

國立臺灣大學生命科學院漁業科學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Fishery Science

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

菊池氏細鯽之飼料開發

Development of the artificial diet for Kikuchi minnow,

*Aphyocypris kikuchii*



劉舜豪

Shun-Hao Liu

指導教授：廖文亮 博士

Advisor : Wen-Liang Liao, Ph.D.

中華民國 100 年 7 月

June, 2011

## 誌謝

碩士生涯的兩年來，首先感謝我的恩師 廖文亮博士，在飼料營養的專業領域上，及台灣養殖的現況有更深入的了解，另外在待人處事的道理上，也有許多值得學生學習的地方。在論文寫作其間，提供許多不同的想法，適時的給予建議，使學生獲益良多，並不厭其煩的給予修飾與改正，使得本論文得以順利完成，老師的學識豐富、耐心與親切的態度將長存於學生心中。

此外論文審查其間，承蒙 陳弘成教授、丁雲源博士、劉富光主任在公務繁忙之際，審閱與校正論文的缺失，對於論文提供寶貴的建議與改進方向，讓本篇論文能夠更趨於完善。

感謝花蓮縣水產培育所贈送研究用魚與養殖經驗分享，讓本實驗得以順利進行，沒有你們慷慨無私相助，就不會有本實驗的完成，勞煩之處，冀多包涵。

實驗室的兩年生活過程，感謝黃楷翔學長、吳政翰學長、柯雪莉學姊、林德學長、費詩學姊、黃侑勛學長、王漢昇學長、李香爾學姊及蔡欣原學長不管在研究上還是生活上所提供的幫助，同學紹先、易賢在實驗的進行及研究的討論上所提供的幫助，並同心協力完成實驗室的工作，正勳、鉛洺、伯霖、重融、于正、國薰在吃飯或是聊天時，調劑身心上的壓力，提供支持下去的動力。

感謝父母、姊姊與姊夫的支持，在我離家求學的六年期間，給予的關懷與支持，讓我無後顧之憂的享受學生生活並完成學位，沒有你們不會有現在的我。並感謝台北市餐飲工會理事長 林金城伉儷，提供住所及不時的關心，在海大的學弟妹們、男一舍監 文宏大大、漁科所辦公室的美華姊、台北的親戚們及外國友人 Alex、Jheng、Steve、Fely 及汤丽，對於生活上的適時慰問，你們是我這輩子面對任何事最大的動力來源與精神上的支柱，謹以此感謝二字獻給你們。

在兩年不算長的時間中，讓我在未來的計畫及目標上，有了不一樣的體認，更確立了以後努力的方向，再一次深深的感謝師長們及關懷與幫助我的朋友們及家人們。

僅以此論文獻給親愛的家人們與關心我的師長們及朋友們。

## 摘要

菊池氏細鯽 *Aphyocypris kikuchii* (Oshima, 1919) 為台灣特有種，主要分布範圍為台灣東部三縣，屬於小型初級淡水魚類，主要棲息於河川湖泊水流較緩之水域，尤其是水生植物繁生之池沼及農田排水溝，黃昏清晨間在水面跳躍，以捕食成群飛舞之搖蚊，平時以藻類和掉落水中的昆蟲為食，食性屬雜食性。當地大部分將此魚油炸後食用，或將其作為海釣時的釣餌，此外因為其體態優美，體色呈現金黃色，故亦可當觀賞魚養殖。近年來由於棲地的破壞與環境的污染，使其族群分布範圍與數量逐漸縮減，目前已有此魚種的人工繁養殖及魚苗發育的相關研究，故開發其飼料，將有助於此魚種的量產或保育復育工作。

實驗一：於各組含有 30% 魚粉(Fish meal)之飼料中，添加大豆粉(Soybean meal) 0%~40% 共五個添加量，糊精(Dextrin)的添加量則互換為 40%~0% 五個添加量，分為 S0D4、S1D3、S2D2、S3D1 及 S4D0 等五組飼料，探討此魚種對蛋白質和碳水化合物之間的利用關係。由 42 天之飼養結果顯示，以 S4D0 組增重率 165% 及飼料效率 60% 為最佳，此組飼料之蛋白質含量約 40%，由此顯示菊池氏細鯽對於蛋白質的利用率較碳水化合物為佳。

實驗二：對照組飼料(FM30)蛋白質來源為 30% 魚粉及 40% 大豆粉，實驗組飼料中的魚粉添加量分別降為 25%、15% 及 0%，另添加大豆粉及玉米蛋白(Corn protein)等植物性蛋白原料，用以取代動物性蛋白在飼料中的添加量，調配出 FM30、FM25、FM15 及 FM 0 等四組飼料。由 42 天之飼養結果顯示，以 FM25 為最佳，其增重率 156% 及飼料效率 56%。低魚粉組飼料與魚粉添加量較多的組別之間並無顯著差異，顯示此魚種對不同的植物性蛋白之利用率，皆有不錯的效果。

關鍵字：菊池氏細鯽、蛋白質、碳水化合物、低魚粉

## Abstract

The Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*), is a small native freshwater fish that used to be found in streams, ponds and lakes of eastern Taiwan. They often swim in school between aquatic plants and boulders in the water, where they forage for small insects or benthic algae. It prefers the habitats with slow water flow that is rich in aquatic plants for cover. In recent years, due to environmental deterioration that is caused by destruction of habitats and water pollution, their population distribution in the wild has been greatly affected. Development of artificial diet will not only provide the material for the aquaculture but also for the conservation of *A. kikuchii*. Two experiments were conducted to study the optimum dietary protein level, and the growth performance in low fish meal diets.

Experiment I : Five diets contain five protein levels ranging from 25% to 40%, and carbohydrate levels ranging from 35% to 55%, were fed to triplicate groups of Kikuchi minnow (initial body weight  $0.20 \pm 0.03$  g fish<sup>-1</sup>) for 6 weeks. The highest weight gain (WG) and feed efficiency (FCR) were recorded in fish fed Diet S4D0, which contained 40% soybean meal (SBM). According to the results, utilization of protein is better than carbohydrate on Kikuchi minnow.

Experiment II : Four isonitrogenous (crude protein 38%) and isolipid (crude lipid 8%) were formulated to feed Kikuchi minnow (initial body weight  $0.39 \pm 0.05$  g fish<sup>-1</sup>) for 6 weeks. Diet FM30 (control) contains the highest percentage of fish meal (FM), up to 30%. In the other three diets (FM25, FM15 and FM0), FM protein was replaced by SBM and corn protein (CP) as alternative plant protein resources. The highest WG and

FCR were recorded in fish fed diet FM25, which contained 55% plant protein. Results were showed that Kikuchi minnow also has good utilization of different plant protein supplements.

Key word : Kikuchi minnow 、 protein 、 carbohydrate 、 low fish meal diet



# 目錄

	頁次
誌謝.....	I
中文摘要.....	II
英文摘要.....	III
目錄.....	V
表目錄.....	VI
圖目錄.....	VII
前言.....	1
實驗一、飼料中添加不同比例之大豆粉及糊精對菊池氏細鯽成長之影響。	
壹、    材料與方法.....	9
貳、    結果.....	13
參、    討論.....	15
實驗二、降低飼料中魚粉添加量對菊池氏細鯽成長之影響。	
壹、    材料與方法.....	19
貳、    結果.....	21
參、    討論.....	23
總結.....	27
參考文獻.....	28
表與圖.....	38

# 表目錄

頁次

Table 1-1. Composition and proximate analysis of the experimental diet (%) for Kikuchi minnow.....	38
Table 1-2. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21 days.....	39
Table 1-3. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.....	40
Table 1-4. Chemical content of whole fish body.....	41
Table 1-5. Protein efficiency ratio (PER) and daily nitrogen increase of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.....	42
Table 2-1. Composition and proximate analysis of the experimental diet (%) for Kikuchi minnow.....	43
Table 2-2. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21 days.....	44
Table 2-3. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.....	45
Table 2-4. Chemical analyses of whole fish body.....	46
Table 2-5. Protein efficiency ratio (PER) and daily nitrogen increase of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.....	47

## 圖目錄

	頁次
Fig. 1-1. Body weight of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21 days. .....	48
Fig. 1-2. Body weight of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	49
Fig. 1-3. Weight gain of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21and42 days. .....	50
Fig. 1-4. Feed efficiency of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21and 42 days. ....	51
Fig. 1-5. Crude protein of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	52
Fig. 1-6. Crude lipid of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	53
Fig. 1-7. Protein efficiency ratio of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. ....	54
Fig. 1-8. Daily N increase of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	55
Fig. 2-1. Body weight of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21 days. .....	56
Fig. 2-2. Body weight of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	57
Fig. 2-3. Weight gain of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21and42 days. .....	58
Fig. 2-4. Feed efficiency of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21and 42	



days. ....	59
Fig. 2-5. Crude protein of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	60
Fig. 2-6. Crude lipid of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	61
Fig. 2-7. Protein efficiency ratio of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. ....	62
Fig. 2-8. Daily N increase of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days. .....	63



## 前言

### 一、魚種介紹

菊池氏細鯽 Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*)，在分類學上屬硬骨魚綱 (Osteichthyes)、鯉形目 (Cypriniformes)、鯉科 (Cyprinidae)、鯽亞科 (Danioninae)、細鯽屬 (*Aphyocypris*) 魚類。中文俗名有散魚仔、吉氏細鯽、臺細鯽、瘦魚、車栓仔等名稱，Medaka 為台東地方的俗稱，英文俗名則為 Kikuchi minnow、Taiwan Venus fish、Taiwan green chub 等，於 1919 年由日籍動物學者大島正滿命名(陳及方, 2001)。

菊池氏細鯽為台灣特有魚種，屬於初級淡水魚種，主要棲息於水流較緩的河段、水渠及湖沼中，尤其是水生植物繁茂的淺水區域，性喜成群活動，穿梭於水草及水中遮蔽物之間，以掉落水中的昆蟲及石頭上之藻類為食(陳及方, 2001)。形態特徵為身體延長而側扁，腹部具不完全的腹稜，下頷略為突出較上頷為長，口裂向下斜走，無鬚，咽頭齒 2 列，齒式 3.5-4.4；長體側鱗片較大，側線不完全，僅見於腹鰭基部前的 11 枚鱗片，整體縱列鱗則約 30 枚。體色呈現均勻淺鵝黃色，背部鱗片具淡黃綠色金屬光澤，魚體側自眼睛後端，至尾鰭基部有一條墨藍色縱帶，腹部及各鰭條均為微黃而白色，各鰭均無硬棘，背鰭軟條 2 (不分支軟條) + 7 (分支軟條)；臀鰭 2 (不分支軟條) + 7 (分支軟條)(沈, 1993; 曾, 1986; 林, 2008)。雌雄間體型具明顯差異：雄魚體型較為瘦長，成年體長可達約 8 公分，於發情期鰓蓋上及吻部有細小追星出現。雌魚之腹部較雄魚膨大且飽滿，且成年體長可達約 10 公分，體型明顯較雄魚大上許多，由此外觀特徵作為其性別分辨之依據(陳及張, 2005)。

主要分布於台灣東部的台東、花蓮及宜蘭等地的河川、湖沼中，北縣亦有少部分野生族群之相關紀錄，但近年已屬少見(陳及方, 2001)。早期台灣東部三縣在食物來源缺乏的墾荒時代，作為當地居民之食用魚種，據傳歷史悠久的池上便當中，便將當地所生產之菊池氏細鯽作為配菜。人為引進東部的魚種中，粗首馬口鱮 (*Opsariichthys pachycephalus*) 與鰲條 (*Hemiculter leucisculus*) 引進東部後，因其生態區位與菊池氏細鯽互相重疊，且在體型上更具有競爭優勢，造成原本棲息於此的菊池氏細鯽族群，面臨極大的生存壓力(陳及張, 2005)。菊池氏細鯽亦可當成觀

賞魚飼養，近年來更被捕撈作為釣魚用的活餌，過度的捕撈亦是造成菊池氏細鯽族群量銳減的一大原因(曾, 1986)，此外不符合原生魚種棲息條件的河川湖泊整治工程，使得支流及渠道等水泥化，不但破壞其棲息環境，更使原有棲地菊池氏細鯽產卵所需之水生植物日漸消失，因而使族群量恢復上更加艱難。

## 二、魚類對蛋白質之利用

蛋白質是構成魚類組織的最主要有機物質，約可達魚體乾重的 65%~75%，魚類攝入飼料後，經消化及水解作用釋出蛋白質中的胺基酸，在小腸經主動運輸的方式吸收後，由血液運輸至魚體各部位組織及器官，以合成自體的蛋白質或修補組織(Wilson,2002)，如何有效的將飼料中的蛋白質，轉換成養殖生物的體蛋白，為水產營養飼料研究之主要課題。

飼料價格取決於蛋白質的含量與品質，蛋白質需求量又因魚種、魚體大小、環境、飼料中蛋白質之品質及非蛋白質來源的能量如脂質及碳水化合物之含量而有不同(NRC, 1993)。飼料中非蛋白質原料的添加可節約蛋白質，減少養殖生物代謝蛋白質作為能量來源，以達到蛋白質節約效應(Cho and Kaushik, 1990)。絕大部分海水魚對蛋白質需求高於淡水魚，其中肉食性魚類對蛋白質要求量會高於草食性的草魚及雜食性的鯉魚及吳郭魚等魚類。此外蛋白質品質的優劣受其來源與加工方式所影響，各種不同原料的胺基酸組成比例及含量，為評斷其營養價值的依據，若飼料中蛋白質的胺基酸組成符合養殖生物的需求，且易於轉換為生物的體蛋白，表示其營養價值越高，亦即魚類和其他動物一樣，沒有絕對的蛋白質需求，僅有必須胺基酸的需求量(Deshimaru and Shigeno,1972；Deshimaru et al.,1985；Wilson,1985)。

一般蛋白質來源可分為動物性及植物性兩大類。動物性原料：魚粉、烏賊粉、烏賊內臟粉、南極蝦粉、蝦殼粉、肉骨粉、血粉及羽毛粉等，部分為畜產加工後之副產品，但因其營養價值高，誘引效果佳等原因，故將其作為飼料之原料來源(Cruz-Ricque and Guillaume, 1987；Pelissero and Sumpter, 1992)；植物性原料：大豆粕、菜籽粕、麩皮、玉米筋質粉及玉米蛋白等。

## 三、動物性原料介紹

魚粉 (Fish meal)：魚粉一直被公認為水產飼料中動物性蛋白質的最佳來源，

依原料魚種可分為白魚粉及紅魚粉，白魚粉主要以鱈魚作為原料魚種，粗蛋白質含量可達 65% 以上，油脂含量較其他魚粉低，較不易因油質酸敗產生質變。紅魚粉主要以沙丁魚、鯷魚及鯡魚作為原料魚種，粗蛋白質含量一般較白魚粉低，油脂含量較白魚粉高(鄭, 1991)。魚粉中富含高品質蛋白質，且胺基酸含量豐富與組成均衡，魚類對其蛋白質消化率高，並具有良好的誘引性及未知的成長因子(Unknown growth factors)，及多量的維生素 B<sub>2</sub>、B<sub>12</sub> 及菸鹼酸(Niacin)等 (Rumsey, 1973；Hardy and Masumoto, 1990；Hardy, 1996)。同時也是良好的礦物質來源，可補充養殖生物對 Ca、P 及微量元素的需求。因此魚粉被大量使用在水產飼料作為蛋白質來源，尤其是肉食性魚類飼料中(New, 1976；Akiyama and Dominy, 1991)。

南極蝦粉 (Krill meal)：南極糠蝦為存活在南極海域一帶磷蝦目 (Euphausiacea) 甲殼綱生物的總稱，其中又以 *Euphausia superba* 捕獲量最大，經乾燥粉碎後之產物，可分為全蝦粉或剝殼的蝦肉粉等兩種，含甲殼者粗蛋白含量約 50%，去殼者更可高達約 65%，使用時應注意其品質及新鮮度(Storebakken, 1988)。其中富含高品質蛋白質、礦物質、幾丁質、膽固醇及磷脂質等，因為其中富含的游離胺基酸，將其抽出物作為飼料中的誘引物質，可產生良好的誘引效果(Ellingsen, 1982)。某些特定的胺基酸組合，經實驗證實可增加虹鱒的攝食率(Adron and Mackie, 1978)。飼料中添加南極蝦粉及南極蝦萃取物與對照組(白魚粉 75%)相比較，具有增進嘉鱻及黑鯛成長的效果，增重率分別增加 1.47~1.71 倍及 1.25 倍的增重率(Allahpichay and Shimizu, 1984)。在飼料中添加南極蝦粉取代魚粉，飼養 Atlantic cod 的實驗中發現，飼料中可以添加南極蝦粉取代約 50% 的魚粉用量，其成長效果與使用全魚粉的對照組之間無差異(Opstad et al., 2006)。在鮭魚飼料中添加 30% 以上的南極蝦粉取代部分的魚粉，成長效果與全魚粉組相似(Julshamn et al., 2004)。添加於大西洋鮭飼料中取代 40%~60% 的魚粉蛋白，不僅成長比全魚粉組佳，在魚肉肉質、味道、色澤及品質都有明顯提升的效果(Suontama et al., 2007)。

#### 四、植物性原料營養上之缺點

由於植物性原料中含有各種不同的抗營養物質 (Antinutritional factors)，而成為飼料添加的一大限制因素。抗營養因子依種類可分為四大類：(1)抑制胃蛋白酶 (Pepsin) 及胰蛋白酶 (Trypsin) 的作用，降低飼料中的蛋白質及胺基酸的利用及吸

收率，如胰蛋白酶抑制因子 (Trypsin inhibitor)、單寧 (Tannins)及植物凝血素 (Lectins)；(2)可與礦物質形成螯合物，進而影響體內礦物質吸收，如植酸 (Phytic acid)、棉酚 (Gossypol)及含硫配糖體 (Glucoginolate)；(3)含影響維生素吸收利用的抗維生素因子 (Antivitamins)；(4)其他如生物鹼 (Alkaloid) 具有苦味物質，無法以加熱處理去除，造成生物的攝食量下降，皂素 (Saponins)則含有界面活性劑的效果，可對魚體細胞膜造成破壞(Francis et al., 2001)。

另一限制因素為植物性原料中的胺基酸組成 (Amino acid profile)不平衡，植物性原料較動物性原料缺乏部分必須胺基酸，如大豆粉較魚粉缺乏 Lysine 及 Methionine (Shiau et al., 1989, 1990)，玉米蛋白較魚粉缺乏 Lysine 及 Tryptophan。故在探討植物性蛋白取代魚粉蛋白的研究時，常需在飼料中添加少量的 Lysine 及 Methionine 以增進生長。

## 五、植物性原料介紹

近年來海洋資源的過度開發，作為魚粉原料的魚種資源量下降，造成魚粉的產量下降，加上魚粉加工成本高，使得國際魚粉價格逐年上升，未來恐有短缺之虞(Harvey, 1991；New, 1991；Watanabe, 1996)。另一方面隨著水產飼料工業的快速發展及魚粉供應的短缺，故在飼料生產成本的考慮下，由其他動物或植物性蛋白質原料中，尋求可替代魚粉的蛋白質來源是值得被研究的(Bairagi, 2002；Watanabe, 2002)。現今許多研究報告指出，植物性蛋白質原料已可成功取代飼料中的魚粉添加量，取代率約達 30%~50%(Francis et al., 2001)。部分植物性原料經實驗證實，可有效降低草食性或雜食性養殖物種飼料中的魚粉添加量，而不會對養殖生物造成不良影響(Hardy and Tacon, 2002)。此外植物性蛋白質原料由於產量穩定，價格較魚粉低廉，並可減少海洋資源過度開發，其中可分為兩類：(1)植物種籽榨油過後剩餘之種籽粕，經乾燥粉碎後之油粕類飼料(Oil and feeds)；(2)農產食品加工之副產品(By-product)。

