



## 不同投喂频率下草鱼对 5 种非粮蛋白源利用效率的比较

夏世森<sup>1,2</sup>, 董立学<sup>1</sup>, 陆星<sup>1</sup>, 田娟<sup>1</sup>, 喻丽娟<sup>1</sup>,  
文华<sup>1</sup>, 解绶启<sup>3</sup>, 蒋明<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;

2. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430223;

3. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430223)

**摘要:** 采用双因素正交试验 (3×5), 评估了草鱼在 3 种投喂频率 (2 次/d、3 次/d 和 4 次/d) 下对豆粕 (美国)、乙醇梭菌蛋白、黄粉虫、小球藻、棉籽蛋白粉的利用效率。以 5 种原料为单一蛋白源配制实验饲料, 在池塘网箱 (2.0 m×1.5 m×1.0 m) 中分别以 3 种投喂频率投喂初始体质量 80 g 左右的草鱼 8 周, 考察草鱼的生长性能、体成分以及血清生化指标。结果显示, 草鱼分别在黄粉虫 (2 次/d) 组和豆粕 (4 次/d) 组表现出最低和最高的增重率。除小球藻组外, 各蛋白源组草鱼的终末体质量和蛋白质效率随着投喂频率的增加而增加。不考虑蛋白源, 投喂频率为 4 次/d 的草鱼生长性能显著高于 2 次/d。不考虑投喂频率, 黄粉虫和棉籽浓缩蛋白组的增重率和蛋白质效率显著低于豆粕、乙醇梭菌蛋白和小球藻组, 饲料系数则表现出相反的趋势。投喂频率和蛋白源对草鱼的肝体比、脏体比、肥满度以及全鱼和肌肉的基础营养成分均无显著影响。投喂 2 次/d 的草鱼血清碱性磷酸酶活性显著高于投喂 3 和 4 次/d 的草鱼, 投喂 4 次/d 的草鱼血清葡萄糖含量显著高于投喂 2 次/d 和 3 次/d 的草鱼。黄粉虫组草鱼血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性显著高于豆粕和小球藻组。研究表明, 以生长性能为评价指标, 草鱼适宜的投喂频率为 3~4 次/d, 草鱼对 5 种非粮蛋白源的利用能力为乙醇梭菌蛋白=豆粕=小球藻>棉籽浓缩蛋白>黄粉虫。

**关键词:** 草鱼; 投喂频率; 非粮蛋白源; 生长性能

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

豆粕作为一种优质的植物性蛋白质原料, 在草鱼饲料中被广泛使用。但随着国际贸易争端以及我国水产养殖业的迅速发展, 寻求适宜的蛋白原料替代豆粕成为近年来水产动物营养研究亟需解决的产业热点问题<sup>[1]</sup>。已有研究表明, 小球藻、棉籽浓缩蛋白、乙醇梭菌蛋白、黄粉虫等在水产养殖上具有较大的应用潜力<sup>[2-5]</sup>。小球藻是最早实现商业化生产的微藻之一, 它是一种单细胞藻类, 蛋白质含量高, 并含丰富的维生素、微量元素等<sup>[6]</sup>,

可提高尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)<sup>[7]</sup>、大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*)<sup>[8]</sup> 等的饲料效率和免疫力。棉籽浓缩蛋白是由棉籽经过剥绒、剥壳、压榨, 在低温下一次性浸油、沥干后再经过脱除棉酚后制成的一种蛋白质含量为 60%~70% 的产品<sup>[9]</sup>, 棉籽蛋白适量替代鱼粉对卵形鲳鲀幼鱼 (*Trachinotus ovatus*)<sup>[10]</sup>、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[11]</sup>、杂交石斑鱼 (♀ *Epinephelus fuscoguttatus*×♂ *Epinephelus lanceolatus*)<sup>[12]</sup>、花鲈 (*Lateolabrax japon-*

收稿日期: 2022-04-29 修回日期: 2022-08-04

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项 (2019YFD0900200)

第一作者: 夏世森, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 1769506956@qq.com

通信作者: 蒋明 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: jiangming@yfi.ac.cn



icas)<sup>[13]</sup> 和条纹锯鲷幼鱼 (*Centropristis striata*)<sup>[14]</sup> 等的生长没有不良影响。乙醇梭菌蛋白是乙醇梭菌发酵生产乙醇的过程中获得的副产物, 能被草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[15]</sup>、尼罗罗非鱼<sup>[16]</sup>、黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*)<sup>[17]</sup> 等很好的消化利用。黄粉虫是一种生长迅速, 能够将有机废物转化为高蛋白质产品的昆虫。已有的研究表明, 饲料中添加适量的黄粉虫对大口黑鲈<sup>[18]</sup>、牙鲆幼鱼 (*Paralichthys olivaceus*)<sup>[19]</sup>、罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[20]</sup>、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)<sup>[21]</sup>、虹鳟<sup>[22-23]</sup>、欧洲海鲈 (*Dicentrarchus labrax*)<sup>[24]</sup>、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)<sup>[25]</sup> 等未产生不利的影响。

研究表明, 投喂频率对水产动物的生长、饲料利用率和生理指标均有显著影响。本实验以豆粕、乙醇梭菌蛋白、小球藻、黄粉虫、棉籽浓缩蛋白为单一蛋白源配置了 5 种实验饲料, 研究草鱼在不同投喂频率下, 对 5 种非粮蛋白源的利用效率, 以期为科学利用豆粕、乙醇梭菌蛋白、小球藻、黄粉虫和棉籽浓缩蛋白提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

分别以豆粕(美国)、乙醇梭菌蛋白(北京首郎生物科技有限公司)、黄粉虫(广东泽和诚生物科技有限公司)、棉籽浓缩蛋白(新疆金兰植物蛋白有限公司)和小球藻(中国科学院水生生物研究所)为单一蛋白源, 玉米淀粉和木薯淀粉为糖源, 鱼油和豆油为脂肪源, 配制 5 种实验饲料。实验饲料的组成、主要营养成分和必需氨基酸(水解法)实测值见表 1。饲料原料经粉碎通过 60 目的实验筛, 按表 1 配比混合均匀, 少量的组分采用逐级扩大法混合, 加油脂和水混匀, 用膨化机制成  $\Phi 1.0$  mm 的膨化颗粒饲料。

### 1.2 实验分组与养殖管理

实验鱼购自湖北省洪湖市一草鱼苗种养殖户, 养殖实验在长江水产研究所山坡养殖实验基地(武汉市江夏区山坡乡和尚桥村)进行。实验鱼运回后, 先暂养于池塘网箱中(4.0 m $\times$ 4.0 m $\times$ 4.0 m), 用商品饲料喂养 30 d, 使草鱼恢复体质并适应池塘网箱养殖环境。采用 3 $\times$ 5 双因素正交试验, 设计 5 种饲料和 3 个投喂频率。将规格相近的实验鱼随机分配到 45 个实验网箱(2.0 m $\times$ 1.0 m $\times$ 1.5 m), 每

箱 20 尾, 用混合饲料(5 种饲料等质量混合), 每日投喂 2 次, 驯养 14 d。正式实验前, 将草鱼饥饿 24 h, 每箱挑选出 15 尾规格相近, 体表健康的草鱼, 称质量。将 45 个网箱, 随机分成 15 组, 每组设 3 个重复, 按 2 次/d(8:00 和 17:00), 3 次/d(8:00, 12:30 和 17:00), 4 次/d(8:00, 11:00, 14:00 和 17:00), 分别投喂 5 种饲料, 投喂量设定为初始体质量的 3%, 每 20 d 称体质量一次, 根据体质量变化调整投喂量; 持续饲养 60 d。养殖期间, 每个网箱用 1 个曝气头进行连续充氧曝气。水下 30 cm 的温度为 25~30 $^{\circ}$ C, pH 6.5~7.2, 溶解氧大于 3 mg/L, 氨氮浓度小于 0.05 mg/L。每天记录实验鱼摄食及死亡情况。实验池塘水面面积约为 7000 m<sup>2</sup>, 中间水深 3 m, 池塘中间设 3 kW 叶轮式增氧机一台, 实验期间, 晴天 13:00 点和凌晨 4:00, 各开机 2 h。阴雨天气, 定时检测溶氧, 当溶解氧低于 3 mg/L 时, 开机增氧。

