

文章编号:1000-0615(2014)06-0877-11

DOI:10.3724/SP.J.1231.2014.49084

饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙生长性能的影响

皇康康, 张春晓*, 王玲, 宋凯, 黄飞

(集美大学水产学院, 厦门市饲料检测与安全评价重点实验室, 福建厦门 361021)

摘要: 为研究饲料中不同蛋白质和脂肪水平对牛蛙生长、体组成和肝脏健康的影响, 以红鱼粉、豆粕和酪蛋白为蛋白源, 鱼油和豆油为主要脂肪源, α -淀粉为主要糖源, 微晶纤维素为填充剂, 并补充无机盐和维生素等配制实验饲料。实验设3个蛋白水平(35%、40%和45%), 每个蛋白水平下设4个脂肪水平(4%、7%、10%和13%), 共12种饲料, 饲料可利用能变化范围为12.4~17.8 kJ/g, 蛋白能量比变化范围为21.9~32.0 mg/kJ。每种饲料设置3个重复, 每个水族缸放养12只牛蛙[初始平均体质量为(91.5 ± 1.1)g], 每日饱食投喂2次, 实验周期56 d。结果发现, 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙的存活率无显著影响, 而13%脂肪组的牛蛙肝脏出现颜色不均一和肝体脆化无韧性的现象。饲料蛋白质和脂肪水平显著影响牛蛙的增重率、特定生长率、摄食率、饲料效率和蛋白质效率。其中, 40%蛋白组牛蛙的增重率和特定生长率显著高于35%蛋白组, 与45%蛋白组无显著差异。随着蛋白质水平的升高, 饲料效率显著升高, 而摄食率和蛋白质效率显著降低。随着脂肪水平的升高, 增重率、特定生长率和摄食率显著升高, 饲料效率、蛋白质效率和氮保留率无显著差异。饲料脂肪水平与牛蛙全体的脂肪含量和总能水平正相关, 但不影响牛蛙全体的蛋白质含量。随着饲料脂肪水平的升高, 牛蛙肝脏丙二醛含量显著升高, 过氧化氢酶和脂蛋白酯酶活力先升高后降低。研究表明, 牛蛙饲料适宜的蛋白质和脂肪水平分别为40%和7%, 适宜蛋白能量比为27.7 mg/kJ。

关键词: 牛蛙; 饲料; 蛋白质; 脂肪; 蛋白能量比

中图分类号: S 963

文献标志码:A

蛋白质和脂肪是水生动物生长发育过程中的必需营养素。蛋白质也是饲料成本中最昂贵的部分^[1], 动物生长和体质量的增加主要是蛋白质沉积的结果, 同时蛋白质也是机体的能量来源, 饲料蛋白质含量过低会导致水生动物生长缓慢、体质量减轻, 而蛋白质含量过高又增加水生动物的氨氮排放量, 污染养殖水体。因此, 饲料中合适的蛋白质和能量比例是提高饲料蛋白质利用率的关键因素。对水生动物而言, 脂肪是饲料中供能效率最高的营养素。饲料中适宜的脂肪水平, 可以提高水生动物对蛋白质的利用率, 起到节约蛋白质的作用^[2]。饲料中脂肪含量不足时, 可导致饲料蛋白质浪费, 水生动物氨氮排泄增加和饲料蛋白质利用率降低^[3]。

饲料中脂肪含量过高时, 会导致水生动物体脂肪增加、抗病能力下降, 不利于动物的生长^[4~6]。因此, 饲料中适宜的蛋白质和脂肪水平尤为重要。

牛蛙(*Rana catesbeiana*)属脊椎动物门(Vertebrata)、两栖纲(Amphibia)、无尾目(Anura)、蛙科(Ranidae)、蛙属(*Rana*), 是北美最大的蛙之一, 其肉鲜味美、高蛋白低脂肪、养殖周期短, 在国内外具有广阔的消费市场。近年来牛蛙养殖业发展迅猛, 目前在我国福建、广东、浙江和海南等省均有较大规模的养殖。然而, 由于国内外关于牛蛙营养生理的报道较少^[7~8], 导致牛蛙配合饲料的配制缺乏相关的科学依据, 在养殖过程中常出现牛蛙生长慢、饲料效率低且病害频

收稿日期:2014-01-08 修回日期:2014-04-04

资助项目:福建省高校优秀人才支持计划(JA11145);美国动物蛋白及油脂提炼协会资助项目(M11GXASIA3)

通信作者:张春晓, E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

发的情况^[9~10],因此亟待完善牛蛙对各营养素需求的参数。饲料中蛋白质和脂肪水平是影响牛蛙生长和健康最重要的因素,也是牛蛙配合饲料中需优先确定的2个重要参数。因此,本实验通过双因子设计探讨饲料中不同蛋白质和脂肪水平对牛蛙生长、体组成和肝脏健康的影响,旨在为牛蛙配合饲料的研发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以红鱼粉、豆粕和酪蛋白为主要蛋白源,鱼油和豆油为主要脂肪源, α -淀粉为主要糖源,微晶纤维素为填充剂,并补充无机盐和维生素等配制实

验饲料。实验饲料设3个蛋白水平(35%、40%和45%),4个脂肪水平(4%、7%、10%和13%),通过完全交叉方式设计12个实验处理,分别为35P/4L、35P/7L、35P/10L、35P/13L、40P/4L、40P/7L、40P/10L、40P/13L、45P/4L、45P/7L、45P/10L和45P/13L,可利用能变化范围为12.4~17.8 kJ/g,蛋白能量比变化范围为21.9~32.0 mg/kJ(表1)。所有饲料原料粉碎并通过60目筛,按照实验配方逐级混合均匀,然后加入油脂,揉搓均匀,再加入适量的水揉匀,经水产饲料膨化机加工成直径为2.5 mm的颗粒膨化饲料,17℃条件下风干至水分10%左右,装袋、密封保存于-20℃冰箱中备用。

表1 实验饲料配方及营养组成(干物质)

Tab. 1 Ingredient and proximate composition of experimental diets(dry matter basis)

原料 ingredients	35P/ 4L	35P/ 7L	35P/ 10L	35P/ 13L	40P/ 4L	40P/ 7L	40P/ 10L	40P/ 13L	45P/ 4L	45P/ 7L	45P/ 10L	45P/ 13L
红鱼粉 brown fish meal ¹	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
豆粕 soybean meal ²	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19
酪蛋白 casein	4.5	4.5	4.5	4.5	10.7	10.7	10.7	10.7	16.9	16.9	16.9	16.9
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	21.5	18.5	15.5	12.5	15.4	12.4	9.4	6.4	9.4	6.4	3.4	0.4
α -淀粉 α -starch	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22
混合油 mixed oils ³	0.3	3.3	6.3	9.3	0.2	3.2	6.2	9.2	0	3	6	9
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
无机盐混合物 mineral premix ⁴	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素混合物 vitamin premix ⁵	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
防霉剂 mold inhibitor ⁶	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
L-抗坏血酸多聚磷酸酯 L-ascorbic acid polyphosphate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
磷酸二氢钙 dicalcium phosphate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
营养组成 nutritional composition												
粗蛋白/% crude protein	35.2	34.8	35.6	34.8	40.4	40.3	40.4	39.8	45.8	45.2	45.7	46.2
粗脂肪/% crude lipid	4.0	7.0	9.9	13.2	3.9	7.0	10.4	13.1	3.9	6.9	10.4	13.3
粗灰分/% crude ash	7.7	8.0	7.8	7.6	8.0	7.9	8.1	7.8	8.2	7.9	8.2	8.23
粗纤维/% crude fiber	22.9	19.9	16.9	13.9	16.8	13.8	10.8	7.8	10.8	7.8	4.8	1.8
无氮浸出物/% nitrogen-free extract ⁷	30.2	30.3	29.7	30.5	30.9	31.1	30.2	31.5	31.3	32.2	30.9	30.5
可利用能/(kJ/g) available energy ⁸	12.4	13.5	14.6	15.9	13.4	14.5	15.7	16.8	14.3	15.5	16.7	17.8
蛋白能量比/(mg/kJ) protein to energy ratio	28.4	25.8	24.3	21.9	30.2	27.7	25.7	23.6	32.0	29.1	27.3	25.9

