

國立台灣大學生命科學院漁業科學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Fisheries Science

College of Life Science

National Taiwan University

Master Thesis

飼料中添加不同來源之脂質在不同溫度對菊池

氏細鯽成長之影響

Effect of different lipids in diets on growth
performance of Kikuchi minnow (*Aphyocypris kikuchii*)



Chen Wei-Ting

指導教授：廖文亮 博士

陳秀男 博士

Advisor : Wen-Liang Liao, Ph.D.

Shiu-Nan Chen, Ph.D.

中華民國 101 年 1 月

Jan, 2012

誌謝

時光飛逝、三年半的時光裡，終於我的碩士生涯也將畫下句點。本篇作文的順利完成，首先得感謝我的兩位恩師 廖文亮博士及 陳秀男博士。廖老師總是充滿著仁慈並無私地教導著學生，無論是在我們的飼料營養專業上或是產業面、更甚至是為人處事上，老師永遠都為了我們著想，於論文撰寫期間總願意花上一整天的時間與學生討論、修改。廖老師爽朗親切的笑聲與仁慈的精神永遠都是我的榜樣。同時也要感謝陳秀男老師及實驗室的錦超、Allen、景盛、志秋、學廉、政翰、小胖、彥勳學長及珊珊、明欣、鄴方學姊們還有家誠、小豬、Alice 以及大呂、冠螢等人在這幾年生涯中不斷提供予我寶貴指教及資源，還能前往屏東養殖場接受實習、甚至遇上八八風災，但在漁民日常生活、更甚於患難中見到產業的一切，此番經驗使我有機會在處世以及工作態度上著實改變不少、雖然辛苦，但對我來說卻千金不換，也特此感謝志義大哥、大姊以及志興大哥等人。

此外在論文審查期間，承蒙 陳弘成教授、丁雲源博士與劉富光主任在百忙之中抽空前來審閱與校正論文的缺失，逐字潤飾，同時提供寶貴的建議與改進方向，讓學生得以更正，使得本篇論文能夠更趨完善。

感謝實驗室所有的夥伴勳哥、漢聲、欣原、淙裕、凱翔、博源、舜豪、易賢、政霖，以及我最後一起衝刺的戰友于溶。大家一起出去吃飯、打球、打電動、聊正妹、聊 3C、聊課業等.....此些美好回憶、我永遠珍惜我與各位一起歡笑的時光。也感謝同屆的所有同學！你們都是我最珍貴的好朋友。

感謝在研究生生涯中提供給我實習機會的台灣微軟公司，以及所有為我鼓勵的夥伴，雖然一年多來我幾乎天天聽到大家時時問候我畢業了沒、論文寫完沒，但我知道大家都是希望我能早日投入我所嚮往的職場。感謝 MMO 與 RSM 部門內我所有的長官及七屆所有同仁及八屆 Office 大使，也特別感謝我的主管 Albert 及 Grace、Charles 以及 Paula、Una、Sandy、Joy、Stephen、Molly 以及 SMS&P 所有業務姐姐在工作以及生活上不斷為我打氣。漫長的學生生涯、卻因為有了你們讓我充滿幹勁。

還有我的摯友后里幫朋友們：這麼多年的友誼、感謝有大家的陪伴。永遠別忘了我們要打拼出后里第一個麥當勞的展望。

最後能成功的畢業，絕對得感謝我的家人：兩位爺爺們、奶奶們還有爸爸、媽媽、妹妹、以及嘉育。沒有爸爸、媽媽的關懷鼓勵以及辛苦工作替我負擔費用、妹妹努力的養家。我恐怕無法有今日的結果、家人之愛，對我而言尤甚珍貴。嘉育一路上的陪伴照顧、非常辛苦。也感謝妳多年來的相伴。

雖然相隔一個月便已無法讓奶奶親眼見到，但我想此時此刻、您與兩位爺爺肯定充滿驕傲的笑容、謝謝你們！最後也將榮耀獻給我最親愛的阿嬤。

摘要

菊池氏細鯽 *Aphyocypris kikuchii* (Oshima, 1919) 為台灣特有種，原主要分布範圍於宜、花、東部三縣當中，屬於初級淡水小型的鯉科魚類，其食性為雜食性，由於體型優美，因此兼具生態與觀賞價值，近年來棲地的遭到人為的破壞及環境污染問題，或因食用、釣餌以及觀賞需求而遭受捕撈，使其族群數量與分布範圍逐漸縮小而逐漸成為罕見魚種，目前希望透過人工飼養方式進行復育，但是尚未有對飼養於不同溫度最適的 n6/n3 脂肪酸需求之研究。

本實驗主要是在菊池氏細鯽飼料中含 30% 魚粉 5% 大豆油及魚油比例為 3:2 之對照組及零魚粉飼料配方添加大豆油及魚油比例為 3:2、大豆油(Soybean oil)、魚油(Fish oil) 及牛油(Tallow) 各 7% 之實驗組。菊池氏細鯽平均重為 0.32 ± 0.01 g 進行 6 週的飼養，初步結果 20°C 及 25°C 兩種溫度下飼料中含魚粉 30% 及使用零魚粉飼料的大豆油及魚油 3:2 混合比例的增重率及飼料效率最好。添加 7% 牛油組則較添加 7% 大豆油或添加 7% 魚油組之增重率及飼料效率為佳。結果顯示將菊池氏細鯽飼養於 20°C 較 25°C 為適合溫度，使用零魚粉飼料的油脂添加效果以大豆油及魚油 3:2 混合比例為最佳。

關鍵字：菊池氏細鯽、大豆油、魚油、牛油、零魚粉、溫度

Abstract

Kikuchii minnow (*Aphyocypris kikuchii*, Oshima, 1919), is a native fresh water species in Taiwan and mainly distribute in I-Lan, Hua-Lian and Taitung county. Due to they have beautiful shape and both to have ecological and ornamental value, the habitat has been suffering artificial destruction and environmental pollution. By caught since the demanding of food therefore the number of species and distribution area are shrinking gradually and became a problem. Nowadays we need develop an artificial diet and raising process, but the best n6/n3 essential fatty acid (EFA) research in different temperature was not yet discovered.

This experiment generally is in five groups of diets containing control group with 30% fish meal and 0% fish meal, and add soybean oil, fish oil, tallow or soybean oil and fish oil ratio 3:2 separately with total 7% experiment groups. The average body weight were 0.32 ± 0.01 g and fed for 6 weeks. Results are diets containing 30% fish meal and 0% fish meal with soybean oil/fish oil ratio 3:2 mix has the best growth and feed efficiency. Result also indicated to raising *Kikuchi minnow* in 20°C was better than in 25°C. In 0% fish meal diets containing soybean oil and fish oil ratio 3:2 was the best.

Keyword: Kikuchi minnow, soybean oil, fish oil, tallow, non-fish meal, temperature.

目 錄

摘要	I
Abstract.....	II
目 錄.....	III
前言	1
一、菊池氏細鯽介紹	1
二、營養需求.....	2
魚類對蛋白質之需求利用.....	2
蛋白質節約效果(Protein sparing effect)	3
零魚粉對於魚類成長的影響.....	3
魚類對必需脂肪酸的需求.....	4
飼料配方中脂質來源.....	6
水溫對於成長的影響.....	7
三、研究目的.....	8
壹、 材料與方法.....	9
一、 實驗魚種與試驗條件.....	9
二、 實驗飼料製成.....	9
三、 分析方法.....	10
水分與灰分.....	10
粗脂質萃取分析.....	10
總脂肪酸分析.....	11
四、 資料分析.....	13

五、	統計方法.....	13
貳、	結果.....	14
一、	飼料分析.....	14
二、	飼養成長結果.....	14
三、	全魚體組成分析.....	15
參、	討論.....	17
一、	飼料配方.....	17
二、	成長效果.....	20
三、	脂質及脂肪酸.....	20
結論	23
參考文獻	24



前言

一、菊池氏細鯽介紹

菊池氏細鯽(*Aphyocypris kikuchii*) 中文俗名在台東地區俗稱馬達卡(Medaka)或為散魚仔、吉氏細鯽、瘦魚、台細鯽、車栓仔等名稱，英文俗名則為Medaka、Kikuchi minnow、Taiwan green chub、Taiwan Venus fish 等。在分類學地位上屬於硬骨魚綱(Osteichthyes)、鯉形目(Cypriniformes)、鯉科(Cyprinidae)、鯽亞科(Danioninae)、細鯽屬(*Aphyocypris*)的魚類。為台灣特有種於1919年由日籍動物學者大島正滿所命名(陳及方, 2001)。菊池氏細鯽屬初級淡水魚種，主要棲息於流速較緩慢之河渠或池沼流域中，尤其是水生植物較為繁生之水域，性喜成群活動穿梭在水草與水中障礙物間躲藏，通常以掉落水面之昆蟲及水底中石頭上之藻類為食物(陳及方, 2001)。

型態上身體延長而側扁，腹部具有不完全的腹稜。頭頂部略為平坦，吻端圓鈍。口端位，下頷略突出且稍長於上頷，口裂向下斜走，唇薄無觸鬚。咽頭齒2列，齒式5.3-4.4。體被圓鱗。側線不完整，僅延伸至腹鰭基部上方。側線鱗數僅10-11，整體縱列鱗則約有30枚。各鰭均無硬棘，背鰭軟條2(不分枝軟條)+7(分枝軟條)，臀鰭2(不分枝軟條)+7(分枝軟條)(曾1986; 沈1993)。體色呈現淺黃褐色，背部呈黃綠色，腹部灰白，魚體側自眼睛後端至尾鰭基部有一條暗藍色縱帶，邊緣較為清楚時隱時現。屬於奇鰭的背鰭、臀鰭與尾鰭呈淡黃色，屬於偶鰭的胸鰭、腹鰭則透明無色。側線較短且不完全，僅延伸到腹鰭基部上方為止。雌雄間體型差異明顯；雄成魚體約長8cm，發情期到來時鰓蓋上及吻部會有少數細小追星(nuptial tubercle)出現。雌魚體型則較大，腹部也較雄魚膨大，成魚時體長約10cm，因此在性別判斷上可從這幾種特徵作為判斷依據。(陳及方1999; 陳及張2005)

