

DOI: 10.12264/JFSC2023-0007

角蛋白酶 DP-100 和 γ 射线辐照对利用羽毛粉替代大黄鱼饲料鱼粉的影响

于安澜¹, 王力¹, 陈子末¹, 雷明滔¹, 陶青燕², 王岩¹

1. 浙江大学海洋学院, 浙江 舟山 316021;

2. 诺伟司国际贸易(上海)有限公司, 上海 200080

摘要: 本研究评价了利用羽毛粉作为大黄鱼(*Larimichthys crocea*)饲料鱼粉替代蛋白源的潜力, 并探讨了角蛋白酶(DP-100)和 γ 射线辐照对替代效果的影响。采用双因素实验设计, 基础饲料 BD 鱼粉含量为 35%, 饲料 I0E0 利用水解羽毛粉替代 BD 中 30% 的鱼粉。在饲料 I0E0 中, 添加 1% DP-100 (饲料 I0E1), 或用 γ 射线辐照羽毛粉替代水解羽毛粉(饲料 I1E0), 或同时添加 1% DP-100 和用 γ 射线辐照羽毛粉替代水解羽毛粉(饲料 I1E1)。在 1 m×1 m×2 m 的实验网箱中进行 10 周饲养实验。实验鱼初始体重为 (19.7 ± 0.2) g ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n=15$), 放养密度为每口网箱 40 尾鱼。实验结果表明, 添加 1% DP-100 显著影响实验结束时鱼体重(FBW)、增重(WG)和摄食量(FI)($P<0.05$), 但 γ 射线辐照未对 FBW、WG 和 FI 产生显著影响($P>0.05$)。添加 DP-100、用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉以及二者交互作用对饲料系数(FCR)、饲料贮积效率(氮: NRE; 磷: PRE; 能量: ERE)、肥满度、肝体比(HSI)、脏体比(VSI)、全鱼组成、单位鱼产量鱼粉消耗量(RCP)以及养殖废物(氮和磷)排放量无显著影响($P>0.05$)。添加 DP-100 的 E1 组(I0E1 和 I1E1) 鱼的 FI、FBW 和 WG 高于未添加 DP-100 的 E0 组(I0E0 和 I1E0)($P<0.05$)。摄食饲料 BD 的鱼的 WG 高于摄食饲料 I0E0 和 I1E0 的鱼($P<0.05$), 但与摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼无显著差异($P>0.05$); 摄食饲料 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼 RCP 低于摄食饲料 BD 的鱼($P<0.05$), 但在 FCR、NRE、PRE、ERE、肥满度、HSI、VSI、鱼体组成、氮废物排放量和磷废物排放量方面与后者无显著差异($P>0.05$)。上述结果表明添加 DP-100 有利于改善大黄鱼对饲料中羽毛粉的利用, 而 γ 射线辐照处理未明显改善水解羽毛粉作为鱼粉替代蛋白源的效果。在添加 1% DP-100 的前提下, 通过添加 8.5% 的水解羽毛粉可将大黄鱼饲料鱼粉含量降低至 24.5%。

关键词: 鱼粉替代; 羽毛粉; 角蛋白酶 DP-100; γ 射线辐照; 生长; 食物利用; 养殖废物排放

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)05-0630-13

20 世纪 70 年代以来全球水产养殖规模迅速扩大, 投饵养殖在水产养殖产量中的比例逐年增加^[1], 水产饲料蛋白源短缺和环境污染问题日益突出。鱼粉是水产饲料配方中常用的优质蛋白源, 每年世界鱼粉产量的 70% 以上用于生产水产饲料^[1]。降低水产饲料, 特别是肉食性鱼类饲料中的鱼粉含量是过去 40 多年水产养殖研究的重要问题^[2-3]。现已证明通过合理使用一些陆生动物或植物蛋白原料, 如豆粕^[4]、鸡肉粉^[5]、大豆浓缩蛋白^[6]

和棉粕^[7]等可在一定程度上降低饲料鱼粉含量而不会导致鱼生长速度减慢。然而, 当利用羽毛粉作为替代蛋白源时则往往导致鱼生长和饲料利用效率明显下降^[8-10]。与鱼粉和鸡肉粉相比, 羽毛粉蛋白质含量高, 富含缬氨酸、精氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等必需氨基酸以及甘氨酸和脯氨酸等功能性氨基酸, 是一种性价比较高的蛋白原料^[8,11-14]。然而, 羽毛粉缺乏蛋氨酸和赖氨酸, 其蛋白质主要为角蛋白(包括 41% 的 α 角蛋白和 38% 的 β 角蛋

收稿日期: 2023-02-12; 修订日期: 2023-04-02.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD0900803); 舟山市科技计划项目(2019C81054).

作者简介: 于安澜(1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋资源与环境. E-mail: yuzhizhuxia@126.com

通信作者: 王岩, 教授, 研究方向水域生态系统生态学和可持续水产养殖模式. E-mail: ywang@zju.edu.cn

白与非定形角蛋白), 其中 α 角蛋白和 β 角蛋白通过二硫键紧密交联形成稳定、疏水性的超螺旋多肽链, 难以被胰蛋白酶和胃蛋白酶降解^[12-14]。Wang 等^[8]报道利用水解羽毛粉替代鲢状黄姑鱼(*Nibea miichthioides*)饲料鱼粉的水平明显低于鸡肉粉和肉骨粉的替代水平。

Zhang 等^[15]发现经 γ 射线辐照的豆粕比未辐照的豆粕能够替代花鲈(*Lateolabrax japonicus*)饲料中更多的鱼粉, Wu 等^[16-17]认为 γ 射线辐照可使豆粕和大豆浓缩蛋白中的一部分大分子蛋白转化为小分子蛋白。Ebrahimi-Mahmoudabad 等^[18]认为辐照可去除豆粕、棉粕和菜粕中的抗营养因子。Ren 等^[9-10]报道经 γ 射线辐照的水解羽毛粉比未辐照的水解羽毛粉能够替代大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)和卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)饲料中更多的鱼粉, 这意味着 γ 射线辐照可能是改善羽毛粉在水产饲料中利用效果的有效途径。蛋白酶可在特定位点切割肽链而将蛋白质降解成小分子的肽或氨基酸, 故一般认为添加外源蛋白酶有益于改善鱼类对饲料蛋白质的利用^[19], 但已有的研究结论尚未达成一致。一些研究指出在基于豆粕配方的大西洋鲑(*Salmo salar*)饲料中添加蛋白酶可显著提高鱼的生产性能和食物利用效率^[20]; 在银鲫(*Carassius auratus gibelio*)饲料中添加蛋白酶可降低饲料系数, 提高饲料磷的贮积效率^[21-22]; 在基于豌豆和菜籽配方的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)饲料中添加蛋白酶可提高蛋白质消化率^[23]。然而, 也有研究表明添加外源蛋白酶未对虹鳟饲料蛋白质消化率以及鱼的生长和饲料系数产生明显的正面影响^[24-25]。细菌、放线菌和真菌等微生物可分泌角蛋白酶^[12-14]。Lin 等^[26]确定了从地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) PWD-1 中分离出的角蛋白酶的基因序列, 在此基础上通过微生物发酵实现角蛋白酶的商业化生产。DP-100 是一种角蛋白酶商业产品, 在饲料中添加 DP-100 可改善猪的生产性能^[27]和肉鸡对植物蛋白原料的利用^[28], 但其在水产饲料中应用的研究报道尚不多见^[29]。

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)属石首鱼科、黄鱼属, 为暖温、洄游性、肉食性鱼类。我国大黄鱼人工养殖始于 20 世纪 90 年代, 2020 年国内养殖

