

添加晶体或包膜 DL-蛋氨酸对利用豆粕 替代花鲈饲料中鱼粉的影响

张艳秋^{1,2}, 纪文秀³, 吴玉波¹, 王 岩^{4*}

(1. 浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310058;

2. 钦州学院海洋学院, 广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室, 广西 钦州 535000;

3. 浙江大学舟山海洋研究中心, 浙江 舟山 316021;

4. 浙江大学海洋学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 通过 8 周生长实验检验添加晶体或包膜 DL-蛋氨酸对利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的影响, 以确定添加 DL-蛋氨酸对提高饲料鱼粉替代水平的作用。对照饲料鱼粉水平为 40%。采用 2×4 实验设计, 按等蛋白替代原则分别用豆粕替代对照组饲料中鱼粉的 40% (L) 和 80% (H); 在每个鱼粉替代水平上, 分别添加晶体 DL-蛋氨酸 (A)、包膜 DL-蛋氨酸 (B)、晶体 DL-蛋氨酸和包膜材料 (C) 以及按 1:1 比例配制的 B 和 C 的混合物 (D)。配成 8 种等氮、等脂肪的实验饲料 (LA、LB、LC、LD、HA、HB、HC 和 HD)。饲料 LA、LB、LC 和 LD 含 24% 鱼粉, 并分别添加 0.5% A、1.3% B、1.3% C 或 1.3% D; 饲料 HA、HB、HC 和 HD 含 8% 鱼粉, 并分别添加 0.7% A、1.8% B、1.8% C 或 1.8% D。实验鱼初始体质量为 (6.0±0.1)g。实验结果表明, 饲料鱼粉替代水平显著影响花鲈增重 (WG)、摄食率 (FI)、饲料系数 (FCR)、饲料氮沉积效率 (NRE)、饲料氮废物排放量 (TNW)、肝体比 (HSI) 以及全鱼水分和粗脂肪含量; DL-蛋氨酸剂型可显著影响饲料磷废物排放量 (TPW)。当添加的 DL-蛋氨酸剂型相同时, WG 和 NRE 随饲料鱼粉替代水平增加而下降, 而 FCR 和 TNW 增加; 在相同饲料鱼粉替代水平下, 添加晶体或包膜 DL-蛋氨酸未导致花鲈 WG、FCR、NRE、CF、HSI、鱼体组成、TNW 和 TPW 出现显著差异。上述结果显示, 通过添加豆粕可将花鲈饲料中鱼粉含量降低至 24%, 而添加晶体或包膜 DL-蛋氨酸不能进一步提高利用豆粕替代饲料鱼粉的水平。

关键词: 花鲈; 豆粕; DL-蛋氨酸; 生长; 饲料利用效率

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

鱼粉是优质的鱼类饲料蛋白源, 肉食性鱼类饲料配方中鱼粉添加量往往超过 30%^[1]。鱼粉资源有限, 价格昂贵。20 世纪 90 年代以来, 利用廉价蛋白原料替代鱼粉一直是鱼类营养和饲料研究的热点。豆粕蛋白质含量和消化率较高、氨基酸组成较平衡、且产量大、供应稳定, 是理想的鱼粉替代原料之一^[2-3]。与鱼粉相比, 豆粕含植物抗营养因子, 蛋白质消化率较低, 含硫氨基酸 (如蛋氨酸) 含量较低^[2,4]。研究表明, 利用豆粕可部

分替代, 如虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[5]、尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)^[6] 和 鲩状黄姑鱼 (*Nibea miichthioides*)^[7] 等肉食性鱼类饲料中的鱼粉。然而, 在饲料配方中大量添加豆粕往往会导致鱼类生长和饲料利用效率降低^[8-9]。部分研究表明, 添加蛋氨酸可提高利用豆粕替代鱼类饲料中鱼粉的效果^[10]。

花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 俗名海鲈、七星鲈, 在亚洲地区被广泛养殖^[11-12]。Zhang

收稿日期: 2014-10-07 修回日期: 2014-11-17

资助项目: 浙江省科技厅项目 (2008C22055); 国家自然科学基金 (30771673)

通信作者: 王 岩, E-mail: ywang@zju.edu.cn

等^[13-14]报道添加豆粕可将花鲈饲料中鱼粉含量降低至 16%~24%,并指出添加晶体 DL-蛋氨酸不能提高利用豆粕替代鱼粉的水平。目前,水产饲料中使用的氨基酸包括晶体和包膜两类^[15]。前者在水中溶失率较大且与饲料蛋白质中的氨基酸吸收速率不同步^[16-17];后者溶失率相对较低,利用效率较高^[18-19]。因此,设想将晶体 DL-蛋氨酸包膜后或许能够改善利用豆粕替代花鲈饲料鱼粉的效果。有关氨基酸剂型对鱼类饲料鱼粉替代影响的比较研究尚未见报道。本研究比较了晶体 DL-蛋氨酸、包膜 DL-蛋氨酸及其混合物对利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的影响,旨在确定添加 DL-蛋氨酸对提高饲料鱼粉替代水平的作用。

1 材料与方 法

1.1 饲料原料与饲料

所用鸡肉粉、血粉和羽毛粉由美国油脂提炼协会(NRA)香港办事处提供,所用鱼粉、豆粕、菜粕、面粉和酵母等购自杭州海皇饲料开发有限公司(表 1)。所用晶体 DL-蛋氨酸、包膜 DL-蛋氨酸、晶体 L-赖氨酸和 DL-蛋氨酸包膜材料(一种脂肪酸和纤维素复合物)由杭州康德权饲料有限公司提供。其中,晶体蛋氨酸中 DL-蛋氨酸含量为 99%,包膜蛋氨酸中 DL-蛋氨酸含量为 41%。

