

应用 Cornell 方法对重口裂腹鱼 [*Schizothorax (Racoma) davidi*] 幼鱼适宜常量营养物质需求量研究*

宁毅 冯健 何姝珍 孙晓峰 陈斌

(广西大学水产研究所 南宁 530004)

摘要 采用 Cornell 方法研究了初始重为(2.0±0.1)g 的重口裂腹鱼幼鱼日粮中常量营养物质的适宜需求量。日粮中蛋白质、脂肪和碳水化合物梯度变化范围分别为 33%—51%、3%—18%和 24%—33%，试验周期为 60d。试验结果表明，除日粮蛋白质 33%组鱼成活率明显下降外($P<0.05$)，其它试验日粮中 3 种常量营养物质含量对重口裂腹鱼幼鱼成活率没有显著影响($P>0.05$)。当日粮蛋白质水平 45%时，其特定生长率随着日粮蛋白质水平上升而明显增加；当日粮蛋白质水平在 33%—36%时，重口裂腹鱼的特定生长率显著降低($P<0.05$)。除 12%日粮脂肪组试验鱼外，9%日粮脂肪组试验鱼的特定生长率显著性高于其它脂肪水平日粮组($P<0.05$)，但当日粮中脂肪含量 15%后，重口裂腹鱼鱼体脂肪含量显著上升($P<0.05$)，肝细胞脂肪变性明显。日粮中不同的碳水化合物水平对重口裂腹鱼特定生长率没有显著影响($P>0.05$)，但当日粮中碳水化合物为 33%时，鱼体糖原含量显著增加($P<0.05$)。试验表明，重口裂腹鱼幼鱼日粮蛋白质、脂肪和碳水化合物 3 种常量营养物质的适宜需求量分别为 45%、9%和 30%。日粮总能为 19.0MJ/kg，蛋白质能量比(P/E)为 23mg/J。

关键词 重口裂腹鱼，常量营养物质，蛋白质，脂肪，碳水化合物

中图分类号 S963.73

蛋白质、脂肪和碳水化合物这是养殖鱼类日粮的三种基本常量营养物质，其在日粮中的适宜添加量是鱼类营养需要量研究的首要基本内容(Halver *et al.*, 2002; 徐维娜等, 2011)。在鱼类日粮适宜常量营养物质需要研究中，目前上大多采用传统的 ANOVA 方差分析方法，即在设计试验日粮配方中只有一种常量营养物质为变量，每个试验组须设 3 个以上平行组，每次试验只能确定日粮中一种常量营养物质的适宜需要量。由于鱼类蛋白质、脂肪和碳水化合物这三种常量营养物质在机体代谢与能量转化方面有密切的关系，所以一般鱼类日粮中这三种常量营养物质的适宜需要量需要多次试验与评价才能确定，如在鲑科鱼的初期研究认为其日粮蛋白质适宜需要量为

55%—60%，但以后研究发现日粮脂肪具有较好的节约蛋白质效果，其营养标准中日粮蛋白质适宜需要量大幅下降为 38%左右(Einen *et al.*, 1997; NRC, 1993)。Cornell 方法是一种在设定的变化范围内，对 3 个具有相关关系的变量进行同时、连续、系统变化研究较新的随机数学模型，在水产营养研究中，它满足了上述 3 种常量营养物质研究的特性，通过一次试验就可以得到养殖鱼类适宜的日粮蛋白质、脂肪和碳水化合物需要量，弥补了传统的 ANOVA 方法的缺陷(Cornell, 1990)。近年来，已有采用该方法对海水鱼类，如大西洋比目鱼(*Hippoglossus hippoglossus* L.)和鳕鱼(*Gadus morhua* L.)幼鱼日粮中适宜的蛋白质、脂肪和碳水化合物需要量研究的一些报道(Hamre, 2003;

* 广西南宁市科技局项目，201003071G 号。宁毅，硕士研究生，E-mail: 358820139@qq.com

通讯作者：冯健，教授，德国慕尼黑大学博士(VMD)，E-mail: fengjian08@163.com

收稿日期：2011-10-12，收修改稿日期：2011-12-19

Kvåle *et al*, 2006, 2007; Mollan *et al*, 2008; Srivastava *et al*, 2006; Tonheim *et al*, 2005)。但在国内鱼类三种常量营养物质需要量研究中仅见个别应用 Cornell 方法的对瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson)幼鱼的研究报道(黄钧等, 2009)。重口裂腹鱼[*Schizothorax (Racoma) davidi*]属鲤形目、鲤科、裂腹鱼亚科、裂腹鱼属、裂尻鱼亚属, 俗称雅鱼、重口、重口细鳞鱼、重唇细鳞鱼等, 为我国长江上游支流流域特有的重要本土冷水性经济鱼类之一, 具有重要的学术研究与经济价值。由于重口裂腹鱼为秋季产卵, 幼鱼成活率较低, 加之近年产区过度捕捞, 特别是长江上游支流大量修建大坝, 使得重口裂腹鱼天然资源锐减, 已经成为产区急需保护的鱼类品种。目前开展人工养殖是保护重口裂腹鱼的有效途径, 但目前尚未见到有关重口裂腹鱼日粮中的常量营养物质适宜需要量的正式报道。本试验采用 Cornell 法研究了初始体重为 2g 左右的重口裂腹鱼幼鱼日粮中的常量营养物质的适宜需要量, 目的为了解重口裂腹鱼日粮中适宜的常量营养物质需要量及为人工配合饲料的研究提供相关理论依据, 进而探索在淡水鱼类中采用 Cornell 法研究养殖鱼类日粮中的常量营养物质适宜需要量的可能性。由于 Cornell 法在试验组中不设平行组, 而是通过中心组的 4 个平行组检验试验的可靠性, 这可能会影响一些实验组内数据的可信度。因此本试验中在各试验组内设立 3 个平行组予以改进, 以提高实验组内数据的可信性。

