

文章编号: 1674-7054(2015)01-0001-010

不同蛋白与脂肪日投喂水平对 斜带石斑鱼生长的影响

朱仙龙 吴小易 李伟峰 王 珺 陈国华

(海南大学 海洋学院 海南 海口 570228)

摘 要: 研究了不同蛋白(48%、43%、38%)与脂肪(12%、10%、8%)日投喂水平对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)生长、饲料利用、组织学及相关血液生化指标的影响。结果表明: 下午投喂不同蛋白含量或脂肪含量的饲料对斜带石斑鱼增重率、饲料效率、肥满度、肝体比和肠体比无显著影响。下午投喂高蛋白低脂肪(HP-LL)饲料的实验鱼的蛋白质效率 $(1.39 \pm 0.23)\%$ 显著低于低蛋白高脂肪饲料(LP-HL)组 $(1.81 \pm 0.30)\%$; HP-LL饲料组全鱼的脂肪含量 $(59.6 \pm 4.6) \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 显著低于其他各实验组; 投喂高蛋白中脂肪(HP-ML)饲料组全鱼的蛋白 $(170.9 \pm 1.5) \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及肌肉蛋白 $(215.9 \pm 3.9) \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 含量显著高于其他实验组; HP-LL饲料组斜带石斑鱼血液的谷丙转氨酶、白蛋白、总蛋白水平显著低于投喂高蛋白高脂肪(HP-HL)组和HP-ML饲料组; HP-LL组实验鱼肝脏葡萄糖六磷酸脱氢酶活性显著高于其他组; LP-HL饲料组实验鱼的肝脏异柠檬酸脱氢酶活性最高; 各饲料组间的肝细胞数目无显著差异; LP-HL和HP-LL组肝脏细胞出现最多空泡和脂肪变性。综上所述, 在上午保持饲料营养水平不变的情况下, 下午投喂低蛋白水平(43%或38%)或者低脂肪水平(10%或8%)的饲料不会影响斜带石斑鱼的生长。

关键词: 斜带石斑鱼; 投喂策略; 蛋白; 脂肪; 生长

中图分类号: S 965.334

文献标志码: A

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)是一种重要的养殖鱼类^[1], 在东南亚特别是在中国被广泛养殖^[2]。饲料是鱼类养殖过程中最大的可变生产成本^[3], 饲料的蛋白和脂肪是饲料营养元素中最受关注的2种物质, 这2种物质的添加水平影响着鱼类的生长行为及饵料成本。养殖动物的营养调节包括投喂水平、营养物质的性状和转移比^[4-5]。日投喂量能调节大西洋鲑鱼(*Salmo salar*)的生长和饲料摄入, 同时, 可消化的饲料能量也可以调节饲料摄入和饲料利用^[6]。饲料蛋白、能量比例不恰当会影响鱼类的生长性能, 蛋白质的过量摄入不仅增加了饲料的消耗, 而且还会增加养殖系统氨排放^[7-8]。不同水平蛋白质循环投喂能调节动物蛋白质代谢, 例如, 周期性投喂蛋白模式能使大龄动物获得更佳的氮平衡^[9-10]。在不降低鱼类生长的前提下, 有3种方式可以降低鱼类蛋白的摄入: 1) 通过增加饲料中的非蛋白能量源^[11-12]; 2) 通过饥饿再投喂、补偿生长来提高饲料转化效率, 降低饲料消耗^[13]; 3) 蛋白限制饲养策略^[14-16]。饲料能量足够时, 鱼类蛋白质利用效率可维持在较高水平^[10, 17-18]。脂肪作为重要的能量源之一, 易被鱼类代谢^[19], 它不仅能提高鱼类的生长速度和营养物质的利用率, 还能改善饲料的适口性^[20], 鱼类脂肪表观消化率超过80%^[21]。在没有饲料蛋白质代谢作为能量时, 脂肪作为单一能量源具有更高的利用效率^[22], 但是, 过高的脂肪摄入对鱼类生长、营养利用和体脂沉积有不利影响^[23]。因此, 确定饲料中蛋白质和脂肪适宜水平非常重要。目前, 有关鱼类日投喂不同饲料营养水平的饲养策略鲜见报道, 笔者探讨了日循环投喂不同蛋白与脂肪水平的饲料对斜带石斑鱼生长、饲料利用、相关生化指标及组织学的影响, 旨在为斜带石斑鱼的养殖及其饲料配方的设计提供理论依据。

收稿日期: 2014-04-30

基金项目: 海南省国际科技合作重点项目“高效环保石斑鱼配合饲料配方技术开发”(2012-gh003)

作者简介: 朱仙龙(1989-)男, 海南大学海洋学院2011级硕士研究生, E-mail: zhu_xian_long@126.com

通信作者: 吴小易, 副教授, 研究方向: 水产动物营养与饲料学, E-mail: wjrk@163.com

1 材料与方法

1.1 实验饲料的制作 实验设计了 5 种不同饲料(见表 1): 1) 高蛋白高脂肪对照饲料(HP-HL) (48% 高粗蛋白 + 12% 高粗脂肪); 2) 中蛋白高脂肪饲料(MP-HL) (43% 高粗蛋白 + 12% 高粗脂肪); 3) 低蛋白高脂肪饲料(LP-HL) (38% 高粗蛋白 + 12% 高粗脂肪); 4) 高蛋白中脂肪饲料(HP-ML) (48% 高粗蛋白 + 10% 高粗脂肪); 5) 高蛋白低脂肪饲料(HP-LL) (48% 高粗蛋白 + 8% 高粗脂肪)。

