

饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼生长及部分生理生化指标的影响

刘伟, 文华*, 蒋明, 吴凡, 田娟, 杨长庚, 黄凤

(中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业部淡水生物多样性
保护与利用重点开放实验室, 湖北 武汉 430223)

摘要: 为探讨饲料蛋白质水平与投喂频率对罗非鱼生长及生理健康的影响, 采用 2×3 双因子实验, 研究饲料蛋白质水平(36.27%和26.02%)与投喂频率(1、2和3次/d)对吉富罗非鱼幼鱼生长、体成分、血清指标和肝胰脏结构的影响。养殖周期为42 d, 结果表明: 随饲料蛋白质水平的增加, 实验鱼的末体质量(FW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饲料效率(FE)、肥满度(CF)、去内脏全鱼灰分(EWA)、内脏水分(VM)、高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)水平显著升高($P < 0.05$), 而摄食率(FI)、脏体比(VSI)、饲料成本(FC)、去内脏全鱼粗脂肪(EWF)、内脏粗脂肪(VF)、肝胰脏粗脂肪(HF)显著降低($P < 0.05$); 随投喂频率的增加, 实验鱼的FW、WGR、SGR、肝体比(HSI)、CF、FC、EWF、VF、HF, 血清中的总胆固醇水平(TCHO)、HDLC、低密度脂蛋白胆固醇(LDLC)、总蛋白(TP)、甘油三酯(TGK)水平显著升高($P < 0.05$), 而FE、蛋白质效率(PER)、去内脏全鱼水分(EWM)、EWA、VM、肝胰脏水分(HM)显著降低($P < 0.05$)。饲料蛋白质水平和投喂频率对实验鱼的FW、WGR、SGR、VM和HDLC的交互作用显著($P < 0.05$)。投喂26.02%蛋白质水平饲料的实验鱼, 肝胰脏细胞肿大变形, 呈现透明的空泡化, 出现细胞核偏移; 而投喂36.27%蛋白质饲料的实验鱼, 大多数肝细胞胞浆清晰, 可观察到的肝细胞空泡面积较小。综合考虑, 饲料蛋白质含量为36.27%是适合吉富罗非鱼幼鱼的, 其适宜的投喂频率为2次/d以上, 可根据罗非鱼市场情况进行调节。

关键词: 吉富罗非鱼; 蛋白质水平; 投喂频率; 生长; 体成分; 血清生化指标; 肝胰脏组织结构

中图分类号: S 963

文献标志码: A

饲料蛋白质含量是决定鱼类生长快慢的关键因素^[1]。但饲料蛋白质含量过高或过低均会限制鱼类生长, 影响养殖效益^[2], 也可能对其健康起到负面作用^[3]。科学合理的投饲技术是促进鱼类生长, 降低生产成本, 提高经济效益的保证。投喂频率作为投饲技术的重要组成部分, 在鱼类养殖中起着举足轻重的作用。一般认为, 适宜的投喂频率可以促进鱼类的生长, 降低鱼类个体分化, 提高存活率和饲料利用率, 减少残饵和代

谢废物排放对养殖环境的污染^[4-5]; 而投喂频率过高或过低不仅不能促进鱼类生长, 反而还有可能会减弱其对病害的抵抗力^[6-8]。已有研究表明, 在鱼类的养殖过程中, 饲料蛋白质水平和投喂频率与鱼类的生长存在相关性。如在低蛋白质水平下, 通过提高投喂频率可以改善斑点鲷(*Ictalurus punctatus*)^[9-10]、银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[11]的生长。但也有研究发现斑点鲷^[12-13]的生长仅可能与饲料蛋白质水平有关而与投喂频

收稿日期: 2015-09-14 修回日期: 2015-11-21

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-49); 公益性行业科研专项(农业)(201003020)

通信作者: 文华, E-mail: wenhua.hb@163.com

率无显著关系。

吉富品系尼罗罗非鱼简称吉富罗非鱼(GIFT, *Oreochromis niloticus*), 因具有生长快、产量高、耐低氧、遗传性状稳定等优点, 是我国主要的罗非鱼养殖品系之一。已有报道表明不同规格的罗非鱼, 其饲料蛋白质需要量为20%~50%^[14-15]; 适合的投喂频率为2次/d以上^[4, 14, 16-21]。然而, 这些研究仅关注了蛋白质需要量或投喂频率中的一方面, 而对这二者相互作用对罗非鱼的生长及生理健康影响方面的研究却鲜有报道。因此, 本研究拟采用双因素实验法, 研究饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、饲料利用效率、体成分及血清部分生化指标和肝胰脏组织结构等的影响, 旨在为吉富罗非鱼养殖过程中科学地投喂饲料提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

实验鱼来源于广西国家罗非鱼原良种场, 暂养在循环水养殖系统中。先用商品饲料喂养, 使罗非鱼恢复体质和适应养殖环境。2周后, 选择规格整齐、表观健康的鱼, 随机分养于18个循环水养殖桶中(有效容积100 L), 每桶放鱼15尾。实验鱼的平均体质量(16.13±0.13)g。

1.2 实验饲料

以豆粕、菜粕、棉粕、鱼粉等为原料, 配制2组粗蛋白质水平分别为36.27%和26.02%的饲料(表1)。将各种原料粉碎, 过60目筛, 按饲料配方称重后充分混匀, 利用小型绞肉机制成直径为2 mm的成品饲料, 自然风干, 破碎后, 置于-20 °C冰箱中储藏备用。

1.3 实验设计和饲养管理

采用2×3双因子实验设计。实验饲料采用上述“实验饲料”中配制的2种蛋白质水平的饲料。投喂频率设定为1次/d(16:30), 2次/d(8:30, 16:30)和3次/d(8:30、12:30和16:30), 每个处理设置3个重复。实验持续42 d。实验期间, 每次投喂均采用表观饱食法。养殖期间采用自然光照, 水流2 L/min、水温(30.1±0.6) °C、溶解氧>5 mg/L、氨氮浓度<0.5 mg/L、pH为6.8~7.5。