菊池氏細鯽主要分佈於台灣東部的宜蘭、花蓮和台東3縣的蘭陽溪、花蓮溪、秀姑巒溪、卑南溪、水璉溪與成功溪中(沈, 1993; 曾, 1986)。在台北地區淡水河之基隆河水系還存有少部分野生族群紀錄。早期在東三縣民眾常將菊池氏細鯽油炸或製成魚乾作為配菜。不過自從粗首馬口鱖(*Opsariichthys pachycephalus*)與鰲條(*Hemiculter leucisculus*)引進東部水域後,其生態區位(ecological niche)與菊池氏細鯽重疊,且較之更具競爭優勢,因此造成菊池氏細鯽在族群數量減少(陳及張 2005)。菊池氏細鯽除可做為食物以及觀賞魚外,近幾年更被利用成為釣客活動時活餌來源,造成過度撈捕,菊池氏細鯽族群數量因此銳減(曾, 1986),另再加上早期河川湖泊整治工程對於生態保護知識不足,大量以水泥施作水道,造成人為破壞原有棲地,使其賴以產卵所需之水生植物與棲息遮蔽物大幅減少,而使該魚種族群更難以恢復。

二、營養需求

魚類對蛋白質之需求利用

蛋白質一般而言是用以修補或取代老化或損壞的身體組織之來源、亦即構成魚體的主要有機物質之一。蛋白質可透過消化或酶水解得到蛋白質中胺基酸以及能量供應、並合成新的體組織蛋白質以及提供魚隻必需胺基酸(Essential amino acid),因此魚隻需要攝取均衡且完整的蛋白質比例,而魚種不同、其需求比例也不同。以淡水魚類的仔稚魚蛋白質需求為例,鯰魚的飼料蛋白質需求約在32%~36%之間 (Garling and Wilson. 1976)。鯉魚蛋白質含量需求則有兩研究分別建議在31%或38%為最適成長需求(Takeuchi et al. 1979b, Ogino and Saito. 1970)。草魚的蛋白質需求則為41%~43%之間為最適合之需求(Dabrowski. 1977)。虹鱒蛋

白質需求為 40%(Zeitoun et al. 1973)。尼羅吳郭魚飼料蛋白質需求建議量則為 30% (Wang et al. 1985)。莫三比克吳郭魚飼料蛋白質需求為 40%(Jauncey. 1982)。吉利吳郭魚的飼料蛋白質需求則為 35% (Mazid et al. 1979)。一般而言，魚類對於蛋白質的需求將會隨著年齡以及體型的增長而逐漸下降；例如鯰魚魚苗約需 40% 蛋白質，當成長至仔稚魚大小時只需要 30~35%、而在成長至約超過 110g 後僅需 25~35%蛋白質含量(Page and Andrews. 1973)。吳郭魚在魚苗期時則需要約有 50% 蛋白質含量於飼料中，當體重增加到 30g 後、則需求下降到 35%，體型若再大一些之後則僅需 25~35%左右(Lim. 1989)。

蛋白質節約效果(Protein sparing effect)

指當添加足量的脂肪或碳水化合物於飼料之中時，進而可減少飼料蛋白質的使用量，且同時不會影響到魚隻的成長。包括了北極紅點鮭 Arctic charr (*Salvelinus alpinus*)，銀鮭 Coho salmon(*O. kisutch*)，馬拉巴石斑魚(*E. malabaricus*)，青甘鱒，虹鱒，銀紋笛鯛以及吳郭魚等魚種都已被證實適用於此效應(Watanabe, 1977; Reinitz et al., 1978; Takeuchi et al., 1978; Shimeno et al., 1980; Clark et al., 1982; Jobling and Wandsvik, 1983; Clark and Higgs, 1984; Wang et al., 1985; Takeuchi et al., 1992; 藍, 1995; 李, 1996)，因此就經濟效益考量來說飼料中需含有足量的脂肪以提供能量。

零魚粉對於魚類成長的影響

魚粉 (Fish meal)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 B₂、B₁₂ 及菸鹼酸(Niacin)等 (Rumsey, 1973；Hardy and Masumoto, 1990)。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。

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)。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

在本研究室水溫約在 25°C 以 30%魚粉(FM30 組)與零魚粉(FM0 組)餵飼菊池氏細鯽的結果使用植物性蛋白的大豆粉替代動物性魚粉之零魚粉(FM0 組)，在三週到六週的飼養之後，在其魚體增重效果並沒有出現顯著差異。而在飼料效率三週 FM0 組與 FM30 組出現顯著差異，但餵飼至第六週時則飼料效率無顯著差異，菊池氏細鯽可漸適應零魚粉的飼料(劉, 2011)。

魚類對必需脂肪酸的需求

脂肪在能量的供應上，每克的脂肪約可以提供 9Kcal 的能量，為蛋白質的 2.25 倍，若對海水魚而言，則大約是碳水化合物的 3 倍能量供給。因此可得知在等重的脂質所能提供的能量較蛋白質、碳水化合物為高，因此有能力可做為取代蛋白質能量達到蛋白質節約的效果。魚類利用脂肪作為能量來源，

脂肪亦提供給細胞膜作為構成細胞結構的主要成分，維持細胞膜的完整、脂溶性蛋白質的載體以及前列腺素和類固醇合成的前驅物質(NRC 1983)，也由於脂質較蛋白質價格低廉，因此基於以上種種優點可得知脂肪是飼料之中，極佳的能量來源。另也證實當生活環境水溫越低，則魚體內所含脂肪及不飽和脂肪酸比例越增加，也因此細胞膜才能維持其細胞膜流動性。所以在許多冷水性及海水魚類體中能蓄積較多量的脂肪及不飽和脂肪酸。

另外脂質對於魚隻重要的其中一部份即提供必需的脂肪酸，必需脂肪酸在體內是無法自行代謝合成的因此必須依靠外界的補充，缺乏時會使得魚隻生長低落、無食慾、脂肪肝、易受緊迫、嚴重時甚至發生死亡的現象(Jauncey, 2000)，在大部分的魚種中以 18:2n-6 (Linoleic acid, LOA)及 18:3n-3 (Linolenic acid, LNA) 或是 20:5n-3 (Eicosapentaenoic, EPA)及 22:6n-3 (Docosahexaenoic, DHA)的脂肪酸為必需脂肪酸。此一結果已在許多的研究中得到證實，在淡水魚種中如鯉魚僅可得知其飼料中必需含有 18:2n-6(LOA)及 18:3n-3 (LNA)各 1%左右為最適成長需求(Takeuchi and Watanabe, 1977)。草魚飼料中必需含有 18:2n-6(LOA)及 18:3n-3 (LNA)各 1%及 0.5%左右為最適成長需求(Takeuchi et al. 1991)。吉利吳郭魚飼料中必需含有 18:2n-6(LOA) 1%左右為最適成長需求(Kanazawa et al. 1980)。尼羅吳郭魚飼料中必需含有 18:2n-6(LOA) 0.5%左右為最適成長需求(Takeuchi et al. 1983)。鰻魚飼料中必需含有 18:2n-6(LOA)及 18:3n-3 (LNA)各 0.5%左右為最適成長需求(Takeuchi et al. 1980)。香魚飼料中必需含有 18:3n-3 (LNA)或 20:5n-3(EPA)各 1%左右為最適成長需求(Kanazawa et al. 1980)。鱒魚的研究認為在飼料中加入各 0.6%的 20:5n-3(EPA)及 22:6n-3(DHA)或單獨添加 DHA 其成長效果比添加 18:3n-3(LNA)佳(Takeuchi and Watanabe, 1976)。鮭魚的飼料中脂肪酸基本需求是 EPA 及 DHA 需各添加飼料脂質總量的 0.5%為最適成長需求(Satoh *et al.*, 1989)。在海水種中則對 EPA 及 DHA 需求較多。如嘉鱘魚對於添加有 0.1% EPA 與 0.5% DHA 的飼料呈現高成長率及良好的飼料轉換效率(Takeuchi *et al.*, 1992)、

金頭鯛則需 EPA、DHA 各添加 0.5%於飼料中(Ibeas et al. 1996)、虱目魚則須同時添加 EPA、DHA 各 0.5%以及 LNA 1%才能成長正常(Borlongan. 1992)，另外紅鼓魚、石斑也各需要 0.5%的 EPA 及 DHA(Lochmann and Gatlin.1993, Lin and Shiau. 2007)。大西洋鮭魚其 EPA、DHA 則各需要添加 0.5% (Ruyter et al. 2000)，尖吻鱸在 EPA 與 DHA 需求各在 0.75% (Buranapanidgit *et al.*, 1988)。

飼料配方中脂質來源

魚油 Fish Oil

在海水魚的魚油中含有較高量的 n-3 高度不飽和脂肪酸(Highly unsaturated fatty acid, HUFA)如：20:5n-3 (EPA)及 22:6n-3 (DHA)。全球每年魚油產量目前保持穩定，據統計全球生產的魚油約有 60%用在水產飼料中，到了 2010 年時，其比例將上升至 75% (Barlow S. 2000)。一般而言、脂質為飼料主要的能量供應來源，魚油則能替海水魚種補充所需脂質的 n-3 HUFA 必需脂肪酸來源。