表 1 实验饲料配方

Tab. 1 The compositions of experimental diets

%

原料 Ingredients	饲料编号 Diet designations				
	HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
鱼粉 Fish meal	52	44	36	52	52
豆粕 Soybean meal	25	25	25	25	25
鱼油 Fish oil	5	5.7	6.3	2.5	0
大豆卵磷脂 Soya bean lecithin	1	1	1	1	1
小麦粉 Wheat flour	15	15	15	15	15
维生素混合物 Vitamin mixture	1	1	1	1	1
矿物质混合物 Mineral mixture ^[25]	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
氯化胆碱 Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
纤维素 Cellulose	0	7.3	14.7	2.5	5

将所需的各种干饲料原料粉碎,过 40 目筛,按饲料配方比例称重预混合后放入搅拌机中搅拌 30 min,在搅拌过程中,加入鱼油、大豆卵磷脂,同时,按照 $m_{\text{干物质}}:V_{\text{水}}=10\text{ g}:3\sim5\text{ mL}$ 的比例缓慢加水,使原料成团,然后用 $6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 将饲料的 pH 值调至 7。将成团后的原料用双螺杆挤压式制粒机压制,成品的实验饲料颗粒直径为 3.0 mm,待其自然风干至水分含量低于 10% 时,用密封袋密封,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下贮存备用。饲料成分见表 2。

表 2 实验饲料成分

Tab. 2 The compositions of the experimental diets

%

饲料成分 Diet composition	饲料编号 Diet designations				
	HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
干物质 Dry matter	88.99	85.79	87.98	86.35	87.29
粗蛋白 Crude protein	48.37	43.48	36.77	48.82	49.23
粗脂肪 Crude lipid	12.29	12.88	13.23	10.79	8.41
粗灰分 Crude ash	12.96	10.95	9.13	12.50	12.02

1.2 鱼苗及实验设计 供试的斜带石斑鱼幼鱼来自海南晨海水产养殖有限公司。实验开始前,幼鱼按每池 30 尾的密度饲养在室内水泥池中进行驯化,其间投喂商业饲料,让鱼苗适应养殖环境。2 周后,将初始体质量为 $(14.01\pm0.47)\text{ g}$ 的实验鱼随机分配到 15 个 500 L 的水族箱中,每箱 23 尾。对照组上、下午均投喂 HP-HL 饲料,其他 4 个实验处理组上午 8:00 均投喂 HP-HL 饲料,下午 17:00 则分别投喂 MP-HL, LP-HL, HP-ML 和 HP-LL 饲料,人工投喂至饱食(以饲料沉底为准),每组设 3 个平行,连续投喂 8 周。采用流水养殖模式,流量为 $2.2\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,24 h 连续充气,使溶氧保持在接近饱和的状态。实验期间,采用自然光照。每天测量水温,并使其维持在 $(28\pm1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。养殖用水生化指标采用 ALLAN 等人^[24]的标准(溶氧 $>7.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 8.05~8.23, 盐度 30.16~35.23, 总氨氮 $<0.11\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。每周测定 1 次水样,每天清理残饵及粪便 2 次。

1.3 样品采集 先让实验鱼饥饿 24 h 后,按照标准方法用间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐(MS-222) 对鱼进行麻醉、计数和称重。每箱随机抽取 12 条鱼,4 条用于分析体组分,另外 8 条用肝素钠注射器抽取血液后进行称重、解剖,然后对内脏、肝和肠系膜脂肪进行称重。同时,取背部两侧的白肌,去除皮肤留样备用。内脏以及肝脏称重后,每箱各取 4 份完整的肠道和肝脏,放入 5 mL 的 EP 管中,其中 2 尾鱼的肠道以及肝脏收集编号后,迅速放入液氮中冷冻保存,留作酶活力分析。另 2 尾鱼的肠道及肝脏收集编号后,加入 Bouin 液常温保存。血液样品在 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 10 min,抽取上清液保存在液氮中。

1.4 分析方法

1.4.1 基本成分分析 1) 用烘干法测定水分含量;2) 用凯氏定氮法测定粗蛋白含量;3) 用索氏抽提法测定脂肪含量;4) 灰分则将样品置于马弗炉中 $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ 24 h 后称量获得。

1.4.2 血液指标分析 采用自动血液分析仪(Hitachi 7170A, Japan) 测定血液指标。项目有: 谷丙转氨酶(GPT) 谷草转氨酶(GOT) 谷氨酰转肽酶(GGT) 白蛋白(ALB) 球蛋白(GLO) ,葡萄糖(GLU) ,总蛋白(TP) ,胆固醇(CHOL) ,总甘油三酯(TG) ,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C) 。

1.4.3 肝脏及肠道样品的酶活力分析 在 10 倍体积的生理盐水中冷却匀浆,然后 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,去上清液保存待分析。采用 Elisa 试剂盒(美国 R&D) 在 Bio-Tek ELX800 酶标仪上测定胰蛋白酶、脂肪酶、苹果酸脱氢酶、葡萄糖 6-磷酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶的活性。

1.4.4 组织学分析 样品经石蜡包埋后用 Leica 切片机进行切片(厚度为 $6\text{ }\mu\text{m}$) ,然后用苏木精-伊红染色,再在显微镜(Nikon Eclipse 80i, Japan) 上进行观察、拍摄。

1.5 计算公式 增重率(WG) = (末均体质量 - 初体质量) / 初体质量 $\times 100\%$; 蛋白质效率(PER) = 增重/蛋白质投喂量; 蛋白质摄入量(PI) = 蛋白消耗量/体质量; 蛋白质保留率(PPV) = 鱼体保留的蛋白/蛋白投喂量; 肥满度(CF) = 体质量/体长³ $\times 100\%$; 脏体比(VSI) = 内脏质量/体质量 $\times 100\%$; 肝体比(HIS) = 肝脏质量/体质量 $\times 100\%$; 肠系膜脂肪比 = 肠系膜脂肪质量/体质量 $\times 100\%$ 。式中,质量单位均为 g,体长单位为 cm。