1 材料与方法

1.1 实验日粮设计

本试验设计按照 Cornell 法, 参照有关对齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)日粮中蛋白质和脂肪需要量和有关鲤科鱼类常量营养物质的研究结果(NRC, 1993; 周兴华等, 2007; 段彪等, 2007)。设定日粮中蛋白质、脂肪和碳水化合物这 3 种常量营养物质的变化范围。重口裂腹鱼幼鱼日粮中蛋白质、脂肪和碳水化合物梯度变化范围分别为 33%—51%、3%—18%和 24%—33%。在设定变化范围内, 日粮中蛋白质、脂肪和碳水化合物呈现连续、系统的变化。设计 21 种试验日粮组, 其中包括 1 个中心日粮组。除中心日粮组外, 其它 20 个试验日粮组设 3 个平行, 而中心日粮组设 4 个平行组, 以评价试验结果的可靠性与准确性。其试验日粮设计见图 1。

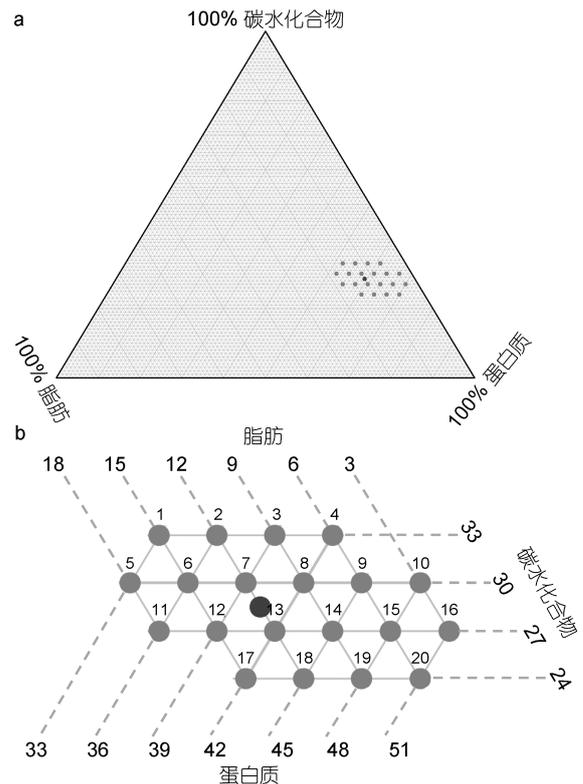


图 1 试验设计

Fig.1 Test design

注: a. 常规营养素组成设计变化趋势; b. 20 组日粮组成情况, 其组成由蛋白质、脂肪和碳水化合物的交叉点所示; 中心组(包括 4 个重复, 21—24)由 12%脂肪、28.5%碳水化合物和 40.5%蛋白质组成, 图中为加深黑点所示

日粮中蛋白质原料为主要白鱼粉, 脂肪原料主要为玉米油和鲱鱼油(2:1 比例), 碳水化合物原料为精制面粉, 维生素和矿物质按照高于 N.R.C 标准中鲤鱼推荐量的 50% 添加(NRC, 1993)。试验日粮中各原料的水分、蛋白质、脂肪、灰分和碳水化合物实测值见表 1, 各试验组营养成分理论和实测值见表 2。试验日粮组成理论和实测值(表 2), 由表 1、表 2 可见, 日粮中碳水化合物实测值稍低于理论值, 脂肪和蛋白质的实测值除了第 5 组和第 7 组外, 其余组均稍低于理论值。

饲料原料全部经过粉碎, 过 40 目筛, 按配比称量后, 微量成分采取逐级扩大法添加, 并与大宗原料混合均匀, 加油和水后再次均匀混合, 用小型颗粒饲料机制粒为直径为 2.0mm 的颗粒饲料, 采用热干燥方法, 于烘箱内 85℃ 烘干, 储存于在密封塑料袋中, 置 -20℃ 冰柜内保存直至投喂。

1.2 试验鱼与养殖管理

6000 尾重口裂腹鱼鱼苗由四川雅安周公河特种

表 1 试验日粮各常量原料组分(%)
Tab.1 Composition of the test dietary ingredients (%)

原料	水分	蛋白质	脂肪	灰分	碳水化合物
白鱼粉	9.2	67.0	5.6	18.2	0.0
精制面粉	11.4	10.1	0.9	0.5	78.0
鲢鱼油	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0
玉米油	0.0	0.0	100	0.0	0.0