### 1.3 样品采集

在养殖实验结束时, 所有实验鱼饥饿 24 h。然后称量并记录每个网箱中实验鱼的最终体质量, 计算鱼的存活率(SR)和增重率(WGR)。在每个养殖箱中, 随机挑选 3 尾草鱼测量其体长和体质量, 计算肥满度(CF), 然后置于-20 $^{\circ}$ C 冰箱中保存用于全鱼的体成分分析。在每网箱中取 3 尾鱼用 75 mg/L MS 222 麻醉, 尾静脉采血样 4 mL, 常温下静置 2 h 后离心 10 min(960 $\times$ g, Eppendorf 5417R)分离血清。随后将此 3 尾鱼进行解剖, 将内脏(包括肝脏)与肝脏进行分别称重, 计算肝体比(hepatosomatic index, HSI)与脏体比(viscerosomatic index, VSI)。

鱼类的饲养、处理和取样均按照中国水产科学院长江水产研究所动物福利委员会批准的动物饲养规程进行。

### 1.4 实验指标测定

用真空冷冻干燥机对全鱼样品进行冷冻干燥(Christ Beta 2-4 LD plus LT; Marin Christ Corporation), 然后将其粉碎。经凯氏定氮自动分析仪(Kjelflex K-360; BUCHI Labortechnik AG)测定总氮后, 用凯氏定氮法(N $\times$ 6.25)计算粗蛋白; 采用索氏提取法测定脂肪; 在 550 $^{\circ}$ C 的马弗炉(SX-4-10)中煅烧样品 8 h 得到灰分。血清生物化学参数: 碱性磷酸酶(ALP)、氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性、血清白蛋白(ALB)、甘油

表 1 实验饲料组成及营养成分  
Tab. 1 Nutritional composition of test diets

原料 ingredients	豆粕(美豆) SBM	乙醇梭菌蛋白 CAP	黄粉虫 TM	棉籽浓缩蛋白 CPC	小球藻 CS
豆粕 SBM	65.1	0	0	0	0
乙醇梭菌蛋白 CPA	0	35.7	0	0	0
黄粉虫 TM	0	0	46.2	0	0
棉籽浓缩蛋白 CPC	0	0	0	48.8	0
小球藻 CS	0	0	0	0	52.2
木薯淀粉 cassava starch	7.4	21.8	17.5	15.8	16.3
玉米淀粉 corn starch	7.4	21.8	17.5	15.8	16.2
鱼油 fish oil	2.2	2.4	1.9	1.9	0.2
豆油 soybean oil	3.2	3.6	2.4	3.0	0.4
1%预混料 1% premix	1	1	1	1	1
维生素C vitamin C	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ·H <sub>2</sub> O	3	3	3	3	3
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	8	8	8	8	8
羧基纤维素钠 sodium carboxycellulose	2	2	2	2	2
合计 total	100	100	100	100	100
营养成分 nutrients					
粗蛋白质 crude protein	29.37	30.34	30.89	29.96	29.55
粗脂肪 crude lipid	5.59	5.72	5.69	5.51	5.45
水分 moisture	6.61	6.62	7.52	6.90	6.32
灰分 ash	9.40	4.25	5.75	6.45	5.45
<b>必需氨基酸 essential amino acids</b>					
精氨酸 Arg	1.64	0.91	1.29	3.61	1.26
组氨酸 His	0.59	0.36	0.24	0.61	0.41
异亮氨酸 Ile	1.00	1.55	0.90	0.65	0.83
亮氨酸 Leu	1.69	1.87	1.74	1.19	2.06
赖氨酸 Lys	2.45	3.41	2.81	1.48	1.86
蛋氨酸 Met	0.19	0.49	0.33	0.17	0.42
苯丙氨酸 Phe	1.25	1.01	1.14	1.34	1.22
苏氨酸 Thr	1.06	2.03	1.02	0.81	1.35
缬氨酸 Val	1.45	2.37	2.31	1.32	2.02
必需氨基酸总量 total essential amino acids	11.32	14.00	11.78	11.18	11.43

注：预混料：1.每千克预混料中含有：VC 60 g；VE 30 g；肌醇15 g；烟酰胺8 g；泛酸钙4 g；VA 2 g；VK<sub>3</sub> 2 g；VB<sub>1</sub> 1.5 g；VB<sub>6</sub> 1.5 g；VD<sub>3</sub> 1 g；VB<sub>12</sub> 1 g；叶酸1 g；VB<sub>12</sub> 0.8 g；生物素0.2 g；次粉22 g；沸石粉36.2 g；FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 30 g；ZeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 20 g；NaCl 10 g；MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.5 g；CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O(10%Co)0.5 g；Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>(10%Se)0.5 g；碘酸钾(2.9%)0.3 g；硫酸镁90 g；复合抗氧化剂5 g；防霉剂20 g；氧化胆碱400 g；沸石粉235 g。2. SBM. 豆粕；CAP. 乙醇梭菌蛋白；TM. 黄粉虫；CPC. 棉籽浓缩蛋白；CS. 小球藻。

Notes: Premix (g/kg): 1. Each kilogram of premix contains: VC phosphate 60 g; VE 30 g; Inositol 15 g; Ammonium nicotinate 8 g; Calcium pantothenate 4 g; VA 2 g; V<sub>k3</sub> 2 g; V<sub>B1</sub> 1.5 g; V<sub>B6</sub> 1.5 g; V<sub>D3</sub> 1 g; V<sub>B12</sub> 1 g; Folic acid 1 g; V<sub>B12</sub> 0.8 g; Biotin 0.2 g; Wheat flour 22 g; Zeolite powder 36.2 g; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 30 g; ZeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 20 g; NaCl 10 g; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 2.5 g; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (10%Co) 0.5 g; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (10%Se) 0.5 g; Potassium iodate (2.9%) 0.3 g; Magnesium sulfate 90 g; Compound antioxidant 5 g; Fungicide 20 g; Choline oxide 400 g; Zeolite powder 235 g. 2. SBM. Soybean meal; CAP. *Clostridium autoethanogenum* protein; TM. *Tenebrio molito*; CPC. cottonseed protein concentrated; CS. chlorella meal

三酯 (TG)、总蛋白 (TP) 和总胆固醇 (TCHO) 含量  
用全自动生化分析仪 (Chemistry-800, Mikan hisen, 日本) 测定。

1.5 数据计算和统计分析

根据以下公式，计算增重率 (weight gain rate)、饲料系数 (feed conversion ratio)、蛋白质效率 (pro-

tein efficiency rate)、肥满度 (condition factor)、肝体比 (hepatosomatic index) 和脏体比 (viscerosomatic index)。

增重率 (WGR, %) =  $(W_t - W_0) \times 100 / W_0$ ;

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

饲料系数 (FCR) =  $F / (W_t - W_0)$ ;

蛋白质效率 (PER, %) =  $(W_t - W_0) / F \times P$ ;

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

肝体比 (HSI, %) =  $W_h \times 100 / W$ ;

脏体比 (VSI, %) =  $W_v \times 100 / W$ ;

式中,  $N_t$  为终尾数,  $N_0$  为初尾数;  $W_t$  为末均体质量 (g),  $W_0$  为初始均体质量 (g),  $W$  为鱼体体质量 (g);  $t$  为养殖时间 (d);  $F$  为饲料摄入总质量 (g);  $P$  为饲料中粗蛋白质含量 (%),  $P_t$  为实验鱼终末全鱼粗蛋白质含量 (%),  $P_0$  为实验鱼初始全鱼粗蛋白质含量 (%),  $W_h$  为肝质量 (g),  $W_v$  为内脏质量 (g),  $L$  为体长 (cm),  $W$  为鱼体质量 (g)。