产量达到 22.45 万 t, 居海水鱼类养殖产量之首^[30]。Duan 等^[31]报道初始体重为 0.6 g 的大黄鱼最适饲料蛋白质和脂肪水平分别为 47%和 11%, 随后围绕大黄鱼营养^[32-38]和饲料^[39-48]开展了大量的研究, 认为将饲料蛋白水平从 50%降低至 45%不会导致鱼类生长速度减慢^[36], 而利用肉骨粉、豆粕、花生粕、菜粕、鸡肉粉、虾壳粉、磷虾粉、玉米蛋白粉等可部分替代大黄鱼饲料中的鱼粉^[39-44, 46-47], 利用大豆浓缩蛋白或谷朊粉甚至可完全替代饲料鱼粉^[45, 48]。然而, 迄今养殖生产中仍未实现完全利用配合饲料全过程养殖大黄鱼。最近, Chen 等^[49]报道大黄鱼最适饲料蛋白质水平为 49%~52%, 指出以往研究^[31, 36]和现行配合饲料国家标准^[50]均明显低估了大黄鱼饲料蛋白水平。鉴于饲料蛋白水平可影响饲料鱼粉替代水平^[51], 而已发表的饲料鱼粉替代研究^[39-48]中所采用的实验饲料蛋白水平明显低于大黄鱼最适饲料蛋白水平^[49], 因此有必要对已有结果进行重新评价或验证。本研究报道了在最适饲料蛋白质水平下利用羽毛粉替代饲料鱼粉对大黄鱼摄食、生长、食物利用、鱼体组成和养殖废物排放的影响, 并评价了添加 DP-100 和 γ 射线辐照对改善羽毛粉替代鱼粉的效果, 以明确羽毛粉作为大黄鱼饲料蛋白源的可行性和应用潜力。

1 材料与方法

1.1 实验设计和饲料

采用 2×2 实验设计。以含 50%粗蛋白和 35%鱼粉的饲料 BD 为基础饲料, 按等蛋白替代原则利用水解羽毛粉替代饲料 BD 中 30%的鱼粉(饲料 I0E0)。在饲料 I0E0 中, 分别添加 1%的 DP-100 (饲料 I0E1); 或用 γ 射线辐照羽毛粉替代水解羽毛粉(饲料 I1E0); 或同时添加 1%的 DP-100 和用 γ 射线辐照羽毛粉替代水解羽毛粉(饲料 I1E1)。所用水解羽毛粉由美国峡谷蛋白公司(Vally Proteins)生产, 其他饲料原料, 如超级蒸汽鱼粉、去皮豆粕、宠物级鸡肉粉、血球蛋白粉、玉米蛋白粉、谷朊粉、高筋面粉和鱼油等购自浙江省德清县鸿利饲料有限公司(湖州, 浙江)。饲料原料营养组成见表 1。角蛋白酶 DP-100 (酶活 ≥ 600000 U/g)由

表 1 饲料原料营养组成
Tab. 1 Proximate composition of feed ingredients

饲料原料 feed ingredient	干物质 dry matter	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash
鱼粉 fish meal	92.3	67.6	9.4	14.9
豆粕 soybean meal	89.6	47.3	2.5	6.6
鸡肉粉 poultry by-product meal	95.3	68.4	12.8	11.3
面粉 wheat flour	86.5	12.7	1.3	0.6
羽毛粉 feather meal	93.9	83.5	7.1	1.7
辐照羽毛粉 irradiated feather meal	93.9	83.5	7.1	1.7
预混合蛋白 protein premix	92.1	61.5	4.7	6.9

注：粗蛋白、粗脂肪和灰分反映原料在储藏条件下的含量，数据为 2 次测定结果平均值。预混合蛋白由玉米蛋白粉、豆粕、血球蛋白粉和鸡肉粉配制而成。

Note: Crude protein, crude lipid and ash contents are expressed as the situation stored in air, and the data are mean of two measurements. The protein premix is a blend of corn gluten meal, soybean meal, blood meal and poultry by-product meal.

诺伟司国际公司(上海)提供; 利用佳翔辐照技术有限公司(杭州, 浙江)的 SQ(G)-852 钴(Co)放射源完成羽毛粉的 γ 射线辐照(辐照剂量为 15 kGy^[17])处理。

将饲料原料用高速粉碎机粉碎并过 80 目筛。根据所设计的实验饲料配方依次称重各原料并将其混合均匀(最后加入鱼油)。将手工混匀的饲料原料转入搅拌机中, 加入少量的水混合 10 min。利用中国水产科学研究院渔业机械研究所设计并生产的 SLP-45 小型单螺杆饲料膨化机制成直径为 3 mm、长度为 5 mm 的饲料颗粒。待饲料在室温下风干后, 将其收集、过筛并分装入密封塑料袋内。饲料使用前储存在冰箱(-20 ℃)中。实验饲料配方和营养组成见表 2。

1.2 实验鱼和饲养实验

2021 年 7—10 月在舟山市登步岛优辰水产养殖专业合作社(舟山, 浙江)进行饲养实验。所用大黄鱼幼鱼购自位于朱家尖的一家海水鱼类养殖场, 用活水船运至实验地点并在 3 m×3 m×3 m 的生产网箱内暂养 1 个月, 暂养期间每天分两次投喂由浙江大学水域生态系统与水产养殖实验室配方、德清县鸿利饲料有限公司生产的大黄鱼配合饲料(粗蛋白和粗脂肪含量分别 50%和 10%)。选择 1200 尾个体大小相近、体表无伤的鱼, 按每口网箱 60 尾鱼的密度驯养在 20 口实验网箱(1 m×1 m×2 m)中。驯养时间为 2 周, 其间每天 5:00 和 17:00 投喂基础饲料 BD。

实验开始时先将驯养的鱼停喂 24 h。每次捕捞 40 尾鱼, 群体称重后随机放入 15 口实验网箱中, 每种实验饲料设 3 个重复。实验鱼初始体重为(19.7±0.2) g ($\bar{x} \pm SD$, $n=15$)。放养完成后从剩余的驯养鱼中取 3 组鱼(每组 7 尾), 测量体长、体重、肝脏重和内脏团重后保存在冰箱(-20 ℃)中作为分析鱼体初始组成的样品。

饲养实验时间为 10 周, 期间每天 5:00 和 17:00 按饱食量投喂实验饲料。DP-100 保存在冰箱(4 ℃)中。每天早晨称重所需的 DP-100 以及饲料 I0E0 和 I1E0。将 DP-100 溶解在纯净水中, 然后将定量的 DP-100 均匀喷洒在饲料 I0E0 和 I1E0 并拌匀以制备 I0E1 和 I1E1。同时, 在等重量饲料 BD、I0E0 和 I1E0 上喷洒等量的纯净水。每天早、晚测定网箱内的水温和盐度。实验期间水温变化范围为 19.8~27.1 ℃ (25.9±0.2 ℃, $\bar{x} \pm SD$, $n=70$); 盐度变化范围为 29~30 (29.8±0.1, $\bar{x} \pm SD$, $n=70$)。饲养实验结束时将鱼停喂 24 h, 然后依次从每个网箱中将鱼捕出并群体称重。从每个网箱取 3 尾鱼, 测量体重、体长、肝脏重和内脏团重量后将其保存在-20 ℃下作为分析实验结束时鱼体组成的样品。

1.3 化学分析

实验鱼样品分析前先在室温下化冻、称重, 然后放入高压灭菌锅内蒸煮 20 min (120 ℃)。将蒸煮后的样品用食品搅拌机打成鱼浆, 放入烘箱内(105 ℃)烘干。分别用小型高速粉碎机将烘干的

表 2 实验饲料配方和营养组成

Tab. 2 Formulation and proximate composition of test diets

饲料原料 feed ingredient	饲料 diet					%
	BD	I0E0	I1E0	I0E1	I1E1	
鱼粉 fish meal	35.0	24.5	24.5	24.5	24.5	
羽毛粉 feather meal		8.5		8.5		
辐照羽毛粉 irradiated feather meal			8.5		8.5	
DP-100 酶 DP-100 enzyme				1.0	1.0	
预混合蛋白 protein premix	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	
豆粕 soybean meal	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	
鸡肉粉 poultry by-product meal	6.9	6.9	6.9	6.9	6.9	
面粉 wheat flour	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.8	1.8	1.8	1.8	1.8	
膨润土 bentonite	1.9	3.5	3.5	2.5	2.5	
氯化胆碱 choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
赖氨酸 lysine	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
蛋氨酸 methionine	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
维生素和矿物质预混料 vitamin and mineral premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
鱼油 fish oil	4.5	4.9	4.9	4.9	4.9	
营养组成 chemical composition						
干物质 dry matter	90.9	91.4	92.8	91.5	91.8	
粗蛋白 crude protein	49.7	50.0	50.6	50.6	50.8	
粗脂肪 crude lipid	9.5	9.2	10.0	9.1	9.3	
灰分 ash	11.2	11.4	11.5	11.1	11.4	
磷 phosphorus	1.9	1.8	1.8	1.8	1.8	
总能/(MJ/kg) gross energy	19	19	19	19	19	

