

大口黑鲈幼鱼饲料中白鱼粉与两种豆粕的适宜配比

陈乃松*, 马秀丽, 赵 明, 季振尧, 佟春萌

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:用 8 种等氮、等能和等脂的饲料,以实验鱼的生长、体组成、饲料效率、非特异性免疫和血液学参数作指标,评定大口黑鲈幼鱼饲料中去皮豆粕和酶解豆粕分别替代白鱼粉的可行性和适宜配比。在 4 水平的去皮豆粕饲料(D1~D4)和酶解豆粕饲料(E1~E4)中,白鱼粉和两种豆粕的配比均分别为 45:5、40:12、35:18 和 30:25。用上述 8 种饲料饲喂初始体质量(5.32±0.05)g 的大口黑鲈,每饲料设 3 个重复,每重复 35 尾鱼。采用表观饱食投喂,每天饲喂 2 次(8:00 和 16:00)。结果显示,各组之间实验鱼的成活率和特定生长率无显著性差异。但当去皮豆粕和酶解豆粕在饲料中的含量分别高于 5% 和 12% 时,饲料效率和蛋白质效率显著降低。随着饲料中白鱼粉含量从 45% 降低至 30%,饲料的蛋白质和脂肪消化率显著升高;同时,全鱼、肌肉和内脏的蛋白质和水分含量均呈显著降低,但脂肪含量却显著升高;肝体比和肝糖含量显著降低;实验鱼的血清溶菌酶活性和血清蛋白质含量显著降低,但血清补体活性无显著差异;红细胞压积和血红蛋白含量均显著降低,但红细胞数差异不显著。实验表明,大口黑鲈幼鱼饲料中白鱼粉与去皮豆粕的合适配比为 45% 和 5%,而白鱼粉与酶解豆粕的合适配比为 40% 和 12%;豆粕经酶处理后能去除其中的部分抗营养因子,可替代饲料中 11% 的白鱼粉。

关键词:大口黑鲈幼鱼;饲料;白鱼粉;去皮豆粕;酶解豆粕;适宜配比

中图分类号:S 963

文献标志码:A

鱼粉具有必需氨基酸和脂肪酸含量高、富含维生素和矿物质、适口性好等特点,通常是水产动物特别是肉食性鱼类饲料的主要原料^[1]。然而随着全球鱼类资源的匮乏和鱼粉需求量的增大,鱼粉价格持续上涨,水产养殖的可持续发展将受到挑战^[2]。利用其他蛋白源部分或全部替代饲料中鱼粉已成为国内外学者研究的热点问题。

豆粕具有蛋白质含量较高、氨基酸比例相对较平衡、来源广泛、价格低等特点,可成为替代鱼粉的主要选择之一。但豆粕中蛋氨酸的含量较低,同时含有大量的抗营养因子,且碳水化合物含量较高,在肉食性鱼类饲料中的使用比例往往受到限制。但对豆粕作适当深加工和添加氨基酸可提高其饲用效果。Deng 等^[3]对牙鲆幼鱼的研究

表明,大豆浓缩蛋白不能有效替代饲料中的鱼粉,但添加氨基酸后会显著提高实验鱼的摄食量和生长速度。Carter 等^[4]的研究显示,在不影响生长的情况下豆粕可以替代大西洋鲑饲料中 33% 的鱼粉蛋白质。Kaushik 等^[5]对虹鳟的研究得出,补充蛋氨酸的大豆浓缩蛋白可以替代饲料中 100% 的鱼粉而不会影响其生长和氮的利用。Tibaldi 等^[6]对不同处理的豆粕替代欧洲鲈饲料中鱼粉的研究发现,去皮豆粕可以替代饲料中 25% 的鱼粉,而经酶处理的豆粕可以替代 50% 的鱼粉。另外,对大西洋鲑的研究发现,普通豆粕的饲料效率、增重率和其消化率显著低于去除了部分抗营养因子的豆粕所产生的效果^[7]。由此可见,豆粕或大豆蛋白质的种类、饲料的配方和饲用

收稿日期:2013-03-27 修回日期:2013-04-16

资助项目:上海市科委项目(10320503100);上海高校知识服务平台(ZF1206)

通信作者:陈乃松,Email:nschen@shou.edu.cn

对象均可对豆粕或大豆蛋白质替代鱼粉的效果产生显著的差异。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*), 又名加州鲈鱼, 是一种典型的肉食性鱼类。Tidwell 等^[8]对植物和动物蛋白源替代大口黑鲈饲料中鱼粉的研究得出, 普通豆粕替代大口黑鲈幼鱼饲料中鱼粉的比例受到限制, 而禽肉粉可以完全替代鱼粉。王新霞^[9]对发酵豆粕替代鱼粉的研究表明, 加州鲈饲料中至少可以使用 10% 的发酵豆粕。骆军宁^[10]根据直线回归方程得出, 饲料中脱脂豆粕替代鱼粉蛋白质的含量为 11.58% 时, 大口黑鲈的增重率最高。本实验选取优质白鱼粉作饲料的主要蛋白源与去皮豆粕和酶解豆粕各形成 4 种水平的配比, 并以包膜晶体氨基酸调整各种氨基酸的平衡, 配制成 8 种等氮、等能和等脂的实验饲料, 通过生长实验评估不同配比的饲料对大口黑鲈幼鱼生长、体组成、饲料效率、非特异性免疫和血液学指标的影响, 以确定白鱼粉与去皮豆粕以及白鱼粉与酶解豆粕的适宜配比, 同时对去皮豆粕和酶解豆粕的饲用效果进行比较, 为选取不同种类的豆粕替代优质鱼粉的可行性提供依据, 从而为经济和高效率的大口黑鲈幼鱼的人工配合饲料的配制提供参考。

1 材料与方法

1.1 原料和饲料的配制

所使用鱼粉为优质进口白鱼粉(产于美国阿拉斯加), 其粗蛋白质含量为 65.07%, 粗脂肪含量为 8.22%, 粗灰分含量为 19.44%, 挥发性盐基氮的含量为 12.08 mg/100 g。

所使用的去皮豆粕(DSM)原料来自同一批次。酶解豆粕(EDSM)的加工参照陈乃松等^[11]的方法进行。植酸酶、纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶和 α -半乳糖苷酶(由湖南尤特尔公司提供)在去皮豆粕中的添加量分别为 10.5、52、16.5、80 和 0.8 U/g。将酶混合后溶解在 pH 为 5 的 0.2 mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液中, 添加到去皮豆粕中使其含水量为 50%, 混合均匀, 在水浴锅中 50 °C 恒温搅拌 45 min, 使其充分反应, 高温灭活中止酶解反应后于 50 °C 下烘干备用。作为对照的去皮豆粕也按此方法进行处理, 但不添加上述酶制剂。经检测, 与去皮豆粕相比, 酶解豆粕中植酸、粗纤维和果胶的降解率分别达 25.00%、36.93% 和 42.80%, 还原糖的释放量增加率达 93.7%。经上述处理后的去皮豆粕和酶解豆粕的概略成分分析值如表 1。