大豆油 Soybean Oil

大豆油主要成分為多元不飽和脂肪酸(Poly unsaturated fatty acid, PUFA)及單元不飽和脂肪酸(Mono unsaturated fatty acid, MUFA)所構成而飽和脂肪酸較少。含動物體所需的必需脂肪酸包括亞麻油酸 18:2n-6 (Linoleic acid, LOA)及次亞麻油酸 18:3n-3 (Linolenic acid, LNA)，此兩種脂質是魚類所需從外界獲取之必需脂肪酸。另植物性油脂因在全球產量最高、取得容易及價格低廉，可以滿足其替代魚油的地位(Caballero et al, 2002)。植物油雖富含 C₁₈ PUFA，但卻缺乏魚油所富含的 n-3 HUFA，因此在海水魚飼料中添加較少(Sargent et al, 2002)。

牛油 Tallow

牛油為經檢驗後健康牛隻經屠宰後，所取得的新鮮乾淨脂肪組織煉製而成的油脂，其特性為溶點高、因此在低溫下成固態狀，主要做為食用添加物或是工業添加物，但由於缺乏人體所需的 18:2n-6 (Linoleic acid, LOA)及次亞麻油酸 18:3n-3 (Linolenic acid, LNA)，因此不能滿足人體必需脂肪酸需求，若食用過量恐引起人類冠狀動脈硬化以及血管栓塞等疾病。牛油主要成分經分析後有超過 65%為 16:0、18:0 及 18:1 的飽和脂肪酸；不飽和脂肪酸則約佔 25%。在水產飼料應用上牛油亦常選作脂質供應來源，因其在飼料效率、生長或活存率上無副作用 (Yu et al, 1977. a, b; Takeuchi et al. 1978, 1979a)。而另有學者的研究結果顯示使用可利用牛油與數種氫化魚油在餵飼鯉魚和虹鱒(Takeuchi et al. 1979a)。

水溫對於成長的影響

有些研究認為在某些魚身上若改變所處的環境溫度將會影響其蛋白質的需求。例如發現在 Chinook Salmon 生活於 8°C 時需 40%蛋白質、而在 15°C 時則需要 55%蛋白質(DeLong et al. 1985)。同樣的在條紋鱸於 20°C 蛋白質需求為 47%、但在 24°C 則需要 55%蛋白質(Millikin, 1982, 1983)。但在利用虹鱒進行測試時將之置於 9~18°C 的環境中並利用含有 35、40、45%粗蛋白質的飼料則無發現不同 (National Research Council (NRC), 1981)。總結來說，成長率以及飼料攝取量會隨溫度升高而上升，因此一般認為水溫的改變應該是對魚隻飼料攝取量影響較多、而對蛋白質需求較少。在生存於冷水域低溫 5-20°C 的虹鱒，其飼料中脂質可由 5%增加至 15%，蛋白質由 49%降至 36%成長無顯著性差異(Watanabe, 1982)。必需脂肪酸為 n-3 系列脂肪酸(Castell et al., 1972a,b,c; Watanabe et al., 1974a, b, c; Takeuchi and Watanabe, 1977b, c)。而生存於溫水域 25-30°C 魚類如鯉魚，其飼料中脂質可由 6%增加至 15%，蛋白質由 42%降至 32%成長無顯著性差異(Watanabe, 1982)。必需脂肪酸為 n-3 系列與 n-6 系列脂肪酸(Common carp)(Watanabe et al.,

1975a, b; 1977; Takeuchi and Watanabe, 1977a)

三、研究目的

本實驗主要是使用菊池氏細鯽(Kikuchii minow)以 n-3HUFA 含量較豐富的魚油(Fish oil)、飽和脂肪酸為主要組成的牛油(Tallow)及 n-6 系列脂肪酸為主要成分的大豆油(Soybean oil)進行試驗。分別以添加 5%的大豆油:魚油=3:2 的含 30% 魚粉及添加 7%同樣來源比例 3:2 的零魚粉組，飼料中無魚粉添加各 7%大豆油(Soybean oil)、魚油(Fish oil)、牛油(Tallow) 脂質的五組，探討不同配方中最適菊池氏細鯽生長之脂質來源及其在 20°C 以及 25°C 環境下對於脂肪的利用效果。

實驗最終目的在於探討適當的脂質來源及不同溫度添加以滿足菊池氏細鯽的生長與必需脂肪酸的需求。在不同溫度檢視溫度此變因對於魚體成長及脂肪酸需求及組成的影響、推論菊池氏細鯽在於高低溫環境下較適成長之環境，以期能建立出最適合做為取代動物性蛋白質及在不同環境溫度下最適之油脂配方。



壹、 材料與方法

一、 實驗魚種與試驗條件

實驗魚種菊池氏細鯽由花蓮水產培育所贈送，運送至國立台灣大學漁科所實驗室中之水缸先行馴養，馴養時間約為一個月，此期間投餵市售飼料每日兩次，並定期換水，投餵量則至飽食為止，使魚苗習慣攝食人工飼料。並於開始實驗分組前一天停止餵食。

實驗分組將平均大小為 0.32 ± 0.02 g 的菊池氏細鯽隨機分配至 30cm x 30cm x 45cm 魚缸中，實驗總共分為十組，每組十五尾，實驗採雙重複，水溫分別控制為 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (低溫組 L) 與 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (高溫組 H)，分別採自然光照以及培養箱內 12 小時亮:12 小時暗之人造光源光照週期，每日投餵飼料兩次，餵食總量則餵至魚隻飽食不再索餌為止，每日換水三分之一，且於餵食後利用虹吸管吸出殘餌以穩定水質，實驗進行六週，於秤重前一天停止餵食，六週結束後所有魚隻皆進行採樣，秤重紀錄後統一置放於 -20°C 之冰箱冷藏保存，以供日後進行全魚體之粗脂肪分析使用。

二、 實驗飼料製成

實驗用之飼料配方如 Table1-1 所示，以大豆粉(Soybean meal)、玉米蛋白(Corn protein)與魚粉(Fish meal)為主要之蛋白質來源，對照組以 30%魚粉及 40%大豆粉作為主要蛋白質來源，油脂來源則添加 5%大豆油與魚油比例為 3:2(3:2C 組)，其餘四組為零魚粉添加 20%玉米蛋白及較控制組稍多的 47.5%大豆粉作為替代性植物蛋白質來源以取代 30%魚粉。另添加 5%南極蝦粉做為替代魚粉誘引效果，1%磷酸鹽類作為取代魚粉提供之磷酸鹽類。其他成分包括維他命 E 0.1%、維生素預混物 0.9%、膽鹼 0.5%、礦物質預混物 5%。控制組的 α -澱粉及纖維的比例為 15%及 3.5%、零魚粉的四組 α -澱粉及纖維比例為 13%及 0%，其目的僅在於

提供基本碳水化合物需求及填充飼料配方比例。零魚粉的四組主要變異成分中油脂來源，第二組則以添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2(3:2 組)，第三、第四與第五組則分別以添加 7%之大豆油(SB)、魚油(FO)及牛油(TA)作為油脂來源。經由配方表所示比例調製好原料後，加入原料重量 30%~50%的水進行攪拌後，以手工擠粒器進行造粒，造粒完成後置入鼓風式乾燥機以 40°C、15 小時乾燥，乾燥完後再利用篩網分別篩選大小，爾後分開包裝保存，除每日將所需餵飼的部分取出外，其餘飼料儲藏於-20°C 冷凍庫中。

三、 分析方法

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。

粗脂質萃取分析

依照 Folch et al.(1957)所訂定之分析方法，將各組飼料(約 1g)或投餵實驗結束後之全魚體組織(約 0.4g)放入均質杯當中，加入氯仿：甲醇為 2：1 之溶液(chloroform / Methanol=2：1,v/v) 50ml，以均質機(Nissei AM-3, Japan)以轉速 5000rpm 攪拌五分鐘，接著以 Büchner funnel 及濾紙過濾，並另外以 50ml 氯仿：甲醇為 2:1 之溶液洗滌均質杯並倒入漏斗過濾，之後將濾液完全移入分液漏斗當中，再加入 0.03M 氯化鎂(MgCl₂)於分液漏斗中，強力混合一分鐘，靜置於室溫

中一夜後，將下層脂質層以 70mm 濾紙(Toyo, Japan)過濾至已秤重過之濃縮瓶中，經減壓迴轉濃縮機(Yamamoto RE-47, Japan)濃縮後秤重，將萃取出重除樣本重即為粗脂質含量。

總脂肪酸分析

極性及非極性脂質之脂肪酸分析

先將 Sep-Pak Silica cartridge(Wasters, U.S.)插上玻璃注射筒後(Top, Japan)以 20ml 的甲醇清洗，之後再以 20ml 的氯仿清洗，流速約 25ml/min。將濃縮完之粗脂質先以氯仿回溶，並注入 Sep-Pak silica cartridge，注入完後再以少量氯仿清洗 Sep-Pak silica cartridge 管壁以防殘留；清洗完後將 silica cartridge 插上玻璃注射筒後，先後分別以 20ml 氯仿及 15ml 之氯仿：甲醇=49：1(v/v)溶液清洗管柱，此時收集到之部分為非極性脂質；隨後再用 30ml 甲醇沖洗管柱則此時收集到之部分為極性脂質(Takeuchi, 1988)。非極性脂質分析時需經過皂化及甲基酯化，而極性脂質分析則可直接進行甲基酯化。

皂化(Saponification)

