

文章编号: 1674-5566(2023)04-0730-11

DOI:10.12024/jsou.20220303801

低鱼粉饲料中添加外源酶制剂对大口黑鲈生长性能、体组成以及饲料利用率的影响

裘泓杰¹, 何向中¹, 陈乃松^{1,2}, 李松林^{1,2}

(1. 上海海洋大学 农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 为了探究低鱼粉饲料中添加外源酶制剂对大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 生长性能、体组成以及饲料利用率的影响, 以 25% 鱼粉组为对照组, 在此基础上分别添加中性蛋白酶、角蛋白酶、纤维素酶、植酸酶以及复合酶(中性蛋白酶、角蛋白酶、纤维素酶以及植酸酶) 配置 6 组等氮等脂的实验饲料。以初始体质量为 (39.65±0.15) g 的大口黑鲈为实验对象, 进行 57 d 的养殖实验, 每天饱食投喂 2 次。结果显示: 角蛋白酶、纤维素酶和复合酶的添加显著提高了大口黑鲈的终末体质量、增重率以及特定生长率; 中性蛋白酶、角蛋白酶和植酸酶的添加显著提高了大口黑鲈的蛋白沉积率; 而植酸酶和复合酶的添加显著提高了脂肪沉积率; 不同酶制剂的添加均对饲料中蛋白质和脂肪表观消化率有改善作用, 复合酶组的蛋白质表观消化率最高且显著高于其他处理组, 角蛋白、纤维素酶和复合酶组的脂肪表观消化率显著高于中性蛋白酶组和对照组。综上, 在高植物蛋白饲料中添加一定比例的酶制剂, 特别是角蛋白酶、纤维素酶或复合酶, 可以有效地促进大口黑鲈对营养物质的消化和吸收, 进而改善饲料利用率, 提高大口黑鲈的生长性能。

关键词: 大口黑鲈; 外源酶; 生长性能; 饲料利用率; 低鱼粉饲料

中图分类号: S 963.1 **文献标志码:** A

日益短缺的渔业资源极大地制约了鱼粉在水产饲料中的应用^[1]。大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 是一种典型淡水肉食性鱼类, 对饲料中蛋白质的需求量较高, 且通常以鱼粉作为主要蛋白原料^[2]。因此, 有必要寻找其他蛋白源替代鱼粉, 以促进大口黑鲈养殖业的可持续发展。已有研究表明, 植物蛋白如玉米蛋白粉^[3] 和发酵豆粕^[4] 等可以部分替代大口黑鲈饲料中的鱼粉。然而, 植物饲料中抗营养因子的存在限制了鱼类对其中养分的利用, 导致营养物质利用率较低, 进而影响鱼类生长和健康^[5-6]。植酸、非淀粉多糖(NSP) 和胰蛋白酶抑制因子是植物中常见的抗营养因子。植酸广泛存在于大多数植物中, 其易与金属离子^[7] (如磷、钙和锌等) 形成难溶化合物或与蛋白质^[8] 形成配合物, 同时, 由于水生动物

自身不能分泌内源性植酸酶, 与植酸(盐) 结合的离子或蛋白质难以在鱼体消化道中有效释放, 从而阻碍了生物体对营养物质的吸收和利用^[9-10]。NSP 是细胞壁的主要成分, 它能阻碍部分消化酶进入植物细胞内部。同时, 可溶性 NSP 能增加鱼类胃肠道食糜的黏度, 并且能与消化系统中的消化酶以及其他活性必需成分(如胆盐、脂类等) 结合, 从而抑制了消化酶的活性^[11-12]。胰蛋白酶抑制因子在植物种子中含量丰富, 它会抑制鱼体对蛋白质的消化吸收, 造成不利的生理影响, 减缓鱼类的生长^[13]。另外, 如家禽副产品^[14]、鸡血浆粉^[15] 以及虾粉^[16] 等动物性蛋白原料替代鱼粉的研究也多有报道, 然而此类原料中由于存在角蛋白及纤维蛋白等不易被消化吸收的硬蛋白^[17], 降低了其营养价值。

收稿日期: 2022-03-30

修回日期: 2022-05-06

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-46)

作者简介: 裘泓杰(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: 756461292@qq.com

通信作者: 李松林, E-mail: slli@shou.edu.cn

版权所有 © 《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

随着酶制剂工业的发展,相应的酶制剂已逐步应用在水产饲料中。植酸酶能将植酸(盐)降解为肌醇和无机磷酸盐。在饲料中可通过添加外源性的植酸酶,削弱植酸(盐)对矿物质和蛋白质等营养物质的整合作用,促进罗非鱼对植物原料中营养物质的利用^[18]。研究^[19]表明,饲料中非淀粉多糖酶的添加可以破坏植物中的纤维素细胞壁,削弱 NSP 对鱼体的影响,促进肠道对饲料中营养物质的消化、吸收和利用。通过添加蛋白酶,饲料中大分子的蛋白质可以被水解成结构更小的蛋白胨、肽和氨基酸,更容易被肠道消化吸收,从而使植物饲料中的营养成分得到了更好的利用^[20]。与普通蛋白酶相比,角蛋白酶能够降解多种可溶性及不可溶性蛋白质(如胶原蛋白、纤维蛋白、血红蛋白等)^[17],提高动物对营养物质的消化吸收率^[21]。

外源酶在水产饲料上的应用研究尚不完善^[22-23],且添加效果不尽相同。一些研究^[24-26]发现,补充酶制剂可以促进生物体的生长性能和营养物质消化率。相反,部分研究^[27-28]结果表明没有效果或作用不大。因此,有必要研究外源酶的添加对特定水产动物的影响。本实验旨在研究低鱼粉饲料中添加外源酶对大口黑鲈生长性能、体组成以及对养分消化率的影响,为大口黑鲈低鱼粉饲料的配制提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

实验用中性蛋白酶、纤维素酶、植酸酶 3 种酶制剂购自湖南尤特生物有限公司(中性蛋白酶:50 000 U/g、纤维素酶:700 U/g 以及植酸酶:10 000 U/g),角蛋白酶购自诺伟司国际贸易有限公司(角蛋白酶:600 000 U/g)。