表 1 去皮豆粕和酶解豆粕概略成分分析

Tab. 1 Proximate analysis of dehulled soybean meal and enzyme-treated dehulled soybean meal

原料 ingredients	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	粗灰分/% ash	粗纤维/% crude fiber	水分/% moisture	无氮浸出物/% nitrogen free extract	总能/(kJ/g) gross energy
去皮豆粕 dehulled soybean meal(DSM)	49.11	1.10	6.24	5.74	7.49	30.42	17.41
酶解豆粕 enzyme-treated dehulled soybean meal(EDSM)	48.55	0.88	6.19	3.62	8.52	32.14	17.61

8 种等氮、等能和等脂的实验饲料配方及概略组成如表 2。以含 5% 去皮豆粕的 D1 饲料为对照, E1 饲料用酶解豆粕等氮替换 D1 中 5% 的去皮豆粕, D2 ~ D4 和 E2 ~ E4 饲料分别用去皮豆粕和酶解豆粕等氮替代饲料中依次梯度减少的 5% 白鱼粉。海水鱼油被用于调整因白鱼粉的减少而引起的鱼油含量的变化; 大豆油被用于调节饲料中粗脂肪的含量。添加由玉米醇溶蛋白包膜的晶体氨基酸, 以调节各饲料间白鱼粉、去皮豆粕或酶解豆粕含量的变化而引起的饲料氨基酸组成的变化, 使各饲料中各种氨基酸的含量保持一致。调

节淀粉的含量使得各饲料的无氮浸出物保持在同一水平。以 0.5% 的 Cr_2O_3 作为指示剂以测定相关营养成分的表观消化率。

晶体氨基酸包膜: 取待包膜氨基酸质量 5% 的玉米醇溶蛋白, 将其溶于 100 倍的 95% 的酒精中, 再加入待包膜氨基酸, 混合均匀后, 将混合物于 60 °C 烘干后粉碎备用。

实验饲料的制作: 将饲料原料粉碎后过 60 目筛, 各组分混合均匀后, 加 35% 的水分, 再次混合均匀。用电动绞肉机制成直径 2 ~ 4 mm 的长条, 冷冻后切成 5 ~ 8 mm 的颗粒, 于 -20 °C 下保存待用。

1.2 养殖实验的设计和饲养管理

实验所用大口黑鲈购于上海郊区的苗种场。于上海农好饲料有限公司的室内养殖系统内驯化,驯化期间饲喂上海农好饲料有限公司生产的大口黑鲈破碎饲料(饲料的粗蛋白质含量 $\geq 45\%$)。驯化2周后,经饥饿24 h,挑选体格健壮、体质量相近的鱼进行称重分组。实验鱼按8个饲料处理,每处理设3重复,随机分配到24个800 L

的水槽中,每个水槽放养初始体质量为 (5.32 ± 0.05) g 的实验鱼35尾。采用表观饱食投喂,每天投喂2次(8:00和16:00)。养殖系统循环水经海绵和珊瑚砂过滤,并进行紫外灯灭菌处理。实验期间采取自然光照,水温控制在 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$, pH为 (7.2 ± 0.2) ,氨氮为 (0.15 ± 0.05) mg/L,不间断充气。养殖实验共持续63 d。

表2 实验饲料的配方及概略组分分析(%干饲料)
Tab.2 Formulation and proximate analysis of trial diets(% dry diet)

饲料 diets	D1	D2	D3	D4	E1	E2	E3	E4
固定成分 ^a constant ingredient	22.60	22.60	22.60	22.60	22.60	22.60	22.60	22.60
白鱼粉 white fish meal(WFM)	45.00	40.00	35.00	30.00	45.00	40.00	35.00	30.00
去皮豆粕 dehulled soybean meal	5.00	11.62	18.25	24.87	0.00	0.00	0.00	0.00
酶解豆粕 enzyme-treated dehulled soybean meal	0.00	0.00	0.00	0.00	5.05	11.76	18.46	25.16
海水鱼油 marine fish oil	3.00	3.41	3.82	4.23	3.00	3.41	3.82	4.23
大豆油 soybean oil	4.50	4.42	4.35	4.27	4.50	4.45	4.39	4.33
α -淀粉 α -starch	15.00	13.85	13.00	11.82	14.10	12.44	11.35	10.12
沸石粉 zeolite powder	4.07	3.27	2.15	1.38	4.92	4.51	3.55	2.73
包膜氨基酸混合物 ^b coated AA mixtures	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83	0.83
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
组分分析 proximate analysis								
粗蛋白质/% crude protein	44.21	44.17	44.35	44.28	44.26	44.17	44.41	44.80
粗脂肪/% crude lipid	13.24	13.40	13.36	13.74	13.02	13.54	13.69	13.79
粗灰分/% ash	14.84	14.63	13.54	12.47	14.90	14.54	13.61	12.55
总能/(MJ/kg) gross energy	19.27	19.30	19.64	19.80	19.14	19.24	19.43	19.59

注:a 固定成分(%干饲料).玉米蛋白粉,3.50;谷朊粉,3.00;鱿鱼内脏粉,3.00;喷干血球粉,5.00;酵母粉,2.00;多维*,0.10;多矿**,1.00;酵母提取物,1.00;磷酸二氢钙,1.00;三氧化二铬,0.50;磷脂油,2.50.b 包膜氨基酸混合物.调节因为白鱼粉和去皮豆粕或者酶解豆粕含量的变化引起的氨基酸含量的变化,使饲料中的各种氨基酸的含量均相等。

* 多维(IU或mg/kg干饲料).维生素A,16 000 IU;维生素D₃,8 000 IU;维生素K₃,14.72;维生素B₁,17.8;维生素B₂,48;维生素B₆,29.52;维生素B₁₂,0.24;维生素E,160;维生素C(35%),800;烟酰胺,79.2;泛酸钙,73.6;叶酸,6.4;生物素,0.64;肌醇,320;氯化胆碱,1500;L-肉碱,100。

** 多矿(mg/kg干饲料).铜(CuSO₄),2.0;锌(ZnSO₄),34.4;锰(MnSO₄),6.2;铁(FeSO₄),21.1;碘(Ca(IO₃)₂),1.63;硒(Na₂SeO₃),0.18;钴(CoCl₂),0.24;镁(MgSO₄·H₂O),52.7。

Notes:a constant ingredient(% dry diet).corn gluten meal,3.50;wheat gluten meal,3.00;squid viscera meal,3.00;spray-dried blood meal,5.00;brewer's yeast meal,2.00;vitamin premix*,0.10;mineral premix**,1.00;brewer's yeast extract,1.00;calcium biphosphate,1.00;chromic oxide,0.50;phospholipid oil,2.50.b coated AA mixtures.they were used to regulate the amino acid profile differences caused by WFM and DSM/EDSM inclusion levels among the diets.