1.6 数据统计 数据均以平均值 $\pm$ 标准差的方式表示,使用统计软件 SPSS12.0 进行单因子方差分析(ANOVA) ($n=3$) ,采用 Duncan's 多重比较分析数据之间的差异性。

2 结果与分析

2.1 斜带石斑鱼的生长行为及饲料利用 从表 3 可知,下午投喂 HP-HL 饲料的实验鱼增重率(WG) 最高,最低的是 HP-LL 组,但各组间的差异不显著($P>0.05$)。下午投喂 HP-LL 饲料的实验鱼蛋白质摄入

表 3 投喂实验饲料 8 周后斜带石斑鱼幼鱼的生长表现及饲料利用指标

Tab. 3 The growth performance and feed utilization of juvenile *Epinephelus coioides* fed the experimental diets for 8 weeks

项目 Project	实验处理组 Diet treatments				
	HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
IBW/g	13.81 ± 0.45	13.83 ± 0.83	14.10 ± 0.52	14.32 ± 0.22	13.98 ± 0.18
$WG/\%$	142.2 ± 22.4	119.2 ± 29.6	123.6 ± 29.7	135.7 ± 15.6	101.6 ± 25.2
$PI/(g\cdot kg^{-1})$	$337.1 \pm 27.3ab$	$339.9 \pm 37.3ab$	$305.4 \pm 21.2b$	$356.5 \pm 26.2ab$	$361.1 \pm 13.6a$
$PER/\%$	$1.74 \pm 0.03ab$	$1.58 \pm 0.10ab$	$1.81 \pm 0.30a$	$1.62 \pm 0.17ab$	$1.39 \pm 0.23b$
$PPV/\%$	0.27 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.30 ± 0.04	0.27 ± 0.04	0.24 ± 0.04
$SV/\%$	87.0 ± 11.5	76.8 ± 6.6	84.1 ± 13.3	84.1 ± 10.9	82.6 ± 4.4

注: 数值以平均值 $\pm$ 标准差的形式表示,数值后不同字母表示数值之间差异显著($P<0.05$) ,下同。 IBW : 初始体质量; WG : 增重率; PI : 蛋白质摄入量; PER : 蛋白质效率; PPV : 蛋白质保留; SV : 存活率

Note: Values are means $\pm$ sd. of three replicates, and values within the same row with different letters are significantly different ($P<0.05$), similarly hereinafter IBW : Initial body weight; WG : Weight gain; PI : Protein intake; PER : Protein efficiency ratio; PPV : Protein productive values; SV : Survival ratio

量(PI)最高,最低的是LP-HL组,两者间的差异显著($P < 0.05$)。投喂HP-LL饲料的实验鱼蛋白质效率(PER)最低,显著低于LP-HL组($P < 0.05$)。投喂LP-HL饲料的实验鱼蛋白质保留率(PPV)最高,最低的是HP-LL组,但各实验组间差异不显著($P > 0.05$)。投喂HP-HL饲料组的实验鱼存活率(SV)最高,但组间无显著差异($P > 0.05$)。

2.2 斜带石斑鱼的形态学指标 从表4可知,下午投喂HP-ML饲料的实验鱼肥满度(CF)最高,最低的是MP-HL饲料组,显著低于HP-ML组、LP-HL组及HP-HL组。MP-HL饲料组实验鱼的脏体比(VSI)和肝体比(HIS)2项指标均为最高,但组间差异不显著($P > 0.05$)。HP-HL组的实验鱼肠脂体比显著低于HP-ML组的($P < 0.05$)。

表4 投喂实验饲料8周后斜带石斑鱼幼鱼的形态学指标

Tab.4 Morphological indices of juvenile *Epinephelus coioides* fed the experimental diets for 8 weeks

形态学指标 Morphological index	实验处理组 Diet treatments				
	HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
$CF/(g \cdot cm^{-3})$	$3.80 \pm 0.17ab$	$3.33 \pm 0.11c$	$3.90 \pm 0.09a$	$4.04 \pm 0.21a$	$3.42 \pm 0.44bc$
$VSI/\%$	6.34 ± 0.37	6.75 ± 0.19	6.57 ± 0.72	6.14 ± 0.54	6.12 ± 0.67
$HIS/\%$	1.61 ± 0.14	1.95 ± 0.53	1.73 ± 0.49	1.49 ± 0.21	1.73 ± 0.56
$IPF/\%$	$0.82 \pm 0.10b$	$1.10 \pm 0.38ab$	$1.02 \pm 0.14ab$	$1.25 \pm 0.21a$	$0.89 \pm 0.11ab$

注: CF 代表肥满度; VSI 代表脏体比; HIS 代表肝体比; IPF 代表肠脂体比

Note: CF : Condition factor; VSI : Viscerosomatic index; HIS : Hepatosomatic index; IPF : Intraperitoneal fat

2.3 斜带石斑鱼的全鱼及肌肉成分 由表5可知,下午投喂HP-ML饲料组实验鱼的全鱼及肌肉水分含量最低。不同蛋白、脂肪水平循环投喂能显著影响全鱼脂肪含量($P < 0.05$),其中,HP-LL组实验鱼的脂肪含量最低,显著低于其他各实验组($P < 0.05$),LP-HL组实验鱼的脂肪含量最高,显著高于其他实验组($P < 0.05$)。HP-ML组实验鱼的全鱼蛋白及肌肉蛋白含量最高,显著高于其他实验组($P < 0.05$),其他各组间无显著差异($P > 0.05$)。HP-ML组实验鱼的肌肉脂肪含量最高,但组间差异不显著($P > 0.05$)。

表5 投喂实验饲料8周后斜带石斑鱼幼鱼全鱼及肌肉的组分含量

Tab.5 The whole body, muscle compositions (fresh-weight basis) of juvenile *Epinephelus* fed the experimental diets for 8 week