以鱼粉、发酵豆粕、血粉、玉米蛋白粉、谷朊粉、虾粉和鲑鱼膏作为主要蛋白源, α -淀粉作为主要糖源,鱼油、大豆油及大豆磷脂油为主要脂肪来源,沸石粉用作填充剂。各配方中添加 0.1% 三氧化二钇(Y_2O_3)作为指示剂,用于消化率的测定。在饲料中补充包膜赖氨酸和蛋氨酸,满足大口黑鲈营养需要。以 25% 鱼粉组为对照组(CON),在基础饲料中分别添加 10 000 mg/kg 中性蛋白酶(NP)、5 000 mg/kg 角蛋白酶(KER)、1 000 mg/kg 纤维素酶(CEL)、500 mg/kg 植酸酶

(PHY)以及复合酶(COM)(10 000 mg/kg 中性蛋白酶、5 000 mg/kg 角蛋白酶、1 000 mg/kg 纤维素酶以及 500 mg/kg 植酸酶),配制 6 种等氮等脂实验饲料。酶制剂的添加量是根据实验室前期研究及商品推荐用量来确定的。实验饲料配方和概略养分组成详见表 1。原料经粉碎后过 80 目筛,微量成分及不同酶制剂采取逐级扩大法添加。将所有原料与混合后的油脂原料充分混匀后制粒。105 °C 熟化 15 min 后,放入 60 °C 的干燥箱中烘干,于 -20 °C 冰箱中储存备用。

1.2 实验设计与养殖管理

饲养实验在上海海洋大学与广东恒兴饲料实业股份有限公司联合实验室进行。实验用大口黑鲈在恒温循环水系统中临时饲养 4 周以适应养殖环境。实验开始时,挑选健康且大小均匀的大口黑鲈 540 尾[初始体质量为(39.65±0.15) g],随机分入 18 个 1 000 L 的养殖缸中,密度为 30 尾/缸,实验共设置 6 个处理组,每组 3 个平行。在自然光条件下,每天表观饱食投喂 2 次(07:00 和 16:00)。循环水经海绵和珊瑚沙过滤后,用紫外线灯消毒。实验过程中保持连续充氧和曝气,溶解氧含量 ≥ 6 mg/L,pH 为 7.2±0.2,水温为(27±1) °C。

1.3 样本采集与分析

粪便收集参照 LEE^[29]所述方法,在养殖实验开始 4 周后收集粪便,直至实验结束。养殖实验结束后,禁食 24 h,计算每缸实验鱼存活率,并称取终末体质量。从每一养殖缸随机抽取 13 尾鱼,用丁香酚麻醉后,测量体长和体质量,用于体型指数的计算。其中:5 尾于 -80 °C 下保存,用于全鱼体组成分析;其余的 8 尾鱼尾静脉抽血并解剖,分离出的血清保存于 -80 °C,用于非特异性免疫指标的测定。取血后,取鱼侧线上方肌肉于 -80 °C 保存,用于肌肉成分分析;解剖分离出内脏和肝脏,并分别称重,用于脏体比和肝体比的计算,肝脏于 -80 °C 下保存,用于肝成分分析。

饲料、全鱼、肝脏和肌肉中水分的含量:采用失重法测定(GB/T 6435—2014),将样品在 105 °C 烘箱中烘干至恒重测定;饲料、全鱼、肝脏和肌肉中粗蛋白质的含量:采用凯氏定氮仪(KJELTEC 2200, FOSS, 丹麦)测定(GB/T 5009.124—2016);饲料、全鱼、肝脏和肌肉中的粗脂肪含量:采用氯仿-甲醇萃取法测定^[30];饲料和全鱼

中的灰分含量:将低温碳化至无烟的样品在 550 ℃马弗炉(上海实验仪器公司)中燃烧至恒重(GB/T 6438—1992);饲料和粪便中 Y₂O₃ 含量:利用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, THERMO,美国)测定^[31]。

表 1 实验饲料配方和化学组成(%干物质)

Tab. 1 Formulation and chemical composition of experimental diets (% dry matter)

原料 Ingredients	饲料 Diets					
	CON	NP	KER	CEL	PHY	COM
鱼粉 Fish meal ⁽¹⁾	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
发酵豆粕 Fermented soybean meal ⁽¹⁾	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00	17.00
血粉 Blood meal ⁽¹⁾	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
玉米蛋白粉 Corn gluten meal ⁽¹⁾	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
谷朊粉 Wheat gluten meal ⁽¹⁾	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
虾粉 Shrimp meal ⁽¹⁾	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
鱿鱼膏 Squid viscera meal ⁽¹⁾	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
啤酒酵母 Beer yeast ⁽¹⁾	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
中性蛋白酶 Neutral protease	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	1.00
角蛋白酶 Keratinase	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.50
纤维素酶 Cellulase	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.10
植酸酶 Phytase	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05
α-淀粉 α-starch	6.00	6.00	6.00	5.90	5.95	5.85
大豆油 Soybean oil	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
鱼油 Fish oil	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
大豆磷脂油 Soybean phospholipid	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
维生素混合物 Vitamin mixture ⁽²⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质混合物 Mineral mixture ⁽³⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	2.00	1.00	1.50	2.00	2.00	0.50
磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
三氧化二钇 Yttrium Trioxide	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
晶体 Lys	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
晶体 Met	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
沸石粉 Zeolite powder	2.85	2.85	2.85	2.85	2.85	2.85
组分分析 Proximate analysis						
粗蛋白 Crude protein	51.01	51.44	50.75	50.92	50.99	51.04
粗脂肪 Crude lipid	10.97	11.25	11.07	11.25	11.19	11.15
灰分 Ash	14.00	13.94	14.07	13.94	13.93	13.96