依照 Takeuchi(1988)年之方法，將萃取出之粗脂質(50mg~5g)中加入 50%氫氧化鉀(KOH) 1ml、95%乙醇(Ethyl alcohol) 15ml 與沸石一顆，以電爐加熱至 80°C 進行皂化 40 分鐘，冷卻後再將溶液移入分液漏斗中，並先後各以 40ml 蒸餾水及 30ml 乙醚(Ethyl ether)清洗濃縮瓶且移入分液漏斗中強力混合一分鐘；稍待分層後，將下層液滴入原濃縮瓶中，上層液移入錐形瓶中，下層液再倒入分液漏斗中，先後以少量蒸餾水及乙醚清洗濃縮瓶後移入分液漏斗中，輕輕混合後再重複兩次萃取動作，將下層液滴入濃縮瓶後，而三次上層液集中於分液漏斗中，並以少量蒸餾水清洗錐形瓶後移入分液漏斗中萃取，再將下層液滴入濃縮瓶，剩下之上層液移入乙醚廢液桶中，所萃取出之下層液再倒入原分液漏斗中，再先後以少量蒸餾水及 50ml 乙醚清洗濃縮瓶後全部集中於分液漏斗中，並加入 1% 甲基橙(Methyl

orange)2~3 滴及 2N 鹽酸(HCl) 10ml 強力混合一分鐘，上層液以加入蒸餾水洗滌後再除去下層液、重複此洗滌動作兩次至酸鹼值(pH)接近 7，再將上層液移入濃縮瓶中以減壓迴轉濃縮機濃縮取得脂肪酸。

甲基酯化(Methyl esterification)

依照 Vorbeck et al.(1961)之方法，將皂化且萃取完之脂肪酸加入 7% BF₃-MeOH 5ml 及沸石一顆，以電爐加熱(80°C)20 分鐘後由冷凝管頂端加入 5ml 正己烷(n-Hexane)，並加熱 1 分鐘，待冷卻後加入飽和食鹽水使正己烷層浮至瓶口，吸取正己烷層並以無水硫酸鈉及 70mm 濾紙去水及過濾至已秤重之梨形瓶中，經減壓迴轉濃縮後秤重，以 10mg 脂肪酸加入 0.1ml HPLC 級正己烷之比例稀釋，所得到之酯化脂肪酸以氣相層析儀(Gas chromatography, GC)分析。

GC 之操作條件如下：

機型	GC-14A(Shimadzu, Japan)
注射	Split, 70:1
注射溫度	240°C
管柱	30m×0.32mm ID×0.25µm film thickness(Supelco, USA)
管柱溫度	Temp=205°C
	Initial time= 1 min
	Final time= 16 min
偵測器	Flame Ionization Detector(FID)
偵測溫度	240°C
載氣	Helium
氣體壓力	Helium=0.8 kg/cm ²
	Hydrogen=0.5 kg/cm ²

$$\text{Air}=0.9 \text{ kg/cm}^2$$

四、 資料分析

1. Percent weight gain(WG)

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

2. Feed efficiency(FE, %)

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

五、 統計方法

所有實驗數據使用 SPSS 統計軟體(SPSS version 19.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA)做單因子變異數分析(One-way analysis of variance)測試各組間是否存在顯著差異，若出現差異則進一步採用鄧肯氏多變域測驗(Duncan's new multiple range test)進行檢測，所有顯著差異皆為 0.05。



貳、 結果

一、 飼料分析

一般成分分析含量

實驗飼料組成及成分分析如 Table1-1 結果所示。實驗飼料水分含量在 7.0%~7.8%之間。粗脂質含量在 12.8%~13.5%之間，粗蛋白質含量 40.6%~43.9%之間。灰分含量在 7.6%~10.2%之間，以添加 30%魚粉的對照組中 10.2%為最高，零魚粉各組則在 7.6%~7.9%之間。

脂肪酸組成

各組間由於皆有使用不同來源之油脂，因此脂肪酸組成也隨各油脂之成分特性而有不同，其組成如 Table1-2 所示，添加 30%魚粉的對照組中油脂來源添加 5%大豆油與魚油比例為 3:2， $\Sigma n-6$ 及 $\Sigma n-3$ 含量為 10.49%及 5.52%。零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2， $\Sigma n-6$ 及 $\Sigma n-3$ 含量為 12.05%及 3.27%。零魚粉油脂來源添加 7%大豆油， $\Sigma n-6$ 及 $\Sigma n-3$ 含量為 12.91%及 0.89%，以 $\Sigma n-6$ 為 12.91%在各組中最高。零魚粉油脂來源添加 7%魚油， $\Sigma n-6$ 及 $\Sigma n-3$ 含量為 6.05%及 10.18%，以 $\Sigma n-3$ 為 10.18%在各組中最高。零魚粉油脂來源添加 7%牛油， $\Sigma n-6$ 及 $\Sigma n-3$ 含量為 6.94%及 0.56%，以 $\Sigma Saturated$ 為 62.09%在各組中最高。 $n-6$ 系列的脂肪酸為 18:2n-6， $n-3$ 系列的脂肪酸為 20:5n-3 及 22:6n-3。

二、 飼養成長結果

菊池氏細鯽經過六周的飼養後，成長表現如 Table 1-3 及 Fig. 1-1 所示，實驗開始的所有組別之平均體重約僅有 0.30~0.32g 之間，經過六周的飼養後，添加 30%魚粉的對照組中油脂來源添加 5%大豆油與魚油比例為 3:2 組的低溫組與高溫組的平均體重增加 0.13g 及 0.15g，增重率為 41%及 48%。飼料效率為 82%及

85%。零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2 組中低溫組與高溫組平均體重增加 0.13 及 0.12g，增重率為 41%及 38%，飼料效率 69%及 87%。零魚粉油脂來源添加 7%大豆油組中低溫組與高溫組平均體重增加 0.07 及 0.04g，增重率為 22%及 13%，飼料效率 34%及 18%。零魚粉油脂來源添加 7%魚油組中低溫組與高溫組平均體重增加 0.08 及 0.06g，增重率為 25%及 20%，飼料效率 47%及 30%。零魚粉油脂來源添加 7%牛油組中低溫組與高溫組平均體重增加 0.10 及 0.09g，增重率為 31%及 28%，飼料效率 58%及 75%。在實驗結束後，低溫組與高溫組可發現以添加 30%魚粉的對照組成長最好與零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2 組及零魚粉油脂來源添加 7%牛油組無顯著差異。

三、全魚體組成分析

全魚體粗脂質分析

經過六週飼養後各組進行全魚體測試，各組魚隻經過充分均質後，進行分析粗脂質含量如 Table 1-4 所示低溫組在 2.84%~3.76%之間，高溫組在 3.35%~4.35%之間。

非極性脂質之脂肪酸組成

全魚體非極性脂質的脂肪酸組成如 Table1-5 及 Table1-6 所示。在低溫各組中總飽和脂肪酸(Σ Saturate) 39.04~48.49%以零魚粉油脂來源添加 7%牛油組的 48.49%為最高。總單元脂肪酸(Σ Mono) 34.12~39.80%以零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2 組 39.80%為最高。總 n-6 脂肪酸(Σ n-6) 10.13~14.32% 以零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2 組及零魚粉油脂來源添加 7%大豆油組的 14.32%及 13.48%為最高。總 n-3 脂肪酸(Σ n-3) 2.91~7.31%以添加 30%魚粉的對照組中油脂來源添加 5%大豆油與魚油比例為 3:2 及零魚粉油脂來源添加 7%魚油組的 7.11%及 7.31%為最高。在高溫各組中總飽和脂肪酸(Σ Saturate) 40.44~47.13%以零魚粉油脂來源添加 7%牛油組的 47.13%為最高。總單元脂肪酸

(Σ Mono) 37.01~40.17%以零魚粉油脂來源添加 7%大豆油組的 40.17%為最高。總 n-6 脂肪酸(Σ n-6) 9.39~13.55%以零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2 組及零魚粉油脂來源添加 7%大豆組的 12.70%及 13.55%為最高。總 n-3 脂肪酸(Σ n-3) 3.92~9.27%以添加 30%魚粉的對照組中油脂來源添加 5%大豆油與魚油比例為 3:2 及零魚粉油脂來源添加 7%魚油組的 9.27%及 8.74%為最高。

極性脂質之脂肪酸組成

全魚體極性脂質的脂肪酸組成如 Table1-7 及 Table1-8 所示。在低溫各組中總飽和脂肪酸(Σ Saturate) 51.50~58.30%以零魚粉油脂來源添加 7%牛油組的 58.30%為最高。總單元脂肪酸(Σ Mono) 12.75~24.06%以零魚粉油脂來源添加 7%大豆油與魚油比例為 3:2 組 24.06%為最高。總 n-6 脂肪酸(Σ n-6) 3.16~4.66% 以零魚粉油脂來源添加 7%魚油組的 4.66%為最高。總 n-3 脂肪酸(Σ n-3) 10.98~21.68%以添加 30%魚粉的對照組中油脂來源添加 5%大豆油與魚油比例為 3:2 組的 21.68%為最高。在高溫各組中總飽和脂肪酸(Σ Saturate) 59.67~64.23%以零魚粉油脂來源添加 7%大豆油組的 64.23%為最高。總單元脂肪酸(Σ Mono) 15.53~22.28%以零魚粉油脂來源添加 7%牛油組的 22.28%為最高。總 n-6 脂肪酸(Σ n-6) 3.15~5.59%以零魚粉油脂來源添加 7%魚油組的 5.59%為最高。總 n-3 脂肪酸(Σ n-3) 10.23~15.43%以零魚粉油脂來源添加 7%魚油組的 15.43%為最高。

