

飼料中添加攝餌促進物質對烏魚稚魚成長及消化酵素活性之影響(I)

黃麗月、周麗梅、丁雲源

摘要

本試驗主要目的是研究飼料中添加攝餌促進物質對烏魚稚魚成長及消化酵素活性之影響。試驗飼料以魚粉及黃豆粉為蛋白源(粗蛋白質25%)，分別為加入1.5%、3.0%、4.5%三種含量之攝餌促進物質於飼料中。經七週飼育結果，對消化酵素活性之影響方面，烏魚消化道內蛋白酶、脂肪酶、澱粉酶活性有添加攝餌促進物質組高於不添加攝餌促進物質組；但統計分析結果只有鹼性蛋白酶及脂肪酶活性，有添加攝餌促進物質組顯著高於不添加組(除1.5%攝餌促進物質添加組外)。各組在增重率、總攝餌量、飼料效率方面有添加攝餌促進物質組顯著高於不添加攝餌促進物質組($P < 0.05$)，但不同攝餌促進物質添加量之組間(1.5%至4.5%之間)均無顯著差異，由以上結果顯示添加1.5%攝餌促進物質已可足夠達到促進烏魚成長的目的。

關鍵詞：烏魚、消化酵素、攝餌促進物質

前言

魚類的索餌及攝餌行動，除了受餌料產生之物理刺激引起反應外，也會對餌料所溶出成份引起化學反應(田村, 1977)，化學活性物質大都同時具有誘引和促進攝餌兩種性質，故此物質稱為攝餌促進物質。前人研究結果顯示極低濃度的胺基酸、核苷酸及甜菜鹼即可引起味覺神經的興奮(Yoshii *et al.*, 1979; Kanwal and Caprio, 1983)，同時亦有促進攝餌活動之效果(Johnstone, 1980)；但是有效的攝餌促進物質如胺基酸、核苷酸種類會隨魚種而異，且不同胺基酸、核苷酸種類及甜菜鹼互相之組合也有不同之促進或誘引作用；因此，魚類可

能依據本身自然生態中所熟悉之胺基酸、核苷酸及甜菜鹼組成，而有不同程度之喜好及誘引促進攝餌作用。滝井(1991a)曾指出alanine、glycine、proline等胺基酸混合物對鰻魚及虹鱒具有攝餌促進效果，而核苷酸關連物，特別是IMP對鰻魚、真鱈、嘉鱈等魚種具有攝餌促進效果，而甜菜鹼與多種胺基酸混合使用對豹斑河魨具有攝餌促進效果。有關飼料中添加攝餌促進物質以提高攝餌行為，促進消化與代謝機能，進而促使成長加速，在淡水魚、海水魚以及蝦類已有相關報告(竹田及滝井, 1987; 滝井等, 1984; Kumail *et al.*, 1989;

Kenji, 1991; Fredette *et al.*, 2000; Papatryphon and Soares, 2001; Liang *et al.*, 2001)。對於仔稚魚人工合成飼料添加攝餌促進物質以幫助攝餌、促進消化與代謝機能也有相關報告(Hofer, 1985; 滝井, 1991b)。在烏魚方面Goh and Tamura (1980)曾利用電生理學方法找出烏魚味覺對胺基酸反應強弱的順序, 依次為(alanine+betaine)、arginine、lysine、alanine、serine、betaine。黃等(1993)也以酪蛋白為主要蛋白源, 經14天飼育測定總攝餌量, 在八組試驗飼料中以 alanine、arginine、lysine、betaine 四種添加物混合為烏魚稚魚最適攝餌促進物質配方。近來由於烏魚養殖的盛行, 烏魚稚魚養成已成為大家所重視, 故本研究主要尋找飼料中添加攝餌促進物質最適量對烏魚稚魚有最好之成長, 並探討攝餌促進物質對烏魚稚魚消化分解酵素活性之影響。

材料與方法

本試驗利用110×60×60 cm³之FRP試驗水槽12個, 每個水槽分別注入20 ppt海水, 並放養2克烏魚之稚魚30尾。於室內進行養殖七週。飼料配方如Table 1, 以魚粉及脫脂黃豆粉為主要蛋白質來源, 麵粉及麵筋為碳水化合物及黏著劑的主要來源, 使粗蛋白質含量控制在25%左右, 並分別加入攝餌促進物質混合物為飼料重量之0%、1.5%、3.0%、4.5%等四種飼料, 每種飼料三重覆, 並以總攝餌量、增重率及飼料效率來評估其效果。