* Vitamin premix(IU or mg/kg dry diet).vitamin A,16 000 IU;vitamin D₃,8 000 IU;vitamin K₃,14.72;thiamin,17.8;riboflavine,48;pyridoxine,29.52;cyanocobalamin,0.24;tocopherol acetate,160;ascorbic acid(35%),800;niacinamide,79.2;calcium-D-pantothenate,73.6;follic acid,6.4;biotin,0.64;inositol,320;choline chloride,1500;L-carnitine,100.

** Mineral premix(mg/kg dry diet).Cu(CuSO₄),2.0;Zn(ZnSO₄),34.4;Mn(MnSO₄),6.2;Fe(FeSO₄),21.1;I(Ca(IO₃)₂),1.63;Se(Na₂SeO₃),0.18;Co(CoCl₂),0.24;Mg(MgSO₄·H₂O),52.7.

1.3 样品收集及分析

样品采集 养殖实验开始时抽取60尾鱼于-80℃保存,用于初始样本的体组成分析。养殖实验开始2周后参考Lee^[12]的方法进行粪便收集。经饲喂后的30 min过渡,清除残饵,开始采集粪便,持续4 h的粪便收集,将包膜完整的粪便

保存于-20℃。整个粪便收集工作结束后,将其冷冻干燥保存,用于消化率的测定。养殖实验结束后,实验鱼经饥饿24 h,称取各水槽中鱼的总体质量。从每个水槽随机取出15尾鱼,其中5尾存放于-80℃,用于全鱼体组成的分析;7尾被用于测定体长与体质量,并从尾静脉采血1.5 mL,血

样品于 4 ℃ 静置 4 h 后,经离心(836 × g) 10 min 取得血清,用于免疫指标的测定;将采血后的鱼进行解剖,取其内脏团,用于内脏组成的分析;将取出的内脏团再分离其肝脏并称重,分别用于计算脏体比和肝体比;另取侧线上方的背部肌肉保存于 -80 ℃,用于肌肉组成的分析。其余 3 尾鱼解剖取肝脏保存于 -80 ℃,用于肝糖原含量的测定;剩余活鱼进行活体采血用作血液学指标测定。

饲料、粪便及鱼体组成的分析 饲料、全鱼、肌肉、内脏和粪便的常规分析方法如下:水分采用 105 ℃ 恒温烘干失重法测定;粗灰分采用马弗炉(上海实验仪器公司)于 550 ℃ 灼烧法测定;粗蛋白质采用凯氏定氮仪(Kjeltec 2200, FOSS, 丹麦)测定;饲料粗脂肪采用索氏脂肪测定仪(SOX416, Gerhardt, 德国)测定;全鱼、肌肉和粪便的粗脂肪采用氯仿-甲醇法测定^[13];饲料粗纤维采用纤维测定仪(FT12, Gerhardt, 德国)测定;总能量采用氧弹仪(6200, Parr, 美国)测定;饲料和粪便中的 Cr₂O₃ 采用 Divakaran 等^[14]的方法测定。肝糖原采用蒽酮法进行测定^[15]。

免疫指标分析 采用比浊法测定血清溶菌酶活力^[16]。用 0.05 mol/L、pH 为 6.2 的磷酸盐缓冲液将溶壁微球菌(*Micrococcus lysolei*)冻干粉(南京建成)配成 0.3 mg/mL 的悬液。取 200 μL 于酶标板各孔中,加入待测血清 10 μL (1:2 稀释),用酶标仪(FLUOstar, BMG, 德国)测定 0.5 min 及 4.5 min 时 450 nm 处的吸光度。将每分钟吸光度降低 0.001 定义为一个酶活力单位。采用考马斯亮蓝比色法测定血清蛋白质含量^[17]。采用经典途径的分析方法测定血清补体活性^[18]。

血液学指标分析 从每水槽中随机取 5 尾鱼,每尾鱼采集尾静脉血 1.5 mL,置于含有肝素钠的抗凝管中,混匀后于 4 ℃ 保存。用氰化高铁分光光度法测定血红蛋白含量^[17]。以 Natt and Herrick 计数液^[19]将血液稀释 200 倍后,用血球计数板计数红细胞。红细胞比容采用 Wintrobe 法(2264 × g 离心)测定^[20]。

1.4 计算公式

摄食量 = 饲料摄入量 / [(初始尾数 + 终末尾数) / 2] (1)

特定生长率 (%/d) = (Ln 终末体质量 - Ln 初始体质量) / 实验天数 × 100 (2)

饲料效率 = (终末体质量 - 初始体质量) / 摄入的干饲料总量 × 100 (3)

蛋白质效率 = (终末体质量 - 初始体质量) / 摄入的蛋白质总量 × 100 (4)

蛋白质消化率 (%) = [1 - (粪便中蛋白质含量 / 饲料中蛋白质含量) × (饲料中 Cr₂O₃ 含量 / 粪便中 Cr₂O₃ 含量)] × 100 (5)

脂肪消化率 (%) = [1 - (粪便中脂肪含量 / 饲料中脂肪含量) × (饲料中 Cr₂O₃ 含量 / 粪便中 Cr₂O₃ 含量)] × 100 (6)

蛋白质沉积率 (%) = 体蛋白质沉积量 / 摄入的蛋白质总量 × 100 (7)

脂肪沉积率 (%) = 体脂肪沉积量 / 摄入脂肪量 × 100 (8)

肝体比 (%) = 肝脏重 / 鱼体质量 × 100 (9)

脏体比 (%) = 内脏重 / 鱼体质量 × 100 (10)

1.5 数据处理和统计分析

有关数据以平均值 ± 标准误表示。采用 SPSS 17.0 对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),用 Duncan 氏法进行多重差异显著性比较,显著水平 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对生长和营养素利用的影响

饲料中白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对大口黑鲈的生长和饲料中营养物质利用的影响见表 3 和表 4。白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对各组实验鱼的成活率和特定生长率均无显著性差异($P > 0.05$);但当饲料中去皮豆粕和酶解豆粕的含量分别高于 5% 和 12% 时,摄食量显著升高,而饲料效率和蛋白质效率呈显著降低的趋势($P < 0.05$);饲料蛋白质和脂肪的消化率则随着白鱼粉含量的降低和 2 种豆粕含量的升高而显著升高($P < 0.05$);蛋白质沉积率并未因白鱼粉和 2 种豆粕含量的变化表现出显著性差异($P > 0.05$),但随着白鱼粉含量的减少而呈降低的趋势;随着饲料中白鱼粉含量从 45% 降低至 30%,D1 ~ D4 组的脂肪沉积率从 63.37% 升高到 70.55% ($P < 0.05$),E1 ~ E4 组的脂肪沉积率虽无显著性差异($P > 0.05$),但也有升高的趋势。

表 3 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的对比对生长的影响(平均值 ± 标准误)
 Tab. 3 Effects of the inclusion levels of WFM and DSM/EDSM on growth performance (mean ± SE)