1.4 样品制备、分析和指标计算

实验结束后, 禁食24 h, 麻醉(MS-222, 150 mg/L)后, 对每桶实验鱼进行记数和称重。

表1 饲料配方及营养组成

Tab. 1 Formulation and nutrient composition of the diets

项目 items	饲料蛋白水平 dietary protein levels	
	35%	25%
原料 ingredients		
鱼粉/% fish meal	4.00	3.00
豆粕/% soybean meal	25.00	12.00
菜粕/% rapeseed meal	22.00	14.00
棉粕/% cotton meal	20.00	12.00
次粉/% wheat middling	18.00	48.00
维生素预混料/% vitamin premix	1.00	1.00
矿物质预混料/% mineral premix	1.00	1.00
磷酸二氢钙/% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.50	1.50
玉米油/% corn oil	2.50	2.40
大豆油/% soybean oil	2.50	2.40
膨润土/% bentonite	2.00	2.20
氯化胆碱(50%)/% choline chloride	0.50	0.50
营养组成(干物质) proximate analysis(dry matter)		
干物质/% dry matter	91.80	91.28
粗蛋白质/% crude protein	36.27	26.02
粗脂肪/% crude fat	5.71	5.72
粗灰分/% crude ash	10.89	9.78
总能/(kJ/g) total energy	17.53	15.72
配方成本/(元/kg) formula cost	3.31	2.79

注: 根据Shiau等^[22]配制维生素预混料和无机盐预混料
Notes: vitamin premix and mineral premix were formulated according to formula of Shiau *et al*^[22]

每桶随机取鱼3尾, 测量体长和体质量, 用于计算肥满度; 并于尾静脉取血, 4 °C冰箱内静置2 h, 以3000 r/min 的转速离心15 min, 得到空腹血清, 保存于-20 °C冰箱中, 用于测定血清生化指标; 随后取肝脏、内脏并称重, 用于计算肝体比、脏体比; 取同一部位的部分肝胰脏, 放于4%多聚甲醛溶液中, 用于检测肝胰脏组织结构。去内脏全鱼、肝脏和其他内脏保存于-20 °C冰箱中, 用于测定常规营养成分。

采用直接干燥法测定水分含量(GB/T 5009.3-2003); 凯氏定氮法测定粗蛋白质含量(GB/T 5009.5-2003); 索氏抽提法测定粗脂肪含量(GB/T 5009.6-2003); 灼烧称重法测定灰分含量(GB/T 5009.4-2003)。使用量热仪(SDACM4000,

湖南三德科技发展有限公司)测定饲料总能。使用全自动生化分析仪(CHEMIX-800,日本希森美康)测定血清指标。肝胰脏组织标本固定后石蜡包埋,连续切片,切片厚度5 μ m,HE染色,光镜下逐片观察及照片。其余各指标的计算公式如下:

增重率(weight gain rate, WGR, %)=(W_1-W_0) $\times$ 100/ W_0

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=($\ln W_1-\ln W_0$) $\times$ 100/ t

饲料效率(feed efficiency, FE)=(W_f-W_i)/ W_A

蛋白质效率(protein efficiency rate, PER, %)=(W_f-W_i) $\times$ 100/ $W_A \times P_A$

成活率(survival rate, SR, %)= $N_f \times 100 / N_i$

肥满度(condition factor, CF, g/cm³)= $W \times 100 / L^3$

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %)= $W_H \times 100 / W$

脏体比(viscerasomatic index, VSI, %)= $W_V \times 100 / W$

饲料成本(feed cost, FC, 元/kg)=($W_A \times C_A$) $\times$ 1000/(W_f-W_i)

摄食率(feed intake, FI, %/d)= $100 \times W_A / [0.5 \times (W_f + W_i) \times t]$

式中, t 为实验天数(d), W_0 和 W_1 分别为实验鱼的初始、终末均体质量(g), W_i 和 W_f 分别为实验鱼的初始、终末总体质量(g), W 为鱼体质量(g), L 为鱼体长(cm), W_A 为投喂饲料总质量(g), P_A 为饲料的粗蛋白含量(%), N_i 和 N_f 分别为实验结束后和开始时鱼的尾数; W_H 、 W_V 和 W 分别为肝胰脏、内脏质量和体质量(g), C_A 为配方成本(元/kg)。

1.5 统计方法

采用SPSS18.0对所得数据进行分析。用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验实验处理的影响。对饲料蛋白质水平和投喂频率进行双因素方差分析,检验2个因子间的相互作用。采用Tukey多重比较来检验实验处理均值间的差异显著性,当 $P<0.05$ 时表示均值间差异显著。实验结果以平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示。

2 结果

2.1 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼生长性能和饲料利用效率的影响

饲料蛋白质水平对实验鱼的末体质量(FW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饲料效率

(FE)和摄食率(FI)影响显著($P<0.05$)(表2),但对蛋白质效率(PER)影响不显著($P>0.05$);投喂频率显著影响实验鱼的FW、WGR、SGR、FE、PER和FI($P<0.05$)。随着投喂频率的增加,实验鱼的FW、WGR、SGR和FI显著增加($P<0.05$);FE和PER均表现出逐渐降低的趋势,1次/d实验鱼的显著高于3次/d($P<0.05$)。

饲料蛋白质水平和投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼的FW、WGR和SGR的交互作用显著($P<0.05$)。

2.2 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼成活率、形体指数和养殖成本的影响

饲料蛋白水平显著影响实验鱼的脏体比(VSI)、肥满度(CF)和饲料成本(FC)($P<0.05$)(表3),对成活率(SR)、肝体比(HSI)的影响不显著($P>0.05$);而投喂频率显著影响HSI、CF和FC($P<0.05$),对SR和VSI的影响不显著($P>0.05$)。随投喂频率的增加,FC逐渐升高,3次/d组的FC显著高于1次/d的($P<0.05$)。

2.3 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼去内脏全鱼、内脏和肝脏营养成分的影响

饲料蛋白质水平显著影响去内脏全鱼的粗脂肪、粗灰分,内脏的水分、粗脂肪和肝胰脏的粗脂肪含量($P<0.05$)(表4),而投喂频率则显著影响去内脏全鱼的水分、粗脂肪、粗灰分,内脏的水分、粗脂肪及肝胰脏的水分、粗脂肪含量($P<0.05$)。随投喂频率的增加,去内脏全鱼、内脏的水分逐渐降低,投喂3次/d的实验鱼水分含量显著低于1次/d的($P<0.05$),而粗脂肪则与之相反。饲料蛋白质水平和投喂频率仅对内脏水分交互作用显著($P<0.05$),对其他营养成分均无显著的交互作用($P>0.05$)。