大豆粉 (Soybean meal)：係大豆經由壓榨、提油，將萃取出油脂之大豆殘粕，經一定溫度及時間加熱乾燥，以去除營養抑制因子(胰蛋白酶抑制因子、尿素酶)，進而提高其營養價值，再經粉碎等加工步驟而成，與其他油粕類質品相比含有較高的蛋白質含量。大豆粉目前大量添加魚飼料中作為蛋白質來源，其主要原因不

外乎是國際大豆產量多，價格低廉，經萃取大豆油後蛋白質含量可達 40%~45%，胺基酸組成尚平衡，唯獨 Lysine 及 Methionine 的含量較為不足，飼料中需配合額外胺基酸添加以補充不足的部分，若飼料中僅使用大豆粉作為蛋白質來源，又不補足此兩種必須胺基酸，飼養結果必定無法與全魚粉的組別相比較(Snyder and Kwon, 1987；鄭, 1991；Craig and Maclean；2006)。在大部分的養殖魚種的飼料中以大豆粉為蛋白質來源，只要額外添加少量必須胺基酸，便可部分或完全取代動物性蛋白質在飼料中的添加(Tacon, 1993)。

過去研究中，歐利亞吳郭魚飼料添加 67%大豆粉 (Alan and Stickney, 1978)、黃鰭鯛飼料添加 20%大豆粉(Nengas and Alexis, 1996)，增重率和飼料效率與對照組無顯著差異。鯉魚飼料添加 Lysine 0.4%~0.5%、Methionine 0.4%及 10%油脂 (Viola et al., 1981)，美洲河魴飼料添加 Lysine 0.4%及 Methionine 1%(Webster et al., 1992a)，大豆粉可完全取代魚粉，且成長上與對照組無顯著差異。莫三比克吳郭魚飼料中添加 25%大豆粉餵養時，發現其效果比對照組更佳(Jackson et al., 1982)。

玉米蛋白 (Corn protein)：即為食品加工製造玉米澱粉後所剩之副產品，另外也有玉米胚芽、玉米筋質料及其他產品等，均為良好之飼料原料。玉米穀粒除去外皮後可分為胚芽(Corn germ)及胚乳(Endosperm)二部分，胚乳部分可分為蛋白質及澱粉二部分，抽取其中的澱粉後所剩之蛋白質，即為玉米筋質粉可分成蛋白質含量 60 %或 65 %以上兩種，再依澱粉分離程度與粗蛋白量可達 70 %左右稱為玉米蛋白。玉米蛋白的纖維含量低，具有維生素 B、E 等所需營養素，胺基酸組成比起其他植物性材料更為完整，且幾乎不含抗營養因子如植酸(Phytic acid)、胰蛋白酶抑制劑(Trypsin inhibitor)、生物鹼(Alkaloid)、單寧(Tannins)等，為一良好之飼料原料(鄭, 1991)。

過去研究中，虹鱒飼料添加 6%~15%之玉米筋質粉(Bureau et al., 2000)、金頭鯛飼料添加 10%~21%之玉米筋質粉(Robaina et al., 1995)及日本比目魚飼料添加 10%之玉米筋質粉(Kikuchi, 1999)，增重率和飼料效率與對照組無顯著差異。在吳郭魚飼料可添加 30%之玉米胚芽粕及 15%之玉米蛋白(王, 2009)、赤鰭笛鯛飼料添加 20%之玉米蛋白(黃, 2001)及海鱸飼料添加 15%之玉米蛋白(黎, 2006)，在飼料中添加量多在 10%~25%之間，唯玉米蛋白中 Lysine、Methionine、arginine 及 Tryptophan 含量較魚粉低，添加量多時須注意飼料中必須胺基酸之補充(Mente et al.,

2003)。

## 六、魚類對碳水化合物之利用

飼料原料中做為源能量來源的有蛋白質、脂質及碳水化合物，其中以碳水化合物的價格最低廉。經研究對於碳水化合物的消化率，溫水性或淡水魚類對飼料中添加的碳水化合物之利用率，較冷水性或海水魚類為佳，部分魚種的飼料中若不含碳水化合物，魚體傾向利用蛋白質或脂質作為能量來源來合成其他重要生化代謝的中間產物，故對於其生長會造成不良影響。前人研究指出，藉由碳水化合物或脂質的添加以取代飼料中的蛋白質含量以節省蛋白質的消耗，並提高蛋白質的利用率，達到蛋白質節約的效果，可有效節省飼料製造的成本(Wilson, 1994)。

Ogino et al. (1976) 以酪蛋白為蛋白質來源，藉由碳水化合物及脂質的添加，來探討虹鱒及鯉於對蛋白質及其他能量來源的利用，結果顯示鯉魚能有效利用碳水化合物作為能量來源，而虹鱒以脂質最為能量的利用率較碳水化合物高。Ufodike and Matty (1983) 以酪蛋白及白魚粉作為蛋白質來源，調配出七組等蛋白質及等脂質的飼料，添加不同比例的樹薯及稻米作為碳水化合物來源，探討德國鏡鯉對於碳水化合物的利用率，實驗結果以飼食添加 45% 稻米(碳水化合物含量約 45%)的組別，在增重率、飼料轉換率及蛋白質利用率上有最佳效果。

## 七、含磷礦物質

礦物質為所有生物在生理代謝過程中不可欠缺的營養素，魚類除了從食物中得到礦物質外，也會從周遭水體中吸收部分礦物質作為己用。為維持正常的新陳代謝，在生物體內細胞及組織中，礦物質濃度必須保持在一定的範圍內。礦物質對膠體系統的維護、骨骼的生成、體內酸鹼值的平衡調節及其他重要的物質，如酵素及荷爾蒙是很重要的。缺乏礦物質會引起生物化學、組織結構及功能病理學隨礦物質的缺乏程度及持續時間，而有不同程度的危害(Watanabe et al., 1997)。

磷在生物體內唯一巨量元素，在水產生物生理上的功能包括魚體組織的鈣化、合成能量、核酸及細胞膜的重要組成物質，並具有緩衝液的功能，可維持血液和體液的正常酸鹼值，此外並參與脂質、蛋白質及醣類的生化代謝(李, 1996)。含磷礦物質可分為無機磷(Inorganic phosphorus) 及有機磷 (Organic phosphorus) 兩種，大部分水產飼料中的含磷礦物質來源為魚粉中魚骨所提供，但因為其鍵結結構不

易較為複雜，不易被魚體利用，排放至水體中容易造成水體優養化(Rowland et al. 1995)。Bureau and Cho (1999) 建議飼料中的可利用含磷物質必須充足，以防止缺乏症的發生，並盡量減少排泄物中的含磷物質流入水中。

相對於有機磷酸鹽，魚類對於無機磷酸鹽的消化率較高，在Roy and Lall (2003) 的研究中指出鱈魚對飼料中的有機磷酸鹽利用率為 43%，而無機磷酸鹽利用率則可達到 99%。雖然魚類有能力由水中吸收磷酸鹽，但在淡水及海水中磷含量低，且多為有機磷酸鹽，在利用率上較為不佳(Phillips et al., 1958)，所以還是以飼料為主要來源。飼料中的磷酸鹽類主要來源為魚粉、植物性原料及無機磷酸鹽，其中魚粉的磷酸鹽大多來自於骨骼，植物性原料的磷酸鹽主要為植酸磷，不易被魚體吸收，且植酸會與部分礦物質(鈣、鎂、銅、鐵、鋅、鈷及錳等) 和蛋白質形成鍵結，會降低礦物質及蛋白質的生物可利用率。無機磷酸鹽種類也會影響魚體對其的利用率，鯉魚及虹鱒可有效利用第一磷酸鈣，第二磷酸鈣利用率低於第一磷酸鈣，第三磷酸鈣的利用率則為最差(荻野, 1988)。許多研究中指出，虹鱒、大西洋鮭、鯉魚及嘉鱻對磷的需求量約為 0.5%~0.9%之間，美國河鱈及日本鰻對磷的需求量則分別為 0.45%及 0.3%。

磷的缺乏會造成成長率、飼料效率、骨骼礦物質化下降，並間接產生畸形等現象發生。鯉魚餵食低磷飼料會使肝醣生成酵素增加(Onishi et al., 1981)，引起魚體水分含量下降，而脂質含量上升(Takeuchi and Nakazoe, 1981)，魚體磷含量下降及頭部骨骼變形(Ogino and Takeda, 1976)。以未添加無機磷酸鹽的飼料餵食歐洲白鱒，造成魚隻成長率下降、魚體及血漿含磷量降低、脊椎骨灰分含量減少及魚體脂質蓄積量提高(Vielma et al., 2002)。研究發現當嘉鱻飼料中含磷量下降時，背部肌肉及肝臟脂質含量增加，肝臟的肝醣及脊椎骨灰分、鈣及磷含量也隨之下降(Sakamoto and Yone, 1978)。鯉魚則為成長率下降、飼料效率下降、頭部骨骼畸形、脊椎骨彎曲變形、骨骼礦化作用異常、胸鰭硬棘軟化及魚體脂質蓄積量增加(李, 1996)。



## 七、研究目的

目前對於菊池氏細鯽之相關研究，多著重於分類及演化之探討。賴等(2010)對於其人工繁殖、孵化及育苗等方面進行實驗，研究菊池氏細鯽之生殖模式，提供其繁殖生物學相關研究的參考資料。本研究希望藉由飼料配方之開發對此魚種未來的量產或保育復育工作有所幫助。本研究可分為兩個部分：

實驗一：飼料中添加不同比例之大豆粉及糊精對菊池氏細鯽成長之影響。

實驗二：降低飼料中魚粉添加量對菊池氏細鯽成長之影響。



# 實驗一、飼料中添加不同比例之大豆粉及糊精對菊池氏細鯽成長之影響

## 壹、材料與方法

### 一、實驗魚種與飼養條件

實驗用菊池氏細鯽由花蓮縣水產培育所贈送，運送至國立台灣大學漁業科學研究所實驗室中之水缸先行馴養，馴養時間為期一個月，使其適應環境，此期間投餵市售香魚一號飼料，每日兩次，投餵至飽食為止，並於餵食後一小時換水三分之一，使魚苗習慣攝食人工飼料。試驗分組前一天則停止餵食。

分組時以隨機採樣的方式，將平均體重為  $0.20 \pm 0.03$  克之菊池氏細鯽分別放入  $45 \text{ cm} \times 30 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$  之水缸中，實驗共分為 5 組，每組 30 尾，三重複。實驗缸中設置氣動式海綿過濾器進行水質過濾及增加水中溶氧量，並定期清洗過濾海綿及清理缸壁上之附著物，另加以壓克力板為蓋，防止魚隻跳出，水溫控制在  $25^{\circ}\text{C} \sim 28^{\circ}\text{C}$  之間，以室內螢光燈管作為光照來源，光照週期則採 12 小時暗:12 小時亮。

實驗開始後，每日投餵試驗用飼料兩次，分別為上午 10:00 及下午 5:00，餵食至魚隻飽食為止，並記錄投餵量及各缸水溫，餵食後一小時換水三分之一，以虹吸管移除缸中殘餌以維持缸中水質穩定。實驗共進行 42 天，每 21 天秤重一次，並於秤重前一天停止餵食，42 天秤重紀錄後，每組採樣 15 尾，置於  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱冷凍保存，以供後續全魚體粗蛋白、粗脂肪分析之使用。

### 二、實驗飼料配製

實驗使用之飼料配方如 Table 1-1 所示，固定成分佔 60%，各組別皆添加 30% 魚粉(Fish meal)為基礎蛋白質之來源，其他成分包括  $\alpha$ -澱粉 15%、維生素預混物 0.9%、維生素 E 0.1%、礦物質預混物 5%、氯化膽鹼 0.5%、油 5%(大豆油:魚油=3:2)及纖維素 3.5%。變異成分則為大豆粉(Soybean meal)及糊精(Dextrin)兩種原料，用以調配蛋白質和碳水化合物在飼料中所佔之比例。大豆粉添加量為 0%、10%、20%、30%及 40%，共五個添加量；糊精的部分則以 40%、30%、20%、10%及 0%五個添加量和大豆粉互換，調配出 S0D4、S1D3、S2D2、S3D1 及

S4D0 共計五組實驗飼料。

依配方將各種原料均勻混合後，加入原料重量 30~35%之水進行均勻攪拌，經擠料器擠出後，再以小刀裁切至適當長度，放置於鼓風式乾燥機以 45°C、15 小時乾燥後，以小型咖啡磨粉機磨至適合魚隻口徑之顆粒大小，保存於-20°C 之冰箱以供日後餵食及飼料分析之用。

### 三、 分析方法

#### 1. 水分與灰分

飼料中水分與灰分之測定，係依據 AOAC(1984)方法分析。水分分析是將樣品(0.5 g)磨碎後秤於坩鍋後置於烘箱內，以 110°C 烘乾水分，每隔兩個小時秤重，直到所秤重量恒定，其減少的量即為水分重量，再除以樣品重量即為水分之百分比。灰分分析方法則是將樣品(0.5 g)秤於坩鍋後置於灰化爐(NEY 2-525)中，以 600 °C、15 小時，將樣品灰化至成灰色粉末為止，之後秤重，即為灰分重量。

#### 2. 粗蛋白分析

試驗中各組飼料及魚肉蛋白質含量皆依照 Micro-Kjeldahl 的分析方法(AOAC, 1984)進行分析。取樣品(飼料 0.2 g, 魚肉 0.5 g)以 70 mm 濾紙(Toyo, Japan)包覆，放入凱氏氮分解瓶中，加入催化劑 3 g ( $K_2SO_4 : CuSO_4 = 9 : 1$ )後，再加入 18 N 濃硫酸 15 ml。將凱氏氮分解瓶放入粗蛋白質分解裝置(Büchi 435, Switzerland)，先以 220 °C 預熱 30 分鐘，接著提高溫度至 560 °C 加熱兩小時，至溶液澄清淡藍色為止。分解完畢，於室溫下待其冷卻後，將凱氏氮分解瓶以凱氏氮蒸餾裝置(Büchi K-355, Switzerland)蒸餾消化液，並以 50 ml 之硼酸水溶液( $H_3BO_3$ , 4%)加入 2 滴混合指示劑(methyl red:methyl blue=1:1)作為氨氣( $NH_3$ )接收液。蒸餾時間設定為 5 分鐘，再以滴定用硫酸( $H_2SO_4$ , 0.1 N)滴定接收液，當顏色由翠綠色變為無色時，即為滴定終點。記錄滴定用硫酸( $H_2SO_4$ , 0.1 N)滴定量，並以下列公式計算粗蛋白含量(%)：

$$\text{粗蛋白}(\%) = \frac{(a-b) \times 6.25 \times 0.0014 \times \text{硫酸滴定量(ml)}}{\text{樣本重(g)}} \times 100$$

a：以 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 滴定樣品所用之毫升數

b：以 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 滴定空白組所用之毫升數

6.25：含氮係數

0.0014：1 ml 0.1 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 相當於 0.0014 g 之氮量

### 3. 粗脂質萃取

粗脂質依照 Folch et al. (1957) 完全萃取脂質的方法。將樣品（飼料 1g，魚肉 1g）加入氯仿/甲醇（chloroform / methanol, 2：1 v / v）50 ml 的溶液中，以均質機（Nissei AM-3, Tokyo Japan）5000 rpm 均質五分鐘，再用濾紙過濾，並以氯仿/甲醇（2：1 v / v）50 ml 洗滌，將過濾液完全移入分液漏斗中，並加入 0.03 M 氯化鎂水溶液（MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O）20 ml，強力混合一分鐘，不定時轉開調節閥洩氣，靜置 12 小時後，取含脂質之下層液經過濾裝入秤重過之濃縮瓶中，經減壓回轉濃縮機濃縮後秤重。最後將所萃出脂質重量除以樣品重量即為粗脂質含量。

## 四、資料分析

### 1. Weight gain (WG) %

$$= [\text{weight gain (g)} / \text{initial weight (g)}] \times 100$$

### 2. Feed efficiency (FE) %

$$= [\text{weight gain (g)} / \text{feed intake (g)}] \times 100$$

### 3. Survival rate %

$$= [\text{final number of fish} / \text{initial number of fish}] \times 100$$

### 4. PER %

$$= [\text{weight gain (g)} / \text{protein intake (g)}] \times 100$$

5. Daily N increase (g/100g b.w.)

$$= [\text{final body crude protein} \times 100/6.25 - \text{initial body crude protein} \times 100/6.25] / \text{days}$$

#### 五、統計方法

實驗數據以 SAS 統計軟體(SAS Institute, Cary, NC, U.S.A.)作單因子變方分析 (One-way analysis of variance) 測試是否有差異，若有差異再以鄧肯氏多變域測驗 (Duncan's new multiple range test) 比較其各組差異，顯著水準皆為 0.05。



## 貳、結果

### 一、飼料分析

實驗飼料組成及成分分析如 Table 1-1 所示。所配製的實驗飼料水分含量在 6.81%~7.38% 之間，灰分含量隨著大豆粉添加量漸增而有上升的趨勢，由 8.48% 漸升至 10.73%，粗蛋白含量呈現 20.14%、24.54%、28.86%、32.89% 及 37.97% 等五個含量，碳水化合物含量呈現 56.30%、51.82%、46.15%、41.39% 及 36.39% 等五個含量，粗脂質含量在 7.70%~8.37% 之間。

### 二、飼養結果

在菊池氏細鯽的飼料中添加不同量的大豆粉及糊精飼養，經飼養 21 天後，其結果如 Table 1-2、Fig. 1-1、Fig. 1-3 及 Fig. 1-4 所示。實驗開始時各組別平均體重界於 0.19 g ~ 0.21 g 之間，各組魚隻間並無顯著差異存在。

經飼養 21 天後，S0D4 組平均體重由 0.21 g 成長至 0.25 g，增重率為 19%，飼料效率為 16%；S1D3 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.26 g，增重率為 30%，飼料效率為 24%；S2D2 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.28 g，增重率為 40%，飼料效率為 38%；S3D1 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.27 g，增重率為 35%，飼料效率為 42%；S0D4 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.40 g，增重率為 100%，飼料效率為 72%。各組別存活率分別為 90%、98%、98%、100% 及 100%。

經飼養 42 天後，其結果如 Table 1-3、Fig. 1-2、Fig. 1-3 及 Fig. 1-4 所示。S0D4 組平均體重由 0.21 g 成長至 0.28 g，增重率為 40%，飼料效率為 19%；S1D3 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.31 g，增重率為 55%，飼料效率為 30%；S2D2 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.32 g，增重率為 60%，飼料效率為 46%；S3D1 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.35 g，增重率為 75%，飼料效率為 52%；S0D4 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.53 g，增重率為 165%，飼料效率為 60%。各組別存活率分別為 73%、80%、92%、100% 及 100%。

### 三、全魚體粗蛋白質分析

經過 42 天飼養後之各組別皆採樣 15 尾魚，各組別魚隻經過充分均質後，利用凱氏氮蒸餾裝置蒸餾，以測定全魚體粗蛋白含量。其結果如 Table 1-4 及 Fig. 1-5

所示，初始全魚體粗蛋白含量為  $13.55\pm 0.30\%$ ，經 42 天飼養後，各組粗蛋白含量界於  $13.78\% \sim 16.02\%$  之間。其中以添加 0% 糊精及 40% 大豆粉的 S0D4 組  $16.02\pm 0.23\%$  為最高，添加 40% 糊精及 0% 大豆粉的 S4D0 組  $13.78\pm 0.24\%$  為最低，各組間呈現出顯著差異。

#### 四、全魚體粗脂質分析

實驗開始時採樣之菊池氏細鯽，及經過 42 天飼養後之 15 尾魚，各組別魚隻經過充分均質後，分析全魚體粗脂質含量。其結果如 Table 1-4 及 Fig. 1-6 所示，初始全魚體粗脂質含量為  $15.58\pm 0.41\%$ ，經 42 天飼養後，各組粗脂質含量在  $3.70\% \sim 6.85\%$  之間。其中以添加 0% 糊精及 40% 大豆粉的 S0D4 組  $6.85\pm 0.36\%$  為最高，添加 40% 糊精及 0% 大豆粉的 S4D0 組的  $3.70\pm 0.48\%$  為最低，各組間呈現出顯著差異。