注:1. 红鱼粉购自于秘鲁Tecnológica de Alimentos S. A公司;2. 豆粕购自于福建泉州福海粮油工业有限公司;3. 混合油为1:1的鱼油和豆油;4. 无机盐混合物/(mg or g/kg diet):氟化钠,2 mg;碘化钾,0.8 mg;氯化钴(1%),50 mg;硫酸铜,10 mg;硫酸铁,80 mg;硫酸锌,50 mg;硫酸锰,25 mg;硫酸镁,200 mg;沸石粉,4.55 g;5. 维生素混合物/(mg or g/kg diet):维生素B₁,10 mg;核黄素,8 mg;盐酸吡哆醇,10 mg;维生素B₁₂,0.03 mg;维生素K₃,10 mg;肌醇,100 mg;泛酸钙,20 mg;烟酸,50 mg;叶酸,2 mg;生物素,0.2 mg;维生素A(50万IU),400 mg;维生素D₃,5 mg;维生素E(50万IU),100 mg;乙氧基喹啉,150 mg;次粉,1.135 g;6. 50%丙酸钙和50%富马酸;7. 无氮浸出物为计算所得=100-粗蛋白-粗脂肪-粗灰分-粗纤维;8. 可利用能参照蛋白质、无氮浸出物和脂肪的生理燃烧值16.7、16.7、37.6 kJ/g计算^[11]

Notes:1. brown fish meal, obtained from Tecnológica de Alimentos S. A, Peru;2. soybean meal, obtained from Quanzhou Fuhai cereals and oils industry Co., Ltd;3. 1:1 mixture of fish oil and soybean oil;4. mineral premix/(mg or g/kg diet):NaF, 2 mg; KI, 0.8 mg; CoCl₂ · 6H₂O (1%), 50 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 10 mg; FeSO₄ · H₂O, 80 mg; ZnSO₄ · H₂O, 50 mg; MnSO₄ · H₂O, 25 mg; MgSO₄ · 7H₂O, 200 mg; zeolite, 4.55 g;5. vitamin premix/(mg or g/kg diet):thiamin, 10 mg; riboflavin, 8 mg; pyridoxine HCl, 10 mg; vitamin B₁₂, 0.03 mg; vitamin K₃, 10 mg; inositol, 100 mg; pantothenic acid, 20 mg; niacin acid, 50 mg; folic acid, 2 mg; biotin, 0.2 mg; retinol acetate, 400 mg; cholecalciferol, 5 mg; alpha-tocopherol, 100 mg; ethoxyquin, 150 mg; wheat middling, 1.135 g;6. 50% calcium propionic acid and 50% fumaric acid;7. calculated by difference(100 - crude protein - crude lipid - crude ash - crude fiber);8. available energy was calculated using physiological fuel values of 16.7, 16.7 and 37.6 kJ/g for protein nitrogen-free extract and lipid, respectively^[11]

1.2 实验牛蛙与饲养管理

实验所用牛蛙购自福建省厦门市同安区,为同一批孵化的蛙苗,运至集美大学水产养殖场,经消毒后暂养于室内水族缸中($1.5\text{ m} \times 0.7\text{ m} \times 0.6\text{ m}$)。驯化15 d后,禁食24 h,挑选体格健壮,规格一致的幼蛙[平均体质量为(91.5 ± 1.1)g],随机分为12组,每组3个重复,共用36个实验水族缸($0.7\text{ m} \times 0.4\text{ m} \times 0.4\text{ m}$),每个水族缸放养12只牛蛙。水族缸中水位保持4 cm左右,以维持饲料浮动。投喂前换水,每日定时投喂2次(08:00和18:00),达表观饱食。实验期间水温 $27 \sim 30^\circ\text{C}$,养殖周期为56 d。

1.3 样品的采集

养殖实验开始前用双毁髓法处理10只牛蛙,置于 -20°C 冰箱保存,用于牛蛙初始体组成的分析。8周养殖实验结束后,禁食24 h,称重。然后从每个水族缸中随机取9只牛蛙,用双毁髓法处理。其中,3只牛蛙置于 -20°C 冰箱保存,用于全体营养组成的测定。3只牛蛙解剖,分别称量全体、内脏和肝脏的质量,以计算肝体比和脏体比,将称量后的肝脏置于 -80°C 冰箱保存,用于肝脏生化指标的测定。3只牛蛙,取后腿部肌肉置于 -20°C 冰箱保存,用于肌肉营养组成的测定。

1.4 样品的分析

实验原料、饲料、牛蛙全体和肌肉中水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分含量以及总能的测定参照AOAC^[12]的方法。水分采用 105°C 常压烘箱干燥恒重法,粗蛋白采用凯氏定氮法(总氮 $\times 6.25$),用FOSS公司生产的Kjeltec 8400型全自动凯氏定氮仪进行测定,粗脂肪采用索氏抽提法测定,粗灰分采用马弗炉灼烧法(550°C)测定,总能采用氧弹测量热仪(Parr 6300,美国)测定。

牛蛙肝脏的谷草转氨酶(glutamic-oxalacetic transaminase, GOT)和谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase, GPT)采用赖氏法测定,过氧化氢酶(catalase, CAT)活力采用钼酸铵法测定,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力采用黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)测定,丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定,以上指标采用南京建成生物工程研究所生产的检测试剂盒测定,相应的操作参照说明书进行。脂蛋白酯酶(lipoprotein lipase, LPL)活力采用艾莱萨生物科技(上海)有限公司生产的脂蛋

白酯酶ELISA检测试剂盒测定。

1.5 计算公式

$$\text{增重率}(\text{weight gain, WG, \%}) = 100 \times (W_t - W_0)/W_0$$

$$\text{特定生长率}(\text{specific growth rate, SGR, \% / d}) = 100 \times [\ln(W_t) - \ln(W_0)]/t$$

$$\text{摄食率}(\text{feed rate, FR, \% / d}) = 100 \times W_D / (W_t/2 + W_0/2)/t$$

$$\text{饲料效率}(\text{feed efficiency, FE}) = (W_t - W_0)/W_D$$

$$\text{蛋白质效率}(\text{protein efficiency ratio, PER}) = (W_t - W_0)/W_P$$

$$\text{肝体比}(\text{hepatosomatic index, HSI, \%}) = 100 \times \text{肝脏重量(g)} / \text{全体质量(g)}$$

$$\text{脏体比}(\text{viserosomatic index, VSI, \%}) = 100 \times \text{内脏重量(g)} / \text{全体质量(g)}$$

$$\text{氮保留率}(\text{nitrogen retention, NR, \%}) = 100 \times (W_t \times P_t - W_0 \times P_0)/W_P$$

$$\text{能量保留率}(\text{energy retention, ER, \%}) = 100 \times (W_t \times E_t - W_0 \times E_0)/W_E$$

式中: W_t 为终末牛蛙总质量(g); W_0 为初始牛蛙总质量(g); t 为饲喂天数(d); W_D 为摄食饲料总质量(g); W_P 为摄入蛋白质总量(g); P_t 为终末牛蛙全体粗蛋白含量(%); P_0 为初始牛蛙全体粗蛋白含量(%); E_t 为终末牛蛙全体能量(kJ/g); E_0 为初始牛蛙全体能量(kJ/g); W_E 为摄入饲料的总能量(kJ/g)。

