

doi: 10.7541/2019.117

饲料蛋白质和小麦淀粉水平对中大规格草鱼生长性能及 肝脏组织结构的影响

董小林¹ 钱雪桥¹ 刘家寿² 陈家林¹ 王正凯¹ 樊华¹ 姜瑞丽¹ 周易勇²

(1. 广东海大集团股份有限公司畜牧水产研究中心, 农业部微生态资源养殖利用重点实验室, 海大中央研究院, 广州 511400;
2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)对碳水化合物的利用能力显著优于脂肪, 因此研究碳水化合物与蛋白的相互作用关系是解决草鱼配方策略的重要途径。实验探讨了中规格(460 g)草鱼和大规格(1970 g)草鱼饲料中蛋白与碳水化合物的相互作用关系。实验采用2×4的双因子实验设计, 实验一: 中规格草鱼饲料的2个淀粉梯度为25%和35%, 4个蛋白梯度为22%、24%、26%和28%, 共8个处理; 实验二: 大规格草鱼饲料的2个淀粉梯度为30%和40%, 4个蛋白梯度为18%、20%、22%和24%, 共8个处理。在56d的等量投喂后, 实验结果显示: 中规格草鱼的生长性能随着饲料蛋白水平的升高显著上升, 在28%蛋白水平组达到最高($P<0.05$), 且小麦淀粉水平35%组的生长性能显著高于25%组($P<0.05$); 大规格草鱼的生长性能也随着饲料蛋白水平的升高显著上升, 在蛋白水平大于20%之后差异不显著($P>0.05$), 且小麦淀粉水平40%组的生长性能显著高于30%组($P<0.05$)。同时, 中规格和大规格草鱼饲料分别添加35%和40%小麦淀粉时不会对草鱼的肝脏组织造成明显的负面影响。由此可见, 在实验条件下, 中规格和大规格草鱼分别在饲料小麦淀粉水平35%和40%以内时, 可以有效地利用淀粉节约饲料蛋白而不造成肝脏组织损伤。

关键词: 草鱼; 蛋白; 淀粉; 生长性能; 肝脏组织结构

中图分类号: S965.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2019)05-0983-09

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是我国最重要的一种草食性淡水养殖品种, 约占全国所有淡水养殖总产量的20%以上^[1]。虽然有关草鱼营养需求的研究在20世纪70年代就开始了^[2], 但是其营养需求的研究大多集中在仔稚鱼和幼鱼阶段^[1-5]。草鱼的生长周期较长, 其上市规格在不同地区有较大差异, 如华南、西南等地, 草鱼体重达到750 g/尾即可上市, 而多数地区草鱼体重需达到将近1500 g/尾再上市。为了给草鱼商品饲料提供多种配方策略, 非常有必要开展中大规格草鱼营养需求的研究。

饲料蛋白是影响鱼类生长性能的最重要因素, 也是商业饲料成本控制的最主要因子。如果蛋白水平不足, 氨基酸摄入量不能满足机体蛋白合成的需要; 但是蛋白含量过高, 会产生大量的氨氮代谢废物加重鱼体的代谢负担^[6]。因此, 为了使饲料

蛋白尽量用于机体的组织合成而非能量供应, 非常有必要研究鱼类对能量源(脂肪和碳水化合物)的利用情况以及其与蛋白利用的关系。草鱼是典型的草食性鱼类, 其消化生理特点决定了其对碳水化合物的利用能力优于杂食性和肉食性鱼类, 一系列的研究也都证实, 草食性的草鱼对碳水化合物的利用能力明显优于脂肪^[4, 7, 8]。因此研究碳水化合物与蛋白的相互作用关系是解决草鱼配方策略的重要途径。

大量的文献报道, 在脂肪水平固定的前提下研究蛋白与碳水化合物的关系主要有2种方式, 其一是随着蛋白水平的提高逐渐降低碳水化合物水平, 也就是在等能情况下蛋白需求的研究^[2, 3, 9]; 其二是通过“蛋白×能量”的双因子实验设计^[10, 11], 即在几个不同总能或可消化能水平下设置不同的蛋白水

收稿日期: 2018-04-09; 修订日期: 2018-10-15

基金项目: 广东省博士后科研基金专项(172232)资助 [Supported by the Special Project of Guangdong Post-doctoral Research Fund (172232)]

作者简介: 董小林(1982—), 女, 湖北襄阳人; 博士; 主要研究方向是水产动物营养生理学。E-mail: dongxiaolin01@163.com

通信作者: 钱雪桥(1967—), 男, 江苏泰兴人, 博士; 主要研究方向是水产动物营养与新型饲料添加剂开发。E-mail: qxq@haid.com.cn

平,这种方式其实是方式一的一种叠加设计。因此上述实验设计都是为了维持一个设定的能量水平而同时反向调整蛋白和碳水化合物浓度(即高蛋白对应低淀粉,低蛋白对应高淀粉)。在等能条件下研究蛋白与碳水化合物的关系是鱼类营养需求研究的重要基本理论,也便于从生物能量学的角度进行科学的对比分析。但是对早期的研究分析发现,等能设计似乎不利用对机体更高生长性能的探求。为此,本文尝试不用一个特定的总能水平去限制淀粉的用量,通过这种开放式设计探讨草鱼获得更高生长性能对应的营养素需求水平以及蛋白与碳水化合物的相互作用关系。

本研究分别以中规格(460 g)草鱼和大规格(1970 g)草鱼为研究对象,研究饲料蛋白和碳水化合物水平对2个生长阶段草鱼生长和饲料利用的影响,以期为中大规模的草鱼商品饲料配方提供多种技术策略。