參、 討論

一、 飼料配方

在對菊池氏細鯽最適之飼料配方研究中，含有 30%魚粉、40%大豆粉以及 5%大豆油：魚油比例為 3:2 的脂質所製成之飼料，其成長效果最佳。同時也發現使用零魚粉飼料配方添加植物性蛋白質來源為 47.5%大豆粉、20%玉米蛋白以及 5%南極蝦粉取代魚粉，且其成長結果與 30%魚粉及 40%大豆粉並無顯著差異(劉, 2011)。因此在本實驗中也參照含有 30%魚粉、40%大豆粉以及 5%大豆油：魚油比例為 3:2 脂質的飼料做為對照組，使用零魚粉添加植物性蛋白質來源為 47.5%大豆粉、20%玉米蛋白以及 5%南極蝦粉，脂質來源為 7%大豆油：魚油比例為 3:2，另以零魚粉飼料之配方增設三組脂質為 7%但來源不同的組別，分別為大豆油、魚油和牛油。飼料經分析後脂質含量為 12.8~13.5%較劉於 2011 的配方 7.8~8.1%為高。高出約 5%的脂質應為大豆粉中的脂質。而零魚粉相關試驗已有非常多報告，如長鰭真鮰飼料中的魚粉添加量以大豆粉及玉米粉部分或完全取代，在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 Webster et al. (1992b)。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 Kaushik et al. (2004)。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 Lys 及 Met 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。如鯉魚飼料添加 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。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。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)。

利用大豆油、魚油和牛油作為油脂添加給予魚隻也已有研究證實；例如以大豆油去取代鱸魚以及鱒魚飼料中一半的魚油時，對其成長表現上並沒有出現差異 (Figueiredo-Silva et al, 2005)。以大豆油、棕櫚油及菜籽油做為金頭雕的飼料取代三分之二魚油實驗，並將實驗分為前後兩期，前期 170 天餵飼魚油以及替代性飼料，後 120 天則全部投餵魚油飼料，結果發現雖經過此實驗無法完全將魚肉中的 EPA 及 DHA 含量提升回全魚油組的魚肉濃度，但是在成長表現上卻與大豆油組、魚油組與菜籽油組織間的差異性不大 Fountoulaki et al. (2009)。鯉魚飼料中添加牛油或飽和油脂，消化率可達 70% 以上 (Takeuchi et al, 1979)。水溫於 28°C 時，添加 5% 或 10% 牛油於飼料中鯰魚 (Channel catfish) 消化率更可達 94% 左右 (Andrews et al, 1978)。飼料中添加牛油及魚油，對許多溫水性魚類的生長效果比添加紅花籽油為佳 (Stickney and Hardy, 1989)。以鯖魚油、黃豆油或牛油代替鯡魚油 (herring oil)，發現飼料脂質來源並不會影響大西洋鮭魚成長或體組成 (Ronald et al, 1987)。例如 Chinook salmon 飼料之脂質組成為 4% Salmon oil + 4% 牛油時，其成長效果最佳。紅鼓魚 (*Sciaenops ocellatus*) 飼料之脂質組成為 5.4% 牛油 + 1% n-3HUFA 時，增重率及飼料效率比含 6.4% 之魚油對照組要佳 (Craig and Galtin, 1995)

本實驗主要探討菊池氏細鯽飼料中添加不同來源之脂質及在不同溫度下對菊池氏細鯽成長之影響。在水產生物飼料設計中，蛋白質的來源比例確實也會影響魚類成長，而本實驗主要影響魚類成長的因素則在於脂質的來源及比例。目前已了解一般淡水魚體內可將 18:2n-6 轉變為 20:4n-6 或將 18:3n-3 轉變成為 20:5n-3 及 22:6n-3，但魚類卻不能自行合成 18:2-6 及 18:3n-3，因此淡水魚類必須從食物中獲得這些脂肪酸 (Kanazawa, 1985)。鯉魚飼料中研究建議脂質需要添加有總含量各 1% 18:2n-6 及 1% 18:3n-3 (Takeuchi & Watanabe, 1977)。本實驗配方中因含有大量的大豆粉，其脂質中含 18:2n-6 及 18:3n-3 脂肪酸可供給菊池氏細鯽必需脂肪酸中 n-3 及 n-6 系列的脂肪酸。

經實驗測試菊池氏細鯽飼料中的蛋白質需求量約為 38%(劉, 2011)。鯉魚蛋白質需求量約為 38% (Ogino and Saito, 1970)及草魚的蛋白質需求量約為 41-43% Dabrowski (1977)兩魚種最適蛋白質需求量之研究相符合。本實驗所使用飼料粗蛋白質含量經過分析含量為 40.6%~43.9%與最適成長建議量相近。

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，會降低飼料對於類的誘引性，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效果(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)。

研究利用不同的磷酸鹽類飼養鯉魚及虹鱒，將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 Ogino et al. (1979)。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 Ahn (1993)。對鯉魚的另一個實驗中，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 Kim and Kim (1995)。

本實驗在零魚粉飼料中植物性原料添加量較高的 3:2、SB、FO 及 TA 組，植物性蛋白質來源分別佔總量的 67.5%，這幾組添加 7%油脂、5%南極蝦粉及 1%第一磷酸鈣，以補充零魚粉組中與 30%魚粉組之間約 2%油脂與磷酸鈣的不足。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，添加 5% 的南極蝦粉作為誘引劑替代原魚粉的誘引性，促進菊池氏細鯽對零魚粉飼料的攝食。

二、成長效果

經過 6 週的飼養、含 30% 魚粉的對照組 3:2C 組於低溫組中有最佳的 48% 增重率及 82% 飼料效率。而在高溫組中也有最佳的 41% 增重率及 85% 飼料效率。相對於使用零魚粉的 3:2 組來進行比較，雖然使用 67.5% 植物性蛋白來源替代魚粉、但脂質來源比例依然相同，於低溫組中 41% 增重率及 69% 飼料效率，在高溫組 38% 增重率及 87% 飼料效率。此結果可以發現依然是含有魚粉的 3:2C 組呈現較高的結果。但在兩組間增重率及飼料效率則無顯著差異。先前的研究也顯示含 30% 魚粉的對照組 3:2C 組其 142% 增重率及 52% 飼料效率較零魚粉的 3:2 組使用 67.5% 植物性蛋白來源的 125% 增重率及 48% 飼料效率為高。兩組間增重率及飼料效率則無顯著差異(劉, 2011)。由此得知菊池氏細鯽對於植物性蛋白質的利用也有不錯的利用效果，因此含 30% 魚粉的 3:2C 組可以零魚粉的 3:2 組作為取代。

三、脂質及脂肪酸

在成功以零魚粉進行取代後實驗進一步探討菊池氏細鯽對於脂質來源及脂肪酸的需求，因此在含大豆油:魚油為 3:2 添加共 7% 的零魚粉配方中、利用大豆油、魚油以及牛油添加各 7% 進行油脂取代。實驗六週後以大豆油:魚油為 3:2 組，於低溫組中 41% 增重率及 69% 飼料效率，在高溫組 38% 增重率及 87% 飼料效率為最高。其次在牛油組則呈現於低溫組中 31% 增重率及 58% 飼料效率，在高溫組 28% 增重率及 75% 飼料效率。零魚粉 7% 大豆油:魚油 3:2 組與零魚粉 7% 牛油組不論在高低溫環境下增重率及飼料效率無顯著差異。而添加 7% 大豆油的 SB 組以及 7% 魚油的 FO 組皆呈現較差。若以高低溫來檢視各組別的生長情形可以

發現，在低溫組下的 7%大豆油的 SB 組及 7%魚油的 FO 組其增重率雖與 7%大豆油:魚油 3:2 組無顯著差異。但與含 30%魚粉的 3:2C 組相比則有顯著差異。於高溫組中的 7%大豆油的 SB 組與 7%魚油的 FO 組則與零魚粉 7%大豆油:魚油 3:2 組和 30%魚粉的 3:2C 組皆出現顯著差異。可得知添加三種脂質來源中僅有牛油尚可取代 7%大豆油:魚油比例為 3:2 來源，而多添加 7%大豆油或 7%魚油的組其成長效果則不佳。將菊池氏細鯽飼養魚高溫的環境下，對於多添加大豆油與魚油的脂質的利用則更差。

以油脂內富含的脂肪酸來進行探討，已知魚類其脂肪酸的需求進行整理歸納，現已有許多研究報告討論許多魚種的最適脂肪酸需求量，在此可將淡水魚的必需脂肪酸分為三類，第一類為虹鱒型，其必需脂肪酸為 n-3 系列脂肪酸，如：虹鱒 (Castell et al., 1972a,b,c; Watanabe et al., 1974a, b, c; Takeuchi and Watanabe, 1977b, c)、銀鱒(Coho salmon)(Yu and sinnhuber, 1979)、白鱒(Chum salmon)(Takeuchi et al., 1979)、白鱒(white fish)(Thongrod et al., 1989; Watanabe et al., 1989a)、山女魚(yamame)(Thongrod, et al. 1990)及香魚(Ayu)(Kanazawa et al., 1982)；第二型為鯉魚型，同時需要 n-3 系列與 n-6 系列脂肪酸，如：鯉魚(Common carp)(Watanabe et al., 1975a, b; 1977; Takeuchi and Watanabe, 1977a)及草魚(grass carp)(Takeuchi et al., 1991)；第三類為吳郭魚型，其必需脂肪酸為 n-6 系列脂肪酸，如：吉利吳郭魚(Tilapia zilli)(Kanazawa et al., 1980)及尼羅吳郭魚(Tilapia nilotica)(Takeuchi et al., 1983)。而海水魚對於必需脂肪酸的需求主要為 n-3 高度不飽和脂肪酸，如鱈(Owen et al., 1972)、大比目魚(Cowey et al., 1976a, b)、嘉鱈魚(red sea bream)(Yone and Fujii, 1975a, b; Takeuchi, et al., 1990)。菊池氏細鯽屬於鯉科魚類，因此應屬於第二類：同時需要 n-3 系列與 n-6 系列脂肪酸，而 n-3 脂肪酸主要來自魚油等動物性脂肪酸，n-6 脂肪酸則主要來自於植物性脂肪酸如大豆油等，以 Table1-2 成長結果與 Table1-3 飼料脂肪酸分析結果和成長較好的 30%魚粉的 3:2C 組與零魚粉 7%大豆油:魚油 3:2 組先行比較，可發現其 n-3 系列脂肪酸含量為 5.52%及