注: BD 为基础饲料, 饲料 I0E0 为用水解羽毛粉替代 BD 中 30% 的鱼粉, 饲料 I0E1 为在饲料 I0E0 中添加 1% 的 DP-100, 饲料 I1E0 为用辐照羽毛粉替代 I0E0 中的水解羽毛粉, 饲料 I1E1 为同时添加 1% 的 DP-100 和用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉。

维生素和矿物质预混料为每千克饲料提供: 维生素 A, 8000 IU; 维生素 D₃, 2000 IU; 维生素 E, 100 mg; 维生素 K₃, 7.5 mg; 维生素 B₁, 15 mg; 维生素 B₂, 15 mg; 维生素 B₆, 12.5 mg; 维生素 B₁₂, 0.05 mg; 维生素 C, 140 mg; D-生物素, 0.25 mg; D-泛酸钙, 40 mg; 叶酸, 5 mg; 烟酰胺, 50 mg; 肌醇, 120 mg; 乙氧基喹啉, 5 mg; 硫酸亚铁, 40 mg; 五水硫酸铜, 25 mg; 四水硫酸锰, 10 mg; 硫酸锌, 100 mg; 七水硫酸镁, 200 mg; 碳酸钴, 0.35 mg; 碘化钾, 0.05 mg; 亚硒酸钠, 0.3 mg。

粗蛋白、粗脂肪、灰分、磷和总能表示为自然储存条件下饲料的含量, 数据为 2 次测定结果平均值。预混合蛋白由玉米蛋白粉、豆粕、血球蛋白粉和鸡肉粉配制而成。

Note: BD is the basal diet; I0E0 is the diet formulated by replacing 30% of fish meal in BD with feather meal; I0E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 in I0E0; I1E0 is the diet formulated by replacing feather meal in I0E0 with irradiated feather meal; I1E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 and replacing feather meal with irradiated feather meal in combination in I0E0.

Vitamin and mineral premix (per kg diet): vitamin A, 8000 IU; vitamin D₃, 2000 IU; vitamin E, 100 mg; vitamin K₃, 7.5 mg; vitamin B₁, 15 mg; vitamin B₂, 15 mg; vitamin B₆, 12.5 mg; vitamin B₁₂, 0.05 mg; vitamin C, 140 mg; D-biotin, 0.25 mg; D-calcium pantothenate, 40 mg; folic acid, 5 mg; niacinamide, 50 mg; inositol, 120 mg; ethoxyquin, 5 mg; FeSO₄, 40 mg; CuSO₄·5H₂O, 25 mg; MnSO₄·4H₂O, 10 mg; ZnSO₄, 100 mg; MgSO₄·7H₂O, 200 mg; CoCO₃, 0.35 mg; KI, 0.05 mg; Na₂SeO₃, 0.3 mg.

Crude protein, crude lipid, ash, phosphorus and gross energy contents are expressed as the situation stored in air, and the data are mean of two measurements. The protein premix is a blend of corn gluten meal, soybean meal, blood meal and poultry by-product meal.

饲料原料、饲料和实验鱼样品粉碎并过 40 目筛。按照 AOAC 方法^[52]分析水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分和能量含量。其中, 粗蛋白用 Foss-8400 全自动凯氏定氮仪(FOSS, 瑞典)测定; 粗脂肪用 SZF-06A 粗脂肪分析仪(上海新嘉电子有限公司, 中国)测定; 总能用 Parr-6200 氧弹仪(Parr, 美国)

测定。

1.4 数据计算与统计分析

摄食率(FI)、增重(WG)、饲料系数(FCR)、营养物质(氮: NRE; 磷: PRE)或能量(ERE)贮积效率、肥满度(CF)、肝体比(HSI)、脏体比(VSI)、养殖废物排放量(氮: NW; 磷: PW)和单位鱼产量鱼

粉消耗量(RCP)按下列公式计算:

$$FI(\%/d)=100\times[I/(N_t+N_0)/2]/[t\times(W_0/N_0+W_t/N_t)/2]$$

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

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

$$NRE(\%)=100\times(W_t/N_t\times C_{Nt}-W_0/N_0\times C_{N0})/[2\times I/(N_t+N_0)\times C_{Nf}]$$

$$PRE(\%)=100\times(W_t/N_t\times C_{Pt}-W_0/N_0\times C_{P0})/[2\times I/(N_t+N_0)\times C_{Pf}]$$

$$ERE(\%)=100\times(W_t/N_t\times C_{Et}-W_0/N_0\times C_{E0})/[2\times I/(N_t+N_0)\times C_{Ef}]$$

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

$$HSI(\%)=100\times W_L/W_s$$

$$VSI(\%)=100\times W_V/W_s$$

$$NW[g\ N/kg\ 鱼\ 产量]=1000\times[2\times I/(N_t+N_0)\times C_{Nf}/6.25]\times(1-NRE)/(W_t/N_t-W_0/N_0)$$

$$PW[g\ P/kg\ 鱼\ 产量]=1000\times[2\times I/(N_t+N_0)\times C_{Pf}]\times(1-PRE)/(W_t/N_t-W_0/N_0)$$

$$RCP[g\ 鱼\ 粉/g\ 鱼\ 产量]=[2\times I/(N_t+N_0)\times FL]/(W_t/N_t\times DMF_t-W_0/N_0\times DMF_0)$$

式中, $I(g)$ 为每个网箱内投喂的饲料质量; $W_0(g)$ 和 $W_t(g)$ 分别为实验开始和结束时网箱内实验鱼体重; $N_0(g)$ 和 $N_t(g)$ 分别为实验开始和结束时网箱内实验鱼尾数; $t(d)$ 为实验时间; $W_d(g)$ 为网箱内的死鱼重量; $C_{N_0}(\%)$ 和 $C_{N_t}(\%)$ 分别为实验开始和结束时鱼体的粗蛋白含量; $C_{P_0}(\%)$ 和 $C_{P_t}(\%)$ 分别为实验开始和结束时鱼体的磷含量; $C_{E_0}(KJ/g)$ 和 $C_{E_t}(KJ/g)$ 分别为实验开始和结束时鱼体的总能含量; $C_{Nf}(\%)$ 、 $C_{Pf}(\%)$ 和 $C_{Ef}(KJ/g)$ 分别为饲料的粗蛋白、磷和总能含量; $W_s(g)$ 、 $L_s(cm)$ 、 $W_L(g)$ 和 $W_V(g)$ 分别为实验开始和结束时所取样品鱼的体重、体长、肝重和内脏团重; $FL(\%)$ 为饲料中鱼粉的干物质含量; $DMF_0(\%)$ 和 $DMF_t(\%)$ 分别为实验开始和结束时鱼体的干物质含量。

将表示为百分数的数据进行反正弦变换, 然后对所有数据进行方差齐性(Levene's test)和正态分布(Kolmogorov-Smirnov test)检验。采用双因素方差分析(two-way ANOVA)方法检验添加 DP-100、用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉以及二者交互作用对增重、摄食率、饲料系数、饲料营养物质和能量贮积效率、肥满度、肝体比、脏体比、鱼体组成、单位鱼产量饲料鱼粉消耗量和养殖废物排放量的影响, 若处理效应显著, 采用邓肯检验(Duncan's test)进一步比较添加 DP-100 或用辐

照羽毛粉替代水解羽毛粉的影响。采用邓尼特检验(Dunnett test)比较基础饲料(BD)和低鱼粉饲料(I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1)之间上述指标的差异。基于增重、饲料系数、RCP 和 NW 进行聚类分析比较不同饲料的养殖生产性能。利用 SPSS 25.0 软件完成方差分析、邓尼特检验和聚类分析, 取 $P<0.05$ 为差异显著性水平。