#### 五、蛋白質效率及魚體日氮增加量

菊池氏細鯽經過 42 天飼養後，投餵飼料之克數、蛋白質效率及魚體日氮增加量如 Table 1-5、Fig. 1-7 及 Fig. 1-8 所示。蛋白質效率在  $0.96\% \sim 1.58\%$  之間，以 S3D1 組及 S4D0 組之蛋白質效率 1.58% 最高，S0D4 組之蛋白質效率 0.96% 最低，和 S0D4 及 S1D3 之間有顯著差異。每百克魚體每日增加之氮量在  $0.14\% \sim 1.04\%$  之間，其中以 S4D0 組的  $1.04\pm 0.01$  g/100g b.w. 為最高，S0D4 組的  $0.14\pm 0.04$  g/100g b.w. 為最低，S1D3 及 S2D2 無顯著差異，其餘組別之間則呈現顯著差異。

## 參、討論

### 一、飼料配方

魚類因魚種不同對於蛋白質的需求受到魚體大小、環境及飼料中蛋白質品質的影響，當飼料中蛋白質添加過多或過少時，會對魚類在成長上造成不良的影響(NRC,1993)。在研究不同魚種的蛋白質需求量時，飼料中添加的蛋白質含量及品質，對魚隻成長效果、存活率及蛋白質蓄積率會維持一定的正比關係，隨著蛋白質提高而增加魚體體重的成長，但當到達某一添加量後，成長反而開始下降(Jauncey, 1982; Cho et al., 1985;Shiau and Huang, 1989; Mohanty and Samantaray, 1996; Gunasekera et al., 2000)，添加過量的蛋白質不僅會造成飼料成本的浪費，而且魚體酵素無法消化過多的蛋白質，而造成飼料中蛋白質的浪費，過多的含氮物質排出魚體外，進而造成水質汙染(Rowland et al., 1995)。原則上可依探討陸生動物對最適蛋白含量的方法，利用表觀的體重增重率及內觀的體組織含氮物質增加率，可計算出蛋白質效率(protein efficiency ratio, PER)及蛋白質生成效率(productive protein value, PPV)等兩個數值，並用來探討各種魚類飼料的最適蛋白質添加量(Steffens, 1981)。De Long et al. (1958)等人開啟了使用酪蛋白為主要蛋白質來源的研究方法，因酪蛋白中蛋白質含量約可高達 90%以上，且魚類對其有不錯的消化率，故以酪蛋白探討魚類飼料中蛋白質的最適添加量。

在鯉魚飼料中利用不同添加量的酪蛋白，作為飼料中的蛋白質來源，經過 30 天實驗後之結果顯示，飼料蛋白質含量達 38%組，體蛋白增加率及蓄積率已達最大值，飼料蛋白質含量較高的組別，增重率及體蛋白增加率與其並無差異(Ogino and Saito, 1970)。在草魚飼料中同樣利用不同添加量的酪蛋白，探討草魚的最適蛋白質添加量，經過 40 天實驗後之結果顯示，飼料蛋白質含量約在 41%~43%時，增重率及體蛋白增加率已達最大值，飼料蛋白質含量較高的組別，其增重率及體蛋白增加率逐漸下降(Dabrowski, 1977)。由上述兩篇研究報告中，可知鯉科魚類之最適蛋白質需求量約在 40%左右，本實驗飼料中最高蛋白質的含量設定為 40%。

經研究溫水性或淡水魚類對於碳水化合物皆有不錯之利用率，添加於飼料中可達到蛋白質節約的目的，且因碳水化合物為飼料原料中價格最低廉者，故若能提高碳水化合物並降低蛋白質含量，則可有效節省飼料成本。魚類對於碳水化合物的利用率，因魚種不同而有所差異(Wilson, 1994)。在鯉魚(Shimeno et al., 1977,



1981; Takeuchi et al., 1979; Furuichi and Yone, 1980), 吳郭魚(Anderson et al., 1984; El-Sayed and Garling, 1988), 紅鼓魚(Ellis and Reigh, 1991)等魚種, 對於碳水化合物利用率高於鯽魚(Furuichi and Yone, 1981), 鯀魚(Cowey et al., 1975), 鮭魚(Buhler and Halver, 1961; Lee and Putnam, 1973; Edwards et al., 1977; Hilton and Atkinson, 1982), 冷水性或海水魚類對其利用率皆低於20%, 明顯較溫水性或淡水魚類為低。

Ufodike and Matty (1983) 以酪蛋白及白魚粉作為蛋白質來源, 調配出七組等蛋白質及等脂質的飼料, 添加不同比例的樹薯及稻米作為碳水化合物來源, 探討德國鯉魚對於碳水化合物的利用率, 實驗結果顯示隨著飼料中碳水化合物含量上升, 成長隨之上升, 其中又以餵食添加45%稻米(碳水化合物含量約45%)的組別, 在增重率、飼料轉換率及蛋白質利用率上有最佳效果。亦有研究指出, 鯉魚對於飼料中含碳水化合物30%~40%(Sato, 1991)及草魚對於飼料中含碳水化合物37%~56%(Lin, 1991), 含量上升有較佳成長之效果故可知鯉科魚類對碳水化合物有不錯之利用率。本實驗飼料中碳水化合物的含量, 便是以草魚對碳水化合物的添加範圍37%~56%, 設定為飼料中碳水化合物的添加量。

## 二、飼養結果

菊池氏細鯽經 21 天飼養結果顯示, S4D0 組具有最佳的增重率及飼料效率, S0D4 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.40 g, 增重率為 100%, 飼料效率為 72%。就 21 天的飼養結果來看, 隨著糊精的添加量下降、大豆粉的添加量增加, 各組間在增重率及飼料效率上呈現出顯著差異。其中餵食添加 0%糊精及 40%大豆粉的 S0D4 組, 在增重率及飼料效率上, 與其他的組別呈現出顯著性差異, 各組存活率則隨著飼料中蛋白質含量增高, 而有較高的存活率; 經 42 天飼養結果顯示, S4D0 組同樣具有最佳的增重率及飼料效率, S0D4 組平均體重由 0.20 g 成長至 0.53 g, 增重率為 165%, 飼料效率為 60%。就 42 天的飼養結果來看, 餵食添加 0%糊精及 40%大豆粉的 S0D4 組, 在增重率及飼料效率上, 與其他的組別呈現出顯著性差異。各組存活率則隨著飼料中蛋白質含量增高, 而有較高的存活率。

由 21 天及 42 天的飼養結果得知, 增重率及飼料效率皆隨著飼料中的蛋白質含量上升及碳水化合物含量的下降, 在增重率及飼料效率有最佳的表現。菊池氏細鯽飼料中的蛋白質需求量為 38%與 Ogino and Saito (1970)對鯉魚, 及 Dabrowski

(1977)對草魚所作的最適蛋白質需求量之研究相符合。Ufodike and Matty (1983)對德國鯉魚、Sato (1991)對鯉魚及 Lin (1991)對草魚所作的碳水化合物利用率之相關研究並不相符，一般而言在雜食性及草食性淡水魚類飼料中，對添加之碳水化合物皆有不錯的利用率，可以利用碳水化合物的增加，來達到蛋白質節約效應，Takeuchi et al. (1983) 指出吳郭魚對飼料中的碳水化合物利用率良好，Wang et al. (1985)也提出相同的結論，故 Shimeno et al. (1993)認為可以利用碳水化合物來節約吳郭魚飼料中的蛋白質。在屬鯉科魚類的 Major carp (*Catla catla*)飼料中添加糊精取代魚粉，可降低飼料中魚粉蛋白的添加量(Seenappa and Devaraj, 1995)。在 Rohu (*Labeo rohita*)的飼料中添加糊精取代酪蛋白，當蛋白質含量由 40%、35%降至 30%時，碳水化合物含量較高的組別，魚體在增重率、飼料效率及蛋白質轉換效率上有最佳的表現(Erfanullah and Jafri, 1995)。飼養結果與上述研究中所指出，對於添加碳水化合物以取代蛋白質添加量，可有效的達到蛋白質節約效應並不符合，可得知菊池氏細鯽對於蛋白質含量達 38%與碳水化合物含量達 37%飼料利用率最佳。

### 三、全魚體粗蛋白質與粗脂質

魚體經過 42 天之飼養後，全魚體粗蛋白含量以初始魚隻的 13.55%最低，及粗脂質含量 15.58%最高，推測因為其粗脂質含量較高，進而影響全魚體的蛋白質蓄積量。

蛋白質含量達 38%的 S4D0 組，體蛋白蓄積量約達 16.02%，明顯較其他蛋白質含量較低的組別高，其次為蛋白質含量 32%的 S3D1 組，體蛋白蓄積量約 15.31%，其餘組別之體蛋白蓄積量，經統計檢定並無顯著差異存在；粗脂質蓄積量也以 S4D0 組的 6.85%最高，其次為蛋白質含量 32%的 S3D1 組，粗脂質蓄積量約 5.66%，其餘組別之粗脂質蓄積量，經統計檢定並無顯著差異。在探討鯉魚的最適蛋白質需求時，成長率最佳的組別因為攝取較多的飼料，故在體蛋白及粗脂質的蓄積上，較其他成長較差的組別高(Ogino et al., 1976)。如 Mrigal carp (*Cirrhinus mrigala*)此種鯉科魚類的最適蛋白質研究中，體蛋白的蓄積量跟增重率呈正相關(Singh et al., 2008)。魚體粗蛋白質及粗脂質的含量，如 Erfanullah and Jafri (1995) 對 Rohu (*Labeo rohita*)所做的實驗中，當碳水化合物含量由 30%、35%至 40%時，粗

蛋白含量分別為 17.82%、17.70%及 17.68%，粗脂質含量分別為 5.18%、5.36%及 5.79%，雖然此三個組別間在粗蛋白含量及粗脂質含量上並無顯著差異，但隨著碳水化合物含量的上升，粗蛋白含量隨之下降，而粗脂質含量則隨之上升。

#### 四、蛋白質效率及魚體每日氮增加量

魚體經過 42 天飼養後，由各組之每日氮量吸收值及蛋白質效率可以發現，蛋白質效率及魚體每日氮增加量與增重率及體蛋白蓄積量成正比關係，魚體吸收的越多的氮量，增重率及體蛋白蓄積量就越高。其中蛋白質含量達 38%之 S4D0 組的 1.04 g/100g b.w.最高，每日所增加之氮量皆較其他蛋白質含量較低的組別高，最差的組別則為 S0D4 組的 0.14 g/100g b.w.。形成此原因推測為 S0D4 組所攝入的飼料量較少及對其中高含量的碳水化合物利用率不佳。由其他組別之每日氮增加量，隨著飼料中蛋白質含量上升每日氮增加量也上升。

由此可知菊池氏細鯽對於蛋白質及碳水化合物的利用率之間的差異，歸納出飼料中的蛋白質含量必須滿足魚體生長之基本要求，否則飼養魚隻會因蛋白質含量達不到生長所需之要求，在成長及存活率會有偏低的結果(Ogino and Saito, 1970)。

## 實驗二、降低飼料中魚粉添加量對菊池氏細鯽成長之影響。

### 壹、材料與方法

#### 一、實驗魚種與飼養條件

實驗用菊池氏細鯽由花蓮縣水產培育所贈送，運送至國立台灣大學漁業科學研究所實驗室中之水缸先行馴養，馴養時間為期一個月，使其適應環境，此期間投餵市售香魚一號飼料，每日兩次，投餵至飽食為止，並於餵食後一小時換水三分之一，使魚苗習慣攝食人工飼料。試驗分組前一天則停止餵食。

分組時以隨機採樣的方式，將平均體重為  $0.39\pm 0.05$  克之菊池氏細鯽分別放入  $45\text{ cm} \times 30\text{ cm} \times 30\text{ cm}$  之水缸中，實驗共分為 4 組，每組 15 尾，三重複。實驗缸中設置氣動式海綿過濾器進行水質過濾及增加水中溶氧量，並定期清洗過濾海綿及清理缸壁上之附著物，另加以壓克力板為蓋，防止魚隻跳出，水溫控制在  $25^{\circ}\text{C} \sim 28^{\circ}\text{C}$  之間，以室內螢光燈管作為光照來源，光照週期則採 12 小時暗:12 小時亮。

實驗開始後，每日投餵試驗用飼料兩次，分別為上午 10:00 及下午 5:00，餵食至魚隻飽食為止，並記錄投餵量及各缸水溫，餵食後一小時換水三分之一，以虹吸管移除缸中殘餌以維持缸中水質穩定。實驗共進行 42 天，每 21 天秤重一次，並於秤重前一天停止餵食，42 天秤重紀錄後，每組採樣 15 尾，置於  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱冷凍保存，以供後續全魚體粗蛋白、粗脂肪分析之使用。

#### 二、實驗飼料配製

實驗使用之飼料配方如 Table 2-1 所示，固定成分佔 21.5%，各組別皆添加  $\alpha$ -澱粉 15%、維生素預混物 0.9%、維生素 E 0.1%、礦物質預混物 5%、氯化膽鹼 0.5%。變異成分則利用大豆粉與玉米蛋白，取代魚粉作為主要蛋白質來源，及增加低魚粉組的油脂添加量。FM 30 組魚粉添加 30%，大豆粉添加 40%；FM 25 組魚粉添加 25%，大豆粉添加 47.5%；FM 15 組魚粉添加 15%，大豆粉添加 40%，玉米蛋白添加 15%，油添加 6%，並添加 2.5% 的南極蝦粉(Krill meal)作為誘引劑；FM 0 組大豆粉添加 47.5%，玉米蛋白添加 20%，油添加 7%，並添加 5% 的南極蝦粉。調配出 FM 30、FM25、FM 15 及 FM 0 共計四組實驗飼料。

依配方將各種原料均勻混合後，加入原料重量 30~35%之水進行均勻攪拌，經擠料器擠出後，再以小刀裁切至適當長度，放置於鼓風式乾燥機以 45°C、15 小時乾燥後，以小型咖啡磨粉機磨至適合魚隻口徑之顆粒大小，保存於-20°C 之冰箱以供日後餵食及飼料分析之用。

### 三、 分析方法

同實驗一。

### 四、 資料分析

同實驗一。

### 五、 統計方法

同實驗一。



## 貳、結果

### 一、飼料分析

實驗飼料組成及成分分析如 Table 2-1 所示。所配製的實驗飼料水分含量在 6.08%~7.09%之間，灰分含量隨著魚粉添加量漸減而有下降的趨勢，由 10.73% 漸降至 8.06%，粗蛋白含量在 37.76%~38.65%之間，粗脂質含量在 7.75%~8.12%之間。

### 二、飼養結果

將菊池氏細鯽的飼料中主要蛋白質來源，以大豆粉及玉米蛋白等植物性蛋白質原料取代魚粉添加量飼養，經飼養 21 天後，其結果如 Table 2-2、Fig. 2-1、Fig. 2-3 及 Fig. 2-4 所示。實驗開始時各組別平均體重在 0.34 g ~ 0.44 g 之間，各組魚隻間並無顯著差異存在。

經飼養 21 天後，魚粉添加 30%之對照組(FM30)，平均體重由 0.40 g 成長至 0.61 g，增重率為 63%，飼料效率為 37%。魚粉添加 25%、大豆粉添加 47.5%之 FM25 組，平均體重由 0.39 g 成長至 0.64 g，增重率為 64%，飼料效率為 36%。魚粉添加 15%、大豆粉添加 40%及玉米蛋白添加 15%之 FM15 組，平均體重由 0.40g 成長至 0.64 g，增重率為 60%，飼料效率為 31%。無魚粉添加、大豆粉添加 47.5%及玉米蛋白添加 20%之 FM0 組，平均體重由 0.39g 成長至 0.60 g，增重率為 54%，飼料效率為 27%。各組存活率皆為 100%。

經飼養 42 天後，其結果如 Table 2-3、Fig. 2-2、Fig. 2-3 及 Fig. 2-4 所示。魚粉添加 30%之對照組(FM30)，平均體重由 0.40 g 成長至 0.92 g，增重率為 142%，飼料效率為 52%。魚粉添加 25%、大豆粉添加 47.5%之 FM25 組，平均體重由 0.39 g 成長至 1.00 g，增重率為 156%，飼料效率為 56%。魚粉添加 15%、大豆粉添加 40%及玉米蛋白添加 15%之 FM15 組，平均體重由 0.40g 成長至 0.86 g，增重率為 118%，飼料效率為 45%。無魚粉添加、大豆粉添加 47.5%及玉米蛋白添加 20%之 FM0 組，平均體重由 0.39g 成長至 0.88 g，增重率為 125%，飼料效率為 48%。各組存活率皆為 100%。

### 三、全魚體粗蛋白質分析

實驗開始時採樣之菊池氏細鯽，及經過 42 天飼養後之 15 尾魚，各組別魚隻經過充分均質後，利用凱氏氮蒸餾裝置蒸餾，以測定全魚體粗蛋白含量。其結果如 Table 2-4 及 Fig. 2-5 所示，初始全魚體粗蛋白含量為  $14.83\pm 0.27\%$ ，經 42 天飼養後，各組粗蛋白含量在  $16.05\% \sim 16.13\%$  之間。其中以 FM25 組  $16.13\pm 0.05\%$  為最高，最低則為 FM0 組的  $16.05\pm 0.04\%$ ，各組間無顯著差異。

#### 四、全魚體粗脂質分析

經過 42 天飼養後之各組別皆採樣 15 尾魚，各組別魚隻經過充分均質後，分析全魚體粗脂質含量。其結果如 Table 2-4 及 Fig. 2-6 所示，初始全魚體粗脂質含量為  $4.98\pm 0.39\%$ ，經 42 天飼養後，各組粗脂質含量在  $8.57\% \sim 9.86\%$  之間。其中以 FM25 組  $9.86\pm 0.34\%$  為最高，最低則為 FM0 組的  $8.57\pm 0.77\%$ ，各組間無顯著差異。

#### 五、蛋白質效率及魚體每日氮增加量

菊池氏細鯽經過 42 天飼養後，投餵飼料之克數、蛋白質效率及魚體每日氮增加量如 Table 2-5、Fig. 2-7 及 Fig. 2-8 所示。蛋白質效率在  $1.16\% \sim 1.49\%$  之間，以 FM25 組之蛋白質效率  $1.49\%$  最高，FM15 組之蛋白質效率  $1.16\%$  最低，各組別之間無顯著差異。每百克魚體每日增加之氮量在  $1.00\% \sim 1.03\%$  之間，其中以 FM25 組的  $1.03\pm 0.02$  g/100g b.w. 為最高，FM0 組的  $1.00\pm 0.01$  g/100g b.w. 為最低，各組別之間無顯著差異。

## 參、討論

### 一、飼料配方

本次實驗中將實驗一之 S4D0 組的魚粉降至 25%、15% 及 0%，並利用不同比例的大豆粉及玉米蛋白等植物性蛋白質原料，部分及完全取代魚粉在飼料中的添加量，菊池氏細鯽為雜食性鯉科魚類，推測其對於植物性蛋白也有不錯之利用率，則可有效節省飼料製造之成本。

許多研究中指出，利用替代性原料取代動物性蛋白質原料在飼料中的添加量是可行的(Tacon, 1995; Refstie et al., 1998)，已知大豆粉及玉米蛋白經加工處理後，皆可有效去除抗營養因子。利用大豆粉、大豆濃縮蛋白及玉米蛋白等原料，添加在虹鱒、大西洋鮭及吳郭魚飼料中，並額外補充少量 Lysine 及 Methionine，在許多研究中已被證實其和對照組，在成長上並無顯著差異(Shiau et al., 1987)，其中玉米蛋白在虹鱒的最適添加量為 20%(Lee et al., 2010)，大西洋鮭的最適添加量為 25%(Mente et al., 2003)，歐洲海鱸的最適添加量為 20%(Kaushik et al., 2004)，大菱魨的最適添加量為 20%(Regost et al., 1999)。