采用 SPSS 19.0 进行统计分析 (SPSS, Chicago, IL, USA)。所有数据均进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。当总体差异显著 ( $P < 0.05$ ) 时, 采用 Tukey 检验比较不同处理间的平均值。数据以平均值  $\pm$  标准差 (mean  $\pm$  SD) ( $n = 3$ ) 表示。采用双因素方差分析 (Two-Way ANOVA) 检验投喂频率、饲料蛋白源及其相互作用的影响。

## 2 结果

### 2.1 投喂频率和蛋白源对草鱼生长性能的影响

投喂频率为 2 次/d 的黄粉虫组, 草鱼表现出最低的终末体质量和增重率, 其饲料系数最高; 投喂频率为 3 次/d 和 4 次/d 的乙醇梭菌蛋白组与投喂频率为 4 次/d 的豆粕组, 草鱼表现出最高的终末体质量和增重率, 其饲料系数也最低。除小球藻实验组, 各实验组草鱼的终末体质量和蛋白质效率随着投喂频率的增加而增加 (表 2)。不考虑投喂频率, 乙醇梭菌蛋白和小球藻组的草鱼末质量、增重率、蛋白质效率与对照组 (豆粕) 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 黄粉虫和棉籽浓缩蛋白组草鱼的末体质量、增重率和蛋白质效率显著低于对照组 (豆粕) ( $P < 0.05$ ), 饲料系数显著高于对照组 (豆粕) ( $P < 0.05$ )。投喂频率与蛋白源对草鱼的末体质量、饲料系数、蛋白质效率和增重率的交互作用显著 ( $P < 0.05$ )。各组间肝体比、脏体比和肥满度均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。投喂频率与蛋白源饲料对草鱼的肝体比、脏体比和肥满度均无交互作用

( $P > 0.05$ ) (表 3)。

### 2.2 投喂频率和蛋白源对草鱼全鱼和肌肉基本营养成分的影响

各个实验组全鱼和肌肉的水分、蛋白质、脂肪和灰分均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 对投喂频率与蛋白源进行双因素方差分析, 投喂频率与蛋白源对全鱼和肌肉粗蛋白质、粗脂肪、灰分和水分均无交互作用 ( $P > 0.05$ ) (表 4)。

### 2.3 投喂频率和蛋白源对草鱼血清生化指标的影响

投喂频率和蛋白源对草鱼的血清生化指标均有影响。不考虑蛋白源, 随着投喂频率的增加, 草鱼血清中碱性磷酸酶的活性显著降低 ( $P < 0.05$ ); 投喂频率为 4 次/d 实验组的葡萄糖含量显著高于 2 次/d 和 3 次/d ( $P < 0.05$ ); 投喂频率对总蛋白、白蛋白、甘油三酯、总胆固醇含量以及谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性均无显著性影响 ( $P > 0.05$ ) (表 5)。不考虑投喂频率, 除了白蛋白以外, 不同的蛋白源对血清生化指标均有不同程度的影响, 棉籽浓缩蛋白组草鱼的总蛋白和甘油三酯的含量显著高于豆粕组 ( $P < 0.05$ ); 黄粉虫组草鱼的谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性、葡萄糖含量最高, 显著高于豆粕对照组 ( $P < 0.05$ ); 乙醇梭菌蛋白组和棉籽浓缩蛋白组草鱼的碱性磷酸酶活性显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 黄粉虫组草鱼的总胆固醇含量最高 ( $P < 0.05$ )。投喂频率与饲料蛋白源对草鱼血清中的总蛋白、白蛋白、总胆固醇、葡萄糖含量以及谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性、碱性磷酸酶活性交互作用显著 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 投喂频率和饲料蛋白源对草鱼生长性能的影响

投喂频率是水产养殖中的一个重要环节, 是影响水产动物生长的一个重要因素。研究表明, 提高投喂频率可以提升养殖鱼类的生长性能。在草鱼<sup>[26]</sup>、巨骨舌鱼 (*Arapaima gigas*)<sup>[27]</sup>、杂交鲟<sup>[28]</sup> 等的研究中发现, 增加投喂频率可以提高鱼类生长速度。本实验中, 投喂频率对草鱼的生长影响趋势与以往报道类似。这可能是因为低投喂频率下, 一次摄入较多的饲料, 会减少饲料在消化道的停留时间, 降低了鱼类对饲料的消化吸收<sup>[29]</sup>, 增加投喂频率, 每次投喂的饲料量少, 草鱼能在



表 2 投喂频率和蛋白源对草鱼生长性能的影响

Tab. 2 Growth performance of grass carp fed with the test diets with different protein sources at different feeding frequencies

投喂频率 feeding frequency	蛋白源 protein source	初始体质量 IBW/g	终末质量 FWB/g	增重率 WGR/%	饲料系数 FCR	蛋白质效率 PER/%
2 次/d 2 times/d	豆粕 SBM	78.20±3.90	182.44±7.61 <sup>cd</sup>	133.37±2.01 <sup>cd</sup>	1.38±0.05 <sup>bc</sup>	2.42±0.08 <sup>cd</sup>
	乙醇梭菌蛋白 CPA	79.55±1.38	198.48±13.81 <sup>e</sup>	149.38±13.99 <sup>de</sup>	1.21±0.01 <sup>ab</sup>	2.75±0.01 <sup>e</sup>
	黄粉虫 TM	76.00±1.15	115.64±3.18 <sup>a</sup>	52.21±5.51 <sup>a</sup>	2.72±0.22 <sup>b</sup>	1.23±0.10 <sup>a</sup>
	棉籽浓缩蛋白 CPC	80.00±1.76	149.40±7.61 <sup>b</sup>	86.71±7.16 <sup>b</sup>	1.87±0.13 <sup>d</sup>	1.79±0.13 <sup>b</sup>
	小球藻 CS	76.78±3.40	194.62±10.36 <sup>de</sup>	153.44±5.12 <sup>e</sup>	1.23±0.09 <sup>ab</sup>	2.72±0.20 <sup>e</sup>
3 次/d 3 times/d	豆粕 SBM	77.31±3.92	196.86±0.17 <sup>de</sup>	155.07±12.63 <sup>e</sup>	1.26±0.02 <sup>ab</sup>	2.64±0.04 <sup>de</sup>
	乙醇梭菌蛋白 CPA	79.75±4.51	214.44±12.47 <sup>f</sup>	169.15±14.73 <sup>ef</sup>	1.12±0.06 <sup>a</sup>	2.98±0.15 <sup>f</sup>
	黄粉虫 TM	77.78±2.64	142.44±5.57 <sup>b</sup>	83.27±9.02 <sup>b</sup>	2.08±0.12 <sup>c</sup>	1.61±0.09 <sup>b</sup>
	棉籽浓缩蛋白 CPC	80.18±3.46	178.37±5.59 <sup>c</sup>	122.81±13.50 <sup>c</sup>	1.42±0.01 <sup>bc</sup>	2.36±0.16 <sup>c</sup>
	小球藻 CS	77.73±3.78	198.20±3.81 <sup>e</sup>	155.27±9.64 <sup>e</sup>	1.26±0.06 <sup>ab</sup>	2.63±0.13 <sup>de</sup>
4 次/d 4 times/d	豆粕 SBM	80.22±2.34	227.33±11.81 <sup>f</sup>	183.74±21.62 <sup>f</sup>	1.12±0.08 <sup>a</sup>	2.98±0.13 <sup>f</sup>
	乙醇梭菌蛋白 CPA	78.00±2.40	220.68±14.62 <sup>f</sup>	182.76±11.66 <sup>ef</sup>	1.07±0.06 <sup>a</sup>	3.12±0.21 <sup>f</sup>
	黄粉虫 TM	77.77±3.28	138.11±1.71 <sup>b</sup>	77.73±5.47 <sup>b</sup>	2.42±0.12 <sup>f</sup>	1.38±0.17 <sup>b</sup>
	棉籽浓缩蛋白 CPC	81.11±1.67	181.44±3.89 <sup>cd</sup>	123.75±5.96 <sup>c</sup>	1.52±0.13 <sup>c</sup>	2.2±0.07 <sup>c</sup>
	小球藻 CS	76.88±3.42	198.06±10.60 <sup>e</sup>	157.54±3.01 <sup>e</sup>	1.27±0.03 <sup>ab</sup>	2.63±0.18 <sup>de</sup>
<i>P</i>		0.703	0.000	0.000	0.000	0.000
交互作用 interaction		0.942	0.000	0.019	0.000	0.000
2 次/d 2 times/d		78.11±2.70	168.12±33.43 <sup>a</sup>	115.02±41.26 <sup>a</sup>	1.68±0.59 <sup>b</sup>	2.18±0.62
3 次/d 3 times/d		78.55±3.36	186.07±26.12 <sup>ab</sup>	137.11±33.60 <sup>b</sup>	1.43±0.35 <sup>a</sup>	2.44±0.49
4 次/d 4 times/d		78.8±2.81	193.13±34.14 <sup>b</sup>	145.11±42.71 <sup>c</sup>	1.48±0.51 <sup>a</sup>	2.46±0.66
<i>P</i>		0.812	0.092	0.108	0.348	0.355
豆粕 SBM		78.57±3.27	202.21±21.05 <sup>c</sup>	157.39±25.22 <sup>c</sup>	1.25±0.12 <sup>a</sup>	2.68±0.27 <sup>c</sup>
乙醇梭菌蛋白 CPA		79.10±2.77	211.21±15.44 <sup>c</sup>	167.1±18.66 <sup>c</sup>	1.13±0.07 <sup>a</sup>	2.95±0.19 <sup>c</sup>
黄粉虫 TM		77.18±2.36	132.06±12.89 <sup>a</sup>	71.06±15.53 <sup>a</sup>	2.40±0.31 <sup>c</sup>	1.41±0.18 <sup>a</sup>
棉籽浓缩蛋白 CPC		80.43±2.18	169.74±16.14 <sup>b</sup>	111.09±20.04 <sup>b</sup>	1.60±0.23 <sup>b</sup>	2.12±0.28 <sup>b</sup>
小球藻 CS		77.13±3.09	196.963±7.85 <sup>c</sup>	155.42±5.93 <sup>c</sup>	1.26±0.06 <sup>a</sup>	2.65±0.13 <sup>c</sup>
<i>P</i>		0.08	0.00	0.00	0.00	0.00