1.6 数据处理

实验数据经Excel 2007初步整理后,采用SPSS 17.0软件对所得数据分别进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和双因素方差分析(Two-Way ANOVA)。若差异显著,则进行Tukey多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$,数据均采用平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)表示。

2 结果

2.1 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙生长性能的影响

8周实验结束时,各实验组牛蛙的存活率均为100%。实验样品解剖时发现,13%脂肪组的牛蛙肝脏异常,表现为颜色不均一、肝体脆化无韧性。

饲料蛋白质和脂肪水平显著影响牛蛙的增重

率、特定生长率和摄食率,且二者存在交互作用($P < 0.05$) (表2)。其中,40%蛋白组牛蛙的增重率(199.47%)和特定生长率(1.96%/d)显著高于35%蛋白组(187.62%和1.88%/d)($P < 0.05$),与45%蛋白组(198.15%和1.94%/d)无显著差异($P > 0.05$)。随着蛋白质水平的升高,牛蛙的摄食率和蛋白质效率显著降低,饲料效率显著升高($P < 0.05$)。随着脂肪水平的升高,各脂肪组牛蛙增重率(171.47%、186.77%、

199.84%和222.23%)和特定生长率(1.78、1.88、1.96和2.09%/d)显著升高($P < 0.05$)。4%脂肪组(1.21%/d)和7%脂肪组(1.27%/d)的摄食率显著低于10%脂肪组(1.37%/d)和13%脂肪组(1.39%/d)($P < 0.05$)。饲料脂肪水平不影响各组牛蛙的饲料效率和蛋白质效率($P > 0.05$)。各实验组中,饲料45P/4L组牛蛙的增重率、特定生长率和摄食率最低,45P/13L组的增重率和特定生长率最高。

表2 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙生长性能的影响
Tab.2 Growth performance of bullfrog fed diets with different protein and lipid levels

组别 groups	增重率/% WG	特定生长率/(%/d) SGR	摄食率/(%/d) FR	饲料效率 FE	蛋白质效率 PER
35P/4L	174.03 ± 1.58 ^{ab}	1.80 ± 0.01 ^{ab}	1.37 ± 0.01 ^{def}	1.21 ± 0.01 ^a	3.43 ± 0.04 ^{bcd}
35P/7L	172.77 ± 2.51 ^{ab}	1.79 ± 0.02 ^{ab}	1.33 ± 0.03 ^{cde}	1.25 ± 0.04 ^{ab}	3.59 ± 0.11 ^c
35P/10L	184.70 ± 4.18 ^{abcd}	1.87 ± 0.03 ^{abcd}	1.45 ± 0.02 ^{ef}	1.18 ± 0.02 ^a	3.33 ± 0.06 ^{abc}
35P/13L	218.97 ± 6.43 ^{ef}	2.07 ± 0.04 ^{ef}	1.49 ± 0.04 ^f	1.25 ± 0.05 ^{ab}	3.60 ± 0.07 ^c
40P/4L	178.93 ± 9.15 ^{abc}	1.83 ± 0.06 ^{abc}	1.20 ± 0.05 ^{bc}	1.41 ± 0.09 ^{bc}	3.49 ± 0.26 ^{bcd}
40P/7L	199.57 ± 3.78 ^{bcd}	1.96 ± 0.02 ^{bcd}	1.33 ± 0.02 ^{cde}	1.34 ± 0.04 ^{abc}	3.33 ± 0.09 ^{abc}
40P/10L	207.10 ± 7.18 ^{cdef}	2.00 ± 0.04 ^{cdef}	1.37 ± 0.01 ^{def}	1.33 ± 0.04 ^{abc}	3.34 ± 0.09 ^{abc}
40P/13L	212.27 ± 1.82 ^{def}	2.03 ± 0.07 ^{def}	1.38 ± 0.06 ^{def}	1.34 ± 0.09 ^{abc}	3.35 ± 0.23 ^{abc}
45P/4L	161.43 ± 0.74 ^a	1.72 ± 0.01 ^a	1.06 ± 0.01 ^a	1.50 ± 0.02 ^c	3.28 ± 0.05 ^{ab}
45P/7L	187.97 ± 4.70 ^{abcd}	1.89 ± 0.03 ^{abcd}	1.16 ± 0.02 ^{ab}	1.49 ± 0.04 ^{bc}	3.30 ± 0.08 ^{abc}
45P/10L	207.73 ± 6.09 ^{cdef}	2.01 ± 0.04 ^{def}	1.29 ± 0.01 ^{bcd}	1.41 ± 0.03 ^{bc}	3.10 ± 0.07 ^a
45P/13L	235.47 ± 1.19 ^f	2.16 ± 0.01 ^f	1.28 ± 0.01 ^{bcd}	1.51 ± 0.01 ^c	3.27 ± 0.02 ^{ab}
蛋白质水平/% protein levels					
35	187.62 ^A	1.88 ^A	1.41 ^C	1.22 ^A	3.49 ^C
40	199.47 ^B	1.96 ^B	1.32 ^B	1.35 ^B	3.38 ^B
45	198.15 ^B	1.94 ^B	1.20 ^A	1.48 ^C	3.24 ^A
脂肪水平/% lipid levels					
4	171.47 ^A	1.78 ^A	1.21 ^A	1.31	3.40
7	186.77 ^B	1.88 ^B	1.27 ^A	1.36	3.41
10	199.84 ^C	1.96 ^C	1.37 ^B	1.36	3.24
13	222.23 ^D	2.09 ^D	1.39 ^B	1.37	3.41
Two-Way ANOVA					
蛋白质 <i>Pp</i>	0.017	0.015	0.000	0.000	0.023
脂肪 <i>Pc</i>	0.000	0.000	0.000	0.344	0.233
交互 <i>Pp * Pc</i>	0.000	0.005	0.042	0.863	0.855

注:表中同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同

Notes: means in the same column with different upper letter indicate significant difference ($P < 0.05$). the same as the following

饲料蛋白质和脂肪水平显著影响牛蛙的脏体比、肝体比和能量保留率,其中饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙的肝体比和脏体比存在交互作用($P < 0.05$),而对氮保留率和能量保留率无交互影响($P > 0.05$) (表3)。40%蛋白组牛蛙的脏体比(25.30%)显著低于35%蛋白组(29.46%)($P < 0.05$),与45%蛋白组之间无显著差异

(28.47%)($P > 0.05$)。40%蛋白组牛蛙的肝体比(5.08%)显著高于35%蛋白组(4.37%)($P < 0.05$),与45%蛋白组之间无显著差异(4.81%)($P > 0.05$)。45%蛋白组牛蛙的能量保留率(41.98%)显著高于35%蛋白组(36.75%)($P < 0.05$),而各蛋白水平间均无显著差异($P > 0.05$)。饲料蛋白质水平对牛蛙的氮保留率无显

著影响($P > 0.05$)。13%脂肪组牛蛙的脏体比(30.53%)显著高于4%脂肪组(23.98%)($P < 0.05$),而与7%脂肪组和10%脂肪组(26.62%和29.14%)之间无显著差异($P > 0.05$)。7%脂肪组牛蛙的肝体比(5.25%)显著高于4%和10%脂肪组(4.27%和4.42%)($P < 0.05$),而与13%脂肪组(4.98%)间无显著差异($P > 0.05$)。饲料脂

