

## 发酵桑叶替代鱼粉对大口黑鲈生长、脂质代谢与抗氧化能力的影响

徐 韬<sup>1,2</sup>, 彭祥和<sup>1,2</sup>, 陈拥军<sup>1,2</sup>, 林仕梅<sup>1,2\*</sup>, 黄先智<sup>3</sup>, 李 云<sup>1,2</sup>

(1. 西南大学动物科技学院, 重庆 400716;

2. 西南大学淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400716;

3. 西南大学蚕学与系统生物学研究所, 重庆 400716)

**摘要:** 在基础饲料中用发酵桑叶分别替代0、15%、30%鱼粉, 再对30%鱼粉替代水平饲料补充晶体赖氨酸和蛋氨酸, 配制成4种等能等氮(CP 42%, GE 18 MJ/Kg)的实验饲料, 分别表示为D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>和D<sub>4</sub>, 饲喂大口黑鲈(初始体质量10 g)8周, 研究发酵桑叶替代鱼粉对大口黑鲈生长、脂质代谢和抗氧化能力的影响。结果显示, 发酵桑叶替代30%鱼粉会显著降低大口黑鲈的终末体质量、特定生长率(SGR)、脏体比(VSI)和肝体比(HSI), 补充晶体氨基酸(CAA)后会明显改善大口黑鲈的生长性能。各实验组蛋白质效率、饲料系数、摄食率、肥满度以及全鱼常规组成均无显著差异。发酵桑叶替代30%鱼粉会显著降低大口黑鲈血清总胆固醇(CHO)、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)含量, 提高HDL-C/CHO和HDL-C/LDL-C比值。随发酵桑叶替代水平的提高, 大口黑鲈血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量和丙二醛(MDA)含量显著降低, 而超氧化物歧化酶(SOD)活性显著升高。研究表明, 发酵桑叶替代适宜水平鱼粉不会影响大口黑鲈的生长, 而替代鱼粉水平过高会显著抑制大口黑鲈的生长, 但可以改善大口黑鲈的脂质代谢和机体抗氧化能力。饲料中补充晶体氨基酸可以提高桑叶的利用率, 促进大口黑鲈生长。

**关键词:** 大口黑鲈; 发酵桑叶; 生长; 代谢; 抗氧化能力

**中图分类号:** S 963.22

**文献标志码:** A

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)是一种典型的肉食性鱼类, 其本身易患脂肪肝, 而高能低氮日粮的开发应用, 更易致大口黑鲈肝脏受损<sup>[1]</sup>。桑叶作为一种新型饲料, 含有较高的粗蛋白质(占干物质20%左右)和氨基酸, 且富含多糖、黄酮和生物碱等活性成分而倍受人们关注<sup>[2-3]</sup>。动物学实验已证实, 饲料中添加桑叶可以实现降血糖、降血脂以及提高动物机体的抗氧化能力<sup>[4-6]</sup>。本课题组前期研究也证实, 桑叶可有效调节鱼体的脂质代谢<sup>[7]</sup>。但桑叶的消化率较

低<sup>[8]</sup>, 影响其在水产饲料中的添加量。已有的研究证实, 桑叶发酵后可以提高其替代鱼饲料中鱼粉的用量<sup>[9-10]</sup>, 甚至替代饲料中高达80%的鱼粉<sup>[11]</sup>。而有关发酵桑叶在大口黑鲈饲料中的应用研究还未见报道。为此, 本实验拟采用发酵桑叶替代部分鱼粉, 研究饲料中添加发酵桑叶对大口黑鲈生长、代谢以及抗氧化能力的影响, 旨在为桑叶的综合开发利用积累更多的资料, 同时为解决大口黑鲈养殖生产实际问题提供参考依据。

收稿日期: 2015-06-07 修回日期: 2016-04-21

资助项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303053); 重庆市应用开发计划(cstc2014yykfA80019)

通信作者: 林仕梅, E-mail: linsm198@163.com

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕和棉籽蛋白为主要蛋白源, 以鱼油和豆油为脂肪源配制应用基础饲料(CP 42%, GE 18 MJ/Kg)(表1)。在基础饲料中用发酵桑叶(采用乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌和固氮菌进行固态发酵而成, 其干物质含量为32.5%, 粗蛋白质含量为24.7%, 粗脂肪含量为10.3%, 粗灰分含量为8.7%)替代0、15%、30%鱼粉; 在30%鱼粉替代水平基础上, 补充晶体赖氨酸和蛋氨酸(达到与0替代水平时饲料同等赖氨酸和蛋氨酸水平), 配制成4种等氮等能的实验饲料, 分别表示为D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>、D<sub>4</sub>。各饲料原料粉碎过

