

日粮必需氨基酸模式对草鱼生长及蛋白质周转的影响

罗 莉¹ 叶元土² 林仕梅¹ 李 芹¹

(1. 西南农业大学水产学院, 重庆 400716; 2. 苏州大学农业与科技学院, 苏州 215006)

摘要: 通过调整原料种类和配比, 以及补充氨基酸, 设计了6种必需氨基酸(EAA)模式的日粮, 其EAA平衡关联度分别为0.7071, 0.7259, 0.7409, 0.7512, 0.7827和0.8231。试验设计目的为研究EAA模式的平衡效果对草鱼种生长和肌肉、肝胰脏蛋白质周转代谢的影响。结果表明:(1)日粮EAA模式的平衡, 促进草鱼生长和饲料的转化;(2)EAA模式的平衡能提高肌肉、肝胰脏的蛋白质生长速率(FGR), 和蛋白质合成速率(FSR)与降解速率(FDR), 但EAA模式的改变, 对肌肉、肝胰脏蛋白质的沉积效率(PRE), 即FGR与FSR的比值, 和蛋白质合成的翻译效率(K_{RNA})不产生影响。(3)日粮EAA模式的平衡促进肌肉、肝胰脏蛋白质增长的原因是蛋白质合成能力的提高, 和蛋白质合成的增加较降解的增加更占优势。

关键词: 蛋白质周转代谢; 必需氨基酸模式; 肌肉; 肝胰脏; 草鱼

中图分类号: S963.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)03-0278-05

有关草鱼蛋白质周转的研究国内外未见报道。蛋白质周转, 泛指在特定的代谢库内蛋白质被更新或被替代这一代谢过程, 这一过程可能是蛋白质合成与蛋白质降解的结果, 也可能是同一蛋白质在不同空间分布的转换^[1]。80年代末期, 欧美等国才着手研究鲤、虹鳟、鲈鱼及虾的日粮蛋白水平, 能量蛋白比, 饲喂水平, 饲喂频率等营养、非营养因子对组织和整体蛋白质周转的影响。

日粮必需氨基酸(Essential Amino Acid, EAA)模式的平衡促进动物生长已被众多学者证明。叶元土^[2]研究亦发现EAA模式的平衡能促进草鱼生长; 曾端^[3]又探讨了EAA模式对草鱼肠道吸收的影响, 观察到EAA模式改变后单个EAA吸收速率没发生改变。本研究即在此生长、吸收研究基础上, 进一步研究饲料不同EAA模式的肌肉、肝胰脏的蛋白质周转(即合成、降解代解), 以探讨EAA模式的平衡与蛋白质周转的相关性和促生长的蛋白质代谢原因。

1 材料和方法

1.1 试验鱼 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus* Cuvier et Valenciennes)购自歇马农贸市场, 体重50—70g, 平均64±9g。

1.2 示踪氨基酸溶液 鱼用生理盐水山本液^[4]配制, 含购自中国科学院上海核技术开发公司的³H标记混旋苯丙氨酸(DL-[4³H]-Phe), 和左旋苯丙氨酸(L-Phe)150mmol/L。

1.3 日粮不同EAA模式下草鱼的生长及其他含量测定 将草鱼在网箱内预饲购买的科峰饲料15d后, 按随机分组法分成6个试验组, 每组3个重复, 置于1m³小网箱, 每组鱼20—22尾, 尾均重基本一致。试验小网箱放入同一池塘, 水深1.1m, 水温27—33℃, pH6.8—7.0, 溶氧5.6—13.8mg/L。分组2d后正式试验, 每9:00, 14:00, 19:00 3次投喂各试验组饲料。日粮配方设计见表1。投饲率2%—3%。试验期76d。试验结束前12h停喂饲料。试验前后称重并测定各试验组肝胰比, 含肉率, 肌肉、肝胰脏蛋白质含量。计算全鱼生长率, 肌肉、肝胰脏蛋白质合成分率(Fractional synthesis rate, FSR)。生长试验结束同时, 取各试验组鱼3尾, 称重后用微量进样器通过输液软管小心插入草鱼食道, 1min一次性灌喂完示踪氨基酸溶液(1mg/100g, 体重)^[5]。按罗莉^[6]方法在灌喂后30min液氮速冻, 测定肌肉、肝胰脏与蛋白质结合Phe比放射性(Sb)和游离的Phe比放射性(Sa)。由Sb、Sa值计算蛋白质合成分率