若飼料中添加大豆粉及玉米蛋白超過魚類最適需求量時，可能會影響魚類生長或是生理機能可能原因有：(1)與飼料中胺基酸組成的不均衡，無法符合魚體之必須胺基酸需求(Higgs et al., 1982)；(2)飼料中含高比例的植物性蛋白，造成對魚隻的誘引性不足，攝食意願下降(Refstie, 1997)；(3)植物性原料中所含的抗營養因子在飼料中所佔比例過高(Liener, 1989)；(4)植物性原料中磷酸鹽類含量較低，影響魚類的骨骼發育(Vielma et al., 1999)。但亦有研究指出，鯉科魚類對大豆中所含之抗營養因子，有極佳的耐受性(Viola et al., 1983)。

磷為飼料中重要且必須符合其最低要求的礦物質成分，在動物體中約有 70%~80%的磷為牙齒、骨骼主要構成元素，另外 14%存在於軟組織中，而剩下的 1%則存在血液及體液中，不僅對於骨骼形成極為重要外，在能量合成、蛋白質代謝、生殖、神經及免疫系統等皆扮演重要角色(李, 1996)。雖然魚類有能力自水中吸收含磷礦物質，但是一般淡水及海水中的磷含量甚低，所以飼料中的含磷物質還是最主要的來源(許, 2004)。一般飼料中的磷來自於魚粉，但當飼料中植物性原料添加量高時，磷酸鹽類含量會較魚粉含量高之組別為低，且鯉科魚類無胃，對



於其中之含磷物質利用率不佳，主要因為含磷物質與植酸之間形成鍵結(National Research Council, 1993)，降低其生物可利用性，因而不易被魚類消化吸收，結果將導致成長率、飼料效率及骨骼礦化作用上會有較差的表現(Kim et al., 1995; Sugiura and Hardy, 2000; Kaushik, 2001; Lall, 2002; Sugiura et al., 2004)。在此種情況下，必須在飼料中額外添加磷酸鹽類作為補充。一般而言，所添加之磷酸鹽若越容易溶於水中，則魚類對其會有較高的生物利用率(Nordrum et al., 1997)。

Ogino et al. (1979) 的研究中利用不同的磷酸鹽類飼養鯉魚及虹鱒，無胃的鯉魚和有胃的虹鱒比較時，鯉魚對於磷的利用率較低，但對低鍵結的第一磷酸鈣的利用率則和虹鱒沒有顯著差異，較第二磷酸鈣及第三磷酸鈣有較佳的利用率。Kim and Ahn (1993) 於鯉魚飼料中添加 2% 的第一磷酸鈣，體重增重率較未添加第一磷酸鈣的控制組高了 200%，並減少磷的排泄量，Kim and Kim (1995) 對鯉魚進行的另一個實驗中，分別於四組飼料配方中添加 0%、1%、2% 及 3% 的第一磷酸鈣，探討對其成長及氮排泄的影響，發現以添加 1% 第一磷酸鈣的組別，有最少的氮排泄量及最佳的氮吸收率。

在水產飼料中常添加誘引物質來增進魚蝦對於人工餌料的攝食意願，誘引物質大多是屬於水溶性、溶解度佳、離子或極性化較強、分子量小、擴散力強的物質，在水中才能有效的引誘養殖生物攝食，如蝦蟹類、貝類及烏賊等水產生物的抽出物(Carr and Chaney, 1976; Mackie and Mitchell, 1982)。當植物性蛋白添加量高時，會降低飼料對魚類的誘引性，降低魚類的攝食意願，進而影響其成長及飼料效率，故於飼料中添加少量的誘引物質可有效促進攝食意願(Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000)。在赤鰭笛鯛飼料中添加 10% 南極蝦粉及 45% 的植物性蛋白質原料，可將魚粉的添加量由 60% 降至 17%，魚粉添加量較低的組別在增重率及飼料效率上，可達對照組的 75% 及 85% (歐, 2006)。

本實驗在植物性原料添加量較高的 FM15 及 FM0 兩組，植物性蛋白質分別佔總蛋白量的 71% 及 99%，其中的含磷礦物質及誘引性較魚粉添加量較多的組別差，故飼料配方設計上稍有變動，FM15 組多添加 1% 油脂，FM0 組多添加 2% 油脂及 1% 第一磷酸鈣，以補充低魚粉組中油脂與磷酸鈣不足的部分，因飼料中脂質及磷酸鈣含量過低時，會造成魚類成長效果不佳，增重率及飼料效率也會隨著降低，並各添加 2.5% 及 5% 的南極蝦粉作為誘引劑，促進菊池氏細鯽對低魚粉飼料的攝

食意願。

## 二、飼養結果

經 21 天飼養結果顯示，FM25 組具有最佳的增重率及飼料效率，FM25 組平均體重由 0.39 g 成長至 0.64 g，增重率為 64%，飼料效率為 36%。就 21 天的飼養結果來看，隨著植物性蛋白質原料在配方中所佔之比例增加，各組間在增重率皆無顯著差異，飼料效率上對照組(FM30)及 FM25 兩組，與低魚粉的 FM15 和零魚粉的 FM0 兩組，呈現出顯著差異，其中又以餵食 FM25 組的菊池氏細鯽，在增重率及飼料效率上，有最佳的效果；經 42 天飼養結果顯示，FM25 組同樣具有最佳的增重率及飼料效率，FM25 組平均體重由 0.39 g 成長至 1.00 g，增重率為 156%，飼料效率為 56%。就 42 天的飼養結果來看，餵食魚粉含量 25% 的 FM25 組，雖然增重率及飼料效率上較佳。各組存活率在第 21 天及 42 天皆為 100%。

由 21 天及 42 天的飼養結果得知，增重率及飼料效率不隨著飼料中的植物性蛋白質含量之高低，影響各組菊池氏細鯽之增重率及飼料效率表現。但與其他的組別比較並無顯著性差異存在，可得知菊池氏細鯽對於植物性蛋白質有不錯之利用率。Webster et al. (1992b)將長鰭真鯽飼料中的魚粉添加量以大豆粉及玉米粉部分或完全取代，各個不同植物性蛋白取代的組別之間，增重率及蛋白質效率上並無顯著差異。Kaushik et al. (2004)將歐洲海鱸飼料中以玉米蛋白、小麥筋質粉、大豆粉及菜籽粕取代魚粉，各組之間增重率、飼料效率及蛋白質效率上並無顯著差異。故可知在菊池氏細鯽的飼料中，利用植物性蛋白質取代動物性蛋白質，在成長上並不會造成影響。先前研究指出，在植物性蛋白取代量高的飼料中，添加少量的結晶型必須胺基酸，可有效的改善低魚粉飼料中營養缺乏所帶來的影響。歐利亞吳郭魚飼料添加 67%大豆粉 (Alan and Stickney, 1978)、黃鰭鯛飼料添加 20%大豆粉(Nengas and Alexis, 1996)，增重率和飼料效率與對照組無顯著差異。鯉魚飼料添加 Lysine 0.4%~0.5%、Methionine 0.4%及 10%油脂(Viola et al., 1981)，美洲河鱈飼料添加 Lysine 0.4%及 Methionine 1%(Webster et al., 1992a)，大豆粉可完全取代魚粉，且成長上與對照組無顯著差異。莫三比克吳郭魚飼料中添加 25%大豆粉餵養時，發現其效果比對照組更佳(Jackson et al., 1982)。菊池氏細鯽的低魚粉飼料添加少量的結晶形必須胺基酸，是否可有效的改善營養缺乏所帶來的影響尚待

研究。

### 三、全魚體粗蛋白質與粗脂質

魚體經過 42 天之飼養後魚粉含量 25% 的 FM25 組，體蛋白蓄積量約達 16.13 % 較其他組別高，其次為 FM30 組的 16.12%，其中以零魚粉組的 FM0 最低，約只有 16.05%，但是各組別之體蛋白蓄積量，經統計檢定並無顯著差異存在；粗脂質蓄積量也以 FM25 組的 9.86% 最高，其次為 FM30 組的 9.54%，其中以零魚粉組的 FM0 最低，約只有 8.57%，但是各組別之粗脂質含量，經統計檢定並無顯著差異存在。

雖然各組之間的魚體粗蛋白及粗脂質含量是接近的，但是低魚粉組的生長表現還是比對照組差，推測可能是因為蛋白質來源不同，造成部分營養不足，將須再添加其他營養物質或是礦物質等，以補足其所缺乏之部分。

### 四、蛋白質效率及魚體每日氮增加量

魚體經過 42 天飼養後，蛋白質效率及魚體每日氮增加量隨著增重率及體蛋白蓄積量成正比關係。其中魚粉含量 25% 的 FM25 組的 1.03 g/100g b.w. 最高，每日所增加之氮量皆較其他的組別高，最低的組別則為零魚粉的 FM0 組，約只有 1.00 g/100g b.w.。形成此原因推測為 FM15 組及 FM0 組所攝入的飼料配方中，並未補充植物性蛋白含量高時，必須胺基酸所缺乏的部分，無法符合魚體的胺基酸需求 (Higgs et al., 1982)。不平衡的胺基酸組成比例也會造成魚體在能量代謝上的浪費，以及浪費飼料成本，而且當胺基酸未能有效合成魚體本身的蛋白質時，經代謝後的含氮廢物排放至水體中，不僅影響魚體本身的正成生理代謝及成長，並汙染所處環境的水質，造成水質優養化 (Kaushik et al., 2004)。

## 總結

1. 菊池氏細鯽對於蛋白質利用率較碳水化合物佳，當飼料中蛋白質含量上升時，成長率也隨著上升，當飼料中蛋白質含量在 38% 的時候，魚隻有最佳的成長率。
2. 以不同比例的大豆粉及玉米蛋白等植物性原料取代魚粉，對菊池氏細鯽在魚粉添加量取代 5%、15% 及 30% 時，對魚隻成長率沒有影響，故可考慮以低魚粉作為實際飼養時的配方。



## 參考文獻

- 王漢昇。2009。飼料中添加不同來源及比例之脂質在不同溫度下對紅色吳郭魚成長及魚體脂肪酸組成之影響。國立台灣大學漁業科學所碩士論文。
- 沈世傑。1993。台灣魚類誌, p139-140。
- 李愛杰。1996。水產動物營養與飼料學。
- 林弘都。2008。台灣與中國大陸地區鯉科魚類之親緣地理研究。國立成功大學生命科學研究所博士論文。
- 陳義雄、方力行。1999。台灣淡水及河口魚類誌。
- 陳義雄、方力行。2001。台東縣河川魚類誌。
- 陳義雄、張詠青。2005。台灣淡水魚類原色圖鑑第(一)卷鯉形目。
- 許志平。2004。不同大豆製品及礦物質添加量對海鱸幼魚成長的影響。國立中山大學海洋生物研究所碩士論文。
- 荻野珍吉。1988。魚類飼料與營養。
- 曾晴賢。1986。台灣淡水魚類。
- 黃順國。2001。飼料中添加類胰島素成長因子對赤鰭笛鯛稚魚成長之影響。國立台灣大學漁業科學所碩士論文。
- 歐俊男。2006。飼料中添加動物性及植物性原料取代魚粉對赤鰭笛鯛成長之影響。國立台灣大學漁業科學所碩士論文。
- 賴弘智、林翰揚、熊文俊、施志昀。2010。菊池氏細鯽 *Aphyocypris kikuchii* (Oshima, 1919)人工繁養殖及幼苗發育。特有生物研究, 12(3): 251-259。
- 黎俊廷。2006。飼料添加南極蝦粉及植物性原料取代魚粉對海鱸成長之影響。國立台灣大學漁業科學所碩士論文。
- 鄭長義。1991。飼料配方技術大全。
- Adron, J.W., Mackie, A.M., 1978. Studies on the chemical nature of feeding stimulants for rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol., 12: 203-310.
- Akiyama, D.M. and Dominy, W.G., 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. American Soybean Association and Oceanic Institute, Waimanalo, USA. 50 pp.
- Alan, T.D., Stickney, R.R., 1978. Growth response of *Tilapia aureus* to dietary protein

- quality and quantity. Trans. Am. Fish. Soc., 107(3) : 479-483.
- Allahpichay, I., Shimizu, C., 1984. Extraction of growth promoting factors from non-muscle krill meal of *Euphausia superba* and its effect on fish growth. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 50 : 821-826.
- Anderson, J., Jackson, A.J., Matty, A.J., Capper, B.S., 1984. Effects of dietary carbohydrate and fiber on the tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn). Aquaculture, 37 : 303-314.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1984. Official Methods of Analysis. 14<sup>th</sup> edition, AOAC, Washington, DC., 1141 pp.
- Bairagi, A., Sarkar, G.K., Sen, S.K., Ray, A.K., 2002. Duckweed (*Lemna polyrhiza*) leaf meal as a source of feedstuff in formulated diets for rohu (*Labeo rohita* Ham.) fingerlings after fermentation with a fish intestinal bacterium. Bioresource Technology, 85 : 17-24.
- Buhler, D.R., Halver, J.E., 1961. Nutrition of salmonoid fishes. IX. Carbohydrate requirements of chinook salmon. J. Nutr., 74 : 307-318.
- Bureau, D.P., Cho, C.Y., 1999. Phosphorus utilization by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : estimation of dissolved phosphorus waste output. Aquaculture, 179 : 127-140.
- Bureau, D.P., Harris, A.M., Bevan, D.J., Simmons, L.A., Azevedo, P.A., Cho, C.Y., 2000. Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. Aquaculture, 181 : 281-291.
- Carr, W.E.S., Chaney, T.B., 1976. Chemical stimulation of feeding behavior in the pinfish, *Lagodon rhomboides* : characterization and identification of stimulatory substances extracted from shrimp. Comp. Biochem. Physiol., 54 : 437-441.
- Cho, C.Y., Kaushik, S.J., 1985. Effects of protein intake on metabolizable and net energy values of fish diets. In : Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Eds.), Nutrition and Feeding in Fish. Academic Press, London, pp. 95-117.
- Cho, C.Y., Kaushik, S.J., 1990. Nutritional energetic in fish : Energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). World Review of Nutrition and Diet, 61 : 132-172.
- Cowey, C.B., Adron, J.W., Brown, D.A., 1975. Studies on the nutrition of marine

- flatfish. The metabolism of glucose by plaice (*Pleuronectes platessa*) and the effect of dietary energy source on protein utilization in plaice. *Br. J. Nutr.*, 33 : 219-231.
- Craig, S.R., MacLean, E., 2006. Sustainable aquaculture of cobia : A case study with organically certified alternate protein. In : Jacques, K., Lyons, P. (Eds.), *Nutritional Biotechnology in the Food and Feed Industry*. Nottingham University Press, UK, 352 pp.
- Cruz-Ricque, L.E., Guillaume, J., 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. *J. World Aquacult. Soc.*, 18 : 209-217.
- Dabrowski, K., 1977. Protein requirements of grass carp fry (*Ctenophayngodon idella* Val.). *Aquaculture*, 12 : 63-73.
- De Long, D.C., Halver, J.E., Mertz, E.T., 1958. Nutrition of salmonid fishes - VI. Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. *J. Nutr.*, 65 : 589-599.
- Deshimaru, O., Kuroki, K., Mazid, M.A., Kitamura, K., 1985. Nutrition quality of compounded diet for prawn *Penaeus monodon*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51 : 1037-1044.
- Deshimaru, O., Shigeno, K., 1972. Introduction to the artificial diet for prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 1 : 115-133.
- Edwards, D.J., Austreng, E., Risa, S., Gjedrem, T., 1977. Carbohydrate in rainbow trout diets. 1. Growth of fish of different families fed diets containing different proportions of carbohydrate. *Aquaculture*, 11 : 31-38.
- Ellingsen, T.E., 1982. Biokjemiske studier over antarktisk krill. Dr. Ing. Thesis, Univ. Trondheim, 382 pp.
- Ellis, S.C., Reigh, R.C., 1991. Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 97 : 383-394.
- El-Sayed, A.M., Garling, D.L., Jr., 1988. Carbohydrate-to-lipid ratios in diets for *Tilapia zillii* fingerlings. *Aquaculture*, 73 : 157-163.
- Erfanullah, Jafri, A.K., 1995. Protein-sparing effect of dietary carbohydrate in diets for fingerling *Labeo rohita*. *Aquaculture*, 136 : 331-339
- Floch, J., Lees, M., Stanely, C.H.S., 1957. A simple method for the isolation and

- purification of total lipids from animal tissues. *J. Bio. Chem.*, 226 : 477-509.
- Francis, G., Makkar, H.P.S., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199 : 197-227.
- Furuichi, M., Yone, Y., 1980. Effect of dietary dextrin levels on the growth and feed efficiency, the chemical composition of liver and dorsal muscle, and the absorption of dietary protein and dextrin in fishes. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46 : 225-229.
- Furuichi, M., Yone, Y., 1981. Changes of blood sugar and plasma insulin levels of fishes in glucose tolerance tests. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47 : 761-764.
- Gunasekera, R.M., De Silva, S.S., Collins, R.A., Gooley, G., Ingram, B.A., 2000. Effect of dietary protein level on growth and food utilization in juvenile Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell). *Aqua. Res.*, 31 : 181-187.
- Hardy, R.W., 1996. Alternate protein sources for salmon and trout diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59, 71-80.
- Hardy, R.W., Masumoto, T., 1990. Specification for marine by-product for aquaculture. In : Keller, S. (Ed.), *Making Profit Out of Seafood Wastes. Proc. Int. Conf. Fish By-products*, Anchorage, Alaska, 25-27 April 1990, Alaska Sea Grant Program, Fairbanks, Alaska, pp. 109-120.
- Hardy, R.W., Tacon, A.G.J., 2002. Fish meal : historical uses, production trends and future outlook for supplies. In : Stickney, R.R., MacVey, J.P. (Eds.), *Responsible Marine Aquaculture*. CABI Publishing, New York, pp. 331-325.
- Harvey, D.J., 1991. Outlook for U.S. Aquaculture. *Aquaculture and Outlook*, Economic Research Service, U.S. department of Agriculture, Washington, DC, pp. 44-51.
- Hertrampf, J.W., Piedad-Pascual, F., 2000. Krill meal. In: Hertrampf, J.W., Piedad-Pascual, F. (Eds.), *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. Kluwer Academic Publishers B. V., Dordrecht, NL, pp. 223-228.
- Higgs, D.A., McBride, J.R., Markert, J.R., Dosanjh, B.S., Plotnikoff, M.D., Clarke, W.C., 1982. Evaluation of Tower and Candle rapeseed (canola) meal and Bronowski rapeseed protein concentrate as protein supplements in practical dry diets for juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*, 29 : 1-31.