饲料(白鱼粉:去皮豆粕/ 酶解豆粕) diets(WFM:DSM/EDSM)	指标 index			
	初体质量/g initial body weight	终体质量/g final body weight	成活率/% survival rate	特定生长率/(%/d) specific growth rate
D1(45:5)	5.35 ± 0.02	32.78 ± 0.78 ^c	97.14 ± 1.64	3.07 ± 0.05
D2(40:12)	5.19 ± 0.07	35.74 ± 1.74 ^{bc}	98.17 ± 0.92	3.17 ± 0.09
D3(35:18)	5.37 ± 0.06	37.57 ± 1.56 ^{ab}	99.05 ± 0.95	3.10 ± 0.05
D4(30:25)	5.28 ± 0.07	39.32 ± 1.18 ^{ab}	97.24 ± 1.56	3.15 ± 0.07
E1(45:5)	5.24 ± 0.05	35.98 ± 1.54 ^{bc}	98.09 ± 0.95	3.11 ± 0.02
E2(40:12)	5.28 ± 0.02	39.02 ± 1.02 ^{ab}	98.10 ± 1.90	3.18 ± 0.08
E3(35:18)	5.39 ± 0.08	39.13 ± 1.05 ^{ab}	99.05 ± 0.95	3.14 ± 0.07
E4(30:25)	5.46 ± 0.08	41.11 ± 1.19 ^a	99.05 ± 0.95	3.19 ± 0.05

注:同列数值带有不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

Notes: Vertical column values with different superscripts indicate significant difference ($P < 0.05$). The same notes as this one are given in the following tables.

表 4 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的对比对营养素利用的影响(平均值 ± 标准误)
 Tab. 4 Effects of the inclusion levels of WFM and DSM/EDSM on nutrient utilization (mean ± SE)

饲料(白鱼粉: 去皮豆粕/ 酶解豆粕) diets(WFM: DSM/EDSM)	指标 index						
	摄食量/ (g/尾鱼) feed intake	饲料 效率/% feed efficiency	蛋白质 效率/% protein efficiency	蛋白质 消化率/% protein digestibility	蛋白质 沉积率/% protein deposition rate	脂肪 消化率/% lipid digestibility	脂肪 沉积率/% lipid deposition rate
D1(45:5)	26.00 ± 0.75 ^c	1.27 ± 0.01 ^a	2.87 ± 0.03 ^a	91.42 ± 0.06 ^c	44.57 ± 1.02	82.23 ± 0.44 ^d	63.37 ± 1.55 ^c
D2(40:12)	29.31 ± 0.86 ^b	1.14 ± 0.04 ^b	2.57 ± 0.09 ^b	91.56 ± 0.09 ^c	43.77 ± 1.03	88.45 ± 0.20 ^c	68.46 ± 0.84 ^b
D3(35:18)	29.38 ± 0.45 ^b	1.12 ± 0.03 ^b	2.54 ± 0.06 ^b	92.85 ± 0.26 ^{ab}	42.93 ± 1.39	89.41 ± 0.85 ^{bc}	70.00 ± 1.23 ^b
D4(30:25)	30.42 ± 0.44 ^{ab}	1.10 ± 0.02 ^b	2.48 ± 0.05 ^b	93.08 ± 0.17 ^a	42.05 ± 0.35	91.71 ± 0.12 ^a	70.55 ± 0.89 ^{ab}
E1(45:5)	26.39 ± 0.45 ^c	1.26 ± 0.02 ^a	2.87 ± 0.05 ^a	91.47 ± 0.03 ^c	44.31 ± 0.53	88.85 ± 0.39 ^c	71.84 ± 1.22 ^{ab}
E2(40:12)	28.17 ± 0.95 ^{bc}	1.24 ± 0.05 ^a	2.80 ± 0.11 ^a	92.33 ± 0.01 ^b	43.51 ± 1.11	90.68 ± 0.55 ^{ab}	72.20 ± 0.97 ^{ab}
E3(35:18)	30.51 ± 0.65 ^{ab}	1.10 ± 0.03 ^b	2.49 ± 0.05 ^b	92.97 ± 0.32 ^a	43.25 ± 0.93	90.94 ± 0.10 ^a	72.46 ± 1.84 ^{ab}
E4(30:25)	32.19 ± 0.11 ^a	1.10 ± 0.05 ^b	2.45 ± 0.06 ^b	93.21 ± 0.10 ^a	42.93 ± 0.53	91.79 ± 0.11 ^a	74.45 ± 0.84 ^a

2.2 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的对比对鱼体组成的影响

饲料中白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比显著影响大口黑鲈全鱼、肌肉和内脏的蛋白质和脂肪的含量(表 5)。随着饲料中白鱼粉含量从 45% 降低至 30%, 全鱼和肌肉的蛋白质含量均显著降低, 其中 D1 和 E1 的全鱼蛋白质含量无显著差异 ($P > 0.05$), 但均显著高于其他各组 ($P < 0.05$); D1 ~ D4 组和 E1 ~ E4 组的内脏蛋白质含量均差异不显著 ($P > 0.05$), 但有降低的趋势; 含等量白鱼粉的去皮豆粕组同酶解豆粕组相比, 全鱼、肌肉和内脏的蛋白质含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。全鱼、肌肉和内脏的脂肪含量均随着饲料中白鱼粉含量的降低和去皮豆粕或酶解豆粕含量的升高而显著升高, 而水分含量则呈现出相反的趋势 ($P <$

0.05)。在 D1 ~ D4 组中, 肌肉的灰分含量随着白鱼粉含量的降低而升高 ($P < 0.05$); 然而在 E1 ~ E4 组中, 肌肉的灰分含量虽有升高的趋势, 但差异不显著 ($P > 0.05$); 各处理组的全鱼和内脏的灰分含量未受显著影响 ($P > 0.05$)。

表 6 显示, 随着白鱼粉含量的降低, 实验鱼的肝体比和肝糖原含量均显著降低 ($P < 0.05$); 而 D1 ~ D4 组和 E1 ~ E4 组的脏体比均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.3 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的对比对非特异性免疫的影响

如表 7 所示, 随着饲料中白鱼粉的含量从 45% 降低至 30%, 血清溶菌酶活性和血清蛋白质含量均显著降低 ($P < 0.05$); 然而血清补体活性并无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 5 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对鱼体组成的影响(平均值 ± 标准误)
 Tab. 5 Effects of the inclusion levels of WFM and DSM/EDSM on fish body composition (mean ± SE)