為瞭解攝餌促進物質對烏魚稚魚消化分解酵素活性之影響, 於試驗結束後, 每組隨意取出6尾烏魚消化道, 用

冰冷之生理食鹽水洗淨, 加入4至5倍冰冷去離子水(v/W)利用均質機磨碎, 於4°C下, 經10,000×g 10分鐘離心分離, 取上澄液即為粗酵素抽取液供酵素測定用。其酵素分析在酸性蛋白酶依據Chiou *et al.* (1989)方法以血色素(溶於pH 2.6醋酸鈉溶液)為受質, 於35°C反應20分鐘, 加入5%TCA終止反應, 於4°C下離心, 取上澄液於OD280測吸光值, 酵素比活性單位(units)以 ΔA /每分鐘/上澄液中毫克蛋白質表示。中性蛋白酶依據Maugle *et al.* (1982)方法以酪蛋白(溶於pH 7.5磷酸緩衝液)為受質, 於40°C反應30分鐘, 加入5%TCA終止反應, 於4°C下離心, 取上澄液於OD280測吸光值, 酵素比活性單位以1 μM tyrosine/每分鐘/上澄液中毫克蛋白質表示。鹼性蛋白酶依據Takii *et al.* (1992)方法以酪蛋白(溶於pH9.5硼酸溶液)為受質, 於30°C反應15分鐘, 加入10%TCA終止反應, 於4°C下離心, 取上澄液於OD280測吸光值, 酵素比活性單位以1 μM tyrosine/每分鐘/上澄液中毫克蛋白質表示。 α -澱粉酶依據Bernfeld (1955)方法以澱粉(溶於pH 6.7磷酸緩衝液)為受質, 25°C反應30分鐘, 加入2N NaOH終止反應, 再加入DNSA試劑, 熱水浴中煮沸5分鐘, 冷卻後以OD540測定吸光值, 酵素比活性單位以mg maltose/每分鐘/上澄液中毫克蛋白質表示。脂肪酶依據Monsan and Combs (1983)以對硝基苯月桂酸(*p*-nitrophenyl laurate)(溶於醋酸緩衝液)為受質, 37°C反應30分鐘, 加入丙酮終止反應, 以OD410測吸光值, 酵素比活性單位以1 μM p-nitrophenol/每分鐘/上澄液中毫克蛋白質表示。蛋白質定量依據Bradford (1976)方法測定。

最後以 one-way ANOVA 結果及 Duncan's test 分析各試驗組差異之顯著性。

Table 1. Formulation and composition of the experimental diets for mullet.

Ingredients (%)				
Fish meal	20	20	20	20
Soybean meal, defatted	17.3	17.3	17.3	17.3
Wheat flour	3	3	3	3
α -starch	25	25	25	25
Corn gluten meal	2	2	2	2
Rice barn	18	18	18	18
Fish oil	1.5	1.5	1.5	1.5
Lecithin	1.5	1.5	1.5	1.5
Vitamin mix ¹	3	3	3	3
Mineral mix ²	5	5	5	5
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2
Soybean oil	3.5	3.5	3.5	3.5
Feeding attractant				
Alanine	0	253	506	759
Arginine	0	496	992	1488
Lysine	0	416	832	1248
Betaine	0	334	668	1002
Attractant contains (%)	0	1.5	3.0	4.5

1. Vitamine mix: Per kg contains VitA 2,000,000 IU, Vit D₃ 400,000 IU, Vit E 20,000 IU, Vit K₃ 2000 mg, Thiamine mononitrate 2000 mg, Riboflavin 5000 mg, Pyridoxine Base 2000 mg, Vit B₁₂ 10 mg, Pantothenic acid 10,000 mg, Niacin 15,000 mg, Folic acid 500 mg, Ascorbic acid 20,000 mg, Inositol 30,000 gm.