2.4 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼血清生化指标的影响

共计检测8种血清生化指标,分别为谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、总蛋白(TP)、球蛋白(ALB)、甘油三酯(TGK)、总胆固醇(TCHO)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)(表5)。饲料蛋白质水平显著影响实验鱼血清的ALT、TP、HDL和LDL的水平($P<0.05$)(表5),而投喂频率显著影响ALT、TP、TGK、TCHO、HDL和LDL的水平($P<0.05$)。饲料蛋白质水平和投喂频率对吉富罗非鱼血清

表 2 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼生长性能和饲料利用效率的影响
Tab. 2 Effects of dietary protein levels and feeding frequency on growth and feed utilizations of juvenile GIFT *O. niloticus*

蛋白质水平/% protein level	投喂频率/(次/d) feeding frequency	初始体质量/g initial body weight	终末体质量/g final body weight	增重率/% WGR	特定生长率 /(%/d) SGR	饲料效率 FE	蛋白质效率/% PER	摄食率/(%/d) FI
26.02	1	15.87±0.32	38.95±0.29 ^a	145.57±6.51 ^a	2.14±0.06 ^a	0.70±0.05 ^{bc}	2.68±0.19 ^d	1.70±0.09 ^a
	2	15.89±0.32	48.41±1.97 ^b	204.59±6.30 ^b	2.65±0.05 ^b	0.56±0.03 ^{ab}	2.17±0.12 ^{abc}	3.03±0.02 ^c
	3	16.20±0.77	59.27±3.79 ^c	265.79±12.91 ^c	3.09±0.08 ^c	0.51±0.05 ^a	1.95±0.20 ^{ab}	4.07±0.04 ^c
36.27	1	16.21±0.65	43.69±2.29 ^{ab}	169.81±18.01 ^{ab}	2.36±0.16 ^{ab}	0.91±0.04 ^d	2.50±0.10 ^{cd}	1.53±0.07 ^a
	2	16.10±0.55	63.77±1.97 ^c	296.55±23.22 ^c	3.28±0.14 ^c	0.80±0.07 ^{cd}	2.20±0.18 ^{bc}	2.67±0.08 ^b
	3	16.51±0.81	77.18±1.39 ^d	368.01±19.62 ^d	3.67±0.10 ^d	0.63±0.07 ^{ab}	1.74±0.18 ^a	3.57±0.10 ^d

双因素方差分析 Two-Way ANOVA

蛋白质水平 protein level	s	s	s	s	ns	s
投喂频率 feeding frequency	s	s	s	s	s	s
交互作用 interactions	s	s	s	ns	ns	ns

注：表格中同列标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P > 0.05$)，不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。s表示差异显著($P < 0.05$)，ns表示差异不显著($P > 0.05$)。下同
Notes: In the same row, values with the same small letter or no letter superscripts meant no significant differences, different small letter superscripts meant significant differences($P < 0.05$).s meant significant differences, ns meant no significant differences. The same below

表3 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼成活率、形体指数和饲料成本的影响
Tab. 3 Effects of dietary protein levels and feeding frequency on survival, body indexes and feed cost of juvenile GIFT *O. niloticus*

蛋白质水平/% protein level	投喂频率/(次/d) feeding frequency	成活率/% SR	肝体比/% HSI	脏体比/% VSI	肥满度/(g/cm ³) CF	饲料成本/(元/kg) FC
26.02	1	97.78±3.85	1.52±0.41	9.11±1.62	3.38±0.16 ^a	4.40±0.32 ^{ab}
	2	91.11±10.18	1.68±0.31	8.85±1.61	3.66±0.23 ^{abc}	5.42±0.30 ^{bc}
	3	100.00	1.66±0.28	8.96±0.17	3.56±0.12 ^{ab}	6.05±0.61 ^c
36.27	1	100.00	1.24±0.09	7.33±0.48	3.45±0.90 ^a	3.98±0.16 ^a
	2	91.11±15.40	1.53±0.11	7.19±0.13	3.90±0.09 ^{bc}	4.54±0.38 ^{ab}
	3	88.85±13.88	1.93±0.23	7.57±0.33	3.94±0.06 ^c	5.75±0.58 ^c

双因素方差分析 Two-Way ANOVA

蛋白质水平 protein level	ns	ns	s	s	s
投喂频率 feeding frequency	ns	s	ns	s	s
交互作用 interactions	ns	ns	ns	ns	ns

中的HDL水平交互作用显著($P < 0.05$)。

2.5 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼肝胰脏组织结构的影响

H.E染色观察饲料蛋白质水平与投喂频率对实验鱼肝胰脏组织结构的影响见图1。实验鱼的肝细胞排列紧密，可见胞膜、胞核和染红的胞浆。但是投喂26.02%蛋白质饲料的实验鱼，肝细胞肿

大变形，出现细胞核萎缩或消失，呈现透明的空泡化，甚至发现有部分细胞膜融合的现象，随投喂频率的增加细胞核挤压至一侧的比例增加；而投喂36.27%蛋白质饲料的实验鱼，大多数肝细胞胞浆清晰，可观察到的肝细胞空泡面积较小，但是随着投喂频率的增加，仍可发现空泡的面积增大，细胞核挤压至一侧的比例增加。

表4 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼去内脏全鱼、内脏和肝胰脏营养成分的影响
Tab. 4 Effects of dietary protein levels and feeding frequency on eviscerated whole body, viscera, hepatopancreas composition of juvenile GIFT *O. niloticus*