肪水平对牛蛙的氮保留率无显著影响($P > 0.05$),而与牛蛙全体的能量保留率(35.24%、36.84%、39.91%和45.14%)正相关。各实验组中,40P/10L组的牛蛙脏体比最高,40P/4L组的牛蛙脏体比最低。饲料35P/10L组氮保留率最低,35P/4L组最高。饲料45P/13L组能量保留率最高,35P/10L组最低。

表3 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙形体指标和养分保留率的影响
Tab.3 Biometric parameters and nutrient retention efficiency of bullfrog fed diets with different protein and lipid levels

组别 groups	脏体比/% VSI	肝体比/% HSI	氮保留率/% NR	能量保留率/% ER
35P/4L	30.95 ± 0.93 ^{cd}	4.25 ± 0.07 ^{ab}	48.77 ± 1.16 ^b	36.96 ± 1.21 ^{ab}
35P/7L	28.47 ± 0.51 ^{bcd}	3.55 ± 0.08 ^a	48.39 ± 1.17 ^b	35.35 ± 2.19 ^a
35P/10L	25.48 ± 0.95 ^{bc}	4.56 ± 0.06 ^{abcd}	41.09 ± 1.36 ^a	33.79 ± 2.23 ^a
35P/13L	32.98 ± 0.94 ^d	4.92 ± 0.12 ^{bcd}	45.05 ± 1.55 ^{ab}	40.91 ± 1.61 ^{ab}
40P/4L	17.88 ± 0.24 ^a	4.60 ± 0.07 ^{bcd}	45.05 ± 0.78 ^{ab}	34.59 ± 1.39 ^a
40P/7L	23.84 ± 0.13 ^{ab}	5.42 ± 0.21 ^{cde}	45.41 ± 1.21 ^{ab}	37.19 ± 1.33 ^{ab}
40P/10L	33.87 ± 0.99 ^d	4.51 ± 0.05 ^{abc}	41.28 ± 1.69 ^a	41.02 ± 1.73 ^{ab}
40P/13L	29.96 ± 0.95 ^{bcd}	5.64 ± 0.13 ^e	45.45 ± 0.98 ^{ab}	43.68 ± 1.12 ^{ab}
45P/4L	23.63 ± 0.51 ^{ab}	4.09 ± 0.16 ^{ab}	45.21 ± 1.92 ^{ab}	34.19 ± 1.24 ^a
45P/7L	32.33 ± 1.04 ^d	5.56 ± 0.29 ^{de}	44.09 ± 0.26 ^{ab}	37.99 ± 1.94 ^{ab}
45P/10L	27.49 ± 1.2 ^{bcd}	4.60 ± 0.15 ^{abcde}	43.51 ± 0.57 ^{ab}	44.90 ± 1.97 ^{ab}
45P/13L	29.44 ± 0.18 ^{bcd}	4.99 ± 0.15 ^{bcd}	44.52 ± 1.02 ^{ab}	50.83 ± 1.06 ^b
蛋白质水平/% protein levels				
35	29.46 ^B	4.37 ^A	45.83	36.75 ^A
40	25.30 ^A	5.08 ^B	44.30	39.12 ^{AB}
45	28.47 ^{AB}	4.81 ^{AB}	44.33	41.98 ^B
脂肪水平/% lipid levels				
4	23.98 ^A	4.27 ^A	46.34	35.24 ^A
7	26.62 ^{AB}	5.25 ^C	45.96	36.84 ^A
10	29.14 ^{AB}	4.42 ^{AB}	41.96	39.91 ^{AB}
13	30.53 ^B	4.98 ^{BC}	45.01	45.14 ^B
Two-Way ANOVA				
蛋白质 <i>Pp</i>	0.014	0.004	0.680	0.044
脂肪 <i>Pc</i>	0.039	0.011	0.234	0.002
交互 <i>Pp * Pc</i>	0.004	0.039	0.900	0.247

2.2 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙全体组成的影响

饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙全体的粗脂肪、粗灰分含量和总能水平有显著交互作用($P < 0.05$),对牛蛙全体的水分和粗蛋白含量无显著交互作用($P > 0.05$)(表4)。饲料蛋白质水平对牛蛙全体的水分、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分含量和总能水平均无显著影响($P > 0.05$)。饲料脂肪水平显著影响牛蛙全体的水分、粗脂肪、粗灰分含量

和总能水平($P < 0.05$),而对牛蛙全体的粗蛋白含量无显著影响($P > 0.05$)。10%和13%脂肪组的牛蛙全体水分含量(76.41%、75.08%)显著低于4%脂肪组(79.17%)和7%脂肪组(78.24%)($P < 0.05$)。随着饲料脂肪水平的提高,牛蛙全体粗脂肪含量显著升高,分别为4.21%、5.38%、7.02%、8.71%($P < 0.05$)。7%脂肪组牛蛙全体的粗灰分含量(2.44%)显著低于4%脂肪组(2.65%)($P < 0.05$),与10%和13%脂肪组无显

著差异(2.50% 和 2.49%) ($P > 0.05$)。7% 脂肪组牛蛙全体的总能水平(5.05 kJ/g)显著低于10% 和 13% 脂肪组(5.66 和 6.20 kJ/g) ($P < 0.05$),与4% 脂肪组无显著差异(4.76 kJ/g) ($P > 0.05$)。各实验组中,40P/4L 和 45P/4L 组,牛蛙全体的水分含量最高,45P/13L 组最低($P < 0.05$)。40P/4L 和 45P/4L 组,牛蛙全体的粗脂肪含量和总能水平最低,45P/13L 组最高($P < 0.05$)。35P/13L 组,牛蛙全体的粗灰分含量最低,而35P/4L 组最高($P < 0.05$)。

饲料的蛋白质和脂肪水平对牛蛙肌肉的水分和粗灰分含量无显著影响($P > 0.05$),但显著影响其粗蛋白、粗脂肪含量和能量水平($P < 0.05$) (表5)。饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙肌肉的粗蛋白、粗脂肪含量和总能水平存在交互作用($P < 0.05$),对牛蛙肌肉的水分和粗灰分含量无交互影响($P > 0.05$)。40% 蛋白组牛蛙肌肉的粗蛋白含量(19.34%)和总能水平(4.70 kJ/g)显著高于

35% 蛋白组(18.68%、4.87 kJ/g)和45% 蛋白组(18.76%、4.71 kJ/g) ($P < 0.05$),35% 蛋白组和45% 蛋白组间无显著差异($P > 0.05$)。45% 蛋白组牛蛙肌肉的粗脂肪含量(1.08%)显著低于35% 蛋白组(1.21%)和40% 蛋白组(1.26%) ($P < 0.05$),35% 蛋白组和40% 蛋白组间无显著差异($P > 0.05$)。10% 脂肪组牛蛙肌肉的粗蛋白含量(19.16%)显著高于4% 脂肪组(18.61%)和13% 脂肪组(18.94%) ($P < 0.05$),与7% 脂肪组(18.99%)间无显著差异($P > 0.05$)。13% 脂肪组牛蛙肌肉的粗脂肪含量(1.13%)显著低于其他脂肪组(1.19%、1.21%、1.19%) ($P < 0.05$)。7% 与13% 脂肪组牛蛙肌肉的总能水平(4.78 和 4.77 kJ/g)显著低于10% 脂肪组(4.85 kJ/g),显著高于4% 脂肪组(4.64 kJ/g) ($P < 0.05$)。各实验组中,40P/7L 组,牛蛙肌肉的粗蛋白和粗脂肪含量最高($P < 0.05$)。

表4 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙全体组成的影响

Tab. 4 Whole-body composition of bullfrog fed diets with different protein and lipid levels