80目筛, 采取逐级稀释法混合均匀, 用洋工TSE65S型双螺杆湿法膨化机(北京现代洋工机械科技发展有限公司)制成粒径为2.0和3.0 mm的浮性膨化颗粒饲料, 风干后放入4 °C冰箱中保存备用。

### 1.2 饲养管理

实验鱼选用当年培育的体质健壮、规格整齐的大口黑鲈(平均体质量为10 g)480尾, 随机分成4个处理, 每个处理设4个重复, 每个重复30尾。在室内淡水循环水族缸(有效体积为250 L)中饲养大口黑鲈8周, 日投饲率为体质量的3%~5%, 每天08:00、12:30、17:00各投喂1次。水源为曝气自来水, 实验期间水温为(26.2±0.5) °C, pH为7.3±

表 1 实验饲料组成及营养水平(风干基础)

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

项目 items	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
<b>原料/% ingredients</b>				
秘鲁蒸汽鱼粉 Peru steam-treated fish meal	35	29.75	24.5	24.5
去皮豆粕 dehulled soybean meal	26	30	33	33
棉籽蛋白 cottonseed protein	8	10	12	12
发酵桑叶 fermented mulberry leaves	0	5	10	10
高筋面粉 strong flour	22.8	17.05	12.3	11.844
鱼油 fish oil	3	3	3	3
豆油 soybean oil	1	1	1	1
胆碱 choline	0.2	0.2	0.2	0.2
复合预混料 premix	2	2	2	2
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2	2	2	2
L-赖氨酸硫酸盐 L-lysine·H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				0.323
DL-蛋氨酸 DL-methionine				0.133
<b>营养水平 nutrient levels</b>				
粗蛋白质/% crude protein	42.3	42.2	42.1	42.1
粗脂肪/% crude lipid	8.13	7.73	7.33	7.33
粗灰分/% crude ash	9.77	9.79	9.80	9.80
赖氨酸/% lysine	2.67	2.56	2.46	2.67
蛋氨酸/% methionine	0.84	0.77	0.71	0.84
含硫氨基酸/% sulphur amino acids	1.31	1.23	1.16	1.16
总能/(MJ/kg) gross energy	18.1	18.1	18.0	18.0

注: L-赖氨酸硫酸盐含65%L-赖氨酸; DL-蛋氨酸含98%DL-蛋氨酸

Notes: L-lysine·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> consists of 65% L-lysine; DL-methionine consists of 98% DL-methionine

0.5, 溶解氧>6.8 mg/L, 氨氮<0.48 mg/L, 亚硝酸盐氮<0.06 mg/L。

### 1.3 样品制备与分析

饲养实验结束后, 禁食24 h后称重, 每个重复随机取3尾鱼作为全鱼样品, 用于体组成的测定; 每个重复随机取4尾鱼, 用MS-222进行麻醉, 测体长、体高, 分离出内脏、肝胰脏, 用于形体指标的测定; 每个重复随机取5尾鱼于尾静脉取血, 在4000×g 4 °C条件下离心10 min, 收集血清, -20 °C保存备用。

饲料原料及全鱼样品均在105 °C烘干至恒重, 然后采用凯氏定氮法测定粗蛋白质含量, 索氏抽提法测定粗脂肪含量, 高温(550 °C)灼烧法测定灰分含量。

血清代谢指标均采用全自动生化分析仪(日立7100)测定, 包括谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性以及总胆固醇(TC)、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)的含量。血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定。蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定。

### 1.4 计算公式

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

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER)=( $W_t - W_0$ )/( $F \times F_p$ );

饲料系数(feed conversion ratio; FCR)= $F / (W_t - W_0)$ ;

摄食率(feeding rate, FR, g/d)= $F \times 2 / [(W_t +$

$W_0) \times t]$ ;

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

肥满度(condition factor, CF, g/cm<sup>3</sup>)= $100 \times W_t / L^3$ ;

脏体比(viscera somatic index, VSI, %)= $100 \times W_v / W_t$ ;