蛋白质水平/ protein level	投喂频率/ feeding frequency	去内脏全鱼 eviscerated whole body				内脏 ^a viscera			肝胰脏 hepatopancreas		
		水分/% moisture	粗脂肪/% crude fat	粗蛋白质/% crude protein	粗灰分/% crude ash	水分/% moisture	粗蛋白质/% crude protein	粗脂肪/% crude fat	水分/% moisture	粗蛋白质/% crude protein	粗脂肪/% crude fat
26.02	1	72.74±0.51 ^{bc}	5.41±0.70 ^a	15.80±0.34	4.15±0.18 ^{ab}	72.68±0.51 ^b	9.11±0.51	10.89±0.31 ^b	68.01±1.55 ^{ab}	10.13±0.46	7.93±0.88 ^{ab}
	2	71.05±0.53 ^{ab}	7.91±0.37 ^{ab}	15.91±0.21	3.79±0.05 ^a	66.75±0.20 ^a	8.57±0.40	17.91±0.42 ^c	71.57±1.63 ^b	8.47±0.79	10.14±0.56 ^{ab}
	3	69.25±0.40 ^a	9.04±0.81 ^b	16.20±0.31	3.71±0.11 ^a	65.66±2.18 ^a	9.64±0.62	18.12±1.20 ^c	61.15±2.96 ^a	9.86±0.52	16.92±0.98 ^c
36.27	1	74.21±0.43 ^c	5.57±0.25 ^a	15.85±0.46	4.50±0.03 ^b	79.47±1.28 ^c	9.70±0.60	4.76±1.18 ^a	67.60±0.71 ^{ab}	12.26±0.55	7.14±0.97 ^a
	2	71.64±0.58 ^{abc}	6.23±0.47 ^a	16.18±0.18	4.21±0.04 ^{ab}	73.58±0.68 ^b	8.54±0.41	11.19±0.98 ^b	69.94±2.81 ^{ab}	12.00±1.64	7.45±0.95 ^a
	3	69.84±0.97 ^a	7.50±0.36 ^{ab}	16.54±0.59	3.97±0.13 ^a	62.89±1.04 ^a	10.24±0.48	16.83±1.89 ^c	64.70±0.44 ^{ab}	11.03±1.00	11.79±0.87 ^b
双因素方差分析 Two-Way ANOVA											
蛋白质水平 protein level		ns	s	ns	s	s	ns	s	ns	ns	s
投喂频率 feeding frequency		s	s	ns	s	s	ns	s	s	ns	s
交互作用 interactions		ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	ns

注: #, 不含肝胰脏
Notes: #, not including hepatopancreas

表5 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼血清生化指标的影响
Tab. 5 Effects of dietary protein levels and feeding frequency on serum biochemical indexes of juvenile GIFT *O. niloticus*

蛋白质水平/ protein level	投喂频率/(次/d) feeding frequency	血清生化指标 serum biochemical indexes							
		AST/ (U/L)	ALT/(U/L)	TP/(g/L)	ALB/ (g/L)	TGK/ (mmol/L)	TCHO/ (mmol/L)	HDLC/ (mmol/L)	LDLC/ (mmol/L)
26.02	1	22.33±2.03	16.67±2.47 ^{ab}	29.67±1.48 ^{ab}	8.67±0.44	3.15±0.24 ^{ab}	4.03±0.42 ^{ab}	4.05±0.21 ^{abc}	0.78±0.12 ^b
	2	21.33±1.86	25.17±0.76 ^c	38.80±1.06 ^b	9.73±0.39	2.99±0.31 ^{ab}	4.16±0.10 ^{ab}	3.45±0.28 ^a	0.60±0.06 ^{ab}
	3	20.50±1.32	16.67±2.93 ^{ab}	35.33±1.45 ^{ab}	9.17±0.73	3.80±0.13 ^b	5.17±0.05 ^b	4.83±0.58 ^c	0.92±0.04 ^b
36.27	1	25.33±1.36	12.83±1.61 ^a	27.00±4.77 ^a	8.00±0.58	1.62±0.09 ^a	3.31±0.43 ^a	3.79±0.92 ^{ab}	0.30±0.12 ^a
	2	21.00±0.87	20.17±2.02 ^c	31.33±0.73 ^{ab}	8.67±0.33	2.93±0.70 ^{ab}	4.16±0.43 ^{ab}	4.67±0.31 ^{bc}	0.52±0.04 ^{ab}
	3	21.00±1.73	15.67±2.75 ^{ab}	32.00±1.53 ^{ab}	9.17±0.33	3.40±0.57 ^{ab}	4.93±0.24 ^b	4.98±0.04 ^c	0.71±0.10 ^{ab}
双因素方差分析 Two-Way ANOVA									
蛋白质水平 protein level		ns	s	s	ns	ns	ns	s	s
投喂频率 feeding frequency		ns	s	s	ns	s	s	s	s
交互作用 interactions		ns	ns	ns	ns	ns	ns	s	ns

3 讨论

3.1 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、饲料利用效率和体成分的影响

有关罗非鱼饲料蛋白质需要量的研究发现,

随蛋白质水平的升高, 其生长性能提高、饲料效率改善, 但当蛋白质水平超过适宜量时, 其生长性能、饲料效率会保持稳定^[23], 甚至会降低^[15]。在本实验中, 饲料中含36.27%的蛋白质对于16 g的尼罗罗非鱼是合适的^[15], 投喂此饲料实验鱼的增重率、特定生长率和饲料效率要