3.27%，n-6 系列脂肪酸含量為 10.49%及 12.05%。雖較富含 n-3 不飽和脂肪酸的 7%魚油的 FO 組的 10.18%為低。但相較 7%大豆油的 SB 組以及 7%牛油的 TA 組的 n-3 不飽和脂肪酸 0.56%及 0.89%為高。而與富含 n-6 系列脂肪酸的含 7%大豆油 SB 組的 12.91%相比較低，但較 FO 組及 TA 組的 6.94%為高。由此推測菊池氏細鯽可能同時需要 n-3 系列脂肪酸及 n-6 系列脂肪酸。在 n-3 不飽和脂肪酸於 7%牛油的 TA 組僅有 0.56%也可以成長良好、30%魚粉的 3:2C 組 n-3 不飽和脂肪酸 5.52%為最高且成長效果為最佳，其次為零魚粉 7%大豆油:魚油 3:2 組 n-3 不飽和脂肪酸含量為 3.27% 但過量的 n-3 不飽和脂肪酸如達到 7%魚油的 FO 組的 10.18%將造成魚隻成長不良的情況產生。推測其 n-3 不飽和脂肪酸的需求約在 3.27%~5.52%之間。在 n-6 系列脂肪酸則以 30%魚粉的 3:2C 組 n-6 不飽和脂肪酸 10.49%成長效果為最佳，其次為零魚粉 7%大豆油:魚油 3:2 組 n-6 不飽和脂肪酸含量為 12.05%。推測其 n-6 脂肪酸的需求約在 10.49%~12.05%之間。

將全魚體進行脂肪酸成分組成分析與飼料脂肪酸成分組成探討，在非極性脂肪酸中，在低溫時總 n-3 系列脂肪酸在 2.91%~7.31%之間，高溫組則在 4.37~9.27 之間。而 n-6 系列脂肪酸中、低溫組介於 10.13%~14.32%，高溫組在 9.39%~13.55% 之間。高低溫比較總 n-3 系列及總 n-6 系列兩種脂肪酸，各組 n-6 系列脂肪酸含量在低溫組皆比高溫組較多。但 7%大豆油的 SB 組與 7%魚油的 FO 組則在高溫時含量較高。低溫組總 n-3 系列脂肪酸含量較高溫組都低、只有 7%牛油的 TA 組在高溫組較高。可推測在低溫下菊池氏細鯽對於 n-3 系列不飽和脂肪酸的利用較多，而對於 n-6 系列脂肪酸的利用較少。在極性脂肪酸比較中，低溫時總 n-3 不飽和脂肪酸介於 10.98%~21.68%之間、高溫組則在於 10.23%~15.43 之間。而 n-6 系列脂肪酸中低溫組介於 3.16%~4.66%之間、而高溫組則在 3.15%~5.59% 之間。可推測在低溫下菊池氏細鯽對於 n-3 系列不飽和脂肪酸的利用較少，而對於 n-6 系列脂肪酸的利用較多。

結論

1. 利用大豆油；魚油=3：2 的比例的油脂或添加牛油對於菊池氏細鯽皆有良好的成長效果以及飼料效率。而多添加大豆油或魚油做為飼料主要脂質來源時則造成生長效果不佳。
2. 菊池氏細鯽在 20°C 時、其成長效果較高於在 25°C 時。雖然飼料效率在高溫時較低溫時較佳，但整體飼料利用於成長之結果依然是低溫來得較好。
3. 以飼料飼養菊池氏細鯽時蛋白質需求建議在 38-40%可為零魚粉，脂質添加建議在 8-12%。n-6 脂肪酸的需求約在 10.49%~12.05%之間， n-3 不飽和脂肪酸的需求約在 3.27%~5.52%之間。



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。
- 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。
- 周聖倫。2002。不同蛋白質含量下脂質及 n-3 高度不飽和脂肪酸對赤鰭笛鯛成長之研究。
- 沈世傑。1993。臺灣魚類誌, Fishes of Taiwan, p139-140.
- 張永州。2004。菊池氏細鯽之生物學及地理親緣關係研究 Biology and phylogeography of Taiwan venus fish, *Aphyocypris kikuchii* (Oshima), from Taiwan.
- 陳柔伊。2007。飼料添加重組胰島素成長因子對日本鰻與筍殼魚成長的影響
- 陳義雄、方力行。1999。台灣淡水及河口魚類誌
- 陳義雄、張詠青、邵廣昭。2005。台灣淡水魚類--原色圖鑑
- 曾晴賢。1986。臺灣的淡水魚類，臺灣省教育廳。
- 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。
- 鄭長義。1991。飼料配方技術大全(上)。華香園出版社。
- 劉舜豪。2011。菊池氏細鯽之飼料開發。
- Alan, T.D. and Stickney, R.R. 1978. Growth response of *Tilapia aureus* to dietary protein quality and quantity. Trans. Am. Fish. Soc., 107:479-483.
- Andrews, J. W., Murray, M. W. and Davis, J. M. 1978. The influence of dietary fat levels and environmental temperature on digestible energy and absorbability

- of animal fat in catfish diets. *J. Nutr.*, 108:749-752.
- Bairagia, A., Sarkar G. K., Senb, S.K. and 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. *Biores. Techno.*, 85:17–24.
- Barlow, S. 2000. Fishmeal and fish oil: sustainable feed ingredients for aquafeeds. *Global Aquacult. Adv.*, 3:85-88.
- Brett, D. 2009. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture* 1:71-124.
- Borlongan, I.G.1992. The essential fatty acid requirement of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). *Fish Physiol. Biochem.*, 9: 401–407.
- Buranapanidgit, J., Boonyaratpalin, M., Watanabe, T., Pechmanee, T. and Yashiro, R. 1988. Essential fatty acid requirement of juvenile Seabass *Lates Calcarifer*. Technical paper No. 3. National Institute of Coastal Aquaculture, Department of Fisheries, Thailand.
- Caballero, M.J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. and Izquierdo, M.S. 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 214: 253–271.
- Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H. and Lee, J.D. 1972a. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.*, 102: 77–86.
- Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H. and Lee, J.D. 1972b. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): physiological symptoms of EFA deficiency. *J. Nutr.*, 102: 87–92.

- Castell, J.D., Lee, J.D. and Sinnhuber, R.O. 1972c . Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): lipid metabolism and fatty acid composition. J. Nutr., 102: 93–100.
- Carr, W. E. S. and 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., 54A: 437-441.
- Cowey, C.B., Adron, J.W., Owen, J.M. and Roberts, R.J. 1976a. The effect of different dietary oils on tissue fatty acid and tissue pathology in turbot (*Scophthalmus maximus*). Comp. Biochem. Physiol., 53B:399-403.
- Cowey, C.B., Owen, J.M. and Adron, J.W. C. 1976b. The effect of different dietary fatty acids on the growth and fatty acid composition of turbot (*Scophthalmus maximus*). Middleton Studies on the nutrition of marine flatfish. Brit. J. Nutr., 36:479-486.
- Craig, S.R., Neill, W.H. and Gatlin, D.M. III. 1995. Effects of dietary lipid and environmental salinity on growth, body composition, and cold tolerance of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). Fish Physiol. Biochem., 14:49-61.
- Dabrowski, K. 1977. Protein requirements of grass carp fry (*Ctenophayngodon idella Val*). Aquaculture, 12:63-73.
- Figueiredo-Silva, A., Rocha, E., Dias, J., Silva, P., Rema, P., Gomes, E. and Valente L.M.P. 2005. Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution, liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles . Aquacult. Nutr., 11: 147-155.
- Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Hurtado, R., Grigorakis, K., Karacostas, I., Nengas, I.,

- Rigos, G., Kotzamanis, Y., Venou, B. and Alexis, M. 2009. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata L.*); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture*, 289:317-326.
- Garling, D. L. Jr. and Wilson, R. P. 1976. Optimum dietary protein-to-energy ratio for channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. *J. Nutr.*, 106:1368-1375.
- Reinitz, G.L., Orme, L.E., Lemm, C.A. and Hitzel, F.N. 1978. Influence of varying lipid concentrations with two protein concentrations in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107: 751-754.
- Hardy, R. W. and Matsumoto, T. 1990. Specifications for marine by-products for aquaculture. in Keller, S. ed. *Proceedings of the international conference on fish by-products*. Alaska Sea Grant Program, Fairbanks., pp.109-120.
- Hardy, R. W. and Tacon, A. G. J. 2002. Fish meal: Historical uses, production trends, and future outlook for sustainable supplies. *Respo. Mari. Aquac.* pp.311-325
- Hardy, R. W. Thomas, M. Scott, T. M. and Harrell, L. W. 1987. Replacement of herring oil with menhaden oil, soybean oil, or tallow in the diets of Atlantic salmon raised in marine net-pens. *Aquaculture*, 65:267-277.
- Harvey, D. J. 1991. Outlook for U.S. aquaculture. Annual agricultural outlook conference, U.S. Dept. of Agriculture, Washington, DC.
- Hertrampf, J.W. and Piedad-Pascual, F. 2000. *Handbook of ingredients for aquaculture feeds*. Kluwer Academics, Dordrecht, pp. 69-78.
- Ibeas, C., Ceja, J., Gomez, T., Jerez, S. and Lorenzo, A. 1996. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*)