注：同列中上标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )，下同

Notes: in the same column, values with different lowercase letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ), the same below

较短的时间内摄食完饲料，减少了摄食过程中饲料水溶性损失，也利于氨基酸消化吸收，从而提高了生长性能。

饲料中氨基酸的组成在很大程度上决定其营养价值<sup>[30]</sup>。由于本实验均采用单一蛋白源饲料，未对必需氨基酸进行额外补充，因此各实验饲料中必需氨基酸组成不平衡，会直接影响草鱼对氨基酸的利用，并最终影响草鱼的生长性能。本实验中，乙醇梭菌蛋白饲料的必需氨基酸含量最高，在不考虑投喂频率的情况下，乙醇梭菌蛋白组草鱼的生长性能最好(与豆粕组类似)，说明草鱼对

乙醇梭菌蛋白有较高的利用效率。黄粉虫饲料的必需氨基酸含量虽与豆粕组饲料相近，但可能由于氨基酸不平衡，黄粉虫组草鱼的蛋白质效率和饲料效率均较低，生长性能也较差；日常投喂中也发现黄粉虫饲料的适口性最差，这也是导致黄粉虫实验组草鱼生长性能较差的原因之一。

研究表明，增加投喂频率可以提高鱼类对豆粕的利用能力<sup>[31]</sup>。本实验中，饲料蛋白源与投喂频率对草鱼的生长存在显著交互作用，各蛋白源组投喂频率为3次/d和4次/d的草鱼生长性能均优于投喂2次/d的，其增重率和蛋白质效率显著

表 3 投喂频率和蛋白源对草鱼形态指标的影响

Tab. 3 Morphological indexes of grass carp fed with the test diets with different protein sources at different feeding frequencies

投喂频率 feeding frequency	蛋白源 protein source	脏体比/% VSI	肝体比/% HSI	肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF
2 次/d 2 times/d	豆粕 SBM	7.88±0.35	0.88±0.06	1.82±0.03
	乙醇梭菌蛋白 CPA	7.48±0.42	0.98±0.17	1.83±0.01
	黄粉虫 TM	7.79±0.74	0.88±0.13	1.82±0.04
	棉籽浓缩蛋白 CPC	7.89±0.78	0.91±0.13	1.81±0.04
	小球藻 CS	7.22±0.37	0.99±0.12	1.79±0.03
3 次/d 3 times/d	豆粕 SBM	7.75±0.36	0.89±0.11	1.77±0.09
	乙醇梭菌蛋白 CPA	7.93±0.28	1.06±0.17	1.83±0.06
	黄粉虫 TM	7.94±0.76	0.98±0.13	1.82±0.04
	棉籽浓缩蛋白 CPC	7.86±0.22	0.92±0.06	1.81±0.06
	小球藻 CS	7.59±0.51	0.88±0.14	1.76±0.02
4 次/d 4 times/d	豆粕 BSM	7.60±0.45	0.87±0.09	1.81±0.04
	乙醇梭菌蛋白 CPA	7.68±0.39	0.96±0.09	1.82±0.02
	黄粉虫 TM	7.55±0.65	0.86±0.03	1.82±0.09
	棉籽浓缩蛋白 CPC	7.57±0.36	1.09±0.14	1.78±0.06
	小球藻 CS	7.75±0.39	0.98±0.22	1.83±0.03
	<i>P</i>	0.695	0.125	0.270
	交互作用 interaction	0.537	0.178	0.390
2 次/d 2 times/d		7.65±0.58	0.93±0.12	1.82±0.03
3 次/d 3 times/d		7.76±0.39	0.94±0.14	1.79±0.06
4 次/d 4 times/d		7.63±0.43	0.95±0.15	1.81±0.05
	<i>P</i>	0.580	0.819	0.247
	豆粕 SBM	7.75±0.38	0.88±0.08	1.80±0.06
	乙醇梭菌蛋白 CPA	7.69±0.39	1.00±0.14	1.82±0.03
	黄粉虫 TM	7.68±0.62	0.90±0.10	1.82±0.06
	棉籽浓缩蛋白 CPC	7.77±0.50	0.97±0.14	1.80±0.05
	小球藻 CS	7.51±0.46	0.95±0.15	1.78±0.05
	<i>P</i>	0.603	0.076	0.235

上升, 说明除小球藻外, 提高投喂频率均可以提高草鱼对豆粕、乙醇梭菌蛋白、黄粉虫以及棉籽浓缩蛋白的利用能力, 这表明低蛋白质效率饲料可以通过适当增加投喂频率的方式, 以提高鱼类的生长性能。

### 3.2 投喂频率和饲料蛋白源对草鱼基本营养成分的影响

投喂频率对鱼类体营养成分产生的影响, 可能与鱼体大小、种类和实验条件等有关。

在本实验中, 不同投喂频率对草鱼的全鱼和肌肉成分没有产生影响, 这与 Pedrosa 等<sup>[32]</sup> 研究结果一致。魏洪城等<sup>[15]</sup> 用乙醇梭菌蛋白替代豆粕仅对草鱼的水分有显著影响。Peng 等<sup>[33]</sup> 利用小球

藻提取物添加在小球藻饲料中对尼罗罗非鱼的体成分无影响。Sankian 等<sup>[34]</sup> 饲料中添加黄粉虫粉对斑鳅 (*Siniperca scherzeri*) 幼鱼的体成分无显著影响。在本实验中, 豆粕、乙醇梭菌蛋白、黄粉虫、棉籽浓缩蛋白和小球藻均对草鱼全鱼和肌肉粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和水分含量无显著性影响, 类似的结果在乙醇梭菌蛋白<sup>[17]</sup>、膨化豆粕<sup>[35]</sup>、浓缩去酚棉籽蛋白<sup>[11]</sup> 替代鱼粉的研究中也有报道。