饲料(白鱼粉:去皮豆粕/酶解豆粕) diets(WFM:DSM/EDSM)	指标 index			
	粗蛋白质/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	水分/% moisture	粗灰分/% ash
全鱼 whole fish body				
D1(45:5)	18.58 ± 0.19 ^a	7.40 ± 0.11 ^c	72.18 ± 0.21 ^a	3.29 ± 0.05
D2(40:12)	17.63 ± 0.23 ^b	7.99 ± 0.18 ^b	71.51 ± 0.28 ^{ab}	3.35 ± 0.11
D3(35:18)	17.57 ± 0.20 ^b	8.16 ± 0.28 ^{ab}	71.03 ± 0.66 ^{abc}	3.43 ± 0.19
D4(30:25)	17.42 ± 0.19 ^b	8.58 ± 0.12 ^a	70.29 ± 0.24 ^c	3.37 ± 0.09
E1(45:5)	18.59 ± 0.18 ^a	7.70 ± 0.08 ^{bc}	71.90 ± 0.25 ^{ab}	3.37 ± 0.10
E2(40:12)	17.08 ± 0.25 ^b	7.88 ± 0.13 ^{bc}	71.96 ± 0.33 ^{ab}	3.44 ± 0.14
E3(35:18)	16.74 ± 0.21 ^b	8.14 ± 0.18 ^{ab}	71.80 ± 0.20 ^{ab}	3.40 ± 0.16
E4(30:25)	16.93 ± 0.23 ^b	8.69 ± 0.23 ^a	70.84 ± 0.38 ^{bc}	3.42 ± 0.18
肌肉 muscle				
D1(45:5)	20.01 ± 0.28 ^{ab}	1.99 ± 0.04 ^b	78.56 ± 0.26 ^a	1.10 ± 0.02 ^b
D2(40:12)	19.79 ± 0.14 ^{ab}	2.01 ± 0.09 ^b	78.14 ± 0.19 ^{abc}	1.15 ± 0.03 ^{ab}
D3(35:18)	19.56 ± 0.21 ^b	2.34 ± 0.12 ^a	77.75 ± 0.24 ^{bc}	1.20 ± 0.02 ^a
D4(30:25)	19.52 ± 0.21 ^b	2.34 ± 0.05 ^a	77.57 ± 0.22 ^c	1.20 ± 0.01 ^a
E1(45:5)	20.32 ± 0.09 ^a	1.91 ± 0.04 ^b	78.29 ± 0.19 ^{ab}	1.14 ± 0.01 ^{ab}
E2(40:12)	19.78 ± 0.11 ^{ab}	2.06 ± 0.05 ^b	78.10 ± 0.17 ^{abc}	1.17 ± 0.01 ^a
E3(35:18)	19.79 ± 0.14 ^{ab}	2.46 ± 0.06 ^a	77.66 ± 0.17 ^{bc}	1.21 ± 0.01 ^a
E4(30:25)	19.49 ± 0.28 ^b	2.28 ± 0.06 ^a	77.66 ± 0.15 ^{bc}	1.21 ± 0.01 ^a
内脏 viscera				
D1(45:5)	9.57 ± 0.21 ^{ab}	26.12 ± 0.48 ^c	57.42 ± 0.73 ^a	0.76 ± 0.05
D2(40:12)	9.27 ± 0.35 ^{ab}	30.77 ± 0.88 ^b	52.63 ± 0.48 ^{bc}	0.79 ± 0.02
D3(35:18)	8.61 ± 0.31 ^{ab}	30.97 ± 0.40 ^b	51.98 ± 0.67 ^{cd}	0.74 ± 0.01
D4(30:25)	8.40 ± 0.37 ^b	32.36 ± 0.35 ^{ab}	51.25 ± 0.82 ^{cd}	0.77 ± 0.05
E1(45:5)	9.67 ± 0.31 ^a	30.65 ± 0.43 ^b	54.43 ± 0.85 ^b	0.73 ± 0.03
E2(40:12)	9.12 ± 0.25 ^{ab}	31.26 ± 0.61 ^b	51.34 ± 0.87 ^{cd}	0.77 ± 0.02
E3(35:18)	9.18 ± 0.28 ^{ab}	31.53 ± 0.38 ^b	50.50 ± 0.41 ^{cd}	0.76 ± 0.03
E4(30:25)	8.80 ± 0.25 ^{ab}	33.54 ± 0.70 ^a	49.86 ± 0.62 ^d	0.78 ± 0.02

表 6 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对肝体比、脏体比和肝糖原含量的影响(平均值 ± 标准误)

Tab. 6 Effects of the inclusion levels of WFM and DSM/EDSM on HSI, VSI and liver glycogen content (mean ± SE)

饲料(白鱼粉:去皮豆粕/酶解豆粕) diets(WFM:DSM/EDSM)	指标 index		
	肝体比 hepatosomatic index	脏体比 viscerosomatic index	肝糖原/% liver glycogen
D1(45:5)	4.39 ± 0.29 ^{ab}	8.91 ± 0.28 ^c	7.99 ± 0.16 ^a
D2(40:12)	4.05 ± 0.15 ^{bc}	9.30 ± 0.24 ^{bc}	7.57 ± 0.08 ^{bc}
D3(35:18)	3.94 ± 0.24 ^{bc}	9.41 ± 0.34 ^{bc}	7.47 ± 0.04 ^{bcd}
D4(30:25)	3.61 ± 0.21 ^c	9.02 ± 0.29 ^{bc}	7.34 ± 0.06 ^d
E1(45:5)	4.84 ± 0.25 ^a	10.39 ± 0.34 ^a	8.10 ± 0.05 ^a
E2(40:12)	4.26 ± 0.13 ^{abc}	9.88 ± 0.22 ^{ab}	7.68 ± 0.06 ^b
E3(35:18)	4.13 ± 0.22 ^{bc}	9.62 ± 0.30 ^{abc}	7.64 ± 0.05 ^{bc}
E4(30:25)	3.83 ± 0.21 ^{bc}	9.73 ± 0.24 ^{abc}	7.45 ± 0.05 ^{cd}

表 7 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对非特异性免疫的影响(平均值 ± 标准误)
Tab. 7 Effects of the inclusion levels of WFM and DSM/EDSM on non-specific immunity (mean ± SE)

饲料(白鱼粉:去皮豆粕/酶解豆粕) diets(WFM:DSM/EDSM)	指标 index		
	溶菌酶活性/(U/mL) lysozyme activity	血清蛋白质含/(mg/mL) serum protein content	补体活性/(U/mL) CH ₅₀ activity
D1(45:5)	4.61 ± 0.58 ^a	40.75 ± 0.39 ^{ab}	277.91 ± 21.62
D2(40:12)	3.24 ± 0.21 ^b	40.80 ± 0.82 ^{ab}	265.85 ± 13.49
D3(35:18)	3.26 ± 0.30 ^b	40.25 ± 0.51 ^b	267.41 ± 22.02
D4(30:25)	2.27 ± 0.12 ^c	39.25 ± 0.69 ^b	275.54 ± 18.81
E1(45:5)	4.70 ± 0.28 ^a	42.20 ± 0.60 ^a	280.31 ± 13.54
E2(40:12)	3.40 ± 0.10 ^b	40.74 ± 0.35 ^{ab}	275.33 ± 16.14
E3(35:18)	3.35 ± 0.12 ^b	40.64 ± 0.22 ^{ab}	267.25 ± 24.69
E4(30:25)	3.05 ± 0.16 ^b	39.69 ± 0.36 ^b	260.61 ± 27.75

2.4 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对血液学的影响

饲料中白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对大口黑鲈血液学的影响见表 8。饲料中白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的含量变化并未引起血液中红细胞数的显著性变化($P > 0.05$);随着饲料中白鱼粉的含量从 45% 降低至 30%,红细胞压积