1 材料与方法

1.1 实验设计与实验饲料

本研究采用2×4双因子设计,在2个淀粉添加水

平下分别设置4个蛋白梯度。实验一:初重460 g/尾的中规格草鱼的2个淀粉梯度为25%和35%,4个蛋白梯度为22%、24%、26%和28%;实验二:初重1970 g/尾的大规格草鱼的2个淀粉梯度为30%和40%,4个蛋白梯度为18%、20%、22%和24%。选用鱼粉和豆粕为蛋白源,大豆油为主要脂肪源,小麦淀粉为主要糖源。实验一的配方如表1所示,实验二的配方如表2所示。所有原料均采用市售标准原料,外源油脂先用适量粉料混合后过30目网筛,以保证油脂预混合均匀。然后使用正昌250型制粒机进行配料生产,调制温度80—90℃,室温冷却后制成粒径3.0 mm,长度0.5 cm的实验料,然后用带塑料内膜的包装袋密封保存备用。

1.2 实验鱼与养殖管理

实验于广东海大集团股份有限公司畜牧水产研究中心的海鸥岛养殖基地进行。在正式实验前,2种规格的草鱼均置于基地池塘大网箱中暂养,用商品饲料常规饱食投喂。暂养1个月后,对实验鱼饥饿24h,挑选体格健壮、规格一致的草鱼随机分组,中规格草鱼[初重(460±1.7) g/尾]每个网箱50尾,大规格草鱼[初重(1960±4.5) g/尾]每个网箱20尾。

表1 中规格(460 g)草鱼实验料配方及营养组分(%以风干样为基础)

Tab. 1 Formulation and nutrient contents of experimental diets of medium-size (460 g) grass carp (% air-dry basis)

原料Ingredients (%)	饲料组Diet							
	28P/25S	26P/25S	24P/25S	22P/25S	28P/35S	26P/35S	24P/35S	22P/35S
小麦淀粉Wheat starch	25	25	25	25	35	35	35	35
豆粕Soybean meal	29	29	29	29	29	29	29	29
鱼粉Fish meal	24.2	21	17.8	14.5	24.2	21	17.8	14.5
统糠Unite bran	15.6	18.6	21.5	24.5	5.6	8.6	11.5	14.5
大豆油Soybean oil	2.1	2.3	2.6	2.9	2.1	2.3	2.6	2.9
维生素预混料Vitamin premix ¹	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
矿物质预混料Mineral premix ²	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
其他组分Others	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4
化学组分Chemical compositions (%)								
水分Moisture	8.8	9.1	10.1	8.9	9.2	9.3	8.5	9.2
粗蛋白Crude protein	27.88	26.15	23.85	21.73	28.24	25.93	24.05	22.27
粗脂肪Crude lipid	4.72	4.62	4.62	4.62	4.74	4.65	4.65	4.64
灰分Ash	11.0	10.9	10.9	10.7	9.9	9.8	9.9	10.3
淀粉Starch	29.52	30.35	30.86	30.39	36.10	36.73	36.03	37.56
可消化能Digestible energy ³ (kJ/g)	12.16	11.95	11.77	11.58	13.11	12.90	12.72	12.53

注: 1. 维生素预混物(mg/kg饲料): 维生素B₁, 20; 维生素B₂, 20; 维生素B₆, 20; 维生素B₁₂, 0.020; 叶酸, 5; 泛酸钙, 50; 肌醇, 100; 烟酸, 100; 生物素, 0.1; 淀粉, 645.2; 维生素C, 100; 维生素A, 110; 维生素D, 20; 维生素E, 50; 维生素K, 10; 2. 矿物质预混物(mg/kg饲料): NaCl, 500; MgSO₄·7H₂O, 4575.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 12500.0; KH₂PO₄, 16000.0; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 6850.0; FeSO₄, 1250.0; C₆H₁₀CaO₆·5H₂O, 1750.0; ZnSO₄·7H₂O, 111.0; MnSO₄·4H₂O, 61.4; CuSO₄·5H₂O, 15.5; CoSO₄·6H₂O, 19.02; KI, 178.33; 玉米淀粉, 6253.33; 3. 计算值

Note: 1. Vitamin premix (mg/kg diet): thiamin, 20; riboflavin, 20; pyridoxine, 20; cyanocobalamin, 0.020; folic acid, 5; calcium pantothenate, 50; inositol, 100; niacin, 100; biotin, 0.1; Starch, 645.2; ascorbic acid, 100; Vitamin A, 110; Vitamin D, 20; Vitamin E, 50; Vitamin K, 10; 2. Mineral premix (mg/kg diet): NaCl, 500; MgSO₄·7H₂O, 4575.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 12500.0; KH₂PO₄, 16000.0; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 6850.0; FeSO₄, 1250.0; C₆H₁₀CaO₆·5H₂O, 1750.0; ZnSO₄·7H₂O, 111.0; MnSO₄·4H₂O, 61.4; CuSO₄·5H₂O, 15.5; CoSO₄·6H₂O, 19.02; KI, 178.33; Corn starch, 6253.33; 3. By calculation

网箱规格为2 m×2 m×2 m, 每个处理组设置3个重复。在实验期间采用自动投饵仪于每天7:00、12:00、17:00投喂3次, 采取等量投喂策略, 投喂率约为体重的1.6%—2.0%, 保证每个网箱均没有剩料。实验期间每周测量池塘的水质情况, 氨氮0.2—0.6 mg/L, 溶氧大于4 mg O₂/L, pH 6.7—7.0。实验期间的水温为26—33℃。

1.3 实验取样及样品分析

养殖56d后, 停喂1d, 于次日7:00对各网箱的实验鱼进行集体称重, 并清点终末实验鱼尾数。然后从每个网箱挑选2尾实验鱼, 用剪刀从左侧打开腹腔, 从距离草鱼肝脏大叶边缘1 cm处采集约1 cm×1 cm大小的肝脏组织, 立即置于4%甲醛溶液中固定, 然后带回实验室按照常规组织切片法进行脱水、石蜡包埋、切片和HE染色(苏木精-伊红), 在显微镜下观察肝脏组织形态并拍照。

实验饲料营养组分的测定采用AOAC(1995)的方法: 水分含量在105℃烘箱中烘至恒重测定。粗蛋白含量采用凯氏定氮法(Kjeltec 2300 Analyzer, Foss Tecator, Sweden)测定样品含氮量, 然后乘以