注:(1)饲料原料由浙江欣欣天恩水产饲料有限公司(嘉兴,中国)提供:鱼粉中粗蛋白 71.77%、粗脂肪 7.92%;发酵豆粕中粗蛋白 53.19%、粗脂肪 2.36%;血粉中粗蛋白 96.19%、粗脂肪 1.13%;玉米蛋白粉中粗蛋白 61.16%、粗脂肪 3.41%;谷朊粉中粗蛋白 83.56%、粗脂肪 4.40%;虾粉中粗蛋白 61.72%、粗脂肪 11.20%;鱿鱼膏中粗蛋白 31.13%、粗脂肪 42.70%;啤酒酵母中粗蛋白 54.08%、粗脂肪 0.53%;(2)维生素混合物(IU 或 mg/kg 干饲料)中维生素 A 16 000 IU、维生素 D₃ 8 000 IU、维生素 K₃ 14.72;维生素 B₁ 17.80;维生素 B₂ 48.00;维生素 B₆ 29.52;维生素 B₁₂ 0.24;维生素 E 160;维生素 C 800;烟酰胺 79.20;泛酸钙 73.60;叶酸 6.40;生物素 0.64;肌醇 320;氯化胆碱 1 500;L-肉碱 100;(3)多矿(mg/kg 干饲料):铜(CuSO₄)2.00;锌(ZnSO₄)34.4;锰(MnSO₄)6.20;铁(FeSO₄)21.10;碘[Ca(IO₃)₂]1.63;硒(Na₂SO₃)0.18;钴(COCl₂)0.24;镁(MgSO₄·H₂O)52.70。

Notes: (1) Supplied by Zhejiang Xinxin Tianen Aquatic Feed Corporation (Jiaxing, China): fish meal, crude protein 71.77%, crude lipid 7.92%; fermented soybean meal, crude protein 53.19%, crude lipid 2.36%; blood meal, crude protein 96.19%, crude lipid 1.13%; corn gluten meal, crude protein 61.16%, crude lipid 3.41%; wheat gluten meal, crude protein 83.56% crude lipid 4.40%; shrimp meal, crude protein 61.72%, crude lipid 11.20%; squid viscera meal, crude protein 31.13%, crude lipid 42.70%; beer yeast, crude protein 54.08%, crude lipid 0.53%; (2) Vitamin mixture (IU or mg/kg dry diet): vitamin A 16 000 IU; vitamin D₃ 8 000 IU; vitamin K₃ 14.72; vitamin B₁ 17.80; vitamin B₂ 48.00; vitamin B₆ 29.52; vitamin B₁₂ 0.24; vitamin E 160; vitamin C 800; nicotinamide 79.20; calcium pantothenate 73.60; folic acid 6.40; biotin 0.64; inositol 320; choline chloride 1 500; L-carnitine 100; (3) Mineral mixture (mg/kg diet): CuSO₄ 2.00; ZnSO₄ 34.4; MnSO₄ 6.20; FeSO₄ 21.10; Ca(IO₃)₂ 1.63; Na₂SO₃ 0.18; COCl₂ 0.24; MgSO₄·H₂O 52.70.

1.4 计算公式与数据统计

$$S_R = N_2/N_1 \times 100\% \quad (1)$$

$$S_{GR} = (\ln W_2 - \ln W_1)/T \times 100\% \quad (2)$$

$$W_{GR} = (W_2 - W_1)/W_1 \times 100\% \quad (3)$$

$$F_1 = F_d / [(N_2 + N_1)/2] / T \quad (4)$$

$$C_F = W_f/L_f^3 \times 100 \quad (5)$$

$$H_{SI} = W_h/W_f \times 100\% \quad (6)$$

$$V_{SI} = W_v/W_f \times 100\% \quad (7)$$

$$F_{ER} = (W_2 - W_1) / F_d \quad (8)$$

$$P_{ER} = (W_2 - W_1) / F_p \quad (9)$$

$$P_{DR} = D_p / F_p \times 100\% \quad (10)$$

$$L_{RR} = D_l / F_l \times 100\% \quad (11)$$

$$A_{DC} = [1 - (C_f / C_d) \times (C_{rd} / C_{rf})] \times 100\% \quad (12)$$

式中: S_R 为存活率,%; N_2 为终末尾数,尾; N_1 为初始尾数,尾; S_{GR} 为特定生长率,%/d; W_1 为初始体质量,g; W_2 为终末体质量,g; T 为实验天数,d; F_1 为摄食率,g/(尾·d); F_d 为干饲料摄入量,g; C_f 为肥满度,g/cm³; W_f 为鱼体质量,g; L_f 为体长,cm; H_{SI} 为肝体比,%; W_h 为肝脏质量,g; V_{SI} 为脏体比,%; W_v 为内脏质量,g; F_{ER} 为饲料效率,%; P_{ER} 为蛋白质效率,%; F_p 为摄入蛋白质质量,g; P_{DR} 为蛋白质沉积率,%; D_p 为体蛋白质沉积质量,g; L_{RR} 为脂肪沉积率,%; D_l 为体脂肪沉积质量,g; F_l 为摄入脂肪质量,g; W_{GR} 为增重率,%; A_{DC} 为营养物质表观消化率,%; C_f 为粪便

中营养物质含量,%; C_d 为饲料中营养物质含量,%; C_{rd} 为饲料中 Y_2O_3 含量,%; C_{rf} 为粪便中 Y_2O_3 含量,%。

相关实验结果以平均值±标准误 (Mean±SE) 表示。所有数据均采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析 (One way ANOVA), 当单因素方差分析处理之间差异显著 ($P < 0.05$) 时, 采用 Tukey 检验进行多重比较分析。

2 结果

2.1 不同酶制剂对大口黑鲈生长指标和饲料利用的影响

由表 2 可知, 饲料中酶制剂的添加对大口黑鲈的存活率 (SR) 没有显著影响 ($P > 0.05$)。然而, 不同酶制剂的添加均对大口黑鲈的生长有促进作用, 其中 KER、CEL 和 COM 的添加显著提高了大口黑鲈的终末体质量 (FBW)、增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR, $P < 0.05$)。

表 2 饲料中添加外源酶制剂对大口黑鲈生长指标的影响

Tab. 2 Effects of adding different exogenous enzyme in diets on growth performance of largemouth bass

饲料 Diets	指标 Index				
	初始体质量 IBW/g	终末体质量 FBW/g	存活率 SR/%	特定生长率 SGR/(%/d)	增重率 WGR/%
CON	39.61±0.06	159.08±1.80 ^b	100.00	2.44±0.02 ^b	297.17±7.40 ^b
NP	39.57±0.04	166.59±2.43 ^{ab}	98.89±1.11	2.52±0.03 ^{ab}	321.04±6.46 ^{ab}
KER	39.73±0.05	172.21±1.75 ^a	100.00	2.57±0.02 ^a	333.41±3.99 ^a
CEL	39.63±0.03	168.57±0.44 ^a	100.00	2.54±0.01 ^a	325.31±0.76 ^a
PHY	39.63±0.03	168.23±3.25 ^{ab}	100.00	2.54±0.03 ^{ab}	324.48±8.32 ^a
COM	39.76±0.03	173.21±0.68 ^a	100.00	2.58±0.01 ^a	335.69±1.38 ^a

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$).