### 3.3 投喂频率和饲料蛋白源对草鱼血清生化指标的影响

鱼类血清中的葡萄糖含量是反映碳水化合物代谢的重要指标, 一般情况下, 鱼类血糖浓度受神经和内分泌的系统调节而处于一种动态平衡状

表 4 投喂频率和蛋白源对草鱼基本营养成分的影响

Tab. 4 Nutritional composition of grass carp fed with the test diets with different protein sources at different feeding frequencies

投喂频率 feeding frequency	蛋白源 protein source	全鱼 whole fish				肌肉 muscle			
		水分/% moisture	灰分/% ash	粗脂肪/% crude lipid	粗蛋白/% crude protein	水分/% moisture	灰分/% ash	粗脂肪/% crude lipid	粗蛋白/% crude protein
2 次/d 2 times/d	豆粕 SBM	71.90±1.28	3.39±0.26	4.64±0.12	14.16±0.69	81.09±1.21	1.44±0.16	1.11±0.07	16.91±0.15
	乙醇梭菌蛋白 CPA	72.61±1.26	3.33±0.28	4.13±0.19	14.27±0.41	81.62±1.06	1.43±0.12	1.34±0.11	16.55±0.18
	黄粉虫 TM	72.56±1.25	3.43±0.22	4.20±0.51	14.02±0.57	80.83±0.81	1.43±0.14	1.23±0.16	16.78±0.22
	棉籽浓缩蛋白 CPC	72.24±1.17	3.22±0.18	5.17±0.57	14.31±0.66	80.43±0.79	1.51±0.13	1.37±0.15	16.82±0.11
	小球藻 CS	72.81±1.11	3.46±0.32	4.18±0.26	14.24±0.52	80.87±0.37	1.57±0.06	1.17±0.08	16.73±0.33
3 次/d 3 times/d	豆粕 SBM	73.12±1.55	3.52±0.25	4.60±0.55	14.24±0.51	80.46±0.26	1.45±0.14	1.14±0.03	16.22±0.24
	乙醇梭菌蛋白 CPA	73.04±1.09	3.41±0.28	4.65±0.70	14.68±0.37	79.85±0.72	1.40±0.19	1.25±0.15	16.42±0.45
	黄粉虫 TM	72.78±1.22	3.58±0.19	4.59±0.28	14.71±0.79	80.97±0.52	1.50±0.11	1.27±0.23	16.15±0.36
	棉籽浓缩蛋白 CPC	72.41±1.32	3.32±0.17	4.44±0.79	13.95±0.62	80.8±0.28	1.56±0.08	1.18±0.06	16.6±0.67
	小球藻 CS	72.87±1.15	3.34±0.18	4.31±0.48	14.96±0.51	81.32±0.48	1.48±0.17	1.15±0.01	16.62±0.54
4 次/d 4 times/d	豆粕 SBM	72.89±1.79	3.49±0.21	4.67±0.71	14.62±0.95	81.09±1.21	1.60±0.07	1.17±0.03	16.78±0.81
	乙醇梭菌蛋白 CPA	72.21±1.85	3.57±0.2	4.54±0.64	14.94±1.03	81.62±1.06	1.48±0.07	1.31±0.11	16.35±0.21
	黄粉虫 TM	73.00±1.76	3.67±0.14	4.36±0.43	14.31±0.18	80.83±0.81	1.59±0.08	1.24±0.09	17.25±1.09
	棉籽浓缩蛋白 CPC	71.82±0.89	3.56±0.27	4.54±0.59	13.91±0.69	80.43±0.79	1.47±0.11	1.12±0.05	17.02±0.59
	小球藻 CS	71.84±0.87	3.47±0.25	4.54±0.63	14.65±0.56	80.87±0.37	1.53±0.20	1.17±0.04	16.45±0.13
	<i>P</i>	0.888	0.146	0.765	0.127	0.488	0.186	0.689	0.170
交互作用 interaction		0.963	0.734	0.625	0.220	0.249	0.412	0.556	0.101
2 次/d 2 times/d		72.42±1.31	3.37±0.25	4.46±0.52	14.41±0.63	80.92±0.81	1.48±0.12	1.24±0.15	16.77±0.23
3 次/d 3 times/d		72.85±1.21	3.43±0.23	4.52±0.51	14.52±0.66	80.68±0.65	1.48±0.13	1.19±0.12	16.40±0.48
4 次/d 4 times/d		72.33±1.47	3.54±0.22	4.53±0.53	14.48±0.92	80.92±0.81	1.53±0.12	1.21±0.09	16.77±0.72
	<i>P</i>	0.299	0.140	0.932	0.851	0.618	0.410	0.635	0.080
	豆粕 SBM	72.64±1.55	3.46±0.23	4.64±0.12	14.34±0.73	80.88±0.92	1.49±0.13	1.14±0.05	16.64±0.57
	乙醇梭菌蛋白 CPA	72.56±1.45	3.43±0.26	4.44±0.54	14.63±0.69	80.86±0.12	1.44±0.12	1.29±0.11	16.43±0.31
	黄粉虫 TM	72.70±1.44	3.55±0.20	4.39±0.40	14.68±0.90	80.88±0.63	1.51±0.12	1.25±0.15	16.73±0.79
	棉籽浓缩蛋白 CPC	72.33±1.78	3.37±0.25	4.72±0.67	14.06±0.65	80.55±0.60	1.51±0.10	1.23±0.14	16.81±0.52
	小球藻 CS	72.45±1.16	3.42±0.25	4.35±0.45	14.62±0.59	81.02±0.42	1.53±0.14	1.17±0.05	16.60±0.37
	<i>P</i>	0.481	0.207	0.466	0.055	0.783	0.604	0.588	0.309

态, 餐后血糖会迅速升高达到峰值, 然后随着时间降低<sup>[36]</sup>。本实验中, 投喂 4 次/d 的乙醇梭菌蛋白组、黄粉虫组和小球藻组草鱼葡萄糖含量显著高于投喂 2 次/d 和 3 次/d 的实验组。这可能是由于少量多餐的投喂节律降低了草鱼血糖下降速率, 使其血糖保持在一个相对高的水平, 说明增加投喂频率可以提高草鱼对饲料中能量的消化利用, 从而促进其生长。碱性磷酸酶是一种磷酸单酯酶,

通常由骨骼或者肝脏释放。一般来说, 血清中碱性磷酸酶过高与机体营养不良等原因相关<sup>[37]</sup>。在本研究中, 草鱼血清中的碱性磷酸酶活性随着投喂频率的增加而逐渐降低, 投喂 2 次/d 的小球藻组碱性磷酸酶活性显著高于投喂 3 次/d 和 4 次/d 的, 说明提高投喂频率可以改善草鱼的营养状态, 且当饲料蛋白源为小球藻时作用尤为显著。

鱼类与其他的脊椎动物一样, 能够自身合成

表 5 投喂频率和蛋白源对草鱼血清生化标的影响

Tab. 5 Serum biochemical indexes of grass carp fed with the test diets with different protein sources at different feeding frequencies