- Hilton, J.W., Atkinson, J.L., 1982. Response of rainbow trout (*Sulmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets. *Br. J. Nutr.*, 47 : 597-607.
- Jackson, A.J., Capper, B.S., Matty, A.J., 1982. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. *Aquaculture*, 27 : 97-109.
- Jauncey, K., 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture* 27: 43– 54.
- Julshamn, K., Kjellekvold, M., Bjorvatn, K., Krogedal, P., 2004. Fluoride retention of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed krill meal. *Aqua. Nutri.*, 10 : 9-13.
- Kaushik, S.J., 2001. Mineral nutrition. In: Guillaume, J., Kaushik, S.J., Bergot, P., Métailler, R. (Eds.), *Nutrition and Feeding of Fish and Crustaceans*. Praxis Publishing, Chichester, UK, pp. 169–181.
- Kaushik, S.J., Covés, D., Dutto, G., Blanc, D., 2004. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 230 : 391–404.
- Kikuchi, K., 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 179 : 3-11.
- Kim, J.D., Ahn, K.H., 1993. Effects of monocalcium phosphate supplementation on phosphorus discharge and growth of carp (*Cyprinus carpio*). *Asian-Austral. J. Anim. Sci.* 6, 521–526.
- Kim, J.D., Kim, K.S., 1995. Effects of dietary monocalcium phosphate on growth performances, feed utilization and phosphorus discharge by carp (*Cyprinus carpio*). *Korean J. Anim. Nutr. Feed.* 19, 42–49, (in Korean, with English abstract).
- Lall, S.P., 2002. The minerals, In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd edn. Academic Press, San Diego, USA, pp. 260–308.
- Lee, D.J., Putnam, G.B., 1973. The response of rainbow trout to varying protein/energy ratios in a test diet. *J. Nutr.*, 103 : 916-922.
- Lee, K.J., Powell, M.S., Barrows, F.T., Smiley, S., Bechtel, P., Hardy, R.W., 2010. Evaluation of supplemental fish bone meal made from Alaska seafood

- processing byproducts and dicalcium phosphate in plant protein based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 302 : 248-255.
- Liener, I.E., 1989. Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. In : Huisman, J., van der Poel, T.F.B., Liener, I.E. (Eds.), *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Pudoc, Wageningen, pp. 6-13.
- Lin, D., 1991. Grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. In: Wilson, R.P. (Ed.), *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 89-96.
- Mackie, A.M., Mitchell, A.I., 1982. Further studies on the chemical control of feeding behavior in Dover sole (*Solea solea*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 73 : 89-93.
- Mente, E., Deguara, S., Santos, M.B., Houlihan, D., 2003. White muscle free amino acid concentrations following feeding a maize gluten dietary protein in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 225 : 133-147.
- Mohanty, S.S., Samantaray, K., 1996. Effect of varying levels of dietary protein on the growth performance and feed conversion efficiency of snakehead, *Channa striata* fry. *Aquacult. Nutr.*, 2 : 89– 94.
- National Research Council, 1993. *Nutrient requirements of fish*. National Academy Press, Washington, DC, 114 pp.
- Nengas, I., Alexis, M.N., 1996. Partial substitution of fish meal with soybean meal products and derivatives in diets for the gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Aqua. Res.*, 27 : 147-156.
- New, M.B., 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture*, 9 : 101-104.
- New, M.B., 1991. Turn of millennium aquaculture. *World Aquaculture*, 22(3) : 28-49.
- Nordrum, S., Asgard, T., Shearer, K.D., Amessen, P., 1997. Availability of phosphorus in fish bone meal and inorganic salts to Atlantic salmon (*Salmo salar*) as determined by retention. *Aquaculture*, 157 : 51-61.
- NRC(National Research Council), 1993. *Nutrition Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington, DC, 114 pp.
- Ogino, C., Chiou, J.Y., Takeuchi, T., 1976. Protein Nutrition in Fish-VI. Effects of dietary energy sources on the utilization of proteins by rainbow trout and carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 42(2) : 213-218.
- Ogino, C., Saito, K., 1970. Protein nutrition in fish - I. The utilization of dietary protein

- by young carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 36 : 259-254.
- Ogino, C., Takeda, H., 1976. Mineral requirements in fish-III. Calcium and phosphorus requirements in carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 42 : 793-799.
- Ogino, C., Takeuchi, L., Takeda, H., Watanabe, T., 1979. Availability of dietary phosphorus in carp and rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 45, 1538–1553.
- Onishi, T., Suzuki, M., Takeuchi, M., 1981. Change in carp hepatopancreatic enzyme activities with dietary phosphorus levels. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 47 : 353-357.
- Opstad, I., Suontama, J., Langmyhr, E., Olsen, R.E., 2006. Growth, survival, and development of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) weaned onto diets containing various sources of marine protein. ICES Journal of Marine Science, 63 : 320-325.
- Pelissero, C., Sumpter, J.P., 1992. Steroid and "steroid-like" substance in fish diets. Aquaculture, 107 : 293-301.
- Phillips, A.M., Jr., Podoliak, H.A., Brockway, D.R., Vaughn, R.R., 1958. The nutrition of trout. Fish. Res. Bull. 21,93.
- Refstie, S., Helland, S.J., Storebakken, T., 1997. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture , 153 : 263-272.
- Refstie, S., Storebakken, T., Roem, A.J., 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. Aquaculture 162, 301– 312.
- Regost, C., Arzel, J., Kaushik, S.J., 1999. Partial or total replacement of fish meal by corn gluten meal in diet for turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 180 : 99–117.
- Robaina, L., Izquierdo, M.S., Moyano, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D., Fernández-Palacios, H., 1995. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) : nutritional and histological implications. Aquaculture, 130 : 219-233.
- Rowland, S. J. 1995b. High density pond culture of silver perch, *Bidyanus bidyanus*. Asian Fisheries Science, 8 : 73–79.
- Roy, P.K., Lall, S.P., 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). Aquaculture, 221 : 451-468.
- Rumsey, G.L., 1973. The protein situation in fish feed and feeding. Am. Fish. US Trout

News, 18 : 6-11.

- Sakamoto, S., Yone, Y., 1978. Effects of dietary phosphorus level on chemical composition of red sea bream. *Bull Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 44 : 227-229.
- Satoh, S., 1991. Common carp, *Cyprinus carpio*. In: Wilson, R.P. (Ed.), *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 55-67.
- Seenappa, D., Devaraj, K.V., 1995. Effect of different levels of protein, fat and carbohydrate on growth, feed utilization and body carcass composition for fingerling in *Catla catla*(Ham.). *Aquaculture*, 129 : 243-249.
- Shiau, S.Y., Chuang, J.L., Sun, C.L., 1987. Inclusion of soybean meal in tilapia (*Oreochromis niloticus*× *O. aureus*) diets at two protein levels. *Aquaculture*, 65 : 251-261.
- Shiau, S.Y., Kwok, C.C., Huang, J.Y., Lee, C.M., Chen, S.L., 1989. Replacement of fishmeal with soybean meal in male tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) fingerling diets at a suboptimal protein level. *J. World Aquacult. Soc.*, 20(4) : 230-235.
- Shiau, S.Y., Lin, S.F., Yu, S.L., Lin, A.L., Kwok, C.C., 1990. Defatted and full-fat soybean meal as partial replacements for fishmeal in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) diets at low protein level. *Aquaculture*, 86 : 401-407.
- Shimeno, S., Hosakawa, H., Hirata, H., Takeda, M., 1977. Comparative studies on carbohydrate metabolism of yellowtail and carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 43 : 2 13-2 17.
- Shimeno, S., Ming, D.C., Takeda, M., 1993. Metabolic response to dietary carbohydrate to lipid ratios in *Oreochromis niloticus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59:827-833.
- Shimeno, S., Takeda, M., Takayama, S., Fukui, A., Sasaki, H., Kajiyama, H., 1981. Adaptation of hepatopancreatic enzymes to dietary carbohydrates in carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47 : 71-77.
- Singh, R.K., Chavan, S.L., Desai, A.S., Khandagale, P.A., 2008. Influence of dietary protein levels and water temperature on growth, body composition and nutrient utilization of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) fry. *Journal of Thermal Biology*, 33 : 20-26.
- Storebakken, T., 1988. Krill as a potential feed source for salmonids. *Aquaculture*, 70 : 193-205.

- Sugiura, S.H., Hardy, R.W., 2000. Environmentally friendly feeds. In: Stickney, R.R. (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture*. Wiley-Interscience, New York, pp. 299–310.
- Sugiura, S.H., Hardy, R.W., Roberts, R.J., 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish—a review. *J. Fish Dis.* 27, 255–265.
- Suontama, J., Kiessling, A., Melle, M., Waagbo, R., Olsen, R.E., 2007. Protein from Northern krill (*Thysanoessa inermis*), Antarctic krill (*Euphausia superba*), and the Arctic amphipod (*Themisto libellula*) can partially replace fish meal in diets to Atlantic salmon (*Salmo salar*) without affecting product quality. *Aqua. Nutri.*, 13 : 50-58.
- Synder, H.E., Kwon, T.W., 1987. *Soybean Utilization*. Van Nostr and Reinhold, New York.
- Tacon, A.G.J., 1993. Feed ingredients for warmwater fish : fish meal and other processed feedstuffs. *FAO Fish. Circ. No. 856*, FAO, Rome, 64 pp.
- Tacon, A.G.J., 1995. Feed ingredients for carnivorous fish species: alternatives to fish meal and other fishery resources. In: Reinertsen, H., Haaland, H. (Eds.), *Sustainable Fish Farming*. A.A. Balkema, Rotterdam, The Netherlands, pp. 89–114.
- Takeuchi, M., Nakazoe, J., 1981. Effect of dietary phosphorus on lipid content and its composition in carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47 : 347-352.
- Takeuchi, T., Satoh, S., Watanabe, T., 1983. Dietary lipid suitable for the practical feed of *Tilapia niloticus*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 49 : 1361-1365.
- Takeuchi, T., Watanabe, T., Ogino, C., 1979. Availability of carbohydrate and lipid as dietary energy sources for carp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 45 : 977-982.
- Ufodike, E.B.C. and Matty, A.J., 1983. Growth responses and nutrient digestibility in mirror carp next term (*Cyprinus carpio*) fed different levels of cassava and rice. *Aquaculture*, 31 : 41-50.
- Vielma, J., Koskela, J., Ruohonen, K., 2002. Growth, bone mineralization, and heat and low oxygen tolerance in European whitefish (*Coregonus lavaretus* L.) fed with graded levels of phosphorus. *Aquaculture*, 212 : 321-333.
- Vielma, J., Ruohonen, K., Lall, S.P., 1999. Supplemental citric acid and particle size of fish bone-meal influence the availability of minerals in rainbow trout

- Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquac. Nutr. 5, 65–71.
- Viola, S., Arieli, J., Rappaport, U., Mokady, S., 1981. Experiments in the nutrition of carp replacement of fish meal by soybean meal. Bamidgeh, 33 : 35-49.
- Viola, S., Mokady, S., Arieli, Y., 1983. Effects of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 32: 27-38.
- Wang, K., Takeuchi, T., Watanabe, T., 1985. Optimum protein and digestible energy levels in diets for *Tilapia niloticus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 51 : 141-146.
- Watanabe, T., 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. Fish. Sci., 68 : 242-252.
- Watanabe, T., Kiron, V., Satoh, S., 1997. Trace minerals in fish nutrition. Aquaculture, 151 : 185-207.
- Webster, C.D., Tidwell, J.H., Goodgame, L.S., Yancey, D.H., Mackey, L., 1992a. Use soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 106 : 301-309.
- Webster, C.D., Yancey, D.H., Tidwell, J.H., 1992b. Effect of partially or totally replacing fish meal with soybean meal on growth of blue catfish (*Zctalurus furcatus*). Aquaculture, 103 : 141-152.
- Wilson, M.J., 1985. Aspects of amino acid metabolism in teleost fish. In : Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (Eds.), Nutrition and Feeding in Fish. Academic Press, London, pp. 47-67.
- Wilson, R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. Aquaculture, 124 : 67-80.
- Wilson, R.P., 2002. Amino Acids and Proteins. In : Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), Fish Nutrition, 3th ed., Vol. I. Academic Press, San Diego, pp. 143-179.

Table 1-1. Composition and proximate analysis of the experimental diet (%)  
for Kikuchi minnow.

Ingredient (%)	Diets				
	S0D4	S1D3	S2D2	S3D1	S4D0
Fish meal	30	30	30	30	30
Soybean meal	0	10	20	30	40
Dextrin	40	30	20	10	0
$\alpha$ -starch	15	15	15	15	15
Vitamins Mix.*1	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Vitamin E	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Mineral Mix*2	5	5	5	5	5
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Oil*3	5	5	5	5	5
Cellulose	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Proximate analysis (%)					
Crude protein	20.14	24.54	28.86	32.89	37.97
Crude lipid	7.70	7.81	8.25	8.37	7.97
Carbohydrate	56.30	51.82	46.15	41.39	36.39
Moisture	7.38	6.81	7.18	7.34	6.94
Ash	8.48	9.02	9.56	10.05	10.73

\*1 Ogino et al. (1979)

\*2 Ogino and Yang (1978)

\*3 Soybean oil : Fish oil=3:2

Table 1-2. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21 days.

No.	Diet			Body Weight (g)		WG(%)	FE(%)	Survival rate(%)
	Fish meal	Soybean meal	Dextrin	Initial	Final			
S0D4	30	0	40	0.21 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>d</sup>	19 <sup>d</sup>	16 <sup>c</sup>	90
S1D3	30	10	30	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.01 <sup>cd</sup>	30 <sup>c</sup>	24 <sup>c</sup>	98
S2D2	30	20	20	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.03 <sup>b</sup>	40 <sup>b</sup>	38 <sup>b</sup>	98
S3D1	30	30	10	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.03 <sup>bc</sup>	35 <sup>bc</sup>	42 <sup>b</sup>	100
S4D0	30	40	0	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	72 <sup>a</sup>	100

\*Data represent Mean ± S.D.(n=81~90). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).





Table 1-3. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.

No.	Diet			Body Weight (g)		WG(%)	FE(%)	Survival rate(%)
	Fish meal	Soybean meal	Dextrin	Initial	Final			
S0D4	30	0	40	0.21 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.02 <sup>b</sup>	40 <sup>c</sup>	19 <sup>d</sup>	73
S1D3	30	10	30	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>b</sup>	55 <sup>bc</sup>	30 <sup>cd</sup>	80
S2D2	30	20	20	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>b</sup>	60 <sup>bc</sup>	46 <sup>bc</sup>	92
S3D1	30	30	10	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.03 <sup>b</sup>	75 <sup>b</sup>	52 <sup>b</sup>	100
S4D0	30	40	0	0.20 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.05 <sup>a</sup>	165 <sup>a</sup>	60 <sup>a</sup>	100

\*Data represent Mean ± S.D.(n=66~90). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



Table 1-4. Chemical content of whole fish body.

	Initial	Diet				
		S0D4	S1D3	S2D2	S3D1	S4D0
Crude protein (%)	13.55±0.30	13.78±0.24 <sup>c</sup>	14.49±0.32 <sup>c</sup>	14.53±0.15 <sup>c</sup>	15.31±0.39 <sup>b</sup>	16.02±0.23 <sup>a</sup>
Crude lipid (%)	15.58±0.41	3.70±0.48 <sup>d</sup>	4.14±0.13 <sup>cd</sup>	4.53±0.50 <sup>c</sup>	5.66±0.48 <sup>b</sup>	6.85±0.36 <sup>a</sup>

\*Data represent Mean ± S.D.(n=3). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



Table 1-5. Protein efficiency ratio (PER) and daily nitrogen increase of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.

No.	Diet			Total feed consumed (g)	PER (%)	Daily N increase (g/100g b.w.)
	Fish meal	Soybean meal	Dextrin			
S0D4	30	0	40	12.	0.96 <sup>b</sup>	0.14±0.04 <sup>d</sup>
S1D3	30	10	30	11	1.22 <sup>b</sup>	0.31±0.08 <sup>c</sup>
S2D2	30	20	20	8	1.55 <sup>a</sup>	0.34±0.05 <sup>c</sup>
S3D1	30	30	10	9	1.58 <sup>a</sup>	0.61±0.01 <sup>b</sup>
S4D0	30	40	0	17	1.58 <sup>a</sup>	1.04±0.01 <sup>a</sup>

\*Data represent Mean ± S.D.(n=3). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



Table 2-1. Composition and proximate analysis of the experimental diet (%)  
for Kikuchi minnow.

Ingredient (%)	Diet			
	FM30	FM25	FM15	FM0
Fish meal	30	25	15	0
Soybean meal	40	47.5	40	47.5
Corn protein	0	0	15	20
Krill meal	0	0	2.5	5
Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> . H <sub>2</sub> O	0	0	0	1
$\alpha$ -starch	15	15	15	13
Vitamins Mix.*1	0.9	0.9	0.9	0.9
Vitamin E	0.1	0.1	0.1	0.1
Mineral Mix*2	5	5	5	5
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
Oil*3	5	5	6	7
Cellulose	3.5	1	0	0
Proximate analysis (%)				
Crude protein	37.97	37.88	38.65	37.76
Crude lipid	7.97	7.97	8.12	7.75
Moisture	6.94	7.09	6.64	6.08
Ash	10.73	10.44	8.93	8.06

\*1 Ogino et al. (1979)

\*2 Ogino and Yang (1978)

\*3 Soybean oil:Fish oil=3:2

Table 2-2. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 21 days.

No.	Diet			Body Weight (g)		WG(%)	FE(%)	Survival rate(%)
	Fish meal	Soybean meal	Corn protein	Initial	Final			
FM30	30	40	0	0.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.05 <sup>a</sup>	63 <sup>a</sup>	37 <sup>a</sup>	100
FM25	25	47.5	0	0.39 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.06 <sup>a</sup>	64 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	100
FM15	15	40	15	0.40 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>a</sup>	60 <sup>a</sup>	31 <sup>b</sup>	100
FM 0	0	47.5	20	0.39 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.06 <sup>a</sup>	54 <sup>a</sup>	27 <sup>b</sup>	100

\*Data represent Mean ± S.D.(n=45). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



Table 2-3. Growth performance and survival rate of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.

No.	Diet			Body Weight (g)		WG(%)	FE(%)	Survival rate(%)
	Fish meal	Soybean meal	Corn protein	Initial	Final			
FM30	30	40	0	0.40 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.05 <sup>a</sup>	142 <sup>a</sup>	52 <sup>a</sup>	100
FM25	25	47.5	0	0.39 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.00 ± 0.06 <sup>a</sup>	156 <sup>a</sup>	56 <sup>a</sup>	100
FM15	15	40	15	0.40 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.05 <sup>a</sup>	118 <sup>a</sup>	45 <sup>a</sup>	100
FM 0	0	47.5	20	0.39 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.06 <sup>a</sup>	125 <sup>a</sup>	48 <sup>a</sup>	100

\*Data represent Mean ± S.D.(n=45). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



Table 2-4. Chemical content of whole fish body.

	Initial	Diet			
		FM30	FM25	FM15	FM0
Crude protein (%)	14.83±0.27	16.12±0.08 <sup>a</sup>	16.13±0.05 <sup>a</sup>	16.09±0.06 <sup>a</sup>	16.05±0.04 <sup>a</sup>
Crude lipid (%)	4.98±0.39	9.54±0.21 <sup>a</sup>	9.86±0.34 <sup>a</sup>	9.07±0.56 <sup>a</sup>	8.57±0.77 <sup>a</sup>

\*Data represent Mean ± S.D.(n=3). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



Table 2-5. Protein efficiency ratio (PER) and daily nitrogen increase of Kikuchi minnow fed with experimental diets for 42 days.

No.	Diet			Total feed consumed (g)	PER (%)	Daily N increase (g/100g b.w.)
	Fish meal	Soybean meal	Corn protein			Fish meal
FM30	30	40	0	21	1.38 <sup>ab</sup>	1.02±0.03 <sup>a</sup>
FM25	30	47.5	0	16	1.49 <sup>a</sup>	1.03±0.02 <sup>a</sup>
FM15	30	40	15	16	1.16 <sup>c</sup>	1.02±0.02 <sup>a</sup>
FM 0	30	47.5	20	15	1.27 <sup>bc</sup>	1.00±0.01 <sup>a</sup>

\*Data represent Mean ± S.D.(n=3). Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).