2 结果与分析

2.1 成活率、摄食、生长和饲料利用效率

实验期间, 摄食饲料 BD、I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼成活率分别为(85±11)%、(66±16)%、(76±5)%、(78±8)%和(89±2)%。从表 3 可见, 添加 DP-100 显著影响实验鱼的终体重(FBW)、WG 和 FI ($P<0.05$), 但未导致 FCR、NRE、PRE 和 ERE 发生显著变化($P>0.05$)。以辐照羽毛粉替代水解羽毛粉及其与添加 1% DP-100 的交互作用对 FBW、WG、FI、FCR、NRE、PRE 和 ERE 无显著影响($P>0.05$)。摄食含 1% DP-100 的低鱼粉饲料(I0E1 和 I1E1)的鱼 FI、FBW 和 WG 高于摄食未添加 DP-100 的低鱼粉饲料(I0E0 和 I1E0)的鱼 ($P<0.05$)。摄食饲料 BD 鱼的 FBW 和 WG 与摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼无显著差异($P>0.05$), 但显著高于摄食饲料 I0E0 和 I1E0 的鱼($P<0.05$)。摄食饲料 BD 鱼的 FI 低于摄食饲料 I0E1 的鱼($P<0.05$), 但与摄食饲料 I0E0、I1E0 和 I1E1 的鱼无显著差异($P>0.05$)。摄食饲料 BD 的鱼与摄食饲料 I0E1、I1E0、I0E0 和 I1E1 的鱼在 FCR、NRE、PRE 和 ERE 方面无显著差异($P>0.05$)。

2.2 肥满度、HSI、VSI 和鱼体组成

从表 4 可见, 添加 1% DP-100、用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉以及二者间的交互作用对肥满度、HSI、VSI 和鱼体组成(水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分和能量含量)无显著影响($P>0.05$)。摄食饲料 BD 的鱼与摄食饲料 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼在肥满度、HSI、VSI 和鱼体组成方面无显著差异($P>0.05$)。

2.3 饲料鱼粉消耗、养殖废物排放量和养殖生产性能

从表 5 可见, 添加 1% DP-100、用辐照羽毛粉

替代水解羽毛粉以及二者间的交互作用对 RCP、NW 和 PW 无显著影响($P>0.05$)。摄食饲料 BD 的鱼 RCP 显著高于摄食饲料 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼($P<0.05$), 但其 NW 和 PW 与后者无显著差异($P>0.05$)。从图 1 可见, 饲料 I1E1 的养殖生产性能接近饲料 I0E1, 而饲料 I0E0 的养殖生产性能接近饲料 I1E0。与饲料 BD 相比, 饲料 I0E1 和 I1E1 的养殖生产性能与饲料 I0E0 和 I1E0 较为接近。

表 3 不同饲料组大黄鱼摄食、生长和饲料利用效率

Tab. 3 Feed intake, growth and feed utilization efficiencies of *Larimichthys crocea* fed with different test diets

$n=3$; $\bar{x} \pm SD$

饲料 diet	鱼末体重/g final body weight	增重/g weight gain	摄食率/(%/d) feed intake	饲料系数 FCR	氮贮积效率/% NRE	磷贮积效率/% PRE	能量贮积效率/% ERE
BD	66.1±1.3	46.5±1.6	1.69±0.08	1.10±0.04	29.31±1.63	32.57±2.55	31.39±1.41
I0E0	57.3±2.0 [*]	37.5±2.4 [*]	1.77±0.25	1.28±0.13	25.75±3.10	35.99±6.19	26.30±4.83
I1E0	56.3±1.2 [*]	36.7±1.1 [*]	1.70±0.17	1.26±0.15	25.07±3.66	35.72±4.00	25.00±2.43
I0E1	63.3±2.7	43.6±2.9	2.08±0.09 [*]	1.31±0.08	25.12±2.61	31.45±2.10	25.00±2.21
I1E1	62.8±0.2	43.1±0.4	1.95±0.11	1.28±0.06	24.68±1.02	29.17±6.36	26.21±1.14
E0	56.8 ^β	37.1 ^β	1.74 ^β	1.27	25.41	35.85	25.65
E1	63.0 ^α	43.3 ^α	2.02 ^α	1.29	24.90	30.31	25.61
双因素方差分析 two-way ANOVA							
DP-100 酶 DP-100 enzyme	0.000	0.001	0.022	0.710	0.761	0.090	0.981
辐照 irradiation	0.466	0.576	0.334	0.747	0.737	0.669	0.978
交互作用 interaction	0.833	0.937	0.766	0.940	0.941	0.734	0.488

注: BD 为基础饲料, 饲料 I0E0 为用水解羽毛粉替代 BD 中 30% 的鱼粉, 饲料 I0E1 为在饲料 I0E0 中添加 1% 的 DP-100, 饲料 I1E0 为用辐照羽毛粉替代 I0E0 中的水解羽毛粉, 饲料 I1E1 为同时添加 1% 的 DP-100 和用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉。上标字母表示 Duncan's test (E0 与 E1 之间) 结果, 同列数据中上标字母不同者表示处理间差异显著($P<0.05$)。星号表示 Dunnett test (BD 与 I0E0、I0E1 和 I1E1 之间) 结果, 同列数据中上标星号者表示其与 BD 差异显著($P<0.05$)。E1 (包括 I0E1 和 I1E1) 和 E0 (包括 I0E0 和 I1E0) 分别指添加或不添加 1% DP-100 的饲料。

Note: BD is the basal diet; I0E0 is the diet formulated by replacing 30% of fish meal in BD with feather meal; I0E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 in I0E0; I1E0 is the diet formulated by replacing feather meal in I0E0 with irradiated feather meal; I1E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 and replacing fetaher meal with irradiated feather meal in combination in I0E0. E1 (including I0E1 and I1E1) and E0 (including I0E0 and 和 I1E0) are the diets with or without 1% DP-100 addition. The superscript represent the results of Duncan's test between E0 and E1 (Greek alphabet) or Dunnett test between BD and I0E0, I1E0, I0E1 or I1E1 (asterisk). The data in the same column with different superscripts are significant ($P<0.05$).

表 4 不同饲料组大黄鱼肥满度、肝体比、脏体比和鱼体组成

Tab. 4 Condition factor, hepatosomatic index, viscerosomatic index and body composition of *Larimichthys crocea* in different diet groups

饲料 diet	肥满度/(g/cm ³) condition factor	肝体比/% hepatosomatic index	脏体比/% viscerosomatic index	水分/% moisture	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	灰分/% ash	磷/% phosphorus	总能/(MJ/kg) gross energy
Initial	1.55±0.10	1.06±0.34	3.81±1.08	79.7±1.0	14.1±0.6	2.5±0.4	3.5±0.1	0.82±0.02	4.45±0.19
BD	1.57±0.05	0.87±0.11	3.43±0.36	75.7±0.2	15.4±0.2	6.2±0.2	3.1±0.0	0.72±0.02	5.86±0.05
I0E0	1.48±0.09	0.75±0.06	3.58±0.66	76.2±0.8	15.6±0.2	5.5±0.7	3.2±0.0	0.83±0.06	5.64±0.34
I1E0	1.54±0.13	0.80±0.26	3.99±0.60	76.7±0.3	15.2±0.4	5.6±0.6	3.2±0.2	0.81±0.01	5.50±0.14
I0E1	1.50±0.36	0.85±0.05	3.83±1.13	76.0±0.5	15.8±0.5	5.8±0.7	3.2±0.1	0.77±0.04	5.69±0.22
I1E1	1.49±0.32	0.85±0.25	3.51±0.77	76.2±0.3	15.4±0.4	6.5±0.2	3.0±0.0	0.72±0.06	5.81±0.03

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

饲料 diet	肥满度/(g/cm ³) condition factor	肝体比/% hepatosomatic index	脏体比/% viscerosomatic index	水分/% moisture	粗蛋白/% crude protein	粗脂肪/% crude lipid	灰分/% ash	磷/% phosphorus	总能/(MJ/kg) gross energy
双因素方差分析 two-way ANOVA									
DP-100 酶 DP-100 enzyme	0.924	0.486	0.808	0.436	0.167	0.232	0.062	0.264	0.436
辐照 irradiation	0.849	0.869	0.926	0.219	0.341	0.484	0.372	0.940	0.219
交互作用 interaction	0.794	0.798	0.469	0.972	0.465	0.256	0.649	0.421	0.972

注: BD 为基础饲料, 饲料 I0E0 为用水解羽毛粉替代 BD 中 30% 的鱼粉, 饲料 I0E1 为在饲料 I0E0 中添加 1% 的 DP-100, 饲料 I1E0 为用辐照羽毛粉替代 I0E0 中的水解羽毛粉, 饲料 I1E1 为同时添加 1% 的 DP-100 和用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉。
Note: BD is the basal diet; I0E0 is the diet formuated by replacing 30% of fish meal in BD with feather meal; I0E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 in I0E0; I1E0 is the diet formuated by replacing feather meal in I0E0 with irradiated feather meal; I1E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 and replacing fetaher meal with irradiated feather meal in combination in I0E0.