6.25得粗蛋白含量。粗脂肪采用索氏抽提仪(Soxtec System HT6, Tecator, Hoganas, Sweden)测定。灰分含量在马弗炉中550℃灼烧至恒重测定。淀粉采用GB/T 5009.9-2008的方法测定。可消化能是通过三大营养素的生理热价计算而来: 碳水化合物为4.0 kcal/g, 蛋白质为4.0 kcal/g, 脂肪为9.0 kcal/g^[12]。

1.4 数据处理及统计分析

实验鱼的终末体重(Final body weight, *FBW*)、特定生长率(Specific growth rate, *SGR*)、增重率(Weight gain, *WG*)、饲料系数(Feed conversion ratio, *FCR*)的计算公式如下:

$$\text{终末体重}(FBW, g) = \text{终末总重} / \text{尾数}$$

$$\text{特定生长率}(SGR, \% / d) = 100\% \times (\ln \text{鱼体末重} - \ln \text{鱼体初重}) / \text{天数}$$

$$\text{增重率}(WG, \%) = 100\% \times (\text{鱼体末重} - \text{鱼体初重}) / \text{鱼体初重}$$

$$\text{饲料系数}(FCR) = \text{摄食量} / (\text{鱼体末重} - \text{鱼体初重})$$

实验数据以平均值±标准误(Means±SE)表示, 所有实验数据采用Statistica 12.5 for Windows进行双因素方差分析(Two-way ANOVA), 用Duncan氏

表2 大规格(1970 g)草鱼实验料配方及营养组分(%以风干样为基础)

Tab. 2 Formulation and nutrient contents of experimental diets of large-size (1970 g) grass carp (% air-dry basis)

原料Ingredients (%)	饲料组Diet							
	24P/30S	22P/30S	20P/30S	18P/30S	24P/40S	22P/40S	20P/40S	18P/40S
小麦淀粉Wheat starch	30	30	30	30	40	40	40	40
豆粕Soybean meal	15	15	15	15	15	15	15	15
鱼粉Fish meal	28.2	25	21.8	18.6	28.2	25	21.8	18.6
统糠Unite bran	19.9	22.8	25.7	28.6	9.9	12.8	15.7	18.6
大豆油Soybean oil	2.8	3.1	3.4	3.7	2.8	3.1	3.4	3.7
维生素预混料Vitamin premix ¹	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
矿物盐预混料Mineral premix ²	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
其他组分Others	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4	3.4
化学组分Chemical compositions (%)								
水分Moisture	8.9	9.2	9.0	8.5	9.1	7.9	8.6	9.0
粗蛋白Crude protein	23.77	21.82	20.05	17.92	24.21	21.95	20.27	18.21
粗脂肪Crude lipid	4.8	4.9	4.9	5.0	4.8	4.9	4.9	5.0
灰分Ash	11.3	11.4	11.5	10.9	10.5	10.7	9.9	10.2
淀粉Starch	28.4	28.9	29.5	30.0	35.3	35.8	36.3	36.9
可消化能Digestible energy ³ (kJ/g)	10.32	10.11	9.90	9.69	10.92	10.71	10.50	10.29

注: 1. 维生素预混物(mg/kg饲料): 维生素B1, 20; 维生素B2, 20; 维生素B6, 20; 维生素B12, 0.020; 叶酸, 5; 泛酸钙, 50; 肌醇, 100; 烟酸, 100; 生物素, 0.1; 淀粉, 645.2; 维生素C, 100; 维生素A, 110; 维生素D, 20; 维生素E, 50; 维生素K, 10; 2. 矿物盐预混物(mg/kg饲料) NaCl, 500; MgSO₄·7H₂O, 4575.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 12500.0; KH₂PO₄, 16000.0; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 6850.0; FeSO₄, 1250.0; C₆H₁₀CaO₆·5H₂O, 1750.0; ZnSO₄·7H₂O, 111.0; MnSO₄·4H₂O, 61.4; CuSO₄·5H₂O, 15.5; CoSO₄·6H₂O, 19.02; KI, 178.33; 玉米淀粉, 6253.33; 3. 计算值

Note: 1. Vitamin premix (mg/kg diet): thiamin, 20; riboflavin, 20; pyridoxine, 20; cyanocobalamine, 0.020; folic acid, 5; calcium pantothenate, 50; inositol, 100; niacin, 100; biotin, 0.1; Starch, 645.2; ascorbic acid, 100; Vitamin A, 110; Vitamin D, 20; Vitamin E, 50; Vitamin K, 10; 2. Mineral premix (mg/kg diet): NaCl, 500; MgSO₄·7H₂O, 4575.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 12500.0; KH₂PO₄, 16000.0; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 6850.0; FeSO₄, 1250.0; C₆H₁₀CaO₆·5H₂O, 1750.0; ZnSO₄·7H₂O, 111.0; MnSO₄·4H₂O, 61.4; CuSO₄·5H₂O, 15.5; CoSO₄·6H₂O, 19.02; KI, 178.33; Corn starch, 6253.33; 3. By calculation

多重比较分析组间的差异显著性, 显著水平设为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 存活率

在本实验条件和养殖管理下, 中规格和大规格草鱼各组存活率均为100%。

2.2 生长与饲料利用

中规格草鱼的生长与饲料利用 从表3方差分析的结果可以看出, 饲料蛋白水平和淀粉添加水平均对中规格草鱼的末均重、特定生长率、增重率、饲料系数均无显著交互作用影响($P > 0.05$); 而饲料蛋白水平和饲料淀粉水平分别对鱼体生长和饲料利用有显著影响($P < 0.05$)。35%小麦淀粉组的生长性能显著高于25%小麦淀粉组($P < 0.05$); 同时35%淀粉组的饲料系数显著低于25%淀粉组的($P < 0.05$)。中规格草鱼的生长随着饲料蛋白水平的提高而显著上升($P < 0.05$), 其中28%蛋白组的生长性能显著高于其他蛋白水平组的($P < 0.05$); 同时28%蛋白组的饲料系数显著低于其他蛋白组的($P < 0.05$)。