表 1 饲料原料的营养组成
Tab. 1 Proximate composition of the feed ingredients

原料 ingredients	干物质 dry matter	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	% 灰分 ash
鱼粉 fish meal	91.0	72.5	9.7	17.7
鸡肉粉 poultry meal	95.1	60.7	15.1	21.5
血粉 blood meal	94.0	94.4	0.6	2.1
羽毛粉 feather meal	95.6	88.8	9.6	2.4
豆粕 soybean meal	90.2	49.0	3.7	6.1
菜粕 rapeseed meal	89.4	45.8	0.2	8.3
酵母 brewer's yeast	90.7	55.1	0.2	7.9
面粉 wheat flour	87.5	14.9	1.7	0.8

注:粗蛋白、粗脂肪和灰分含量按原料干物质计,表示为 2 次测定结果的平均值($n=2$)

Notes: crude protein, crude lipid and ash are expressed on a dry matter basis and given as means of two measurements($n=2$)

以鱼粉含量为 40% 的饲料为对照(control),在此基础上设计双因素(2×4)实验。设两个豆粕替代鱼粉的水平(分别按等蛋白替代原则,用

豆粕替代对照组饲料中鱼粉的 40% 和 80%,替代后的饲料鱼粉含量分别为 24% 和 8%),在每个鱼粉替代水平上,分别添加晶体 DL-蛋氨酸(A)、包膜 DL-蛋氨酸(B)、晶体 DL-蛋氨酸 + 包膜材料(C)以及按 1:1 比例配制的 B 和 C 的混合物(D)。A 中 DL-蛋氨酸含量为 99%,B、C 和 D 中 DL-蛋氨酸含量均为 41%。共配成 8 种等氮、等脂肪的实验饲料(LA、LB、LC、LD、HA、HB、HC 和 HD)。饲料 LA、LB、LC 和 LD 含 24% 鱼粉,并分别添加 A、0.5%、B、1.3%、C、1.3%、D、1.3%;饲料 HA、HB、HC 和 HD 含 8% 鱼粉,并分别添加 A、0.7%、B、1.8%、C、1.8%、D、1.8%。将饲料原料粉碎并过 40 目筛,按配方称重后手工混匀,然后在 30 L 混合机中加水混合 15 min。用 SLP-45 膨化饲料机(中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所,上海)制成直径 4 mm,长度 8 mm 的沉性饲料,制粒温度控制为 80~120 °C。饲料在 25 °C 的空调房间内风干并贮存在密封的塑料袋中,使用前在 -20 °C 下保存。饲料配方和营养组成见表 2,对照组饲料(control)、LA 和 HA 必需氨基酸组成见表 3。

1.2 实验鱼和养殖实验

养殖实验在位于浙江省舟山市的浙江省海洋水产研究所西轩岛试验场进行。所用花鲈为野生苗,购自山东省胶州市,空运至西轩岛后在室内水泥池(5 m × 3 m × 1.2 m)中暂养 5 周。暂养期间逐渐驯化鱼苗从摄食鱼糜到摄食实验饲料。实验前 2 周挑选大小相近的鱼苗 810 尾,驯养在 27 个容积为 0.3 m³ 的室内玻璃钢流水水槽内(每个水槽放养 30 尾鱼)。驯养期间每天 08:00 和 16:00 投喂饲料 C。实验开始前,将鱼饥饿 24 h,每次随机挑选体质量相近的花鲈 20 尾,成批称重后放入水槽内。每个饲料设 3 个重复,共用 27 个水槽。实验鱼初始体质量为(6.0 ± 0.1) g。放养结束后从剩余鱼群中随机取 3 组鱼(10 尾/组),测量体长和体质量并解剖称肝重,然后保存在 -20 °C 冰箱内作为分析实验开始时鱼体组成的样品。

养殖实验持续 8 周。每天 08:00 和 16:00 按饱食量投喂。实验期间记录死鱼数量并称重。采用自然光照(光照和黑暗时间比为 13:11)、流水(沙滤海水按 2 L/min 的流速流过系统)和连续充氧。实验期间水槽内水温为 25~28 °C,盐度 25~28,溶氧始终高于 6 mg/L。实验结束前停喂

24 h,将每个水槽内的鱼捞出、计数并称重。从每个水槽内随机取 8 尾鱼,其中 3 尾鱼测量体长、体质量和肝脏重,另外 5 尾鱼称重后保存在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,用作分析实验结束时鱼体组成的样品。