由表 3 可知: 酶制剂的添加提高了大口黑鲈的摄食率 (FI), 且除 NP 处理组外, 其他处理组的 FI 均显著高于 CON 组 ($P < 0.05$); 同时, COM 组的 FI 显著高于其余 4 组酶制剂处理组 ($P < 0.05$)。酶制剂的添加不会对饲料效率 (FER) 和蛋白质效率 (PER) 产生显著影响 ($P > 0.05$)。与 CON 相比, NP、KER 以及 PHY 的添加会显著提高蛋白沉积率 (PRR), PHY 和 COM 的添加会显著提高脂肪沉积率 (LRR, $P < 0.05$)。不同酶制剂的添加均显著提高了大口黑鲈对蛋白质和脂肪表观消化率 ($P < 0.05$); COM 组的蛋白质表观消化率最高, 且显著高于其他处理组 ($P < 0.05$);

KER、CEL 和 COM 组的脂肪表观消化率显著高于 NP 和 CON 组 ($P < 0.05$), 且组间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.2 不同酶制剂对大口黑鲈形态学的影响

如表 4 所示, 与 CON、NP、PHY 和 COM 处理组相比, 饲料中添加 KER 和 CEL 显著提高了大口黑鲈的肥满度 ($P < 0.05$)。NP 和 PHY 处理组的肝体比 (HSI) 显著高于其他 4 组 ($P < 0.05$), 且两组间没有显著性差异 ($P > 0.05$)。NP 处理组的脏体比 (VSI) 最高, 且显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。

表 3 饲料中添加外源酶制剂对大口黑鲈饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of adding different exogenous enzyme in diets on nutrient utilization of largemouth bass

饲料 Diets	指标 Index						
	摄食率 FI/[g/(尾·d)]	饲料效率 FER/%	蛋白质效率 PER/%	蛋白质沉积率 PRR/%	脂肪沉积率 LRR/%	蛋白质表 观消化率 ADC of protein/%	脂肪表 观消化率 ADC of lipid/%
CON	1.68±0.01 ^e	1.24±0.02	242.32±4.42	40.05±0.52 ^b	80.43±0.58 ^b	93.74±0.10 ^d	90.33±0.49 ^d
NP	1.72±0.02 ^{de}	1.29±0.02	251.40±4.58	42.46±0.34 ^a	80.04±2.09 ^b	95.47±0.04 ^b	93.24±0.70 ^c
KER	1.83±0.01 ^{bc}	1.26±0.01	249.46±2.39	42.47±0.24 ^a	80.58±1.05 ^b	95.43±0.16 ^b	96.04±0.45 ^a
CEL	1.85±0.01 ^b	1.22±0.01	239.60±1.79	41.50±0.11 ^{ab}	81.03±0.39 ^b	94.70±0.04 ^c	94.77±0.69 ^{ab}
PHY	1.77±0.02 ^{cd}	1.28±0.03	249.97±5.20	42.62±0.63 ^a	97.90±0.77 ^a	95.09±0.05 ^{bc}	93.44±0.47 ^{bc}
COM	1.93±0.02 ^a	1.21±0.00	237.35±0.87	41.84±0.20 ^{ab}	92.99±0.76 ^a	96.18±0.14 ^a	94.76±0.32 ^{ab}

注:同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

表 4 饲料中添加外源酶制剂对

大口黑鲈肥满度、肝体比和脏体比的影响

Tab. 4 Effects of adding different exogenous enzyme in diets on CF, HSI and VSI of largemouth bass

饲料 Diets	指标 Index		
	肥满度 CF/(g/cm ³)	肝体比 HSI/%	脏体比 VSI/%
CON	2.51±0.01 ^b	2.43±0.02 ^b	8.33±0.08 ^d
NP	2.56±0.01 ^b	2.64±0.01 ^a	9.45±0.09 ^a
KER	2.75±0.01 ^a	2.41±0.03 ^b	8.01±0.01 ^e
CEL	2.71±0.01 ^a	2.15±0.01 ^d	8.45±0.03 ^{cd}
PHY	2.56±0.02 ^b	2.68±0.02 ^a	8.69±0.03 ^c
COM	2.54±0.01 ^b	2.26±0.01 ^c	9.16±0.02 ^b

注:同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

2.3 不同酶制剂对大口黑鲈全鱼、肝脏和肌肉组成的影响

如表 5 所示:KER 处理组全鱼的水分含量最高,显著高于 PHY 和 COM 处理组($P<0.05$);COM 组全鱼的粗蛋白含量最高,与 CEL 处理组没有显著性差异($P>0.05$);饲料中添加 PHY 和 COM 显著提高了全鱼的粗脂肪含量($P<0.05$)。饲料中 NP、KER、CEL 和 COM 的添加显著降低了肝脏粗脂肪的含量($P<0.05$)。饲料中添加 NP、PHY、CEL 和 COM 显著提高了肌肉中粗蛋白的含量($P<0.05$);KER、PHY、CEL 和 COM 的添加显著提高了肌肉中粗脂肪含量($P<0.05$)。