图1中规格草鱼增重率的表达趋势清晰地显示了淀粉对蛋白的节约效应: 比如CP22+S35 \approx CP24+S25; CP24+S35 \approx CP26+S25。从规律性数据的表达上推测: 在图1所有数据点的封闭范围内可能存在着连续性的淀粉对蛋白节约效应的关系。

大规格草鱼的生长与饲料利用 从表4方差分析的结果可以看出, 饲料蛋白水平和淀粉添加水平对大规格草鱼的末均重、特定生长率、增重率、饲料系数均无显著交互作用影响($P > 0.05$); 而饲料蛋白水平和饲料淀粉水平分别对鱼体生长和饲料利用有显著影响($P < 0.05$)。40%小麦淀粉组的生长性能显著高于30%小麦淀粉组($P < 0.05$); 同时40%淀粉组的饲料系数显著低于30%淀粉组($P < 0.05$)。大规格草鱼的生长随着饲料蛋白水平的提高而显著上升($P < 0.05$), 但是当蛋白水平大于20%之后差异不显著($P > 0.05$); 同时18%蛋白组的饲料系数显著高于其他蛋白组($P < 0.05$)。

图2大规格草鱼增重率的表达趋势清晰地显示了淀粉对蛋白的节约效应: 比如CP18+S40 \approx CP20+S30; CP20+S40 $>$ CP22+S30。从规律性数据的表达上推测: 在图2所有数据点的封闭范围内可能存在

表3 饲料蛋白和小麦淀粉水平对中规格(460 g)草鱼生长及饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of dietary protein and wheat starch on growth and feed utilization of medium-size (460 g) grass carp

组别Group	末体重FBW (g)	特定生长率SGR (%/d)	增重率WG (%)	饲料系数FCR
CP28/S25	1084 \pm 12.5	1.54 \pm 0.019	136.4 \pm 2.56	1.10 \pm 0.021
CP26/S25	1072 \pm 3.47	1.52 \pm 0.007	133.7 \pm 0.91	1.12 \pm 0.007
CP24/S25	1052 \pm 3.75	1.48 \pm 0.008	129.5 \pm 0.98	1.16 \pm 0.008
CP22/S25	1034 \pm 2.89	1.45 \pm 0.006	125.1 \pm 0.70	1.20 \pm 0.006
CP28/S35	1125 \pm 10.6	1.60 \pm 0.018	145.2 \pm 2.47	1.03 \pm 0.017
CP26/S35	1081 \pm 3.19	1.53 \pm 0.006	135.1 \pm 0.82	1.11 \pm 0.006
CP24/S35	1070 \pm 3.46	1.51 \pm 0.007	133.5 \pm 0.90	1.13 \pm 0.007
CP22/S35	1055 \pm 2.09	1.49 \pm 0.005	130.0 \pm 0.65	1.15 \pm 0.005
蛋白质水平Protein levels (%)				
CP28	1104 \pm 11.7 ^c	1.57 \pm 0.02 ^c	140.8 \pm 2.53 ^c	1.07 \pm 0.02 ^a
CP26	1076 \pm 2.88 ^b	1.52 \pm 0.00 ^b	134.4 \pm 0.63 ^b	1.12 \pm 0.01 ^b
CP24	1061 \pm 4.69 ^{ab}	1.50 \pm 0.01 ^{ab}	131.5 \pm 1.07 ^{ab}	1.14 \pm 0.01 ^{bc}
CP22	1022 \pm 4.94 ^a	1.47 \pm 0.01 ^a	127.5 \pm 1.17 ^a	1.18 \pm 0.01 ^c
小麦淀粉水平Wheat starch levels (%)				
S25	1060 \pm 6.47 ^A	1.50 \pm 0.01	131.2 \pm 1.44	1.15 \pm 0.01 ^B
S35	1083 \pm 8.23 ^B	1.53 \pm 0.01	136.0 \pm 1.81	1.11 \pm 0.01 ^A
双因素方差分析Two-way ANOVA				
淀粉Starch	0.0002	0.0002	0.0003	0.0001
蛋白Protein	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
交互Interaction	0.1257	0.1346	0.1261	0.1587

注: 同列数据肩标含不同小写字母表示主因子饲料蛋白质水平的影响显著($P < 0.05$); 同列数据肩标含不同大写字母表示主因子饲料小麦淀粉水平的影响显著($P < 0.05$); 下同

Note: Means in the same column with different lower-case letters are significantly different by dietary protein levels ($P < 0.05$); Means in the same column with different capitals are significantly different by dietary wheat starch levels ($P < 0.05$); the same applies below

着连续性的淀粉对蛋白节约效应的关系。

2.3 肝脏组织结构

如图 3 所示, 各处理组的中规格草鱼的肝细胞形态正常, 肝细胞界限清晰且呈线性, 肝细胞核显色清楚, 并基本位于细胞中央, 细胞质着色明显。5 组(P28/S35)和 6 组(P26/S35)的高营养组肝脏细胞面积略大, 尤其是 5 组的肝脏细胞的细胞质染色较淡, 但是基本也处于正常状态。

如图 4 所示, 各处理组大规格草鱼的肝脏组织结构没有明显差别, 肝细胞排列整齐, 大小均一, 细

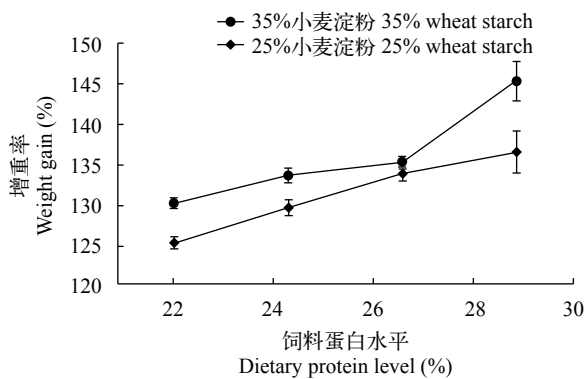


图 1 饲料蛋白水平和小麦淀粉添加水平对中规格(460 g)草鱼增重率的影响

Fig. 1 Effects of dietary protein and wheat starch on weight gain of medium-size (460 g) grass carp