表 2 实验饲料配方及营养组成
Tab.2 Formulation and proximate composition of the test diets

项目 items	饲料 diet								control
	LA	LB	LC	LD	HA	HB	HC	HD	
鱼粉 fish meal	24.0	24.0	24.0	24.0	8.0	8.0	8.0	8.0	40.0
豆粕 soybean meal	23.9	23.9	23.9	23.9	51.6	51.6	51.6	51.6	
血粉 blood meal	0.1	0.1	0.1	0.1	1.0	1.0	1.0	1.0	
羽毛粉 feather meal	0.1	0.1	0.1	0.1	1.0	1.0	1.0	1.0	
鸡肉粉 poultry meal	15.0	15.0	15.0	15.0	13.0	13.0	13.0	13.0	15.0
菜粕 rapeseed meal	8.0	8.0	8.0	8.0	4.0	4.0	4.0	4.0	8.0
酵母 brewer's yeast	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
淀粉 starch, gel	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
面粉 wheat flour	13.7	12.9	12.9	12.9	6.4	5.3	5.3	5.3	22.5
磷酸氢钙 CaHPO_4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
L-赖氨酸 L-Lys	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.5	1.3	1.3	1.3	0.7	1.8	1.8	1.8	0.3
维生素预混料 vitamin premix ¹	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
矿物质预混料 mineral premix ²	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
鱼油 fish oil	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.0
干物质 dry matter	88.4	89.0	88.6	88.9	89.2	89.2	88.5	90.0	89.8
粗蛋白 crude protein ³	41.9	41.6	41.6	42.3	40.9	41.1	41.0	41.8	42.8
粗脂肪 crude lipid ³	11.6	10.7	11.1	10.7	11.3	11.7	11.5	11.2	11.8
灰分 ash ³	10.1	10.0	10.0	9.4	8.7	8.2	7.7	7.7	11.6
总磷 phosphorus ³	1.6	1.5	1.6	1.6	1.3	1.2	1.2	1.3	1.6

注:1 维生素预混料(帝斯曼公司提供,每 kg 饲料):维生素 A,16 000 IU;维生素 D₃,3 000 IU;维生素 E,200 mg;维生素 K₃,20 mg;维生素 B₁,13.4 mg;维生素 B₂,20 mg;维生素 B₆,30 mg;维生素 B₁₂,27 mg;泛酸钙,80 mg;烟酰胺,130 mg;叶酸,6.6 mg;生物素,1 000 mg;肌醇,270 mg;维生素 C,200 mg;氯化胆碱,1 200 mg。2 矿物质预混料(每 kg 饲料): $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$,400 mg;乳酸钙,1 000 mg;柠檬酸铁,100 mg; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,400 mg; K_2HPO_4 ,700 mg; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$,250 mg; $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,20 mg; ZnCl_2 ,60 mg; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,30 mg; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,20 mg;KI,20 mg。3 粗蛋白、粗脂肪、灰分和总磷以风干饲料计,表示为 2 次测定结果的平均值($n=2$)

Notes:1 vitamin premix (DSM provides per kg diet): vitamin A,16 000 IU; vitamin D₃,3 000 IU; vitamin E,200 mg; vitamin K₃,20 mg; vitamin B₁,13.4 mg; vitamin B₂,20 mg; vitamin B₆,30 mg; vitamin B₁₂,27 mg; pantothenate,80 mg; niacinamide,130 mg; folic acid,6.6 mg; biotin,1 000 mg; inositol,270 mg; vitamin C,200 mg; choline chloride,1 200 mg。2 mineral premix (per kg diet): $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$,400 mg; calcium lactate,1 000 mg; ferric citrate,100 mg; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,400 mg; K_2HPO_4 ,700 mg; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$,250 mg; $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,20 mg; ZnCl_2 ,60 mg; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,30 mg; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,20 mg; KI,20 mg。3 crude protein,crude lipid,ash and phosphorus are expressed on a dry feed basis in air and given as a mean of two measurements($n=2$)

表 3 部分饲料的必需氨基酸组成
Tab.3 Essential amino acid profile of some test diets

饲料 diet	必需氨基酸 essential amino acid									
	Met	Lys	Thr	Ile	His	Val	Leu	Arg	Phe	Tyr
LA	1.00	2.64	1.56	1.44	1.52	1.68	2.77	2.38	1.54	0.98
HA	0.92	2.44	1.53	1.44	1.40	1.64	2.79	2.48	1.62	1.02
control	1.07	2.78	1.59	1.40	1.60	1.69	2.76	2.29	1.44	0.96

注:氨基酸组成以饲料风干样计,数据为 2 次测定结果的平均值($n=2$)

Noets: amino acid are expressed on a dry matter basis in air and given as means of two measurements($n=2$)

1.3 样品分析

实验开始和结束时所取的鱼样品解冻后,先在高压灭菌锅内($125\text{ }^{\circ}\text{C}$)蒸煮 20 min,然后在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘 24 h。实验鱼和饲料样品粉碎后过 40 目筛。按 AOAC^[20] 方法测定实验鱼(全鱼)和饲

料水分、粗蛋白(Kjeldahl 法)、粗脂肪(乙醚提取)、灰分($550\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧)和磷含量。晶体 DL-蛋氨酸、包膜 DL-蛋氨酸以及饲料 C、LA 和 HA 的氨基酸含量用全自动氨基酸分析仪(日立 835-5)分析。