组分含量		实验处理组 (Diet treatments)				
Compositions		HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
全鱼 Whole body	水分 Moisture	$740.2 \pm 7.3a$	$741.7 \pm 1.2a$	$725.1 \pm 4.6b$	$729.5 \pm 6.1b$	$731.2 \pm 6.4ab$
	蛋白质 Protein	$160.6 \pm 4.9b$	$163.8 \pm 2.5b$	$164.8 \pm 2.7b$	$170.9 \pm 1.5a$	$165.2 \pm 3.0b$
	脂肪 Lipid	$79.7 \pm 1.8b$	$69.2 \pm 3.6c$	$88.8 \pm 4.2a$	$73.3 \pm 6.4bc$	$59.6 \pm 4.6d$
	灰分 Ash	$48.63 \pm 1.66c$	$51.67 \pm 1.14bc$	$52.20 \pm 1.25abc$	$54.13 \pm 2.35ab$	$55.50 \pm 2.69a$
肌肉 muscle	水分 Moisture	$754.8 \pm 9.2a$	$746.7 \pm 11.0ab$	$744.9 \pm 9.4ab$	$735.1 \pm 2.1b$	$748.0 \pm 2.4ab$
	蛋白质 Protein	$198.3 \pm 4.0b$	$208.6 \pm 10.0ab$	$204.7 \pm 4.4b$	$215.9 \pm 3.9a$	$200.0 \pm 1.5b$
	脂肪 Lipid	57.2 ± 3.1	63.2 ± 3.6	65.6 ± 10.1	67.8 ± 4.0	62.0 ± 7.4
	灰分 Ash	$15.13 \pm 0.87c$	$15.20 \pm 0.43bc$	$16.13 \pm 0.80abc$	$16.27 \pm 0.06ab$	$16.57 \pm 0.06a$

2.4 斜带石斑鱼的血液指标 由表6可知,下午投喂HP-ML饲料组实验鱼的血液谷丙转氨酶(GPT)水平显著高于其他实验组($P < 0.05$)。投喂MP-HL饲料组实验鱼的谷草转氨酶(GOT)含量最高,但各组间无显著性差异($P > 0.05$)。投喂MP-HL饲料组实验鱼的血液谷氨酰转肽酶(GGT)、白蛋白(ALB)、球蛋白

白(GLO) 水平均最高 ,其中 ,谷氨酰转肽酶显著高于 HP-HL 和 LP-HL 组 ,白蛋白和球蛋白水平显著高于其他实验组($P < 0.05$) 。投喂 HP-LL 饲料组实验鱼的血液白蛋白(ALB) 和球蛋白(GLO) 水平最低 ,均显著低于其他实验组($P < 0.05$) 。

表 6 投喂实验饲料 8 周后斜带石斑鱼幼鱼的血液免疫指标
Tab.6 Plasma immune indexes of juvenile Epinephelus coioides fed the diets in the feeding trial for 8 weeks

免疫指标 Immunity indexes	实验处理组 Diet treatments				
	HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
GPT/(U · L ⁻¹)	6.00b	2.00b	5.33 ± 4.04b	10.00 ± 1.73a	4.33 ± 1.53b
GOT/(U · L ⁻¹)	117.0	149.0	113.7 ± 43.9	98.3 ± 18.6	135.0 ± 66.6
GGT/(U · L ⁻¹)	4.00c	13.00a	6.33 ± 4.16bc	11.00ab	8.67 ± 4.93abc
ALB/(g · L ⁻¹)	4.40b	5.10a	3.17 ± 0.40c	3.83 ± 0.42b	2.33 ± 0.51d
GLO/(g · L ⁻¹)	27.70cd	37.20a	28.73 ± 2.03bc	31.10 ± 1.73b	24.87 ± 2.93d

注: GPT 代表谷丙转氨酶; GOT 代表谷草转氨酶; GGT 代表谷氨酰转肽酶; ALB 代表白蛋白; GLO 代表球蛋白
Note: GPT: Glutamate pyruvate transaminase; GOT: Glutamic-oxaloacetic transaminase; GGT: Glutamyltranspeptidase; ALB: Albumin; GLO: Globulin

由表 7 可知 ,下午投喂 MP-HL 饲料组的实验鱼的血液总蛋白(TP) 、总胆固醇(CHOL) 、甘油三酯(TG) 和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C) 含量最高 ,且显著高于其他实验组($P < 0.05$) 。HP-ML 饲料组实验鱼的血液高密度脂蛋白胆固醇水平最高 ,为(1.77 ± 0.06) mmol · L⁻¹ ,HP-LL 组实验鱼的血液高密度脂蛋白胆固醇水平最低 ,为(1.33 ± 0.64) mmol · L⁻¹ ,但各实验组间差异不显著($P > 0.05$) 。HP-LL 组实验鱼的血液葡萄糖(GLU) 含量为(4.03 ± 0.59) mg · L⁻¹ ,显著高于 HP-HL 组(3.20 mg · L⁻¹) ($P < 0.05$) 。

表 7 投喂实验饲料 8 周后斜带石斑鱼幼鱼的血液生化指标
Tab.7 Plasma biochemical compositions of juvenile Epinephelus coioides fed the diets in the feeding trial for 8 weeks