收稿日期: 2002-07-26; 修订日期: 2002-12-30

基金项目: 重庆市科委攻关项目资助(97-4767)

作者简介: 罗 莉(1972—), 女, 四川省宜宾县人; 硕士, 讲师; 主要从事水产动物营养研究

通讯作者: 叶元土, Email: yeyuant@pub.sz.jsinfo.net

(FSR)。蛋白质降解分率(Fractional degradation rate, FDR)用蛋白质合成分率(FSR)与蛋白质生长分率(Fractional growth rate, FGR)之差估计^[5]。同时, 还

取各试验组鱼3尾, 分割肌肉、肝胰脏, 按李云^[7]方法分离RNA。RNA的测定采用紫外吸收法。蛋白质含量用凯氏定氮法测定。

表1 日粮配方设计表

Tab. 1 Formulation and chemical composition of experimental diets

组别 Group	I	II	III	IV	V	VI
鱼粉 Fish meal	4.5	3	16	12	7	7
豆粕 Soybean meal	47.5	47	15	20	47	47
菜粕 Rapeseed meal	—	10	30	18	10	10
棉粕 Cottonseed meal	19	3	—	19	6	6
啤酒酵母 Brewers dried yeast	—	7	—	—	—	—
玉米 Maize	6	—	—	—	—	—
次粉 Wheat middling and red dog	14	15	15	16	15	15
米糠 Rice bran	—	6	8	—	6	6
麦麸 Wheat bran	5	5	12	11	5	5
菜油 Rapeseed oil	2	2	2	2	2	2
预混料 Premix ^b	1	1	1	1	1	1
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1	1	1	1	1	1
赖氨酸 Lys						0.44
蛋氨酸 Met						0.10
异亮氨酸 Ile						0.15
粗蛋白质(%) Crude protein ^a	31.12	31.26	31.02	31.35	31.07	31.07
EAA 平衡关联度 ²⁾	0.7071	0.7259	0.7409	0.7512	0.7827	0.8231
Relativity of EAA equilibrium						

注: 1) 粗蛋白质为实测值; 2) 关联度指饲料中10种EAA的模式与草鱼需要的10种EAA模式的总体接近程度^[2]。根据饲料原料EAA含量实际测定值和EAA表观消化率^[8], 以可消化氨基酸为基础, 采用灰色关联分析法计算而得。其值越大, EAA平衡越好^[2]。

1.4 测定指标 1) 生长速率(特定生长率表示) = $(\ln W_f - \ln W_i) \times 100 / 76 (\% / d)$; W_i 和 W_f 分别表示初始和结束尾均重(g), 76是试验天数。2) 蛋白质生长速率或分率(FGR) = $(\ln P_f - \ln P_i) \times 100 / 76 (\% / d)$; P_i 和 P_f 分别是试验初始和结束时尾均肌肉或肝胰脏蛋白质总量(g), 由尾均重、含肉率(或肝胰脏)和肌肉(或肝胰脏)蛋白质含量三者的含量计算而得。3) 蛋白质合成速率或分率(FSR) = $S_b / S_a \times 1440 / 30 \times 100 (\% / d)$ ^[9]; S_b , S_a 分别为与蛋白质结合的Phe和游离Phe的比放射性(dpm/ μ mol); 1440为min/d; 30为同位素示踪时间(min)。4) 蛋白质降解速率或分率(FDR) = FSR - FGR(%/d)^[1]。5) 核糖体活力(K_{RNA} , 即蛋白质合成翻译效率): 用单位RNA每天合成蛋白质的量表示^[5], $K_{RNA} = FSR / (RNA / Pro) (mg \text{合成蛋白质} / \mu\text{g} \cdot RNA \cdot d)$ 。6) 蛋白质沉积效率(PRE, Protein retention efficiency) = $FGR / FSR \times 100 (\%)$ 。7) 蛋白质合成能力 Cs, Protein Synthesis Capacity $\mu\text{g RNA} / \text{mg 蛋白质}$ ^[5]。