1.4 数据计算和统计分析

实验鱼摄食率 (feed intake, FI)、增重 (weight gain, WG)、饲料系数 (feed conversion ratio, FCR)、饲料氮沉积效率 (nitrogen retention efficiency, NRE)、饲料磷沉积效率 (phosphorus retention efficiency, PRE)、肥满度 (condition factor, CF)、肝体比 (hepatosomatic index; HSI)、饲料氮废物排放量 (total nitrogen wastes output, TNW) 和饲料磷废物排放量 (total phosphorus wastes output, TPW) 分别按下列公式计算:

$$FI (\% / d) = 100 \times I / [(W_0 + W_t + W_d) / 2 \times t] \quad (1)$$

$$WG (g) = W_t / N_t - W_0 / N_0 \quad (2)$$

$$FCR = I / (W_t - W_0 + W_d) \quad (3)$$

$$NRE (\%) = 100 \times (W_t \times C_{Nt} - W_0 \times C_{N0} + W_d \times C_{N0}) / (I \times C_{Nf}) \quad (4)$$

$$PRE (\%) = 100 \times (W_t \times C_{Pt} - W_0 \times C_{P0} + W_d \times C_{P0}) / (I \times C_{Pf}) \quad (5)$$

$$CF (g/cm^3) = 100 \times W_s / L_s^3 \quad (6)$$

$$HSI (\%) = 100 \times W_l / W_s \quad (7)$$

$$TNW [g N / (kg fish gain)] = 1000 \times (I \times C_{Nf}) \times (1 - NRE/100) / [(W_t - W_0 + W_d)] \quad (8)$$

$$TPW [g P / (kg fish gain)] = 1000 \times (I \times C_{Pf}) \times (1 - PRE/100) / [(W_t - W_0 + W_d)] \quad (9)$$

式中, I 为每个水槽内投喂的干饲料重量 (g); W_0 和 W_t 分别为实验开始和结束时每个水槽内鱼的总重量 (g); W_d 为每个水槽内死鱼的重量 (g); t 为实验时间 (d); N_0 和 N_t 为实验开始和结束时每个水槽内鱼的数量 (尾); C_{N0} 和 C_{Nt} 分别为实验开始和结束时鱼体的蛋白质含量 (%); C_{Nf} 为饲料蛋白质含量 (%); C_{P0} 和 C_{Pt} 分别为实验开始和结束时鱼体的磷含量 (%); C_{Pf} 为饲料磷含量 (%);

W_s 、 L_s 和 W_l 分别为取样鱼的体质量 (g)、体长 (cm) 和肝重 (g)。

采用双因素方差分析 (Two-Way ANOVA) 检验饲料鱼粉替代水平和 DL-蛋氨酸剂型对 FI、WG、FCR、NRE、PRE、CF、HSI、全鱼组成 (水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分、磷)、TNW 和 TPW 的影响; 用 Tukey's HSD test 方法比较处理间的差异。方差分析前先将百分数表示的数据进行反正弦转换。用 Dunnett test 方法比较对照饲料 (control) 与饲料 LA、LB、LC、LD、HA、HB、HC 或 HD 之间的差异。取 $P < 0.05$ 为差异显著性水平。统计分析计算利用 Statistica 6.0 软件进行。

2 结果

2.1 摄食、生长和饲料利用效率

饲料鱼粉替代水平显著影响 FI、WG、FCR、NRE、TNW、HSI 以及鱼体水分和粗脂肪含量 ($P < 0.05$); DL-蛋氨酸剂型显著影响 TPW ($P < 0.05$); 饲料鱼粉替代水平和 DL-蛋氨酸剂型对 PRE、CF 以及鱼体粗蛋白、灰分和磷含量无显著影响 ($P > 0.05$) (表 4)。不同实验饲料间 FI 和 PRE 均无显著差异 ($P > 0.05$) (表 5)。当添加相同剂型 DL-蛋氨酸时, WG 和 NRE 随饲料鱼粉替代水平增加呈下降的趋势 ($P < 0.05$), 而 FCR 呈增加的趋势 ($P < 0.05$), WG 中 HA 与 LA 除外, NRE 中 HA 与 LA, HD 与 LD 除外。在相同鱼粉替代水平下, 添加不同剂型 DL-蛋氨酸未导致 WG、FCR 和 NRE 出现显著差异 ($P > 0.05$)。摄食对照组饲料的鱼 WG 和 NRE 显著高于摄食饲料 HA、HB、HC 和 HD 的鱼 ($P < 0.05$), 而 FI 和 FCR 显著低于后者 ($P < 0.05$)。

表 4 方差分析结果

Tab. 4 Summary of analysis of variance

因素 factor	自由度 df	TPW	FI, FBW, WG, FCR, NRE, TNW, HSI, 全鱼水分和 粗脂肪含量	SR, PRE, CF, 全鱼粗蛋白、 灰分和磷含量
鱼粉替代水平 fish meal replacement level	2	NS	$P < 0.05$	NS
DL-蛋氨酸剂型 DL-Met type	4	$P < 0.05$	NS	NS
鱼粉替代水平 × DL-蛋氨酸剂型 fish meal replacement level × DL-Met type	8	NS	NS	NS

注: FBW: 终末体质量; SR: 成活率; NS 表示 $P > 0.05$

Notes: FBW: Final body weight; SR: survival rate; NS: No significant

表 5 花鲈成活率、摄食、生长和饲料利用效率
Tab. 5 Survival, feed intake, growth and feed utilization efficiency of Japanese seabass