生化指标 Biochemical compositions	实验处理组 Diet treatments				
	HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
TP/(g · L ⁻¹)	32.10 ± 0.00b	42.30 ± 0.00a	31.90 ± 2.31b	34.93 ± 1.77b	27.20 ± 3.35c
GLU/(mg · L ⁻¹)	3.20b	3.90ab	3.67 ± 0.35ab	3.77 ± 0.12ab	4.03 ± 0.59a
TG/(mmol · L ⁻¹)	2.20ab	2.50a	1.87 ± 0.55bc	1.60 ± 0.17c	1.40 ± 0.17c
CHOL/(mmol · L ⁻¹)	4.40b	6.60 ± 0.00a	3.50 ± 1.22b	3.50 ± 0.26b	3.30 ± 0.30b
HDL-C/(mmol · L ⁻¹)	1.60	1.50	1.47 ± 0.15	1.77 ± 0.06	1.33 ± 0.64
LDL-C/(mmol · L ⁻¹)	1.80 ± 0.00b	3.96 ± 0.00a	1.19 ± 0.85b	1.01 ± 0.28b	1.33 ± 0.47b

注: TP 代表总蛋白; GLU 代表葡萄糖; TG 代表甘油三酯; CHOL 代表总胆固醇; HDL-C 代表高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C 代表低密度脂蛋白胆固醇
Note: TP: Total Protein; GLU: Glucose; TG: Triglyceride; CHOL: Total cholesterol; HDL-C: High density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low density lipoprotein cholesterol

2.5 斜带石斑鱼的肝脏及肠道组织酶活力 由表 8 可知 ,下午投喂 HP-ML 和 HP-LL 饲料组的实验鱼肠道脂肪酶活力都显著低于对照组(HP-HL) ($P < 0.05$) 。HP-HL 组、MP-HL 组和 LP-HL 组实验鱼的肠道脂肪酶活力分别为(13.95 ± 2.94) (13.97 ± 2.72) (9.30 ± 0.01) U · mg⁻¹ ,不同蛋白水平组间无显著性差异($P > 0.05$) 。下午投喂 LP-HL 饲料组的实验鱼肠道蛋白酶活力最低 ,但各实验组间差异不显著($P > 0.05$) 。HP-LL 组实验鱼的肝脏葡萄糖 6 磷酸脱氢酶活力最高 ,且显著高于其他实验组($P < 0.05$) 。G-6-PD 酶活力随日投喂蛋白质水平减少而降低 ,当下午投喂 LP-HL 饲料时 ,G-6-PD 酶活力最低。下午投

喂 LP-HL 饲料组的实验鱼肝脏异柠檬酸脱氢酶活力最高,显著高于其他实验组 ($P < 0.05$) ,其他实验组间无显著性差异 ($P > 0.05$) 。下午投喂 HP-HL 饲料组 ,MP-HL 饲料组 ,LP-HL 饲料组的实验鱼肝脏苹果酸脱氢酶 (MDH) 活力值分别为 (0.06 ± 0.01) (0.06 ± 0.01) (0.08 ± 0.03) $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$,组间无显著性差异 ($P > 0.05$) 。下午投喂 HP-ML 饲料组苹果酸脱氢酶活力值最高 ,且显著高于对照组 (HP-HL) ($P < 0.05$) 。

表 8 投喂实验饲料 8 周后斜带石斑鱼幼鱼的肝脏及肠道酶活力

Tab. 8 The activities of enzymes in intestine and liver tissues of juvenile *Epinephelus coioides* fed the diets in the feeding trial for 8 weeks

酶活力		实验处理组 Diet treatments				
Enzyme activity		HP-HL	MP-HL	LP-HL	HP-ML	HP-LL
肠道 intestine	脂肪酶/($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$) Lipase	13.95 $\pm$ 2.94a	13.97 $\pm$ 2.72a	9.30 $\pm$ 0.01ab	7.51 $\pm$ 2.52b	6.62 $\pm$ 0.42b
	蛋白酶/($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$) Trypsin	2 501 $\pm$ 249	2 513 $\pm$ 350	2 000 $\pm$ 423	2 300 $\pm$ 527	2 300 $\pm$ 342
肝脏 liver	G-6-PD/($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	0.37 $\pm$ 0.08b	0.21 $\pm$ 0.06c	0.15 $\pm$ 0.07c	0.23 $\pm$ 0.06c	0.48 $\pm$ 0.03a
	(IDH) ² /($\text{kIU} \cdot \text{mg}^{-1}$)	5.78 $\pm$ 0.44b	12.42 $\pm$ 6.10b	23.57 $\pm$ 6.25a	11.08 $\pm$ 2.57b	6.88 $\pm$ 1.21b
	(MDH) ³ /($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$)	0.06 $\pm$ 0.01b	0.06 $\pm$ 0.01b	0.08 $\pm$ 0.03ab	0.12 $\pm$ 0.03a	0.09 $\pm$ 0.03ab

注: G-6-PD: 葡萄糖六磷酸脱氢酶; IDH: 异柠檬酸脱氢酶; MDH: 苹果酸脱氢酶
Note: G-6-PD: glucose-6-phosphate dehydrogenase; IDH: Isocitrate dehydrogenase; MDH: Malate dehydrogenase

2.6 斜带石斑鱼的肠道及肝脏组织学观察 从图版 I 可以看出 ,本实验各处理组的实验鱼均具有正常的组织形态 ,各实验组的实验鱼肠道上皮柱状细胞无明显区别 ,下午投喂 HP-HL 和 HP-LL 饲料实验组的实验鱼存在更多杯状细胞(见图版 I - a ,e 空心箭头) ,各处理组间空泡数量无显著差异。下午投喂 HP-HL 饲料组实验鱼的肝细胞存在细胞核迁移现象(见图版 I - f 空心箭头) ,球形细胞核位于中心的肝细胞的排列不规则 ,肝细胞细胞核数目在各组间无显著差异。下午投喂 LP-HL 和 HP-LL 饲料的实验组实验鱼肝脏肝细胞扩大和脂肪变性明显 ,空泡数量最多(见图版 I - h ,j 白色箭头) 。