组别 groups	水分/% moisture	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	粗灰分/% crude ash	总能/(kJ/g) gross energy
35P/4L	78.25 ± 0.04 ^{bcd}	13.80 ± 0.12	4.44 ± 0.08 ^{ab}	2.85 ± 0.06 ^d	5.27 ± 0.15 ^{abc}
35P/7L	78.08 ± 0.75 ^{bcd}	13.27 ± 0.91	5.63 ± 0.25 ^{bc}	2.38 ± 0.10 ^{ab}	5.10 ± 0.17 ^{abc}
35P/10L	76.98 ± 0.41 ^{abcd}	12.62 ± 0.27	6.57 ± 0.12 ^{cd}	2.41 ± 0.05 ^{abc}	5.29 ± 0.22 ^{abc}
35P/13L	75.88 ± 0.27 ^{abc}	12.70 ± 0.17	8.19 ± 0.51 ^{efg}	2.32 ± 0.05 ^a	6.09 ± 0.13 ^{cd}
40P/4L	79.71 ± 0.08 ^d	13.00 ± 0.16	4.23 ± 0.05 ^a	2.73 ± 0.03 ^{bcd}	4.59 ± 0.08 ^a
40P/7L	78.02 ± 0.31 ^{bcd}	13.48 ± 0.42	5.61 ± 0.02 ^{bc}	2.44 ± 0.02 ^{abc}	5.14 ± 0.11 ^{abc}
40P/10L	76.63 ± 0.51 ^{abcd}	12.78 ± 0.84	7.20 ± 0.02 ^{de}	2.34 ± 0.04 ^a	5.73 ± 0.08 ^{bcd}
40P/13L	74.90 ± 1.28 ^{ab}	13.36 ± 0.41	8.51 ± 0.52 ^{fg}	2.54 ± 0.15 ^{abcd}	6.10 ± 0.46 ^{cd}
45P/4L	79.54 ± 0.51 ^d	13.54 ± 0.47	3.96 ± 0.23 ^a	2.38 ± 0.01 ^{ab}	4.42 ± 0.13 ^a
45P/7L	78.64 ± 1.26 ^{cd}	14.08 ± 0.23	4.91 ± 0.07 ^{ab}	2.50 ± 0.11 ^{abcd}	4.91 ± 0.28 ^{ab}
45P/10L	75.64 ± 0.38 ^{abc}	13.73 ± 0.54	7.29 ± 0.13 ^{def}	2.74 ± 0.04 ^{cd}	5.96 ± 0.07 ^{bcd}
45P/13L	74.45 ± 0.72 ^a	13.85 ± 0.01	9.41 ± 0.14 ^g	2.62 ± 0.05 ^{abcd}	6.41 ± 0.30 ^d
蛋白质水平/% protein levels					
35	77.30	13.16	6.21	2.49	5.44
40	77.31	13.09	6.39	2.51	5.39
45	77.06	13.74	6.39	2.56	5.42
脂肪水平/% lipid levels					
4	79.17 ^B	13.50	4.21 ^A	2.65 ^B	4.76 ^A
7	78.24 ^B	13.53	5.38 ^B	2.44 ^A	5.05 ^A
10	76.41 ^A	13.12	7.02 ^C	2.50 ^{AB}	5.66 ^B
13	75.08 ^A	13.17	8.71 ^D	2.49 ^{AB}	6.20 ^C
Two-Way ANOVA					
蛋白质 P_p	0.841	0.213	0.477	0.372	0.943
脂肪 P_c	0.000	0.648	0.000	0.008	0.000
交互 $P_p * P_c$	0.302	0.773	0.006	0.000	0.039

表5 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙肌肉组成的影响
Tab.5 Muscle composition of bullfrog fed diets with different protein and lipid levels

组别 groups	水分/% moisture	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	粗灰分/% crude ash	总能/(kJ/g) gross energy
35P/4L	79.95 ± 0.25	18.12 ± 0.09 ^a	1.24 ± 0.02 ^{ef}	0.98 ± 0.04	4.53 ± 0.02 ^a
35P/7L	79.44 ± 0.16	18.44 ± 0.15 ^a	1.11 ± 0.01 ^{bc}	0.96 ± 0.01	4.63 ± 0.01 ^{bc}
35P/10L	78.21 ± 0.86	19.20 ± 0.02 ^{def}	1.24 ± 0.01 ^{ef}	1.08 ± 0.18	4.89 ± 0.01 ^h
35P/13L	78.77 ± 0.25	18.96 ± 0.11 ^{cde}	1.24 ± 0.02 ^{ef}	1.06 ± 0.06	4.75 ± 0.01 ^d
40P/4L	78.53 ± 0.34	19.23 ± 0.01 ^{def}	1.14 ± 0.02 ^c	1.09 ± 0.17	4.80 ± 0.01 ^{ef}
40P/7L	78.38 ± 0.49	19.43 ± 0.08 ^f	1.38 ± 0.02 ^g	0.95 ± 0.01	4.86 ± 0.01 ^{gh}
40P/10L	78.35 ± 0.48	19.36 ± 0.04 ^{ef}	1.28 ± 0.01 ^f	0.93 ± 0.08	4.89 ± 0.01 ^h
40P/13L	78.19 ± 0.56	19.34 ± 0.07 ^{def}	1.23 ± 0.01 ^{def}	1.00 ± 0.05	4.90 ± 0.01 ^h
45P/4L	79.35 ± 0.56	18.49 ± 0.06 ^{ab}	1.18 ± 0.01 ^{cde}	1.06 ± 0.03	4.60 ± 0.01 ^b
45P/7L	78.37 ± 0.23	19.10 ± 0.03 ^{def}	1.15 ± 0.02 ^{cd}	0.97 ± 0.09	4.84 ± 0.02 ^{fg}
45P/10L	78.88 ± 0.46	18.91 ± 0.04 ^{bcd}	1.04 ± 0.01 ^b	1.13 ± 0.17	4.76 ± 0.01 ^{de}
45P/13L	79.20 ± 0.15	18.53 ± 0.10 ^{abc}	0.93 ± 0.01 ^a	1.05 ± 0.11	4.66 ± 0.01 ^c
蛋白质水平/% protein levels					
35	79.09	18.68 ^A	1.21 ^B	1.02	4.70 ^A
40	78.36	19.34 ^B	1.26 ^B	1.00	4.87 ^B
45	78.95	18.76 ^A	1.08 ^A	1.05	4.71 ^A
脂肪水平/% lipid levels					
4	79.28	18.61 ^A	1.19 ^B	1.05	4.64 ^A
7	78.73	18.99 ^{BC}	1.21 ^B	0.96	4.78 ^B
10	78.48	19.16 ^C	1.19 ^B	1.05	4.85 ^C
13	78.72	18.94 ^B	1.13 ^A	1.04	4.77 ^B
Two-Way ANOVA					
蛋白质 <i>Pp</i>	0.068	0.000	0.000	0.387	0.000
脂肪 <i>Pc</i>	0.191	0.000	0.000	0.233	0.000
交互 <i>Pp * Pc</i>	0.386	0.000	0.000	0.367	0.000

2.3 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙肝脏生化指标的影响

饲料的蛋白质和脂肪水平对牛蛙肝脏 GOT、GPT 和 SOD 的活力无显著影响 ($P > 0.05$) , 但显著影响牛蛙肝脏 CAT 活力、MDA 含量和 LPL 的活力 ($P < 0.05$) (表 6)。饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙肝脏的 MDA 含量和 LPL 活力有交互作用 ($P < 0.05$), 对牛蛙肝脏的 GOT、GPT、CAT 和 SOD 活力无交互影响 ($P > 0.05$)。40% 蛋白组牛蛙肝脏 MDA 含量 (0.87 nmol/mg) 显著低于 35% 蛋白组 (1.09 nmol/mg) ($P < 0.05$), 35% 蛋白组和 45% 蛋白组间 (0.94 nmol/mg) 无显著差异 ($P > 0.05$)。随饲料蛋白质水平的升高, 牛蛙肝脏 LPL 活力显著降低 ($P < 0.05$), 分别为 79.95、75.00 和 68.85 U/g。随饲料脂肪水平的升高, 牛蛙肝脏 MDA 含量显著升高, 而牛蛙肝脏

