

实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响

林仕梅 麦康森 谭北平

(中国海洋大学,教育部海水养殖重点实验室 青岛 266003)

摘要:以奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 为实验材料,在室内循环玻璃水族箱内分别饲喂含蛋氨酸为 0.45%、0.50%、0.55%、0.60%和 0.65%的等能等氮的实用饲料(胱氨酸为 0.52%),日投喂率为体重的 4%—8%,每日人工投饲三次,探讨实用饲料中添加结晶 D 蛋氨酸(0.00%、0.05%、0.10%、0.15%和 0.20%)对奥尼罗非鱼生长以及体组成的影响。结果表明:实用饲料中补充结晶 D 蛋氨酸,罗非鱼的瞬间增长率(SGR)、饲料系数(FCR)、蛋白沉积率(APR)和肝脂含量均得到明显改善($p < 0.05$)。蛋氨酸 0.50%水平显著提高了血清蛋氨酸的含量($p < 0.05$),但是对体蛋白含量和鱼体氨基酸含量均无显著影响($p > 0.05$)。结晶蛋氨酸能够被罗非鱼有效利用,是补充饲料蛋白质的一种有效途径。

关键词:罗非鱼;D 蛋氨酸;生长

中图分类号: S963.73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2008)05-0741-09

蛋氨酸(Methionine, Met)是水生动物的必需氨基酸, Met在体内可直接参与蛋白质的合成,也可通过转化成半胱氨酸间接参与蛋白质的合成^[1],且已确定了部分水生动物对 Met的需要量^[2]。Met还是合成胆碱的前体, Kasper, et al. 研究发现,当饲料中 Met缺乏时,尼罗罗非鱼对胆碱的需求量增加^[3]。饲料中 Met缺乏时,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[4,5]、杂交狼鲈(*Morone saxatilis* × *M. chrysops*)^[6]主要表现为生长抑制和易患白内障。在以植物蛋白源(如豆粕、花生粕和椰子粕等)为主的饲料中, Met是第一限制性氨基酸^[7,8],当在饲料中补充适量的 Met,可明显改善养殖鱼的生长状态^[9,10]。

但是,关于鱼类是否能有效利用饲料中结晶氨基酸的理论至今还存在着争议。奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)是我国南方的主养经济鱼类,也是我国重要的加工出口产品。近年来,由于饲料原料(尤其动物蛋白源)价格波动较大,导致罗非鱼养殖效益降低,甚至亏本。许多配方师力求通

过添加大量植物蛋白源来降低饲料配方成本,往往造成饲料中蛋氨酸缺乏。因此,本实验从蛋氨酸添加成本和饲料氨基酸平衡两方面进行综合考虑,研究在以植物蛋白源为主的饲料配方中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长的影响具有一定的学术意义和生产实用价值。

1 材料与方法

1.1 试验饲料 在实用饲料配方的基础上,分别添加结晶 D 蛋氨酸(0.00%、0.05%、0.10%、0.15%和 0.20%),组成 5 种含蛋氨酸为 0.45%、0.50%、0.55%、0.60%和 0.65%的等能等氮(粗蛋白 32%,总能 15.8 kJ/g)实用饲料(胱氨酸为 0.52%)。试验饲料蛋氨酸增减用谷氨酸(Glu)等氮代替,试验饲料成分(表 1)。饲料原料均粉碎过 40 目筛,饲料调制温度为 80℃,分别制成 Φ 1.5 mm 的硬颗粒饲料。60℃烘干后,保存于 -15℃冰柜中备用。

收稿日期: 2006-09-01;修订日期: 2007-08-28

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(编号: 2001BA505B-06, 2004BA526B-06)资助

作者简介: 林仕梅(1970—),男,四川广元人;博士,副教授;主要从事水产动物营养与饲料的研究。E-mail: linsm198@163.com

通讯作者: 麦康森, E-mail: kmcai@ouc.edu.cn

表 1 试验饲料配方及营养组成
Tab. 1 Formulation and proximate chemical composition of trial diets (% dry matter)

试验组 Groups	1	2	3	4	5
鱼粉 Fish meal	5	5	5	5	5
豆粕 Soybean meal	17	17	17	17	17
花生麸 Peanut meal	5	5	5	5	5
菜籽粕 Rapeseed meal	23	23	23	23	23
棉籽粕 Cottonseed meal	17	17	17	17	17
次粉 Wheat middlings	18.11	18.11	18.11	18.11	18.11
玉米 Com meal	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5
豆油 Soybean oil	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷脂油 Lecithin	1	1	1	1	1
复合多矿 mineral premix ¹	3	3	3	3	3
复合多维 Vitamin premix ²	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
氯化胆碱 Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
防霉剂 Mold inhibitor ³	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
抗氧化剂 Ethoxyquin	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
D蛋氨酸 D-methionine(98%)	—	0.05	0.10	0.15	0.20
谷氨酸 Glumatic acid	0.20	0.15	0.10	0.05	—
营养成分 % Proximate analysis					
粗蛋白 Crude protein (% DM)	31.9	32.1	31.8	32.3	31.9
粗脂肪 Crude lipid (% DM)	3.41	3.38	3.42	3.41	3.40
蛋氨酸 Methionine (%)	0.45	0.50	0.55	0.60	0.65
赖氨酸 Lysine (%)	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38