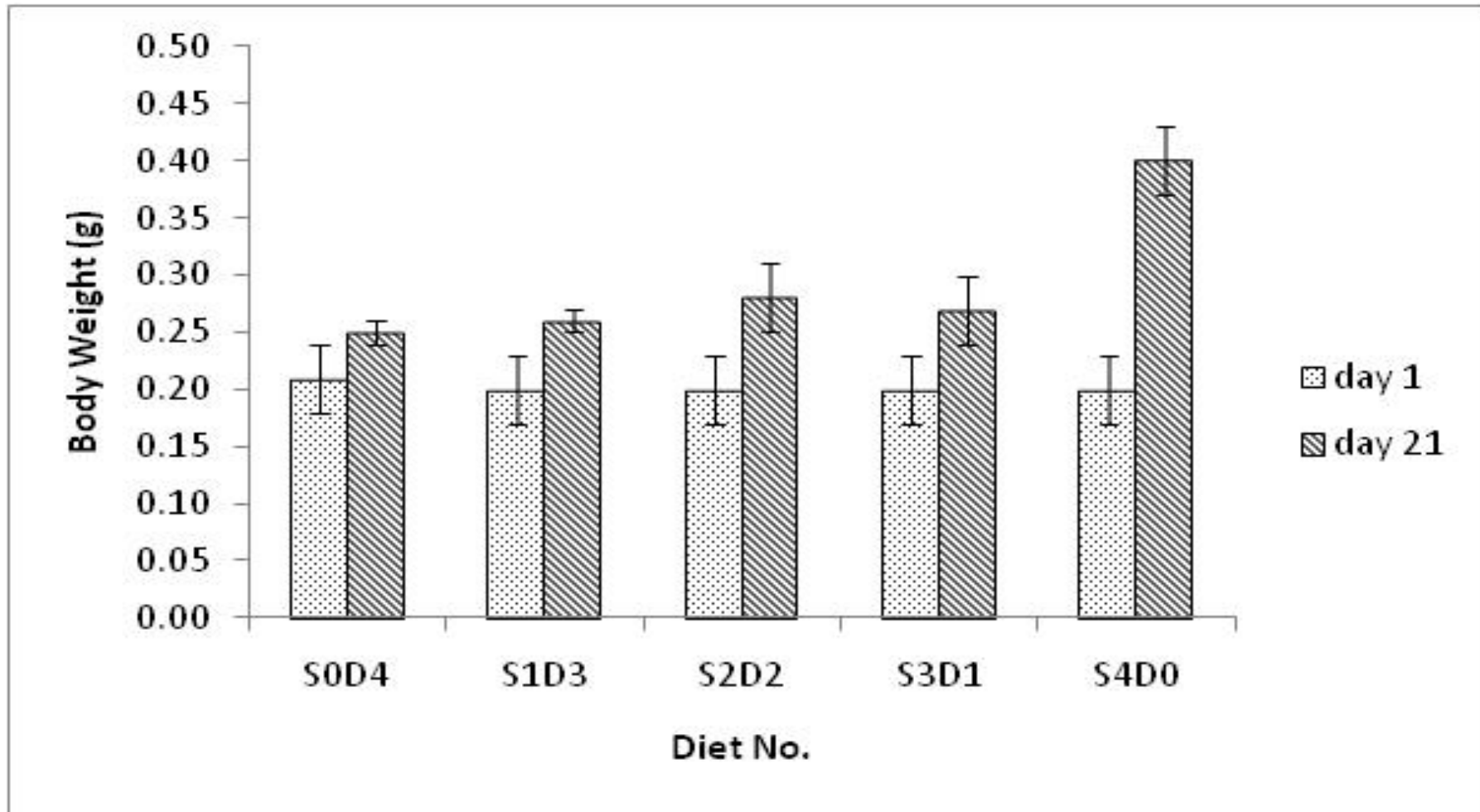


Fig. 1-1. Body weight of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 21 days.

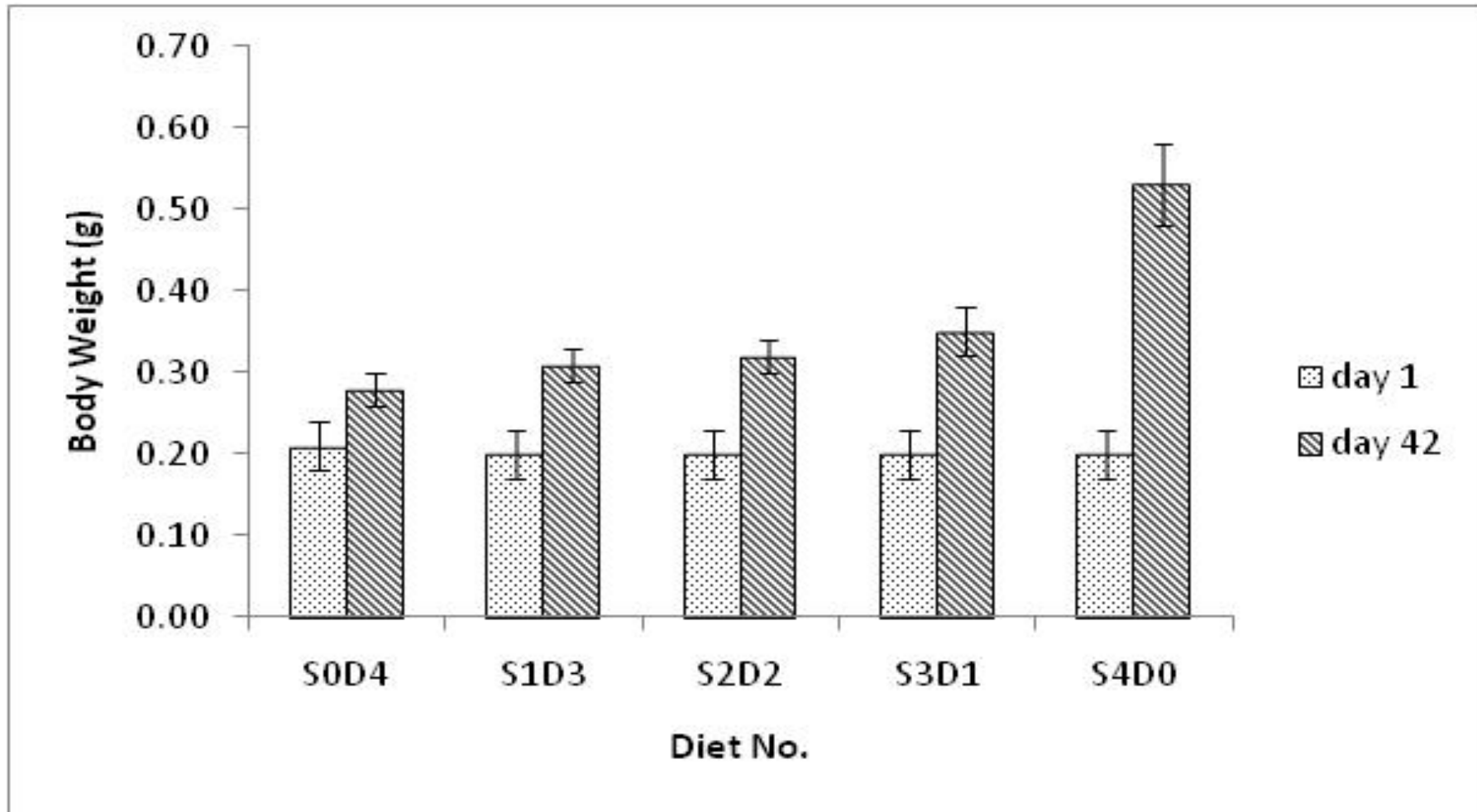


Fig. 1-2. Body weight of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

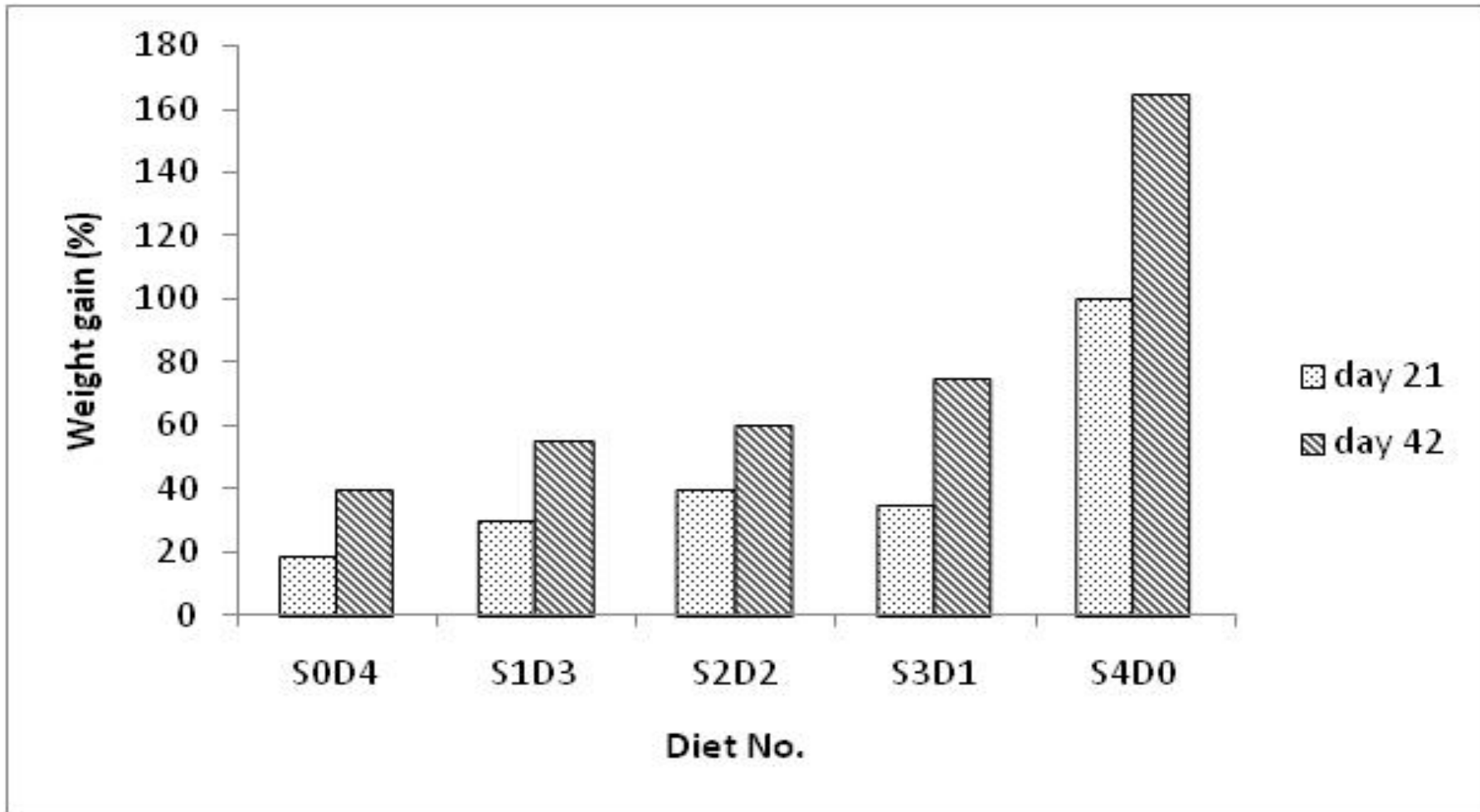


Fig. 1-3. Weight gain of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 21 and 42 days.

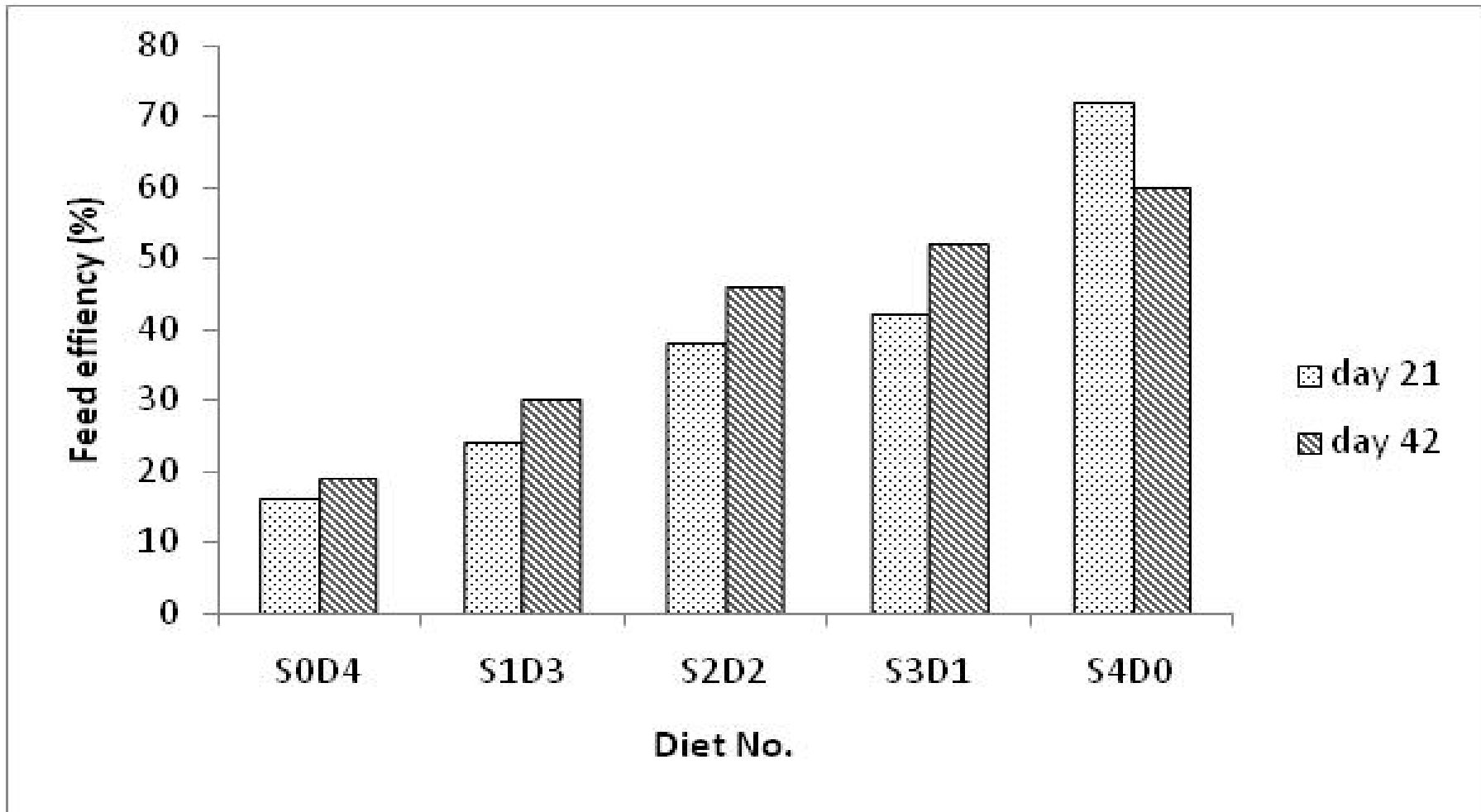


Fig. 1-4. Feed efficiency of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 21 and 42 days.