胞核形态明显, 且基本都居于细胞中间位置; 肝细胞间界限呈清晰的线形。但是大规格草鱼比中规格草鱼的肝脏细胞更大, 细胞质染色也较淡。

3 讨论

3.1 生长与饲料利用

国内外有一系列关于草鱼对蛋白和碳水化合物利用关系的报道。Dabrowski^[2]以酪蛋白为蛋白源配置蛋白水平为 15%、25%、35%、45%、55% 和 65% 的 6 种配合饲料, 同时用水解淀粉填充配方空间(纤维素水平为 1%), 喂养初始体重为 0.14—0.20 g 的草鱼稚鱼, 得出其对蛋白的需求量为占饲料的 41%—43% (此时的淀粉含量约为 46%)。王胜^[13]以酪蛋白和明胶为蛋白源配置饲料蛋白水平分别为 18%、23%、29%、34%、40% 和 45% 的 6 种配合饲料, 同时用糊精填充蛋白源梯度造成的配方空间差异(纤维素水平为 23.19%), 最后用折线拟合得到初始体重 7.43 g 的草鱼的蛋白需求为 39.14% (此时的糊精含量约 15%)。李彬^[14]研究了 3 种不同规格草鱼的蛋白需求, 曲线拟合得到初重 12.17 g 草鱼的蛋白需求为 31.27% (此时的淀粉总含量约为 44%); 初重 209 g 草鱼的蛋白需求为 26.5% (此时的淀粉总量约 45%); 初重 454 g 草鱼的蛋白需求为 25.82% (淀粉

表 4 饲料蛋白和淀粉添加水平对大规格(1970 g)草鱼生长及饲料利用的影响

Tab. 4 Effects of dietary protein levels and wheat starch on growth and feed utilization of large-size (1970 g) grass carp

组别 Group	末体重 FBW (g)	特定生长率 SGR (%/d)	增重率 WG (%)	饲料系数 FCR
CP24/S30	3619±26.9	1.09±0.01	83.95±1.37	1.73±0.03
CP22/S30	3657±15.3	1.11±0.01	85.81±0.63	1.69±0.01
CP20/S30	3624±24.6	1.09±0.01	84.12±1.12	1.73±0.02
CP18/S30	3534±26.4	1.05±0.01	79.72±1.32	1.82±0.03
CP24/S40	3748±21.7	1.15±0.01	90.49±1.11	1.61±0.02
CP22/S40	3721±39.7	1.14±0.02	89.10±1.88	1.63±0.04
CP20/S40	3685±24.5	1.12±0.01	87.29±1.16	1.66±0.02
CP18/S40	3616±5.31	1.09±0.00	83.77±0.13	1.73±0.00
蛋白质水平 Protein levels (%)				
CP24	3684±32.7 ^b	1.12±0.02 ^b	87.22±1.66 ^b	1.67±0.03 ^b
CP22	3689±23.7 ^b	1.12±0.01 ^b	87.46±1.15 ^b	1.66±0.02 ^b
CP20	3655±20.6 ^b	1.11±0.01 ^b	85.71±1.01 ^b	1.70±0.02 ^b
CP18	3575±21.8 ^a	1.07±0.01 ^a	81.75±1.09 ^a	1.78±0.02 ^a
小麦淀粉水平 Wheat starch levels (%)				
S30	3609±59.0 ^A	1.08±0.01 ^A	83.40±0.84 ^A	1.74±0.02 ^B
S40	3692±64.3 ^B	1.12±0.01 ^B	87.67±0.92 ^B	1.66±0.02 ^A
双因素方差分析 Two-way ANOVA				
淀粉 Starch	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001
蛋白 Protein	0.0010	0.0006	0.0007	0.0006
交互 Interaction	0.5107	0.4877	0.4812	0.5058

总量约23%)。Jin等^[3]以初重4.27 g的草鱼为研究对象,以酪蛋白和明胶为蛋白源,以玉米淀粉为糖源,每种饲料添加20%的微晶纤维素,结果表明蛋白水平40%,玉米淀粉添加量为18.8%的饲料组生长性能最好。Xu等^[9]以初重264 g的草鱼为研究对象,以鱼粉、酪蛋白和明胶为蛋白源,以 α 淀粉和玉米淀粉为糖源,每种饲料含有5%的微晶纤维素,结果表明获得最大生长时的饲料粗蛋白含量为28.62% (可消化蛋白含量25.07%),此时的饲料淀粉含量约为

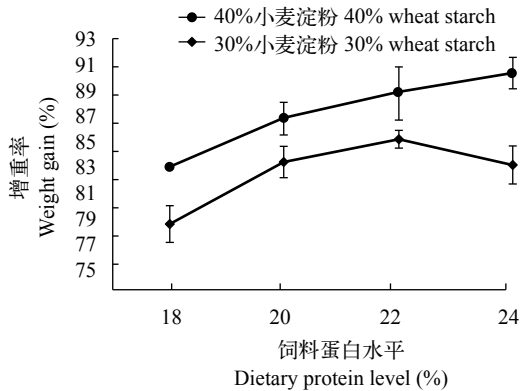


图2 饲料蛋白水平和小麦淀粉添加水平对大规模(1970 g)草鱼增重率的影响

Fig. 2 The effect of dietary protein and wheat starch on weight gain of large-size (1970 g) grass carp

50%。从上述研究可以看出研究结论的差异,不仅源于鱼体规格、蛋白源、饲料脂肪水平等的不同,还源于饲料中淀粉的用量以及其与蛋白水平组合的差异。虽然Cui和Liu^[15-17]对草鱼的能量收支及能量需求开展了一系列的深入研究,但是由于原料数据缺失等原因导致草鱼配合饲料的总能设定并没有清晰的界定。因此研究者用与蛋白质的生理热值相近的淀粉去平衡饲料的总能虽然具有实际的科学意义,却可能因为总能的设定的局限而影响草鱼生长性能的继续提升。因此,本实验采用了双因子实验设计研究蛋白与碳水化合物的关系,2个淀粉添加水平和4个蛋白水平的正交设计形成了8个不同的饲料能量水平,通过这种开放式设计探求草鱼更高生长性能对应的营养素需求水平以及淀粉对蛋白的节约效应。

