰添加组均无显著差异, 也没有发现典型

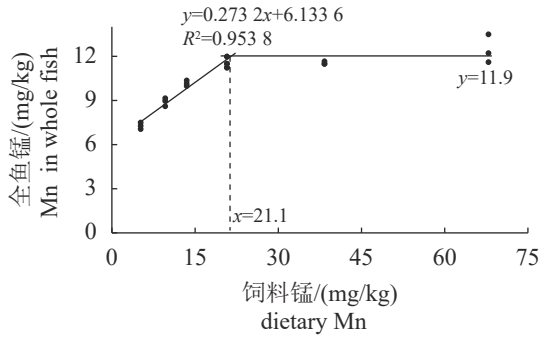


图3 大口黑鲈全鱼锰含量与饲料锰含量的关系

Fig. 3 Relationship between whole fish Mn content of *M. salmoides* and dietary Mn level

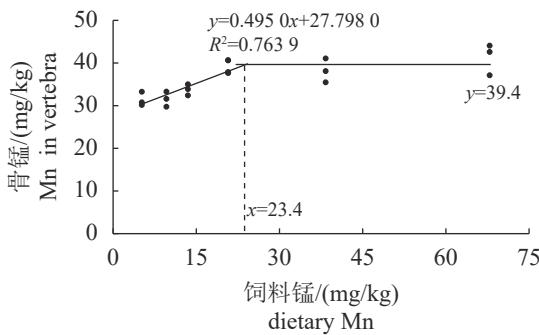


图4 大口黑鲈骨锰含量与饲料锰含量的关系

Fig. 4 Relationship between vertebra Mn content of *M. salmoides* and dietary Mn level

的锰缺乏症, 如白内障、高死亡率和短躯症等症状。这可能是因为基础饲料中的锰含量(含锰 5.2 mg/kg)已能有效防止锰缺乏症, 但尚不足以支持最大生长。

3.2 饲料锰对大口黑鲈血清抗氧化指标的影响

锰作为多种酶必需的组成部分和激活剂, 对维持鱼类健康有着不可或缺的作用。近年来一些研究证实, 在饲料中适量添加锰元素, 有助于提高鱼类的免疫力和抗氧化能力。GSH-Px、CAT和SOD作为生物中重要的抗氧化金属酶, 通过消除活性氧以达到抗氧化作用^[25-26]。在本实验中, 各实验组间血清GSH-Px和CAT无显著差异, 对照组(含锰 5.2 mg/kg)的大口黑鲈血清T-SOD与Mn-SOD活性较低, 补充锰元素可显著提高T-SOD与Mn-SOD活性, 该结果与在黄颡鱼^[8]、虹鳟^[14]、尼罗罗非鱼^[9]和大黄鱼^[15]中的结果一致。在本实验中, 当饲料锰含量高于 20.7 mg/kg 后, 血清中T-SOD与Mn-SOD活性趋于稳定。表明基础饲料中的锰(5.2 mg/kg)无法满足大口黑鲈的锰需求,

饲料中补充锰是必要的。

MDA是脂质氧化受损过程中的产物, 是一种可用于反映脂质氧化程度的指标^[13]。在大黄鱼^[15]的研究中, 血清MDA含量随着锰添加量的增加而减少, 在斜带石斑鱼^[24]中也有相同的结果。在本实验中, 随着饲料锰含量的增加, 血清MDA含量呈下降趋势, 当饲料锰含量达到 14 mg/kg 时, 血清MDA含量保持基本稳定。

3.3 饲料锰对大口黑鲈各组织中微量元素含量的影响

全鱼和脊椎骨中的矿物质含量也可作为评估鱼类矿物质营养状况^[27-28]的指标。在本实验中, 全鱼和脊椎骨中的锰含量随着饲料中锰含量的增加而上升, 当饲料锰含量达到 20.7 mg/kg 之后, 全鱼锰和骨锰含量基本稳定, 该结果与军曹鱼^[13]、大黄鱼^[15]、尼罗罗非鱼^[9]、草鱼^[11]、金头鲷^[10]和虹鳟^[14]等的研究结果一致。通过以上指标可以发现, 当饲料中锰含量达到一定水平后, 饲料锰含量的进一步增加对鱼类生长的促进作用不再显著, 全鱼锰沉积率则表现为下降的趋势, 表明鱼类对饲料锰的吸收利用是有限度的。

鱼类机体内化学性质相似的微量元素存在竞争关系, 当平衡被破坏时, 可能会危及鱼类的健康^[29]。当饲料中锰含量较高时, 会引起大西洋鲑(*Salmo salar*)^[30]全鱼锌含量显著降低。黄颡鱼^[8]则表现为全鱼钙、磷、铁含量显著降低。高锰含量的饲料也引起了军曹鱼^[13]骨锌、肝铁、肝铜含量的显著降低。本实验中大口黑鲈全鱼铁、骨铁、骨锌含量随着饲料锰含量的增加而显著降低, 与上述结果一致。