水产良种场提供, 从一尾重口裂腹鱼雌鱼的受精卵孵化的上浮稚鱼培育后选择而来。在四川雅安周公河特种水产良种场暂养驯化一周后开始正式分组实验, 暂养期间, 按鱼体重 2%—1 日 3 次投喂试验中心组日粮。取其中大小匀称、体表完整、游动活泼的幼鱼为实验鱼, 每尾称重, 分组。初始体重(2.0 ± 0.1)g 的 1920 尾重口裂腹鱼幼鱼幼鱼养殖于室外水泥池(10.0m × 10.0m × 1.8m)中 64 个尼龙网箱(1m × 0.8m × 1m)内, 中架设直径一个为 15cm, 高 3cm 的白色塑料食台。每个网箱内养殖 30 尾鱼。养殖网箱上方布置一半面积黑色遮光网以防养殖池内实验鱼被日光直

接照射。光周期为自然周期。试验共设计了 21 种实验日粮, 其中 20 种日粮分别随机投喂 60 个网箱中的试验鱼(每个日粮组 3 个平行网箱), 另 1 中心组日粮设 4 个平行分别随机投喂 4 个网箱中的试验鱼。试验周期为 60 天。试验水源为过滤青衣江水, 水温(20.9 ± 3.5) °C, 溶解氧为(8.6 ± 0.2)mg/L, pH 7.0 ± 0.2, 氨氮(0.40 ± 0.06)mg/L, 总硬度为(1.44 ± 0.18)L⁻¹, 钙含量为(22.2 ± 0.4)mg/L, 亚硝酸盐为(0.093 ± 0.06)mg/L, 硝酸盐为(0.0932 ± 0.011)mg/L。试验期间按试验组别饲喂相应的试验日粮, 每天投喂 3 次, 投喂时间为 8:00、12:30 和 17:00, 同时观察试验鱼情况, 一旦发现死鱼立即捞出。投喂量以鱼体重的 5%—3% 称料, 分成 3 次投喂, 每次投喂时将试验日粮少量多次投入水泥池中食台内, 观察试验鱼的进食情况, 投喂后 3min 后若饲料台上有剩余的饲料, 则结束投喂。记录每天余料。每 30 天称重并调整投喂量。试验称重前停止饲喂一天。试验结束时, 将试验各组实验鱼逐一进行称重。称重后取样并将样品保存于 -25 °C 冰柜中。

表 2 试验日粮组成与能量理论和实测值
Tab.2 Analyzed and theoretical proximate composition and energy of the test diets

日粮组	设计水平(% dry wt.)			实测值(% dry wt.)			总能 ^b (MJ/kg)
	碳水化合物 ^a	脂肪	蛋白质	碳水化合物 ^a	脂肪	蛋白质	
1	33.0	15.0	33.0	32.0	15.3	33.8	19.7
2	33.0	12.0	36.0	32.7	12.1	36.1	19.1
3	33.0	9.0	39.0	32.1	8.8	39.5	18.4
4	33.0	6.0	42.0	32.6	6.3	43.1	18.4
5	30.0	18.0	33.0	29.5	17.9	33.6	20.2
6	30.0	15.0	36.0	29.4	15.6	36.6	20.0
7	30.0	12.0	39.0	29.0	11.9	39.8	19.2
8	30.0	9.0	42.0	29.3	9.3	42.2	18.8
9	30.0	6.0	45.0	29.7	6.1	45.5	18.4
10	30.0	3.0	48.0	29.5	3.4	48.9	18.1
11	27.0	18.0	36.0	26.6	18.1	36.3	20.4
12	27.0	15.0	39.0	26.7	15.5	39.2	20.1
13	27.0	12.0	42.0	26.2	12.4	42.7	19.6
14	27.0	9.0	45.0	26.4	9.4	45.1	19.0
15	27.0	6.0	48.0	26.4	6.5	48.2	18.6
16	27.0	3.0	51.0	26.5	3.5	51.2	18.1
17	24.0	15.0	42.0	23.8	15.1	42.3	20.1
18	24.0	12.0	45.0	23.3	11.5	45.6	19.4
19	24.0	9.0	48.0	23.9	9.3	48.3	19.3
20	24.0	6.0	51.0	23.3	6.2	51.8	18.8
21(中心组)	28.5	12.0	40.5	28.0	12.5	41.1	19.6

注: a 碳水化合物 = 100 - (蛋白质 + 脂肪 + 灰分 + 水分); b 能量: 蛋白质=23.64kJ/g, 脂肪=39.54kJ/g, 碳水化合物=17.15kJ/g 计算

1.3 样品采集和分析

试验开始前取饲料主要原料和各组日粮样品分析主要营养成分。试验结束时,对试验各组的鱼逐一计数、称重,计算其存活率和特定生长率。试验结束后在实验各组水泥池随机取6尾鱼,分别称重,烘干,用于测全鱼主要营养成分;剩余的鱼,分别称重,解剖取肝脏称重,计算肝/体比并收集肝脏样品。试验日粮、鱼体和肝脏的水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量按AOAC有关标准方法测定(AOAC, 1990)。鱼体糖原和日粮淀粉含量的检测分别采用消化酶法和减量法(总干重减去蛋白质、脂肪和灰分含量)(Hemre *et al.*, 1989, 1998)。