本研究实验结果表明:(1)对中规格草鱼(初重460 g/尾)而言,饲料蛋白水平28%,小麦淀粉添加35%时,草鱼获得显著高于其他各组的生长性能,此时的饲料系数低至1.03。这说明在高淀粉水平(35%)下,28%的饲料蛋白可以很大限度的用于机体蛋白的生物合成,体现了淀粉对蛋白良好的节约效应。(2)对大规模草鱼(1970 g/尾)而言,饲料蛋白水平不能低于20%,否则会因为氨基酸摄入的不足

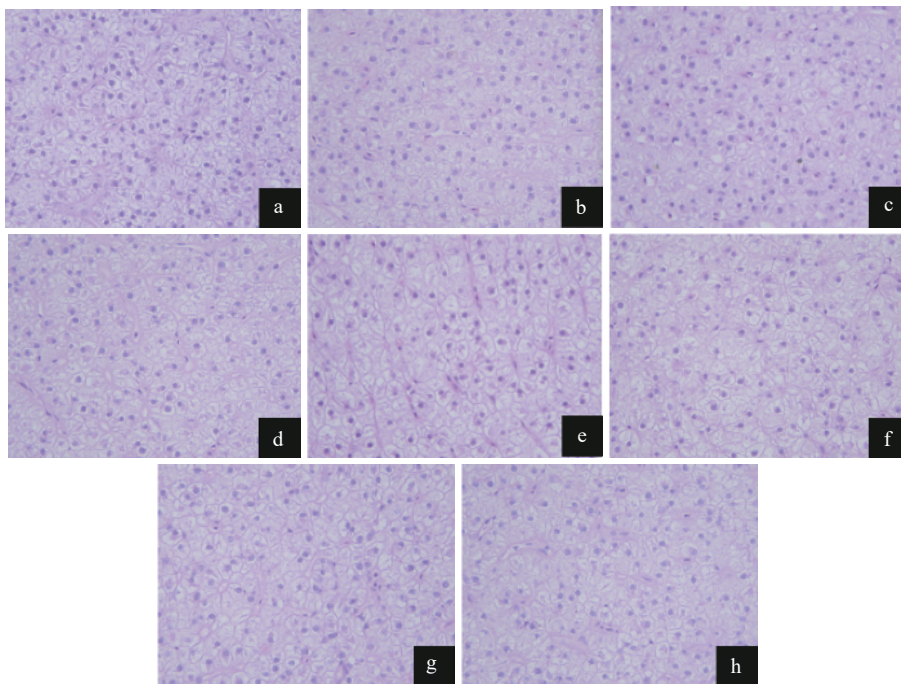


图3 饲料蛋白和淀粉水平对中规格草鱼(460 g)肝脏组织结构的影响(10×40倍)

Fig. 3 The effect of dietary protein and wheat starch on liver histology of medium-size grass carp (460 g, 10×40 times)

a, b, c, d, e, f, g, h分别为P28/S25、P26/S25、P24/S25、P22/S25、P28/S35、P26/S35、P24/S35、P22/S35组草鱼的肝脏切片;下同

a, b, c, d, e, f, g and h of fig 3 was liver histology of grass carp for P28/S25, P26/S25, P24/S25, P22/S25, P28/S35, P26/S35, P24/S35 and P22/S35 group, respectively. The same applies below

而影响机体生物合成。有关草鱼蛋白需求的研究很多,但是对中大规格草鱼的研究,仅有Xu等^[9]指出初重264 g草鱼的蛋白需求为28%;李彬^[14]认为初重209 g和454 g草鱼的蛋白需求分别为26.5%和25.82%。本研究结论与这些研究结论的差异,主要源于鱼体规格、饲料营养结构、以及实验设计等的不同。(3)本研究表明,中规格草鱼饲料中的淀粉添加至少可达到35%,大规格草鱼饲料中的淀粉添加至少可达到40%。在蛋白需求的研究中,Dabrowski^[2]得出草鱼稚鱼最佳生长时对应的饲料淀粉含量约46%;Jin等^[3]得出4.27 g初重的草鱼最佳生长时对应的饲料淀粉含量约18.8%;Xu等^[9]得出264 g初重的草鱼最佳生长时对应的饲料淀粉含量约为50%;李彬^[14]得出初重12.17、209和454 g的3个规格的草鱼最佳生长时对应的饲料淀粉含量分别约为44%、45%和23%。由此可见,由于不同的研究者采用的鱼体规格、实验料其他营养结构等的不同,导致获得最佳生长的饲料组淀粉水平有较大差异(18.8%—46%)。这在草鱼对淀粉的需求研究中也有证实:潘庆等^[18]认为当饲料蛋白水平27%时,初重7.09 g草鱼可以耐受35%水平的淀粉添加;Tian等^[5]在饲料蛋白23%时研究6.9 g初重的草鱼对小麦淀粉的需求,结果表明饲料小麦淀粉的含量应该低于33%。李向松^[19]在饲料蛋白38%时研究6.5 g初重的草鱼对玉米淀粉的需求,结果表明饲料玉米