此外, 本实验中, 当饲料中锰含量达 67.9 mg/kg 时, 未对大口黑鲈生长产生负面影响。在Dominguez等^[10]研究中, 饲料中锰含量从 19 mg/kg 增加至 66 mg/kg, 未影响金头鲷的生长与饲料利用率。而在Ye等^[4]的研究中, 即使饲料中锰添加量高达 1 000 mg/kg, 斜带石斑鱼仍能正常生长。这可能是因为动物可以通过控制肠道吸收和内源性排泄来维持机体的微量元素平衡, 以避免饲料微量元素的高添加量可能带来的危害^[31]。本实验中, 在高锰饲料组, 全鱼锰保留率降低, 而全鱼铁、铜、锌保留率并未受到显著影响, 也可以说明鱼类能调节对微量元素的吸收和代谢以保证自身需求和生理稳定性。

4 结论

在本实验条件下, 在含锰 5.2 mg/kg 的半精制饲料中补充硫酸锰, 可促进大口黑鲈幼鱼生长、降低饲料系数, 提高血清抗氧化能力与全鱼锰、骨锰的积累, 但饲料中锰含量较高时会导致全鱼铁、骨铁、骨锌积累量的降低。以增重率、饲料系数、全鱼锰和骨锰为指标, 基于折线模型确定大口黑鲈幼鱼对饲料中锰的需求量分别为 18.3、20.5、21.1 和 23.4 mg/kg 干物质。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Lall S P. Fish nutrition: the minerals[M]. New York: Academic Press, 2003: 259-308.
- [2] Liu K, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Dietary manganese requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, 19(4): 461-467.
- [3] Andreini C, Bertini I, Cavallaro G, *et al.* Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles[J]. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2008, 13(8): 1205-1218.
- [4] Ye C X, Tian L X, Yang H J, *et al.* Growth performance and tissue mineral content of juvenile grouper (*Epinephelus coioides*) fed diets supplemented with various levels of manganese[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2009, 15(6): 608-614.
- [5] National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp[M]. Washington DC: National Academy Press, 2011: 601-602.
- [6] Satoh S, Yamamoto H, Takeuchi T, *et al.* Effects on growth and mineral composition of rainbow trout of deletion of trace elements or magnesium from fish meal diet[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1983, 49(3): 425-429.
- [7] Ogino C, Yang G Y. Requirements of carp and rainbow trout for dietary manganese and copper[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1980, 46(4): 455-458.
- [8] Tan X Y, Xie P, Luo Z, *et al.* Dietary manganese requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and effects on whole body mineral composition and hepatic intermediary metabolism[J]. *Aquaculture*, 2012, 326-329: 68-73.
- [9] Lin Y H, Lin S M, Shiau S Y. Dietary manganese requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*[J]. *Aquaculture*, 2008, 284(1-4): 207-210.
- [10] Dominguez D, Sehnine Z, Castro P, *et al.* Dietary manganese levels for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fingerlings fed diets high in plant ingredients[J]. *Aquaculture*, 2020, 529: 735614.
- [11] Liang J J, Wang S, Han B, *et al.* Dietary manganese requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) based on growth and tissue manganese concentration[J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(12): 2991-2998.
- [12] Pan L, Zhu X M, Xie S Q, *et al.* Effects of dietary manganese on growth and tissue manganese concentrations of juvenile gibel carp, *Carassius auratus gibelio*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2008, 14(5): 459-463.
- [13] Nie J Q, Dong X H, Tan B P, *et al.* Effects of dietary manganese sources and levels on growth performance, relative manganese bioavailability, antioxidant activities and tissue mineral content of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* L.)[J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(5): 1402-1412.
- [14] Welker T L, Overturf K, Abernathy J, *et al.* Optimization of dietary manganese for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed a plant-based diet[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2018, 49(1): 71-82.
- [15] Zhang H L, Sun R J, Xu W, *et al.* Dietary manganese requirement of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* (Richardson, 1846)[J]. *Aquaculture*, 2016, 450: 74-79.
- [16] He M, Li X Q, Poolsawat L, *et al.* Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(4): 1058-1071.
- [17] Zhou Y L, Guo J L, Tang R J, *et al.* High dietary lipid level alters the growth, hepatic metabolism enzyme, and anti-oxidative capacity in juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(1): 125-134.
- [18] Zhou H, Chen N, Qiu X, *et al.* Arginine requirement and effect of arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(1): 107-116.