3 讨论

饲料中鱼粉含量的降低不可避免地会引入植物性及其他动物性蛋白质饲料原料,而与此同时也伴随着抗营养因子及难以被鱼体利用的硬蛋白的加入。相应酶制剂的添加可以有效地降

解植物蛋白源中富含的抗营养因子或动物性原料中难以利用的营养物质,提高鱼体对非鱼粉蛋白源的利用率,进而改善其生长与健康^[32]。胰蛋白酶抑制因子能与肠道中的胰蛋白酶结合,以抑制蛋白酶对多肽的降解,从而减少生物体对饲料中蛋白质的总体摄入^[33]。对大西洋鲑(*Salmo salar*)的研究发现胰蛋白酶抑制因子会降低鱼类对蛋白质的消化率^[34],KROGDAHL 等^[35]在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的研究中也证实了这一观点。吴非等^[36]研究发现中性蛋白酶可以在一定程度上钝化胰蛋白酶抑制因子的活性。在本实验中,中性蛋白酶的添加有效提高了大口黑鲈的增重率和特定生长率,结果表明,此剂量的中性蛋白酶对大口黑鲈生长性能具有积极影响。相较于高鱼粉饲料,低鱼粉含量的饲料中含有较高植物蛋白,这样的饲料中添加蛋白酶的效果往往好于高鱼粉蛋白饲料^[37]。在高植物蛋白含量的饲料中添加蛋白酶,可以将植物饲料中的大分子蛋白质分解成更易被吸收的蛋白肽和氨基酸,促进动物对营养物质的消化吸收。虹鳟^[38]和异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[39]的实验均已证明这一点,且与本实验结果相似。LEE 等^[40]研究了蛋白酶的添加对虹鳟消化率的影响,并测定了不同原料的干物质、粗蛋白质、氨基酸和总能量的表观消化率,结果表明,添加蛋白酶可以提高某些原料的消化率,尤其是植物原料的消化率。添加蛋白酶的效果因蛋白酶的活性和类型而异,并与饲料配方中动植物蛋白质的比例有关。这可能是由于植物蛋白源中所存在的抗营养因子,如胰蛋白酶抑制因子和大豆蛋白抗原等可被蛋白酶分解,从而提高饲料中蛋白质的生物利用率。

表 5 饲料中添加外源酶制剂对大口黑鲈全鱼、肝脏和肌肉概略养分的影响

Tab. 5 Effects of adding different exogenous enzyme in diets on proximate composition of whole fish body, liver and muscle of largemouth bass

饲料 Diets	指标 Index				%
	水分 Moisture	粗蛋白 Protein	粗脂肪 Lipid	灰分 Ash	
全鱼 Whole fish body					
CON	71.95±0.54 ^{ab}	16.53±0.09 ^c	7.14±0.12 ^{bc}	12.97±0.19 ^a	
NP	70.78±0.46 ^{ab}	16.90±0.18 ^{bc}	6.96±0.08 ^b	12.76±0.11 ^{ab}	
KER	72.38±0.17 ^a	17.03±0.07 ^{bc}	7.05±0.06 ^{bc}	12.59±0.09 ^{ab}	
CEL	71.67±0.36 ^{ab}	17.32±0.08 ^{ab}	7.47±0.04 ^b	12.46±0.02 ^{ab}	
PHY	70.28±0.57 ^b	17.06±0.11 ^b	8.60±0.18 ^a	12.03±0.29 ^{bc}	
COM	70.02±0.39 ^b	17.63±0.04 ^a	8.56±0.06 ^a	11.38±0.14 ^c	
肝脏 Liver					
CON	74.22±0.45	10.86±0.55	4.95±0.02 ^a	-	
NP	73.62±0.19	10.97±0.21	3.89±0.17 ^c	-	
KER	74.59±1.04	11.55±0.32	4.26±0.04 ^{bc}	-	
CEL	72.96±0.14	11.67±0.21	3.84±0.09 ^c	-	
PHY	72.18±0.62	10.40±0.21	4.48±0.14 ^{ab}	-	
COM	73.82±0.19	10.62±0.23	4.22±0.13 ^{bc}	-	
肌肉 Muscle					
CON	78.82±0.14 ^a	19.13±0.13 ^c	1.24±0.02 ^c	-	
NP	77.49±0.13 ^{ab}	20.20±0.10 ^a	1.43±0.07 ^{bc}	-	
KER	78.41±0.12 ^{ab}	19.57±0.07 ^{bc}	1.55±0.08 ^b	-	
CEL	77.75±0.11 ^{bc}	20.17±0.09 ^{ab}	1.68±0.05 ^{ab}	-	
PHY	77.80±0.24 ^{bc}	20.18±0.25 ^{ab}	1.69±0.07 ^{ab}	-	
COM	77.09±0.14 ^c	20.45±0.07 ^a	1.97±0.08 ^a	-	

注:同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

植酸是一种广泛存在于植物饲料中的抗营养因子。研究^[41]表明,摄入高水平的植酸(25.8 g/kg)会抑制大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)的生长性能及蛋白质效率,导致死亡率的升高。植酸具有很强的螯合性,易与其他金属阳离子结合而形成难溶性植酸盐。植物饲料中高水平的磷酸盐难以被单胃动物和鱼类消化^[42],这将显著抑制鱼类对矿物质的消化和吸收^[43]。植酸酶能将植酸(盐)降解为肌醇和无机磷酸盐,促进水生动物对植物原料中营养成分的消化利用^[10]。本实验结果证明,植酸酶显著提高了大口黑鲈的生长性能和养分消化率,这与植酸酶在其他鱼类的研究结果一致。对大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)的研究已经证明,饲料中补充 200 mg/kg 的植酸酶可以提高大菱鲂的特定生长率,并提高粗蛋白以及总磷的消化率^[24],这与黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)的研究结果类似^[44]。植酸酶对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长性能的改善也已经得到验证,植酸酶的添加还可以改善罗非鱼对粗蛋白质和矿物

质的消化和利用率^[45]。类似地,在植物饲料中添加 1 000~4 000 FTU/kg 的植酸酶可有效促进罗非鱼的生长,提高其对蛋白质、钙以及磷的利用率^[46]。LIEBERT 等^[42]研究发现,不同来源的微生物植酸酶可以改善罗非鱼的生长性能和养分消化率,但效果存在一定的差异。这可能是由于不同微生物来源的植酸酶对植酸的分解效率不同而造成的^[47]。

植物饲料中高水平的 NSP 难以被单胃的鱼类消化^[48],非淀粉多糖酶的适量添加能够有效消除 NSP 对鱼体的不良影响。纤维素酶作为非淀粉多糖酶中的一种,其能将纤维素彻底降解为葡萄糖,释放植物细胞内容物^[49],从而提高水产饲料利用率^[50]。本实验研究发现,大口黑鲈对基础饲料中营养素的消化利用较低,添加纤维素酶可以显著改善这一负面影响。这与 DALSGAARD 等^[38]在虹鳟上的研究结果一致。研究^[51]表明,随着大豆中 NSP 的降解,鱼体对脂质的消化率也将显著提高,这可能是由于大豆中的 NSP 影响了鲑鱼对于脂质的消化和吸收。非淀粉多糖酶来