在 D1 ~ D4 组间无显著性差异($P > 0.05$),E4 与 E1 组相比则显著降低($P < 0.05$);而血红蛋白含量在 D1 ~ D4 组间呈显著降低的趋势($P < 0.05$),在 E1 ~ E4 组间差异不显著($P > 0.05$)。红细胞压积和血红蛋白含量在去皮豆粕组和对应的酶解豆粕组之间均无显著性差异($P > 0.05$)。

表 8 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对血液学指标的影响(平均值 ± 标准误)
Tab. 8 Effects of the inclusion levels of WFM and DSM/EDSM on hematological indices (mean ± SE)

饲料(白鱼粉:去皮豆粕/酶解豆粕) diets(WFM:DSM/EDSM)	指标 index		
	红细胞数/(10 ¹² cells/L) red blood cell count	红细胞压积/(L/L) haematocrit	血红蛋白/(g/L) haemoglobin
D1(45:5)	2.14 ± 0.12	0.39 ± 0.01 ^{ab}	58.74 ± 2.52 ^a
D2(40:12)	2.06 ± 0.09	0.37 ± 0.01 ^{ab}	58.39 ± 1.15 ^a
D3(35:18)	2.08 ± 0.04	0.37 ± 0.01 ^{ab}	58.60 ± 2.15 ^a
D4(30:25)	2.04 ± 0.11	0.36 ± 0.01 ^b	45.50 ± 1.88 ^b
E1(45:5)	2.09 ± 0.07	0.40 ± 0.01 ^a	59.43 ± 1.12 ^a
E2(40:12)	2.11 ± 0.08	0.39 ± 0.01 ^{ab}	59.04 ± 2.59 ^a
E3(35:18)	2.05 ± 0.13	0.37 ± 0.01 ^{ab}	58.94 ± 2.91 ^a
E4(30:25)	2.04 ± 0.12	0.36 ± 0.01 ^b	52.58 ± 2.09 ^{ab}

3 讨论

3.1 饲料的配方对豆粕替代鱼粉能力的影响

在实验中,实验鱼的成活率和特定生长率无显著性差异,但当去皮豆粕和酶解豆粕的含量分别高于 5% 和 12% 时,饲料效率和蛋白质效率显著降低。依饲料效率和蛋白质效率得出:大口黑鲈幼鱼饲料中白鱼粉和去皮豆粕的适宜配比为 45% 和 5%,而白鱼粉和酶解豆粕的适宜配比为 40% 和 12%。Tidwell 等^[8]认为,在未添加蛋氨酸的情况下,当饲料中的鱼粉为 30% 时,豆粕不能进一步替代大口黑鲈饲料中的鱼粉。骆军宁^[10]

根据直线回归方程得出,在未添加蛋氨酸的情况下,豆粕可替代饲料中鱼粉蛋白质的 11.58%,但在此情形下饲料中鱼粉的含量高达 51.9%,而豆粕的含量仅为 9.9%。由此可见,饲料中豆粕替代鱼粉的潜力与豆粕的种类、鱼粉的种类和用量以及饲料中蛋氨酸的水平有关。本实验以优质白鱼粉为主要蛋白源,添加的两种豆粕均经高温灭活处理去除了其热不稳定性抗营养因子,同时酶解豆粕还去除了部分植酸和非淀粉性多糖,并通过添加包膜晶体氨基酸模拟与大口黑鲈肌肉相似的必需氨基酸组成以达到实验饲料的氨基酸平衡,且充分兼顾其他营养素的需求。因而实验鱼

的生长呈现出与其他研究有别的情况。随着白鱼粉含量从45%降低至30%时,呈现出终末体质量显著增加(尽管特定生长率的增高不显著)的趋势。说明白鱼粉和两种豆粕含量的变化并未对大口黑鲈幼鱼的生长造成任何负面的影响。同时饲料效率(1.10~1.27)和蛋白质效率(2.48~2.87)优于以往对大口黑鲈幼鱼的研究^[8,10]。这也说明本实验采用的饲料配方策略是合理的。

3.2 豆粕替代鱼粉对饲料的适口性和营养物质消化率的影响

本实验观测到,初始阶段低鱼粉饲料组的实验鱼摄食较少,说明豆粕用量的增加影响饲料的适口性,但经一段时间的适应后,实验鱼的摄食量不再受影响。艾庆辉等^[21]对南方鲈的研究发现,实验初始阶段高含量的大豆粉饲料组的摄食率相对较低,但在实验的8~9 d,各组摄食率基本一致。对大西洋鲑^[7]和对虹鳟^[22]的研究发现,0~28 d,鱼粉组的摄食量显著高于豆粕组;而29~56 d,各组摄食量无显著性差异。这说明,对于上述鱼类,饲料的适口性和摄食量最终不会因豆粕部分替代鱼粉而受到影响。

本实验中,随着饲料中白鱼粉含量从45%降低至30%和豆粕从5%增加至25%,饲料中蛋白质和脂肪的表观消化率均显著升高。Portz等^[23]测定了大口黑鲈对豆粕和鱼粉的蛋白质表观消化率,发现豆粕的蛋白质表观消化率高于鱼粉。Masagounder等^[24]发现大口黑鲈对豆粕中总氨基酸的表观消化率也高于鱼粉。对虹鳟的研究也显示,豆粕比鱼粉有更高的蛋白质表观消化率^[22]。这一现象可能与鱼粉中的灰分含量较高密切相关。Gomes等^[25]对虹鳟研究得出,鱼粉的灰分含量与其营养物质的表观消化率呈负相关。类似的现象在对澳大利亚银鲈的研究中也被发现^[26],肉粉的干物质、能量和氮的表观消化率与其灰分含量也呈负相关。实验所使用的白鱼粉的新鲜度虽然很好(挥发性盐基氮含量为12.08 mg/100 g),但其灰分含量较高(19.44%),这可能是导致含高鱼粉饲料的蛋白质和脂肪的表观消化率较低的主要原因。

3.3 添加晶体必需氨基酸对于解决饲料氨基酸平衡的潜力

本实验还发现,随着白鱼粉含量的降低和去皮豆粕或酶解豆粕含量的增加,全鱼和肌肉的蛋

白质和水分含量均显著降低,脂肪的含量却显著升高。对军曹鱼^[27]的研究也发现,随着饲料中豆粕含量的增加,肌肉蛋白质含量呈降低的趋势,而脂肪含量显著增加。对牙鲆幼鱼^[3]和许氏平鲉^[28]的研究显示,大豆蛋白质替代鱼粉比例的增加使鱼体蛋白质含量降低。用等氮饲料饲喂异育银鲫^[29]的研究得出,高鱼粉组的鱼体蛋白质含量显著高于添加晶体氨基酸的低鱼粉组。实验为了调节因豆粕对鱼粉的取代所产生的饲料中必需氨基酸特别是赖氨酸和蛋氨酸的不足,添加包膜晶体必需氨基酸以调节氨基酸的平衡。但从鱼体组成的差异可以推断出,包膜晶体氨基酸用于合成鱼体蛋白质的利用率仍然不如蛋白质来源的结合态氨基酸,游离氨基酸的不同步吸收导致饲料中的蛋白质不能有效地转化为机体蛋白质而转化为脂肪。这种不同步学说在对其他鱼类的研究中也证实。Peres等^[30]对大菱鲆幼鱼的研究得出,包膜晶体氨基酸在消化道的吸收速度比结合态氨基酸要快。对斑点叉尾鲷^[31]和塞内加尔截鳍鲷^[32]的研究发现,游离氨基酸和结合态氨基酸的吸收不同步引起氨基酸在组织中的不平衡,导致参与合成蛋白质的氨基酸减少。De la Higuera等^[33]对鲤的研究显示,添加包膜氨基酸饲料的蛋白质沉积率小于鱼粉饲料但大于添加游离氨基酸饲料的蛋白质沉积率。