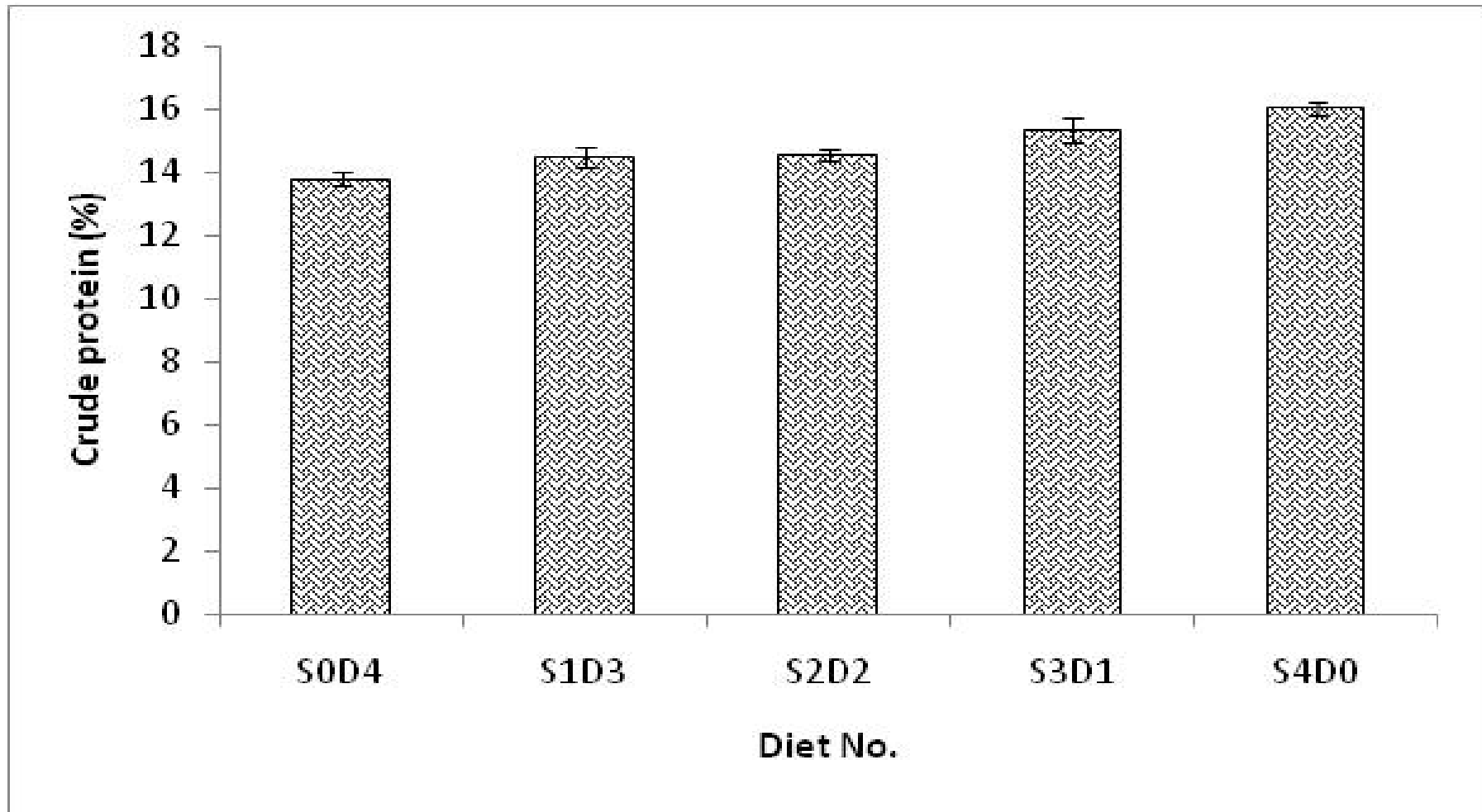


Fig. 1-5. Crude protein of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

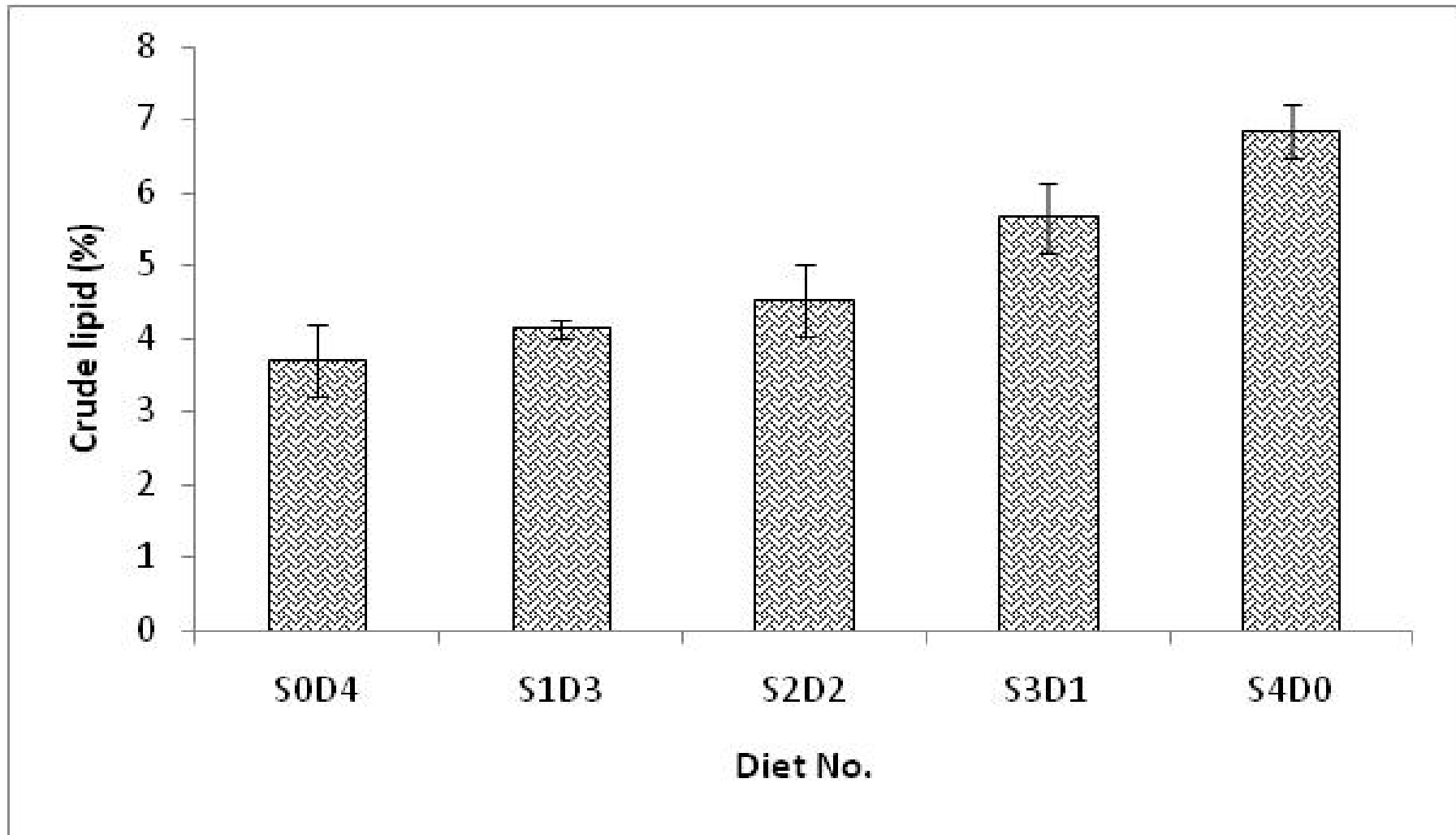


Fig. 1-6. Crude lipid of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

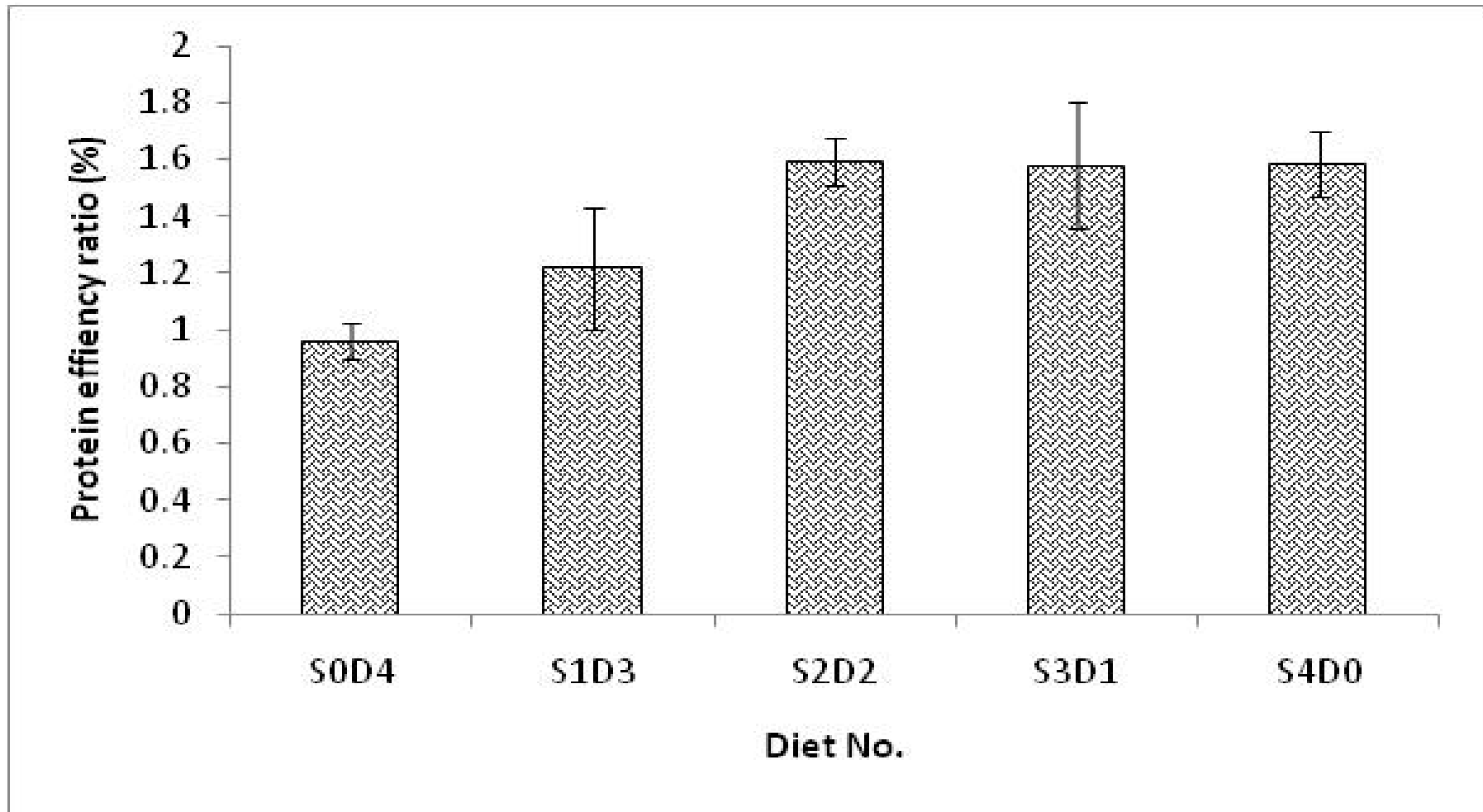


Fig. 1-7. Protein efficiency ratio of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

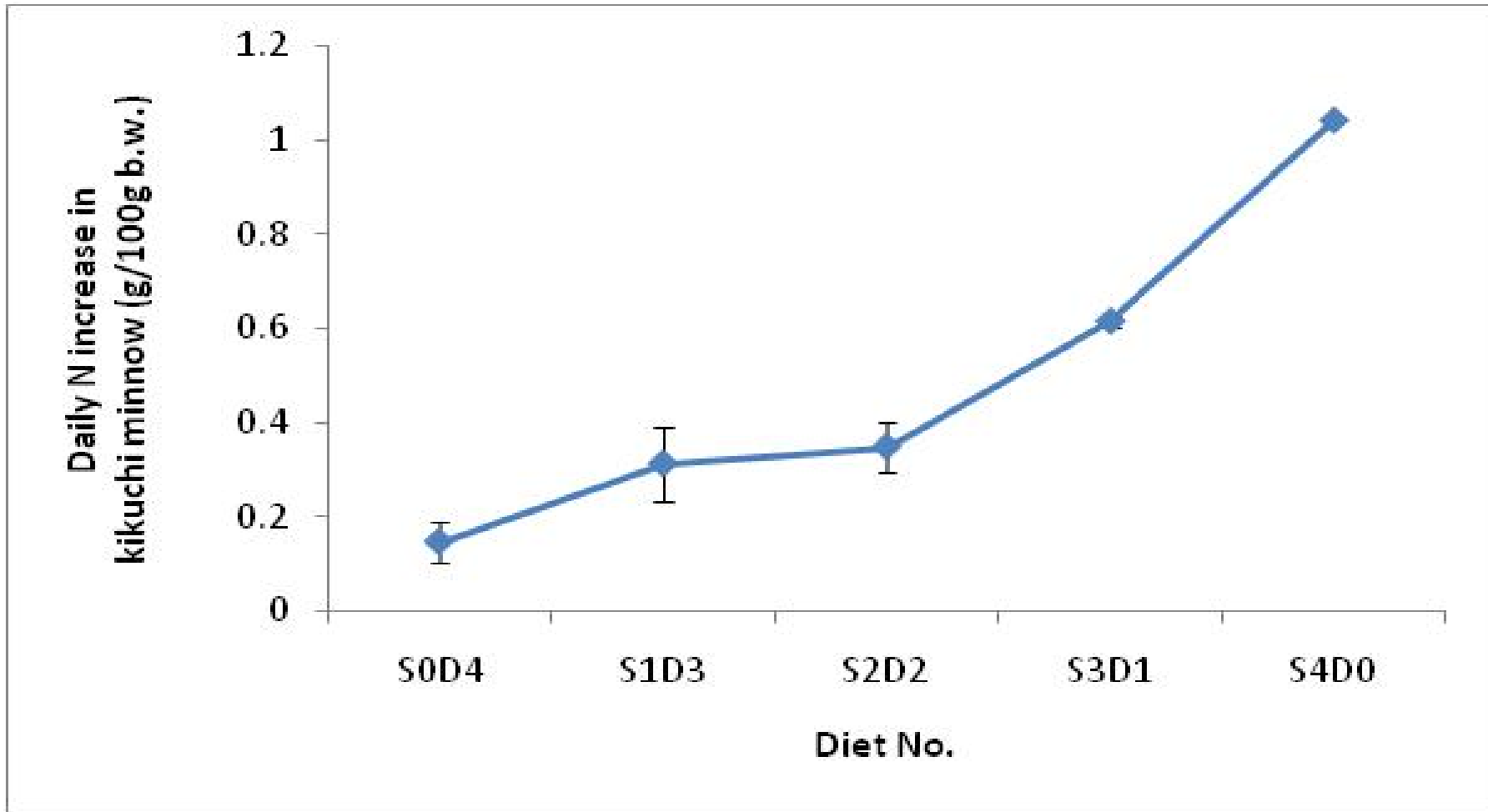


Fig. 1-8. Daily N increase of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.



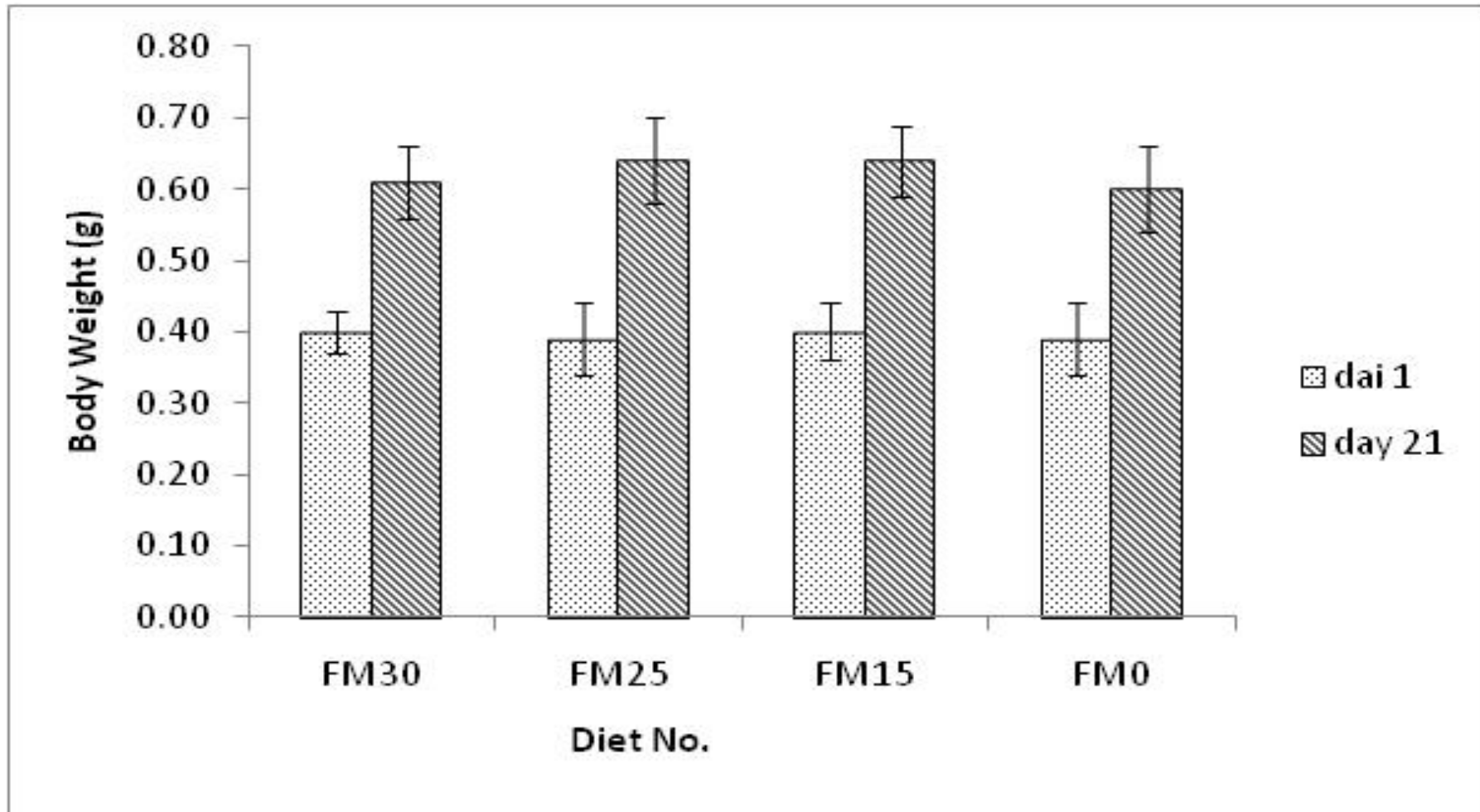


Fig. 2-1. Body weight of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 21 days.

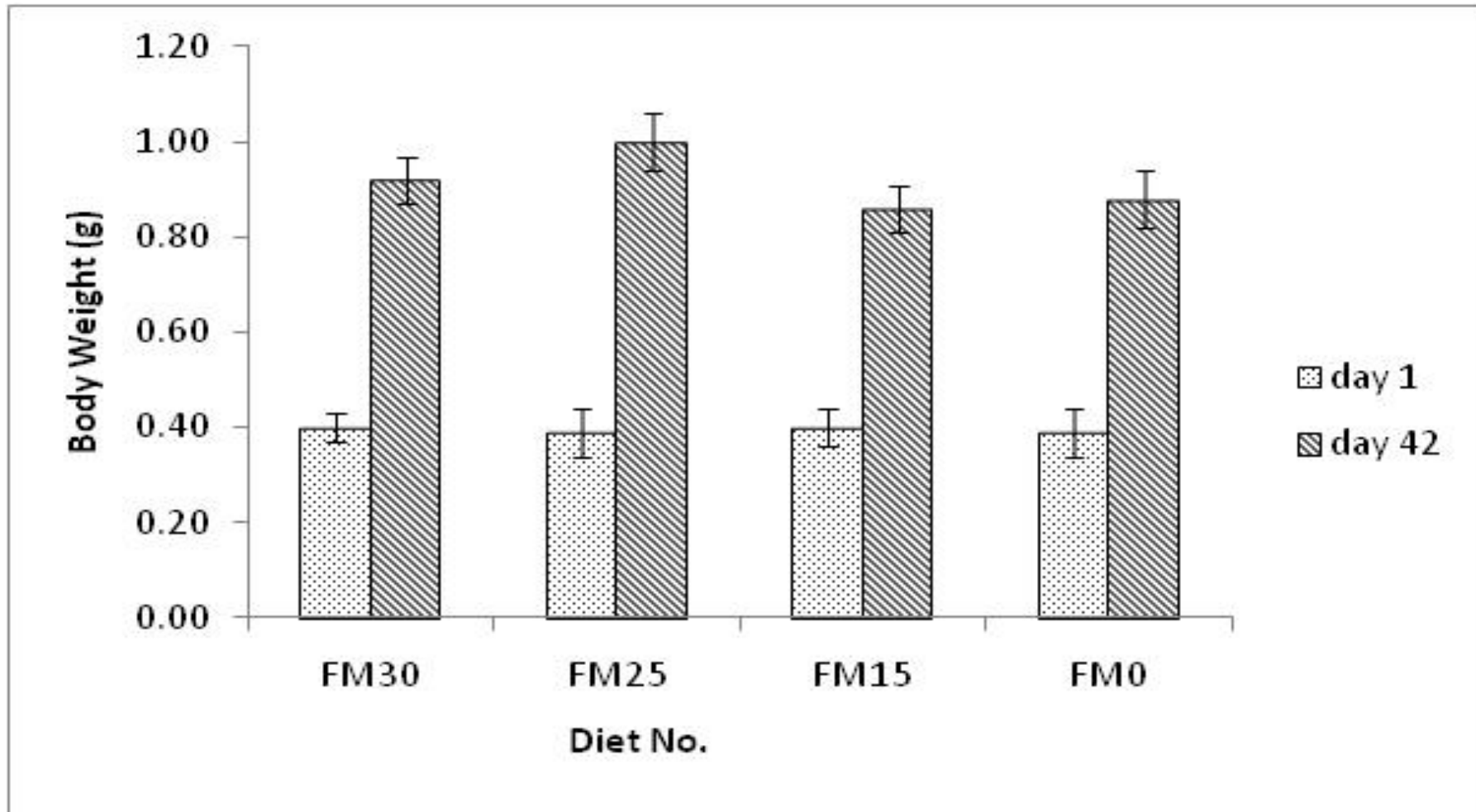


Fig. 2-2. Body weight of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

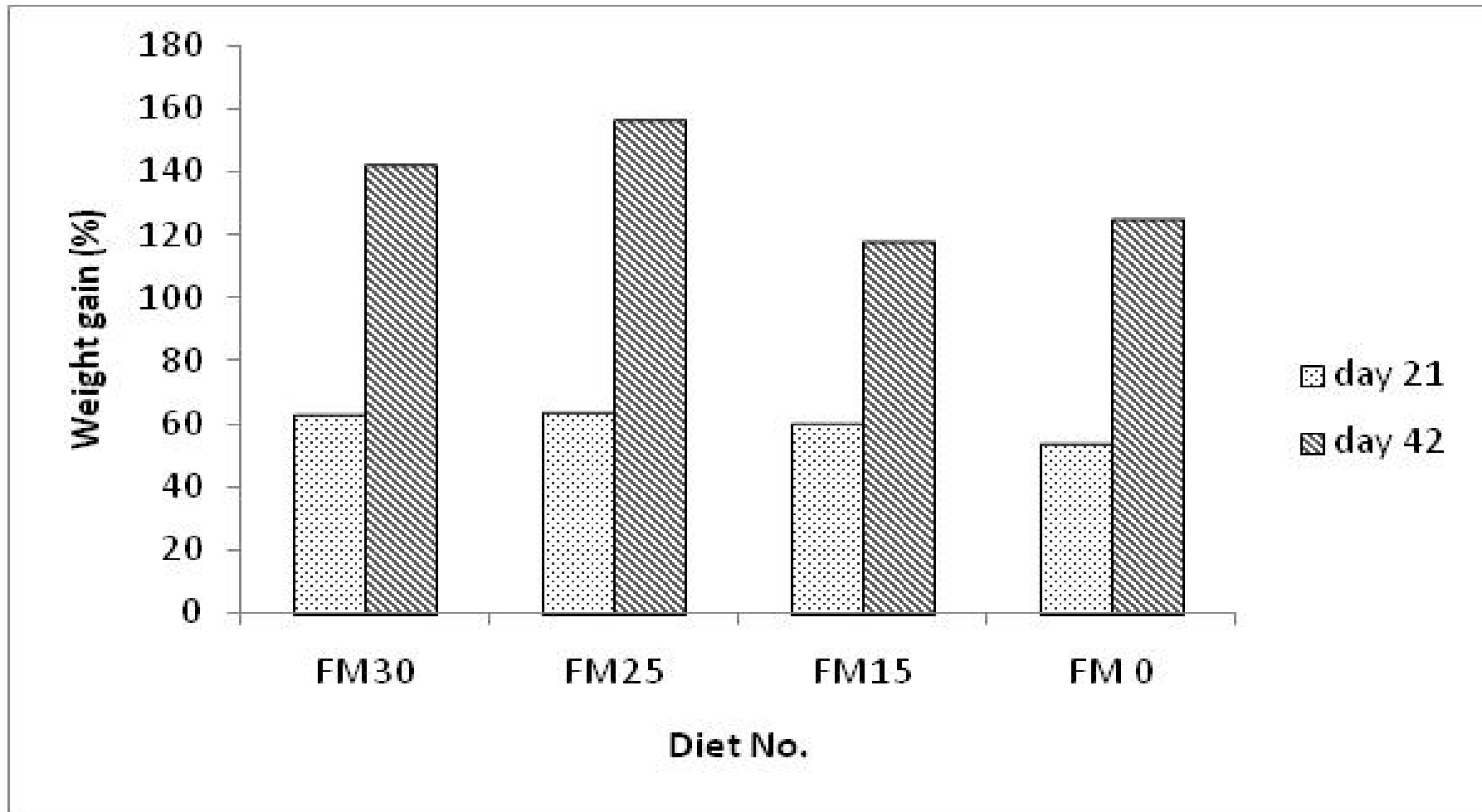


Fig. 2-3. Weight gain of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 21 and 42 days.