肝体比(hepatopancreas somatic index, HSI, %)= $100 \times W_h / W_t$

式中,  $W_t$ (g)和 $W_0$ (g)分别为终末体质量和初始体质量;  $t$ 为养殖实验天数;  $F$ (g)为尾均摄食量;  $F_p$ (%)为饲料蛋白质含量;  $N_t$ (尾)和 $N_0$ (尾)分别为终末尾数和初始尾数;  $L$ (cm)为鱼体长;  $W_v$ (g)为内脏重;  $W_h$ (g)为肝胰脏重。

### 1.5 数据处理与分析

实验数据均以平均值±标准误(mean±SE)表示, 采用SPSS17.0对所得数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 若差异达到显著水平, 则进行Tukey多重比较, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 发酵桑叶对大口黑鲈生长性能的影响

饲料中不同水平发酵桑叶替代鱼粉显著影响大口黑鲈的生长性能(表2)。30%替代鱼粉水平组大口黑鲈的终末体质量和特定生长率显著低于对照组和15%替代鱼粉水平组( $P < 0.05$ ), 而对对照组和15%鱼粉替代水平组之间无显著影响( $P > 0.05$ )。30%鱼粉替代水平补充晶体氨基酸后(30%+AA)大口黑鲈的终末体质量和特定生长率与对照组无显著差异, 同样与30%鱼粉替代水平组无显著差异( $P > 0.05$ )。各实验组蛋白质效率、饲料系数

表2 饲料中添加发酵桑叶对大口黑鲈生长性能的影响

Tab. 2 Effects of fermented mulberry leaves on growth performance of largemouth bass

项目 items	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
初始体质量/g IBW	10.96±0.22	11.51±0.25	11.10±0.30	10.79±0.52
终末体质量/g FBW	28.13±0.94 <sup>ab</sup>	30.10±0.26 <sup>a</sup>	23.29±1.40 <sup>b</sup>	25.76±0.75 <sup>ab</sup>
特定生长率(%/d) SGR	1.71±0.02 <sup>a</sup>	1.68±0.02 <sup>a</sup>	1.32±0.08 <sup>b</sup>	1.56±0.04 <sup>ab</sup>
蛋白质效率 PER	2.42±0.18	2.36±0.13	2.07±0.15	2.28±0.04
饲料系数 FCR	1.30±0.10	1.33±0.07	1.53±0.12	1.37±0.02
摄食率(%/d) FR	2.06±0.12	2.08±0.14	1.91±0.09	2.01±0.07
成活率/% SR	96.67±3.46	93.33±2.75	95.56±2.49	94.44±3.83

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ), 下同

Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant different ( $P < 0.05$ ), the same below

和摄食率均无显著差异( $P>0.05$ )。

## 2.2 发酵桑叶对大口黑鲈形态指标和体组成的影响

30%鱼粉替代水平以及补充晶体氨基酸后会显著降低大口黑鲈脏体比和肝体比( $P<0.05$ ), 而15%鱼粉替代水平没有显著影响( $P>0.05$ )(表3)。各实验组大口黑鲈肥满度以及全鱼水分、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分含量均无显著差异( $P>0.05$ )。

表3 发酵桑叶对大口黑鲈形态指标和营养组成的影响

Tab. 3 Morphological measurements and nutrient composition of largemouth bass fed diets containing different levels of fermented mulberry leaves %

项目 items	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
<b>形态指标 morphological measurements</b>				
肥满度 CF	1.31±0.01	1.29±0.02	1.28±0.03	1.28±0.03
脏体比 VSI	7.21±0.15 <sup>a</sup>	7.03±0.07 <sup>a</sup>	6.27±0.18 <sup>b</sup>	6.32±0.09 <sup>b</sup>
肝体比 HSI	1.70±0.04 <sup>a</sup>	1.63±0.03 <sup>a</sup>	1.31±0.09 <sup>b</sup>	1.30±0.05 <sup>b</sup>
<b>营养组成 nutrition composition</b>				
水分 moisture	72.00±0.40	71.35±0.45	71.35±0.45	71.15±0.35
粗蛋白质 crude protein	16.70±0.20	17.00±0.20	17.10±0.40	17.50±0.20
粗脂肪 crude lipid	6.00±0.20	5.75±0.15	5.55±0.15	5.45±0.15
粗灰分 crude ash	3.20±0.05	3.26±0.05	3.24±0.04	3.20±0.03