3.4 酶处理对降解豆粕中抗营养因子的有效性

本实验结果显示,去除了部分抗营养因子的酶解豆粕可以使饲料中白鱼粉被替代的比例提高11%。含等量白鱼粉的酶解豆粕组和对应的去皮豆粕组相比,蛋白质消化率、饲料效率和蛋白质效率均有升高的趋势。这应当与酶解处理去除了去皮豆粕中的部分抗营养因子有关。Biswas等^[34]对真鲷的研究显示,豆粕组饲料中添加适量的植酸酶,可以显著提高其饲料效率。Ai等^[35]对鲈鱼的研究得出,添加植酸酶和非淀粉性多糖酶的饲料效率明显高于未添加外源酶的对照组。对虹鳟^[36]的研究得出,酶解豆粕的氮的表观消化率要高于普通豆粕。对大西洋鲑^[37]的研究显示,植酸酶处理过的豆粕的蛋白质表观消化率要显著高于未处理的豆粕。由此可见,去除部分植酸和非淀粉性多糖的酶解豆粕可以提高其饲料效率、蛋白质效率和蛋白质消化率,从而使豆粕的饲料价值得以提高。

3.5 白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕的配比对鱼体健康的影响

本实验中,实验鱼的血清溶菌酶活性和血清蛋白质含量均随着白鱼粉含量的减少和去皮豆粕或酶解豆粕含量的增加而降低。这可能与豆粕中热稳定性的抗营养因子的存在有关。有研究表明,黄颡鱼^[38]和异育银鲫^[39]的血清溶菌酶活性随豆粕含量的增加而降低;虹鳟^[40]和牙鲆^[41]的血清蛋白质含量随饲料中豆粕含量的增加而降低。

血液学指标可以反映鱼类正常的生理状态和健康情况,也能为动物的病理研究提供依据^[42]。本研究表明,随着饲料中白鱼粉与去皮豆粕或酶解豆粕含量的变化,虽然实验鱼的红细胞数含量无显著性差异,但随着去皮豆粕或酶解豆粕含量的增加,红细胞压积和血红蛋白含量逐渐降低。这说明实验鱼的红细胞体积变小、未成熟的红细胞增多,呈现出贫血的迹象。涂贵雄等^[43]对褐点石斑鱼的研究发现,豆粕替代饲料中鱼粉使实验鱼的血红蛋白含量减少。Lim 等^[28]对许氏平鲉的研究显示,饲料中去皮豆粕替代鱼粉的比例增加使得红细胞压积和血红蛋白含量均显著降低。以上研究结果表明,饲料中白鱼粉和去皮豆粕或酶解豆粕的适宜配比对于维持健康和抵御病害也有重要的意义。

4 结论

通过对实验鱼的生长、体组成、饲料效率、非特异性免疫和血液学指标进行评估得出,大口黑鲈幼鱼饲料中白鱼粉和去皮豆粕的适宜配比为 45% 和 5%,而白鱼粉和酶解豆粕的适宜配比为 40% 和 12%;去除部分抗营养因子的酶解豆粕可使饲料中白鱼粉被替代 11%。实验结果可为配制经济和高效的大口黑鲈幼鱼的人工配合饲料提供参考。

参考文献:

- [1] Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp, National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp [M]. Washington DC: National Academy Press, 2011: 304 - 307.
- [2] Tacon A G J, Metian M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects [J]. Aquaculture, 2008, 285(1 - 4): 146 - 158.
- [3] Deng J M, Mai K S, Ai Q H, et al. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Aquaculture, 2006, 258(1 - 4): 503 - 513.
- [4] Carter C G, Hauler R C. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. Aquaculture, 2000, 185(3 - 4): 299 - 311.
- [5] Kaushik S J, Cravedi J P, Lalles J P, et al. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Aquaculture, 1995, 133(3 - 4): 257 - 274.
- [6] Tibaldi E, Hakim Y, Uni Z, et al. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by differently processed soybean meals on growth performance, nutrient digestibility and activity of intestinal brush border enzymes in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 2006, 261(1): 182 - 193.
- [7] Refstie S, Storebakken T, Roem A J. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens [J]. Aquaculture, 1998, 162(3 - 4): 301 - 312.
- [8] Tidwell J H, Coyle S D, Bright L A, et al. Evaluation of plant and animal source proteins for replacement of fish meal in practical diets for the largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2007, 36(4): 454 - 463.
- [9] 王新霞. 发酵豆粕替代鱼粉在加州鲈饲料中的研究 [J]. 饲料与畜牧: 新饲料, 2009, (1): 58 - 61.
- [10] 骆军宁. 加州鲈 (*Micropterus salmoides*) 饲料中脱脂豆粕替代鱼粉的研究 [D]. 广州: 中山大学, 2006.
- [11] 陈乃松, 杨志刚, 崔惟东, 等. 酶制剂体外酶解豆粕中抗营养因子的研究 [J]. 大豆科学, 2008, 27(4): 663 - 668.
- [12] Lee S M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. Aquaculture, 2002, 207(1 - 2): 79 - 95.
- [13] 谢音, 屈小英. 食品分析 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2006: 44 - 50.