3 讨 论

鱼类蛋白和脂肪需求量会随着鱼种类、大小、年龄、蛋白质质量、饲料能量水平、水质、天然饵料和投喂及饲养管理的变化而变化^[19] 。鱼类会根据自身的能量需求来调整摄食量 ,当投喂低能量饲料时 ,鱼类摄入量增加^[26-29] 。Bouvarrel 等^[30] 对肉鸡的研究表明 ,周期性投喂不同营养水平的饲料会造成肉鸡营养不均衡 ,但能通过增加饲料摄入可使营养达到均衡。同时 ,周期性投喂肉鸡(周期为 48 h) 的实验结果表明 ,实验组饲料提供了和对照组相似的能量和氨基酸摄入 ,这种饲养策略对鸡的生长行为和营养消化无负面作用 ,对肌肉和脂肪沉积的影响很小^[31] ,与笔者对斜带石斑鱼的研究结果相似。J G Qin 等^[32] 发现 ,投喂不同营养水平饲料对黑鱼(*Channa striatus*) 的成活率影响不显著 ,本实验也得到了类似的结果。本实验中 ,投喂蛋白质/脂肪比较高的 HP-LL 饲料的鱼的脂肪沉积减少 ,可能与多余蛋白质摄入有关^[33] 。谷丙转氨酶(GPT) 和谷草转氨酶(GOT) 是蛋白质和氨基酸分解代谢的重要中间物质。本实验结果表明 ,不同的蛋白和脂肪水平循环投喂未影响血液中蛋白质的利用 ,饲料中高蛋白高脂肪水平能使脂肪转移更活跃。L O Kim 认为 ,饲料蛋白、能量比例不恰当会降低鱼类生长性能 ,蛋白质的过量摄入将被用作能量来源^[7] 。笔者在本研究中也发现 ,当外源脂肪不能满足能量需求时 ,蛋白质就分解供能 ,从而产生更多的葡萄糖。胃肠道酶活力是衡量外源营养物质消化和利用的重要指标^[34] 。本实验结果表明 ,日粮中脂肪水平会影响脂肪酶活力。许多脂肪酶是诱导酶 ,其合成受底物、水解产物或底物类似物调控^[35] ,饲料脂肪水平会显著影响脂肪酶活力^[36] 。但是 S Morais 等的研究结果表明 ,饲料脂肪水平增加不会影响石斑鱼脂肪

酶活力^[37]。肠道受体只需要非常低浓度的刺激物刺激就能活化,说明肠道接触这些刺激产物的时间是胰腺分泌反应的主要决定因素^[38]。I Guerreiro 等发现,较低脂肪水平会提高肝脏的 G-6-PD 酶活力^[39],笔者得出的结果与之一致。笔者发现,改变日投喂蛋白和脂肪水平对斜带石斑鱼的肠道结构不会产生明显影响,过低的蛋白质或脂肪投喂量会引起其肝细胞增大和脂肪明显的变性,空泡数量增多。在对真鲷 (*Pagrus pagrus*) 投喂不同蛋白/脂肪比饲料的研究中,也出现了类似实验结果^[22]。这可能是由于饲料中营养元素的不平衡所致。

本研究结果表明,当上午投喂饲料营养成分保持恒定时,下午所投喂的饲料蛋白水平从 48% 降低到 38% 或脂肪水平从 12% 降低到 8%,斜带石斑鱼的生长不会受到负面影响。该结果为斜带石斑鱼养殖过程中饲料投喂策略的改变和降低饲料成本提供了参考。

参考文献:

- [1] 孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [2] BOONYARATPALIN M, Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia [J]. *Aquaculture*, 1997, 151(1/2/3/4): 283–313.
- [3] NAYLOR R L, HARDY R W, BUREAU D P, et al. Feeding aquaculture in an era of finite resources [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(36): 15103–15110.
- [4] HOCQUETTE J F, TESSERAUD S, CASSAR-MALEK I, et al. Responses to nutrients in farm animals: implications for production and quality [J]. *Animal*, 2007, 1(9): 1297–1313.
- [5] WALRAND S, BOIRIE Y. Optimizing protein intake in aging [J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2005, 8(1): 89–94.
- [6] JOHNSEN C A, HAGEN O, ADLER M, et al. Effects of feed, feeding regime and growth rate on flesh quality, connective tissue and plasma hormones in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Aquaculture*, 2011, 318(3/4): 343–354.
- [7] KIM L O, LEE S M. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* [J]. *Aquaculture*, 2005, 243(1/2/3/4): 323–329.
- [8] TAKAKUWA F, FUKADA H, HOSOKAWA H, et al. Optimum digestible protein and energy levels and ratio for greater amberjack *Seriola dumerili* (Risso) fingerling [J]. *Aquaculture Research*, 2006, 37(15): 1532–1539.
- [9] ARNAL M A, MOSONI L, DARDEVET D, et al. Pulse protein feeding pattern restores stimulation of muscle protein synthesis during the feeding period in old rats [J]. *The Journal of nutrition*, 2002, 132(5): 1002–1008.
- [10] BOIRIE Y, DANGIN M, GACHON P, et al. Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, 94(26): 14930–14935.
- [11] WU X Y, LIU Y J, TIAN L X, et al. Utilization of different raw and pre-gelatinized starch sources by juvenile yellowfin seabream *Sparus latus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13(5): 389–396.
- [12] WILSON R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish [J]. *Aquaculture*, 1994, 124(1/2/3/4): 67–80.
- [13] HEIDE A, FOSS A, STEFANSSON S O, et al. Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut: Effects of short term starvation periods and subsequent feeding [J]. *Aquaculture*, 2006, 261(1): 109–117.
- [14] WU L X, DENG H X, GENG Z F, et al. Effects of protein restriction with subsequent realimentation on growth performance of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006(11): 24.
- [15] XIE Q S, YANG Z C, LI J W, et al. Effect of protein restriction with subsequent re-alimentation on compensatory growth of juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*) [J]. *Aquaculture International*, 2012, 20(1): 19–27.
- [16] SEVGILI H, HOŞSU B, EMRE Y, et al. Compensatory growth after various levels of dietary protein restriction in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 2012, 344/349: 126–134.
- [17] DANGIN M, BOIRIE Y, GARCIA-RODENAS C, et al. The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention [J]. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 2001, 280(2): 340–348.
- [18] MORENS C, BOS C, PUEYO M E, et al. Increasing habitual protein intake accentuates differences in postprandial dietary nitrogen utilization between protein sources in humans [J]. *The Journal of nutrition*, 2003, 133(9): 2733–2740.