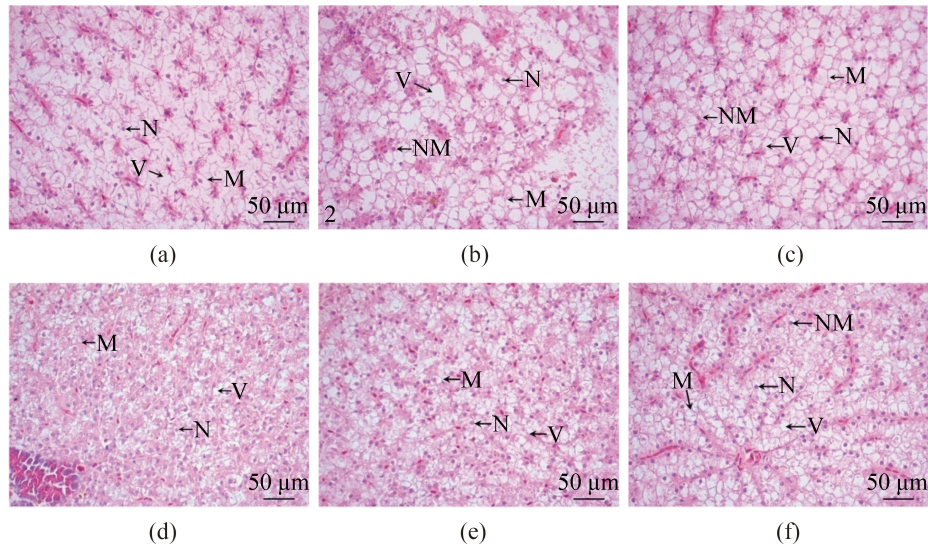


图1 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼肝胰脏组织结构的影响

(a), (b), (c) 为投喂26.02%蛋白质水平饲料, 投喂频率分别为1、2和3次/d的吉富罗非鱼肝胰脏结构; (d), (e), (f) 为投喂36.27%蛋白质水平饲料, 投喂频率分别为1、2和3次/d的吉富罗非鱼肝胰脏结构。M. 细胞膜; N. 细胞核; NM. 核偏移; V. 细胞空泡变性

Fig. 1 Effects of dietary protein levels and feeding frequency on hepatopancreas structure of juvenile GIFT *O. niloticus*

(a), (b), (c) in the figure represent the hepatopancreas structure of GIFT tilapia fed diet contain 26.02% protein, and feed frequency was 1 time/day, 2 times/d and 3 times/d respectively. (d), (e), (f) in the figure represent the hepatopancreas structure of GIFT tilapia fed diet contain 36.27% protein, and feed frequency was 1 time/day, 2 times/d and 3 times/d respectively. M. liver cell membrane; N. liver cell nucleus; NM. liver cell nuclear migration; V. vacuolar degeneration

显著高于投喂26.02%的, 这与前人的研究是一致的, 表明投喂36.27%蛋白质水平的饲料对实验鱼的生长和饲料效率更具有促进作用。在本实验的结果中也发现饲料蛋白质水平对实验鱼的蛋白质效率无显著影响, 类似的结果在对大鳞鲃(*Barbus capito*)^[24]、星突江鲮(*Platichthys stellatus*)^[25]、尖吻重牙鲷(*Diplodus puntazzo* Cetti)^[26]等蛋白质需要量的研究中也发现。

一般来讲, 适当提高投喂频率, 可以使鱼类摄食量增加, 从而达到提高生长速度的效果^[5, 11]。从本实验的结果可以看出, 随着投喂频率的增加, 摄食率显著增加, 末体质量、增重率和特定生长率均逐渐升高。但是也发现投喂26.02%蛋白质水平饲料的实验鱼的摄食率要高于投喂36.27%的, 推测可能与饲料26.02%蛋白质水平饲料的能量较低有关, 因为鱼类可以通过调整摄食量来满足其能量需要^[27]。在本实验中, 发现随着投喂频率的增加, 实验鱼的饲料效率和蛋白质效率却逐渐降低, 这种现象在多篇有关鱼类投喂频率的研究中也有发现^[28-30]。这应该是因为投喂频率的增加使食物在动物消化道移动反射

性加快, 未被完全消化吸收的营养物质随粪便排掉, 因而使消化率下降^[31-32], 饲料利用率降低。

有报道表明吉富罗非鱼幼鱼的适宜投喂频率为2次^[33]。在本实验投喂36.27%蛋白质水平饲料的实验鱼中, 虽然投喂频率为3次/d实验鱼的生长性能要优于投喂2次/d的, 但是其饲料效率和蛋白质效率显著降低, 饲料成本显著升高, 表明3次/d并不是最适合的投喂频率。在本实验中, 饲料蛋白质水平与投喂频率对罗非鱼的生长存在显著的交互作用, 并发现投喂饲料蛋白质水平为26.02%且投喂频率为3次/d实验鱼的生长性能与投喂饲料蛋白质水平为36.27%且投喂频率为2次/d的实验鱼无显著差异, 但饲料成本显著升高, 这表明在低蛋白水平下可以通过增加投喂频率来达到促进实验鱼生长的目的, 但不经济。

一般认为, 肝体比、脏体比和肥满度是表明鱼体能量状态的间接指标^[34]。肝体比升高的原因通常是由于摄入的营养物质及能量增加引起的^[35]。在本实验中, 随投喂频率的增加, 肝体比亦升高, 这应当与摄食量的增加有关, 使得更多的

营养物质在肝脏积累。而脏体比随蛋白质水平的降低而提高,这应该与26.02%蛋白质水平饲料中的高碳水化合物水平有关。有报道发现尼罗罗非鱼摄食高碳水化合物饲料后肝脏脂肪合成能力增强,脂肪经过转运后沉积在内脏,导致了脏体比提高^[36],在对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)的研究中也发现了类似的现象^[37]。一般来说,鱼体成分中的脂肪和水分呈相反关系,蛋白质含量相对稳定^[38]。在本实验中,也得到了与此类似的结果,饲料蛋白质水平和投喂频率这2种因素均对去内脏全鱼、内脏和肝脏的蛋白质含量影响不显著。而在本实验中,去内脏全鱼、内脏和肝脏的脂肪含量,一方面,随饲料蛋白质水平降低而升高,这与在饲料低蛋白质水平下,碳水化合物相对增多,造成鱼体内脂肪合成量提高,表现为机体中较高的脂肪沉积^[39-40]有关;另一方面,随投喂频率的提高而升高,则应该与摄食量的增加有关,造成了能量物质的摄入增加,进而转化成脂肪的含量增加。

在本实验中发现,内脏粗脂肪含量在投喂不同蛋白质水平饲料时,投喂2次/d的实验鱼均显著高于1次/d;而去内脏全鱼和肝脏的粗脂肪含量则无显著差异,这似乎表明多余脂肪首先要存储在脏中;当投喂频率为3次/d时,则表现为肝脏脂肪显著升高,可能表明摄入的能量已经过多,导致肝脏的合成量超过了转运量,表现为脂肪含量升高。