饲料 diet	终末体质量/g FBW	增重/g WG	摄食率/(%/d) FI	饲料系数 FCR	饲料氮沉积效率/% NRE	饲料磷沉积效率/% PRE	成活率/% SR
LA	51.4 ± 2.8 ^{bc}	45.6 ± 2.9 ^{ab}	3.47 ± 0.18 ^B	1.22 ± 0.08 ^{ab}	26.5 ± 1.3 ^{abc}	33.8 ± 1.4	100 ± 0
LB	59.1 ± 1.9 ^c	53.1 ± 1.9 ^b	3.25 ± 0.02	1.11 ± 0.00 ^a	29.9 ± 0.1 ^{bc}	38.6 ± 1.6	100 ± 0
LC	57.2 ± 4.8 ^c	51.2 ± 4.8 ^b	3.12 ± 0.15	1.08 ± 0.07 ^a	30.4 ± 2.3 ^c	40.3 ± 3.9	100 ± 0
LD	58.5 ± 3.9 ^c	52.5 ± 3.9 ^b	3.23 ± 0.08	1.12 ± 0.02 ^a	28.4 ± 1.9 ^{abc}	39.2 ± 1.4	97 ± 2
HA	38.8 ± 3.1 ^{abA}	32.8 ± 3.2 ^{aA}	3.53 ± 0.04 ^B	1.39 ± 0.04 ^{bb}	24.7 ± 0.8 ^{abcA}	37.9 ± 2.3	92 ± 3
HB	39.5 ± 1.0 ^{ab}	33.6 ± 1.1 ^a	3.60 ± 0.06 ^B	1.39 ± 0.05 ^{bb}	23.4 ± 0.3 ^{aA}	39.6 ± 3.7	90 ± 5
HC	37.5 ± 2.5 ^{abA}	31.6 ± 2.6 ^{aA}	3.48 ± 0.05 ^B	1.36 ± 0.04 ^{bb}	23.6 ± 0.4 ^{aA}	42.6 ± 1.9	95 ± 5
HD	37.1 ± 1.0 ^{aA}	31.3 ± 1.0 ^{aA}	3.57 ± 0.07 ^B	1.41 ± 0.04 ^{bb}	23.9 ± 0.9 ^{abA}	41.0 ± 0.5	88 ± 4
control	50.7 ± 1.0 ^B	44.9 ± 1.2 ^B	3.01 ± 0.01 ^A	1.06 ± 0.01 ^A	32.3 ± 1.9 ^B	36.7 ± 0.7	100 ± 0

注:数据上标不同小写字母表示实验饲料间差异显著($P < 0.05$),上标不同大写字母表示对照饲料与实验饲料间差异显著($P < 0.05$),下同
Notes: The data in the same column with different superscripts are significant in difference ($P < 0.05$). The small letters represent the comparison between the test diets, while the capital letters represent the comparison between control diet and test diets. ; the same as the following

2.2 肥满度、肝体比和鱼体组成

当添加同种剂型 DL-蛋氨酸时,随着饲料鱼粉替代水平的增加,CF、HSI 和鱼体粗脂肪含量略微下降,但 2 个鱼粉替代水平间差异不显著($P > 0.05$);在相同饲料鱼粉替代水平下,添加不

同剂型 DL-蛋氨酸未导致 CF、HSI 和鱼体组成出现明显差异($P > 0.05$)(表 6)。摄食对照组饲料的鱼 HSI 显著高于摄食饲料 LC、LD、HA、HB、HC 和 HD 的鱼($P < 0.05$)。

表 6 花鲈肥满度、肝体比和全鱼组成

Tab. 6 Condition factor, hepatosomatic index and proximate composition in whole body of Japanese seabass

饲料 diet	肥满度/(g/cm ³) CF	肝体比/% HSI	水分/% moisture	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	灰分/% ash	磷/% phosphorus
初始 initial	1.54 ± 0.03	1.93 ± 0.12	78.8 ± 0.4	13.4 ± 0.1	2.2 ± 0.2	4.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0
LA	1.78 ± 0.02	0.89 ± 0.08	72.1 ± 0.9	16.8 ± 0.3	7.3 ± 0.6	4.6 ± 0.1	0.8 ± 0.0
LB	1.79 ± 0.03	1.03 ± 0.04	71.6 ± 0.2	17.1 ± 0.1	7.6 ± 0.3	4.5 ± 0.1	0.7 ± 0.0
LC	1.73 ± 0.07	0.79 ± 0.16 ^A	71.7 ± 0.3	17.0 ± 0.2	7.6 ± 0.3	4.6 ± 0.2	0.8 ± 0.0
LD	1.70 ± 0.11	0.85 ± 0.05 ^A	72.5 ± 1.1	16.6 ± 0.7	7.0 ± 0.3	4.6 ± 0.1	0.8 ± 0.0
HA	1.68 ± 0.01	0.74 ± 0.04 ^A	72.1 ± 0.4	17.0 ± 0.1	7.0 ± 0.4	4.7 ± 0.2	0.8 ± 0.0
HB	1.66 ± 0.06	0.72 ± 0.01 ^A	73.2 ± 0.7	16.5 ± 0.4	6.5 ± 0.5	4.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1
HC	1.65 ± 0.12	0.67 ± 0.11 ^A	74.5 ± 1.2 ^B	16.2 ± 0.4	5.3 ± 1.0 ^A	4.6 ± 0.4	0.8 ± 0.0
HD	1.65 ± 0.01	0.72 ± 0.02 ^A	72.6 ± 0.3	16.8 ± 0.1	6.4 ± 0.1	4.7 ± 0.1	0.8 ± 0.0
control	1.77 ± 0.04	1.28 ± 0.06 ^B	70.1 ± 1.3 ^A	17.9 ± 0.8	8.5 ± 0.6 ^B	4.6 ± 0.2	0.8 ± 0.1