表 5 不同饲料组大黄鱼饲料鱼粉消耗量和养殖废物排放量
Tab. 5 Fish meal consumption and waste outputs of *Larimichthys crocea* in different diet groups
n=3; $\bar{x} \pm SD$

饲料 diet	单位鱼产量鱼粉消耗量 ratio of fish meal consumption to fish production	氮废物排放量 nitrogen waste	磷废物排放量 phosphorus waste
BD	1.46±0.07	61.9±3.6	14.15±1.01
I0E0	1.21±0.20 [*]	76.2±11.2	14.96±2.76
I1E0	1.20±0.12 [*]	76.7±12.3	14.79±2.57
I0E1	1.22±0.09 [*]	79.3±7.6	16.27±1.18
I1E1	1.20±0.05 [*]	78.3±4.5	16.57±2.28
双因素方差分析 two-way ANOVA			
DP-100 酶 DP-100 enzyme	0.965	0.674	0.275
辐照 irradiation	0.860	0.957	0.957
交互作用 interaction	0.930	0.892	0.864

注: BD 为基础饲料, 饲料 I0E0 为用水解羽毛粉替代 BD 中 30% 的鱼粉, 饲料 I0E1 为在饲料 I0E0 中添加 1% 的 DP-100, 饲料 I1E0 为用辐照羽毛粉替代 I0E0 中的水解羽毛粉, 饲料 I1E1 为同时添加 1% 的 DP-100 和用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉. 星号表示 Dunnett test (BD 与 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 之间)结果, 同列数据中上标星号者表示其与 BD 差异显著($P<0.05$).
Note: BD is the basal diet; I0E0 is the diet formuated by replacing 30% of fish meal in BD with feather meal; I0E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 in I0E0; I1E0 is the diet formuated by replacing feather meal in I0E0 with irradiated feather meal; I1E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 and replacing fetaher meal with irradiated feather meal in combination in I0E0. The superscript represent the result of Dunnett test between BD and I0E0, I1E0, I0E1 or I1E1 (asterisk). The data in the same column with different asterisk are significant from BD ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 利用羽毛粉替代大黄鱼饲料中鱼粉的潜力

目前, 通常以“对照饲料中鱼粉可被其他原料所代替的最大百分比”来表示饲料鱼粉能够被替代的水平^[39-48]。然而, 当对照饲料中鱼粉含量偏高时, 往往出现可被替代的鱼粉百分比和饲料鱼粉绝对含量均较高的现象, 即饲料鱼粉可替代水平会因对照组鱼粉含量偏高而被高估, 因此 Wang 等^[8]建议用添加替代原料后能够实现的最低饲料鱼粉含量来反映某种原料替代鱼粉的潜

力。此外, 在鱼类饲养实验中, 不同处理组间的生长差异是否显著, 既取决于组间的生长差异, 又取决于同一处理组内不同重复间的生长差异。当同一处理组内不同重复间的生长差异较大时, 往往会掩盖不同处理组间的生长差异。鱼类养殖产量等于个体平均增重、放养密度和成活率三者的乘积, 当养殖密度(放养密度和成活率的乘积)较大时, 较小的个体生长差异就会导致较大的养殖产量和效益方面的差异。根据鱼类养殖生产的实际情况, 本研究设大黄鱼个体生长变化的阈值为 10%, 当摄食基础饲料和低鱼粉饲料的鱼个体生

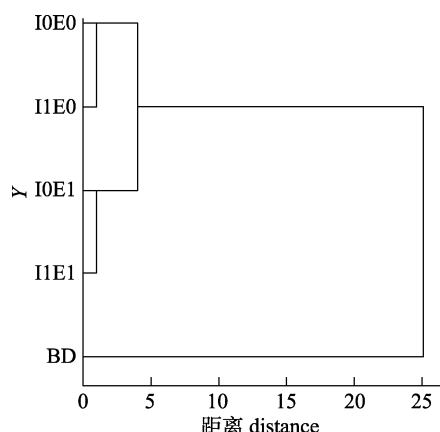


图1 不同饲料组大黄鱼养殖生产性能

BD 为基础饲料, 饲料 I0E0 为用水解羽毛粉替代 BD 中 30% 的鱼粉, 饲料 I0E1 为在饲料 I0E0 中添加 1% 的 DP-100, 饲料 I1E0 为用辐照羽毛粉替代 I0E0 中的水解羽毛粉, 饲料 I1E1 为同时添加 1% 的 DP-100 和用辐照羽毛粉替代水解羽毛粉。

Fig. 1 Production performance of *Larimichthys crocea* fed different kinds of meal

Note: BD is the basal diet; I0E0 is the diet formulated by replacing 30% of fish meal in BD with feather meal; I0E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 in I0E0; I1E0 is the diet formulated by replacing feather meal in I0E0 with irradiated feather meal; I1E1 is the diet formulated by adding 1% DP-100 and replacing feather meal with irradiated feather meal in combination in I0E0.

长差异超过 10% 后, 即使二者个体生长差异在统计学上不显著, 仍判定二者间生长存在差异。

以往研究指出, 利用肉骨粉^[39]、虾壳粉^[42]、玉米蛋白粉^[43]、磷虾粉^[44]和发酵豆粕^[47]作为替代原料时, 可将大黄鱼饲料中的鱼粉含量分别降低至 30%、28%、10%、10% 和 22%, 部分研究认为利用大豆浓缩蛋白^[45]和谷朊粉^[46]可完全替代饲料鱼粉。本研究中, 摄食饲料 BD 鱼的 WG 显著高于摄食饲料 I0E0 和 I1E0 的鱼 ($P < 0.05$), 但与摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼无显著差异 ($P > 0.05$); 与摄食饲料 BD 的鱼相比, 摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼 WG 分别下降了 6.4% 和 7.5%, 但低于允许的个体生长变化阈值 (10%)。根据上述结果, 认为直接添加水解羽毛粉或 γ 射线辐照羽毛粉不能将大黄鱼饲料鱼粉含量降低至 24.5%, 而结合添加 1% 的 DP-100 可将饲料鱼粉含量降低至这一水平。相比之下, 利用 γ 射线辐照羽毛粉作为替代原料时可将大口黑鲈^[9]和卵形鲳鲹^[10]饲料鱼粉含量分别降低至 18% 和 20%。因此, 初步认为利用羽毛粉可替代大黄鱼饲料鱼粉的水平低于利用羽毛粉替

代大口黑鲈和卵形鲳鲹饲料鱼粉的水平。

3.2 添加 DP-100 和 γ 射线辐照处理改善大黄鱼对饲料中羽毛粉利用的效果

有关外源蛋白酶改善鱼类对羽毛粉利用效果的研究尚未见报道。本研究中, 添加 1% 的 DP-100 均明显改善了鱼的生长, 表明 DP-100 对改善大黄鱼利用饲料中的羽毛粉 (水解羽毛粉或 γ 射线辐照羽毛粉) 具有正面的影响。根据这一结果, 初步推测添加角蛋白酶 DP-100 有益于提高利用羽毛粉替代大黄鱼饲料鱼粉的水平。