¹无机盐配方 (mg or g/kg diet): KCl, 200mg; KI (1%), 60mg; CoCl₂ · 6H₂O (1%), 7mg; CuSO₄ · 5H₂O, 14mg; FeSO₄ · H₂O, 400mg; ZnSO₄ · H₂O, 200mg; MnSO₄ · H₂O, 80mg; Na₂ SeO₃ · 5H₂O (1%), 65mg; MgSO₄ · 7H₂O, 3000mg; Ca (H₂ PO₄)₂ · H₂O, 20g; NaCl, 136mg; 沸石粉, 5.84g; ²维生素配方 (mg or g/kg diet): 维生素 B₁, 12mg; 核黄素, 5mg; 维生素 B₆ (盐酸吡哆醇), 6mg; 维生素 B₁₂, 0.05mg; 维生素 K₃, 5mg; 肌醇, 100mg; 维生素 B₃ (泛酸), 30mg; 烟酸, 35mg; 叶酸, 2mg; 生物素 0.06mg; 维生素 A, 25mg; 维生素 D₃, 5mg; 维生素 E, 40mg; 维生素 C, 500mg; 乙氧基喹啉, 150mg; 小麦粉, 14.09g; ³50%丙酸钙和 50%富马酸

¹Mineral premix (mg or g/kg diet): KCl, 200mg; KI (1%), 60mg; CoCl₂ · 6H₂O (1%), 7mg; CuSO₄ · 5H₂O, 14mg; FeSO₄ · H₂O, 400mg; ZnSO₄ · H₂O, 200mg; MnSO₄ · H₂O, 80mg; Na₂ SeO₃ · 5H₂O (1%), 65mg; MgSO₄ · 7H₂O, 3000mg; Ca (H₂ PO₄)₂ · H₂O, 20g; NaCl, 136mg; Zoelite, 5.84g; ²Vitamin premix (mg or g/kg diet): thiamin, 12mg; riboflavin, 5mg; pyridoxine HCl, 6mg; vitamin B₁₂, 0.05mg; vitamin K₃, 5mg; inositol, 100mg; pantothenic acid, 30mg; niacin acid 35mg; folic acid, 2mg; biotin, 0.06mg; retinol acetate, 25mg; cholecalciferol, 5mg; alpha-tocopherol, 40mg; ascorbic acid, 500mg; ethoxyquin 150mg, wheat middling 19.09g; ³50% calcium propionic acid and 50% fumaric acid

1.2 饲养和管理 试验罗非鱼苗为当年培育,取自广东茂名三高鱼种场,平均体重 (4.18 ±0.04) g。试验鱼放养在室内循环流水玻璃钢水族箱 (有效体积 400L) 中,每箱放 30 尾,水源为曝气自来水。试验鱼适应环境 2 周后,称重,开始投喂试验饲料,日投喂率为体重的 4%—8%,每天于 8: 00、12: 00 和 17: 00 投喂三次。每两周称重 1 次,调整投饲量。每天早上清除箱内粪便,并换水 1/3。饲养时间为 60d。试验期间水温为 (28.6 ±0.7) , pH 值为 7.26 ±0.3,溶解氧为 (6.20 ±0.6) mg/L,氨氮为

(0.06 ±0.007) mg/L。
1.3 样品制备及测定 饲养实验结束,鱼禁食 1d 后称重,每箱取 3 尾鱼作全鱼样品;每箱取 3 尾鱼的肌肉和肝胰脏作样品;每箱取 3 尾鱼于静脉窦取血,静置 2h,以 10000 r/min 的转速离心 10min,得到空腹血清样品,置 -20℃ 冰箱待用。
饲料原料及鱼体样品均在 105℃ 烘干至恒重,然后进行生化测定。采用凯氏定氮法测定样品的总氮含量,将测定结果乘以 6.25 即得粗蛋白含量,粗脂肪含量采用索氏抽提法,粗灰分含量采用高温

(550)灰化法测定^[11]。饲料氨基酸含量、鱼体氨基酸含量和血清游离氨基酸含量采用日立 835-50 氨基酸分析仪。

1.4 数据处理 采用 SPSS 11.0 for Windows对所数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA),若存在显著差异,则应用 Tukey多重比较法确定组间差异,显著性水平 $p < 0.05$ 。

2 结 果

2.1 蛋氨酸对罗非鱼生长的影响

经过 60d的正式养殖试验,得到罗非鱼的生长试验结果 (表 2)。结果表明,添加 D 蛋氨酸的

各试验组罗非鱼的 SGR、FCR和 APR均优于对照组 ($p < 0.05$)。D 蛋氨酸 0.10%组罗非鱼的 SGR均显著高于 0.05%、0.15%和 0.20%三个组 ($p < 0.05$)。但 D 蛋氨酸 0.10%组罗非鱼的 FCR 最低,其次为 0.15%和 0.20%组,以 0.05%组最高。罗非鱼的 APR 在 D 蛋氨酸 0.10%、0.15%和 0.20%三个组间差异不显著 ($p > 0.05$),但均显著高于 0.05%水平 ($p < 0.05$)。生长试验期间,各试验组罗非鱼的成活率均在 95%以上,组间差异不显著 ($p > 0.05$)。试验结束时,对各试验组分别取样 20尾进行性别鉴定,发现试验罗非鱼的雄性比率均在 96%以上。

表 2 试验分组及养殖试验结果 (平均数 ±标准误)
Tab.2 Growth performance of hybrid tilapia fed diets with graded levels of D - methionine for 56 days (Means ±S. E. M)¹

Diet No. (MET)	Diet 1 (0.00% Met)	Diet 2 (0.05% Met)	Diet 3 (0.10% Met)	Diet 4 (0.15% Met)	Diet 5 (0.20% Met)
初始尾均重 Initial body weight (g)	4.18 ±0.02	4.21 ±0.02	4.15 ±0.01	4.16 ±0.01	4.20 ±0.03
结束尾均重 Final body weight (g)	25.06 ±0.20	29.76 ±0.77	31.97 ±0.61	30.36 ±0.60	30.71 ±0.64
瞬间增长率 ² Specific growth rate (% /d)	3.21 ±0.018 ^c	3.49 ±0.015 ^b	3.64 ±0.015 ^a	3.56 ±0.023 ^b	3.53 ±0.018 ^b
饲料系数 ³ Feed conversion ratio	1.88 ±0.012 ^a	1.71 ±0.017 ^b	1.56 ±0.009 ^d	1.61 ±0.013 ^c	1.63 ±0.018 ^c
蛋白质沉积率 ⁴ Apparent protein retention (%)	29.05 ±0.32 ^c	33.09 ±0.54 ^b	35.91 ±0.38 ^a	35.74 ±0.38 ^a	36.12 ±0.24 ^a
成活率 Survival	96.7	100	98.3	100	100
雄性比率 Male ratio (%)	98.3	100	100	96.7	97.8

¹表中所给数据为平均数及 3个重复的标准误;表中不同的上标字母标是差异显著 ($p < 0.05$),下同;²瞬间增长率 (% /d) = $(\ln W_t - \ln W_0) / d \times 100$, W_t 实验结束尾均重 (g), W_0 实验开始尾均重 (g);³饲料系数 = 饲料消耗量 (g) / 鱼体增重 (g);⁴蛋白质沉积率 (%) = 鱼体蛋白增加量 (g) $\times 100$ / 蛋白的摄入量 (g)

¹Values are means and standard errors of three replicates; Means in each column with different superscripts have significant differences ($p < 0.05$); The same as follows; ² specific growth rate = $[\ln (\text{mean final weight}) - \ln (\text{mean initial weight}) / 60 \text{ days}] \times 100$; ³ feed conversion ratio = total feed intake in dry basis (g) / weight gain (g); ⁴ apparent protein retention = protein gain (g) $\times 100$ / protein intake (g)

同时,对 SGR、FCR 和 APR 与饲料蛋氨酸水平 (X)进行了回归分析,结果表明,它们呈极显著的二次回归关系,回归方程分别为:

$$SGR = - 24.857X^2 + 28.83X - 4.7227 (R^2 = 0.9489, \text{图 1})$$

$$APR = - 294.57X^2 + 357.58X - 72.108 (R^2 = 0.9418, \text{图 2})$$

$$FCR = 17.143X^2 - 20.03X + 7.424 (R^2 = 0.9329, \text{图 3})$$

在蛋氨酸分别为 0.58%、0.59%、0.61%时, SGR、APR和 FCR分别达到最佳值,分别为 3.64%、36.42%和 1.58%。

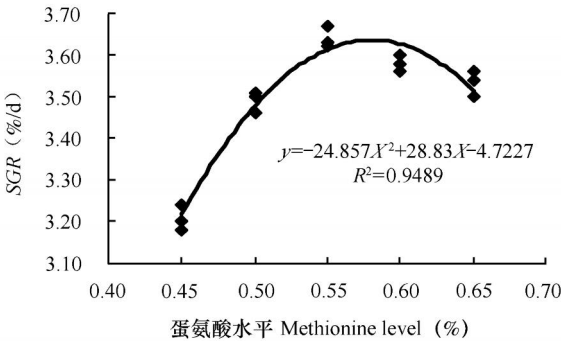


图 1 蛋氨酸水平与瞬间增长率 (SGR)的关系
Fig 1 Relationship between SGR and methionine levels

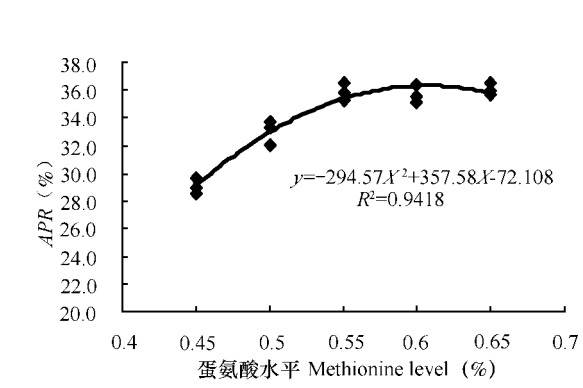


图 2 蛋氨酸水平与蛋白沉积率 (APR) 的关系
Fig 2 Relationship between APR and methionine levels

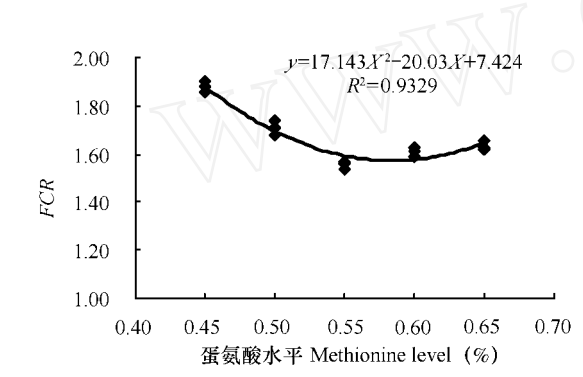


图 3 蛋氨酸水平与饲料系数 (FCR) 的关系
Fig 3 Relationship between FCR and methionine levels

2.2 蛋氨酸对罗非鱼体组成成分的影响

由表 3 可知,添加 D 蛋氨酸的各试验组罗非鱼的肝脂含量均显著低于对照组 ($p < 0.05$)。D 蛋氨酸 0.10%、0.15%和 0.20%组罗非鱼的肝体比分别低于对照组 ($p < 0.05$)。D 蛋氨酸 0.10%和 0.20%组罗非鱼的脏体比分别低于对照组 ($p < 0.05$)。D-蛋氨酸不同添加水平罗非鱼的肝脂含量、肝体比以及脏体比组间差异均不显著 ($p > 0.05$)。罗非鱼的肥满度以及鱼体水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分含量在组间差异不显著 ($p > 0.05$)。

2.3 蛋氨酸对鱼体和血清氨基酸含量的影响

由表 4 可见,D 蛋氨酸 0.05%组鱼体组氨酸含量显著低于 0.15%和 0.20%水平 ($p < 0.05$),D 蛋氨酸 0.20%组鱼体脯氨酸含量显著高于 0.10%和 0.15%水平 ($p < 0.05$)。各试验组鱼体其他氨基酸含量在组间差异不显著 ($p > 0.05$)。而从表 5 可知,D 蛋氨酸 0.05%组显著提高了血清蛋氨酸的含量 ($p < 0.05$),D 蛋氨酸 0.15%组罗非鱼血清精氨酸的含量显著低于对照组 ($p < 0.05$)。随日粮蛋氨酸水平的升高,血清精氨酸和酪氨酸含量呈先下降后上升的趋势,并逐渐趋于稳定,而其他氨基酸则呈现相反的变化规律,血清氨基酸含量在组间差异不显著 ($p > 0.05$)。

表 3 饲料中结晶蛋氨酸对罗非鱼体组成的影响 (平均数 ± 标准误)
Tab. 3 Effects of dietary D-methionine on body composition of hybrid tilapia (Means ± S. E. M)

Diet No. (MET)	Diet 1 (0.00% Met)	Diet 2 (0.05% Met)	Diet 3 (0.10% Met)	Diet 4 (0.15% Met)	Diet 5 (0.20% Met)
肥满度 ¹ Condition factor	1.83 ±0.006	1.86 ±0.014	1.86 ±0.011	1.87 ±0.009	1.90 ±0.016
脏体比 ² Viscus ratio	10.32 ±0.30 ^a	9.44 ±0.24 ^{ab}	9.28 ±0.16 ^b	9.42 ±0.09 ^{ab}	8.87 ±0.17 ^b
肝体比 ³ Hepatosomatic index	2.57 ±0.04 ^a	2.16 ±0.14 ^{ab}	1.96 ±0.06 ^b	2.06 ±0.07 ^b	2.04 ±0.10 ^b
肝脂含量 Hhepatopancreas lipid content (%)	10.57 ±0.23 ^a	9.72 ±0.11 ^b	9.64 ±0.14 ^b	9.47 ±0.12 ^b	9.68 ±0.21 ^b
水分 Moisture (%)	73.00 ±0.68	74.41 ±1.00	72.77 ±0.98	73.77 ±0.98	70.77 ±0.98
粗蛋白 (%湿重) Crude protein (% wet weight)	17.78 ±0.78	18.83 ±0.29	18.12 ±0.17	18.34 ±0.13	19.63 ±0.57
粗脂肪 (%湿重) Crude lipid (% wet weight)	8.64 ±0.19	8.75 ±0.16	9.04 ±0.10	9.46 ±0.23	9.35 ±0.13
粗灰分 (%湿重) Crude ash (% wet weight)	3.51 ±0.03	3.62 ±0.06	3.56 ±0.11	3.64 ±0.22	3.59 ±0.18

¹肥满度 = $W_T / L^3 \times 100$ W_T : 鱼体重 (g); L : 鱼体长 (cm); ²脏体比 = 内脏重 (g) / 鱼体重 (g) $\times 100$; ³肝体比 = 肝胰脏重 (g) / 鱼体重 (g) $\times 100$
¹Condition factor(CF) = $100 \times \text{body weight(g)} / \text{body length}^3(\text{cm})$; ²Viscus ratio(VR) = $100 \times \text{viscus weight (g)} / \text{body weight (g)}$; ³Hepatosomatic index (HSI) = $100 \times \text{hepatopancreas weight (g)} / \text{body weight (g)}$

表 4 饲料中蛋氨酸水平对鱼体氨基酸含量的影响 (平均数 ±标准误)

Tab. 4 The effect of dietary methionine levels on the concentration of body amino acids of juvenile hybrid tilapia (Means ±S. E. M, %)

Diet No. (MET)	Diet 1 (0.00% Met)	Diet 2 (0.05% Met)	Diet 3 (0.10% Met)	Diet 4 (0.15% Met)	Diet 5 (0.20% Met)
赖氨酸 Lysine	5.49 ±0.02	5.39 ±0.11	5.46 ±0.21	5.37 ±0.10	5.56 ±0.07
蛋氨酸 Methionine	0.48 ±0.02	0.47 ±0.01	0.46 ±0.02	0.49 ±0.01	0.47 ±0.01
苏氨酸 Threonine	2.32 ±0.01	2.23 ±0.01	2.23 ±0.02	2.30 ±0.02	2.30 ±0.02
缬氨酸 Valine	2.58 ±0.03	2.54 ±0.02	2.50 ±0.04	2.47 ±0.02	2.47 ±0.03
精氨酸 Arginine	3.28 ±0.01	3.22 ±0.09	3.29 ±0.02	3.26 ±0.06	3.25 ±0.03
异亮氨酸 Isoleucine	2.74 ±0.01	2.68 ±0.01	2.75 ±0.03	2.78 ±0.03	2.73 ±0.01
亮氨酸 Leucine	3.85 ±0.01	3.72 ±0.02	3.77 ±0.04	3.85 ±0.04	3.80 ±0.02
组氨酸 Histidine	1.39 ±0.03 ^{ab}	1.34 ±0.01 ^b	1.36 ±0.02 ^{ab}	1.43 ±0.01 ^a	1.42 ±0.01 ^a
苯丙氨酸 Phenylalanine	1.76 ±0.01	1.73 ±0.01	1.76 ±0.04	1.79 ±0.02	1.77 ±0.01
天门冬氨酸 Aspartic acid	5.63 ±0.09	5.52 ±0.14	5.29 ±0.08	5.36 ±0.12	5.46 ±0.14
谷氨酸 Glumatic acid	8.01 ±0.11	7.65 ±0.14	7.56 ±0.14	7.95 ±0.11	8.01 ±0.14
丝氨酸 Serine	2.16 ±0.01	2.09 ±0.02	2.09 ±0.02	2.16 ±0.03	2.17 ±0.05
甘氨酸 Glycine	4.36 ±0.03	4.25 ±0.20	4.27 ±0.05	4.24 ±0.08	4.34 ±0.11
丙氨酸 Alanine	3.79 ±0.01	3.76 ±0.05	3.74 ±0.02	3.78 ±0.06	3.90 ±0.05
脯氨酸 Proline	5.07 ±0.02 ^{ab}	4.97 ±0.12 ^{ab}	4.68 ±0.03 ^{bc}	4.45 ±0.11 ^c	5.17 ±0.09 ^a
酪氨酸 Tyrsine	1.63 ±0.01	1.57 ±0.01	1.58 ±0.02	1.67 ±0.06	1.68 ±0.02

表 5 饲料中蛋氨酸水平对血清游离氨基酸含量的影响 (pmol/μL,平均数 ±标准误)

Tab. 5 The effect of dietary methionine levels on the concentration of serum free amino acids of juvenile hybrid tilapia (Means ±S. E. M)

Diet No. (MET)	Diet 1 (0.00% Met)	Diet 2 (0.05% Met)	Diet 3 (0.10% Met)	Diet 4 (0.15% Met)	Diet 5 (0.20% Met)
赖氨酸 Lysine	434.03 ±35.18	447.64 ±19.12	465.34 ±10.87	424.48 ±18.67	407.09 ±11.48
蛋氨酸 Methionine	85.37 ±5.17 ^b	102.02 ±4.58 ^a	83.48 ±2.77 ^b	82.11 ±1.02 ^b	79.19 ±0.99 ^b
苏氨酸 Threonine	251.28 ±32.16	263.20 ±23.34	277.14 ±18.56	269.58 ±10.69	243.37 ±12.63
缬氨酸 Valine	324.74 ±13.57	344.04 ±15.06	339.91 ±3.94	322.31 ±6.87	317.46 ±12.59
精氨酸 Arginine	275.25 ±16.19 ^a	260.12 ±10.36 ^{ab}	214.46 ±21.97 ^{ab}	198.22 ±9.72 ^b	253.66 ±7.00 ^{ab}
异亮氨酸 Isoleucine	129.87 ±7.66	140.82 ±9.92	140.76 ±6.31	131.64 ±2.22	132.96 ±5.14
亮氨酸 Leucine	262.49 ±13.53	280.42 ±14.46	293.38 ±9.29	275.54 ±8.27	279.45 ±7.85
组氨酸 Histidine	204.39 ±16.00	220.84 ±2.77	238.46 ±27.78	182.11 ±15.14	177.81 ±7.18
苯丙氨酸 Phenylalanine	182.71 ±10.63	195.53 ±16.94	183.04 ±14.72	178.96 ±8.81	170.16 ±8.11
天门冬氨酸 Aspartic acid	167.50 ±19.82	138.05 ±5.21	197.91 ±6.52	209.24 ±3.55	169.93 ±5.12
谷氨酸 Glumatic acid	107.17 ±0.54	181.06 ±22.34	158.41 ±8.02	129.07 ±9.75	117.39 ±34.28
丝氨酸 Serine	217.21 ±16.81	246.35 ±13.08	224.08 ±13.63	213.18 ±10.44	207.71 ±18.75
甘氨酸 Glycine	443.13 ±29.78	549.90 ±92.33	482.52 ±30.83	497.96 ±14.15	420.21 ±25.71
丙氨酸 Alanine	706.73 ±42.29	1192.97 ±196.42	804.87 ±126.93	894.88 ±101.48	947.84 ±250.03
脯氨酸 Proline	300.03 ±4.00	324.61 ±57.17	304.37 ±13.98	317.73 ±28.41	257.39 ±7.54
胱氨酸 Cystine	21.82 ±1.14	27.87 ±2.37	24.46 ±2.65	21.51 ±1.38	21.32 ±1.02
酪氨酸 Tyrsine	52.65 ±5.71	47.5 ±5.83	55.21 ±6.31	—	69.84 ±7.75

3 讨 论

3.1 蛋氨酸的营养作用

试验结果表明,补充 D 蛋氨酸能够提高罗非鱼

体蛋白沉积率 (APR) 13.9%—24.4%。APR 与饲料蛋氨酸水平呈显著二次相关 (图 2),在蛋氨酸 0.59%组内 APR 随饲料蛋氨酸水平增加而增加。对斑点叉尾鲷^[12]、鲤鱼^[13]和鲈鱼^[14]的研究发现,

体蛋白沉积量与饲料蛋氨酸水平呈显著二次相关,在蛋氨酸缺乏时,体蛋白沉积力下降,随蛋氨酸添加,蛋白沉积量增加,可见蛋氨酸是蛋白合成的必需氨基酸。在无氮日粮中添加蛋氨酸能增加染色体数量,改善肝脏和整体蛋白的合成速度,蛋白绝对合成量提高^[15,16]。当蛋氨酸缺乏时,蛋白合成率下降,随蛋氨酸水平提高,则体蛋白合成率增加^[17,18]。可见,蛋氨酸对体蛋白合成有重要作用。

本研究还发现,在实用饲料中补充结晶蛋氨酸改善了鱼体肝体比,降低了肝脂含量 8.1%—10.4%。Milliki在草鱼上也有类似的结果,发现向草鱼饲料中添加一定量的蛋氨酸可以明显降低肝胰腺的脂质积累^[19]。在鲤鱼^[13]、虹鳟^[20]上的研究也证实,随饲料蛋氨酸水平的增加,体脂肪含量下降。这可能是由于蛋氨酸含量的增加,加速了肉碱的合成,进而促进了脂肪酸的 β 氧化,使鱼体组织脂肪含量下降。Nordum, *et al.* 研究报道,补充蛋氨酸可以提高大西洋鲑对饲料脂肪的消化率,使营养物质在动物体内的利用和分配更为合理^[21]。而 Ruchimat, *et al.* 在黄条魮 (*Seriola quinqueradiata*) 的研究中却发现,肝脂肪含量随饲料蛋氨酸水平的增加而增加^[22]。Keembiyehetty, *et al.* 研究指出,饲料中添加不同形式蛋氨酸,对鲈鱼的肝脂肪含量不产生任何影响^[14]。

在饲料中添加晶体 D 蛋氨酸,罗非鱼的生长状态明显得到改善,说明罗非鱼具有利用结晶蛋氨酸的能力。这也表明蛋氨酸为罗非鱼正常生长所必需的营养成分。关于蛋氨酸对动物生长的影响已经在猪、虹鳟等一些动物上得以研究证实^[23—26],饲料中添加蛋氨酸特别是强化蛋氨酸可以提高饲料利用和动物生长。这主要是饲料氨基酸的平衡,提高了蛋白质的利用率,使饲料中氮更多用于体蛋白增长。这些研究结果表明,补充蛋氨酸可以有效改善养殖动物的生产性能。已有研究发现,饲料的 pH 值调至中性,异育银鲫能够吸收利用饲料中的游离氨基酸^[27]。在畜禽饲料中添加游离氨基酸 (FAA),可强化饲料的蛋白质营养,其应用效果已得到公认。饲料中补充 0.2% 的晶体氨基酸可节约日粮蛋白至少 2%^[23]。但关于鱼虾对 FAA 的利用能力,至今仍然存在许多争议。一般认为,鱼类不能有效利用饲料中的 FAA (至少在每日只投喂一次时是如此),主要是因为饲料品种差异^[28,29]、溶失严重、氨基酸吸收不同步^[30]和饲料 pH 偏低^[31]。

鱼类对蛋氨酸不同形式的利用是不同的,但有

关这方面的研究较少。本文仅对 D 蛋氨酸形式进行了研究。Robinson, *et al.* 报道,斑点叉尾鲷对羟基蛋氨酸的利用率只相当于对 L 蛋氨酸利用率的 26%^[24]。而鲈鱼则为 75%,并且鲈鱼对 N 甲基-DL 蛋氨酸和 DL 蛋氨酸的利用比 L 蛋氨酸更有效^[14]。Goff, *et al.* 研究发现,美国红鱼对 MHA、N-甲基-DL 蛋氨酸和 DL 蛋氨酸的利用效果与 L 蛋氨酸一致^[32]。看来,不同鱼类的氨基酸代谢机制有较大不同。罗非鱼对于不同形式蛋氨酸 (如羟基蛋氨酸、蛋氨酸羟基类似物钙盐、N 羟甲基蛋氨酸、DL-Met、L-Met 以及 D-Met) 的利用率的差异,还值得进一步深入探讨。

3.2 对血清 (血浆) 和鱼体氨基酸含量的影响

在实用饲料中补充 D 蛋氨酸 0.05%,即饲料蛋氨酸水平为 0.50% 时,能够显著提高罗非鱼血清蛋氨酸的含量,较基础饲料组 (Diet1) 罗非鱼血清蛋氨酸含量增加了 19.5%。血浆中游离氨基酸水平反映了动物对饲料中氨基酸的吸收状况^[33]。这说明饲料中蛋氨酸缺乏时,降低了罗非鱼血清中蛋氨酸的水平,参与蛋白质合成的蛋氨酸量下降,表现为生长抑制;而补充蛋氨酸后,使血清中蛋氨酸的水平恢复,参与蛋白质合成的蛋氨酸量增加,故生长速度增加。在虹鳟^[41]、鲤鱼^[13]上也有相似的发现。Krogdahl, *et al.* 研究报道,饲料补充蛋氨酸能够影响大西洋鲑血浆蛋氨酸的含量,相反饲料中补充甘氨酸不影响血浆甘氨酸的含量。研究还指出大西洋鲑对含硫氨基酸的分解代谢是非常快的^[34]。Sigve, *et al.* 研究发现饲料蛋氨酸和胱氨酸水平增加,大西洋鲑血浆牛磺酸含量相应增加,并指出大西洋鲑能有效转化蛋氨酸成牛磺酸^[35]。而 Olli, *et al.* 发现日粮补充蛋氨酸,大西洋鲑血浆蛋氨酸含量增加而牛磺酸含量却相应降低^[36]。这些结果表明,血浆游离蛋氨酸含量随饲料蛋氨酸水平的增加而增加。而 Twibell, *et al.* 在黄鲈实验中却发现,血清游离蛋氨酸含量不随饲料蛋氨酸水平的增加而变化^[37]。Keembiyehetty, *et al.* 的研究指出,饲料中添加不同形式的蛋氨酸,对鲈鱼血浆蛋氨酸含量也会产生不同的影响,以 DL 蛋氨酸的影响最高^[14]。血浆氨基酸水平是饲料可消化蛋白、内源氮代谢、氨基酸氧化和蛋白质合成等共同作用的结果。当然,鱼的种间差异、氨基酸形式以及实验条件等都可能对血浆游离氨基酸含量产生影响。

目前,关于饲料中氨基酸对全鱼和组织氨基酸含量的影响研究报道很少。本实验发现补充 D 蛋

氨酸对罗非鱼全鱼氨基酸含量不产生任何影响。而 Alam, *et al.* 研究指出饲料中不同氨基酸模式对牙鲆生长及鱼体蛋白结合态氨基酸的组成有影响^[38]。Mai, *et al.* 研究发现,除蛋氨酸和异亮氨酸外,大黄鱼肌肉的其他必需氨基酸含量不受饲料中蛋氨酸水平的影响^[39]。Walton, *et al.* 在虹鳟蛋氨酸需求研究中发现,随饲料蛋氨酸水平的提高,肝脏蛋氨酸含量升高^[4]。Yokoyama, *et al.* 研究也证实,虹鳟肝脏和肌肉蛋氨酸和胱氨酸含量随 L-蛋氨酸水平增加而增加,但对谷氨酸和牛磺酸含量不产生任何影响^[20]。这些结果可能是由于鱼种和实验条件差异所致。本实验显示罗非鱼鱼体组氨酸和脯氨酸含量受饲料中蛋氨酸水平的影响,还不能给以合理的解释,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish [M]. The National Academy of Science. 1993
- [2] Wilson R P. Amino acids and proteins [M]. In: Halver J E, Hardy R W (Eds.), Fish Nutrition, 3rd ed. New York: Academic Press. 2002, 143—179
- [3] Kasper C S, White M R, Brawn P B. Choline is required by tilapia when methionine is not in excess [J]. *J. Nutr.*, 2000, **130**: 238—244
- [4] Walton M J, Cowey C B, Adron J W. Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content [J]. *J. Nutr.*, 1982, **112**: 1525—1535
- [5] Poston H A. Response of rainbow trout to source and level of supplemental dietary methionine [J]. *Comp Biochem. Physiol.*, 1986, **83A**: 739—744
- [6] Keembiyehetty C N, Gatlin III D M. Total sulphur amino acid requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) [J]. *Aquaculture*, 1993, **110**: 331—339
- [7] Dabrowski K, Poczczynski P, Köck G, *et al.* Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New in vivo test for exocrine pancreatic secretion [J]. *Aquaculture*, 1989, **77**: 29—49
- [8] Takagi S, Shimeno S, Hosokawa H, *et al.* Effect of lysine and methionine supplementation to a soy protein concentrate diet for red sea bream *Pagrus major* [J]. *Fish Sci.*, 2001, **67**: 1088—1096
- [9] Mukhopadhyay N, Ray A K. Effects of amino acid supplementation on the nutritive quality of fermented linseed meal protein in the diets of rohu, *Labeo rohita*, fingerlings [J]. *J. Appl. Ichthyol.*, 2001, **17**: 220—226
- [10] Opstvedt J, Aksnes A, Hope B, *et al.* Efficiency of feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins [J]. *Aquaculture*, 2003, **221**: 365—379
- [11] AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International [M]. Vol. I Agriculture Chemicals; Contaminants, Drug. 16th ed. AOAC International, Arlington, VA. 1995
- [12] Cai Y J, *et al.* Effect of dietary methionine levels on protein gain of channel catfish [J]. *J. Anim. Sci.*, 1996, **74**: 514—521
- [13] Schwarz F J, Kirchgeßner M, Deuringer U. Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Aquaculture*, 1998, **161** (124): 121—129
- [14] Keembiyehetty C N, Gatlin D M. Evaluation of different sulfur compounds in the diet of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) [J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1995, **112A**: 155—159
- [15] Yokogoshi H, Yoshida A. Effect of supplementation of methionine and threonine on hepatic polyribosome profile in rats meal-fed a protein-free diet [J]. *J. Nutr.*, 1979, **109**: 148—154
- [16] Muranatsu T, Kato M, Tasaki I, *et al.* Enhanced whole-body protein synthesis by methionine and arginine supplementation in protein-starved chicks [J]. *Br J. Nutr.*, 1986, **55**: 635—641
- [17] Carter C G, *et al.* Protein synthesis in grass carp, *Ctenopoma idella*, and its relation to diet quality, Fish nutrition in practice: 4th international symposium on fish nutrition and feeding Biarritz, France, June 24—27, 1991 (edited by Kaushik S J, Luquet). 1993, 673—680
- [18] Ahmed I, Khan M A, Jafri A K. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) [J]. *Aquaculture International*, 2003, **11**: 449—462
- [19] Millikin M R. Qualitative and quantitative nutrient requirements of fish: a review [J]. *Fish. Bull.*, 1982, **80**: 655—686
- [20] Yokoyama M, Nakazoe J. Utilization of methionine supplemented to diet in rainbow trout [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992a, **58**: 1347—1349
- [21] Nordrum S, Kroghdahl S, Røsjø C C, *et al.* Effects of methionine, cysteine and medium chain triglycerides on nutrient digestibility, absorption of amino acids along the intestinal tract and nutrient retention in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) under pair-feeding regime [J]. *Aquaculture*, 2000, **186**: 341—360
- [22] Ruchimat T, Masumoto T, Hosokawa H, *et al.* Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) [J]. *Aquaculture*, 1997, **150**: 113—122
- [23] Kwon Y M, Heo K N, Choi Y J, *et al.* The effect of synthetic lysine and methionine on in vitro protein synthesis of weaning pigs [J]. *Nutrition Research*, 1995, **15** (3): 429—437
- [24] Robinson E H, Allen O W, Poe W E, *et al.* Utilization of dietary sulfur compounds by fingerling channel catfish: L-methionine, DL-methionine, methionine hydroxyl analogue, taurine and inorganic sulfate [J]. *J. Nutr.*, 1978, **108**: 1932—1936
- [25] Kim K J, Kayes T B. Requirements for sulfur amino acids and utilization of D-methionine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquac.*, 1992, **101**: 95—103
- [26] EL-Dahhar A A, EL-Shazly K. Effect of essential amino acid (methionine and lysine) and oil in fish diet on growth per-

- mance and feed utilization of Nile tilapia *Tilapia nilotica* [J]. *Nutr Absts*, 1994, **64**: 207
- [27] Zhou X J, Xie S Q, Xie C X, *et al* The utilization and requirement of dietary lysine for juvenile gibel carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**: 247—255 [周贤君, 解绶启, 谢从新, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料中赖氨酸的利用及需要量研究. 水生生物学报, 2006, **30**: 247—255]
- [28] Wilson R P, Poe W E, Robinsin E H. Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish [J]. *J Nutr*, 1980, **110**: 627
- [29] Chhom L. Effect of dietary pH on amino acid utilization by shrimp [A]. *Advance of the studies on nutrition of finfish and shellfish* [M]. Guangzhou: Zhongshan University Publishing House 1995, 287—300
- [30] Cowey C B, Luques P. Physiological basis of protein requirement of fishes: Critical analysis of requirements [A]. *Protein metabolism and nutrition Vol : NRA* [M]. 1983, 365—384
- [31] Berge G E, Harald S, Einar L. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolic effect of lysine [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1998, **120A**: 477—485
- [32] Goff J B, Gatlin III D M. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine [J]. *Aquaculture*, 2004, **241**: 465—477
- [33] Blasco J, Fernandez J, Gutierrez J. The effects of starvation and refeeding on plasma amino acid levels of carp, *Cyprinus carpio* L. 1758 [J]. *J. Fish Biol*, 1991, **38**: 587—598
- [34] Krogdahl A, Nordrum S, Brudeseth L, *et al* Effects of diet composition on apparent nutrient absorption along the intestinal tract and of subsequent fasting on mucosal disaccharidase activities and plasma nutrient concentration in Atlantic salmon *Salmo salar* L. [J]. *Aquacult Nutr*, 1999, **5**: 121—133
- [35] Sigve N, Ashild K, Camilla R. Effects of methionine, cysteine and medium chain triglycerides on nutrient digestibility, absorption of amino acids along the intestinal tract and nutrient retention in Atlantic salmon *Salmo salar* L. under pair-feeding regime [J]. *Aquaculture*, 2000, **186**: 341—360
- [36] Olli J J, Krogdahl A, Vaabenoe A. Dehulled solvent-extracted soybean meal as a protein source in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. *Aquacult Res*, 1995, **26**: 167—174
- [37] Twibell R G, Wilson K A, Brown P B. Dietary sulfur amino acid requirement of juvenile yellow perch fed the maximum cystine replacement value for methionine [J]. *J. Nutr*, 2000, **130**: 612—616
- [38] Alam S, Teshima S, Yaniharto D, *et al* Influence of different dietary amino acid patterns on growth and body composition of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture*, 2002, **210c**: 359—369
- [39] Mai K S, Wan J L, Ai Q H. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. *Aquaculture*, 2006, **253**: 564—572

INFLUENCE OF PRACTICAL DIET SUPPLEMENTATION WITH FREE D-METHIONINE ON THE GROWTH AND BODY COMPOSITION IN *TILAPIA OREOCHROMIS NILOTICUS* × *O. AUREUS*

LIN Shi-Mei, MAI Kang-Sen and TAN Bei-Ping

(The Key Laboratory of Mariculture (Ministry of Education), Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract: Tilapia is the most commercially cultured species in the South China, and the culture scale has rapidly developed in the past few years. Due to high cost and limited availability, the replacement of fish meal by plant protein sources is of great interest. It is very important aspects that how to improve the utilization of plant protein sources in aquafeeds. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effects of dietary supplementation with methionine on growth, body composition and levels of serum amino acids in juvenile hybrid tilapia. The tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* (mean weight of (4.18 ± 0.04) g) were fed separately in 15 fiberglass tanks (400 L) with 30 fish per tank. Five isonitrogenous and isoenergetic diets (crude protein 32%, gross energy 15.8 kJ/g) were formulated, in which free amino acids were supplemented by free D-methionine at 0.00%, 0.05%, 0.10%, 0.15% and 0.20%, respectively. Every experimental diet was taken three repeats, and fed practical diets containing methionine 0.45%, 0.50%, 0.55%, 0.60% and 0.65% (containing cystine 0.52%) thrice a day for 60 days at 4%—8% of body weight respectively. Results indicated that the practical diets containing free methionine improved the specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), apparent protein retention (APR) and hepatopancreas lipid content in comparison with the basal diet ($p < 0.05$). Specific growth rate (SGR) of fish fed diets containing methionine 0.55% was significantly higher than those in fish fed other diets ($p < 0.05$). The highest feed conversion ratio (FCR) was observed in fish fed the diet containing methionine 0.55% ($p < 0.05$). Significantly higher the concentration of serum free methionine was observed in juvenile hybrid tilapia fed diet with methionine 0.50% level than those of fish fed with other diets ($p < 0.05$). There were no significant differences in condition factor, whole body moisture, protein, lipid, ash and body amino acids contents of tilapia among the five groups ($p > 0.05$). Viscera ratio and hepatosomatic index decreased significantly with increasing methionine supplementation level ($p > 0.05$). The results suggested that methionine supplementation can significantly improve growth performance in juvenile hybrid tilapia. Free methionine was proved to be a significantly better way of dietary protein supplementation.

Key words: *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*; Methionine supplement; Growth; Composition