1.5 统计分析 采用方差分析和Duncan新复极差检验进行差异显著性分析。各表中同行数据肩注字母无相同者差异显著($p < 0.05$)。

2 结果

2.1 不同日粮EAA模式的养殖效果

从表2可知, 各试验组生长速率、饲料转化效率从高到低的顺序为VI>V>IV>III>II>I; 从日粮EAA的平衡效果来看, 其关联度顺序也为: VI(0.8231)>V(0.7827)>IV(0.7512)>III(0.7409)>II(0.7259)>I(0.7071)。表明EAA模式平衡愈好的试验组, 草鱼生长速率与饲料利用效率愈高。再从VI组和V组的结果比较来看, VI生长速率和饲料转化效率均高于V($p < 0.05$), 表明饲料中通过添加游离氨基酸改善EAA模式的平衡程度, 对于提高养殖效果具有一定的作用。这一研究结果与叶元土报道的一致。

表 2 草鱼养殖效果

Tab. 2 Growth performance of grass carp at different diets

组别 Groups	I	II	III	IV	V	VI
初始尾均重 (g) Initial body weight	64.6±3.4	64.8±4.6	65.0±4.1	64.1±2.9	64.0±5.7	63.4±3.5
结束尾均重 (g) Final body weight	164.6±15.1 ^c	186.4±8.0 ^l	200.2±9.6 ^{cd}	203.6±8.7 ^c	216.2±18.6 ^b	227.2±10.1 ^a
生长率 (% / d) Specific growth rate	1.23±0.09 ^e	1.39±0.13 ^d	1.48±0.06 ^e	1.52±0.11 ^{hc}	1.60±0.05 ^b	1.68±0.12 ^a
采食量 (g/尾) Food intake	180.0±10.3	210.3±20.1	227.3±10.7	222.5±19.5	238.7±25.1	244.1±17.4
饲料转化率 (g/g) Food conversion rate	0.56±0.03 ^d	0.58±0.05 ^{cd}	0.61±0.02 ^c	0.63±0.06 ^e	0.64±0.05 ^b	0.67±0.07 ^a

表 3 不同日粮 EAA 模式下草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质周转速率

Tab. 3 Protein turnover rate in muscle and hepatopancreas of grass carp fed the diets of different EAA pattern

组别 Groups	I	II	III	IV	V	VI
肌肉 Muscle	FGR%/d 5.40±0.21 ^d	1.17±0.13 ^d	1.33±0.07 ^{ld}	1.43±0.15 ^c	1.47±0.08 ^{bc}	1.55±0.11 ^b
	FDR%/d 4.23±0.19 ^d	6.23±0.32 ^{ld}	6.60±0.27 ^{bc}	6.78±0.50 ^{ab}	7.26±0.45 ^a	7.75±0.38 ^a
	PRE%/d 21.66±1.56	21.34±2.38	21.67±1.89	21.68±3.12	21.35±3.21	21.16±2.01
肝胰脏 Hepatopancreas	FGR%/d 13.62±0.5 ^d	1.29±0.16 ^d	1.43±0.09 ^c	1.61±0.18 ^b	1.62±0.20 ^b	1.68±0.07 ^b
	FSR%/d 12.33±0.32 ^c	14.75±0.65 ^c	16.89±0.6 ^b	16.91±0.7 ^b	17.69±1.02 ^a	18.91±0.89 ^a
	FDR%/d 9.47±0.29	13.32±0.35 ^c	15.28±0.4 ^b	15.29±0.4 ^b	16.01±0.59 ^a	17.08±0.66 ^a
	PRE%/d 9.625	9.69±0.36	9.53±0.16	9.58±0.42	9.50±0.19	9.68±0.45

2.2 不同日粮 EAA 模式对蛋白质周转的影响

从表 3 可知, 肌肉、肝胰脏蛋白质的 FGR, FSR, FDR 均表现为: VI> V> IV> III> II> I。这一顺序与 EAA 模式的平衡关联度值一致。表明: (1) 草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质的生长速率(FGR)、合成速率(FSR)和降解速率(FDR) 均分别与日粮 EAA 模式的平衡呈正相关, 其中肌肉相关关系为: $Y_{FGR} = 3.7487x - 1.3991$ ($r = 0.9445$), $Y_{FSR} = 18.734x - 7.4771$ ($r = 0.9597$), $Y_{FDR} = 14.985x - 6.078$ ($r = 0.9625$); 肝胰脏相关关系为 $Y_{FGR} = 4.2788x - 1.6545$ ($r = 0.9399$), $Y_{FSR} = 43.262x - 16.207$ ($r = 0.9315$), $Y_{FDR} = 38.983x - 14.553$ ($r = 0.9303$)。 (2) 肝胰脏的蛋白质合成、降解速率显著高于肌肉。 (3) 草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质的 FGR, FSR, FDR 三者随日粮 EAA 模式的变化表现出相同的变化趋势。肌肉、肝胰脏蛋白质生长速率越高的模式, 其蛋白质合成、降解越快。从表 3 还可知, 肌肉、肝胰脏的蛋白质沉积

效率(PRE)各试验组均差异不显著($p > 0.05$), 表明日粮 EAA 模式改变后, 草鱼肌肉、肝胰脏合成的蛋白质用于生长(或沉积)的效率没发生显著变化。

综上所述, 可得此结论: 日粮 EAA 模式越平衡, 草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质生长速率越高, 其蛋白质周转越快, 即蛋白质合成、降解越快。但模式的变化, 并没有改变蛋白质的沉积效率。

2.3 草鱼肌肉、肝胰脏的蛋白质合成能力(C_s) 及合成翻译效率(K_{RNA})

从表 4 可知, 草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质合成能力(C_s) 在各试验组均表现为: VI> V> IV> III> II> I, 表明日粮 EAA 模式越平衡, 肌肉、肝胰脏的蛋白质合成能力越强。另外, 肌肉、肝胰脏的蛋白质合成翻译效率(K_{RNA}) 在各试验组间均表现为无显著差异($p > 0.05$)。表明日粮 EAA 模式的改变, 对蛋白质合成的翻译效率(K_{RNA}) 不产生影响。

表 4 肌肉、肝胰脏蛋白质合成能力(C_s)及合成翻译效率(K_{RNA})

Tab.4 Protein synthesis capacity and protein synthesis efficiency in muscle and hepatopancreas of grass carp

组别	Groups	I	II	III	IV	V	VI
	C_s	5.61±0.38 ^d	6.24±0.27 ^d	6.89±0.33 ^{bc}	6.98±0.29 ^c	7.76±0.42 ^b	8.72±0.56 ^a
肌肉							
Muscle	K_{RNA}	0.96±0.08	1.00±0.05	0.96±0.04	0.97±0.01	0.94±0.07	0.89±0.06
肝胰脏	C_s	111.35±0.14 ^d	111.37±0.16 ^d	141.31±0.39 ^c	141.70±0.18 ^c	151.28±0.92 ^b	171.04±0.63 ^a
Hepatopancreas	K_{RNA}	11.20±0.05	11.12±0.08	11.18±0.04	11.15±0.03	11.16±0.11	11.11±0.08

3 讨论

3.1 日粮 EAA 模式的平衡与草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质周转的相关性

日粮氨基酸平衡模式改变对蛋白质周转的影响研究报道不多, 但存在两种观点: 其一是氨基酸的平衡促进蛋白质合成和降解, 蛋白质合成的增加更占优势。其二是日粮氨基酸平衡程度提高后, 体蛋白合成和降解减少, 降解的减少更占优势^[5, 10]。本研究结果表明, 日粮 EAA 模式越平衡, 草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质合成、降解速率越高, 即蛋白质周转越快。说明日粮 EAA 模式的平衡与草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质周转呈正相关关系。这一结论支持第一种观点。至于两种有争议的观点的求同, 仍有待以后大量的研究, 作出特定的动物在特定的营养、生理、环境条件下的准确结论。

3.2 日粮 EAA 模式的平衡促生长效果和促生长的蛋白质代谢原因

日粮必需氨基酸的平衡促进动物生长^[10, 11]。通过调整日粮原料的种类和配比, 以及通过补充氨基酸, 改善 EAA 模式平衡程度后, 取得了相同的结论: 即日粮 EAA 模式的平衡促进草鱼的生长和饲料利用效率, 并促进肌肉、肝胰脏蛋白质的生长(或沉积)。

从日粮 EAA 模式的平衡对蛋白质周转的影响结果来看, 随着日粮 EAA 模式平衡程度增加, 草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质合成、降解加强, 即周转加强。而肌肉、肝胰脏的蛋白质周转与全身的模式基本相似, 另外, 罗莉亦证明了肌肉、肝胰脏的蛋白质合成与整体合成模式相同。那么, 日粮 EAA 模式的平衡促生长原因则在于促进了草鱼体蛋白质合成和降解, 合成的增加较降解的增加更占优势, 从而导致蛋白质总量的增长(或沉积)。但模式的平衡没有改变蛋白质的沉降效率。

再从蛋白质合成能力(C_s)和蛋白质合成的翻译

效率(K_{RNA})两个指标来看, C_s 用 RNA 含量表示^[5], K_{RNA} 又能用作核糖体活力指标, 因为组织 RNA 约 85% 是核糖体的。本研究结果表明, 草鱼肌肉、肝胰脏的蛋白质合成的增加与二者蛋白质合成能力 C_s (即 RNA 含量)相关, 而与核糖体活力(K_{RNA})无关。这一结果与在饥饿鱼组织中和在欧洲真鲈中^[5]观察到的一致。因而, 日粮 EAA 模式的平衡促进蛋白质的合成是通过增加 RNA 含量的方式来实现。这种促进蛋白质的合成的方式在哺乳动物骨骼肌和欧洲真鲈^[5]中也观察到。

3.3 关于蛋白质周转中降解速率的测定方法

在蛋白质周转研究中, 降解速率通常用合成速率(FSR)和生长速率(FGR)之差估算, 并非直接测定值^[12]。这样测定 FSR 和 FGR 的误差归进了 FDR, 这可能带进一定的系统误差。但由于至今无简单可靠的方法研究体内蛋白质降解, 所以本研究采用了该法。而且该法为较多学者采用。

参考文献:

- [1] Liu S M. Method of measuring protein turnover and relationship between nutrition and turnover of ruminant [A]. Advance on study of animal nutrition [C]. Beijing: China Agricultural University Press, 1996. 201) 222. [刘世民. 反刍动物蛋白质周转的测定方法和营养与周转的关系. 动物营养研究进展. 北京: 中国农业大学出版社, 1996. 201) 222]
- [2] Ye Y T. Effects of EAA balanced state in diets on growth of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Feed industry, 1998, 20(3): 97) 103. [叶元土. 饲料必需氨基酸的平衡效果对草鱼生长的影响. 饲料工业, 1998, 20(3): 90) 103]
- [3] Zeng D. Effect of EAA balanced pattern individual AA on juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) intestinal absorption of Leu and Phe [D]. Master degree dissertation, 1999. [曾端. EAA 平衡模式及个别 AA 对草鱼幼鱼肠道吸收 Leu, Phe 速率的影响 [D]. 硕士学位论文, 1999]
- [4] Jiangshang Xingxiong. Experimental animal of fish [M]. Beijing: Ocean Press, 1992. 55) 56. [江上信雄. 鱼类实验动物 [M]. 北京: 海洋出版社, 1992. 55) 56]
- [5] Langer H. Augmentation of protein synthesis and degradation by poor