2.3 饲料氮、磷废物排放量

当添加同种剂型 DL-蛋氨酸时,摄食饲料 LA 与 HA 的鱼之间 TNW 无显著差异($P > 0.05$),但摄食饲料 HB、HC 和 HD 的鱼 TNW 显著高于摄食饲料 LB、LC 和 LD 的鱼($P < 0.05$)(图 1)。在相同饲料鱼粉替代水平下,添加不同剂型 DL-蛋氨酸未导致 TNW 出现显著差异($P > 0.05$)。摄食对照组饲料的鱼 TNW 显著低于摄食饲料 LA、HB、HC 和 HD 的鱼($P < 0.05$)。饲料 LA、LB、LC、LD、HA、HB、HC 和 HD 之间以及对照组饲料与实验饲料 LA、LB、LC、LD、HA、HB、HC 或 HD 之间 TPW 无显著差异($P > 0.05$)。

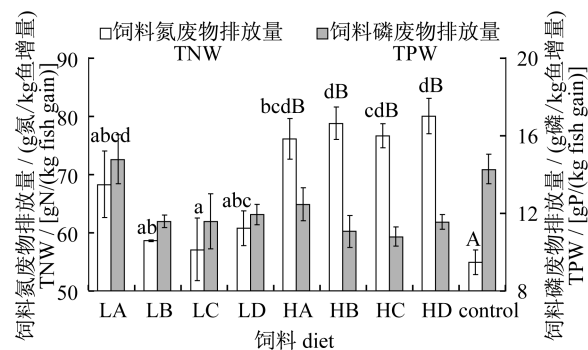


图 1 花鲈饲料氮、磷废物排放量
Fig. 1 Wastes output of nitrogen and phosphorus of Japanese seabass

3 讨论

3.1 利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的潜力与限制因素

利用豆粕替代鱼粉的水平因鱼种类不同而异,例如,通过添加豆粕可将牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)饲料鱼粉含量降低至 42%^[21],将虹鳟和鳊状黄姑鱼饲料鱼粉含量降低至 30%~32%^[5,7],将尖吻鲈饲料鱼粉含量降低至 28%^[6,8],将真鲷(*Pagrus major*)饲料中鱼粉全部替代^[22]。本实验中,通过添加豆粕将饲料鱼粉含量从 40% 降低至 24% 后,实验鱼 WG、FCR、NRE、PRE、CF 和鱼体组成未发生显著变化,但将饲料鱼粉含量进一步降低至 8% 后,WG 显著低于对照组。实验表明,添加豆粕可将花鲈饲料中鱼粉含量降低至 24%。Zhang 等^[13-14]报道在花鲈饲料中添加豆粕可将鱼粉含量降低至 16%~24%,本实验结果与此一致。

与鱼粉相比,豆粕中含有植物抗营养因子、蛋白质消化率较低且含硫氨基酸(蛋氨酸等)含量较低^[2,4,9],利用豆粕替代饲料鱼粉后鱼类生长和饲料利用效率往往随替代水平增加而降低^[6-9]。Zhang 等^[13]报道花鲈饲料蛋白质消化率和 NRE 随着豆粕替代鱼粉水平升高而降低。本实验中,饲料鱼粉含量从 24% 降低至 8%,花鲈 FI 增加但 WG 和 NRE 下降,实验表明,通过增加摄食量不能弥补 NRE 下降对鱼生长产生的负面影响,也意味着摄入的蛋白质质量而非数量是决定花鲈生长速度的主要原因。鉴于增加摄食量可在一定程度上弥补饲料蛋白质消化率降低对蛋白质摄入量的影响,由此可见,豆粕蛋白质消化率低可能不是利用豆粕替代鱼粉后导致 WG 和 NRE 下降的主要因素。

3.2 不同剂型 DL-蛋氨酸对改善豆粕替代鱼粉效果的作用

与鱼粉相比,豆粕中含硫氨基酸,如蛋氨酸含量较低。在高豆粕、低鱼粉饲料中添加外源蛋氨酸可改善饲料氨基酸的平衡,提高饲料的利用效率^[10]。晶体氨基酸在水中溶失率高,与饲料蛋白质中的氨基酸吸收不同步^[16-17]。将其包膜可降低溶失率并在消化道内缓释^[15,18-19],如刘永坚等^[23]发现包膜处理可延长晶体氨基酸通过草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)肠道的时间并使进食

后血清游离氨基酸峰值出现的时间滞后。迄今,有关氨基酸及其剂型对鱼类生长和食物利用的影响的结论尚不统一。冷向军等^[24]报道在无鱼粉饲料中补充晶体或包膜蛋氨酸均可显著加快奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)生长并降低饲料系数,且添加包膜蛋氨酸的效果优于使用晶体蛋氨酸。Chi 等^[15]发现在饲料中添加蛋氨酸可促进军曹鱼(*Rachycentron canadum*)生长,且添加晶体蛋氨酸的效果优于添加包膜蛋氨酸。Yuan 等^[25]发现添加晶体或包膜赖氨酸和蛋氨酸均可改善胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)生长和饲料蛋白质效率,但添加晶体或包膜氨基酸之间作用效果无明显差异。