3.2 饲料蛋白质水平与投喂频率对吉富罗非鱼幼鱼血清生化指标和肝胰脏组织结构的影响

肝(胰)脏是鱼类最重要的器官之一。转氨酶是血液中表示肝脏健康状态的敏感指标。脊椎动物在正常情况下,组织细胞内的转氨酶只有少量被释放到血浆中,因此,血清中的转氨酶活性较小。当肝脏病变而引起细胞通透性增加,或受损伤的范围较大时,细胞内的转氨酶大量释放出来进入血浆,血液中ALT与AST活性升高^[41]。而在本实验中,发现投喂饲料蛋白质水平为26.02%实验鱼的肝脏细胞明显变大,同时随着投喂频率的增加肝细胞的空泡增加,而实验鱼血清的ALT活性也发生显著变化,表明此种饲料对实验鱼的健康是不利的。产生这种变化的原因,应该与饲料中碳水化合物的含量及饲料

的摄入量有关。对虹鳟的研究发现,当投喂的饲料蛋白质水平降低至33%以下,而碳水化合物水平升至35%以上时,肝脏细胞的空泡化程度加剧^[42],本实验认为最大的可能是因为肝糖原合成增加而导致肝细胞的一种适应性表现^[43]。而缪凌鸿等^[44]发现摄食高碳水化合物日粮的银鲫肝脏中细胞核、线粒体等细胞器形状扭曲、排列杂乱,线粒体内嵴膨胀,局部瓦解乃至解体,肝脏细胞脂滴和糖原颗粒大量出现,说明银鲫肝脏无法及时对糖分解代谢,并将部分过量的糖原转化为脂肪,作为能源物质贮存。

肝脏是合成血清蛋白、血脂的主要器官。各种肝病均可影响蛋白质合成功能,引起多种血清蛋白浓度变化^[45]。血清中的TP、ALB含量是2000年美国临床生化学会提出的肝损害的指标之一^[46],肝脏发生损害时有可能导致血清TP、ALB的水平降低。它们也是营养学的重要指标,其含量与机体营养状况呈正相关^[47]。在本实验中,实验鱼的血清TP和ALB随投喂频率的增加而升高,这表明实验鱼的营养状况正得到改善。同时,尽管随投喂频率的增加,肝细胞的空泡程度增加,但从TP和ALB的含量来看,肝脏的合成尚未受到明显的影响。在本实验中,投喂26.02%蛋白质水平饲料的实验鱼其血清总蛋白质水平要显著高于投喂36.27%蛋白质水平的,这表明实验鱼在摄食低蛋白质水平饲料时,为满足自身的需要,肝脏增强了蛋白质合成。

血脂包括甘油三酯和胆固醇,它们的来源有外源性的,即从饲料中摄取并经过消化道进入血液中;还有内源性的,即由肝脏、脂肪组织和其他组织合成而来^[48]。鱼类可以利用碳水化合物合成脂肪^[49],且甘油三酯和胆固醇的主要合成部位为肝脏,并经血液转运至全身各处^[49-50]。在本实验中投喂26.02%蛋白质水平饲料的实验鱼血脂水平要高于投喂36.27%蛋白质水平饲料的,说明实验鱼体内将过量的碳水化合物转化成脂肪在体内代谢,造成血脂水平升高^[51-52]。

综上所述,在本实验条件下,饲料蛋白质含量为36.27%是适合吉富罗非鱼幼鱼的,其适宜的投喂频率为2次/d以上,可以根据罗非鱼市场情况进行调节;利用蛋白质含量为26.02%的饲料投喂吉富罗非鱼幼鱼,虽然可通过增加投喂频率的方式促进其生长,但是对其生理健康不利,饲料成本也会随之上升。同时,需要注意的是

本实验中饲料的蛋白质水平仅为26.02%和36.27%,对于这二者之间或是更高蛋白质水平的饲料与投喂频率对罗非鱼的生长和生理健康的影响尚需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 钱雪桥, 崔奕波, 解绶启, 等. 养殖鱼类饲料蛋白需要量的研究进展[J]. 水生生物学报, 2002, 26(4): 410-416.
- [2] 叶文娟, 韩冬, 朱晓鸣, 等. 饲料蛋白水平对泥鳅幼鱼生长和饲料利用的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(3): 571-575.
- [3] Zhang J Z, Zhou F, Wang L L, *et al.* Dietary protein requirement of juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 41(2): 151-164.
- [4] 孙晓锋, 冯健, 陈江虹, 等. 投喂频率对尼罗系吉富罗非鱼幼鱼胃排空、生长性能和体组成的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(11): 1677-1683.
- [5] 孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 281-289.
- [6] Li X F, Tian H Y, Zhang D D, *et al.* Feeding frequency affects stress, innate immunity and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 38(1): 80-87.
- [7] Küçük E, Aydın İ, Polat H, *et al.* Effect of feeding frequency on growth, feed efficiency and nutrient utilization of juvenile flounder (*Platichthys flesus luscus*)[J]. Aquaculture International, 2014, 22(2): 723-732.
- [8] Xie F J, Ai Q H, Mai K S, *et al.* The optimal feeding frequency of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson) larvae[J]. Aquaculture, 2011, 311(1-4): 162-167.
- [9] Quintero H E, Hutson A, Chaimongkol A, *et al.* Effects of varying dietary protein levels and feeding frequencies on condition and reproductive performance of channel catfish to produce hybrid catfish[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2009, 40(5): 601-615.
- [10] Li M H, Robinson E H, Oberle D F, *et al.* Effects of dietary protein concentration and feeding regimen on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, production[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2006, 37(4): 370-377.
- [11] Zhao S B, Han D, Zhu X M, *et al.* Effects of feeding frequency and dietary protein levels on juvenile allogynogenetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) var. CAS III: Growth, feed utilization and serum free essential amino acids dynamics[J]. Aquaculture Research, 2014, 47(1): 290-303.
- [12] Webster C D, Tidwell J H, Tidwell J H, *et al.* Effect of protein level and feeding frequency on growth and body composition of cage-reared channel catfish[J]. The Progressive Fish Culturist, 1992, 54(2): 92-96.
- [13] Webster C D, Tidwell J H, Goodgame L S, *et al.* Effects of protein level and feeding frequency on growth and on body composition of third-year channel catfish cultured in ponds[J]. Journal of Applied Aquaculture, 1993, 2(2): 27-38.
- [14] Ng W K, Romano N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle[J]. Reviews in Aquaculture, 2013, 5(4): 220-254.
- [15] Abdel-Tawwab M, Ahmad M H, Khattab Y A E, *et al.* Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis*