CAT 含量和 LPL 活力呈先升高后降低的趋势。35P/10L、35P/13L、40P/13L 和 45P/13L 实验组的牛蛙肝脏 MDA 含量显著高于其他组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙生长的影响

在本实验中, 牛蛙的存活率均为 100%, 未受饲料蛋白质和脂肪水平的影响, 说明牛蛙能很好地适应养殖环境和实验饲料。

饲料蛋白质水平显著影响牛蛙的增重率、特定生长率、摄食率、饲料效率、蛋白质效率和能量保留率。本实验中, 随着饲料蛋白质水平从 35% 增加到 40%, 牛蛙的增重率和特定生长率皆显著升高, 而当蛋白质水平从 40% 增加到 45% 时, 牛蛙的增重率和特定生长率无显著差异, 说明饲料

表 6 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙肝脏生化指标的影响

Tab. 6 Some biochemical indexes in hepatic tissue of bullfrog fed diets with different protein and lipid levels

组别 groups	谷草转氨酶/ (U/g) GOT	谷丙转氨酶/ (U/g) GPT	过氧化氢酶/ (U/mg) CAT	丙二醛/ (nmol/mg) MDA	超氧化物歧化酶/ (U/mg) SOD	脂蛋白酯酶/ (U/g) LPL
35P/4L	90.41 ± 2.71	27.61 ± 5.15	80.11 ± 5.77	0.71 ± 0.03 ^a	26.18 ± 1.75	59.86 ± 2.87 ^a
35P/7L	76.78 ± 7.03	21.50 ± 5.39	100.51 ± 9.89	0.87 ± 0.04 ^a	30.41 ± 3.83	97.27 ± 2.42 ^c
35P/10L	85.58 ± 6.15	24.91 ± 8.84	99.12 ± 7.53	1.18 ± 0.17 ^{ab}	32.23 ± 3.18	99.55 ± 1.08 ^c
35P/13L	79.44 ± 6.43	16.85 ± 1.89	85.02 ± 5.27	1.59 ± 0.27 ^b	30.08 ± 4.38	63.11 ± 1.87 ^{abc}
40P/4L	77.63 ± 3.14	31.84 ± 1.91	77.48 ± 9.57	0.70 ± 0.02 ^a	25.58 ± 2.84	70.77 ± 0.82 ^c
40P/7L	72.82 ± 3.86	36.44 ± 2.84	79.60 ± 4.93	0.78 ± 0.12 ^a	27.81 ± 1.72	69.45 ± 1.12 ^{bc}
40P/10L	84.66 ± 8.82	23.17 ± 9.13	86.72 ± 4.33	0.91 ± 0.03 ^a	29.27 ± 1.68	65.34 ± 0.31 ^{abc}
40P/13L	90.92 ± 3.49	30.66 ± 1.80	95.21 ± 9.35	1.10 ± 0.06 ^{ab}	35.76 ± 1.70	94.45 ± 1.11 ^c
45P/4L	78.92 ± 5.25	30.85 ± 5.01	67.59 ± 3.95	0.73 ± 0.10 ^a	24.16 ± 1.00	63.03 ± 1.56 ^{abc}
45P/7L	84.41 ± 9.18	32.32 ± 9.60	93.82 ± 6.67	0.74 ± 0.08 ^a	34.06 ± 4.32	85.48 ± 1.45 ^d
45P/10L	87.51 ± 1.67	30.11 ± 4.15	94.30 ± 3.25	0.81 ± 0.06 ^a	26.42 ± 1.56	61.72 ± 1.37 ^{ab}
45P/13L	81.53 ± 2.54	32.82 ± 4.83	72.56 ± 3.41	1.49 ± 0.08 ^b	25.94 ± 1.71	65.17 ± 0.48 ^{abc}
蛋白质水平/% protein levels						
35	83.05	22.72	91.19	1.09 ^B	29.72	79.95 ^C
40	81.51	30.53	84.75	0.87 ^A	29.61	75.00 ^B
45	83.10	31.53	82.07	0.94 ^{AB}	27.64	68.85 ^A
脂肪水平/% lipid levels						
4	82.32	30.10	75.06 ^A	0.71 ^A	25.31	64.55 ^A
7	78.00	30.09	91.31 ^B	0.80 ^{AB}	30.76	84.06 ^C
10	85.92	26.07	93.38 ^B	1.03 ^B	29.30	75.53 ^B
13	83.97	26.78	84.26 ^A	1.30 ^C	30.59	74.24 ^B
Two-Way ANOVA						
蛋白质 <i>Pp</i>	0.930	0.217	0.153	0.035	0.489	0.000
脂肪 <i>Pc</i>	0.530	0.867	0.010	0.000	0.075	0.000
交互 <i>Pp * Pc</i>	0.518	0.905	0.136	0.013	0.160	0.000

中 40% 蛋白质水平能够满足牛蛙生长的需要。Olvera-Novoa 等^[8]的研究也表明初始体质量为 8.84 g 的牛蛙最适蛋白质水平为 40%。这一实验结果与多种肉食性鱼类的蛋白质需要量相近,如银鲑 (*Oncorhynchus kisutch*, 40%)^[13]、四须鲃 (*Barbodes altus*, 41.7%)^[14] 和 大鱗大马哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*, 40%)^[15], 说明牛蛙与肉食性鱼类具有相似的蛋白质需求。本实验中,随着饲料蛋白质水平的增加,牛蛙的饲料效率显著升高,摄食率和蛋白质效率显著降低。这说明牛蛙能够通过调节摄食率以保证定量的蛋白质摄入,而饲料蛋白质营养浓度的增加会提高养殖动物的饲料效率,但会降低其蛋白质效率。相似情况也出现在对部分鱼类的研究中^[16~20]。在本实验中,牛蛙全氮保留率不受饲料蛋白质水平影响,而能量保留率随饲料蛋白质水平的升高而增加,说明牛蛙饲料中过多的蛋白质并没有以体蛋白的形式保留,而是分解供能或转化为脂肪或碳水化合物储存。

饲料脂肪水平显著影响牛蛙的增重率、特定生长率、摄食率和能量保留率。随着饲料脂肪水平的增加,牛蛙的增重率、特定生长率和摄食率显著升高,说明脂肪对牛蛙的摄食有很好的促进作用,并且牛蛙能高效利用饲料脂肪以增加体质量。本实验牛蛙的氮保留率和蛋白质效率不受饲料脂肪水平的影响,而其能量保留率和脏体比随饲料脂肪水平的升高而升高,说明在本实验的蛋白质和脂肪水平下,牛蛙饲料脂肪没有表现出节约蛋白质的效应,而是以脂肪等能量储存形式导致体质量的增加。部分学者在对美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*)^[21~22] 和 军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)^[23] 的研究中也发现相似的结果。