投喂频率 feeding frequency	蛋白源 protein source	白蛋白/ (g/L) ALB	碱性磷酸酶/ (U/L) ALP	谷丙转氨酶/ (U/L) ALT	谷草转氨酶/ (U/L) AST	葡萄糖/ (mmol/L) GLU	总胆固醇/ (mmol/L) T-CHO	甘油三酯/ (mmol/L) TG	总蛋白/ (g/L) TP
2 次/d 2 times/d	豆粕 SBM	13.96±0.73 <sup>d</sup>	119.33±5.86 <sup>abc</sup>	4.32±0.33 <sup>abc</sup>	26.33±2.08 <sup>abc</sup>	2.63±0.21 <sup>a</sup>	7.27±0.09 <sup>d</sup>	2.76±0.19 <sup>bcd</sup>	34.22±1.76 <sup>dc</sup>
	乙醇梭菌蛋白 CPA	12.99±1.20 <sup>cd</sup>	152.67±4.16 <sup>c</sup>	3.67±0.32 <sup>a</sup>	20.00±1.00 <sup>a</sup>	2.67±0.11 <sup>a</sup>	5.82±0.41 <sup>ab</sup>	2.72±0.43 <sup>bcd</sup>	27.99±1.43 <sup>abc</sup>
	黄粉虫 TM	10.79±0.11 <sup>ab</sup>	138.00±11.78 <sup>cde</sup>	11.33.88 <sup>ef</sup>	42.33±5.51 <sup>g</sup>	3.80±0.92 <sup>bcd</sup>	6.57±0.22 <sup>abcd</sup>	2.00±0.24 <sup>a</sup>	25.97±0.71 <sup>ab</sup>
	棉籽浓缩蛋白 CPC	13.60±1.65 <sup>d</sup>	147.33±11.93 <sup>c</sup>	9.66±0.12 <sup>e</sup>	38±3.60 <sup>fg</sup>	4.88±0.27 <sup>efg</sup>	7.56±0.77 <sup>d</sup>	3.61±0.32 <sup>f</sup>	36.24±2.74 <sup>c</sup>
	小球藻 CS	12.58±0.26 <sup>bcd</sup>	138.50±16.26 <sup>dc</sup>	4.65±0.87 <sup>abc</sup>	25.66±3.05 <sup>abc</sup>	3.46±0.28 <sup>abc</sup>	7.06±0.29 <sup>cd</sup>	2.48±0.20 <sup>abcd</sup>	30.09±0.76 <sup>bcd</sup>
3 次/d 3 times/d	豆粕 SBM	10.83±0.64 <sup>ab</sup>	108.66±11.59 <sup>ab</sup>	5.33±0.84 <sup>abcd</sup>	21.50±2.12 <sup>ab</sup>	3.10±0.06 <sup>ab</sup>	5.67±0.42 <sup>a</sup>	2.59±0.38 <sup>abcd</sup>	28.04±3.14 <sup>abc</sup>
	乙醇梭菌蛋白 CPA	11.05±0.44 <sup>abc</sup>	143.33±10.02 <sup>dc</sup>	9.63±0.66 <sup>c</sup>	39.00±3.60 <sup>fg</sup>	4.43±0.66 <sup>cde</sup>	6.07±0.57 <sup>abc</sup>	3.59±0.47 <sup>f</sup>	28.02±1.29 <sup>abc</sup>
	黄粉虫 TM	12.38±1.08 <sup>bcd</sup>	133.67±5.68 <sup>cde</sup>	13.33±0.88 <sup>f</sup>	42.67±4.93 <sup>g</sup>	4.13±0.49 <sup>cde</sup>	9.53±0.31 <sup>c</sup>	2.21±0.51 <sup>ab</sup>	30.28±3.43 <sup>bcd</sup>
	棉籽浓缩蛋白 CPC	12.72±1.07 <sup>bcd</sup>	143.50±10.60 <sup>dc</sup>	5.34±0.31 <sup>abcd</sup>	27.33±3.21 <sup>bcd</sup>	4.54±0.55 <sup>def</sup>	6.93±0.82 <sup>cd</sup>	3.53±0.23 <sup>ef</sup>	30.75±1.87 <sup>cd</sup>
	小球藻 CS	11.34±0.58 <sup>abc</sup>	106.50±2.12 <sup>ab</sup>	3.68±0.61 <sup>a</sup>	28±2.64 <sup>bcd</sup>	3.52±0.29 <sup>abc</sup>	6.82±0.12 <sup>bcd</sup>	2.91±0.33 <sup>bcd</sup>	28.14±3.27 <sup>abc</sup>
4 次/d 4 times/d	豆粕 SBM	10.27±1.24 <sup>a</sup>	104.33±11.02 <sup>a</sup>	4.07±0.58 <sup>ab</sup>	28.33±3.51 <sup>bcd</sup>	2.79±0.09 <sup>a</sup>	6.18±0.75 <sup>abc</sup>	2.60±0.14 <sup>abcd</sup>	24.92±2.74 <sup>a</sup>
	乙醇梭菌蛋白 CPA	10.73±0.92 <sup>ab</sup>	125.50±9.19 <sup>bcd</sup>	6.36±0.30 <sup>bcd</sup>	33.33±4.51 <sup>def</sup>	5.77±0.92 <sup>a</sup>	5.67±0.61 <sup>a</sup>	2.99±0.46 <sup>cdef</sup>	27.86±2.03 <sup>abc</sup>
	黄粉虫 TM	11.54±0.85 <sup>abc</sup>	105.67±8.02 <sup>a</sup>	7.33±0.87 <sup>d</sup>	35.00±4.00 <sup>ef</sup>	8.03±0.51 <sup>b</sup>	6.92±0.12 <sup>cd</sup>	2.39±0.22 <sup>abc</sup>	30.46±3.62 <sup>bcd</sup>
	棉籽浓缩蛋白 CPC	11.45±0.93 <sup>abc</sup>	103.5±2.12 <sup>a</sup>	6.67±0.61 <sup>cd</sup>	29.00±3.61 <sup>cde</sup>	4.72±0.36 <sup>def</sup>	6.08±0.46 <sup>abc</sup>	3.18±0.20 <sup>def</sup>	30.38±1.18 <sup>bcd</sup>
	小球藻 CS	11.52±1.66 <sup>abc</sup>	114.5±7.78 <sup>ab</sup>	5.62±0.35 <sup>abcd</sup>	28.67±3.06 <sup>cde</sup>	5.47±0.32 <sup>fg</sup>	5.74±0.62 <sup>a</sup>	2.80±0.68 <sup>bcd</sup>	28.40±2.56 <sup>abc</sup>
<i>P</i>		0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
交互作用 interaction		0.009	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000	0.183	0.004
2 次/d 2 times/d		12.78±1.41 <sup>a</sup>	139.21±14.84 <sup>c</sup>	6.73±0.89	30.46±9.09	3.49±0.97 <sup>a</sup>	6.86±0.73	2.71±0.59	30.90±4.19
3 次/d 3 times/d		11.51±1.18 <sup>b</sup>	125.00±19.76 <sup>b</sup>	7.31±0.93	31.93±8.38	3.97±0.66 <sup>a</sup>	6.83±1.32	2.93±0.64	28.60±3.08
4 次/d 4 times/d		11.24±1.01 <sup>b</sup>	111.27±9.85 <sup>a</sup>	6.09±0.39	31.28±4.10	5.35±1.82 <sup>b</sup>	6.15±0.64	2.82±0.45	28.86±2.53
<i>P</i>		0.003	0.000	0.562	0.869	0.002	0.103	0.566	0.131
豆粕 SBM		11.68±1.89	110.78±10.82 <sup>a</sup>	4.57±0.37 <sup>a</sup>	25.87±3.68 <sup>a</sup>	2.81±0.24 <sup>a</sup>	6.39±0.83 <sup>ab</sup>	2.65±0.24 <sup>c</sup>	29.06±4.68 <sup>b</sup>
乙醇梭菌蛋白 CPA		11.59±1.31	142.38±13.14 <sup>c</sup>	6.56±0.89 <sup>ab</sup>	30.77±8.94 <sup>ab</sup>	4.05±1.48 <sup>ab</sup>	5.86±0.49 <sup>a</sup>	3.10±0.55 <sup>ab</sup>	27.95±1.40 <sup>b</sup>
黄粉虫 TM		11.57±0.97	125.78±17.02 <sup>ab</sup>	10.67±0.98 <sup>c</sup>	40.00±5.63 <sup>b</sup>	4.98±1.97 <sup>b</sup>	7.44±1.31 <sup>b</sup>	2.20±0.35 <sup>d</sup>	28.91±3.34 <sup>b</sup>
棉籽浓缩蛋白 CPC		12.59±1.43	133.71±22.26 <sup>b</sup>	7.22±0.75 <sup>b</sup>	31.44±5.81 <sup>ab</sup>	4.71±0.39 <sup>b</sup>	6.86±0.88 <sup>ab</sup>	3.44±0.29 <sup>a</sup>	32.46±3.34 <sup>a</sup>
小球藻 CS		11.81±1.06	119.83±16.96 <sup>ab</sup>	4.67±0.44 <sup>a</sup>	27.44±2.87 <sup>a</sup>	4.06±0.99 <sup>ab</sup>	6.64±0.63 <sup>ab</sup>	2.73±0.43 <sup>bc</sup>	28.88±2.30 <sup>b</sup>
<i>P</i>		0.479	0.004	0.000	0.000	0.018	0.011	0.000	0.048