## 2.3 发酵桑叶对大口黑鲈血清脂质代谢的影响

30%鱼粉替代水平以及补充晶体氨基酸后会显著降低大口黑鲈血清总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇含量, 提高HDL-C/CHO和HDL-C/LDL-C比值( $P<0.05$ )(表4)。随发酵桑叶替代水平的提高, 大口黑鲈血清低密度脂蛋白胆固醇含量显著降低( $P<0.05$ )。

## 2.4 发酵桑叶对大口黑鲈血清抗氧化指标的影响

随发酵桑叶替代鱼粉水平的提高, 大口黑

表4 饲料中添加发酵桑叶对大口黑鲈血液脂质代谢指标的影响

Tab. 4 Effects of fermented mulberry leaves on blood metabolic indexes of largemouth bass

项目 items	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
总胆固醇/ (mmol/L) CHO	7.10±0.13 <sup>a</sup>	6.61±0.07 <sup>a</sup>	4.82±0.07 <sup>b</sup>	4.86±0.09 <sup>b</sup>
甘油三酯/ (mmol/L) TG	1.56±0.02 <sup>a</sup>	1.51±0.02 <sup>ab</sup>	1.44±0.02 <sup>b</sup>	1.42±0.01 <sup>b</sup>
高密度脂蛋白胆固醇/ (mmol/L) HDL-C	4.30±0.02 <sup>a</sup>	4.12±0.04 <sup>a</sup>	3.28±0.03 <sup>b</sup>	3.26±0.04 <sup>b</sup>
低密度脂蛋白胆固醇/ (mmol/L) LDL-C	2.20±0.03 <sup>a</sup>	1.79±0.06 <sup>b</sup>	1.27±0.04 <sup>c</sup>	1.26±0.01 <sup>c</sup>
HDL-C/CHO	0.60±0.01 <sup>b</sup>	0.62±0.01 <sup>b</sup>	0.68±0.01 <sup>a</sup>	0.67±0.01 <sup>a</sup>
HDL-C/LDL-C	1.95±0.02 <sup>b</sup>	2.30±0.06 <sup>b</sup>	2.59±0.05 <sup>a</sup>	2.60±0.02 <sup>a</sup>

鲈血清中SOD活性显著升高, 以对照组最低( $P<0.05$ )(表5)。30%鱼粉替代水平以及补充晶体氨基酸后会显著降低大口黑鲈血清MDA含量( $P<0.05$ ), 而15%鱼粉替代水平与对照组差异不显著( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 发酵桑叶替代鱼粉对大口黑鲈生长性能的影响

大量研究表明, 水产饲料中植物蛋白替代鱼粉的比例因实验鱼种、规格以及食性等不同而有所差异<sup>[12-13]</sup>。相对于杂食性鱼类, 肉食性鱼类对植物蛋白的耐受程度较低, 对鱼粉的依赖性较大<sup>[12]</sup>。从本实验结果可以看出, 大口黑鲈对发酵桑叶的耐受剂量较低, 高水平(30%)发酵桑叶替代鱼粉会抑制大口黑鲈的生长。这与在蛋鸡上的研究结果一致<sup>[14]</sup>。而饲料中添加15%桑叶不会影响尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的生长性能<sup>[7]</sup>。这表明动物对桑叶的耐受能力因动物种类不同而存在差异。已有研究表明, 桑叶发酵后能够改善印度囊鳃鲈(*Heteropneustes fossilis*)的生长性能, 与鱼下脚料配合使用能替代75%鱼粉<sup>[9]</sup>。随后在巴塔野鲮(*Labeo bata*)<sup>[10]</sup>和南亚野鲮

表5 饲料中添加发酵桑叶对大口黑鲈血清抗氧化指标的影响

Tab. 5 Effects of fermented mulberry leaves on antioxidant enzymes activities of largemouth bass

项目 items	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	387.67±8.00 <sup>b</sup>	422.33±5.78 <sup>ab</sup>	443.00±10.21 <sup>a</sup>	437.00±11.02 <sup>a</sup>
丙二醛/(nmol/mL) MDA	1.95±0.06 <sup>a</sup>	1.82±0.05 <sup>a</sup>	1.52±0.08 <sup>b</sup>	1.47±0.05 <sup>b</sup>