源的不同以及作用鱼种的不同,其最适添加量也有很大差异。鲁媛媛等^[24]研究表明,在大菱鲆幼鱼饲料中添加 100 mg/kg 的非淀粉多糖酶能提高其特定生长率以及氮和磷贮积率,并降低氮、磷的排放率。SHI 等^[52]研究表明,添加 1.0~1.5 g/kg 纤维素酶可以改善鲫的生长性能、消化酶活性和消化率,但进一步添加纤维素酶将会对鱼体产生负面效果,这可能是由于过量添加外源酶会抑制内源酶的分泌,影响生物体对养分的消化,从而抑制鱼体生长^[53]。

血粉的营养价值很高,蛋白含量可以达到 80% 以上,然而由于其蛋白大部分属于纤维蛋白等硬蛋白,使得动物对血粉的利用率不高,因此需要对血粉进行一定处理,将难以消化的蛋白质分解成易消化的可溶性蛋白胨、肽。角蛋白酶是一种底物非常广的蛋白酶,能够降解多种难溶性的蛋白质,如胶原蛋白、纤维蛋白、血红蛋白等。已有大量研究^[54-56]证明血粉中添加角蛋白酶是可行的,它可提高血粉中可溶性蛋白含量,从而提高血粉营养价值。角蛋白酶在畜禽饲料行业已得到广泛的研究,并证明了角蛋白酶的补充对生物体生长性能以及消化率具有改善作用^[57-58]。角蛋白酶在水产饲料中的应用研究较少。对鲫研究发现,饲料中添加 300 g/t 的角蛋白酶可以显著提升喂食低鱼粉饲料的鲫的生长性能,达到与高鱼粉组相同的效果^[59]。本实验同样发现了角蛋白酶的添加对大口黑鲈的特定生长率、摄食率及营养物质的消化率具有提升作用。

生产上饲料原料并非由单一物质组成,单一酶制剂的添加难以达到预期效果。因此,在生产中常通过添加复合酶,以最大限度地改善饲料中不同原料所带来的负面影响^[60],促进生物生长并提高饲料效率^[61]。本实验复合酶由中性蛋白酶、角蛋白酶、植酸酶和纤维素酶构成,研究结果表明,相较于其他酶制剂组别,复合酶的添加能显著提高大口黑鲈生长性能以及对粗蛋白质和粗脂肪的表观消化率,这与王国霞等^[62]用复合酶制剂对黄颡鱼的研究一致。尼罗罗非鱼的最适复合酶制剂添加量为 0.1%^[63],欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)的酶制剂适宜添加量为 0.15%^[64],异育银鲫的酶制剂适宜添加量为 500~750 mg/kg^[53]。复合酶制剂酶组成及鱼类间的差异可能是造成其最适添加量不同的主要原因。

综上,在低鱼粉饲料中添加一定比例的酶制剂,特别是角蛋白酶、纤维素酶或复合酶,可以有效地促进营养物质的消化和吸收,进而改善饲料利用率,提高大口黑鲈的生长性能。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] TIDWELL J H, WEBSTER C D, COYLE S D. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*) raised in ponds [J]. *Aquaculture*, 1996, 145(1/4): 213-223.
- [3] 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*, 2005, 36(4): 454-463.
- [4] HE M, LI X Q, POOLSAWAT L, et al. Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(4): 1058-1071.
- [5] 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.
- [6] KHATTAB R Y, ARNTFIELD S D. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42(6): 1113-1118.
- [7] BO L, ANN-SOFI S, BRITTMARIE S, et al. Inhibitory effects of phytic acid and other inositol phosphates on zinc and calcium absorption in suckling rats [J]. *The Journal of Nutrition*, 1989, 119(2): 211-214.
- [8] OATWAY L, VASANTHAN T, HELM J H. Phytic acid [J]. *Food Reviews International*, 2001, 17(4): 419-431.
- [9] 白东清, 乔秀亭, 魏东, 等. 植酸酶对鲤钙磷等营养物质利用率的影响 [J]. *天津农学院学报*, 2003, 10(1): 6-10.
- [10] BAI D Q, QIAO X T, WEI D, et al. Effects of phytase on utilization ratio of nutrient composition (Calcium, Phosphorus, etc.) of carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Journal of Tianjin Agricultural College*, 2003, 10(1): 6-10.
- [10] 马光, 邵庆均. 饲用酶制剂及其在水产业中的研究进展 [J]. *水利渔业*, 2005, 25(6): 79-81.
- MA G, SHAO Q J. Enzyme preparations for feed and their application in aquaculture [J]. *Journal of Hydroecology*, 2005, 25(6): 79-81.