2. Mineral mix: Per kg contains NaH₂PO₄·2H₂O 308.05 g, Ferric citrate 14.85 g, α -cellulose 682.98 g.

結果

本試驗經七週飼育結果如 Table 2，在總攝餌量方面，以 4.5% 攝餌促進物質添加組最高為分別為 224.2 g，最差為不添加組僅為 155.9 g，經統計分析，不同攝餌促進物質添加量組間均無顯著差異，但有添加攝餌促進物質組總攝

餌量均顯著高於不添加攝餌促進物質組 ($P < 0.05$)。飼料效率方面，以 1.5% 攝餌促進物質添加組最高為 32.8%，最差為不添加組僅 27.5%，統計分析結果不同攝餌促進物質添加量組間其飼料效率均無顯著差異，但有添加攝餌促進物質組飼料效率均顯著高於不添加攝

餌促進物質組 ($P < 0.05$)。在增重率方面，以1.5 %攝餌促進物質添加組最高為192.3%，最差為不添加組僅106.9%，經統計分析結果有添加攝餌促進物質組增重率顯著高於不添加組 ($P < 0.05$)，但由各不同添加量之組間無顯著差異，即添加1.5%攝餌促進物質已可足夠達到促進烏魚成長的目的。

本試驗為究明添加攝餌促進物質對烏魚稚魚消化酵素活性之影響，試驗係採餵飼料後 2.5小時的烏魚稚魚消化道，分析各組間蛋白酶、澱粉酶、脂肪酶比活性之差異，所得結果如Table 3。各組中性蛋白酶比活性(單位表示為增加1 μM tyrosine/每分鐘/每毫克腸蛋白)，以3.0%攝餌促進物質添加組最高為362，最差為不添加組僅274，但各組間統計上無顯著差異。鹼性蛋白酶比活性(單位表示為增加1 μM tyrosine/每分鐘/每毫克腸蛋白)，以3.0%攝餌促進物質添加組最高為145，最差為不添加組

僅114；經統計分析結果，有添加攝餌促進物質組除1.5%攝餌促進物質添加組外，其餘兩組均顯著高於不添加組 ($P < 0.05$)。酸性蛋白酶比活性(單位表示為 ΔA /每分鐘/每毫克腸蛋白)，以4.5%攝餌促進物質添加組最高為136.5，最差為不添加組僅84.3，各組間酸性蛋白酶比活性隨攝餌促進物質添加量之增加而增加，但並無顯著差異 ($P > 0.05$)。對澱粉酶比活性(單位表示為增加mg maltose/每分鐘/每毫克腸蛋白)而言，以3.0%攝餌促進物質添加組的5.4最高，最差為4.5%攝餌促進物質添加組僅4.4，經統計分析各組無顯著差異。對脂肪酶比活性而言，以3.0%攝餌促進物質添加組最高為2.9(1 μM *p*-nitrophenol/每分鐘/每毫克腸蛋白)，最差為不添加組2.1，有添加攝餌促進物質組除1.5%攝餌促進物質添加組外，其餘兩組均顯著高於不添加組 ($P < 0.05$)。

Table 2. Growth and feed performance of mullet fed different levels attractant supplementation (%) diets.

Feeding attractant (%)	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Total intake (g)	Weight gain (%)	Feed efficiency (%)
0	1.95±0.04	4.05±0.05	155.93±5.07 ^b	106.86±6.71 ^b	27.46±1.62 ^b
1.5	1.93±0.01	5.63±0.33	216.62±8.79 ^a	192.33±18.63 ^a	32.82±2.19 ^a
3.0	1.95±0.06	5.48±0.49	215.15±21.08 ^a	181.16±16.3 ^a	31.17±0.08 ^a
4.5	1.92 ±0.02	5.46±0.08	224.2±13.19 ^a	184.65±3.23 ^a	32.03±0.83 ^a

Values in each column having the same superscript are insignificantly different ($P > 0.05$).

討論

本試驗主要以魚粉及脫脂黃豆粉為主要蛋白質來源(粗蛋白質含量控制在25 %左右)，麵粉及麵筋為碳水化合物及黏著劑的主要來源，經七週試驗結

果，發現飼料添加攝餌促進物質可增加總攝餌量、飼料效率及增重率。飼料添加攝餌促進物質以促進成長已有相關報告，如Takii *et al.* (1984)在幼鰻飼料中添加四種胺基酸與UMP混合物作為攝

Table 3. Specific digestive enzyme activities in mullet fed different levels attractant supplementation (%) diets

Feeding attractant (%)	Neutral protease	Alkaline protease	Acidic Protease ($\times 10^{-5}$)	Amylase	Lipase
0	274±23 ^b	114±4 ^b	84±43 ^a	4.58±0.37 ^a	2.08±0.31 ^b
1.5	290±29 ^{ab}	119±7 ^b	105±19 ^a	4.60±0.33 ^a	2.03±0.23 ^b
3.0	362±52 ^{ab}	145±6 ^a	129±27 ^a	5.43±0.71 ^a	2.93±0.51 ^a
4.5	322±93 ^b	122±21 ^a	136±57 ^a	4.38±1.33 ^a	2.65±0.48 ^a

Values in each column having the same superscript are insignificantly different ($P > 0.05$).