养殖实验结束时发现,13% 脂肪组的牛蛙肝脏颜色不均一,表现出花肝的症状。说明高脂饲料会引起养殖动物肝脏病变,牛蛙饲料中的脂肪

水平不宜高于 13%。在脂肪水平为 4%~10% 的各饲料组中,45P/4L 组的增重率最低,显著低于 40P/7L、40P/10L 和 45P/10L 组,而该 3 组之间增重率和氮保留率差异不显著,因此牛蛙饲料合适的蛋白质和脂肪比为 40P/7L,蛋白能量比为 27.7 mg/kJ,略高于 Olvera-Novoa 等^[8]的研究结果(26.8 mg/kJ)。本实验与后者在选用饲料蛋白和能量源方面的差异以及牛蛙养殖和投喂方式的不同可能是导致实验结果差异的主要原因。本实验结果也与一些偏肉食性鱼类的最适蛋白能量比相近,如花鲈(*Lateolabrax japonicus*,25.9 mg/kJ)^[24]、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*,26.3 mg/kJ)^[25]、杂交鲈(*Morone saxatilis* × *Morone chrysops*,26.8 mg/kJ)^[26]、尖吻鲈(*Lates calcarifer*,30.6 mg/kJ)幼鱼^[27]和翘嘴鮊(*Culter alburnus*,27.2 mg/kJ)^[28]。

3.2 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙体组成的影响

肌肉蛋白质和脂肪含量是评价肌肉营养价值和品质的常用指标^[29],而脂肪在动物体内的分布还会影响养殖动物可食比例。在本实验中,饲料蛋白质水平为 40% 时,牛蛙肌肉的粗蛋白、粗脂肪含量和总能水平高于 35% 和 45% 组,饲料脂肪水平为 7%~10% 时,牛蛙肌肉的粗蛋白、粗脂肪含量和总能水平高于 4% 和 13% 组。说明 40% 蛋白水平或 7%~10% 脂肪水平的饲料能提高牛蛙肌肉的营养价值,改善肌肉的品质。在本实验中,随着饲料脂肪水平的增加,牛蛙全体的粗脂肪含量和总能水平显著升高,水分含量显著降低。说明牛蛙的体脂肪沉积与体水分含量呈负相关,而与饲料脂肪水平呈正相关,这与在部分鱼类中的研究结果相似^[30~31]。本研究中,牛蛙的脏体比随饲料脂肪水平的升高而显著升高,说明饲料中过量的能量以脂肪的形式沉积于牛蛙的内脏,这将减少牛蛙的可食部分。因此在推荐营养需求参数时应当综合考虑养殖动物的生长和体组成,以保证动物可食部分获得快速生长。

3.3 饲料蛋白质和脂肪水平对牛蛙肝脏健康的影响

肝脏是水生动物重要的代谢器官,与水生动物的健康密切相关。MDA 是脂质过氧化物的分解产物之一,对生物体具有很强的毒性,其含量直接反映机体脂质的过氧化程度,并间接反映机体的细胞

损伤程度^[32]。SOD 和 CAT 存在于生物体的各种组织中,是机体的抗氧化酶之一,可以消除超氧阴离子自由基,降低脂质过氧化物含量,使机体免受氧化损伤^[33]。在本实验中,随着饲料脂肪水平的升高,牛蛙肝脏 MDA 含量显著增加,CAT 活力显著升高而后显著降低,SOD 活力不受显著影响。说明饲料脂肪水平与牛蛙肝脏氧化损伤程度呈正相关,而 CAT 是牛蛙肝脏抗脂质氧化的关键酶。脂质过氧化会引起氧化应激反应,在自由基的诱导及机体代偿应激下,机体会诱导性地增强抗氧化能力,一般会出现 CAT 活力升高的现象。而本研究中,随着饲料脂肪水平升高,肝脏 MDA 含量和 CAT 活力显著升高,但当饲料脂肪水平达到 13% 时,CAT 活力显著降低,说明该组牛蛙肝脏因氧化攻击而受损程度增加,可能影响 CAT 的生成,从而导致更严重的氧化损伤,该脂肪组牛蛙肝脏颜色的异常也是其氧化损伤的表现。LPL 是脂肪分解的关键酶,能够水解富含甘油三酯的脂蛋白,产生游离脂肪酸,以供组织氧化供能或贮存^[34]。在本研究中,肝脏 LPL 活力随饲料脂肪水平升高(4%~7%)而显著升高,当饲料脂肪水平高于 10% 时,LPL 活力显著降低。说明一定范围内饲料脂肪水平的升高(4%~7%)可诱导牛蛙肝脏 LPL 活力提高,以促进脂类代谢,而牛蛙摄食高脂饲料时可能运行不同的脂肪代谢机制。

4 结论

根据本实验中牛蛙生长、体组成和肝脏健康指标的研究结果,建议牛蛙饲料适宜的蛋白质和脂肪水平分别为 40% 和 7%,适宜蛋白能量比为 27.7 mg/kJ。

参考文献:

- [1] Guan S J. Fish nutrition and feed science [M]. Chengdu: Chengdu University of Science and Technology Press, 1992:5~19. [关受江. 鱼类营养及饲料学. 成都:科技大学出版社,1992:5~19.]
- [2] Grisdale-Hell B, Helland S J. Replacement of protein by fat and carbohydrate in diets for atlantic salmon (*Salmo salar*) at the end of freshwater stage [J]. Aquaculture, 1997, 152(1):167~180.
- [3] LeGrow S M, Beamish F W H. Influence of dietary protein and lipid on apparent heat increment of rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. Canadian Journal Fisheries Aquatic Sciences, 1986, 43(1):19~25.

- [4] Biswas B K, Ji S C, Biswas A K, et al. Dietary protein and lipid requirements for the Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* juvenile [J]. Aquaculture, 2009, 288(1) :114 – 119.
- [5] Zhang M L, He X H. Role of fat in the nutrition and feeds of fishes[J]. Reservoir Fisheries, 2003, 23(5) : 62 – 63. [张满隆,何小慧. 脂肪在鱼类营养及其饲料中的作用. 水利渔业,2003,23(5):62 – 63.]
- [6] Winfree R A, Stickney R R. Effects of dietary protein and energy on growth, feed conversion efficiency and body composition of *Tilapia aurea* [J]. The Journal of Nutrition, 1981, 111 (6) : 1001 – 1012.
- [7] Xu D P, Zeng X J, Liu S W. Research for ideal protein content of bullfrog fodder [J]. Hunan Fisheries, 1989(6) :15 – 18. [徐德平,曾训江,刘素文. 牛蛙饲料中最适蛋白质含量的研究. 湖南水产,1989(6):15 – 18.]
- [8] Olvera-Novoa M A, Ontiveros-Escutia V M, Flores-Nava A. Optimum protein level for growth in juvenile bullfrog (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) [J]. Aquaculture, 2007, 266(1) :191 – 199.
- [9] Chen X F, Zhou C Y, Chen M L. Studies on the pathogenic bacteria of the streptococcus of bullfrog [J]. Journal of Jimei University: Natural Science, 1999, 4(2) :45 – 50. [陈晓凤,周常义,陈梦麟. 牛蛙链球菌感染症病原的研究. 集美大学学报,1999, 4(2):45 – 49.]
- [10] He L, Ai X H, Zuo W G. Research for ascetic disease etiology of bullfrog [J]. Freshwater Fisheries, 1995, 25(3) :16 – 18. [贺路,艾晓辉,左文功. 牛蛙腹水病病原研究. 淡水渔业,1995,25(3):16 – 18.]
- [11] Samantaray K, Mohanty S S. Interactions of dietary levels of protein and energy on fingerling snakehead, *Channa striata* [J]. Aquaculture, 1997, 156 (3) : 241 – 249.
- [12] AOAC. Official methods of analysis of the association of analytical chemists [M]. 18th ed. Gaithersburg, MD, USA:AOAC International, 2005.
- [13] Zeitoun I H, Ullrey D E, Halver J E, et al. Influence of salinity on protein requirements of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts [J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1974, 31 (6) : 1145 – 1148.
- [14] Elangovan A, Shim K F. Growth response of juvenile *Barbodes altus* fed isocaloric diets with variable protein levels [J]. Aquaculture, 1997, 158 (3) : 321 – 329.
- [15] DeLong D C, Halver J E, Mertz E T. Nutrition of salmonoid fishes VI. protein requirements of chinook salmon at two water temperatures[J]. The Journal of Nutrition, 1958, 65(4) :589 – 599.
- [16] Anderson R J, Kienholtz E W, Flickinger S A. Protein requirements of smallmouth bass and largemouth bass[J]. The Journal of Nutrition, 1981, 111 (6) :1085 – 1097.
- [17] Jauncey K. The effect of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia (*Sarotherodon mosambicus*) [J]. Aquaculture, 1982, 27(1) :43 – 54.
- [18] Aksnes A, Hjertnes T, Opstvedt J. Effect of dietary protein level on growth and carcass composition in Atlantic halibut(*Hippoglossus L.*)[J]. Aquaculture, 1996, 145(1) :225 – 233.
- [19] Mohanty S N, Swamy D N, Tripathi S D. Protein utilization in Indian major carp fry, *Catla catla* (Ham.)*Labeo rohita*(Ham.) and *Cirrhinus mrigala* (Ham.) fed four protein diets [J]. Journal of Aquaculture in the Tropics, 1990, 5(2) :173 – 179.
- [20] Page J W, Andrews J W. Interactions of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. Journal of Nutrition, 1973, 103(9) :1339 – 1346.
- [21] McGoogan B B, Gatlin III D M. Dietary manipulations affecting growth and nitrogenous waste production of red drum, *Sciaenops ocellatus* I. Effects of dietary protein and energy levels[J]. Aquaculture, 1999, 178(3) :333 – 348.
- [22] Thoman E S, Davis D A, Arnold, C R. Evaluation of grow out diets with varying protein and energy levels for red drum(*Sciaenops ocellatus*) [J]. Aquaculture, 1999, 176(3) :343 – 353.
- [23] Wang J T, Liu Y J, Tian L X, et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. Aquaculture, 2005, 249 (1) : 439 – 447.
- [24] Ai Q H, Mai K S, Li H T, et al. Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. Aquaculture, 2004, 230 (1 – 4) :507 – 516.
- [25] Dai X Q, Yang G H, Li J. The optimum calorie protein ratio in the diet for black carp fingerlings [J]. Journal of Fisheries of China, 1988, 12 (1) :