对鲢状黄姑鱼的研究结果表明, 导致鱼类生长速度减慢的饲料羽毛粉含量明显低于饲料鸡肉粉和肉骨粉含量^[8], 甚至低于饲料豆粕含量^[4], 表明在饲料中添加少量的羽毛粉便有可能对鱼的生长产生明显的负面影响。不同鱼类种类饲料中可添加的羽毛粉最高含量不同。例如, 在饲料中添加 3.5% 的水解羽毛粉即可导致鲢状黄姑鱼生长速度明显下降^[8], 而在大口黑鲈^[9]、点带石斑鱼^[11]、虹鳟^[53]、欧洲舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*)^[54]、日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*)^[55] 饲料中分别添加 5.3%、9.4%、15%、12.5% 和 5.9% 的水解羽毛粉不会对鱼的生长产生明显的负面影响。与水解羽毛粉相比, γ 射线辐照羽毛粉可替代大口黑鲈^[9]和卵形鲳鲹^[10]饲料中更多的饲料鱼粉^[9-10]。本研究中, 利用 γ 射线辐照羽毛粉替代水解羽毛粉未明显改善大黄鱼的生长, 这一结果与针对大口黑鲈^[9]和卵形鲳鲹^[10]的研究结论不一致, 初步分析与本研究中所使用的辐照羽毛粉在辐照处理后放置了较长的时间有关, 具体原因和机理有待进一步探讨。

3.3 利用羽毛粉替代饲料鱼粉对大黄鱼饲料利用效率的影响

本研究中, 摄食饲料 BD 鱼的 FI 低于摄食饲料 I0E1 的鱼, 但其 FCR、NRE 和 PRE 与摄食饲料 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼无显著差异; 摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼 FI 和 WG 均高于摄食饲料 I0E0 和 I1E0 的鱼。这些结果表明, 无论是利用水解羽毛粉还是 γ 射线辐照羽毛粉替代饲料鱼粉, 均不会显著降低大黄鱼的摄食量, 但会导致其 FCR 升高。在低鱼粉饲料中添加 1% 的 DP-100 能够提高鱼的摄食量和生长速度, 究竟是通过促

进大黄鱼摄食进而促进了生长, 还是通过促进大黄鱼生长进而增加食欲尚难确定。Wang 等^[5]报道利用羽毛粉替代鲢状黄姑鱼饲料鱼粉会导致 FCR 升高。本研究中, 摄食饲料 BD 的鱼 FCR 略低于摄食饲料 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼, 但与后者无显著差异。这一结果与对鲢状黄姑鱼研究的结论趋于一致。以往研究报道摄食高鱼粉饲料(对照饲料)的大黄鱼(初始体重为 8.0~15.9 g) FI 为 1.14%~2.67% BW/d, FCR 为 0.89~1.74^[43,45,47,56-59]。本研究中, 摄食饲料 BD 的鱼 FI 为 1.69% BW/d, FCR 为 1.10, 在已报道的大黄鱼 FI 和 FCR^[43,45,47,56-59]范围内, 表明实验鱼摄食正常。

3.4 利用羽毛粉替代饲料鱼粉对大黄鱼形态和组成的影响

本研究中, 摄食饲料 BD 的鱼与摄食饲料 I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 的鱼在肥满度、HSI、VSI 以及全鱼粗蛋白、粗脂肪、灰分和能量含量方面无显著差异, 表明利用水解羽毛粉或 γ 射线辐照羽毛粉替代饲料鱼粉不会导致大黄鱼肥满度、HSI、VSI 和鱼体营养物质组成发生明显变化。对鲢状黄姑鱼^[8]、点带石斑鱼^[11]、大口黑鲈^[9]、虹鳟^[53]和欧洲舌齿鲈^[54]的研究结果表明利用水解羽毛粉替代饲料鱼粉不会显著影响鱼体的营养物质组成, 但 Ren 等^[10]报道利用 γ 射线辐照羽毛粉替代饲料鱼粉导致卵性鲢鱼体蛋白质含量下降。结合已有研究结果, 初步认为在饲料中添加羽毛粉不会对大黄鱼外形、肝脏和内脏组织大小以及鱼体营养组成产生负面的影响。

3.5 利用羽毛粉替代饲料鱼粉对大黄鱼养殖产业可持续发展的影响

随着投饵养殖规模的不断扩大, 鱼类养殖产业对鱼粉的依赖性和对环境的影响不断增加, 其发展的可持续性受到广泛关注^[1]。水产养殖对鱼粉的依赖性可用单位鱼产量的鱼粉消耗量(RCP)来评价, 对环境的影响可用养殖废物排放量来评价^[5]。对花鲈^[5,15]、卵性鲢^[6,60]、日本黄姑鱼^[55]和大口黑鲈^[9]的研究结果表明, 合理替代饲料鱼粉可明显减少鱼类养殖对野生鱼类资源的依赖程度, 增加水产品的净供给^[5-6,9,15,55,60]。对鲢状黄姑鱼^[51]、点带石斑鱼^[11]、花鲈^[5,15]、卵性鲢^[6,60]、

日本黄姑鱼^[55]和大口黑鲈^[9]的研究结果表明, 饲料鱼粉替代物对养殖废物排放量的影响因鱼类种类、替代饲料原料种类和鱼粉替代水平而异。例如, 通过添加鸡肉粉将花鲈饲料鱼粉含量降低至 8%未显著影响氮废物排放量, 但导致磷废物排放量增加^[5]; 利用大豆浓缩蛋白替代卵形鲳鲷饲料鱼粉未对氮废物排放量产生显著影响, 但可减少磷废物排放量^[6]; 利用鸡肉粉替代点带石斑鱼饲料鱼粉未对氮废物排放量产生显著影响, 但利用羽毛粉作为鱼粉替代蛋白源时导致氮废物排放量增加^[11]; 利用豆粕替代卵形鲳鲷饲料鱼粉增加了氮废物排放量, 但减少了磷废物排放量^[60]。最近, Ren 等^[9-10]报道利用水解羽毛粉或 γ 射线辐照羽毛粉替代大口黑鲈和卵形鲳鲷饲料鱼粉未显著影响氮废物排放量, 但导致磷废物排放量减少。本研究中, 摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼 RCP 显著低于摄食饲料 BD 的鱼, 但其氮、磷废物排放量与后者无显著差异, 表明通过添加水解羽毛粉或 γ 射线辐照羽毛粉将饲料鱼粉含量从 35.0%降低至 24.5%时明显降低了大黄鱼养殖对鱼粉的依赖程度, 但未增加养殖的氮、磷污染。这一结果与对大口黑鲈^[9]和卵形鲳鲷^[10]的研究结论一致。

Zhang 等^[15]认为采用多指标综合评价比根据单一指标(如 WG、FCR 和 NRE 等)评价能够更客观地反映饲料鱼粉替代对养殖生产的影响, 提出从生长(WG)、饲料成本(FCR)、品质(肥满度)和养殖污染(单位鱼产量的氮废物排放量)等 4 个方面综合比较养殖生产性能的方法。由于饲料鱼粉替代通常不会导致鱼体肥满度发生明显变化^[5-6,9,11,15,51,54-55], 张静雅等^[61]将评价指标调整为生长(WG)、饲料成本(FCR)、养殖污染(单位鱼产量的氮废物排放量)和单位鱼产量鱼粉消耗量(RCP)。本研究综合生长、饲料成本、养殖污染和渔业资源消耗比较了投喂饲料 BD、I0E0、I1E0、I0E1 和 I1E1 时的养殖生产性能, 发现相比于饲料 BD, 饲料 I0E1 和 I1E1 的养殖生产性能与饲料 I0E0 和 I1E0 较为接近, 这一结果与根据生长(摄食饲料 I0E1 和 I1E1 的鱼 WG 较摄食饲料 BD 的鱼分别下降了 6.4%和 7.5%, 较摄食饲料 I0E0 和 I1E0 的鱼分别增加了 16.3%和 17.4%)得出的评价