- growth and tissue fatty acid composition. *Aquaculture*, 142: 221-235.
- Jackson, A.J., Capper, B.S. and 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, feed conversion, protein utilization and body composition of juvenile tilapia (*Sarotherdon mossambicus*). *Aquaculture*, 27: 43-54.
- Jauncey, K. 2000. Nutrition requirement. In: Beveridge, M.C.M. and McAndrews, B. J. (eds.) *Tilapias: biology and exploitation*, fish and fisheries series 25:327-375.
- Kim, J.D. and Ahn, K.H. 1993. Effects of monocalcium phosphate supplementation on phosphorus discharge and growth of carp (*Cyprinus carpio*) grower. *Asian-Austral. J. Anim. Sci.*, 6:521-526
- Kim, J.D. and Kim, K.S. 1995. Effects of dietary monocalcium phosphate on growth performances, feed utilization and phosphorus discharge by carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 161:337-344.
- Jobling, M. and Wandsvik, A. 1983. Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, (*Salvelinus alpinus L*). *J. Fish Biol.* 22: 577-584.
- Kanazawa, A., Teshima, S. and Sakamoto, M. 1985. Effects of dietary lipids, fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture*, 50: 39-49.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Sakamoto, M. and Awal, M.A. 1980. Requirement of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 33: 47-55.
- Lim, C. 1989. Practical Feeding – Tilapias. In: Lovell, T. (ed.). *Nutrition and feeding*

of fish. Van Nostrand, Reinhold, New York, USA, 163pp.

Lin, Y.H. and Shiau, S.Y. 2007. Effects of a dietary blend of fish oil with corn oil on growth and non-specific immune responses of grouper, (*Epinephelus malabaricus*). *Aquac. Nutr.*, 13: 137–144.

Lochmann, R.T. and Gatlin, D.M. 1993. Evaluation of different types and levels of triglycerides, singly and in combination with different levels of n-3 highly unsaturated fatty acid ethyl esters in diets of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture*, 114: 113–130.

Mackie, A. M. and Mitchell, A.I. 1982. Further studies on the chemical control of feeding behaviour in the Dover sole *Solea solea*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73A: 89-93.

Mazid, M. A., Tanaka, Y., Katayama, T., Asadur Rahmani, M., Simpson, K. L. and Chichester, C. O. 1979. Growth response of *Tilapia zillii* fingerlings fed isocaloric diets with variable protein levels. *Aquaculture*, 18: 115-122.

Millikin, M.R. 1982. Qualitative and quantitative requirements of fishes: a review. *Fish. Bull.*, 80: 655–686.

Millikin, M.R. 1983. Interactive effects of dietary protein and lipid on growth and protein utilization on age-0 striped bass *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112:85–193.

New, M. B. 1991. Turn of the millenium aquaculture. *World Aquacult.*, 22:28-49.

Nengas, I. and 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.

National Research Council (NRC), 1981. Nutrient requirements of coldwater fishes *Natl. Acad. Sci.*, Washington, D.C., p. 63

- National Research Council (NRC), 1983. Nutrient requirements of fish. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C., pp. 192.
- Ogino, C., Takeuchi, L., Takeda, H. and Watanabe, T. 1979. Availability of dietary phosphorus in carp and rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 45: 1538–1553.
- Ogino, C. and Saito, K., 1970. Protein nutrition in fish - I. The utilization of dietary protein by young carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 36:259-254.
- Oshima, M. 1919. III Contributions to the study of the fresh water fishes of the island of Formosa.
- Owen, J.M., Adron, J.W., Sargent, J.R. and Cowey, C.B. 1972. Studies on the nutrition of marine flatfish. The effect of dietary fatty acids on the tissue fatty acids of the plaice, *Pleuronectes platessa*. Mari. Biol., 13:160-166.
- Page, J.W. and Andrews, J.W. 1973. Interaction of dietary levels of protein and energy on channel catfish (*Zctalurus punctatus*). J. Nutr., 103: 1339-1346.
- Rumsey, G. L. 1973. The protein situation in fish feeds and feeding. American Fishes and U.S. Trout News, 18:6-11.
- Ruyter, B., Rosjo, C., Einen, O. and Thomassen, M.S. 2000. Essential fatty acids in Atlantic salmon: effects of increasing dietary doses of n-3 and n-6 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. Aquac. Nutr., 6: 119–127.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. and Bell, G.J. 2002. The Lipids. In: Fish nutrition, Halver, J.E. and Hardy, R. (Eds.). 3rd edn., Academic Press, San Diego, CA. USA., pp, 181-257.
- Satoh, S., Poe, W.E. and Wilson, R.P. 1989. Effect of dietary n-3 fatty acids on weight gain and liver polar lipid fatty acid composition of fingerling channel

catfish. J. Nutr., 119:23-28.

Shimeno, S., Hosokawa, H., Takeda, M. and Kajiyama, H. 1980. Effect of calorie to protein ratios in formulated diet on the growth, feed conversion and body composition of young yellowtail. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 46 :1083-1087.

Takeuchi, T., Arakawa, T., Satoh, S. and Watanabe, T. 1992. Supplemental effect of phospholipids and requirement of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid of juvenile striped jack. Nippon Suisan Gakkaishi, 58:707-713.

Takeuchi, T., Toyota, M., Satoh, S. and Watanabe, T. 1990. Requirements of juvenile red sea bream for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. Nippon Suisan Gakkaishi, 56:1263-1269.

Takeuchi, T., Satoh, S. and Watanabe, T. 1983. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49:1127-1134.

Takeuchi, T., Arai, S., Watanabe, T. and Ogino, C. 1980. Requirement of eel (*Anguilla japonica*) for essential fatty acids. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 46:345-353.

Takeuchi, T., Watanabe, T. and Ogino, C. 1979. Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Onchorhynchus keta*) in freshwater environment. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 45:1319-1323.

Takeuchi, T., Watanabe, T. and Ogino, C. 1979a. Availability of carbohydrate and lipid as dietary energy sources for carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 45:977-982.

Takeuchi, T., Watanabe, T. and Ogino, C. 1979b. Optimum ratio of dietary energy to protein for carp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 45: 983-987.

Takeuchi, T., Watanabe, T. and Ogino, C. 1978a. Supplementary effect of lipids in a high protein diet of rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 44: 677-681.

- Takeuchi, T., Watanabe, T. and Ogino, C. 1978b. Optimum ratio of protein to lipid in diets of rainbow trout . Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 44:683-688.
- Takeuchi, T., Yokoyama, M., Watanabe, T. and Ogino, C. 1978c. Optimum ratio of dietary energy to protein for rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 44:729-732.
- Takeuchi, T. and Watanabe, T. 1977a. Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid requirement on growth of rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 43: 893–898.
- Takeuchi, T. and Watanabe, T. 1977b. Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in pollock liver oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 43: 947–953.
- Takeuchi, T. and Watanabe, T. 1977c. Requirement of carp for essential fatty acids Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 43: 541–551.
- Takeuchi, T. and Watanabe, T. 1976. Nutritive value of n-3 highly unsaturated fatty acids in pollock liver oil for rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 42: 907–919.
- Watanabe, T. 1996. Fish feed development in Japan. Suisanzoshoku, 44: 227–229.
- Watanabe, T. 1982. Lipid nutrition in fish. Comp. Biochem. Physical., 73:3-15.
- Watanabe, T. 1977. Sparing action of lipids on dietary protein in fish—low protein diet with high calorie content. Technocrat.,10:34-39.
- Watanabe, T., Utsue, D., Kobayashi, I. and Ogino, C. 1975 a. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp — I. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 41:257–262.
- Watanabe, T., Takeuchi, T. and Ogino, C. 1975 b. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp — II. Bull. Jpn. Soc. Sci.

Fish.,41:263–269.

Watanabe, T., Ogino, C., Koshiishi, Y. and Matsunaga, T. 1974a. Requirement of rainbow trout for essential fatty acids. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 40: 493–497.

Watanabe, T., Takashima, F. and Ogino, C. 1974b. Effect of dietary methyl linolenate on growth of rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 40: 181–188.

Watanabe, T., Kobayashi, I., Utsue, O. and Ogino, C. 1974c. Effect of dietary methyl linolenate on fatty acid composition of lipids in rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 40:387–392.

Kaushik, S.J., Covés, D., Dutto, G. and 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.

Viola, S., Arieli, J., Rappaport, U. and Mokady, S. 1981. Experiments in the nutrition of carp replacement of fish meal by soybean meal. Bamidgeh, 33:35-49.

Webster, C.D., Tidwell, J.H., Goodgame, L.S., Yancey, D.H. and 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. and 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.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975a. Studies on nutrition of red sea bream. XI. Effects of n3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 41: 73-77.

Yone, Y. and Fujii, M. 1975b. Studies on nutrition of red sea bream. XII. Effects of n3

fatty acid supplement in a corn oil diet on fatty acid composition of fish.
Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.,41:79 86.

Yu, T.C., Sinnhuber, R.O. and Putnam, G.B. 1977a. Effect of dietary lipids on fatty acid composition of body lipid in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Lipids, 12:495–499.

Yu, T.C., Sinnhuber, R.O. and Putnam,G.B. 1977b. Putnam Use of swine fat as an energy source in trout rations Prog. Fish Cult., 39:95–97.

Zeitoun, I.H., Halver, J.E., Ulrey, D.E. and Tack, P. 1973. Influence of salinity on protein requirements of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fingerlings. J. Fish. Res. Board. Can. 30:1867–1973.