- 35–41. [戴祥庆, 杨国华, 李军. 青鱼饲料最适能量蛋白比的研究. 水产学报, 1988, 12 (1): 35–41.]
- [26] Nematipour G R, Brown M L, Gatlin III D M. Effects of dietary energy: Protein ratios on growth characteristics and body composition of hybrid striped bass, *Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂ [J]. Aquaculture, 1992, 107(4):359–368.
- [27] Catacutan M R, Coloso R M. Effect of dietary protein to energy ratios on body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer* [J]. Aquaculture, 1995, 131(1):125–133.
- [28] Song L, Fan Q X, Hu P P, et al. Effects of dietary protein to energy ratio on growth performance and digestive enzyme activities of juvenile *Topmouth culter*, *Culter alburnus* [J]. Acta Zootntrimenta Sinica, 2013, 25(7):1480–1487. [宋林, 樊启学, 胡培培, 等. 饲料蛋能比对翘嘴鮊幼鱼生长性能、肠道和肝胰脏消化酶活性的影响. 动物营养学报, 2013, 25(7):1480–1487.]
- [29] Huang J, Yang S, Qin Z B, et al. Comparative study about flesh contents and nutrient values in brown bullhead, loach and darkbarbel catfish [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(5):990–997. [黄钩, 杨淞, 覃志彪, 等. 云斑、泥鳅和瓦氏黄颡鱼的含肉率及营养价值比较研究. 水生生物学报, 2010, 34(5):990–997.]
- [30] Regost C, Arzel J, Cardinal M, et al. Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*) [J]. Aquaculture, 2001, 193 (3): 291–309.
- [31] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper (*Epinephelus coioides*) juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages [J]. Aquaculture International, 2005, 13 (3): 257–269.
- [32] Zhou X Q, Liang H M. Change in the contents of lipid peroxide, and activity of antioxidant enzymes in the liver of mice under crowding stress [J]. Zoological Research, 2003, 24(3):238–240. [周显青, 梁洪蒙. 拥挤胁迫下小鼠肝脏脂质过氧化物含量和抗氧化物酶活性的变化. 动物学研究, 2003, 24(3):238–240.]
- [33] Zhou X Q, Li S L, Wang X H, et al. Effects of vitamin C polyphosphate on liver lipid peroxides and antioxidantase activity in mice [J]. Acta Zoologica Sinica, 2004, 50(3):370–374. [周显青, 李胜利, 王晓辉. 维生素C多聚磷酸酯对小鼠肝脏脂质过氧化物和抗氧化物酶的影响. 动物学报, 2004, 50(3):370–374.]
- [34] Liu Q. The research on cloning of LPL and the extraction and culture of adipocytes in grass carp [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2007. [刘茜. 草鱼LPL基因克隆及草鱼脂肪细胞提取与培养的研究. 杨凌:西北农林科技大学, 2007.]

Effects of dietary protein and lipid levels on growth of bullfrog (*Rana catesbeiana*)

HUANG Kangkang, ZHANG Chunxiao*, WANG Ling, SONG Kai, HUANG Fei

(Xiamen Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to estimate the optimum dietary protein and lipid levels for bullfrog (*Rana catesbeiana*). Twelve diets were formulated to contain three protein levels(35%, 40% and 45%), each with four lipid levels(4%, 7%, 10% and 13%), in order to produce a range of P/E ratios (from 21.9 to 32.0 mg protein/kJ). The designed dietary protein and lipid levels in a brown fish meal-based formulation were achieved by serial adjustment of casein (for protein) or a mixture of fish oil and soybean oil (for lipid) at the expense of microcrystalline cellulose. Each diet was randomly assigned to three tanks (200 L), each tank was stocked with 12 bullfrogs [(91.5 ± 0.10) g average initial body weight]. Bullfrogs were fed twice daily (08:00 and 17:00) to apparent satiation for 8 weeks. The results showed that no significant differences in survival were found among all dietary treatments, but bullfrogs fed the diet with 13% lipid displayed liver lesions, such as abnormal color and crumbly texture. Weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) of bullfrogs fed diet with 40% protein were significantly higher than those of bullfrogs fed diet with 35% protein ($P < 0.05$), but there were no significant differences with bullfrogs fed diet with 45% protein ($P > 0.05$). With increasing dietary protein levels, feed efficiency (FE) increased significantly, whereas, feed rate (FR) and protein efficiency ratio (PER) were just the opposite ($P < 0.05$). WG, SGR and FR increased significantly with increasing dietary lipid levels ($P < 0.05$), however, FE, PER and nitrogen retention were not significantly affected by dietary lipid levels ($P > 0.05$). No significant difference was observed in body composition among all the groups at different dietary protein levels ($P > 0.05$). Whole-body crude protein contents were not significantly affected by dietary lipid levels ($P > 0.05$). However, whole-body crude lipid and energy contents increased significantly with increasing dietary lipid level ($P < 0.05$). With increasing dietary lipid levels, hepatic malondialdehyde (MDA) concentration increased significantly, whereas, hepatic catalase (CAT) and lipoprotein lipase (LPL) activity were first increased and then decreased ($P < 0.05$). The results of this study suggest that diet containing 40% protein and 7% lipid with a protein to energy ratio of 27.7 mg protein/kJ is optimal for bullfrog.

Key words: *Rana catesbeiana*; feed; protein; lipid; protein to energy ratio

Corresponding author: ZHANG Chunxiao. E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn