团 体 标 准

《桑叶饲用技术规程 草鱼》

编制说明

《桑叶饲用技术规程 草鱼》团标制定组

二〇二五年二月

目 次

.

[一、 任务来源 3](#_Toc192019689)

[二、 编制目的和意义 3](#_Toc192019690)

[三、 编制原则和依据 5](#_Toc192019691)

[四、 标准编制过程 5](#_Toc192019692)

[4.1 准备阶段 6](#_Toc192019693)

[4.2 编制阶段 6](#_Toc192019694)

[4.3 主要编制人员分工 7](#_Toc192019695)

[五、 国内外有关标准现状 7](#_Toc192019696)

[六、 标准编写学术依据 7](#_Toc192019697)

[七、 采用的国际标准 19](#_Toc192019698)

[八、 重大分歧意见的处理经过和依据 19](#_Toc192019699)

[九、 标准作为强制性或推荐性标准的意见 19](#_Toc192019700)

[十、 与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系 19](#_Toc192019701)

[十一、问题与建议 19](#_Toc192019702)

[十二、贯彻标准的要求和措施建议 20](#_Toc192019703)

[十三、废止现行有关标准的建议 20](#_Toc192019704)

[十四、其他应予说明的事项 20](#_Toc192019705)

1. **任务来源**

我国每年进口大豆1亿吨左右，蛋白饲料资源短缺是长期制约我国畜牧业可持续发展的瓶颈。木本源饲料具有蛋白含量高、生物量大、功能成分丰富等优势，开发利用饲料桑新型蛋白饲料资源，形成饲料豆粕减量替代新方案，是实现畜牧业高质量发展的重大需求。在此背景下，国家十四五科技项目“木本源新型蛋白饲料加工与高效转化技术”（2022YFD1300900）立项。项目聚焦木本源饲料植物丰产技术体系不完善、加工工艺待优化、功能物质挖掘不充分、饲用不精准等突出问题，通过科学问题解析、关键技术攻关和集成示范，建立节本降损、提质增效的木本源饲用产品加工及畜禽精准高效利用全产业链，提升我国木本源饲料产业综合效益和竞争力，践行“大食物观”，服务乡村振兴和“双碳”战略。

为了更好的推广应用十四五科技项目“木本源新型蛋白饲料加工与高效转化技术”（2022YFD1300900）各项科研成果，规范化使用饲料桑新型蛋白饲料资源，中国农业科学院农业基因组所委托北京华夏草业产业技术创新战略联盟编制《桑叶饲用技术规程 草鱼》团体标准，进而实现对饲料企业、桑叶种植加工企业和农村地区群众利用桑叶饲料饲喂草鱼提供技术指导和服务，推动非常规饲料资源桑叶产业的规范化、科学化发展。

1. **编制目的和意义**

饲料是养殖业的基础，约占养殖成本的70%。2022年我国粮食中的谷物、豆粕以及粮食加工副产品饲用消费达39190万吨，占粮食消费总量48 %，高于33 %的食用和17%的工业用消费占比，养殖业饲粮需求庞大。但作为主要饲料原料的玉米和豆粕，在我国的生产量远不及需要量。据联合国粮食与农业组织（FAO）统计，2021年国内玉米产量达到2.72亿t，同年国内进口玉米3270万t，创历史新高；2021年国内大豆进口量9912万t左右，同年大豆总产量为1640万t，仅为进口量的16%。伴随养殖业的快速发展，动物对粮食饲料的需求量不断增加，常规饲料原料供给量相对减少，进口依赖性大，人与动物争粮矛盾越来越突出，开发利用非常规饲料资源有利于缓解该局面，以确保动物生产的可持续性，已成为养殖业可持续健康发展的重要课题。针对豆粕短缺问题，我国开展了饲用豆粕减量替代工作，豆粕在饲料消耗中占比呈逐年下降趋势，饲用豆粕用量逐年减少，统筹利用可替代优质蛋白饲料资源也亟待解决。

水产养殖业被认为是世界上发展速度最快、规模最大的产业之一，对世界经济的贡献举足轻重。水产是动物性优质蛋白的重要来源，17 %的动物性蛋白来自水产养殖，预计到2025年需要增加水产饲料3.7×107 kg，到2030年水产养殖产量达1×108 kg（联合国粮农组织FAO）。随着树立大食物观中“向江河湖海要食物”的提出，越来越多的人开始聚焦于水产养殖业。水产养殖每生产1 kg干物质消耗的饲料仅为畜禽蛋奶类的1/2-1/5，发展水产养殖可在增加水产动物性蛋白供给的同时，降低粮食资源的消耗。在水产动物中，当前的草鱼饲养以人工配合饲料为主，且蛋白质的主要来源是豆粕和鱼粉。蛋白质是维持鱼类正常生理活动的基础营养物质，它提供的氨基酸和部分肽参与鱼类的生长、体蛋白沉积和组织蛋白代谢更新，及用于构成激素和酶催化或调节基本生理活动。水产配合饲料中蛋白质原料以豆粕、棉粕和菜籽粕等植物性原料为主。然而，鱼类饲料中的主要蛋白源豆粕面临着来源不足、价格上涨等问题，另一方面，大豆含有多种抗营养因子，过量使用会损害草鱼健康。近年来，高密度、集约化的水产养殖模式的推广以及养殖规模的不断扩大，鱼类的产量持续增加，养殖产量的增加意味着对饲料的需求加大，在全球饲料原料资源愈发紧缺、价格不断攀升的大背景下，寻找新的原料来源替代鱼粉、豆粕等饲料原料已成为动物营养学界共同研究的课题。我国蛋白质饲料资源丰富，种类繁多，但仍存在蛋白质饲料短缺的问题。蛋白质作为鱼类生长所必需的营养素，在鱼类饲料中所占比例最大，随着蛋白质资源短缺，鱼类养殖成本进一步提高。加快非常规饲料原料营养价值评价与应用，可进一步降低水产饲料对粮食类饲料资源的需求。因此，在保证鱼类健康和生产的前提下，需尽可能避免饲粮中蛋白质浪费，精准供给和加快开发非常规饲料资源势在必行。

桑叶是传统的家蚕饲料，其营养成分全面，具有较高的蛋白质营养价值和富含生物活性物质，可作为养殖业的非常规饲料资源，开发潜力和利用价值极大，且桑叶作为动物饲料的安全性已经得到验证。此外，桑叶具有产量高、适口性好等特点，能够提高动物生产性能及动物产品品质，降低饲料成本和提高动物免疫力，是优良的动物饲料，可刈割鲜食或饲喂干桑叶，有利于缓解我国饲料来源压力。而且我国丰富的桑叶资源使桑叶饲料商品化生产成为可能。

开发及合理利用桑叶不仅可以有效缓解常规饲料资源的不足、降低生产成本并增强动物的机体健康、提升动物产品的品质，而且能够解决资源浪费问题、增加农民收入、改善环境、促进饲料加工业的发展，促使养殖业朝着良性循环发展，走可持续发展路线。

1. **编制原则和依据**

按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写》的要求和规定编写本标准内容。

本系列标准的编制原则是对桑叶饲料化利用相关行业所产生的桑叶饲料配方和饲喂技术规程进行明确的限定，同时充分结合国内现阶段桑叶饲用现状，桑叶相关的理论知识和桑叶在实际生产中的应用，确保相关术语、评价指标及技术工艺的科学性、先进性和适用性。

（1）范围明确

制定一系列桑叶饲料化利用技术规程，需要基于我国饲用桑叶原料、桑叶饲料产品及其加工、饲喂利用现状，研究适合现阶段我国桑叶产业具体情况的术语及技术规程。

（2）科学先进

调查分析现阶段桑叶饲料化利用现状，科学合理地确定相关术语及技术规程，做到准确、规范、合理，系统全面地涵盖桑叶饲料化利用的主要环节。

1. **标准编制过程**

该标准由中国农业科学院农业基因组研究所提出后，成立了由中国农业科学院农业基因组研究所组成的标准起草组，于2024年11月获北京华夏草业产业技术创新战略联盟立项，开展标准的编制工作。

本项目开展之前，标准的主要起草人王勇生、袁号天开展了大量的文献查阅工作，了解了国内外关于饲料桑在水产动物中的应用现状，并实施开展了饲料桑叶饲喂草鱼的试验，为本团标的制定奠定了科学基础。

标准的主要起草人杨富裕教授已对木本饲料加工技术相关内容开展了多年研究工作，发表了多篇学术论文。《优质饲草青贮调制及成型产品加工技术研发》、《贵州务川县杂交构树产业技术开发》等优质饲草料加工技术等有关项目的研究，并负责牵头于2019年1月公开发布了8个构树团体标准。这些前期工作的积累，为保证项目的顺利进行奠定了基础。

**4.1准备阶段**

（1）2024年5月，标准提出单位成立项目标准编制工作组，由相关方面的专家和专业人员组成，确定编制组成员。

（2）2024年6月-9月，组建科研团队，开展了饲料桑叶饲喂草鱼的试验。

（3）2024年8月至2024年9月，文献调研阶段。标准制定团队认真研究该领域内一切相关的资料。搜集资料的主要类型包括：法律、法规、标准等权威性文献；教科书、科学论文、科技期刊等学术团体普遍公认的文献；小册子、报告等常见的，但未必得到公认的资料；术语数据库；术语词汇集、辞典、百科全书、叙词表；工作组成员和有关专家所提供的口头或书面资料。

（4）2024年9月至2024年10月，实地企业走访调研阶段。项目专家团队、项目成员赴各地桑叶饲用试点企业调研、指导共计10余人次。王勇生、袁号天调研了广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所国家蚕桑产业技术体系蚕蛹加工岗位科学家，广东杰大饲料科技有限公司，广东省特种水产功能饲料工程技术研究中心，广东清远锦潭水产有限公司，中粮饲料（佛山）有限公司，广东省农业科学院动物科学研究所水产营养研究室等，杨富裕教授多次前往广西然泉农业科技有限公司、山东丰唐生态农业科技有限公司等等。在与相关企业对接后，项目团队专家获得了相关的一手资料，为本标准更加科学的制定提供了技术支撑。

（5）数据收集整理

为更好契合生产实际，提高标准的应用性，项目在科研实验以及专家指导的企业生产实验的基础上，先后在《[动物营养学报](http://kns.cnki.net/kns/NaviBridge.aspx?bt=1&DBCode=CJFD&BaseID=DWYX&UnitCode=&NaviLink=%e5%8a%a8%e7%89%a9%e8%90%a5%e5%85%bb%e5%ad%a6%e6%8a%a5)》、《中国科学院院刊》、《[饲料工业](http://kns.cnki.net/kns/NaviBridge.aspx?bt=1&DBCode=CJFD&BaseID=FEED&UnitCode=&NaviLink=%e9%a5%b2%e6%96%99%e5%b7%a5%e4%b8%9a)》、《黑龙江畜牧兽医》、《养殖与饲料》、《中国饲料》、《中国畜禽种业》、《水生生物学报》等国内外期刊杂志搜集相关科学实验文献数据，并整理、评价了文献资料，经项目团队筛查，进一步论证和调整标准中相关数据。

**4.2编制阶段**

2024年11月，项目专家团队按GB/T 1.1-2020的制定程序和编写要求《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写》，对收集到的资料进行汇总。

2024年12月，项目专家组内多次进行研讨，确定标准的框架和主要内容，并于2025年1月编制形成标准草案稿。

拟与2025年4月，召开专家论证会，进行专家论证，征求专家意见。

**4.3主要编制人员分工**

本系列标准主要起草人有王勇生、袁号天、杨富裕。

本系列标准起草过程中，杨富裕教授主要构思了系列标准的整体框架，王勇生教授主要负责查阅相关文献资料及编制《桑叶饲用技术规程 草鱼》标准文本，袁号天负责开展了饲料桑叶饲喂草鱼的科学试验。

1. **国内外有关标准现状**

目前，本项目所提出的标准，基于科学实验及产业现状，并参考或借鉴了《GB/T 17715-1999 草鱼》、《GB/T 36205-2018 草鱼配合饲料》、《DB13/T 1028-2009 无公害食品 草鱼苗种池塘养殖技术规范》、《T/CFIAS 8003-2022 草鱼低蛋白低豆粕多元化日粮生产技术规范》、《DB13/T 895-2007 无公害食品 草鱼成鱼池塘养殖技术规范》等相关现有标准。

1. **标准编写学术依据**

6.1 桑叶在水产饲料中的应用研究进展

桑树几乎在我国各地均有分布，特别是在江浙、四川、广东、山东等地大面积种植，因此桑叶资源十分丰富。 然而，近年来我国东部蚕区养蚕业已大为萎缩，比如浙江湖州仅有30%左右的桑叶被用于饲养家蚕，除部分被用作反刍动物青（贮）饲料外，大量的桑叶资源未得到利用。为此，亟需转变种桑养蚕的单一模式，以提高桑叶的资源利用效率。当前，将桑叶粉用作养殖动物配合饲料的原料已成为提高桑叶资源利用效率的重要途径之一。桑叶粉的蛋白质（氨基酸）含量、必需脂肪酸含量、矿物质含量和可代谢能等相对较高，具有良好的饲用营养价值。同时，桑叶粉还含有多种生物活性物质，具有显著的降脂、降糖、抗氧化及清除自由基等作用。

桑叶粉作为饲料原料直接用于养殖鱼类配合饲料的研究已有报道。钱文春等（2022）研究表明，草鱼摄食桑叶粉质量分数为2%、4%和5%的饲料后鱼体增重和饲料系数与摄食不含桑叶粉的饲料组均无显著差异，而饲料中桑叶粉用量进一步提高，草鱼的体增重显著降低，饲料系数显著升高；草鱼摄食含15%和20%桑叶粉的饲料后全鱼粗脂肪含量显著下降，肌肉中的粗脂肪含量 均随饲料中桑叶粉用量增加而呈下降趋势；饲料中桑叶粉质量分数为4%或更高时草鱼血清葡萄糖水平显著降低；饲料中添加桑叶粉不影响草鱼的成活率和鱼的体型指数，包括肥满度、脏体指数和肝体指数。 总之，草鱼饲料中桑叶粉的适宜添加量为2%～5%，如果草鱼饲料中桑叶粉质量分数超过5%，会使鱼的生长速度减慢，饲料系数提高。在金鲳鱼饲粮中分别添加0.0%、2.0%、4.0%、6.0%和8.0%的桑叶，饲养8周，结果表明，桑叶与多酶预混料对金鲳鱼幼鱼的生长、消化、脂质代谢和抗病性均有促进作用，研究人员给出最佳的替代比例为：在配方饲料中添加4%～6%的桑叶（Ning等，2021）。与此同时，将发酵桑叶含量分别为0.0%、2.0%、4.0%、6.0%和8.0%的5种饲料投喂金鲳鱼，结果显示，在金鲳鱼幼鱼配合饲料中，最佳发酵桑叶添加量为4.0%（Ning等，2022）。Hou等（2019）以桑叶粉分别替代0%、6.3%、12.6%、18.9%、25.2%和31.5%的鱼粉，配制6种不同水平的等氮等能饲粮饲养鲤鱼，结果表明桑叶粉促进肝脏载脂蛋白的表达，促进胆固醇转运的逆转，从而降低血液中胆固醇含量；激活了鱼的脂肪酸氧化能力，但抑制了fabp1的表达，可能导致游离脂肪酸的积累；还可能通过抑制脂肪细胞的分离和增殖，降低肝脏脂质含量。Saheli等（2019）以发酵桑叶粉代替鱼粉的0%、25%、50%和75%，配制4种等蛋白质、等脂质、等能的饲料饲喂鲫鱼和鲶鱼8周，结果表明淀粉酶活性和后续碳水化合物的利用是影响发酵桑叶粉替代鱼粉被利用的关键因素。Mondal, K.等（2015）发现含有鱼杂粉（Fish-offal meal, FOM）和桑叶粉（MLM）的发酵混合物作为蛋白质补充剂，对幼鲤的生长有利。

抗营养因子会导致动物生长不良和饲料利用效率低下。竹炭具有良好的吸附能力，可以与抗营养因子结合，减少其在胃肠道中的吸收，是一种经济的饲料补充剂。Linghong Miao等（2020）结果表明，对转基因改良罗非鱼（GIFT）饲喂添加竹炭添加剂的桑叶粉是可以行的，饲料中添加30 %桑叶粉和0.4 %竹炭对GIFT幼鱼的生长性能、血脂代谢、抗氧化和抗病能力均有一定的改善作用，桑叶粉和竹炭添加剂的添加水平对GIFT幼鱼的生长性能和非特异性免疫力具有联合作用。外源酶制剂添加可以降低桑叶中粗纤维水平和抗营养因子水平，从而提高桑叶营养价值，且添加外源酶制剂发酵桑叶饲喂带来的有益效果优于普通发酵桑叶（Ning等，2022）。Lijun Ning等（2021）表明日粮桑叶与多酶（植酸酶、木聚糖酶、纤维素酶）预混料对金鲳幼鱼的生长性能、降脂和增强免疫力具有一定的作用，饲料中桑叶添加量为6.0 %、多酶预混料添加量为1.3 %时，鱼体生长性能最佳，消化酶活性最高；饲料中桑叶添加量为4.0 %，多酶预混料添加量为1.3 %时，鱼体对哈维氏弧菌的抗病性最好。

桑叶中含有丰富的生物活性成分，其释放会受到不同处理技术的影响。在Xuelian Tang等（2022）的试验中，与对照组和添加10 %桑叶粉的鱼相比，桑叶水提取物和醇提物组的尼罗罗非鱼均表现出更好的生长性能和肠道形态，血清中的抗氧化活性和酸性磷酸酶ACP水平得到提高，免疫细胞因子的表达有所增加，但在饲料中添加10%桑叶乙醇提取物可以更好提高尼罗罗非鱼的生长速度和健康水平。Yexin Wei等（2023）采用超微粉碎（MG）、破壁（MB）、水提-甲醇沉淀法（ME）对桑叶进行处理，结果表明桑叶添加可以提高大口黑鲈的生长性能（特定生长率和增重率）；改善肝糖原、血脂和甘油三酯的水平（显著降低血糖和血清总胆固醇TC、极低密度脂蛋白VLDL和甘油三酯TG水平）；显著降低肝细胞凋亡，改善肝脏组织结构，且MB组的效果优于其他组。此外，与对照组相比，MB处理可以上调肝脏中gpx和cat的表达，提高抗氧化酶（GSH-Px、CAT）的活性；抑制肝脏中促炎细胞因子（TNFα和IL-8）的表达，上调了抗炎细胞因子（IL-10和TGF-β）的表达。Wenqiang Jiang等（2022）也指出，饲料中桑叶粉可以增强团头鲂的抗炎反应，这与抑制TLR4 / NF-κB信号通路有关。此外，MB还可以通过限制革兰氏阴性和可能危险的细菌的发展来减少肠道菌群失调。

在鱼类养殖过程中，长期投喂配合饲料会导致鱼类体内脂肪积累、免疫力下降等问题。因此，鱼类上市之前降低鱼类脂肪及血糖含量、提高鱼类品质，同时不影响其正常生长十分重要。正常情况下，SOD主要清除氧自由基，减轻或避免自由基和脂质过氧化物对动物机体造成的损伤，而CAT将SOD清除活性氧时产生的过氧化氢（H2O2）转化为水（H2O），保护机体免受损伤。预防性给予发酵桑叶能够增加高脂血症罗非鱼血清SOD和CAT活性以及CAT/SOD，降低血清MDA含量（沈黄冕等，2016）。桑叶存在降脂和降血糖的作用，这可能与其提高机体抗氧化能力、抑制脂质过氧化反应和改善脂质代谢功能有关，且适宜添加量可以促进鱼类生长。桑叶的降脂作用主要体现显著降低血清甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白含量。桑叶的降脂作用对改善鱼类肝脏健康具有重要意义。Zhi-Cheng Xv等（2021）以大口黑鲈为动物模型，证明了桑叶具有通过调节肝脏脂肪生成和糖代谢来减轻肝损伤以及减少肝脏脂质积累的能力，并认为桑叶有望成为治疗肝病的潜在或替代药物。这与丁国玉等（2019）关于草鱼的实验中，添加发酵桑叶对草鱼肝脏的影响相同。Qirui Hou等（2020）试验结果表明，鲤鱼饲料中一半的鱼粉可被桑叶粉替代，且无肝毒性；MLM可以促进肝脏apo-a1的表达，从而促进胆固醇转运的逆转，降低血液中的胆固醇；可以提高鲤鱼脂肪酸氧化的能力，但抑制了fabp1的表达，可能导致游离脂肪酸的积累；MLM组apoa4低表达，不能激活脂蛋白脂酶（lipoprotein lipase, LPL），这和脂肪酸的转运受阻共同影响了血液中甘油三酯的降解；MLM降低肝脏脂质含量可能是通过抑制脂肪细胞的分裂和增殖实现的。沈黄冕等（2016）指出发酵桑叶能剂量依赖性地降低高脂血症罗非鱼的血脂、血糖水平，这与钱文春等（2022）和高胜男等（2017）结论相同。在鱼类上市方面，肉质也是备受关注的点。桑叶可以通过显著提高草鱼肌肉中蛋白质、肌苷酸、风味氨基酸和不饱和脂肪酸等营养物质和风味物质的含量、减缓肌肉pH的下降速度，降低滴水损失、延缓肌肉的脂质氧化等方法改善肌肉品质。

6.2 桑叶在水产饲料中应用的适宜添加水平

桑叶在水产饲料中的应用研究在草鱼、大口黑鲈、罗非鱼、金鲳鱼、团头鲂、鲫鱼、金鲳、尼罗罗非鱼、大鲵、鲫鱼、鲤鱼等都已有报道（见表1）。不同的作者选择的鱼种不同，建议的合适添加水平不同。在草鱼中有建议为2%-5%为适宜（钱文春等，2022），也有建议不超过9%（刘家星等，2018），对于体重比较大的建议10%最好，不超过20%没有不良影响（周东来等，2021）。Hou等（2019）以桑叶粉分别替代0%、6.3%、12.6%、18.9%、25.2%和31.5%的鱼粉，配制6种不同水平的等氮等能饲粮饲养鲤鱼，结果表明试验设置的代替水平均可满足鲤鱼的生长，并建议代替一半的鱼粉都是可行的。

表1 桑叶在不同品种类型鱼类饲料中的添加水平

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 桑叶添加量 | 合适的量 | 鱼初重 | 鱼品种 | 参考文献 |
| 0%、5%、10%、15%、20% | 2%-5% | 108g | 草鱼 | 钱文春等（2022） |
| 0%、2%、4%、6%、8% | 2%-5% | 58g | 　钱文春等（2022） |
| 0%、2.5%、5.0%、7.5%、10.0% | 不超过7.5% | 15.01±0.12g | 草鱼 | 丁国玉等（2019） |
| 3%-5% |  | 550g左右（成鱼后期） | 草鱼 | 黄传书等（2019） |
| 0%、5%、10% | 5% | 2-2.215kg | 草鱼 | 马恒甲等（2013） |
| 0%、5%、10%、15%、20% | 10%最好，不超过20%，没有不良影响 | 1112.06±83.19 g | 草鱼 | 周东来等（2021 |
| 0%、3%、6%、9% | 6%-9% |  | 草鱼 | 孙清华等（2021） |
| 0%、3%、6%、9%、12% | 6%、9%均可，9%最好 | 55±4.5g | 草鱼 | 刘家星等（2018） |
|  | 添加量为4%、超微效果最好 | 8.72±0.03g | 大口黑鲈 | Yexin Wei 等（2023） |
| 提取物10%、20%、40% | 10%乙醇提取 | 8.34±0.05g | 罗非鱼 | Xuelian Tang 等（2022） |
| 0%、2%、4%、6%、8% | 4% | 9.02±0.03g | 金鲳鱼 | Lijun Ning等（2022） |
| 0%、桑粉和发酵桑粉（2.22%、4.44%） | 2.22%发酵桑叶粉、促进生长性能并增强抗炎反应/4.44%发酵桑叶粉降血脂、肝脏抗氧化 | 20.25±0.24g | 团头鲂 | Wenqiang Jiang等（2022） |
| 0%、5%、10%、15%、20% | 5% | 27.35±0.30g | 鲫鱼 | Wenjuan Zhu等（2021） |
| 0%、2%、4%、6%、8% | 4%-6%，1.3%多酶预混料 | 9.02 ± 0.03g | 金鲳 | Lijun Ning 等（2021） |
| 1、3、5g/kg（1%、3%、5%） | 5 g / kg（5%） | 33 ± 0.26 g | 尼罗罗非鱼 | Neamat-Allah Ahmed 等（2021） |
| 3、6、9、12、15g/kg |  计算得出，8.21 和 8.30 g/kg 风干饲料 | 28.33±0.42g | 大鲵 | Zhanfu Li等（2020） |
| 0、15、30、60、90、120g/kg（0、1.5、3、6、9、12%） |  46.93 和 57.21 g/kg  | 7.09±0.17g | 鲫鱼 | Huatao Li等（2020） |
| 0、6.3、12.6、18.9、25.2、31.5% | 设置的水平都可以，替代一半鱼粉也是可行的 | 18.02 ± 0.03 g | 鲤鱼 | Qirui Hou等（2020） |

6.3桑叶对草鱼生长及血清指标的影响

6.3.1 试验材料及方法

6.3.1.1 试验材料

干桑叶采购于河南省商丘市睢阳区世超苗木种植农民专业合作社，营养成分见表2。

表2 桑叶营养水平（风干基础,%）

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 含量 Content |
| 干物质DM | 99.93 |
| 粗蛋白质CP | 17.80 |
| 粗脂肪EE | 4.46 |
| 粗纤维CF | 9.44 |
| 粗灰分Ash | 12.30 |

6.3.1.2 试验日粮

干桑叶粉碎过325目筛，其他原料粉碎过60目筛。配制基础饲料（CK）和4种分别添加3 %、6 %、9 %、12 %（豆粕与超微粉碎桑叶粉的饲料占比之和一定）超微粉碎桑叶的处理组饲料。除对照组外，所有处理组饲料中添加等量植酸酶（1 000 IU/kg）、纤维素酶（1 800 IU/kg）、果胶酶（1 200 IU/kg）、木聚糖酶（4 050 IU/kg）和葡聚糖酶（5 400 IU/kg），酶活力基于饲料质量计算。微量成分采取逐级扩大法添加，饲料原料用混合机混合均匀，加适量水在搅拌机中搅拌均匀，用DGP-60C型饲料膨化机（邢台巨驰机械制造有限公司）制粒，粒径为2.00 mm，自然冷却风干后置于-20℃冰箱中保存备用。饲料组成及营养水平见表3。

表3饲料组成及营养水平（风干基础,%）

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 含量 Content |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| 原料 Ingredients |  |  |  |  |  |
| 桑叶 Mulberry leaves | 0.00  | 3.00  | 6.00  | 9.00  | 12.00  |
| 棉籽粕 Cottonseed meal | 6.20  | 4.82  | 3.43  | 2.04  | 0.65  |
| 大豆粕 Soybean meal | 30.60  | 27.60  | 24.60  | 21.60  | 18.60  |
| 酪蛋白 Casein | 6.33  | 7.89  | 9.46  | 11.03  | 12.60  |
| 纤维素Cellulose | 3.94  | 3.84  | 3.73  | 3.63  | 3.52  |
| 酒糟Distiller dried grains with solubles | 4.00  | 4.00  | 4.00  | 4.00  | 4.00  |
| 鱼粉Fish meal | 12.60  | 12.60  | 12.60  | 12.60  | 12.60  |
| 玉米淀粉 Corn starch | 7.00  | 7.00  | 7.00  | 7.00  | 7.00  |
| 大豆油 Soybean oil | 4.83  | 4.75  | 4.68  | 4.60  | 4.53  |
| 磷酸二氢钙 Ca(H₂PO₄)₂ | 2.00  | 2.00  | 2.00  | 2.00  | 2.00  |
| 氯化胆碱 C5H14NOCl | 0.50  | 0.50  | 0.50  | 0.50  | 0.50  |
| 面粉 Wheat flour | 21.00  | 21.00  | 21.00  | 21.00  | 21.00  |
| 预混料 Vitamin and mineral premix1) | 0.90  | 0.90  | 0.90  | 0.90  | 0.90  |
| 多酶 Multi-enzyme | 0.00  | 0.10  | 0.10  | 0.10  | 0.10  |
| 沸石粉 Zeolite powder | 0.10  | 0.00  | 0.00  | 0.00  | 0.00  |
| 合计 Total | 100.00  | 100.00  | 100.00  | 100.00  | 100.00  |
| 营养水平 Nutrient levels2) |  |  |  |  |  |
| 干物质DM | 91.10  | 91.44  | 91.78  | 92.12  | 92.46  |
| 粗蛋白质CP | 33.50  | 33.50  | 33.50  | 33.50  | 33.50  |
| 粗脂肪EE | 7.00  | 7.00  | 7.00  | 7.00  | 7.00  |
| 粗纤维CF | 7.15  | 7.00  | 6.86  | 6.71  | 6.57  |
| 粗灰分Ash | 5.86  | 5.98  | 6.09  | 6.21  | 6.32  |
| 总磷P | 1.25  | 1.23  | 1.21  | 1.18  | 1.16  |
| 赖氨酸Lys | 2.00  | 2.00  | 2.00  | 2.00  | 2.00  |

注：1）维生素预混料为每千克饲料提供：维生素B1 20.00 mg，核黄素20.00 mg，维生素B6 12.00 mg，维生素B12 0.15 mg，维生素K3 12.00 mg，肌醇300.00 mg，泛酸60.00 mg，烟酸70.00 mg，叶酸10.00 mg，生物素1.00 mg，维生素A 8 000.00 IU，维生素D3 2 000.00 IU，维生素E 100.00 mg，维生素C 500.00 mg，乙氧基喹啉200.00 mg，脱脂米糠535.00 mg；矿物质预混料为每千克饲料提供：氯化钾250.00 mg，碘化钾（1.00 %）80.00 mg，六水氯化钴（1.00 %）70.00 mg，五水硫酸铜40.00 mg，一水硫酸亚铁500.00 mg，一水硫酸锌500.00 mg，一水硫酸锰200.00 mg，五水亚硒酸钠（1.00 %）70.00 mg，一水硫酸镁2 500.00 mg，沸石粉3 790.00 mg；

2）营养水平均为计算值。

6.3.1.3 试验设计及饲养管理

草鱼采购于广东省广州市的私人鱼苗养殖场。养殖试验在佛山市现代渔业科技园的池塘中进行，养殖方式为网箱（1.35\*1.35\*2.45m）养殖。草鱼用对照组饲料暂养14天，禁食24 h，将800尾草鱼（8.45±0.17 g）随机分为5组，每组4个重复，每个重复40尾鱼。禁食24 h，连续投喂试验饲料60天，每天于8:30至9:00和17:00至17:30投喂两次（日投鱼体质量的2~5 %，饱食）。试验期间养殖水体24 h充氧，水温保持27 ± 2 ℃，溶氧量约为>5 mg/L，pH为7.5 ~ 8.5，氨氮＜0.2 mg/L。光照周期为广东佛山自然光照周期。

6.3.2 样品采集及指标测定

6.3.2.1 生长性能和形体指标

饲养期间记录采食量、死亡鱼尾数及体重，饲养试验结束后，鱼体饥饿24 h，称终末体重，计算摄食量、成活率、增重率、特定生长率、饲料系数和蛋白质效率。每个重复随机取3尾鱼麻醉（MS-222溶液，100 mg/L）测定体长与体重，计算肥满度；分离内脏、肝胰腺、肠道、脾脏进行称重，用于器脏体指数、肝体指数、肠体指数和脾体指数计算。计算公式如下：

（1）成活率（survival rate, SR, %）= 100 × *Nt*/ *N0*

（2）增重率（weight gain rate, WGR, %）= 100 × (*Wt*- *W0*) / *W0*

（3）摄食量（feed intake, FI, g/尾）=*F* / [(*Nt* + *N0*) / 2]

（4）特定生长率（specific growth rate, SGR, %/ d）= 100 × (ln*Wt* - ln*W0*) / *t*

（5）饲料系数（feed conversion ratio, FCR）= *F* / (*Wt*- *W0*)

（6）蛋白质效率（protein efficiency ratio, PER, %）= 100 × (*Wt*- *W0*) / (*F* × *C*)

（7）肥满度（condition factor, CF, g / cm3）= *Wt* / *L3*

（8）脏体指数（viscera-somatic index, VSI, %）= 100 × *Wv* / *Wt*

（9）肝体指数（hepatopancreas-somatic index, HSI, %）= 100 × *Wh* / *Wt*

（10）肠体指数（intestine somatic index, ISI, %）= 100 × *Wi* / *Wt*

（11）脾体指数（spleen somatic index, SSI, %）= 100 × *Ws* / *Wt*

注：t表示养殖天数；*Wt*表示鱼终末体重（g）；*W0*表示鱼初重（g）；*F*表示投喂饲料总重（g）；*C*表示饲料蛋白含量；*Nt*表示试验末鱼总尾数；*N0*表示试验初鱼总尾数；*L*表示鱼体长（cm）；*Wv*为内脏重（g）；*Wh*表示肝脏重（g）；*Wi*表示肠道重（g）；*Ws*表示脾脏重（g）。

6.3.2.2 血清指标

每个重复随机取6尾鱼，麻醉后用1 mL注射器从尾静脉采血，血样放于1.5 mL离心管中（约0.5 mL），室温静置30 min，离心（4℃, 3 000 r/min, 10 min）分离血清，混合每个重复的血清，保存在- 80℃冰箱中备用。

6.3.2.2.1 血清生化指标

用全自动生化分析仪（URIT-8021A，优利特）检测葡萄糖（glucose, GLU）、总胆固醇（total cholesterol, TC）、甘油三酯（triglyceride, TG）、高密度脂蛋白胆固醇（high density lipoprotein cholesterol, HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（low density lipoprotein cholesterol, LDL-C）、白蛋白（albumin, ALB）、总蛋白（total protein, TP）、谷草转氨酶（aspartate transaminase, AST）、谷丙转氨酶（cereal third transaminase, ALT）和尿素氮（blood urea nitrogen, BUN）含量。试剂盒购于上海液质检测技术有限公司，测定方法严格按照试剂盒说明书执行。

6.3.2.2.2 血清免疫指标

采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附测定法（ELISA）测定补体3（complement 3, C3）、补体4（complement 4, C4）和免疫球蛋白M（immunoglobulin M, IgM）含量，试剂盒购于上海液质检测技术有限公司。用比浊法检测溶菌酶（lysozyme, LZM）含量，试剂盒购于南京建成生物工程研究所。用全自动生化分析仪（URIT-8021A，优利特）检测碱性磷酸酶（alkaline phosphatase, AKP）和酸性磷酸酶（acid phosphatase, ACP）含量，试剂盒购于上海液质检测技术有限公司。测定方法严格按照试剂盒说明书执行。

6.3.2.2.3 血清抗氧化指标

采用微量法检测以下指标：总抗氧化能力（total antioxidant capacity, T-AOC）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）、丙二醛（malondialdehyde, MDA）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase, GSH-Px）。试剂盒购于上海液质检测技术有限公司，测定方法严格按照试剂盒说明书执行。

6.3.2.3 肠道组织结构分析

每个重复随机取3尾鱼，取中后肠样本，切片样本生理盐水洗净后用4%多聚甲醛固定；消化酶活性样本和肠道微生物样本经液氮速冻后保存在- 80℃冰箱中备用。肠道组织在4%多聚甲醛溶液中固定24 h后，将其从固定液中取出，按照常规步骤进行修整、脱水、透明、包埋、切片、染色和封片制作肠道组织石蜡切片，并根据切片和染色效果选取切片镜检。在显微镜下观察肠绒毛形态特征并拍照，使用Image-Pro Plus 6.0软件（Media Cybemetics, USA），统一以毫米作为标准单位，分别测量5处测量绒毛高度、绒毛宽度和肠壁厚度，并计算平均值。

6.3.2.4 肠道消化酶

肠道组织的α-淀粉酶、胰蛋白酶和脂肪酶（LPS）活性检测试剂盒购于上海液质检测技术有限公司，测定方法严格按照试剂盒说明书执行。

6.3.3 数据统计与分析

试验结果保留两位小数，数据使用Excel 2016、SPSS 27.0软件进行统计与分析，主要方法为单因素方差分析（one-way ANOVA）、Welch检验、Duncan’s检验法多重比较和Dunnett’s T3检验法多重比较，结果用平均值±标准误（Mean ± SEM）表示，P<0.05表示存在显著差异。

6.3.4 结果与分析

6.3.4.1 桑叶对草鱼生长指标的影响

如表4所示，3%、6%和9%组草鱼的肝体比显著低于CK组（*p <* 0.05），与12%组无显著差异。此外，除肝体比外，其他指标组间差异均不显著。

表4 桑叶对草鱼生长性能和形体指标的影响

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 分组 groups |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| 初始体重（IBW, g） | 8.45±0.15 | 8.45±0.13 | 8.45±0.14 | 8.45±0.17 | 8.45±0.17 |
| 终末体重（FBW, g） | 82.69±3.96 | 73.35±1.74 | 73.80±2.04 | 80.63±1.99 | 75.89±5.17 |
| 摄食量（FI, g/尾） | 83.01±0.26 | 83.82±0.76 | 83.01±0.26 | 83.54±0.26 | 83.28±0.53 |
| 增重率（WGR, %） | 878.63±46.90 | 768.05±20.55 | 773.37±24.19 | 854.18±23.52 | 798.09±61.14 |
| 存活率（SR, %） | 99.38±0.63 | 97.50±1.77 | 99.38±0.63 | 98.13±0.63 | 98.75±1.25 |
| 肥满度（CF, g / cm3） | 0.88±0.08 | 0.97±0.03 | 1.06±0.04 | 1.02±0.01 | 1.01±0.01 |
| 特定生长率（SGR, %/ d） | 3.78±0.08 | 3.60±0.04 | 3.61±0.05 | 3.76±0.04 | 3.63±0.11 |
| 饲料系数（FCR） | 1.16±0.07 | 1.30±0.04 | 1.28±0.04 | 1.16±0.03 | 1.29±0.10 |
| 蛋白质效率（PER, %） | 266.98±14.25 | 233.38±6.24 | 235.00±7.35 | 259.55±7.15 | 242.51±18.58 |
| 脏体比（VSI, %） | 12.77±1.49 | 10.67±1.04 | 10.35±1.00 | 11.37±0.33 | 10.81±1.09 |
| 肝体比/%（HSI, %） | 1.97±0.25a | 1.00±0.10b | 0.98±0.11b | 1.11±0.08b | 1.23±0.12ab |
| 肠体比/%（ISI, %） | 5.11±0.81 | 3.31±0.33 | 3.43±0.36 | 3.55±0.40 | 3.39±0.53 |
| 脾体比（SSI, %） | 0.35±0.05 | 0.29±0.04 | 0.26±0.05 | 0.40±0.07 | 0.20±0.02 |

a, b同一行中不同的上标表明组间存在显著性差异（*p* < 0.05）

a, b Different superscripts in the same row indicate a significant difference between groups (*p* < 0.05)

6.3.4.2 桑叶对草鱼血清生化指标的影响

如表5所示，所有桑叶组血清BUN含量组间差异显著且均高于CK组（*p <* 0.05），Glu、TG、TC含量显著低于CK组（*p <* 0.05）。与CK组相比，AST活性在3%和6%组显著降低，在9%和12%组显著升高（*p <* 0.05）。此外，3%和9%组ALT活性显著低于CK组（*p <* 0.05），与其他组无显著差异；6%、9%和12%组LDL-C含量显著高于CK和3%组（*p <* 0.05）；6%和12%组LDL-C含量显著低于CK、3%和9%组（*p <* 0.05）；3%、9%、12%组TP和ALB含量显著高于CK组和6%组（*p <* 0.05）。

表5 桑叶对草鱼血清生化指标的影响

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 分组 groups |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| BUN (mg/L) | 8.56±0.19e | 14.73±0.17c | 13.47±0.17d | 17.12±0.52b | 19.20±0.45a |
| ALT (U/L) | 8.00±0.00a | 4.25±0.48b | 6.25±0.48ab | 5.50±0.29b | 7.25±0.75ab |
| AST (U/L) | 138.50±2.10b | 100.00±1.29c | 101.25±0.95c | 146.00±1.68a | 148.75±1.80a |
| Glu (mmol/L) | 10.07±0.22a | 7.50±0.05d | 7.97±0.05c | 8.22±0.10c | 9.21±0.10b |
| TG (mmol/L) | 1.67±0.00a | 1.49±0.00d | 1.61±0.00c | 1.56±0.02bcd | 1.53±0.00b |
| HDL-C (mmol/L) | 3.14±0.05a | 2.99±0.01a | 2.72±0.02bc | 2.80±0.01b | 2.68±0.01c |
| LDL-C (mmol/L) | 2.09±0.10ab | 1.82±0.03b | 1.40±0.02c | 1.67±0.02a | 1.45±0.01c |
| TP (g/L) | 22.00±0.11c | 24.20±0.30a | 21.50±0.17c | 23.55±0.21b | 23.58±0.11b |
| TC (mmol/L) | 5.24±0.08a | 4.83±0.06b | 4.12±0.04d | 4.53±0.02c | 4.16±0.02d |
| ALB (g/L) | 9.45±0.03c | 10.05±0.06a | 9.33±0.06c | 9.80±0.11b | 10.03±0.03a |

a-e同一行中不同的上标表明组间存在显著性差异（*p* < 0.05）

a-e Different superscripts in the same row indicate a significant difference between groups (*p* < 0.05)

6.3.4.3桑叶对草鱼血清免疫指标的影响

如表6所示，桑叶组的C3、C4和LZM含量显著高于CK组，AKP活性显著低于对照组（*p <* 0.05）。此外，6%和12%组的ACP活性低于其他组，3%、9%和12%组IgM含量显著高于CK和6%组（*p <* 0.05）。

表6桑叶对草鱼血清免疫指标的影响

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 分组 groups |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| IgM (μg/mL) | 129.27±2.30b | 156.61±5.57a | 154.23±6.06ab | 164.28±0.78a | 165.90±5.34a |
| C4 (μg/mL) | 162.57±3.12b | 184.09±1.02a | 182.55±3.76a | 191.08±2.79a | 188.39±4.98a |
| C3 (μg/mL) | 100.92±1.44c | 128.61±1.47a | 116.97±2.10b | 130.56±1.60a | 129.15±2.40a |
| LZM (μg/mL) | 0.19±0.00c | 0.22±0.00ab | 0.22±0.00b | 0.23±0.00ab | 0.23±0.00a |
| AKP (U/L) | 82.75±1.11a | 79.25±1.38b | 68.25±0.85c | 77.25±0.75b | 61.25±1.38d |
| ACP (U/L) | 81.25±2.56a | 76.50±0.65ab | 70.00±1.87b | 75.25±1.70ab | 58.25±3.20c |

a-d同一行中不同的上标表明组间存在显著性差异（*p* < 0.05）

a-d Different superscripts in the same row indicate a significant difference between groups (*p* < 0.05)

6.3.4.4 超微粉碎桑叶联合多酶对草鱼血清抗氧化指标的影响

如表7所示，桑叶组GSH-Px含量和SOD活性显著低于CK组（*p <* 0.05）。与CK组相比，3%的T-AOC增加，9%和12%组的T-AOC降低（*p <* 0.05）；6%组MDA含量增加，3%、9%和12%组MDA含量降低（*p <* 0.05）。

表7 桑叶对草鱼血清抗氧化指标的影响

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 分组 groups |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| GSH-Px (nmol/min/mL) | 84.64±0.64a | 28.36±0.41d | 59.36±0.55bc | 57.33±0.70c | 59.55±1.02b |
| T-AOC (U/mL) | 13.53±0.23b | 14.68±0.16a | 13.47±0.36b | 9.60±0.14d | 10.82±0.17c |
| MDA (nmol/mL) | 2.01±0.04b | 1.56±0.02d | 2.29±0.04a | 1.49±0.01d | 1.72±0.03c |
| SOD (U/mL) | 53.27±1.35a | 42.70±0.58b | 43.70±1.18b | 42.54±0.64b | 41.16±0.92b |

a-d同一行中不同的上标表明组间存在显著性差异（*p* < 0.05）.

a-d Different superscripts in the same row indicate a significant difference between groups (*p* < 0.05)

6.3.4.5桑叶对草鱼肠道形态的影响

如表8所示，各组间的绒毛宽度无显著差异。与CK组相比，6%的绒毛高度显著增加（*p <* 0.05），所有桑叶组的肠壁厚度显著降低（*p <* 0.05）。此外，6%组的绒毛高度显著高于9%和12%组（*p <* 0.05）。正对照组、无鱼粉低磷低脂组和无鱼粉低磷低脂+酶组的肠道组织切片见图1。

表8桑叶对草鱼肠道组织形态的影响

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 分组 groups |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| 绒毛高度1)（μm） | 0.62±0.01b | 0.65±0.02ab | 0.80±0.05a | 0.58±0.06b | 0.54±0.07b |
| 绒毛宽度2)（μm） | 0.19±0.03 | 0.17±0.02 | 0.18±0.02 | 0.21±0.01 | 0.18±0.03 |
| 肠壁厚度3)（μm） | 0.13±0.00b | 0.20±0.02a | 0.18±0.01a | 0.19±0.02a | 0.19±0.01a |

a, b同一行中不同的上标表明组间存在显著性差异（*p* < 0.05）

a, b Different superscripts in the same row indicate a significant difference between groups (*p* < 0.05)

1）绒毛高度，Villus height；2）绒毛宽度，Villus width；3）肠壁厚度，Intestinal wall thickness



A: CK组; B: 3%组; C: 6%组; C: 9%组; C: 12%组。

图1 肠道组织切片

6.3.4.6桑叶对草鱼肠道消化酶的影响

如表9所示，6%、9%和12%的胰蛋白酶活性显著高于6%和CK组（*p <* 0.05）。与CK组相比，所有桑叶组的脂肪酶活性显著增加（*p <* 0.05），且脂肪酶活性在6%组最低，12%组最高。α-淀粉酶活性在12%组显著高于CK组（*p <* 0.05），在其他桑叶组均显著低于CK组（*p <* 0.05）。在桑叶组中，α-淀粉酶活性随着桑叶的添加量而增强（*p <* 0.05）。

表9 桑叶对草鱼肠道消化酶的影响

|  |  |
| --- | --- |
| 项目 Items | 分组 groups |
| CK | 3% | 6% | 9% | 12% |
| 胰蛋白酶（U/g） | 2.31±0.05d | 6.80±0.08a | 2.33±0.05d | 4.46±0.08c | 4.77±0.06b |
| 脂肪酶（U/g） | 1.66±0.03e | 6.97±0.11c | 2.49±0.04d | 7.46±0.09b | 8.80±0.10a |
| α-淀粉酶（U/g） | 1.16±0.01b | 0.37±0.00e | 0.59±0.00d | 0.94±0.01c | 1.59±0.03a |

a-e同一行中不同的上标表明组间存在显著性差异（*p* < 0.05）

a-e Different superscripts in the same row indicate a significant difference between groups (*p* < 0.05)

1. **采用的国际标准**

无。

1. **重大分歧意见的处理经过和依据**

无。

1. **标准作为强制性或推荐性标准的意见**

推荐性标准。

1. **与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系**

本标准的编制参照现行国家强制性标准、检测方法标准，以及国内外相关资料，与这些文件中的规定不存在矛盾，协调一致。

1. **问题与建议**

建议农业农村部、科技部、国家林草局设立专项基金，加深桑叶饲料化利用相关研究，系统研究解决有关问题，为大力推广桑叶作为非粮高蛋白饲料利用打下基础。

1. **贯彻标准的要求和措施建议**

组织学习国家标准，加大对标准的宣传及贯彻力度，标准委员会作为企业之间的桥梁，做好沟通，推进行业的进一步发展。

1. **废止现行有关标准的建议**

无。

1. **其他应予说明的事项**

无。