- niloticus* (L.)(J). Aquaculture, 2010, 298(3-4): 267-274.
- [16] Tung P H, Shiao S Y. Effects of meal frequency on growth performance of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed different carbohydrate diets[J]. Aquaculture, 1991, 92: 343-350.
- [17] Riche M, Haley D I, Oetker M, *et al.* Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.)(J). Aquaculture, 2004, 234(1-4): 657-673.
- [18] Riche M, Oetker M, Haley D I, *et al.* Effect of feeding frequency on consumption, growth, and efficiency in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*)(J). The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2004, 56(4): 247-255.
- [19] Garcia J A, Villarroel M. Effect of feed type and feeding frequency on macrophage functions in tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)(J). Fish & Shellfish Immunology, 2009, 27(2): 325-329.
- [20] Sousa R M R, Agostinho C A, Oliveira F A, *et al.* Productive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed at different frequencies and periods with automatic dispenser[J]. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2012, 64(1): 192-197.
- [21] Bhujel R C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems[J]. Aquaculture, 2000, 181(1-2): 37-59.
- [22] Shiao S Y, Yu Y P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*(J). Aquaculture, 1999, 179(1): 439-446.
- [23] Hafedh Y S A. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L.(J). Aquaculture Research, 1999, 30(5): 385-393.
- [24] 王常安, 徐奇友, 唐玲, 等. 大鳞鲃幼鱼蛋白质的需求量[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(3): 90-96.
- Wang C A, Xu Q Y, Tang L, *et al.* Dietary protein requirement of young *Barbus capito*(J). Journal of Huazhong Agricultural University, 2014, 33(3): 90-96 (in Chinese).
- [25] 丁立云, 张利民, 王际英, 等. 饲料蛋白水平对星斑川鲷幼鱼生长, 体组成及血浆生化指标的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(6): 1285-1292.
- Ding L Y, Zhang L M, Wang J Y, *et al.* Effects of dietary protein level on growth performance, body composition and plasma biochemistry indices of juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus*(J). Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(6): 1285-1292 (in Chinese).
- [26] Coutinho F, Peres H, Guerreiro I, *et al.* Dietary protein requirement of sharpnose sea bream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) juveniles[J]. Aquaculture, 2012, 356-357: 391-397.
- [27] Kaushik S J, Médale F. Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids[J]. Aquaculture, 1994, 124(1-4): 81-97.
- [28] Costa-Bomfim C N, Pessoa W V N, Oliveira R L M, *et al.* The effect of feeding frequency on growth performance of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766)(J). Journal of Applied Ichthyology, 2014, 30(1): 135-139.
- [29] Baloi M, de Carvalho C V A, Sterzelecki F C, *et al.* Effects of feeding frequency on growth, feed efficiency and body composition of juveniles Brazilian sardine, *Sardinella brasiliensis* (Steindacher 1879)(J). Aquaculture Research, 2014, DOI: 10.1111/are.12514.
- [30] Wang N, Xu X L, Kestemont P. Effect of temperature and feeding frequency on growth performances, feed efficiency and body composition of pikeperch juveniles (*Sander lucioperca*)(J). Aquaculture, 2009, 289(1-2): 70-73.
- [31] 周歧存, 郑石轩, 高雷, 等. 投喂频率对南美白对虾 (*Penaeus vannamei* Boone) 生长、饲料利用及虾体组成影响的初步研究[J]. 海洋湖沼通报, 2003 (2): 64-68.
- Zhou Q C, Zheng S X, Gao L, *et al.* Preliminary studies on the effects of feeding frequency on growth, feed utilization and body composition of *Penaeus vannamei* Boone[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2003 (2): 64-68 (in Chinese).
- [32] Andrews J W, Page J W. The Effects of Frequency of Feeding on Culture of Catfish[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1975, 104(2): 317-321.
- [33] Chen B, Peng Q, Wu B, *et al.* Effect of feeding frequency on growth rate, body composition and gastric evacuation of juvenile GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)(J). The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2014, 66: 1-7.
- [34] Chellappa S, Huntingford F A, Strang R H C, *et al.* Condition factor and hepatosomatic index as estimates of