胡亮等^[26]发现在使用混合动物蛋白替代鱼粉的饲料中添加晶体氨基酸可提高花鲈的饲料利用效率,但 Li 等^[12]和 Zhang 等^[13]的研究表明,在花鲈饲料中添加微胶囊蛋氨酸或者晶体蛋氨酸均未提高利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的水平。本实验中,饲料 LA、LB、LC、LD、HA、HB、HC 和 HD 中蛋氨酸含量与饲料 control 无明显差异(根据晶体和包膜氨基酸中的 DL-蛋氨酸含量计算出饲料 LB、LC、LD、HB、HC 和 HD 中蛋氨酸含量分别为 LB, 1.09%、LC, 1.09%、LD, 1.09%、HB, 0.97%、HC, 0.97% 和 HD, 0.97%),表明通过添加外源氨基酸可弥补豆粕中蛋氨酸含量较低的缺陷。在相同饲料鱼粉替代水平下,添加晶体或包膜 DL-蛋氨酸对花鲈的 WG、NRE 和 FCR 未产生显著的影响,而无论添加晶体或包膜均未改变 WG 和 NRE 随饲料鱼粉替代水平增加而下降的趋势。综合本实验结果与早期研究^[12-13]结果,可以认为,蛋氨酸缺乏并非是限制豆粕作为鱼粉替代物的首要因素。鉴于饲料 HA、HB、HC 和 HD 中豆粕添加量超过 51%,推测豆粕中的抗营养因子可能是限制豆粕作为花鲈饲料中鱼粉替代物的首要因素。

3.3 利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉对鱼体组成的影响

鳊状黄姑鱼^[7]和尖吻鲈^[8]体脂肪含量随豆粕替代鱼粉的水平增加而下降。然而,利用豆粕替代虹鳟^[5]、牙鲆^[21]和真鲷^[22]饲料中的鱼粉后未发现鱼体组成发生显著的变化。本实验中,CF、HSI 和鱼体粗脂肪含量随饲料豆粕含量从 23.9% 增加到 51.6% 而略微下降,表明摄食高豆

粕饲料花鲈的鱼体消瘦,这从另一角度证实了豆粕中抗营养因子限制花鲈对饲料营养物质的吸收和利用。

3.4 利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉对氮、磷废物排放的影响

利用豆粕替代饲料鱼粉往往导致鱼类 TNW 增加^[27]。本实验中,在 40% 鱼粉替代水平下,花鲈 TNW 与摄食对照饲料时无显著差异,但在 80% 鱼粉替代水平下花鲈 TNW 均显著高于摄食对照饲料,表明花鲈养殖的氮污染随豆粕替代饲料中鱼粉的水平增加而增加。Zhang 等^[13]报道利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉时 TNW 随替代水平增加而增加,但 TPW 不受替代水平的影响。本实验结果与此结论一致。

4 结论

通过添加豆粕可将花鲈饲料中鱼粉含量降低至 24%。添加晶体或包膜 DL-蛋氨酸均不能进一步提高利用豆粕替代饲料鱼粉的水平,表明蛋氨酸缺乏不是限制利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的首要因素。

参考文献:

- [1] Hertrampf J W, Piedad-Pascual F. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds [M]. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000: 482 - 483.
- [2] Gatlin D M, Barrows F T, Brown P, et al. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review [J]. Aquaculture Research, 2007, 38(6): 551 - 579.
- [3] Ji W X, Wang Y, Tang J Y. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) reared in sea water [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(1): 101 - 107. [纪文秀, 王岩, 唐金玉. 海水养殖花鲈对几种饲料蛋白原料的表观消化率. 水产学报, 2010, 34(1): 101 - 107.]
- [4] Francis G, Makkar H P S, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish [J]. Aquaculture, 2001, 199(3-4): 197 - 227.
- [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] Boonyaratpalin M, Suraneiranat P, Tulpibal T. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer* [J]. Aquaculture, 1998, 161(1-4): 67 - 78.
- [7] Wang Y, Kong L J, Li C, et al. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and carcass composition of cuneate drum (*Nibea miichthioides*) [J]. Aquaculture, 2006, 261(4): 1307 - 1313.
- [8] Tantikitti C, Sangpong W, Chiavareesajja S. Effects of defatted soybean protein levels on growth performance and nitrogen and phosphorus excretion in Asian seabass (*Lates calcarifer*) [J]. Aquaculture, 2005, 248(1-4): 41 - 50.
- [9] Glencross B D, Booth M, Allan G L. A feed is only as good as its ingredients—a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds [J]. Aquaculture Nutrition, 2007, 13(1): 17 - 34.
- [10] Gaylord T G, Barrows F T. Multiple amino acid supplementations to reduce dietary protein in plant-based rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, feeds [J]. Aquaculture, 2009, 287(1-2): 180 - 184.
- [11] Wang Y, Wang F, Ji W X, et al. Optimizing dietary protein sources for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) with an emphasis on using poultry by-product meal to substitute fish meal [J]. Aquaculture Research, 2013, DOI:10.1111/are.12242.
- [12] Li Y, Ai Q H, Mai K S, et al. Effects of the partial substitution of dietary fish meal by two types of soybean meals on the growth performance of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier 1828) [J]. Aquaculture Research, 2012, 43(3): 458 - 466.
- [13] Zhang Y Q, Ji W X, Wu Y B, et al. Replacement of dietary fish meal by soybean meal supplemented with crystalline methionine for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Aquaculture Research, 2014, DOI:10.1111/are.12486.
- [14] Zhang Y Q, Wu Y B, Jiang D L, et al. Gamma-irradiated soybean meal replaced more fish meal in the diets of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Animal Feed Science and Technology, 2014, 197: 155 - 163.
- [15] Chi S Y, Tan B P, Dong X H, et al. Effects of supplemental coated or crystalline methionine in low-