- [19] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish [M]. Pittsburgh: National Academies Press, 1993.
- [20] SMITH R. Nutritional bioenergetics in fish [M]. Seattle (USA): Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 1980.
- [21] HUA K, BUREAU D P. Development of a model to estimate digestible lipid content of salmonid fish feeds [J]. Aquaculture, 2009, 286(3/4): 271–276.
- [22] SCHUCHARDT D, VERGARA J M, FERNÁNDEZ-PALACIOS H, et al. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings [J]. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(1): 1–9.
- [23] GARLING D L, WILSON R P. Optimum dietary protein to energy ratio for channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus* [J]. The Journal of nutrition, 1976, 106(9): 1368–1375.
- [24] ALLAN G L, MAGUIRE G B, HOPKINS S J. Acute and chronic toxicity of ammonia to juvenile *Metapenaeus macleayi* and *Penaeus monodon* and the influence of low dissolved-oxygen levels [J]. Aquaculture, 1990, 91(3): 265–280.
- [25] LIN Y H, SHIAU S Y. Dietary lipid requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, and effects on immune responses [J]. Aquaculture, 2003, 225(1/2/3/4): 243–250.
- [26] JOHANSEN S J S, EKLI M, STANGNES B, et al. Weight gain and lipid deposition in Atlantic salmon, *Salmo salar*, during compensatory growth: evidence for lipostatic regulation [J]. Aquaculture Research, 2001, 32(12): 963–974.
- [27] FAURÉ A, LABBÉ L. Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean [M]. London: Springer London Ltd, 2001.
- [28] JOHANSEN S, EKLI M, JOBLING M. Is there lipostatic regulation of feed intake in Atlantic salmon *Salmo salar* L. [J]. Aquaculture Research, 2002, 33(7): 515–524.
- [29] JOHANSEN S, SVEIER H, JOBLING M. Lipostatic regulation of feed intake in Atlantic salmon *Salmo salar* L. defending adiposity at the expense of growth? [J]. Aquaculture Research, 2003, 34(4): 317–331.
- [30] BOUVAREL I, BARRIER-GUILLOT B, LARROUDE P, et al. Sequential feeding programs for broiler chickens: Twenty-four- and forty-eight-hour cycles [J]. Poultry Science, 2004, 83(1): 49–60.
- [31] BOUVAREL I, CHAGNEAU A, LESCOAT P, et al. Forty-eight-hour cycle sequential feeding with diets varying in protein and energy contents: adaptation in broilers at different ages [J]. Poultry science, 2008, 87(1): 196–203.
- [32] QIN J G, FAST A W. Effects of temperature, size and density on culture performance of snakehead, *Channa striatus* (Bloch), fed formulated feed [J]. Aquaculture Research, 1998, 29(4): 299–303.
- [33] PHUMEE P, HASHIM R, ALIYU-PAIKO M, et al. Effects of dietary protein and lipid content on growth performance and biological indices of iridescent Shark (*Pangasius hypophthalmus*) fry [J]. Aquaculture Research, 2009, 40(4): 456–463.
- [34] DENG J, MAI K, AI Q, et al. Alternative protein sources in diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel): II. Effects on nutrient digestibility and digestive enzyme activity [J]. Aquaculture Research, 2010, 41(6): 861–870.
- [35] RIO J L, SERRA P, VALERO F, et al. Reaction scheme of lipase production by *Candida rugosa* growing on olive oil [J]. Biotechnol Lett, 1990, 12(11): 835–838.
- [36] INFANTE J L Z, CAHU C L. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development [J]. The Journal of Nutrition, 1999, 129(6): 1195–1200.
- [37] MORAIS S, CAHU C, ZAMBONINO-INFANTE J L, et al. Dietary TAG source and level affect performance and lipase expression in larval sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Lipids, 2004, 39(5): 449–458.
- [38] SINGER M V. Pancreatic Secretory Response to Intestinal Stimulants: A Review [J]. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 1987, 22: 1–13.
- [39] GUERREIRO I, PERES H, CASTRO-CUNHA M, et al. Effect of temperature and dietary protein/lipid ratio on growth performance and nutrient utilization of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(1): 98–106.