- [11] CHOCT M, DERSJANT-LI Y, MCLEISH J, et al. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2010, 23(10): 1386-1398.
- [12] SINHA A K, KUMAR V, MAKKAR H P S, et al. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition: A review[J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1409-1426.
- [13] OLLI JJ, HJELMELAND K, KROGDAHL Å. Soybean trypsin inhibitors in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L): effects on nutrient digestibilities and trypsin in pyloric caeca homogenate and intestinal content [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1994, 109(4): 923-928.
- [14] REN X, WANG Y, CHEN J M, et al. Replacement of fishmeal with a blend of poultry byproduct meal and soybean meal in diets for largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2018, 49(1): 155-164.
- [15] LI S L, DING G T, WANG A, et al. Replacement of fishmeal by chicken plasma powder in diets for largemouth bass (*Micropterus salmoides*): effects on growth performance, feed utilization and health status [J]. Aquaculture Nutrition, 2019, 25(6): 1431-1439.
- [16] 朱旺明, 谭永刚, 马卉佳, 等. 不同水平南极磷虾粉等量替代鱼粉对大口黑鲈生长性能及部分生理生化指标的影响 [J]. 中国饲料, 2019(15): 85-92.
- ZHU W M, TAN Y G, MA H J, et al. Effects of different levels of krill meal replacement with fish meal on growth performance and some physiological and biochemical indexes of Largemouth Bass [J]. China Feed, 2019(15): 85-92.
- [17] 贾如琰, 何玉凤, 王荣民, 等. 角蛋白的分子构成、提取及应用 [J]. 化学通报, 2008, 71(4): 265-271.
- JIA R Y, HE Y F, WANG R M, et al. Advanced in structure, extract and applications of keratins [J]. Chemistry, 2008, 71(4): 265-271.
- [18] CAO L, YANG Y, WANG W M, et al. Effects of pretreatment with microbial phytase on phosphorous utilization and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(2): 99-109.
- [19] DÄNICKE S, HALLE I, STROBEL E, et al. Effect of energy source and xylanase addition on energy metabolism, performance, chemical body composition and total body electrical conductivity (TOBEC) of broilers [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2001, 85(9/10): 301-313.
- [20] LI X Q, CHAI X Q, LIU D Y, et al. Effects of temperature and feed processing on protease activity and dietary protease on growths of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, and tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* [J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(6): 1283-1292.
- [21] ODETALLAH N H, WANG J J, GARLICH J D, et al. Versazyme supplementation of broiler diets improves market growth performance [J]. Poultry Science, 2005, 84(6): 858-864.
- [22] KUMAR V, SINHA A K, MAKKAR H P S, et al. Phytate and phytase in fish nutrition [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2012, 96(3): 335-364.
- [23] CASTILLO S, GATLIN III D M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review [J]. Aquaculture, 2015, 435: 286-292.
- [24] 鲁媛媛, 吴立新, 姜志强, 等. 饲料中添加外源酶对大菱鲆幼鱼生长和饲料利用率的影响 [J]. 水产科学, 2014, 33(11): 674-679.
- LU Y Y, WU L X, JIANG Z Q, et al. Effects of dietary exogenous enzymes on growth and feed utilization in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Fisheries Science, 2014, 33(11): 674-679.
- [25] 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.
- [26] GHOMI M R, SHAHRIARI R, LANGROUDI H F, et al. Effects of exogenous dietary enzyme on growth, body composition, and fatty acid profiles of cultured great sturgeon *Huso huso* fingerlings [J]. Aquaculture International, 2012, 20(2): 249-254.
- [27] OGUNKOYA A E, PAGE G I, ADEWOLU M A, et al. Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of faecal material egested by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 2006, 254(1/4): 466-475.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] FOLCH J, LEES M, SLOANE STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226(1): 497-509.
- [31] AUSTRENG E, STOREBAKKEN T, THOMASSEN M S, et al. Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids [J]. Aquaculture, 2000, 188(1/2): 65-78.
- [32] 昝于明, 彭玉麟. 酶制剂的适当选择与高效使用 [J]. 饲料广角, 2001(18): 1-4.
- GUO Y M, PENG Y L. Proper choice and efficient use on

- enzyme preparation[J]. Feed China, 2001(18): 1-4.
- [33] KROGDAHL Å, PENN M, THORSEN J, et al. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids [J]. Aquaculture Research, 2010, 41(3): 333-344.
- [34] OLLI J J, KROGDAHL Å, VAN DEN INGH T S G A M, et al. Nutritive value of four soybean products in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) [J]. Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science, 1994, 44(1): 50-60.
- [35] KROGDAHL Å, LEA T B, OLLI J J. Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1994, 107(1): 215-219.
- [36] 吴非, 霍贵成. 酶法钝化大豆胰蛋白酶抑制剂的研究 [J]. 食品研究与开发, 2002, 23(6): 26-28.
WU F, HUO G C. Study on enzymatic inactivation of soybean trypsin inhibitors [J]. Food Research and Development, 2002, 23(6): 26-28.
- [37] ADEOYE A A, JARAMILLO-TORRES A, FOX S W, et al. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: overall performance and effects on intestinal histology and microbiota [J]. Animal Feed Science and Technology, 2016, 215: 133-143.
- [38] DALSGAARD J, VERLHAC V, HJERMITSLEV 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.
- [39] SHI Z, LI X Q, CHOWDHURY M A K, 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.
- [40] LEE S, CHOWDHURY M A K, HARDY R W, et al. Apparent digestibility of protein, amino acids and gross energy in rainbow trout fed various feed ingredients with or without protease [J]. Aquaculture, 2020, 524: 735270.
- [41] RICHARDSON N L, HIGGS D A, BEAMES R M, et al. Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. The Journal of Nutrition, 1985, 115(5): 553-567.
- [42] LIEBERT F, PORTZ L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase [J]. Aquaculture, 2005, 248(1/4): 111-119.
- [43] TAHOUN A M, ABO-STATE H A, HAMMOUDA Y A. Effect of adding commercial phytase to DDGS based diets on the performance and feed utilization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings [J]. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 2009, 5(4): 550-555.
- [44] 窦勇, 陈权文, 胡佩红, 等. 植酸酶对黄颡鱼生长性能及磷排放的影响 [J]. 农业科技与装备, 2017(5): 55-57, 61.
DOU Y, CHEN Q W, HU P H, et al. Effect of phytase on growth performance and phosphorus discharge of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. Agricultural Science & Technology and Equipment, 2017(5): 55-57, 61.
- [45] MAAS R M, VERDEGEM M C J, DERSJANT-LI Y, et al. The effect of phytase, xylanase and their combination on growth performance and nutrient utilization in Nile tilapia [J]. Aquaculture, 2018, 487: 7-14.
- [46] PORTZ L, LIEBERT F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant - based diets with graded levels of microbial phytase [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2004, 88(9/10): 311-320.
- [47] ONYANGO E M, BEDFORD M R, ADEOLA O. Phytase activity along the digestive tract of the broiler chick: a comparative study of an *Escherichia coli*-derived and *Peniophora lycii* phytase [J]. Canadian Journal of Animal Science, 2005, 85(1): 61-68.
- [48] CHOCT M. Feed non-starch polysaccharides: chemical structures and nutritional significance [J]. Feed Milling International, 1997, 191: 13-26.
- [49] 汪勇. 非淀粉多糖酶制剂的研究进展 [J]. 饲料工业, 2007, 28(8): 13-16.
WANG Y. Advance in non-starch polysaccharides enzymes [J]. Feed Industry, 2007, 28(8): 13-16.
- [50] 胡喜峰, 王成章, 张春梅, 等. 纤维素酶在水产中的应用及展望 [J]. 中国水产, 2004(4): 73-74.
HU X F, WANG C Z, ZHANG C M, et al. Application and prospect of cellulase in aquatic products [J]. China Fisheries, 2004(4): 73-74.
- [51] REFSTIE S, SVIHUS B, SHEARER K D, et al. Nutrient digestibility in Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soyabean products [J]. Animal Feed Science and Technology, 1999, 79(4): 331-345.
- [52] SHI X, LUO Z, CHEN F, et al. Effects of dietary cellulase addition on growth performance, nutrient digestibility and digestive enzyme activities of juvenile crucian carp *Carassius auratus* [J]. Aquaculture Nutrition, 2017, 23(3): 618-628.
- [53] 王爱民, 刘文斌. 外源酶对异育银鲫鱼种生长及表观消化率的影响研究 [J]. 饲料工业, 2006, 27(2): 26-29.
WANG A M, LIU W B. Effects of exogenous enzymes on the growth and apparent digestibility of allogynogenetic crucian