(*Labeo rohita*)<sup>[11]</sup>上研究发现, 发酵桑叶可以替代饲料中50%鱼粉, 与鱼类下脚料配合使用还可替代南亚野鲮饲料中80%鱼粉。本实验结果也证实, 发酵桑叶替代15%鱼粉不会影响大口黑鲈的生长。这些结果证实, 桑叶发酵后可以改善鱼类对桑叶的利用率。但饲料中发酵桑叶替代30%鱼粉会影响大口黑鲈的生长。尽管发酵工艺可以降低或去除植物性原料中抗营养因子的含量<sup>[15]</sup>, 但桑叶中粗纤维含量仍然较高, 影响消化酶的活性, 从而降低饲料中营养成分的消化率<sup>[16-17]</sup>。这可能是高水平(30%)发酵桑叶替代鱼粉不能改善大口黑鲈生长性能的原因。

本研究结果显示, 高水平(30%)发酵桑叶饲料中补充晶体氨基酸, 大口黑鲈的生长状态明显得到改善。陈乃松等<sup>[18]</sup>的研究也指出, 在低蛋白质饲料中补充晶体必需氨基酸对大口黑鲈的生长、体组成和免疫指标产生明显的有益作用。这些结果表明, 大口黑鲈具有利用结晶氨基酸的能力。关于鱼虾对晶体氨基酸(CAA)的利用能力, 至今仍存在许多争议, 研究结果因种类以及实验条件不同而存在差异。大量研究证实, 向饲料中添加某种或某几种限制性必需氨基酸, 可改善饲料的必需氨基酸平衡, 提高水生动物对植物蛋白源的利用<sup>[13, 19-20]</sup>, 这也为桑叶在水产饲料中有效利用提供了新思路。

饲料中植物蛋白源替代鱼粉往往因饲料适口性差导致实验动物摄食率降低, 进而影响动物的生长性能<sup>[21]</sup>。在本实验中, 发酵桑叶并没有影响大口黑鲈的摄食量, 表明桑叶未影响大口黑鲈饲料的适口性。这与在尼罗罗非鱼<sup>[7]</sup>上的研究结果一致。同样, 在印度囊鳃鲂<sup>[9]</sup>、巴塔野鲮<sup>[10]</sup>和南亚野鲮<sup>[11]</sup>上的研究也未发现饲料中添加发酵桑叶影响养殖鱼类摄食量的现象。

### 3.2 发酵桑叶替代鱼粉对大口黑鲈脂质代谢和抗氧化能力的影响

桑叶中含有的植物甾醇、黄酮、生物碱等功能性成分具有降血糖和降血脂功能<sup>[2, 22]</sup>。目前, 桑叶已在畜禽<sup>[14, 23]</sup>饲料中广泛应用, 不仅能够改善动物的生长性能, 还可以通过多种途径实现降糖降脂功效。本实验结果也显示, 饲料中添加发酵桑叶可显著降低大口黑鲈血脂含量, 说明桑叶可调节大口黑鲈体脂的转化和代谢。这与在尼罗罗非鱼<sup>[7]</sup>上的研究结果一致。在人<sup>[24]</sup>

上的研究指出, 桑叶提取物可以降低低密度脂蛋白含量。这些结果表明, 桑叶中含有生物碱-1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojirimycin, DNJ)<sup>[25]</sup>和黄酮类物质<sup>[16]</sup>能够抑制动物肠道刷状缘膜上二糖酶活性, 同时具有调控肝脏中糖代谢过程关键酶活性的作用, 从而调控机体中糖、脂肪和蛋白质的代谢和转化<sup>[17, 26]</sup>, 控制体内脂肪沉积。Park等<sup>[2]</sup>从分子水平证实, 桑叶提取物通过调节PPARs和LPL mRNA表达来调节机体的脂质代谢。植物甾醇和黄酮还可以抑制肠道内胆固醇的吸收, 提高HDL-C/LDL-C比值, 促进胆固醇向肝脏转运和代谢<sup>[27-28]</sup>。本实验中, 饲料添加高水平(30%)发酵桑叶可提高大口黑鲈血清HDL-C/CHO和HDL-C/LDL-C比值, 表明桑叶也可加速鱼体胆固醇转运和代谢。但桑叶是否通过该途径起到降血脂的作用, 还有待于进一步研究。