有关参数计算公式如下:

成活率(SR)(%) = 实验结束鱼尾数/实验开始时尾数 × 100,

特定生长率(SGR)(%/d) = $(\ln W_f - \ln W_i) \times 100 / t$,

肝体指数(HSI)(%) = $W_h / W_f \times 100$,

其中, W_i 为试验开始时鱼体重(g), W_f 为试验结束时鱼体重(g), t 为养殖实验天数(d); W_h 为肝脏质量(Halver *et al.*, 2002)。

各试验日粮组取12尾鱼肝脏样品用于肝脏组织学检测,采用标准组织学样品处理方法,用乙醇脱水、二甲苯平衡和石蜡固定,切片5 μm,采用碘酸-席夫反应(PAS)、苏木精和伊红(H.E.)染色,最后镜检。通过肝脏组织学镜检检查各试验日粮组鱼肝脏是否出现相关组织病变。

1.4 试验数据计算与统计

采用SPSS16.0数据统计软件包对实验各组间数据进行统计分析,试验结果经过一元方差分析(One-way ANOVA)后,用平均数±标准差表示。先进行方差齐性分析,方差齐性则运用LSD法进行单因素方差多重比较,方差非齐性则采用Tamhane's T_2 法进行单因素方差分析,显著水平采用0.05。然后进行Duncan's多重比较各实验组间差异的显著性, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 各试验日粮组重口裂腹鱼幼鱼的成活率与特定生长率

各试验日粮组重口裂腹鱼幼鱼的体重与成活率见表3,特定生长率(SGR)见图2。试验结果表明,试验中心日粮组组间鱼体重与特定生长率无显著性差异($P < 0.05$),表明试验组内差异性较小。实验开始时,

各组试验鱼初始体重均为(2.0±0.1)g,末体重为(8.9±0.5)g。平均死亡率为(1.9±2.2)%,平均特定生长率为(2.48±0.10)%/d。除日粮蛋白质33%组试验鱼成活率显著下降外($P < 0.05$),试验日粮中3种常量营养物质含量与成活率没有显著相关性($P > 0.05$)。当日粮蛋白质水平45%时,其特定生长率随着日粮蛋白质水平上升而增加。当日粮蛋白质水平在33%—39%时,重口裂腹鱼幼鱼的特定生长率显著降低($P < 0.05$)。除6%日粮脂肪组试验鱼外,9%日粮脂肪组试验鱼的特定生长率显著性高于其它脂肪水平日粮组试验鱼($P < 0.05$)。日粮中不同的碳水化合物水平对重口裂腹鱼幼鱼特定生长率没有显著影响($P > 0.05$)。当日粮蛋白质、脂肪和碳水化合物为45%、9%、27%时,重口裂腹鱼幼鱼特定生长率最高。

对各试验日粮组重口裂腹鱼幼鱼的特定生长率2次回归分析结果见图3。当日粮在脂肪含量为9%时试验鱼的特定生长率最高,在日粮脂肪含量9%组中,当日粮蛋白质和碳水化合物含量发布为45%与27%时,试验鱼的特定生长率最高,其相关系数均在0.97以上,表明2次回归分析结果与试验结果十分吻合。

表3 各试验日粮组鱼平均体重(g)和死亡率(%)
Tab.3 The middleweight (g) and mortality (%) of fish in test groups

实验组号	平行数	体重(g)			死亡率(%)
		Day0	Day30	Day60	
1	3	2.1±0.1	3.8±0.3	8.3±1.1	8.9±1.9
2	3	2.0±0.1	3.7±0.7	8.5±1.6	8.9±1.9
3	3	2.0±0.1	3.9±0.8	8.3±1.3	4.4±2.0
4	3	2.0±0.1	4.0±0.6	8.5±0.5	4.5±3.9
5	3	2.0±0.1	3.8±0.4	8.0±1.4	4.3±5.1
6	3	2.0±0.1	4.6±0.4	9.1±0.8	1.1±1.9
7	3	2.0±0.1	4.3±0.3	8.9±1.1	0.0±0.0
8	3	1.9±0.1	4.4±0.4	9.0±1.2	3.2±3.4
9	3	2.0±0.1	4.1±0.8	8.7±0.8	4.5±3.9
10	3	2.0±0.1	3.9±0.5	8.4±0.5	0.0±0.0
11	3	2.0±0.1	3.9±0.3	8.4±1.7	1.1±1.9
12	3	2.1±0.1	4.2±0.2	8.5±0.9	0.0±0.0
13	3	1.9±0.1	4.3±0.3	8.8±1.1	2.2±3.9
14	3	2.0±0.1	4.8±0.5	9.8±1.3	0.0±0.0
15	3	2.0±0.1	4.3±0.4	8.9±0.6	0.0±0.0
16	3	2.1±0.1	4.2±0.3	8.9±1.2	4.3±5.1
17	3	2.0±0.1	4.5±0.3	9.1±0.9	1.1±1.9
18	3	2.1±0.1	4.8±0.5	9.4±1.4	0.0±0.0
19	3	2.1±0.1	4.5±0.6	9.1±0.9	4.5±5.1
20	3	2.0±0.1	4.5±0.5	9.2±0.7	0.0±0.0
21(中心组)	4	2.1±0.1	4.0±0.3	8.4±0.5	2.9±3.4

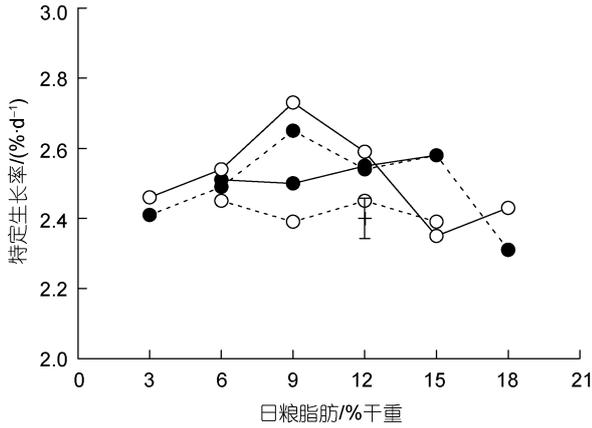


图2 不同脂肪水平的各试验日粮组鱼的特定生长率
Fig.2 Specific growth rates of fish fed diets with varying lipid levels in diets

注: —、—、—、—、—、—、+ 分别表示日粮中碳水化合物水平为 24%、27%、30%、33%和 28.5%(中心组)

2.2 各试验日粮组重口裂腹鱼鱼体营养成分组成和肝体指数

各试验日粮组重口裂腹鱼鱼体营养成分组成见图 4, 肝体指数见图 5。试验结果表明, 日粮蛋白质水平对重口裂腹鱼鱼体蛋白质含量无显著影响($P>0.05$) (图 4a)。随着日粮脂肪水平的升高全鱼脂肪含量和肝脂含量增加, 特别是日粮脂肪含量为 15%—18%时 ($P<0.05$) (图 4b), 但日粮蛋白质和碳水化合物水平对其无显著影响($P>0.05$) (图 4a、c)。当日粮中碳水化合物水平达到 33%时, 重口裂腹鱼全鱼碳水化合物含量和肝体指数(HSI)显著增加($P<0.05$) (图 4c、图 5), 但日粮蛋白质和脂肪水平对其无显著影响($P>0.05$) (图 4a、c)。

2.3 各试验日粮组重口裂腹鱼幼鱼肝脏组织学观察

各试验日粮组重口裂腹鱼幼鱼肝脏组织学观察结果见表 4。对试验各组重口裂腹鱼幼鱼肝脏组织学观察发现, 当日粮脂肪水平 12%时, 少部分切片样品肝细胞中出现一些分离的、大小不一的圆形空泡, 发生轻度的脂肪变性; 而当日粮脂肪水平在 18%时, 大多数肝细胞中出现大量较大的圆形空泡, 脂肪变性较为严重。当日粮中碳水化合物含量为 33%以上时, 长吻鮠幼鱼肝细胞中红色糖原颗粒数量明显增加。但是在肝细胞出现大量空泡化现象和糖原颗粒时, 肝脏中血管和结缔组织成分依然保持正常, 没有出现病理变化。

3 讨论

试验结果表明, 试验中心日粮组组间重口裂腹

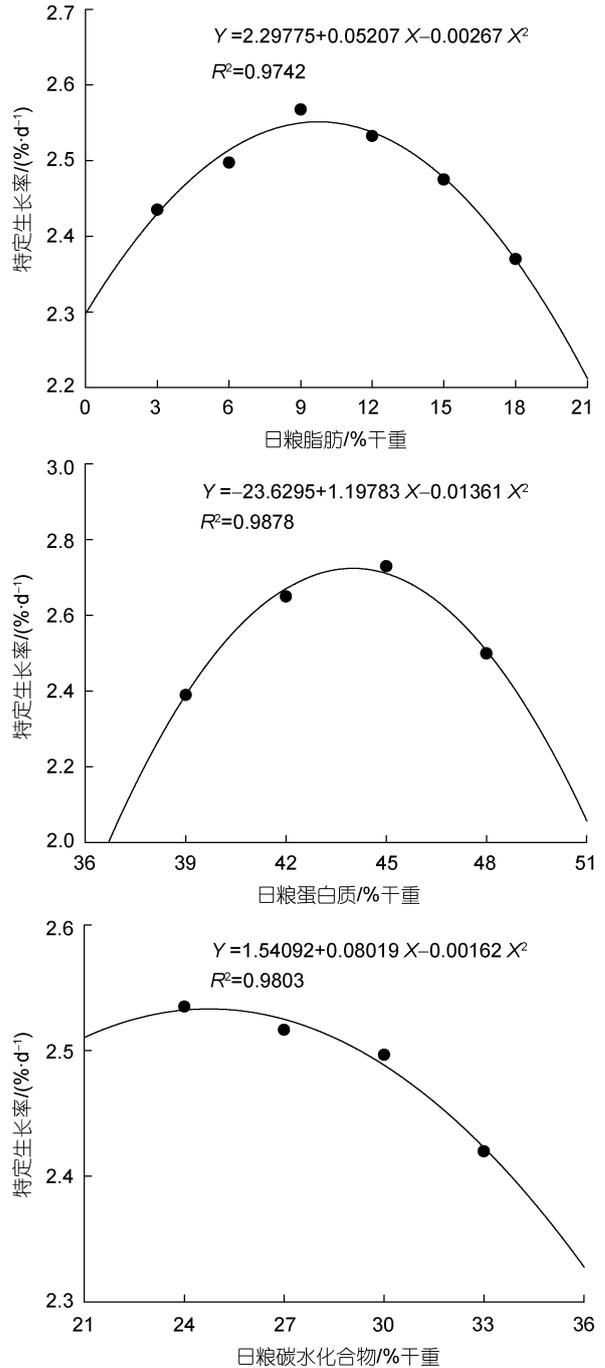


图3 不同常量营养物质水平的各试验日粮组鱼的特定生长率

Fig.3 Specific growth rates of fish fed diets with varying macronutrient composition in diets

鱼幼鱼体重与特定生长率无显著性差异($P<0.05$) (表 3), 表明试验组组内差异性较小, 试验结果可靠度较高。当日粮蛋白质为 33%时, 重口裂腹鱼幼鱼的成活率明显下降, 而其它日粮中 3 种不同常量营养物质水平对其成活率无显著影响(表 3)。当日粮蛋白质 45%

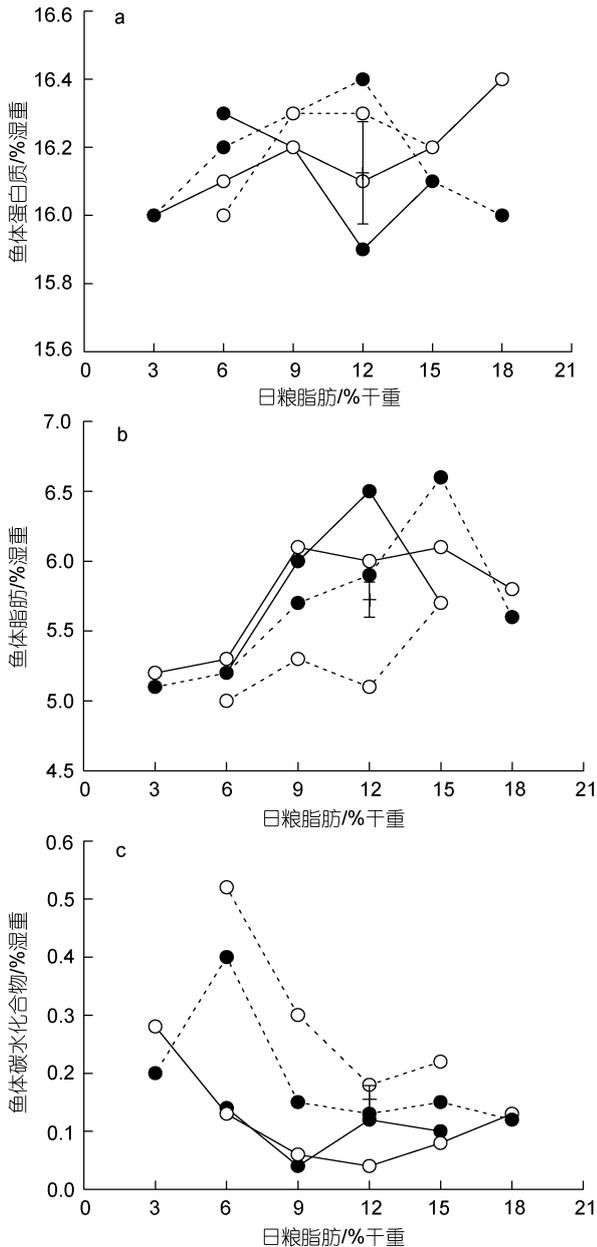


图4 实验各组鱼体营养成分组成(n=8)

Fig.4 Whole body macronutrient composition (% wet wt.) of fish fed diets (n=8)

a. 蛋白质; b. 脂肪; c. 碳水化合物。— —、— —、--- ---、--- ---、+ 分别表示日粮中碳水化合物水平为24%、27%、30%、33%和28.5%(中心组)

时,重口裂腹鱼幼鱼生长随着日粮蛋白质含量升高而上升,当日粮蛋白质水平在33%—39%时,重口裂腹鱼幼鱼的生长明显降低($P < 0.05$)(表3,图2、图3)。9%日粮脂肪时重口裂腹鱼幼鱼生长最好($P < 0.05$)(图2、图3)。试验结果与2次回归分析均表明,当日粮脂肪和蛋白质为9%、45%时,重口裂腹鱼幼鱼特定生长率最高。日粮中不同的碳水化合物水平对重口裂腹

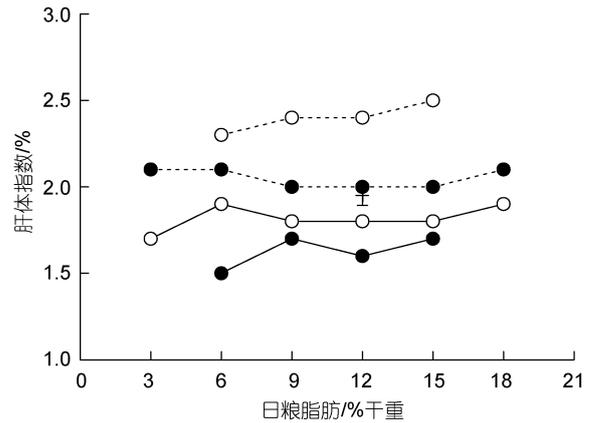


图5 各试验日粮组鱼肝体指数

Fig.5 Hepatosomatic index (HSI, %) of fish fed test diets
注: — —、— —、--- ---、--- ---、+ 分别表示日粮中碳水化合物水平为24%、27%、30%、33%和28.5%(中心组)

鱼幼鱼生长没有明显影响($P > 0.05$)(图2、图3)。不同日粮蛋白质水平对重口裂腹鱼幼鱼鱼体蛋白质含量无明显影响($P > 0.05$)(图4a)。随着日粮脂肪水平的升高重口裂腹鱼幼鱼全鱼脂肪含量和肝脏脂肪储存相应增加,特别是日粮脂肪含量为18%时,但日粮蛋白质和碳水化合物水平对其无显著影响(图4b,图5)。从实验数据和组织学检测结果来看,当重口裂腹鱼幼鱼日粮碳水化合物30%时,未见糖原在鱼体和肝脏中的大量聚集。这表明日粮碳水化合物水平在30%时,长吻鮠幼鱼能够较好地代谢这些糖类。当日粮中碳水化合物水平达到33%时,重口裂腹鱼幼鱼全鱼碳水化合物含量和肝细胞中糖原颗粒数量明显增加,但日粮蛋白质和脂肪水平对其无显著影响(图4b, c, 表4)。由此可见,日粮中脂肪和碳水化合物在肝脏的积累趋势,反映了在重口裂腹鱼幼鱼鱼体能量代谢中,当日粮碳水化合物和脂肪水平过高时并不能有效地作为能量利用。本试验中,日粮脂肪水平的提高最终表现为鱼体与肝脏脂肪含量增加,这表明肝脏是鱼体脂肪代谢的重要场所。然而,鱼肝脏脂肪储存水平在何种程度,才不会影响重口裂腹鱼幼鱼的健康?组织学研究发现,当日粮中脂肪水平12%时,脂肪将在肝脏中过多聚集,这些脂肪不能完全被重口裂腹鱼幼鱼有效地代谢利用并将引起肝脏的脂肪变性,损害了肝细胞功能。因此,对于重口裂腹鱼幼鱼来说,9%日粮脂肪为其安全添加水平。

综上所述,本试验认为初始体重2g左右的重口裂腹鱼幼鱼日粮中蛋白质、脂肪和碳水化合物适宜添加量应分别为45%、9%和30%,对应的日粮总能为

表 4 不同日粮碳水化合物和脂肪水平组试验鱼肝细胞糖原含量与空泡化程度($n=12$)
Tab.4 Hepatocellular glycogen and vacuolization in fish of different dietary carbohydrate levels and lipid levels ($n=12$)

肝细胞糖原	24%	27%	30%	33%	28.5%碳水化合物 (中心点)		
+	12	11	9	2	8		
++	0	1	3	6	2		
+++	0	0	0	4	2		
肝细胞空泡化	3%	6%	9%	12%	15%	18%	12%脂肪(中心点)
-	12	10	10	8	4	0	7
+	0	2	1	3	6	4	3
++	0	0	1	1	2	5	2
+++	0	0	0	0	0	3	0

注: -为无空泡化; +为轻度空泡化; ++为中度空泡化; +++为严重空泡化

19.0MJ/kg, 蛋白质能量比(P/E)为 25mg/kJ。周兴华等(2007)、段彪等(2007)采用正交法和 ANOVA 法对齐口裂腹鱼幼鱼研究认为, 其日粮中蛋白质和脂肪适宜需要量分别为 40%和 8%左右。本试验认为重口裂腹鱼幼鱼日粮蛋白质适宜需要量为 45%, 高于齐口裂腹鱼幼鱼, 这可能因为重口裂腹鱼是秋季产卵, 而齐口裂腹鱼是春季产卵, 前者幼鱼可能需要更高的日粮蛋白质以提高在饵料匮乏冬季的成活率。一般冷水性鲑科鱼类(Salmonids)幼鱼日粮适宜蛋白质需要量为 45%—48%, 与本试验结果较为相似(Halver *et al.*, 2002)。本试验表明, Cornell 法是一种综合研究重口裂腹鱼幼鱼常量营养物质(蛋白质、脂肪和碳水化合物)适宜需要量的可行方法, 在试验组中增加平行组弥补了该方法的缺陷, 满足了传统水产营养需要量研究的必要条件, 它弥补了传统的 ANOVA 法和正交法的缺陷, 节约了大量人力和物力, 降低了不同试验条件产生的误差, 增加了试验结果的可信性。在今后鱼类常量营养需要量研究中, Cornell 法可能是一种具有广泛应用价值的随机统计方法。