胆固醇, 血液中的大部分胆固醇来自肝脏, 如果肝细胞功能障碍, 则血液中胆固醇含量迅速升高<sup>[38]</sup>。本实验中黄粉虫组的胆固醇含量显著高于其他 4 组, 可能是黄粉虫是唯一的动物性蛋白源, 其自身含有胆固醇, 所以血清中胆固醇含量相对偏高。血清中的转氨酶活性可以反映肝脏受损程度, 当肝细胞坏死或因出现其他损伤时会使膜通透性发生改变, 细胞内的转氨酶大量释放到血液

中, 使血清中的谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性超过正常水平<sup>[39]</sup>。本实验中, 投喂 2 次/d 的乙醇梭菌蛋白组谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性显著低于投喂 3 次/d 和 4 次/d 的实验组, 说明高投喂频率下虽可以促进草鱼生长, 但低投喂频率下草鱼生理健康更佳; 不同投喂频率下, 黄粉虫组的谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性均为最高, 这表明黄粉虫实验组草鱼的肝脏可能已经损伤。



## 4 结论

本实验条件下, 初始体质量为 80 g 左右草鱼的适宜投喂频率为 3~4 次/d, 可以改善草鱼对饲料蛋白源(除小球藻)的利用效率。以生长性能为评价指标, 草鱼对 5 种蛋白源的利用能力为乙醇梭菌蛋白=豆粕=小球藻>棉籽浓缩蛋白>黄粉虫。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [1] Gan L, Li X X, Pan Q, *et al.* Effects of replacing soybean meal with faba bean meal on growth, feed utilization and antioxidant status of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(1): 192-200.
- [2] Makkar H P S, Tran G, Heuzé V, *et al.* State-of-the-art on use of insects as animal feed[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 197: 1-33.
- [3] Wu Z H, Yu X J, Guo J S, *et al.* Replacement of dietary fish meal with *Clostridium autoethanogenum* protein on growth performance, digestion, mTOR pathways and muscle quality of abalone *Haliotis discus hannai*[J]. *Aquaculture*, 2022, 553: 738070.
- [4] Alam M S, Watanabe W O, Carroll P M, *et al.* Evaluation of genetically-improved (glandless) and genetically-modified low-gossypol cottonseed meal as alternative protein sources in the diet of juvenile southern flounder *Paralichthys lethostigma* reared in a recirculating aquaculture system[J]. *Aquaculture*, 2018, 489: 36-45.
- [5] Alagawany M, Taha A E, Noreldin A, *et al.* Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: a review[J]. *Aquaculture*, 2021, 542: 736841.
- [6] Yamaguchi K. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: a review[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1996, 8(6): 487-502.
- [7] Abdel-Tawwab M, Mousa M A A, Mamoon A, *et al.* Dietary *Chlorella vulgaris* modulates the performance, antioxidant capacity, innate immunity, and disease resistance capability of Nile tilapia fingerlings fed on plant-based diets[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2022, 283: 115181.
- [8] Xi L W, Lu Q S, Liu Y L, *et al.* Effects of fish meal replacement with *Chlorella* meal on growth performance, pigmentation, and liver health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Animal Nutrition*, 2022, 10: 26-40.
- [9] 薛敏. 棉籽浓缩蛋白加工工艺及其在水产饲料中营养价值[J]. *饲料工业*, 2021, 42(12): 1-5.
- Xue M. Processing of cottonseed protein concentrated and its nutrient values in aquatic feed[J]. *Feed Industry*, 2021, 42(12): 1-5 (in Chinese).
- [10] 申建飞, 陈铭灿, 刘泓宇, 等. 浓缩棉籽蛋白替代鱼粉对卵形鲳鲹幼鱼生长性能、血清生化指标、肝脏抗氧化指标及胃肠道蛋白酶活性的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(2): 746-756.
- Shen J F, Chen M C, Liu H Y, *et al.* Effects of fish meal replacement by concentrated cottonseed protein on growth performance, serum biochemical indices, liver antioxidant indices and gastrointestinal tract protease activities of juvenile *Trachinotus ovatus*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(2): 746-756 (in Chinese).
- [11] Zhao W, Liu Z L, Niu J. Growth performance, intestinal histomorphology, body composition, hematological and antioxidant parameters of *Oncorhynchus mykiss* were not detrimentally affected by replacement of fish meal with concentrated dephenolization cottonseed protein[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 19: 100557.
- [12] Chen G F, Yin B, Liu H Y, *et al.* Effects of fishmeal replacement with cottonseed protein concentrate on growth, digestive proteinase, intestinal morphology and microflora in pearl gentian grouper (♀*Epinephelus fuscoguttatus* × ♂*Epinephelus lanceolatus*)[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(7): 2870-2884.
- [13] Liang X F, Han J, Xue M, *et al.* Growth and feed intake regulation responses to anorexia, adaptation and fasting in Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* when fishmeal is totally replaced by plant protein[J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 528-538.
- [14] 张静雅, 任幸, 李伟业, 等. 利用棉籽浓缩蛋白替代条纹锯鲷饲料鱼粉的潜力[J]. *水产学报*, 2020, 44(11): 1873-1882.
- Zhang J Y, Ren X, Li W Y, *et al.* Potential of replacing fish meal with cottonseed protein concentrate in black sea bass (*Centropristis striata*) diet[J]. *Journal of Fisheries*