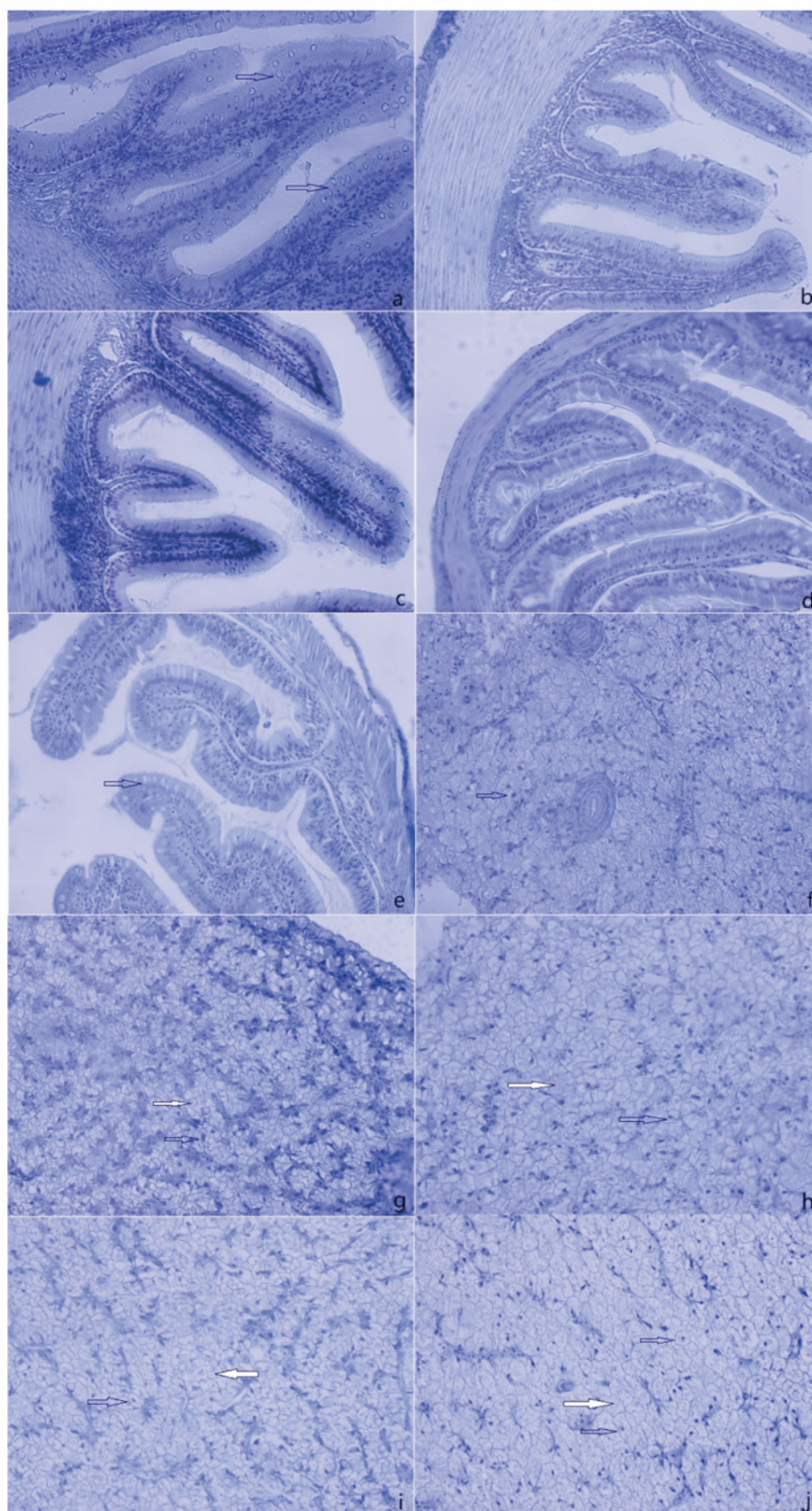
Effects of Dietary Protein and Lipid Levels on the Growth of Orange-spotted Grouper (*Epinephelus coioides*)

ZHU Xianlong , WU Xiaoyi , LI Weifeng , WANG Jun , CHEN Guohua

(Ocean College , Hainan University , Haikou 570228 , China)

Abstract: Orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) was fed diets containing different levels of protein (48% ,43% ,38%) and lipid (12% ,10% ,8%) at different feeding regimes for 8 weeks. The grouper fed the diets containing different levels of protein or lipid in the afternoon showed no significant difference ($P > 0.05$) in weight gain (WG) , feed efficiency (FE) condition factor , hepatosomatic index (HSI) and viscerosomatic index (VSI) . The grouper fed the high protein and low lipid (HP-LL) diet in the afternoon had significantly lower protein ratio [$(1.39 \pm 0.23)\%$] than those fed the low protein and high lipid (LP-HL) diet ($(1.81 \pm 0.30)\%$) , and had significantly lower body lipid content than those fed the other diets; the grouper fed the high protein and medium lipid (HP-ML) diet showed significantly higher body protein content [$(170.9 \pm 1.5) \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$] and muscle protein content [$(215.9 \pm 3.9) \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$] than those fed the other diets. The grouper fed the HP-LL diet contained evidently lower glutamate pyruvate transaminase (GPT) , albumin and total protein than those fed the high protein and high lipid (HP-HL) diet and the HP-ML diet but had significantly ($P < 0.05$) higher liver glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) activities than those fed the other diets. The grouper fed the LP-HL diet had significantly ($P < 0.05$) higher liver isocitrate dehydrogenase (IDH) activities than those fed the other diets. Number of hepatocytes did not significantly differ among the grouper fed the experimental diets. The grouper fed the LP-HL and HP-LL diets exhibited enlarged hepatocytes with apparent steatosis in hepatocyte , and their hepatocytes contained the most vacuoles among those fed the other diets. It is concluded that reducing dietary protein level (43% or 38%) or lipid level (10% or 8%) in the diet fed in the afternoon did not give any negative impact to the growth of the grouper when the grouper were fed the HP-HL diet in the morning.

Key words: *Epinephelus coioides*; feeding regime; protein; lipid; growth



图版 I 斜带石斑鱼肠道及肝脏组织学显微照片 (40 ×)

a, f: HP-HL 饲料组; b, g: MP-HL 饲料组; c, h: LP-HL 饲料组; d, i: HP-ML 饲料组; e, j: HP-LI 饲料组。

Fig. 1 Photomicrograph of *Epinephelus coioides* intestine and liver (photo at 40 ×)

a, f: Fish were fed (HP-HL) diet; b, g: Fish were fed (MP-HL) diet; c, h: (LP-HL); d, i: (HP-ML); e, j: (HP-LI)