参 考 文 献

- 周兴华, 王友慧, 郑曙明等, 2007. 饲料蛋白质和能量水平对齐口裂腹鱼生长、体组成和蛋白质利用的影响. 水生生物学报, 31(3): 430—436
- 段 彪, 向 泉, 周兴华等, 2007. 齐口裂腹鱼饲料中适宜脂肪需要量的研究. 动物营养学报, 19(3): 232—236
- 徐维娜, 刘文斌, 沈美芳等, 2011. 饲料中不同蛋白质和脂肪水平对克氏螯虾(*Procambarus clarkii*)生长性能、体组成和消化酶活性的影响. 海洋与湖沼, 42(5): 521—529
- 黄 钧, 冯 健, 孙 挺等, 2009. 瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson)幼鱼日粮中主要营养需要量研究.

- 海洋与湖沼, 40(4): 438—445
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 67—78
- Cornell J A, 1990. Experiments with Mixtures. Wiley, New York: 1—97
- Einen O, Roem A J, 1997. Dietary protein/energy ratios for Atlantic salmon in relation to fish size: growth, feed utilization and slaughter quality. Aquaculture Nutrition, 3: 127—140
- Halver J E, Hardy R W, 2002. Fish Nutrition. third edition. Academic Press, London: 1—2, 51, 145—151, 720—732
- Hamre K, 2003. Macronutrient composition of formulated diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) juveniles. Aquaculture, 227: 233—244
- Hemre G I, Hansen T, 1998. Utilization of different dietary starch sources and tolerance to glucose loading in Atlantic salmon (*Salmo salar*), during part-smolt transformation. Aquaculture, 161: 145—157
- Hemre G I, Lie Ø, Lied E *et al.*, 1989. Starch as an energy source in feed for cod (*Gadus morhua*): digestibility and retention. Aquaculture, 80: 261—270
- Kvåle A, Jensen A M, Moren M, 2007. Development and characterisation of some intestinal enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. Aquaculture, 264: 457—468
- Kvåle A, Yúfera M, Hamre K *et al.*, 2006. Leaching properties of three different microparticulate diets and preference of the diets in cod (*Gadus morhua* L.) larvae. Aquaculture, 251: 402—415
- Mollan T A, Tonheim S K, Hamre K, 2008. Pre-hydrolysis improves absorption of neutral lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) larvae. Aquaculture, 273: 614—623
- NRC (National Research Council), 1993. Nutrient Requirements

- of Fish. National Academy Press, Washington D C, USA: 112
- Srivastava A, Hamre K, Stoss J *et al*, 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. Aquaculture, 254: 534—543
- Tonheim S K, Espe M, Hamre K, 2005. Pre-hydrolysis improves utilisation of dietary protein in the larval teleost Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 321: 19—34

CORNELL DESIGN APPLIED ON OPTIMAL MACRONUTRIENT COMPOSITION OF FORMULATED DIETS FOR DAVID'S SCHIZOTHORACIN [*SCHIZOTHORAX (RACOMA) DAVIDI*] JUVENILES

NING Yi, FENG Jian, HE Shu-Zhen, SUN Xiao-Feng, CHEN Bin
(Institute of Aquaculture, Guangxi University, Nanning, 530004)

Abstract Cornell Design was used to investigate the optimal composition of macronutrients for David's schizothoracin [*Schizothorax (Racoma) davidi*] juveniles [(2.0±0.1)g initial weight. Protein, lipid and carbohydrate were varied between 33%—51%, 3%—18% and 24%—33% dry wt., respectively. The experiment lasted for 60 days. The test results showed that the dietary macronutrient composition was not reflected in the survival rate of the fish significantly except for significant decline at 33% dietary protein ($P<0.05$). There was a positive effect of increasing dietary protein levels up until 42% on the growth, while 33%—39% dietary protein resulted in growth depression significantly ($P<0.05$). Beside 12% dietary lipid, the fish at 9% dietary lipid showed significantly better growth than other dietary lipid levels ($P<0.05$). The lipid contents in fish body increased significantly ($P>0.05$), and fatty degeneration in hepatocytes was obvious as dietary lipid level was $\geq 15\%$. The dietary carbohydrate composition was not reflected in the growth of the fish significantly ($P>0.05$), but 32% dietary carbohydrate level strongly increased accumulation of carbohydrate in whole body of the fish ($P<0.05$). It could be concluded that the optimal protein requirement appears to be 42%, based on the limits of 9% for lipids and $\leq 30\%$ for carbohydrate in the diets, while the dietary gross energy (GE) and protein energy rate (P/E) are 19.0MJ/kg and 23mg/kJ for David's Schizothoracin juveniles.

Key words *Schizothorax (Racoma) davidi*, Macronutrient composition, Protein requirement, Dietary lipid, Dietary carbohydrate