- fishmeal diet on the growth performance and body composition of juvenile cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus) [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2014, 32(6): 1297 - 1306.
- [16] Murai T, Ogata H, Hirasawa Y, et al. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force-fed complete diets containing casein or crystalline amino acids [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1987, 53(10): 1847 - 1859.
- [17] Zarate D D, Lovell R T. Free lysine 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.
- [18] López-Alvarado J, Langdon C J, Teshima S I, et al. Effects of coating and encapsulation of crystalline amino acids on leaching in larval feeds [J]. Aquaculture, 1994, 122(4): 335 - 346.
- [19] Segovia-Quintero M A, Reigh R C. Coating crystalline methionine with tripalmitin-polyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Aquaculture, 2004, 238(1-4): 355 - 367.
- [20] AOAC. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International [M]. 16th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- [21] Choi S M, Wang X J, Park G J, et al. Dietary dehulled soybean meal as a replacement for fish meal in fingerling and growing olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel) [J]. Aquaculture Research, 2004, 35(4): 410 - 418.
- [22] Kader M A, Bulbul M, Koshio S, et al. Effect of complete replacement of fish meal by dehulled soybean meal with crude attractants supplementation in diets for red sea bream, *Pagrus major* [J]. Aquaculture, 2012, 350 - 353(20): 109 - 116.
- [23] Liu Y J, Tian L X, Liu D H, et al. Influence of practical diet supplementation with free or coated lysine on the growth, plasma free amino acids and protein synthesis rates in the muscle of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2002, 26(3): 252 - 258. [刘永坚, 田丽霞, 刘栋辉, 等. 实用饲料补充结晶或包膜赖氨酸对草鱼生长、血清游离氨基酸和肌肉蛋白质合成率的影响. 水产学报, 2002, 26(3): 252 - 258.]
- [24] Leng X J, Tian J, Chen B A, et al. Comparison study on utilizing crystalline or coated methionine by tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 235 - 242. [冷向军, 田娟, 陈丙爱, 等. 罗非鱼对晶体蛋氨酸、包膜蛋氨酸利用的比较研究. 水生生物学报, 2013, 37(2): 235 - 242.]
- [25] Yuan Y C, Gong S Y, Yang H J, et al. Effects of supplementation of crystalline or coated lysine and/or methionine on growth performance and feed utilization of the Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus* [J]. Aquaculture, 2011, 316(1-4): 31 - 36.
- [26] Hu L, Xue M, Wang B, et al. Supplementations of crystallized amino acids improve potential of animal protein blend replacing fish meal in diet of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(2): 268 - 275. [胡亮, 薛敏, 王彬, 等. 晶体氨基酸提高混合动物蛋白替代花鲈饲料中鱼粉的潜力. 水产学报, 2011, 35(2): 268 - 275.]
- [27] Kaushik S J, Coves D, Dutto G, et al. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax* [J]. Aquaculture, 2004, 230(1-4): 391 - 404.

Effects of crystalline and capsulated DL-methionine on fish meal replacement with soybean meal in diets for Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*

ZHANG Yanqiu^{1,2}, JI Wenxiu³, WU Yubo¹, WANG Yan^{4*}

(1. College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Guangxi Key Laboratory of Beibu Gulf Marine Biodiversity Conservation, School of Ocean, Qinzhou University, Qinzhou 535000, China;

3. Ocean Research Center of Zhoushan, Zhejiang University, Zhoushan 316021, China;

4. Ocean College, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: An 8-week feeding trial was conducted to evaluate the effects of crystalline and capsulated DL-methionine on fish meal replacement with soybean meal in diets for Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*. A reference diet (control) was formulated to contain 40% fish meal. A 2 × 4 layout was used, including two fish meal replacement levels (40% or 80% of the fish meal in control diet were replaced with soybean meal) and four types of DL-Met supplementation (A: Crystalline DL-Met; B: Capsulated DL-Met; C: Crystalline DL-Met + capsule material; D: a premix containing B and C at 1:1). The 8 test diets were formulated isonitrogenous and isolipidic. 0.5% A, 1.3% B, 1.3% C or 1.3% D were added in diets LA, LB, LC and LD (dietary fish meal level was 24%), respectively, while 0.7% A, 1.8% B, 1.8% C or 1.8% D were added in diets HA, HB, HC and HD (dietary fish meal level was 8%). Initial body weight of Japanese seabass was (6.0 ± 0.1) g. Fish meal replacement level significantly affected weight gain (WG), feed intake (FI), feed conversion ratio (FCR), nitrogen retention efficiency (NRE), total nitrogen wastes output (TNW), hepatosomatic index (HSI) and proximate composition of whole fish ($P < 0.05$); while types of DL-Met affected total phosphorus wastes output (TPW) ($P < 0.05$). The WG and NRE decreased ($P < 0.05$), while the FCR and TNW increased, with increasing of fish meal replacement level, whether crystalline or capsulated DL-Met was added. At the same fish meal replacement level, no significant differences were found in the WG, FCR, NRE, CF, HSI, body composition, TNW and TPW between fish fed the diets with supplementation of A, B, C or D ($P > 0.05$). This study indicates that dietary fish meal level for Japanese seabass can be reduced to 24% when SBM was used as a fish meal substitute, and supplementation of crystalline or capsulated DL-Met could not enhance fish meal replacement level by SBM in diets for Japanese seabass.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; soybean meal; DL-methionine; growth; feed utilization efficiency

Corresponding author: WANG Yan. E-mail: ywang@zju.edu.cn