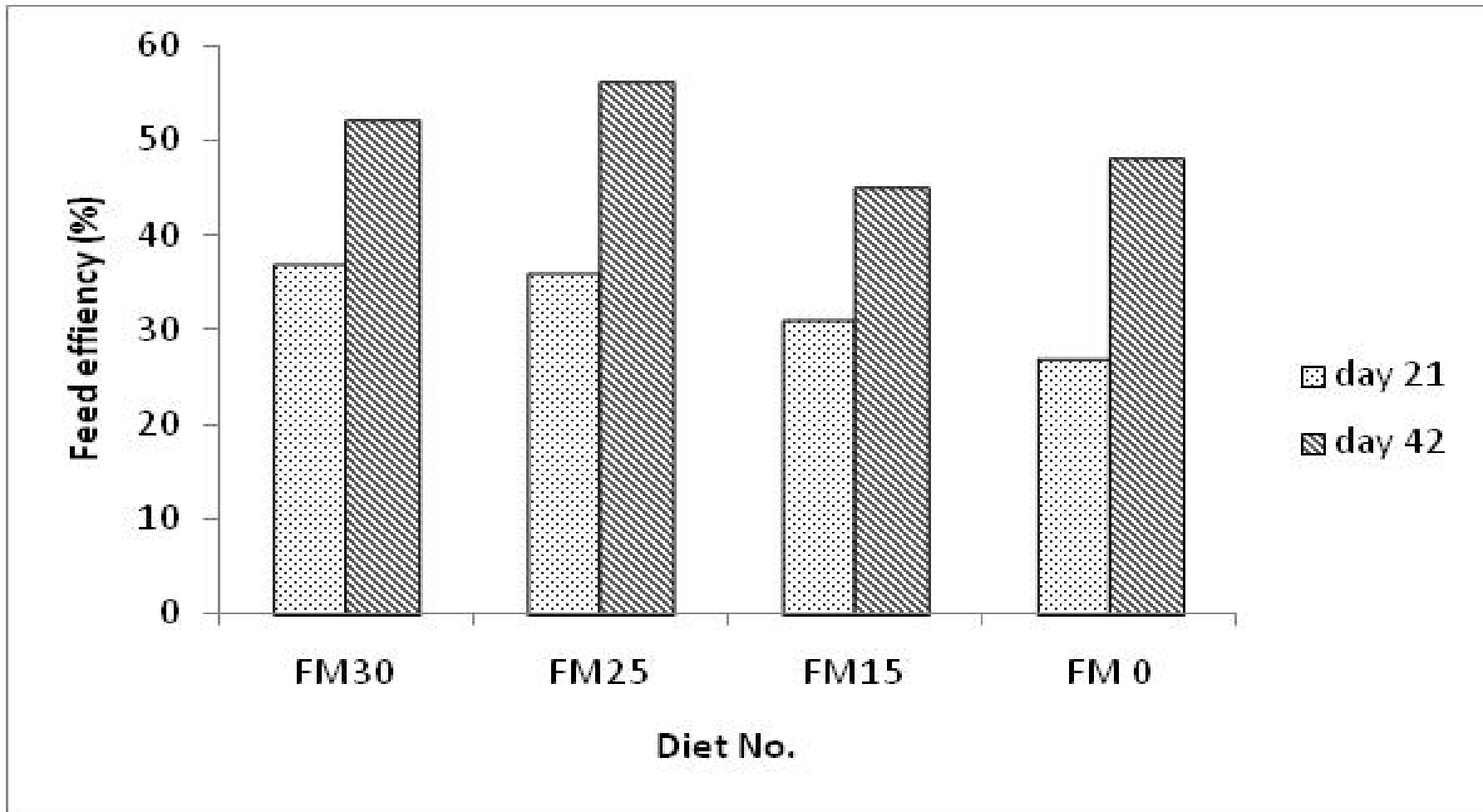


Fig. 2-4. Feed efficiency of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 21 and 42 days.

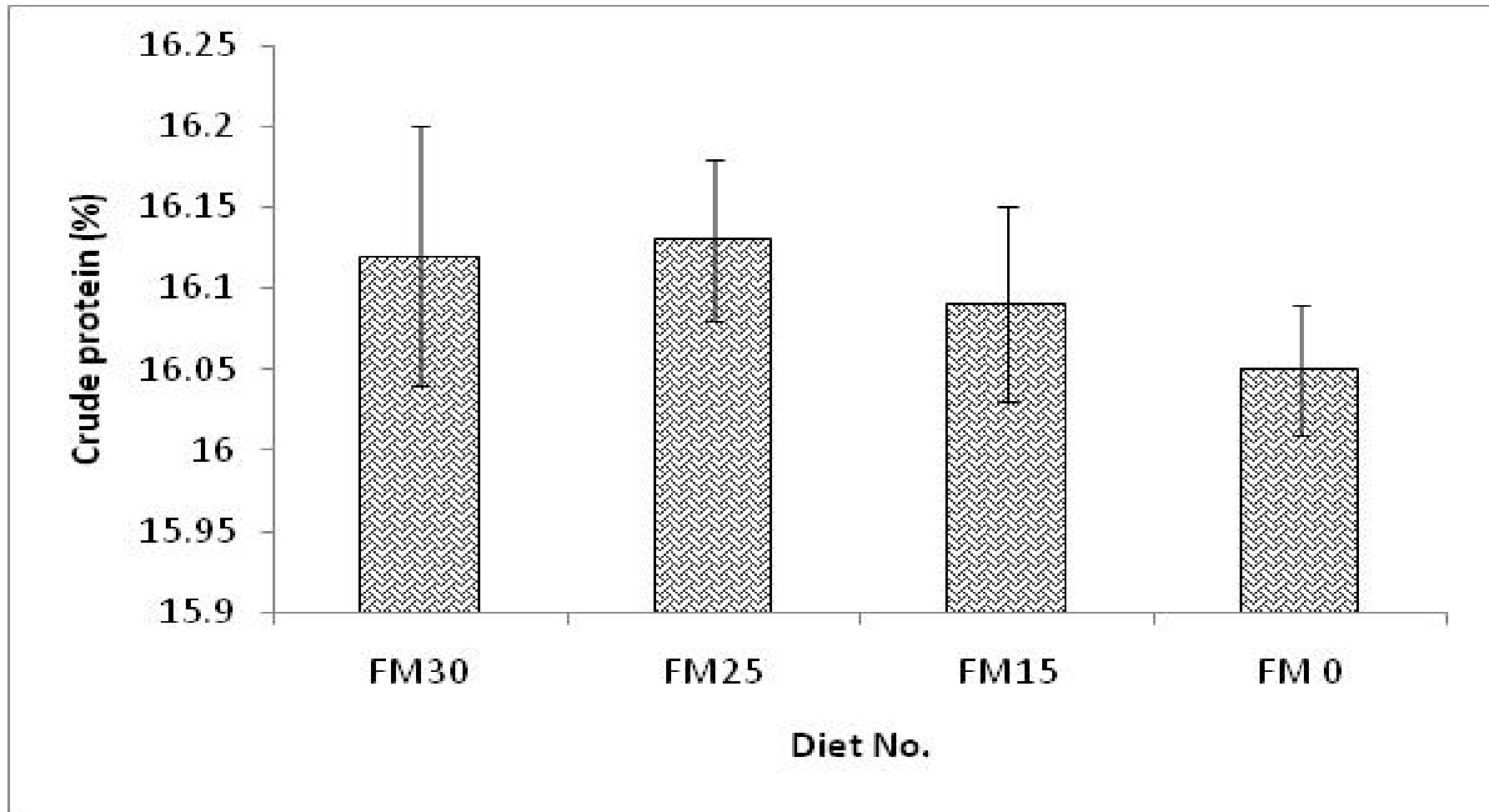


Fig. 2-5. Crude protein of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

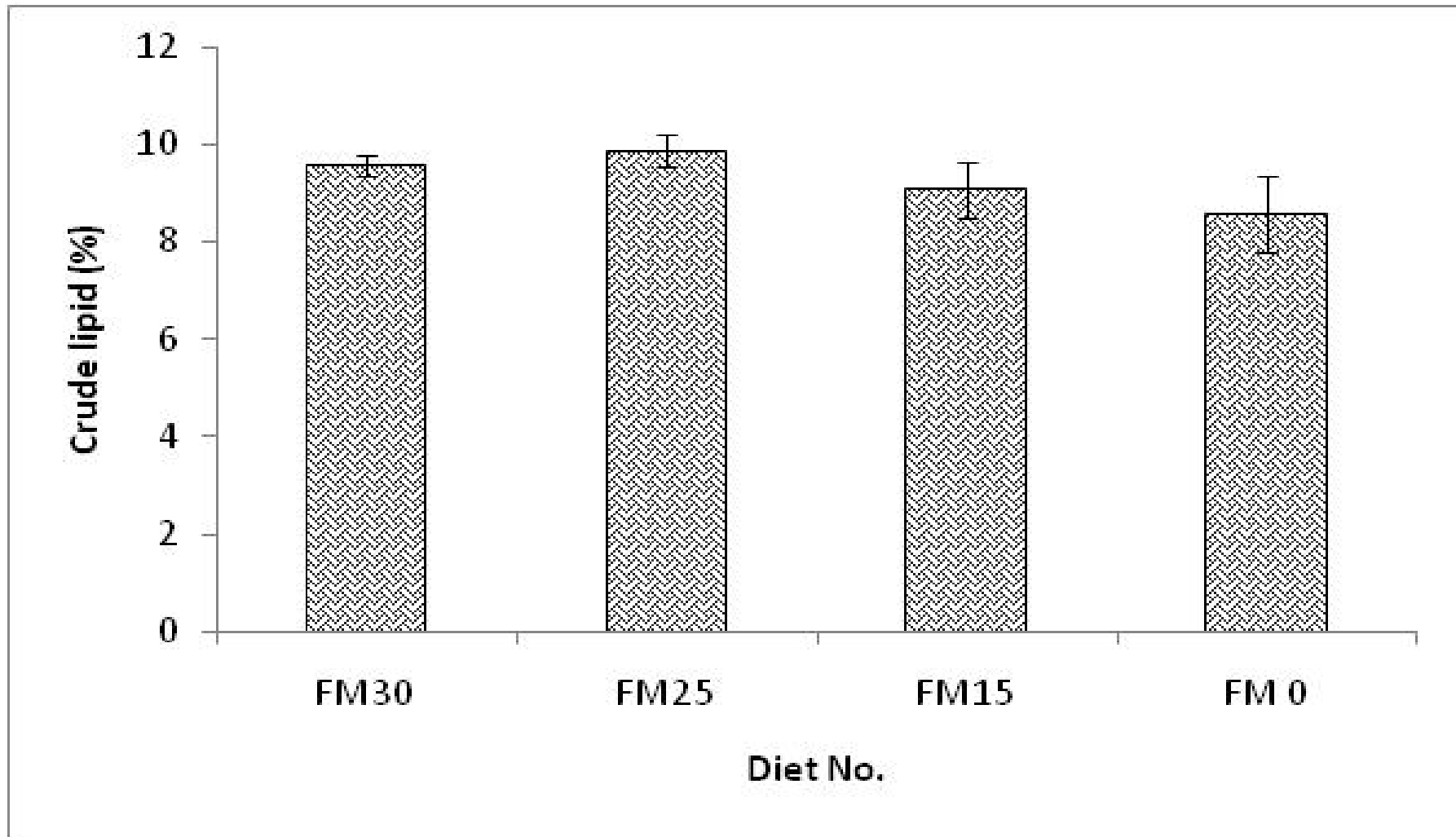


Fig. 2-6. Crude lipid of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

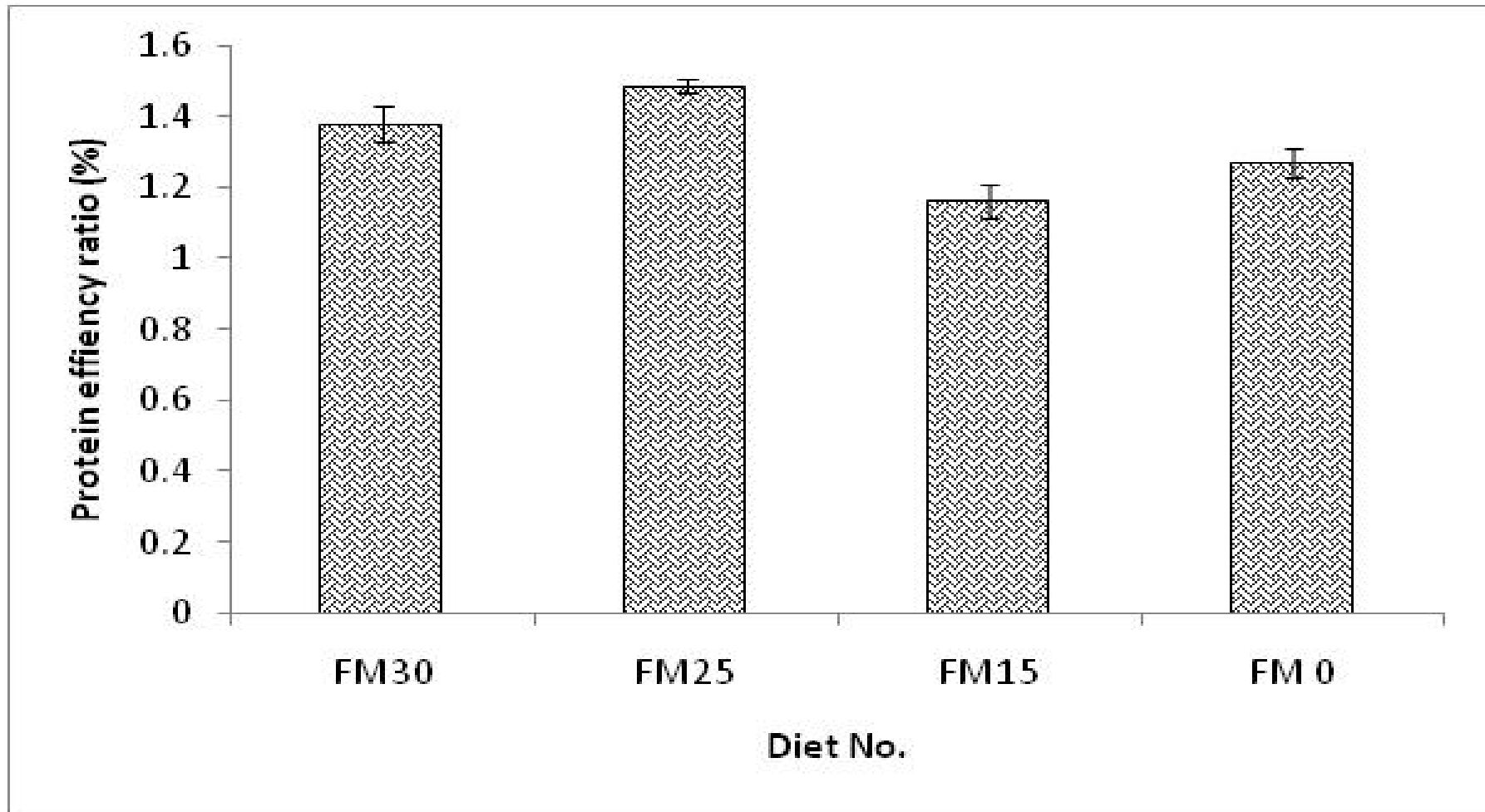


Fig. 2-7. Protein efficiency ratio of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.

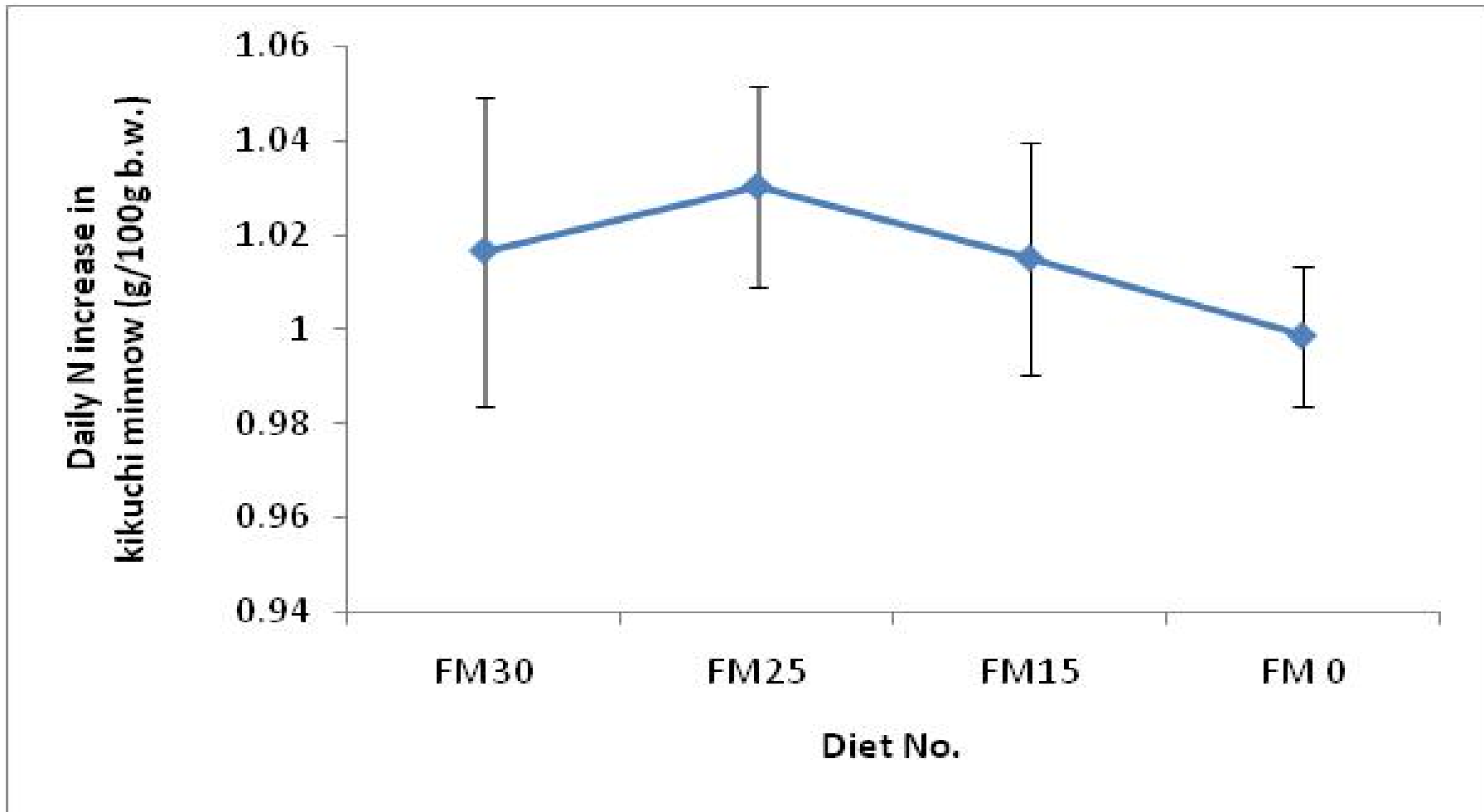


Fig. 2-8. Daily N increase of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 42 days.