Table 1-1. **Composition and proximate analysis of the experimental diets for Kikuchi minnow**

Ingredients (g/100g)	Exp. Diet				
	3:2C※	3:2	SB	FO	TA
Fish Meal	30	0	0	0	0
Soybean Meal	40	47.5	47.5	47.5	47.5
Corn protein	0	20	20	20	20
Krill Meal	0	5	5	5	5
CaH ₂ PO ₄ (2H ₂ O)	0	1	1	1	1
Vitamin E	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin Mix.	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Choline Chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
α-Starch	15	13	13	13	13
Mineral Mix.	5	5	5	5	5
Oil	5	7	7	7	7
Cellulose	3.5	0	0	0	0
Total	100	100	100	100	100
Oil source	3:2*	3:2*	Soybean Oil	Fish Oil	Tallow
Proximate analysis (%)					
Moisture	7.8	7.7	7.0	7.8	7.7
Crude lipid	13.1	12.8	12.9	13.2	13.5
Crude protein	40.6	43.6	43.8	43.2	43.9
Ash	10.2	7.6	7.8	7.8	7.9

* 3:2=Soybean Oil : Fish Oil

※3:2C=Soybean Oil: Fish Oil with 30% fish meal.

Table 1-2. Fatty acid composition of total lipid from the experimental diet for Kikuchi minnow. (Area%)

Fatty acid	3:2C	3:2	SB	FO	TA
14:0	2.04	1.43	0.72	3.86	2.36
16:0	18.2	15.71	13.57	21.71	24.86
18:0	22.41	22.58	23	20.1	34.87
18:1	39.55	41.16	44.2	29.97	30.13
18:2n-6	10.49	12.05	12.91	5.86	6.94
20:1	1.46	3.44	3.42	1.35	1.22
20:4n-6	tr	tr	tr	0.19	tr
20:5n-3	2.93	1.68	0.6	6.33	0.56
22:1	0.33	0.36	0.21	0.19	tr
22:5n-3	tr	tr	tr	0.49	tr
22:6n-3	2.59	1.59	0.29	3.36	tr
22:6n-3	42.65	39.72	37.29	45.67	62.09
Σ Saturated	41.34	44.96	47.83	31.51	31.35
Σ n-6	10.49	12.05	12.91	6.05	6.94
Σ n-3	5.52	3.27	0.89	10.18	0.56
Σ n-3HUFA	5.52	3.27	0.89	10.18	0.56

Table 1-3. Growth performance of Kikuchi minnow. fed with the experimental diets for 6 weeks

Exp. Group	Initial BW(g)	Final BW(g)	Weight gain(%)	FE(%)
L 3:2C	0.31±0.04	0.46±0.06 ^a	48	82
L 3:2	0.32±0.04	0.45±0.09 ^{ab}	41	69
L SB	0.32±0.04	0.39±0.04 ^{bc}	22	34
L FO	0.32±0.04	0.40±0.05 ^{bc}	25	47
L TA	0.32±0.03	0.42±0.01 ^{abc}	31	58
H 3:2C	0.32±0.04	0.45±0.09 ^{ab}	41	85
H 3:2	0.32±0.05	0.44±0.04 ^{ab}	38	87
H SB	0.32±0.04	0.36±0.07 ^c	13	18
H FO	0.30±0.05	0.36±0.06 ^c	20	30
H TA	0.32±0.04	0.41±0.06 ^{abc}	28	75

*Mean±SD. (n=26-30)

Table 1-4 Crude lipid conten of whole fish body. (%)

Temp*	diet				
	L3:2C	L3:2	LSB	LFO	LTA
20°C	3.76±0.72	3.29±0.84	2.84±0.65	3.46±0.75	3.12±0.35
Temp*	H3:2C	H3:2	HSB	HFO	HTA
25°C	4.35±0.83	3.74±0.76	3.35±0.73	3.89±0.81	3.31±0.26

*L: Low temperature (20°C)

*H: High temperature (25°C)

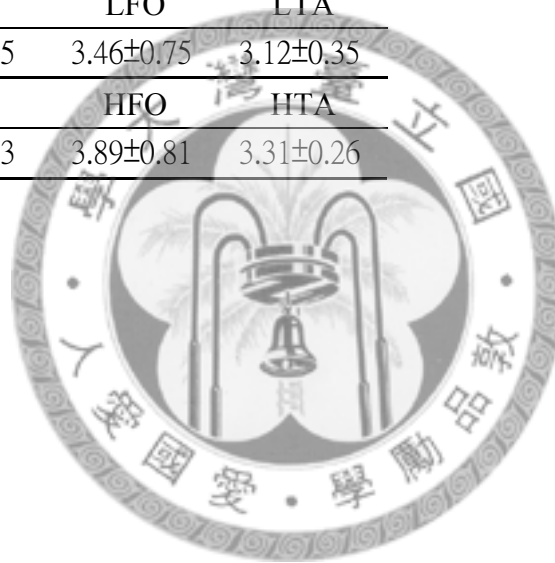


Table 1-5 Fatty acid composition of the non-polar lipid from the whole-body at 20°C (Area %)

Fatty acid	L3:2C	L3:2	LSB	LFO	LTA
14:0	0.75	0.36	0.62	1.26	1.1
16:0	17.47	16.64	16.06	22.25	21.56
18:0	24.19	22.04	23.17	23.35	25.83
18:1	36.95	37.72	36.26	33.21	32.51
18:2n-6	10.02	11.11	10.83	9.18	9.65
20:1	1.38	2.08	0.32	0.91	1.12
20:4n-6	1.38	3.21	2.65	0.95	1.45
20:5n-3	2.09	0.59	1.48	2.29	1.5
22:5n-3	0.39	0.23		0.32	0
22:6n-3	4.63	3.44	1.43	4.7	4.79
Σ Saturated	42.41	39.04	39.85	46.86	48.49
Σ Mono	38.33	39.8	36.58	34.12	33.63
Σ n-6	11.4	14.32	13.48	10.13	11.1
Σ n-3	7.11	4.26	2.91	7.31	6.29
Σ n-3HUFA	7.11	4.03	2.91	7.31	6.36

Table 1-6 Fatty acid composition of the non-polar lipid from the whole-body at 25°C (Area %)

Fatty acid	H3:2C	H3:2	HSB	HFO	HTA
14:0	0.83	0.41	0.55	1.47	0.57
16:0	17.86	18.72	16.9	21.02	19.48
18:0	22.81	21.31	23.96	21.52	27.08
18:1	35.18	37.07	39.69	34.62	36.4
18:2n-6	9.68	10.65	11.57	9.95	7.5
20:1	1.83	2.51	0.48	1.43	2.61
20:4n-6	1.27	2.05	1.98	0.99	1.89
20:5n-3	2.11	0.71	1.53	2.78	0.72
22:5n-3	0.31	0.22	0	0.53	0
22:6n-3	6.85	3.86	2.84	5.43	3.2
Σ Saturated	41.5	40.44	41.41	44.01	47.13
Σ Mono	37.01	39.58	40.17	36.05	39.01
Σ n-6	10.95	12.7	13.55	10.94	9.39
Σ n-3	9.27	4.79	4.37	8.74	3.92
Σ n-3HUFA	9.27	4.79	2.9	8.74	4

Table 1-7 Fatty acid composition of the polar lipid from the whole-body at 20°C (Area %)

Fatty acid	L3:2C	L3:2	LSB	LFO	LTA
14:0	0.57	0.26	0.11	0.12	0.27
16:0	31.68	27.52	36.9	31.29	29.62
18:0	25.23	27.34	14.49	22.61	28.41
18:1	12.60	23.42	22.55	19.05	14.04
18:2n-6	0.64	0.61	0.21	2.64	1.39
20:1	0.15	0.64	0.63	0.22	3.65
20:4n-6	3.97	3.65	2.95	2.02	2.15
20:5n-3	1.87	3.68	1.56	1.86	3.65
22:5n-3	1.14	0.21	0	0.43	0
22:6n-3	18.67	9.37	9.42	11.78	14.24
ΣSaturated	57.48	55.12	51.5	54.02	58.3
ΣMono	12.75	24.06	23.18	19.27	17.69
Σn-6	4.61	4.26	3.16	4.66	3.54
Σn-3	21.68	13.26	10.98	14.07	17.89
Σn-3HUFA	21.68	13.26	10.98	14.07	17.89
Σn-3/total	22.5%	13.7%	12.4%	15.3%	18.4%
Σn-6/total	4.8%	4.4%	3.6%	5.1%	3.6%

Table 1-8 Fatty acid composition of the polar lipid from the whole-body at 25°C (Area %)

Fatty acid	H3:2C	H3:2	HSB	HFO	HTA
14:0	0.72	0.32	0.15	0.17	0.2
16:0	32.51	32.02	34.58	33.08	31.48
18:0	29.13	27.33	29.5	28.62	29.96
18:1	20.28	18.41	18.52	15.1	16.45
18:2n-6	0.28	0.32	0.23	2.81	0.93
20:1	0.33	0.87	0.67	0.43	5.83
20:4n-6	2.87	2.87	3.74	2.78	2.78
20:5n-3	1.33	0.93	1.26	2.15	1.34
22:5n-3	1.33	0.27	0	0.61	0
22:6n-3	11.22	13.37	8.97	12.67	10.18
Σ Saturated	62.36	59.67	64.23	61.87	61.64
Σ Mono	20.61	19.28	19.19	15.53	22.28
Σ n-6	3.15	3.19	3.97	5.59	3.71
Σ n-3	13.88	14.57	10.23	15.43	11.52
Σ n-3HUFA	13.88	14.57	10.23	15.43	11.52
14:0	0.72	0.32	0.15	0.17	0.2

Fig. 1-1. Average body weight of Kikuchii minnow(*Aphyocypris kikuchii*) fed with experimental diets for 6 weeks.