淀粉的含量应该低于38%。这些研究进一步证实了草食性的草鱼对淀粉的耐受范围较大,高水平添加也不会对鱼体的生长产生负面影响。目前草鱼商品饲料中一般仅添加20%左右(折合无氮浸出物含量约15%)的谷物类原料(如小麦、大麦、木薯等)用以保证饲料加工工艺。本研究结果提示在草鱼配方策略中可以考虑通过大幅提高碳水化合物水平来提升饲料效果。(4)碳水化合物对蛋白节约的另一种重要体现形式就是低蛋白高淀粉的合可以达到甚至超越高蛋白低淀粉组的养殖效果。本实验的生长数据表明,中规格草鱼中CP22+S35≈CP24+S25, CP24+S35≈CP26+S25;大规格草鱼中CP18+S40≈CP20+S30; CP20+S40>CP22+S30。这提示我们可以采取适当降低蛋白提高碳水化合物的策略。虽然鱼虾对饲料中碳水化合物的利用能力不如陆生脊椎动物高,但在饲料中适度的添加却能够改善鱼体生长、节约蛋白质和提高饲料利用率。其原因是碳水化合物用在体内用于分解供能,其他营养素如蛋白质就能最大化用于生长^[5]。但是有关碳水化合物对蛋白的节约效率有待进一步深入精确的研究^[20]。

3.2 肝脏组织结构

肝是鱼类代谢和免疫的重要器官,鱼体摄入营养结构不当的饲料会对鱼体肝脏组织造成一定的营养胁迫,进而损害肝脏的正常结构和功能。郭小

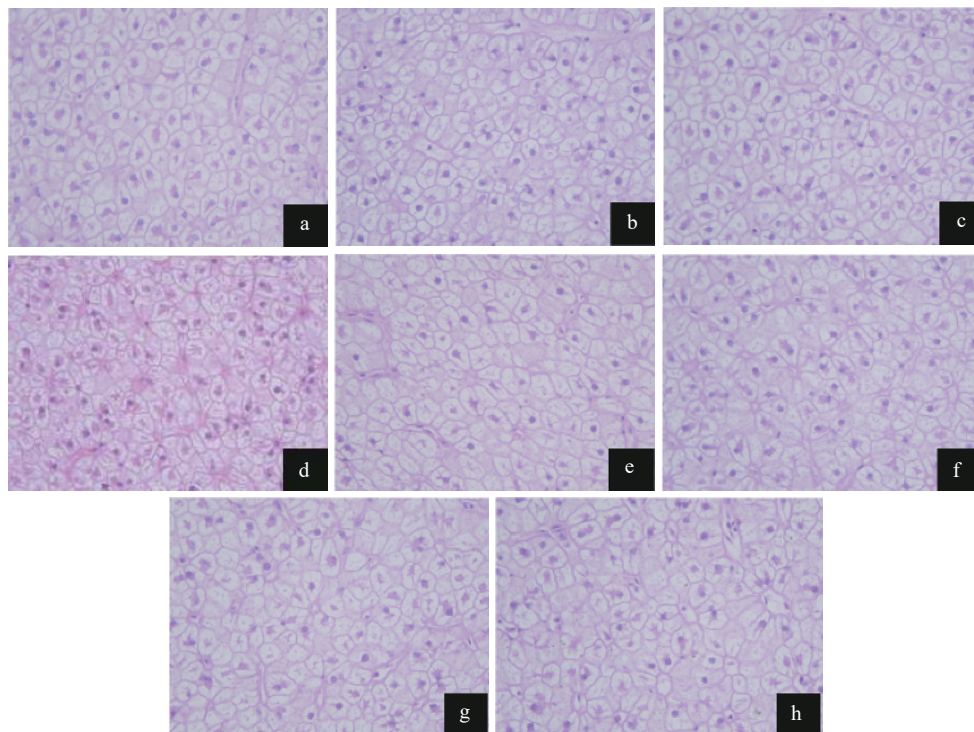


图4 饲料蛋白和淀粉水平对大规格草鱼(1970 g)肝脏组织形态的影响(10×40倍)

Fig. 4 The effect of dietary protein and wheat starch on liver histology of large-size grass carp (1970 g) (10×40 times)

泽等^[8]在饲料蛋白30%, 脂肪3%时研究高糖饲料(无氮浸出物约为42%)对初重60 g草鱼的影响, 其结果显示高糖饲料导致肝脏细胞严重肿大变形, 细胞中充满脂肪滴, 细胞核挤压至一侧, 甚至出现细胞核萎缩或消失, 呈现透明的空泡化。但是在本研究中, 两种规格的草鱼肝脏组织都未受到饲料营养结构的显著影响, 这可能是本实验中饲料碳水化合物水平、鱼体规格、投喂量等的不同导致。值得一提的是, 在本实验条件下, 2种规格草鱼的肝脏细胞中均未出现明显的脂肪滴, 而本团队在同期开展的罗非鱼实验中发现, 在35%淀粉水平下罗非鱼的肝脏细胞中就出现了非常明显的脂肪滴的积累(未发表), 这也在一定程度上说明草鱼对碳水化合物的耐受能力优于罗非鱼。同时, 本实验中大规格草鱼比中规格草鱼的肝细胞明显偏大, 而且细胞质染色较淡, 说明大规格草鱼较中规格草鱼的肝脏代谢负荷大, 这可能是草鱼生长阶段的不同所致。

4 总结

在本实验条件下, 中规格(初重460 g/尾)和大规格(初重1970 g/尾)草鱼分别在饲料小麦淀粉水平35%和40%以内时, 可以有效地利用淀粉节约饲料蛋白而不造成肝脏组织损伤, 由此可为中大规格草鱼商业饲料提供多种有效的配方策略。而有关草鱼利用碳水化合物节约饲料蛋白相对效率还需要进行更为精确的研究。值得一提的是, 本研究的结果在实际应用中需要注意不同来源的无氮浸出物效价的差异以及实际生产中投喂率的不同。

参考文献:

- [1] Jin Y, Tian L X, Zeng S L, *et al.* Dietary lipid requirement on non-specific immune responses in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, **34**(5): 1202—1208
- [2] Dabrowski K. Protein requirements of grass carp fry (*Ctenopharyngodon idella* Val.) [J]. *Aquaculture*, 1977, **12**(1): 63—73
- [3] Jin Y, Tian L X, Xie S W, *et al.* Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture*, 2015, **437**: 75—83
- [4] Du Z Y, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2005, **11**: 139—146
- [5] Tian L X, Liu Y J, Yang H J, *et al.* Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture International*, 2012, **20**(2): 283—293
- [6] Sadasivam, J K, Aires de O T. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 1985, **50**(1-2): 89—101
- [7] Yong W Y, Huang Z Z, Liao Z X, *et al.* Effect of dietary lipid level on growth of grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 1985, **6**: 11—14 [雍文岳, 黄志忠, 廖朝兴, 等. 饲料中脂肪量对草鱼生长的影响. 淡水渔业, 1985, **6**: 11—14]
- [8] Guo X Z, Liang X F, Fang L, *et al.* Effect of non-protein energy sources on biochemical indices and histology of liver in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(3): 582—587 [郭小泽, 梁旭方, 方刘, 等. 饲料非蛋白能量源对草鱼血清生化指标和肝脏组织的影响. 水生生物学报, 2014, **38**(3): 582—587]
- [9] Xu J, Wu P, Jiang W D, *et al.* Optimal dietary protein level improved growth, disease resistance, intestinal immune and physical barrier function of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, **55**: 64—87
- [10] Tu Y Q, Han D, Zhu X M, *et al.* Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of *Cyprinus longipectoralis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(5): 843—850 [涂永芹, 韩冬, 朱晓鸣, 等. 饲料中不同蛋白、脂肪水平对春鲤生长、饲料利用和体成分的影响. 水生生物学报, 2012, **36**(5): 843—850]
- [11] Tian J, Gao P, Jiang M, *et al.* Effect of dietary protein-energy ratios on growth performance, protein efficiency and body composition of juvenile *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, **46**(4): 83—90 [田娟, 高攀, 蒋明, 等. 饲料蛋白能量比对草鱼幼鱼生长性能、蛋白利用和体成分的影响. 淡水渔业, 2016, **46**(4): 83—90]
- [12] Lee D J, Putnam G B. The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet [J]. *Journal of Nutrition*, 1973, **103**(6): 916—922
- [13] Wang S. Studies on protein and essential amino acid requirements of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (C. et V.) [D]. Thesis for Doctor of Science. Sun Yat-sen University, Guangzhou. 2006 [王胜. 草鱼幼鱼蛋白质和主要必需氨基酸需求的研究. 博士学位论文, 中山大学, 广州. 2006]
- [14] Li B. Effects of dietary protein levels on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) in three growth stages [D]. Thesis for Master of Science. Huazhong Agricultural University, Wuhan. 2014 [李彬. 饲料蛋白质水平对三种规格草鱼生长、饲料利用以及氮代谢的影响. 硕士学位论文, 华中农业大学, 武汉. 2014]
- [15] Cui Y B, Liu J K. Comparison of energy budget among

- six teleosts- I . Food consumption, faecal production and nitrogenous excretion [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1990, **96A**(1): 163—171
- [16] Cui Y B, Liu J K. Comparison of energy budget among six teleosts- II . Metabolic rates [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1990, **97A**(1): 169—174
- [17] Cui Y B, Liu J K. Comparison of energy budget among six teleosts-III. Growth rate and energy budget [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1990, **97A**(3): 381—384
- [18] Pan Q, Liao X H. Studies on digestibility and utilization of starch diets in grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (C. et V.) [J]. *Supplement to the Journal of Sun Yat-Sen University*, 1997, **5**: 86—89 [潘庆, 廖翔华. 草鱼对淀粉饲料的消化吸收和利用. 中山大学学报论丛, 1997, **5**: 86—89]
- [19] Li X S. Dietary carbohydrate utilization in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CASIII) and black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [D]. Thesis for Doctor of Science. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan. 2014 [李向松. 草鱼、异育银鲫鱼和青鱼对饲料中碳水化合物利用的研究. 博士学位论文, 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 2014]
- [20] Fu S J, Xie X J, Zhang W B, *et al.* The nutrition of silurus meridionalis: III. Protein-sparing effect of dietary lipid [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(1): 70—75 [付世建, 谢小军, 张文兵, 等. 南方鲇的营养学研究: III. 饲料脂肪对蛋白质的节约效应. 水生生物学报, 2001, **25**(1): 70—75]

EFFECTS OF DIETARY PROTEIN AND WHEAT STARCH ON GROWTH AND LIVER STRUCTURE OF GRASS CARP, *CTENOPHARYNGODON IDELLA*

DONG Xiao-Lin¹, QIAN Xue-Qiao¹, LIU Jia-Shou², CHEN Jia-Lin¹, WANG Zheng-Kai¹,
FAN Hua¹, JIANG Rui-Li¹ and ZHOU Yi-Yong²

(1. Haid Central Research Institute, Key Laboratory of Microecological Resources and Utilization in Breeding Industry, Ministry of Agriculture, Animal Husbandry and Fisheries Research Center, Guangdong Haid Group Co., Ltd., Guangzhou 511400, China;
2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: To study effects of dietary carbohydrates and proteins on the growth of grass carp, we formulated a factorial design of 2×4 diets with medium-size (460 g) and large-size (1970 g) grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Two dietary starch levels of 25% and 35% and four protein levels of 22%, 24%, 26% and 28% were fed with medium-size grass carp for 56d with same quantity of food. Two dietary starch levels of 30% and 40% and four protein levels of 18%, 20%, 22% and 24% were fed large-size grass carp. The results showed that the growth performance of the medium-size grass carp increased significantly with increased protein level with the highest effect in the 28% protein group ($P<0.05$), and the growth performance of 35% wheat starch group was significantly higher than that of the 25% group ($P<0.05$). The growth performance of large-size grass carp increased significantly with the increased protein level with the peak level at 20% ($P>0.05$). The growth performance of the 40% wheat starch group was significantly higher than that of the 30% group ($P<0.05$). No significant negative effects on liver tissues were observed by adding 35% or 40% wheat starch in both groups of grass carp. These results revealed that grass carp can effectively utilize starch to save feed protein when the wheat starch level of the feed was below 35% and 40%, respectively.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; Protein level; Starch level; Growth performance; Liver structure