结果并不一致, 初步反映出单一指标方法和多指标综合方法在评价鱼类养殖生产性能方面的差异和互补性。

4 结论

本研究发现添加 DP-100 有益于改善大黄鱼对饲料羽毛粉的利用, 同时添加 1% 的 DP-100 和 8.5% 的水解羽毛粉可将大黄鱼饲料鱼粉含量降低至 24.5%。与添加 DP-100 相比, γ 射线辐照处理未能增加羽毛粉替代大黄鱼饲料鱼粉的水平。

参考文献:

- [1] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020[R]. Rome: FAO, 2020: 1-204.
- [2] Jannathulla R, Rajaram V, Kalanjiam R, et al. Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources[J]. Aquaculture Research, 2019, 50(12): 3493-3506.
- [3] Naylor R L, Hardy R W, Buschmann A H, et al. A 20-year retrospective review of global aquaculture[J]. Nature, 2021, 591(7851): 551-563.
- [4] 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.
- [5] Wang Y, Wang F, Ji W X, et al. Optimizing dietary protein sources for Japanese Sea bass (*Lateolabrax japonicus*) with an emphasis on using poultry by-product meal to substitute fish meal[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(4): 874-883.
- [6] Ren X, Zhu M, Wu Y B, et al. The optimal dietary lipid level for golden pompano *Trachinotus ovatus* fed the diets with fish meal replaced by soy protein concentrate[J]. Aquaculture Research, 2021, 52(7): 3350-3359.
- [7] Anderson A D, Alam M S, Watanabe W O, et al. Full replacement of menhaden fish meal protein by low-gossypol cottonseed flour protein in the diet of juvenile black sea bass *Centropristis striata*[J]. Aquaculture, 2016, 464: 618-628.
- [8] Wang Y, Guo J L, Bureau D P, et al. Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients in feeds for cuneate drum (*Nibea miichthioides*)[J]. Aquaculture, 2006, 252(2-4): 476-483.
- [9] Ren X, Huang D, Wu Y B, et al. Gamma ray irradiation improves feather meal as a fish meal alternate in largemouth bass *Micropterus salmoides* diet[J]. Animal Feed Science and Technology, 2020, 269: 114647.
- [10] Ren X, Zhu M, Wu Y B, et al. Increasing fish meal replacement level with feather meal in golden pompano *Trachinotus ovatus* diet through gamma-ray irradiation[J]. Aquaculture Research, 2022, 53(2): 518-527.
- [11] Li K, Wang Y, Zheng Z X, et al. Replacing fish meal with rendered animal protein ingredients in diets for Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus*, reared in net pens[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2009, 40(1): 67-75.
- [12] Onifade A A, Al-Sane N A, Al-Musallam A A, et al. A review: Potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources[J]. Bioresource Technology, 1998, 66(1): 1-11.
- [13] Kornilowicz-Kowalska T, Bohacz J. Biodegradation of keratin waste: Theory and practical aspects[J]. Waste Management, 2011, 31(8): 1689-1701.
- [14] Daroit D J, Brandelli A. A current assessment on the production of bacterial keratinases[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2014, 34(4): 372-384.
- [15] 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.
- [16] Wu Y, Wang Y, Ren G, et al. Improvement of fish meal replacements by soybean meal and soy protein concentrate in golden pompano diet through γ -ray irradiation[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(4): 873-880.
- [17] Wu Y B, Ren G, Qin J G, et al. The suitable dose of gamma irradiation on soybean meal as a fish meal substitute in diets for golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. Aquaculture Research, 2016, 47(6): 1944-1953.
- [18] Ebrahimi-Mahmoudabad S R, Taghinejad-Roudbanel M. Investigation of electron beam irradiation effects on anti-nutritional factors, chemical composition and digestion kinetics of whole cottonseed, soybean and canola seeds[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2011, 80(12): 1441-1447.
- [19] Zheng C C, Wu J W, Jin Z H, et al. Exogenous enzymes as functional additives in finfish aquaculture[J]. Aquaculture Nutrition, 2020, 26(2): 213-224.
- [20] Carter C G, Houlihan D F, Buchanan B, et al. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed a diet containing supplementary enzymes[J]. Aquaculture Research, 1994, 25(1): 37-46.
- [21] Shi Z, Li X Q, Kabir Chowdhury M A, et al. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*[J]. Aquaculture, 2016, 460: 37-44.

- [22] Liu W, Wu J P, Li Z, et al. Effects of dietary coated protease on growth performance, feed utilization, nutrient apparent digestibility, intestinal and hepatopancreas structure in juvenile Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(1): 47-55.
- [23] Drew M D, Racz V J, Gauthier R, et al. Effect of adding protease to coextruded flax: Pea or canola: Pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Animal Feed Science and Technology, 2005, 119(1-2): 117-128.
- [24] Dalsgaard J, Verlhac V, Hjermslev N H, et al. Effects of exogenous enzymes on apparent nutrient digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with high inclusion of plant-based protein[J]. Animal Feed Science and Technology, 2012, 171(2-4): 181-191.
- [25] Yigit N O, Bahadir Koca S, Didinen B I, et al. Effect of protease and phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) fed soybean meal-based diets[J]. Journal of Applied Animal Research, 2018, 46(1): 29-32.
- [26] Lin X, Kelemen D W, Miller E S, et al. Nucleotide sequence and expression of kerA, the gene encoding a keratinolytic protease of *Bacillus licheniformis* PWD-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(4): 1469-1474.
- [27] Li Y F, He J, Zhang B, et al. Effect of keratinase supplementation on growth performance, serum profiles and antioxidant capacity in weanling pigs[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2016, 52(18): 66-71. [李元凤, 何健, 张波, 等. 角蛋白酶对仔猪生长性能、血清生化指标及抗氧化指标影响的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(18): 66-71.]
- [28] Selle P H, Liu S Y, Cai J, et al. Steam-pelleting temperatures, grain variety, feed form and protease supplementation of mediumly ground, sorghum-based broiler diets: Influences on growth performance, relative gizzard weights, nutrient utilisation, starch and nitrogen digestibility[J]. Animal Production Science, 2013, 53(5): 378.
- [29] Xue M, Wang J, Tao Q Y. Study on the effect of keratinase DP100 and HFMR technology on replacing fish meal in crucian carp feed formula[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2016, 52(16): 83-86. [薛敏, 王嘉, 陶青燕. 角蛋白酶 DP100 与 HFMR 技术对鲫鱼饲料配方中替代鱼粉效果的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2016, 52(16): 83-86.]
- [30] Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook in 2021[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 1-158. [中华人民共和国农业农村部渔业渔政管理局. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 1-158].
- [31] Duan Q Y, Mai K S, Zhong H Y, et al. Studies on the nutrition of the large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. I: Growth response to graded levels of dietary protein and lipid[J]. Aquaculture Research, 2001, 32: 46-52.
- [32] Mai K S, Zhang C X, Ai Q H, et al. Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Aquaculture, 2006, 251(2-4): 346-353.
- [33] Mai K S, Wan J L, Ai Q H, et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Aquaculture, 2006, 253(1-4): 564-572.
- [34] Ai Q H, Mai K S, Tan B P, et al. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. Aquaculture, 2006, 261(1): 327-336.
- [35] Zhang C X, Ai Q H, Mai K S, et al. Dietary lysine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Aquaculture, 2008, 283(1-4): 123-127.
- [36] Sun R J, Zhang W B, Xu W, et al. Effects of dietary protein level and feeding frequency on the growth performance, body composition and protein metabolism of juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37 (2): 281-289. [孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37 (2): 281-289].
- [37] Yi X W, Zhang F, Xu W, et al. Effects of dietary lipid content on growth, body composition and pigmentation of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture, 2014, 434: 355-361.
- [38] Li S, Yin J, Zhang H, et al. Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth performance, feed utilization, body composition and non-specific immunity of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2019, 25(5): 995-1005.
- [39] Ai Q H, Mai K S, Tan B P, et al. Replacement of fish meal by meat and bone meal in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. Aquaculture, 2006, 260(1-4): 255-263.
- [40] Zhang L, Mai K S, Ai Q H, et al. Use of a compound protein source as a replacement for fish meal in diets of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2008, 39(1): 83-90.
- [41] Li J, Zhang L, Mai K S, et al. Potential of several protein sources as fish meal substitutes in diets for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 41: 278-283.
- [42] Yi X W, Li J, Xu W, et al. Shrimp shell meal in diets for large yellow croaker *Larimichthys crocea*: Effects on growth, body composition, skin coloration and anti-oxidative capacity[J]. Aquaculture, 2015, 441: 45-50.