- ies of China, 2020, 44(11): 1873-1882 (in Chinese).
- [15] 魏洪城, 郁欢欢, 陈晓明, 等. 乙醇梭菌蛋白替代豆粕对草鱼生长性能、血浆生化指标及肝脏脏和肠道组织病理的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(10): 4190-4201.
- Wei H C, Yu H H, Chen X M, *et al.* Effects of soybean meal replaced by *Clostridium autoethanogenum* protein on growth performance, plasma biochemical indexes and hepatopancreas and intestinal histopathology of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(10): 4190-4201 (in Chinese).
- [16] Maulu S, Liang H L, Ge X P, *et al.* Effect of dietary *Clostridium autoethanogenum* protein on growth, body composition, plasma parameters and hepatic genes expression related to growth and AMPK/TOR/PI3K signaling pathway of the genetically improved farmed tilapia (GIFT: *Oreochromis niloticus*) juveniles[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2021, 276: 114914.
- [17] Chen Y, Sagada G, Xu B Y, *et al.* Partial replacement of fishmeal with *Clostridium autoethanogenum* single-cell protein in the diet for juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*)[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(3): 1000-1011.
- [18] Gu J Z, Liang H L, Ge X P, *et al.* A study of the potential effect of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) substitution for fish meal on growth, immune and antioxidant capacity in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 120: 214-221.
- [19] Jeong S M, Khosravi S, Yoon K Y, *et al.* Mealworm, *Tenebrio molitor*, as a feed ingredient for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 20: 100747.
- [20] Feng P F, He J Z, Lv M, *et al.* Effect of dietary *Tenebrio molitor* protein on growth performance and immunological parameters in *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2019, 511: 734247.
- [21] Motte C, Rios A, Lefebvre T, *et al.* Replacing fish meal with defatted insect meal (yellow mealworm *Tenebrio molitor*) improves the growth and immunity of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Animals*, 2019, 9(5): 258.
- [22] Terova G, Gini E, Gasco L, *et al.* Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2021, 12(1): 30.
- [23] Melenchón F, Larrán A M, de Mercado E, *et al.* Potential use of black soldier fly (*Hermetia illucens*) and mealworm (*Tenebrio molitor*) insectmeals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(2): 491-505.
- [24] Mastoraki M, Ferrándiz P M, Vardali S C, *et al.* A comparative study on the effect of fish meal substitution with three different insect meals on growth, body composition and metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. ) [J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735511.
- [25] Piccolo G, Iaconisi V, Marono S, *et al.* Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, *in vivo* nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2017, 226: 12-20.
- [26] Wu B L, Huang L, Chen J, *et al.* Effects of feeding frequency on growth performance, feed intake, metabolism and expression of *fgf21* in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Aquaculture*, 2021, 545: 737196.
- [27] Rodrigues A P O, Lima A F, Andrade C L, *et al.* Feeding frequency affects feed intake and growth in juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*)[J]. *Acta Amazonica*, 2019, 49(1): 11-16.
- [28] Wu Y B, Ren X, Zhou J H, *et al.* Feed intake, growth, feed utilization, body composition and waste output of juvenile hybrid bream at different feeding frequencies[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(2): 292-297.
- [29] Biswas G, Thirunavukkarasu A R, Sundaray J K, *et al.* Optimization of feeding frequency of Asian seabass (*Lates calcarifer*) fry reared in net cages under brackish-water environment[J]. *Aquaculture*, 2010, 305(1-4): 26-31.
- [30] 赵丹, 王立改, 楼宝, 等. 不同饲料蛋白源对黄姑鱼幼鱼生长性能、饲料利用、体组成成分和肌肉氨基酸含量的影响[J]. *浙江海洋大学学报(自然科学版)*, 2020, 39(6): 509-516.
- Zhao D, Wang L G, Lou B, *et al.* Effects of different protein sources on growth performance, feed utilization, body composition and muscle amino acids contents of

- Nibea albiflora*[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2020, 39(6): 509-516 (in Chinese).
- [31] 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*, 2016, 47(1): 290-303.
- [32] Pedrosa R U, Mattos B O, Pereira D S P, *et al.* Effects of feeding strategies on growth, biochemical parameters and waste excretion of juvenile arapaima (*Arapaima gigas*) raised in recirculating aquaculture systems (RAS)[J]. *Aquaculture*, 2019, 500: 562-568.
- [33] Peng K, Chen X Y, Wei D, *et al.* Inclusion of *Chlorella* water extract in *Oreochromis niloticus* fingerling diets: Effects on growth performance, body composition, digestive enzyme activity, antioxidant and immune capacity, intestine and hepatic histomorphology and sodium nitrite stress resistance[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 18: 100547.
- [34] Sankian Z, Khosravi S, Kim Y O, *et al.* Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2018, 496: 79-87.
- [35] 陆阳, 杨雨虹, 王裕玉, 等. 不同比例膨化豆粕替代鱼粉对虹鳟生长、体成分及血液学指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(1): 221-227.
- Lu Y, Yang Y H, Wang Y Y, *et al.* Effects of different replacement Ratio of fish meal by extruded soybean meal on growth, body composition and hematology indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(1): 221-227 (in Chinese).
- [36] Kunutsor S K, Bakker S J L, Kootstra-Ros J E, *et al.* Serum alkaline phosphatase and risk of incident cardiovascular disease: Interrelationship with high sensitivity C-reactive protein[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132822.
- [37] Ndrepepa G, Xhepa E, Braun S, *et al.* Alkaline phosphatase and prognosis in patients with coronary artery disease[J]. *European Journal of Clinical Investigation*, 2017, 47(5): 378-387.
- [38] 喻丽娟, 文华, 周书华, 等. 维生素A对吉富罗非鱼生长、血清生化指标和肌肉品质的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2019, 47(2): 16-24.
- Yu L J, Wen H, Zhou S H, *et al.* Effect of dietary vitamin A on growth performance, serum biochemical indices and meat quality of GIFT, *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2019, 47(2): 16-24 (in Chinese).
- [39] 吴莉芳, 秦贵信, 刘春力, 等. 饲料大豆蛋白对鲤鱼消化酶活力和血液主要生化指标的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2009, 37(8): 63-69.
- Wu L F, Qin G X, Liu C L, *et al.* Effects of dietary soybean protein on the activity of digestive enzyme and blood biochemical parameters of carp[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2009, 37(8): 63-69 (in Chinese).

## Comparative study on the utilization efficiency of grass carp to five non-grain protein sources at different feeding frequencies

XIA Shisen<sup>1,2</sup>, DONG Lixue<sup>1</sup>, LU Xing<sup>1</sup>, TIAN Juan<sup>1</sup>, YU Lijuan<sup>1</sup>,  
WEN Hua<sup>1</sup>, XIE Shouqi<sup>3</sup>, JIANG Ming<sup>1\*</sup>

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan, 430223, China;

2. School of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430223, China;

3. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430223, China)

**Abstract:** Soybean meal, as a high-quality plant protein source, is widely used in grass carp feed. This study was to estimate the utilization efficiency of grass carp to five non-grain protein sources at different feeding frequencies. A two-factor orthogonal experiment (3×5) was conducted to evaluate the utilization efficiency of soybean meal, *Clostridium autoethanogenum* protein, *Tenebrio molito*, chlorella meal and cottonseed protein concentrate for grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) at three feeding frequencies (2, 3 and 4 times/d). Five diets were prepared with five raw materials as a single protein source. Grass carp with an initial body weight of 80 g were fed with the five test diets at three feeding frequencies for 8 weeks in a pond cage (2.0 m×1.5 m×1.0 m), respectively. At the end of culture trial, the growth performance, whole fish body and muscle nutrient composition, and serum biochemical indexes of grass carp were investigated. The results showed that grass carp in *Tenebrio molito* group (2 times/day) had the lowest growth performance, and the fish in soybean meal (4 times/day) and *Clostridium autoethanogenum* protein (3 times/day and 4 times/day) groups showed the highest growth performance among all the 15 treatments. Meanwhile, there was significant interaction between protein source and feeding frequency on final weight, feed conversion ratio, protein efficiency ratio and weight gain rate of grass carp ( $P < 0.05$ ). The protein efficiency of different protein sources (except chlorella meal) for grass carp increased with the increase of feeding frequency. Regardless of feeding frequency, the weight gain rate and protein efficiency rate in chlorella meal and cottonseed concentrate protein groups were significantly lower than those in soybean meal, *Clostridium autoethanogenum* protein and chlorella meal groups ( $P < 0.05$ ). The feed conversion ratio showed an opposite trend ( $P < 0.05$ ). The feeding frequencies and protein sources had no significant effects on body indexes (hepatosomatic index, viscerosomatic index and condition factor) and basic nutrients of whole fish and muscle of grass carp ( $P > 0.05$ ). Feeding frequency had significant effects on alkaline phosphatase and glucose in serum of grass carp ( $P < 0.05$ ). The alkaline phosphatase activity of groups with 2 times/d was significantly higher than that of groups with 3 times/d and 4 times/d ( $P < 0.05$ ). The glucose content of fish fed 4 times/d was significantly higher than that of fed 2 times/d and 3 times/d ( $P < 0.05$ ). The activities of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in serum of grass carps in *Tenebrio molito* group were significantly higher than those in soybean meal group and chlorella meal group ( $P < 0.05$ ). Under the present experimental conditions, the optimal feeding frequency of grass carp was 3 times/d or 4 times/d. The order of utilization ability of five protein sources for grass carp was *Clostridium autoethanogenum* protein = soybean meal = chlorella meal > cottonseed protein concentrate > *Tenebrio molitor* based on the growth performance.

**Key words:** *Ctenopharyngodon idella*; feeding frequency; protein sources; growth performance

**Corresponding author:** JIANG Ming. E-mail: jiangming@yfi.ac.cn

**Funding projects:** National Key R & D Program of China (2019YFD0900200)