- dietary amino acid balance in European sea bass [J]. *J. Nutr.*, 1993, **123**(10): 1754-1761.
- [6] Luo L, Ye Y T, lin S M. Effects of EAA pattern solution on protein synthesis in whole body, muscle and hepatopancreas of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *J Fish China*, 2002, **26**(1): 75-78. [罗莉, 叶元土, 林仕梅. 灌喂 EAA 模式溶液对草鱼肌肉、肝胰脏蛋白质合成代谢的影响. *水产学报*, 2002, **26**(1): 75-78]
- [7] Li Y. Study on the changes of serum calcium ion, phosphorous compounds and liver nucleic acid in *Petromyzon variegatus* during reproductive cycle [D]. Master degree dissertation, 1999. [李云. 生殖周期瓦氏黄颡鱼血清钙离子和磷化合物及肝脏核酸的变化研究. 硕士学位论文, 1999]
- [8] Ye Y T, Lin S M, Luo L. Apparent digestibility coefficient of amino acids in 27 feed ingredients for grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Fish Sci. China*, 2003, **10**(1): 60-64. [叶元土, 林仕
- 梅, 罗莉. 草鱼对 27 种饲料原料的氨基酸表观消化率. *中国水产科学*, 2003, **10**(1): 60-64]
- [9] Houlihand D F. Protein synthesis in a fish heart: responds to increased power output [J]. *J Biol Chem*, 1988, **263**: 436-446
- [10] Tesseraud S, Maa N, peresson R, et al. Relative responses of protein turnover in three different skeletal muscles to dietary lysine deficiency in chicks [J]. *Bri Poult Sci*, 1996, **37**(3): 641-650
- [11] Tesseraud S. Protein metabolism in the growing fowl. Effect of dietary proteins [J]. *Production Animals*, 1995, **8**(3): 197-212
- [12] Zhou A G, Qi L G, Liu Y Q. Study of nutritional and physiological effect of whole body protein turnover in ducklings at early stages of growth [J]. *Acta Veterinaria Zootecnica Sinica*, 1995, **6**(2): 97-103. [周安国, 漆良国, 刘永前. 生长肉鸭体蛋白周转的营养生理效应研究. *畜牧兽医学报*, 1995, **6**(2): 97-103]

EFFECT OF DIETARY ESSENTIAL AMINO ACID PATTERN OF THE GROWTH AND PROTEIN TURNOVER OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

LUO Li¹, YE YuanTu², LIN ShiMei¹ and LI Qin¹

(1. *Fisheries College, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716*; 2. *Agricultural college, Suzhou University, Suzhou 215006*)

Abstract: By changing type and proportion of ingredients and supplying amino acids, six dietary EAA patterns are designed, in which Dietary , , , , and respectively are in 0.7071, 0.7259, 0.7409, 0.7512, 0.7827 and 0.8231 relativity of EAA equilibrium. The purpose of the experimental design is to study effects of dietary EAA balance on the growth and protein synthesis and degradation in muscle and hepatopancreas of grass carp. Results show that: 1. The balanced EAA pattern enforce growth of grass carp and transformation of feeds. 2. The balanced EAA pattern can increase protein synthesis and degradation rate (FSR, FDR) and fractional protein growth rate (FGR) of muscular organism and hepatopancreas, but following the change of EAA pattern in diets, protein retention efficiency (PRE), that is FSR/FDR, and translational efficiency of protein synthesis (K_{RNA}) didn't show significant difference. 3. For the muscular organism, relationships between FGR, FSR, FDR and relativity of EAA equilibrium is: $Y_{FGR} = 3.7487x - 1.3991$ ($r = 0.9445$), $Y_{FSR} = 18.734x - 7.4771$ ($r = 0.9597$), $Y_{FDR} = 14.985x - 6.078$ ($r = 0.9625$), respectively. 4. For the hepatopancreas, relationships between FGR, FSR, FDR and relativity of EAA equilibrium is: $Y_{FGR} = 4.2788x - 1.6545$ ($r = 0.9399$), $Y_{FSR} = 43.262x - 16.207$ ($r = 0.9315$), $Y_{FDR} = 38.983x - 14.553$ ($r = 0.9303$) respectively. 5. In the six dietary EAA patterns, FSR and FDR in the hepatopancreas are remarkably higher than in the muscular organism. 6. The balanced EAA pattern can stimulate a positive protein growth, partially attributing to increased protein synthesis capacity, greater difference between synthesis and degradation.

Key words: Protein turnover; EAA pattern; muscle; Hepatopancreas; *Ctenopharyngodon idellus*