众所周知, 桑叶中含有抗氧化活性成分, 能够提高机体抗氧化能力<sup>[22]</sup>。血清脂质过氧化反应可诱导炎症因子及炎症反应。通常脂肪过氧化最终产物丙二醛的含量可敏锐地反映机体内脂质过氧化强弱。本研究发现, 饲料中添加发酵桑叶显著降低大口黑鲈血清MDA水平、升高SOD水平。在尼罗罗非鱼<sup>[7]</sup>和大鼠<sup>[29]</sup>上的研究也有同样的发现。这些结果表明, 桑叶可通过提高机体抗氧化能力及抑制脂质过氧化反应来降低炎症因子水平, 减轻炎症反应, 从而改善脂质代谢功能<sup>[30]</sup>。也有研究指出, 桑叶中黄酮是通过提高机体抗氧化能力、促进胰岛素分泌、加快葡萄糖氧化分解等途径达到降低血糖的作用<sup>[31]</sup>。由此可见, 桑叶降脂降糖的功效都是通过提高机体的抗氧化能力来实现的。

## 4 结论

饲料中发酵桑叶替代适宜水平鱼粉(15%)不会影响大口黑鲈的生长, 而高水平(30%)替代鱼粉会显著抑制大口黑鲈的生长, 但可以改善大口黑鲈的脂质代谢和机体抗氧化能力。饲料中补充晶体氨基酸可以提高桑叶的利用率, 促进大口黑鲈生长。

### 参考文献:

- [1] Bright L A, Coyle S D, Tidwell J H. Effect of dietary lipid level and protein energy ratio on growth and body

- composition of largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2005, 36(1): 129-134.
- [ 2 ] Park M Y, Lee K S, Sung M K. Effects of dietary mulberry, Korean red ginseng, and banaba on glucose homeostasis in relation to PPAR- $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , and LPL mRNA expressions[J]. Life Sciences, 2005, 77(26): 3344-3354
- [ 3 ] Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, *et al.* Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2006, 97(1): 25-31.
- [ 4 ] Liu J X, Yao J, Yan B, *et al.* Effects of mulberry leaves to replace rapeseed meal on performance of sheep feeding on ammoniated rice straw diet[J]. Small Ruminant Research, 2001, 39(2): 131-136.
- [ 5 ] Zhao X J, Li L, Luo Q L, *et al.* Effects of mulberry (*Morus alba* L.) leaf polysaccharides on growth performance, diarrhea, blood parameters, and gut microbiota of early-weanling pigs[J]. Livestock Science, 2015, 177: 88-94.
- [ 6 ] Islam M R, Siddiqui M N, Khatun A, *et al.* Dietary effect of mulberry leaf (*Morus alba*) meal on growth performance and serum cholesterol level of broiler chickens[J]. SAARC Journal of Agriculture, 2014, 12(2): 79-89.
- [ 7 ] 李法见, 杨阳, 陈文燕, 等. 桑叶对罗非鱼生长性能、脂质代谢和肌肉品质的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(11): 3485-3492.
- Li F J, Yang Y, Chen W Y, *et al.* Effects of dietary mulberry leaves on growth performance, fat metabolism and meat quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(11): 3485-3492(in Chinese).
- [ 8 ] 杨阳, 陈文燕, 李法见, 等. 罗非鱼对5种不同来源桑叶中营养成分的表现消化率[J]. 动物营养学报, 2014, 26(11): 3493-3499.
- Yang Y, Chen W Y, Li F J, *et al.* Apparent digestibility of nutrients in 5 kinds of mulberry leaves with different sources for tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(11): 3493-3499(in Chinese).
- [ 9 ] Mondal K, Kaviraj A, Mukhopadhyay P K. Introducing mulberry leaf meal along with fish offal meal in the diet of freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*[J]. Electronic Journal of Biology, 2011, 7(3): 54-59.
- [10] Mondal K, Kaviraj A, Mukhopadhyay P K. Effects of partial replacement of fishmeal in the diet by mulberry leaf meal on growth performance and digestive enzyme activities of Indian minor carp *Labeo bata*[J]. International Journal of Aquatic Science, 2012, 3(1): 72-83.
- [11] Kaviraj A, Mondal K, Mukhopadhyay P K, *et al.* Impact of fermented mulberry leaf and fish offal in diet formulation of Indian major carp (*Labeo rohita*)[J]. Proceedings of the Zoological Society, 2013, 66(1): 64-73.
- [12] Gatlin D M, Barrows F T, Brown P, *et al.* Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(6): 551-579.
- [13] Figueiredo-Silva C, Lemme A, Sangsue D, *et al.* Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fish meal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*  $\times$  *Oreochromis mossambicus*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2015, 21(2): 234-241.
- [14] 章学东, 李有贵, 张雷, 等. 桑叶粉对蛋鸡生产性能、蛋品质和血清生化指标的影响研究[J]. 中国家禽, 2012, 34(16): 25-28.
- Zhang X D, Li Y G, Zhang L, *et al.* Effect of dietary mulberry leaves on productive performance, egg quality and serum biochemical indices of laying hens[J]. China Poultry, 2012, 34(16): 25-28(in Chinese).
- [15] Bairagi A, Sarkar Ghosh K, Sen S K, *et al.* Duckweed (*Lemna polyrrhiza*) leaf meal as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (*Labeo rohita* Ham.) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium[J]. Bioresource Technology, 2002, 85(1): 17-24.
- [16] 俞灵莺, 李向荣, 方晓. 桑叶总黄酮对糖尿病大鼠小肠双糖酶的抑制作用[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2002, 18(4): 313-315.
- Yu LY, Li X R, Fang X. Inhibitory effect of total flavonoids from mulberry tree leaf on small intestine disaccharidases in diabetic rats[J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2002, 18(4): 313-315(in Chinese).
- [17] Li Y G, Ji D F, Zhong S, *et al.* Hybrid of 1-deoxyno-