- carp fingerlings[J]. Feed Industry, 2006, 27(2): 26-29.
- [54] 刘翠然, 张淑芬. 动物蛋白酶化技术[J]. 饲料研究, 1991(6): 7-8.
- LIU C R, ZHANG S F. Animal protease technology [J]. Feed Research, 1991(6): 7-8.
- [55] WANG L, ZHANG B R, HAN J L, et al. Optimization of hydrolysis condition of blood meal by *Bacillus subtilis* with response surface methodology [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015, 104: 112-117.
- [56] LI W, CHENG P, ZHANG J B, et al. Synergism of microorganisms and enzymes in solid-state fermentation of animal feed. A review [J]. Journal of Animal and Feed Sciences, 2021, 30(1): 3-10.
- [57] WANG H Y, GUO Y M, SHIH J C H. Effects of dietary supplementation of keratinase on growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets with soybean and cottonseed meals [J]. Animal Feed Science and Technology, 2008, 140(3/4): 376-384.
- [58] WANG D, PIAO X S, ZENG Z K, et al. Effects of keratinase on performance, nutrient utilization, intestinal morphology, intestinal ecology and inflammatory response of weaned piglets fed diets with different levels of crude protein [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2011, 24(12): 1718-1728.
- [59] 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.
- XUE M, WANG J, TAO Q Y. Effects of Keratinase DP100 and HFMR technology on substitution of fish meal in crucian carp feed formula [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2016, 52(16): 83-86.
- [60] 赵林果, 王传槐, 叶汉玲. 复合酶制剂降解植物性饲料的研究 [J]. 饲料研究, 2001, 1(1): 2-5.
- ZHAO L G, WANG C H, YE H L. Study on degradation of plant feed by compound enzyme preparation [J]. Feed Research, 2001, 1(1): 2-5.
- [61] 吴志青, 吴华东. 饲用复合酶制剂的作用机理及其在动物生产中的应用 [J]. 贵州畜牧兽医, 2012, 36(1): 21-24.
- WU Z Q, WU H D. Mechanisms and application of feed compound enzyme in animal production [J]. Guizhou Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2012, 36(1): 21-24.
- [62] 王国霞, 刘群芳, 黄文庆, 等. 复合酶制剂对黄颡鱼生长性能、血清生化和免疫指标的影响 [J]. 南方水产科学, 2013, 9(6): 84-89.
- WANG G X, LIU Q F, HUANG W Q, et al. Effects of complete enzyme preparation on growth performance, serum biochemical and immune indices of juvenile yellow catfish (*Peltobagrus fulvidraco*) [J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(6): 84-89.
- [63] 钟国防, 周洪琪. 木聚糖酶和复合酶制剂 PS 对尼罗罗非鱼生长性能、非特异性免疫能力的影响 [J]. 海洋渔业, 2005(4): 286-291.
- ZHONG G F, ZHOU H Q. The effects of xylanase and multi-enzyme PS on the production performance and the ability of non-specific immunity of *Oreochromis niloticus* [J]. Marine Fisheries, 2005(4): 286-291.
- [64] 卢静, 黎中宝, 陈强, 等. 复合酶制剂对欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 生长性能、消化酶及非特异性免疫的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(2): 420-425.
- LU J, LI Z B, CHEN Q, et al. Effects of multi-enzyme on growth performance, activities of digestive enzymes and immune response of *Anguilla anguilla* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(2): 420-425.

Effects of dietary exogenous enzymes on improving growth performance, body composition and feed utilization of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed low fishmeal-based diet

QIU Hongjie¹, HE Xiangzhong¹, CHEN Naisong^{1,2}, LI Songlin^{1,2}

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to evaluate the effects of exogenous enzymes inclusion on growth performance, body composition and feed efficiency of largemouth bass, the diet with 25% fish meal was considered as the control, and another five isonitrogenous and isolipidic diets were formulated with the inclusion of neutral protease, keratinase, cellulase, phytase and complex enzymes (neutral protease, keratinase, cellulase and phytase), respectively. The fish were fed the experimental diets for 57 days twice daily. Results showed that fish fed the diet with keratinase, cellulase or complex enzymes inclusion displayed higher final body weight, weight gain rate and specific growth rate compared to the control group. Meanwhile, largemouth bass fed the diet with the supplementation of neutral protease, keratinase or phytase obtained significantly higher protein retention rate than that in the control group. The lipid retention rate was significantly higher in largemouth bass fed the diet with phytase or complex enzyme compared to other groups. The inclusion of exogenous enzyme significantly elevated the nutrient apparent digestibility coefficient of largemouth bass: the highest apparent digestibility of protein was observed in largemouth bass fed the diet with complex enzyme, which was significantly higher than other groups; the apparent digestibility of lipid in largemouth bass fed the diet with keratin, cellulase and complex enzyme was significantly higher than that in the neutral protease and control group. In summary, the supplementation of exogenous enzymes, especially keratinase, cellulase and complex enzyme, in high plant protein diet, can effectively promote the digestion and absorption of nutrients, improve feed utilization and elevate growth performance of largemouth bass.

Key words: largemouth bass; exogenous enzyme; growth performance; feed utilization; low fish meal diet