- [43] He J J, Wang P, Feng J, et al. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on the growth, serum biochemical indices and liver histology of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(3): 506-515. [何娇娇, 王萍, 冯建, 等. 玉米蛋白粉替代鱼粉对大黄鱼生长、血清生化指标及肝脏组织学的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(3): 506-515.]
- [44] Tang B J, Zheng H F, Wang S J, et al. Effects of Antarctic krill *Euphausia superba* meal inclusion on growth, body color, and composition of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. North American Journal of Aquaculture, 2021, 83(4): 255-266.
- [45] Wang P, Zhu J Q, Feng J, et al. Effects of dietary soy protein concentrate meal on growth, immunity, enzyme activity and protein metabolism in relation to gene expression in large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture, 2017, 477: 15-22.
- [46] Wang P, Lou Y D, Feng J, et al. Effect of replacing fish meal with wheat gluten meal on growth, serum biochemical indexes and antioxidant enzyme activity of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(5): 733-743. [王萍, 娄宇栋, 冯建, 等. 小麦蛋白粉替代鱼粉对大黄鱼幼鱼生长、血清生化指标及抗氧化能力的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(5): 733-743.]
- [47] Wang P, Zhou Q C, Feng J A, et al. Effect of dietary fermented soybean meal on growth, intestinal morphology and microbiota in juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture Research, 2019, 50(3): 748-757.
- [48] Fan X J, Yin H, Chai R Y, et al. Effects of dietary wheat gluten meal on growth, intestinal morphology, and microbiome in juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2020, 72: 1-11.
- [49] Chen Z, Yu A, Wang L, et al. Reassessment of dietary protein and lipid requirements for large yellow croaker *Larimichthys crocea* reared in net pens[J/OL]. Journal of the World Aquaculture Society, 2023. <https://doi.org/10.1111/jwas.13013>.
- [50] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. National Standard of the People's Republic of China GB/T 36206-2018 Formula Feed for Yellow Croaker (*Larimichthys crocea* Richardson)[M]. Beijing: China Standards Press of China, 2018: 1-8. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准 GB/T 36206-2018 大黄鱼配合饲料 [M]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1-8.]
- [51] Wang Y, Kong L, Li C, et al. The potential of land animal protein ingredients to replace fish meal in diets for cuneate drum, *Nibea miichthioides*, is affected by dietary protein level[J]. Aquaculture Nutrition, 2010, 16(1): 37-43.
- [52] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist[M]. 16th ed. Arlington, Virgini: AOAC, 1995.
- [53] Bureau D P, Harris A M, Bevan D J, et al. Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets[J]. Aquaculture, 2000, 181(3-4): 281-291.
- [54] Campos I, Matos E, Marques A, et al. Hydrolyzed feather meal as a partial fishmeal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles[J]. Aquaculture, 2017, 476: 152-159.
- [55] Wu Y B, Ren X, Chai X J, et al. Replacing fish meal with a blend of poultry by-product meal and feather meal in diets for giant croaker (*Nibea japonica*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(3): 1085-1091.
- [56] Cai Z N, Mai K S, Ai Q H. Regulation of hepatic lipid deposition by phospholipid in large yellow croaker[J]. The British Journal of Nutrition, 2017, 118(12): 999-1009.
- [57] Wang J, Ai Q H, Mai K S, et al. Dietary chromium polynicotinate enhanced growth performance, feed utilization, and resistance to *Cryptocaryon irritans* in juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Aquaculture, 2014, 432: 321-326.
- [58] Li X S, Ji R L, Cui K, et al. High percentage of dietary palm oil suppressed growth and antioxidant capacity and induced the inflammation by activation of TLR-NF- κ B signaling pathway in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 87: 600-608.
- [59] Du J L, Xu H L, Li S L, et al. Effects of dietary chenodeoxycholic acid on growth performance, body composition and related gene expression in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) fed diets with high replacement of fish oil with soybean oil[J]. Aquaculture, 2017, 479: 584-590.
- [60] Wang Y, Ma X Z, Wang F, et al. Supplementations of poultry by-product meal and selenium yeast increase fish meal replacement by soybean meal in golden pompano (*Trachinotus ovatus*) diet[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(4): 1904-1914.
- [61] 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 of China, 2020, 44(11): 1873-1882. [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.]

Influences of keratinase DP-100 and gamma irradiation on feather meal as a fish meal substitute in large yellow croaker diet

YU Anlan¹, WANG Li¹, CHEN Zimo¹, LEI Mingtao¹, TAO qingyan², WANG Yan¹

1. Ocean College, Zhejiang University, Zhoushan 316021, China;

2. Novus International Trading (SHANGHAI) Co., Ltd, Shanghai 200080, China

Abstract: Replacement of fish meal with economic alternative ingredients in aqua-feed is one of the most important question in aquaculture in the past four decades. In this paper, we evaluated the potential of replacing fish meal with feather meal in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) diet, with emphasis on the roles of keratinase DP-100 and gamma irradiation to improve feather meal use in fish diets. We used a two-way experimental design. A diet containing 35% fish meal severed as basal diet (BD), and 30% of fish meal in diet BD was replaced with hydrolyzed feather meal (I0E0). In diet I0E0, 1% keratinase DP-100 was added (I0E1), or the hydrolyzed feather meal was replaced with gamma ray (γ) irradiated feather meal (I1E0), or 1% DP-100 supplementation and replacement of the hydrolyzed feather meal with γ -irradiated feather meal were performed in combination (I1E1). Large yellow croaker were fed with the test diets in experimental net pens (1 m×1 m×2 m) for 10 weeks. Initial body weight of the test fish was (19.7±0.2) g ($\bar{x}$ ±SD, $n=15$), and fish density was 40 fish per pen. The results showed that 1% DP-100 supplementation significantly affected ($P<0.05$), while γ -irradiation did not obviously affect ($P>0.05$), feed intake, final body weight (FBW) and weight gain. Feed conversion ratio (FCR), nitrogen retention efficiency (NRE), phosphorus retention efficiency (PRE), energy retention efficiency (ERE), condition factor, hepatosomatic index, viscerosomatic index, whole body composition, ratio of fish meal consumption to fish production (RCP), nitrogen waste and phosphorus waste were independent on DP-100 supplementation, γ -irradiation and their interactive effect ($P>0.05$). The feed intake, FBW and weight gain were higher in fish fed diets I0E1 and I1E1 than in fish fed diets I0E0 and I1E0 ($P<0.05$). The FBW and weight gain of fish fed diet BD was higher than those of fish fed diets I0E0 and I1E0 ($P<0.05$), but did not significantly differ from those of fish fed diets I0E1 and I1E1 ($P>0.05$). The RCP was lower in fish fed diets I0E0, I1E0, I0E1 and I1E1 than in fish fed diet BD ($P<0.05$), while no significant differences were found in FCR, NRE, PRE, ERE, condition factor, hepatosomatic index, viscerosomatic index, whole body composition, nitrogen waste and phosphorus waste between fish fed diet BD and diets I0E0, I1E0, I0E1 and I1E1 ($P>0.05$). This study indicates that 1% DP-100 supplementation benefited to improve feather meal as a fish meal substitute in large yellow croaker diet, while γ -radiation treatment did not play a positive role in increasing fish meal replacement level with feather meal. Dietary fish meal level for large yellow croaker could be reduced from 35.0% to 24.5% by adding 1% DP-100 and 8.5% hydrolyzed feather meal in combination.

Key words: fish meal replacement; feather meal; keratinase DP-100; gamma ray irradiation; growth; feed utilization; waste output

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