- energy status in male three-spined stickleback[J]. Journal of Fish Biology, 1995, 47(5): 775-787.
- [35] Aliyu-Paiko M, Hashim R. Effects of substituting dietary fish oil with crude palm oil and palm fatty acid distillate on growth, muscle fatty acid composition and the activities of hepatic lipogenic enzymes in snakehead (*Channa striatus*, Bloch 1793) fingerling[J]. Aquaculture Research, 2012, 43(5): 767-776.
- [36] Azaza M S, Khiari N, Dhraief M N, *et al.* Growth performance, oxidative stress indices and hepatic carbohydrate metabolic enzymes activities of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., in response to dietary starch to protein ratios[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(1): 14-27.
- [37] 乐贻荣, 杨弘, 徐起群, 等. 饲料蛋白水平对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)生长、免疫功能以及抗病力的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(2): 493-498.
- Le Y R, Yang H, Xu Q Q, *et al.* Effects of dietary protein level on growth performance, immunity function and disease resistance for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(2): 493-498 (in Chinese).
- [38] Al-Owafeir M A, Belal I E H. Replacing palm oil for soybean oil in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), feed[J]. Aquaculture Research, 1996, 27(4): 221-224.
- [39] Larumbe-Morán E, Hernández-Vergara M P, Olvera-Novoa M A, *et al.* Protein requirements of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry cultured at different salinities[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(8): 1150-1157.
- [40] Arzel J, Métailler R, Kerleguer C, *et al.* The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry[J]. Aquaculture, 1995, 130(1): 67-78.
- [41] 赵维信, 魏华, 贾江, 等. 镉对罗氏沼虾组织转氨酶活性及组织结构的影响[J]. 水产学报, 1995, 19(1): 21-27.
- Zhao W X, Wei H, Jia J, *et al.* Effects of cadmium on transaminase activities and structures of tissues in freshwater giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)[J]. Journal of Fisheries of China, 1995, 19(1): 21-27 (in Chinese).
- [42] Dixon D G, Hilton J W. Influence of available dietary carbohydrate content on tolerance of waterborne copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri* richardson[J]. Journal of Fish Biology, 1981, 19(5): 509-518.
- [43] Reinitz G. Performance of rainbow trout as affected by amount of dietary protein and feeding rate[J]. The Progressive Fish-Culturist, 1987, 49(2): 81-86.
- [44] 缪凌鸿, 刘波, 戈贤平, 等. 高碳水化合物水平日粮对异育银鲫生长、生理、免疫和肝脏超微结构的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(2): 221-230.
- Miao L H, Liu B, Ge X P, *et al.* Effect of high carbohydrate levels in the dietary on growth performance, immunity and transmission electron microscopy (TEM) on hepatic cell of allogynogenetic crucian carp (*carassius auratus gibelio*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(2): 221-230 (in Chinese).
- [45] 陆卫英, 孙莲娜. 血清前白蛋白在肝病中的临床意义[J]. 临床肝胆病杂志, 2005, 21(1): 32-33.
- Lu W Y, Sun L N. Clinical significance of determining serum prealbumin in patients with viral hepatitis[J]. Chinese Journal of Clinical Hepatology, 2005, 21(1): 32-33 (in Chinese).
- [46] Dufour D R, Lott J A, Nolte F S, *et al.* Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests[J]. Clinical chemistry, 2000, 46(12): 2027-2049.
- [47] 伍绍国, 李志海, 鲍蓓, 等. 广州成人血清总蛋白、白蛋白及A/G比值参考值调查[J]. 现代临床医学生物工程杂志, 2006, 12(2): 135-137.
- Wu S G, Li Z H, Bao B, *et al.* An investigation on the normal reference range for serum total protein, albumin and A/G value of healthy adults in Guangzhou region[J]. Journal of Modern Clinical Medical Bioengineering, 2006, 12(2): 135-137 (in Chinese).
- [48] 周顺伍. 动物生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 117-146.
- Zhou S W. Animal Biochemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999: 117-146 (in Chinese).
- [49] Greene D H S, Selivonchick D P. Lipid metabolism in fish[J]. Progress in Lipid Research, 1987, 26(1): 53-85.
- [50] Sheridan M A. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry, 1988, 90(4): 679-690.
- [51] 郭小泽, 梁旭方, 方刘, 等. 饲料中非蛋白能量源对草鱼血清生化指标和肝脏组织的影响[J]. 水生生物学报,

- 2014, 38(3): 582-587.
- Guo X Z, Liang X F, Fang L, *et al.* Effects of non-protein energy sources on serum biochemical indices and histology of liver in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(3): 582-587 (in Chinese).
- [52] 吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料碳水化合物水平对奥尼罗非鱼幼鱼生长、体成分和血清生化指标的影响[J]. 华南农业大学学报, 2011, 32(4): 91-95.
- Wu F, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate levels on growth performance, body composition and serum biochemical indices of juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂)[J]. Journal of South China Agricultural University, 2011, 32(4): 91-95 (in Chinese).

Effects of dietary protein level and feeding frequency on growth and some physiological-biochemical indexes of GIFT strain of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

LIU Wei, WEN Hua*, JIANG Ming, WU Fan, TIAN Juan, YANG Changgeng, HUANG Feng

(Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation, Ministry of Agriculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;)

Abstract: Protein is a crucial nutrient in fish diets, and must be supplied in sufficient amounts to assure healthy growth processes and cell renewal. Feeding frequency is important to the survival and growth of fish, especially at early life stages. A few studies reported the relationship between feeding frequency and the dietary protein level, and supported that protein level required for maximum growth may be related to the feeding frequency. But how dietary protein level and feeding frequency affected growth and health of fish was still not clear. Therefore, this study was to estimate the effects of dietary protein and feeding frequency on the growth and health of fish. A 6-week feeding experiment was conducted to determine the effects of dietary protein and feeding frequency on growth, body composition, serum indexes and hepatopancreas structure of the GIFT strain of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Three replicate buckets of fish [average weight of (16.13 ± 0.13) g] were fed to visual satiety with either 36.27% or 26.02% crude protein (CP) dietary, at different feeding frequencies (one meal per day, two meals per day or three meals per day). Each bucket was stocked with 15 fish. At the end of the feeding trial, with increasing dietary protein levels, there was significant increase in the final body weight (FW), weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), feed efficiency (FE), condition factor (CF), the content of eviscerated whole body crude ash (EWA), viscera moisture (VM) and the level of serum high density lipoprotein cholesterol (HDL) of the fish, while there was remarkable decrease in protein efficiency ratio (PER), feed intake (FI), viscerasomatic index (VSI), feed cost (FC), the content of eviscerated whole body crude fat (EWF), viscera crude fat (VF) and hepatopancreas crude fat (HF) ($P < 0.05$). As feeding frequency increased, FW, WGR, SGR, hepatosomatic index (HSI), CF, FC, EWF, VF, HF, the level of serum total cholesterol (TCHO), HDL, low density lipoprotein cholesterol (LDL), total protein (TP), triglyceride (TG) increased significantly ($P < 0.05$), while FE, PER, VM, EWA hepatopancreas moisture (HM) decreased significantly ($P < 0.05$). Significant interactions between dietary protein level and feeding frequency were found in FW, WGR, SGR, VM and HDL ($P < 0.05$). The liver cells of the fish fed with 26.02% protein dietary were swelling, vacuolated and the nucleus offset, but the cells in the fish fed with 36.27% protein dietary had distinct cytoplasm, less vacuolated. Considering all the indexes, the dietary protein content of 36.27% was fit for GIFT strain of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, and the appropriate feeding frequency was more than 2 times/d, which can be adjusted according to the tilapia market situation.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; protein level; feeding frequency; growth; body composition; serum biochemical indexes; hepatopancreas structure

Corresponding author: WEN Hua. E-mail: wenhua.hb@163.com

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-49), National Special Research Fund for Non-Profit sector (Agriculture) (201003020)