餌促進物質，經八週飼育結果發現添加攝餌促進物質組可提高增重率、飼料效率及總攝餌量，並且可增加魚體蛋白質及脂肪蓄積率。滝井(1991c)以鯖魚、虎河魴、真鯰等魚為對象，Papatryphon and Soares (2001)以條紋鱸、Fredette *et al.* (2000)以比目魚及Xue and Cui (2001)以鯉魚為對象，發現飼料中添加攝餌促進物質均可增加增重率、飼料效率及總攝餌量。又，Kumai *et al.* (1989)以虎河魴為對象魚種，經21天飼育結果發現飼料中添加攝餌促進物質會提高虎河魴攝餌量及飼料效率，以上結果與本試驗結果相吻合。另經統計分析結果有添加攝餌促進物質組增重率、飼料效率顯著高於不添加組($P < 0.05$)，且各不同添加量組之間無顯著差異，故自經濟考量，則添加1.5%攝餌促進物質已可足夠達到促進烏魚成長的目的。

烏魚稚魚飼料中添加攝餌促進物質其攝餌率及飼料效率均較無添加組好，這或許因飼料添加攝餌促進物質而間接增加食物之美味，進而促進其食欲增加攝餌率，並促進消化酵素活性之增加。竹田及滝井(1987)指出攝餌促進物

質導致其攝餌量提高是因經神經傳導所致，Takii *et al.* (1986)認為可能是因荷爾蒙作用間接促進消化液分泌而導致魚體內有效的利用營養素或身體營養物積存所致。Kumai *et al.* (1989)發現虎河魴飼料含攝餌促進物質的飼料組會促進肝胰臟分泌胰蛋白酶；Takii *et al.* (1986)亦發現幼鰻飼料含攝餌促進物質(L-alanine、glycine、L-histidine、L-proline and UMP)飼料與對照組比較，攝餌促進物質組可促進胃腺分泌胰蛋白酶。竹田及滝井(1987)探討鰻魚配合飼料中攝餌促進物質之添加效果，發現飼料之好呈味不僅提高攝餌活性，而且透過神經系統提高其酵素活性進而更有效的增進營養份之消化吸收。本試驗結果烏魚消化道內蛋白酶、脂肪酶、澱粉酶活性有添加攝餌促進物質組高於不添加攝餌促進物質組；經統計分析，有添加攝餌促進物質之鹼性蛋白酶及脂肪酶均顯著高於不添加組(除1.5%攝餌促進物質添加組外)，故攝餌促進物質所呈現美味之化學感覺能刺激促進攝餌量提高，進而誘發烏魚體內消化酵素活性之提高，致使有很好的飼育成績及

効果。

参考文献

- 田村 保、羽生 功 (1977) 感覚。在：魚類生理概論(田村 保編)。恆星社厚生閣，東京，日本，pp. 211-265。
- 竹田正彦、滝井健二 (1987) ウナギ飼料への攝餌促進物質添加効果。養殖，24(3): 108-112。
- 滝井健二、竹田正彦、中尾嘉弘 (1984) ウナギ稚魚の摂餌活動および成長に及ぼす飼料への摂餌促進添加の影響。日本水産学会誌，50: 1039-1043。
- 滝井健二 (1991a) 養殖魚の摂餌促進物質とその應用-1. 摂餌促進物質の意義と同定方法。養殖，28(5): 120-123。
- 滝井健二 (1991b) 養殖魚の摂餌促進物質とその應用-2. 餌料生物に含まれる摂餌促進物質の活性。養殖，28(6): 120-123。
- 滝井健二 (1991c) 養殖魚の摂餌促進物質とその應用-3. 配合飼料、種苗生産への應用。養殖，28(7): 120-123。
- 黃麗月、周麗梅、何雲達 (1993) 飼料中添加攝餌促進物質對烏魚成長的影響。台灣省水產試驗所82年度試驗工作報告，pp. 301-309。
- Bernfeld, P. (1955) Amylase. In *Methods in enzymology, Vol. I* (S. P. Colowick and N. O. Kaplan, eds.), Academic Press, New York, pp. 149-158.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248 -254.
- Chiou, T. K., T. Matsui and S. Konosu (1989) Proteolytic activities of mullet and Alaska pollack roes and their changes during processing. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 805-809.
- Fredette, M., J. Batt and J. Castell (2000) Feeding stimulant for juvenile winter flounders. *N. Am. J. Aquacult.*, 62: 157-160.
- Goh, Y. and T. Tamura (1980) Olfactory and responses to amino acids in two marine teleosts-red sea bream and mullet. *Comp. Biochem. Physiol.*, 66C: 217-224.
- Hofer R. (1985) Effects of artificial diets on the digestive processes of fish larvae. In *Nutrition and Feeding in Fish* (C. B. Cowey, A. M. Mackie and J. G. Bell, eds.). Academic Press, London, pp.213-216
- Johnstone, A. D. F. (1980) The detection of dissolved amino acids by the Atlantic cod, *Gadus morhua*. *J. Fish Biol.*, 17: 219-230.
- Kanwal, J. S. and J. Caprio (1983) An electrophysiological investigation of the oro-pharyngeal (IX-X) taste system in the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Comp. Physiol.*, 50A: 345-357.
- Kumai, H., I. Kimura, M. Nakamura, K. Takii and H. Ishida (1989) Studies on digestive system and assimilation of a flavored diet in ocellate puffer. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55:1035-1043.
- Kenji. N. (1991) Effects of diet supplemented dimethyl-B-propiothetin on growth and thrust power of goldfish, carp and red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 673 -679.