- [19] Yusuf A, Huang X X, Chen N S, *et al.* Growth and metabolic responses of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) to dietary vitamin C supplementation levels[J]. *Aquaculture*, 2021, 534: 736243.
- [20] Chen Y J, Yuan R M, Liu Y J, *et al.* Dietary vitamin C requirement and its effects on tissue antioxidant capacity of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture*, 2015, 435: 431-436.
- [21] Li S L, Lian X Y, Chen N S, *et al.* Effects of dietary vitamin E level on growth performance, feed utilization, antioxidant capacity and nonspecific immunity of largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(6): 1679-1688.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 5009.268-2016 食品安全国家标准 食品中多元素的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. GB 5009.268-2016 Determination of multi elements in national food safety standard[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017 (in Chinese).
- [23] 姚春风. 皱纹盘鲍糖和锰营养生理的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- Yao C F. Study on nutrition physiology of carbohydrate and manganese in abalone (*Haliotis discus hannai* Ino)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008 (in Chinese).
- [24] 聂家全, 董晓慧, 谭北平, 等. 锰源和锰水平对斜带石斑鱼幼鱼生长、抗氧化功能和矿物元素沉积的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2015, 30(2): 196-202.
- Nie J Q, Dong X H, Tan B P, *et al.* Effects of manganese sources and dietary manganese level on growth performance, antioxidative function and tissue mineral accumulation in grouper *Epinephelus coioides*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2015, 30(2): 196-202 (in Chinese).
- [25] Fattman C L, Schaefer L M, Oury T D. Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, 35(3): 236-256.
- [26] Spears J W, Weiss W P. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows[J]. *The Veterinary Journal*, 2008, 176(1): 70-76.
- [27] Gatlin D M, Wilson R P. Studies on the manganese requirement of fingerling channel catfish[J]. *Aquaculture*, 1984, 41(2): 85-92.
- [28] Satoh S, Takeuchi T, Watanabe T. Availability to carp of manganese in white fish meal and of various manganese compounds[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1987, 53(5): 825-832.
- [29] Sandström B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability[J]. *The British Journal of Nutrition*, 2001, 85(Suppl.2): S181-S185.
- [30] Prabhu P A J, Silva M S, Kröeckel S, *et al.* Effect of levels and sources of dietary manganese on growth and mineral composition of post-smolt Atlantic salmon fed low fish meal, plant-based ingredient diets[J]. *Aquaculture*, 2019, 512: 734287.
- [31] Malecki E A, Greger J L. Manganese protects against heart mitochondrial lipid peroxidation in rats fed high levels of polyunsaturated fatty acids[J]. *The Journal of Nutrition*, 1996, 126(1): 27-33.

Dietary requirement of Mn for juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

SONG Bowen^{1,2,3}, YANG Hang^{1,2,3}, LENG Xiangjun^{1,2,3}, XU Zhen^{1,2,3},
YAO Wenxiang^{1,2,3}, LI Xiaoqin^{1,2,3*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

2. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

3. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract: To determine the dietary manganese (Mn) requirement of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*, 0, 4, 8, 16, 32 and 64 mg/kg Mn were added as the form of $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ into the semi-purified diet containing 5.2 mg/kg Mn, to obtain six diets with graded Mn level of 5.2, 9.6, 13.5, 20.7, 38.3 and 67.9 mg/kg, respectively. *M. salmoides* with initial body weight of (16.00 ± 0.07) g were fed one of the six diets for 10 weeks. The results showed that adding Mn to the basal diet significantly increased the weight gain rate (WGR), and reduced feed conversion ratio (FCR) of *M. salmoides*, which tended to stabilize when dietary Mn reached 13.5 mg/kg. With the increase of dietary Mn, the serum activity of T-SOD and Mn-SOD, and Mn content in whole fish and vertebrae increased, and then kept relatively stable when dietary Mn reached 20.7 mg/kg, but the serum MDA content showed a decreasing trend. In addition, the iron content in whole body, iron and zinc contents in vertebra, and the Mn retention in whole body decreased with the increasing dietary Mn. In conclusion, the supplementation of Mn in semi-purified diet improved the weight gain and feed utilization, promoted serum antioxidant capacity and Mn retention in whole body and vertebra. Based on the WGR, FCR, Mn in whole body and vertebra, the broken-line analysis indicated that the dietary requirement of Mn for *M. salmoides* was 18.3, 20.5, 21.1 and 23.4 mg/kg dry matter, respectively.

Key words: *Micropterus salmoides*; Mn; growth; feed utilization; mineral retention

Corresponding author: LI Xiaoqin. E-mail: xqli@shou.edu.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China “Blue Granary Scientific and Technological Innovation” (2019YFD0900203)