- jirimycin and polysaccharide from mulberry leaves treat diabetes mellitus by activating PDX-1/insulin-1 signaling pathway and regulating the expression of glucokinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucose-6-phosphatase in alloxan-induced diabetic mice[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 134(3): 961-970.
- [18] 陈乃松, 梁勤朗, 肖温温, 等. 在低蛋白质饲料中补充必需氨基酸对大口黑鲈生长、体组成和免疫指标的影响[J]. *水生生物学报*, 2014, 38(2): 262-271.  
Chen N S, Liang Q L, Xiao W W, *et al.* Effects of supplementing EAA to lower protein diets on growth, body composition and immunological index of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(2): 262-271(in Chinese).
- [19] Gaylord T G, Barrows F T. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds[J]. *Aquaculture*, 2009, 287(1-2): 180-184
- [20] Dabrowski K, Zhang Y F, Kwasek K, *et al.* Effects of protein-, peptide- and free amino acid-based diets in fish nutrition[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(5): 668-683
- [21] Webster C D, Tiu L G, Tidwell J H, *et al.* Growth and body composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed diets containing various percentages of canola meal[J]. *Aquaculture*, 1997, 150(1-2): 103-112
- [22] Arabshahi-Delouee S, Urooj A. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves[J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(4): 1233-1240.
- [23] 李有贵, 张雷, 钟石, 等. 饲料中添加桑叶对育肥猪生长性能、脂肪代谢和肉品质的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(9): 1805-1811.  
Li Y G, Zhang L, Zhong S, *et al.* Effects of dietary mulberry leaf on growth performance, fat metabolism and meat quality of finishing pigs[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(9): 1805-1811(in Chinese).
- [24] Doi K, Kojima T, Fujimoto Y. Mulberry leaf extract inhibits the oxidative modification of rabbit and human low density lipoprotein[J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2000, 23(9): 1066-1071.
- [25] 李有贵, 钟石, 吕志强, 等. 桑叶1-脱氧野尻霉素(DNJ)对 $\alpha$ -蔗糖酶的抑制动力学研究[J]. *蚕业科学*, 2010, 36(6): 885-888.
- Li Y G, Zhong S, Lü Z Q, *et al.* Inhibitory kinetics of  $\alpha$ -sucrase by 1-deoxynojirimycin from mulberry leaves[J]. *Science of Sericulture*, 2010, 36(6): 885-888(in Chinese).
- [26] 李有贵, 钟石, 吕志强, 等. 饲料中添加桑叶粉对单胃哺乳动物小鼠的脂肪代谢影响[J]. *蚕业科学*, 2012, 38(3): 401-411.  
Li Y G, Zhong S, Lü Z Q, *et al.* Impact of mulberry leaf powder added to diet on fat metabolism of the monogastric mammal mice[J]. *Science of Sericulture*, 2012, 38(3): 401-411(in Chinese).
- [27] Weggemans R M, Trautwein E A. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL cholesterol concentrations in humans: a meta-analysis[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 57(8): 940-946.
- [28] 李向荣, 陈菁菁, 刘晓光. 桑叶总黄酮对高脂血症动物的降血脂效应[J]. *中国药学杂志*, 2009, 44(21): 1630-1633.  
Li X R, Chen J J, Liu X G. Lipid lowering activity of total flavonoids from mulberry leaves in two hyperlipidemic animal models[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2009, 44(21): 1630-1633(in Chinese).
- [29] 江正菊, 宁林玲, 胡霞敏, 等. 桑叶总黄酮对高脂诱导大鼠高血脂及高血糖的影响[J]. *中药材*, 2011, 34(1): 108-111.  
Jiang Z J, Ning L L, Hu M X, *et al.* Effect of total flavonoids extracted from mulberry L. on serum lipids and blood glucose in hyperlipidemic rats[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2011, 34(1): 108-111(in Chinese).
- [30] 朱祥瑞, 鲍惠金. 桑叶超氧化物歧化酶(SOD)的研究[J]. *蚕业科学*, 1995, 21(4): 214-218.  
Zhu X R, Bao H J. Study on the superoxide dismutase from mulberry *Morus alba* Linnaeus leaves[J]. *Science of Sericulture*, 1995, 21(4): 214-218(in Chinese).
- [31] 陈玲玲, 刘炜, 陈建国, 等. 桑叶黄酮对糖尿病小鼠调节血糖的作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2010, 26(11): 835-838.  
Chen L L, Liu W, Chen J G. Study on the hypoglycemic mechanism of flavonoids of mulberry leaves on glycemia in diabetic mice[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2010, 26(11): 835-838(in Chinese).