- [14] Divakaran S, Obaldo L G, Forster I P. Note on the methods for determination of chromic oxide in shrimp feeds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(3): 464 - 467.
- [15] 郭瑞华, 王慧丽, 翟义敏, 等. 四氧嘧啶型糖尿病模型小鼠糖耐量和肝糖原与大豆胰蛋白酶抑制剂的干预[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(24): 4477 - 4480.
- [16] Sitjà-Bobadilla A, Mingarro M, Pujalte M J, et al. Immunological and pathological status of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) under different long-term feeding regimes [J]. *Aquaculture*, 2003, 220(1 - 4): 707 - 724.
- [17] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1 - 2): 248 - 254.
- [18] Inglis J E, Radziwon K A, Maniero G D. The serum complement system: a simplified laboratory exercise to measure the activity of an important component of the immune system [J]. *Advances in Physiology Education*, 2008, 32(4): 317 - 321.
- [19] Arnold J E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs [J]. *Veterinary Clinical Pathology*, 2005, 34(2): 115 - 123.
- [20] 安邦权, 王凤学. 血液学检验标准操作程序 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社. 2007: 16 - 54.
- [21] 艾庆辉, 谢小军. 南方鲇的营养学研究: 饲料中大豆蛋白水平对消化率及摄食率的影响 [J]. *水生生物学报*, 2002, 26(3): 215 - 220.
- [22] Refstie S, Helland S J, Storebakken T. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Aquaculture*, 1997, 153(3 - 4): 263 - 272.
- [23] Portz L, Cyrino J E P. Digestibility of nutrients and amino acids of different protein sources in practical diets by largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802) [J]. *Aquaculture Research*, 2004, 35(4): 312 - 320.
- [24] Masagounder K, Firman J D, Hayward R S, et al. Apparent digestibilities of common feedstuffs for bluegill *Lepomis macrochirus* and largemouth bass *Micropterus salmoides* using individual test ingredients [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2009, 15(1): 29 - 37.
- [25] Gomes E F, Rema P, Kaushik S J. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): digestibility and growth performance [J]. *Aquaculture*, 1995, 130(2 - 3): 177 - 186.
- [26] Stone D A J, Allan G L, Parkinson S, et al. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: III. Digestibility and growth using meat meal products [J]. *Aquaculture*, 2000, 186(3 - 4): 311 - 326.
- [27] Chou R L, Her B Y, Su M S, et al. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum* [J]. *Aquaculture*, 2004, 229(1 - 4): 325 - 333.
- [28] Lim S R, Choi S M, Wang X J, et al. Effects of dehulled soybean meal as a fish meal replacer in diets for fingerling and growing Korean rockfish *Sebastes schlegeli* [J]. *Aquaculture*, 2004, 231(1 - 4): 457 - 468.
- [29] 冷向军, 王冠, 李小勤, 等. 饲料中添加晶体或包膜氨基酸对异育银鲫生长和血清游离氨基酸水平的影响 [J]. *水产学报*, 2007, 31(6): 743 - 748.
- [30] Peres H, Oliva-Teles A. The effect of dietary protein replacement by crystalline amino acid on growth and nitrogen utilization of turbot *Scophthalmus maximus* juveniles [J]. *Aquaculture*, 2005, 250(3 - 4): 755 - 764.
- [31] Zarate D D, Lovell R T. Free lysine (L-lysine · HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Aquaculture*, 1997, 159(1 - 2): 87 - 100.
- [32] Ronnestad I, Conceição L E, Aragão C, et al. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*) [J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(11): 2809 - 2812.
- [33] De la Higuera M, Garzon A, Hidalgo M C, et al. Influence of temperature and dietary-protein supplementation either with free or coated lysine on the fractional protein-turnover rates in the white muscle of carp [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1998, 18(1): 85 - 95.
- [34] Biswas A K, Kaku H, Ji S C, et al. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major* [J]. *Aquaculture*, 2007, 267(1 - 4): 284 - 291.
- [35] Ai Q, Mai K, Zhang W, et al. Effects of exogenous enzymes (phytase, non-starch polysaccharide

- enzyme) in diets on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 147(2): 502 - 508.
- [36] Rumsey G L, Hughes S G, Winfree R A. Chemical and nutritional evaluation of soya protein preparations as primary nitrogen sources for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Animal Feed Science and Technology, 1993, 40(2 - 3): 135 - 151.
- [37] Storebakken T, Shearer K D, Roem A J. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. Aquaculture, 1998, 161(1 - 4): 365 - 379.
- [38] 杨严鸥, 张艳, 潘宙, 等. 豆粕替代不同水平的鱼粉对黄颡鱼饲料利用, ATP 酶活性和免疫功能的影响 [J]. 饲料广角, 2006(15): 39 - 41.
- [39] 王崇, 雷武, 解绶启, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉蛋白对异育银鲫生长、代谢及免疫功能的影响 [J]. 水生生物学报, 2009, 33(4): 740 - 747.
- [40] Rumsey G L, Siwicki A K, Anderson D P, et al. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth and protein utilization in rainbow trout [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 1994, 41(3 - 4): 323 - 339.
- [41] 刘襄河, 叶继丹, 王子甲, 等. 饲料中豆粕替代鱼粉比例对牙鲆生长性能及生化指标的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(3): 450 - 458.
- [42] 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.
- [43] 涂贵雄, 陈刚, 周晖, 等. 3 种蛋白源替代鱼粉对褐点石斑鱼幼鱼血液指标的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2012, 32(4): 12 - 19.

Suitable inclusion levels of white fish meal and two kinds of soybean meal in diets for juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

CHEN Naisong* , MA Xiuli, ZHAO Ming, JI Zhenyao, TONG Chunmeng
(College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Eight isonitrogenous, isoenergetic and isolipidic diets were formulated to evaluate the feasibility of partial replacement of white fish meal (WFM) by dehulled soybean meal (DSM) or enzyme-treated dehulled soybean meal (EDSM), and to determine suitable inclusion levels of white fish meal and two kinds of soybean meal in diets for juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*), based on growth performance, feed efficiency, body composition, non-specific immunity and hematological parameters. In four diets (D1 – D4), inclusion level ratios of WFM to DSM were 45:5, 40:12, 35:18 and 30:25, respectively, and in the other four diets (E1 – E4), the same inclusion level ratios were kept, only substituting EDSM for DSM. Each diet was randomly assigned to triplicate tanks of 35 fish [average initial weight (5.32 ± 0.05) g] with an indoor temperature-controlled recirculating freshwater system. Fish were fed to apparent satiation twice daily (8:00 and 16:00) over 63 days. During the experimental period, water temperature was maintained at (28 ± 1) °C and dissolved oxygen content kept nearly saturated. The natural light cycle was adopted. The results suggested that no differences in survival rate and specific growth rate were found among treatments. Feed efficiency and protein efficiency ratio, however, occurred to a significant declining tendency when inclusion levels of DSM were higher than 5%, or EDSM higher than 12% in diets. With decreasing in WFM inclusion level and increasing in DSM or EDSM inclusion level in diets, apparent digestibility coefficients of both protein and lipid were found to be higher. Meanwhile, protein and moisture concentrations in whole body, muscle and viscera of tested fish decreased significantly, but lipid concentrations became higher. With above changes in dietary WFM and DSM or EDSM levels, hepatosomatic index and liver glycogen content occurred to be lower. Serum lysozyme activity and serum protein content became lower although serum complement activity (CH50) showed no significant difference among the treatments. While no difference in red cell count was found, the blood parameters of haemoglobin and haematocrit were affected significantly and negatively. In conclusion, it is feasible to use 45% WFM and 5% DSM as main protein sources in diet for juvenile largemouth bass, based on a comprehensive judgment of growth rate, survival rate, body composition, feed efficiency and health of tested fish. Inclusion levels of 40% WFM and 12% EDSM can achieve a similar performance, substituting EDSM for DSM in the diet, by which 11% of WFM can be replaced with EDSM. The effectiveness of enzyme treatment in removing the deleterious effects of antinutrients from soybean meal is confirmed in this study.

Key words: *Micropterus salmoides*; feed; white fish meal; dehulled soybean meal; enzyme-treated dehulled soybean meal; suitable inclusion level

Corresponding author: CHEN Naisong. E-mail: nschen@shou.edu.cn