- Liang, M., Q. Chang and A. Aksnes (2001) Identification of feedings for shrimp. *Mar. Fish. Res.*, 22(4): 71-74.
- Maugle P. D., O. Deshimaru, T. Katayama and K. L. Simpson (1982) Characteristic of amylase and protease of the shrimp *Penaeus japonicus*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48: 1753-1757.
- Monsan P. and D. Combes (1983) Effect of water activity on enzyme action and stability. In *Enzyme engineering, Vol. 7* (A. I. Laskin, ed.). New York Academy of Science, New York, pp. 48-60.
- Papatryphon, E. and J. Soares (2001) The optimizing the levels of feeding stimulants for use in high-fish meal and plant feedstuff-based diets for striped bass, *Morone saxatilis*. *Aquaculture*, 202: 279-288.
- Takii, K., M. Takeda and Y. Nakao (1984) Effects of supplement of feeding stimulants to formulated feeds on feeding activity and growth of juvenile eel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50: 1039-1043.
- Takii, K., S. Shimeno, M. Takeda and S. Kamekawa (1986) The effect of feeding stimulants in diet on digestive enzyme activities of eel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52: 1449-1454.
- Takii, K., M. Nakamura, O. Takaoka, S. Furuta and H. Kumai (1992) Some enzyme activities of red sea bream, from larvae just after hatching to juveniles. *Suisanzoshoku*, 40: 291-296.
- Xue, M. and Y. Cui (2001) Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*), fed diets with or without partial replacement of fish meal by meat and bone meal. *Aquaculture*, 198: 281-292.
- Yosii, K., N. Kamo, K. Kurihara and Y. Kobatake (1979) Gustatory responses of eel palatine receptors to amino acids and carboxylic acids. *J. Gen. Physiol.*, 74: 301-317.

Effects of dietary attractant supplementation on the growth and digestive enzyme activities in mullet, *Mugil cephalus* (I)

Lie-Yueh Hwang, Lie-Mei Joe and Yun-Yuan Ting

Abstract

The objectives of this experiment were to study the effects of feeding attractant supplementation on the growth and digestive enzyme activities in mullet, *Mugil cephalus*. The fish meal and soybean meal were used as protein source in basal diets (25 % crude protein). Three inclusion levels were tested for feeding attractant (1.5%, 3.0% and 4.5%). The enzyme activities of protease, lipase and amylase in the group fed with the diets with feeding attractant group were higher than that of diets without feeding attractant. Except the 1.5% feeding attractant group, the attractant group had significantly higher alkaline protease and lipase activities in digestive tract than the diet without adding any attractant ($P < 0.05$). Mullet reared on the attractant diets for 7 weeks showed significantly high weight gain, total intake and feed efficiency compared with the diet without adding any attractant ($P < 0.05$). There is no significant improvement on growth among 1.5%, 3.0% and 4.5% level of supplemental feeding attractant, hence, for less cost, 1.5% is suggested.

Key words: *Mugil cephalus*, Digestive enzyme, Feeding attractant.