## Effects of replacing fish meal with fermented mulberry leaves on the growth, lipid metabolism and antioxidant capacity in largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

XU Tao<sup>1,2</sup>, PENG Xianghe<sup>1,2</sup>, CHEN Yongjun<sup>1,2</sup>, LIN Shimei<sup>1,2\*</sup>, HUANG Xianzhi<sup>3</sup>, LI Yun<sup>1,2</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, Southwest University, Chongqing 400716, China;

3. Institute of Sericulture and Systems Biology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study the effect of replacement of fish meal by fermented mulberry leaves on the growth, lipid metabolism and antioxidant capacity of largemouth bass [with the initial weight (10 g)]. Four isonitrogenous and isoenergetic diets (CP 42%, GE 18 MJ/Kg) were formulated to contain different levels of fermented mulberry based upon the basal diet to replace fish meal 0 (D<sub>1</sub>), 15% (D<sub>2</sub>), 30% (D<sub>3</sub>) and supplement EAA based on 30% (D<sub>4</sub>). After 8 weeks, the results showed that final weight (FW), specific growth rate (SGR), viscera somatic index (VSI) and hepatopancreas somatic index (HSI) were decreased significantly when the replacement ratio of fish meal by fermented mulberry was 30% , and supplement crystalline amino acids (CAA) could improve the growth of largemouth bass obviously. There were no significant differences in protein efficiency ratio (PER), feed conversion ratio (FCR), feeding rate (FR), condition factor (CF) and whole body general composition for each test group. The largemouth bass serum of CHO, TG, HDL-C and LDL-C were decreased observably but the ratios of HDL-C/CHO and HDL-C/LDL-C showed the opposite trend. The LDL-C decreased as fermented mulberry ratio increased. Superoxide dismutase (SOD) activities increased significantly as fermented mulberry ratio increased, but malondialdehyde (MDA) decreased markedly. Results of above show that a suitable percentage of fermented mulberry replacement of fish meal has no effect on the growth of largemouth bass. Too high replacement levels would inhibit the growth of largemouth bass, but could improve the lipid metabolism and antioxidant capacity of largemouth bass. Supplement of essential amino acids can improve the utilization of fermented mulberry, and promote the growth of largemouth bass.

**Key words:** *Micropterus salmoides*; fermented mulberry; growth; metabolism; antioxidant capacity

**Corresponding author:** LIN Shimei. E-mail: linsm198@163.com

**Funding projects:** National Special Research Fund for Non-profit Sector (Agriculture) (201303053); Chongqing Application Development Projects (cstc2014yykfA80019)