

异育银鲫幼鱼对饲料中赖氨酸的利用及需要量研究

周贤君^{1,2} 解绶启² 谢从新¹ 雷武² 朱晓鸣²

(1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070; 2. 中国科学院水生生物研究所; 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

摘要:以添加晶体氨基酸的半精制饲料饲喂异育银鲫幼鱼,通过69d的生长实验来确定其赖氨酸需要量。饲料以白鱼粉为主要蛋白源,饲料中的总赖氨酸含量分别为1.82%、2.32%、2.82%、3.32%、3.82%、4.32%和4.82% 7个水平。实验在室内循环水养殖系统中进行,每种饲料随机3个重复。实验结果表明,异育银鲫能够利用饲料中的晶体赖氨酸、蛋氨酸。在投喂后3h,其血浆中的游离赖氨酸、蛋氨酸含量最高。当饲料中赖氨酸含量为3.32%时,异育银鲫的终末尾均重、特定生长率和鱼空壳占体重的百分比最高,肝体指数最低。当饲料中赖氨酸含量为3.82%时,异育银鲫的干物质表观消化率显著高于其他组($P < 0.05$)。赖氨酸含量为2.32%的饲料组,蛋白表观消化率最高,其能量表观消化率显著低于其他饲料组($P < 0.05$)。肝脏谷氨酸草酰乙酸转氨酶(AST)活性以4.82%组最高,谷氨酸丙酮酸转氨酶(ALT)活性以1.82%和4.82%组最高,3.32%组最低,各饲料组间差异不显著($P > 0.05$)。血红蛋白含量以赖氨酸含量为2.82%的饲料组最高,4.82%组最低;随着饲料中赖氨酸含量的升高,异育银鲫红细胞数下降,血清尿素氮含量升高,且血清尿素氮含量具有组间显著性差异($P < 0.05$)。根据折线法,由异育银鲫的特定生长率同饲料中赖氨酸水平的相关性得出其赖氨酸需要量为3.27%,占饲料蛋白的8.52%。

关键词:异育银鲫;赖氨酸;吸收;利用;需要量

中图分类号:S963.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2006)03-0247-09

异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)是中国科学院水生生物研究所20世纪80年代通过生物技术,以兴国红鲤(*Cyprinus carpio* var. *singunensis*)的精子刺激方正银鲫(*Carassius auratus gibelio* (Bloch))的卵细胞行雌核发育获得的鲫品系^[1]。它保留了鲫肉质鲜美、细嫩的特点,克服了生长缓慢、养殖周期长的缺陷,具有食性广、易饲养、繁殖简便、子代不分离等特点,有利于推广养殖。其生活力强、疾病少、成活率高、生长快、饲养周期短,当年就可产生经济效益等优点,得到生产者和消费者的普遍欢迎。目前,异育银鲫已经在全国广泛养殖,基本上已取代鲫,而且有逐渐取代鲤的趋势。

二十多年来,已有大量有关异育银鲫的研究报道^[2-4]。对异育银鲫的蛋白、脂肪、碳水化合物、钙、磷、铜、锌等的需要量也已有了比较具体的数据。鱼类对饲料蛋白质的需要量实际上是对氨基酸的需要量。但是,有关异育银鲫的氨基酸需要量方面的研

究至今还未见报道,因此,在饲料的配制过程中,还存在一定的盲目性,蛋白质浪费严重,这对异育银鲫饲料业和养殖业的发展都有一定的影响。

赖氨酸作为鱼类的必需氨基酸之一,是许多鱼类饲料蛋白源的第一限制性氨基酸^[5]。赖氨酸需要量的确定对配合饲料中氨基酸的平衡具有重要的意义。本实验以含有不同梯度赖氨酸水平的半精制饲料饲喂异育银鲫幼鱼,通过生长试验来确定其赖氨酸需要量,以积累异育银鲫幼鱼氨基酸营养的基本资料,为研制异育银鲫营养平衡的人工配合饲料提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 异育银鲫幼鱼对晶体氨基酸的吸收 实验饲料共两种,一种为添加了晶体赖氨酸的饲料,即生长实验中的7号饲料(赖氨酸含量为4.82%组);另一种为添加了晶体蛋氨酸的饲料,即对照饲料(表1,

收稿日期:2005-11-23;修订日期:2006-02-10

基金项目:科技部国家十五攻关项目(2001BA505B06)资助

作者简介:周贤君(1978—),女,汉族,重庆长寿人,硕士,主要从事鱼类营养学研究。对聂光汉同志在实验系统构建方面的大力帮助,刘家寿研究员对论文的指导及水生所鱼类生理生态组各位老师的帮助,谨此致谢

通讯作者:解绶启, sqxie@ihb.ac.cn, Tel/Fax:027 68780667

表 3)。实验鱼 28—32g,每种饲料随机饲养 3 个缸,每缸放 20 尾鱼。实验共进行了 15d。实验期间,每天两次饱食投喂(9:00 和 15:00),水温 24—25℃,光照 12L/12D(8:00 至 20:00),pH 为 6.4—7,溶氧 > 6mg/L,氨氮 < 0.2mg/L,余氯 < 0.1mg/L。实验结束时,分别在最后一次投喂后 3、6、9、12、15 和 24h 取样,每缸取 3 尾鱼抗凝血测血浆游离氨基酸含量。

1.2 实验饲料 饲料以美国白鱼粉为主要蛋白源,部分蛋白以晶体氨基酸混和物代替。实验饲料配方

及化学组成见表 1,混合氨基酸组成见表 2。除赖氨酸外,其他必需氨基酸参考严安生等^[6]测得的异育银鲫肌肉蛋白氨基酸组成配制;添加不同量的晶体赖氨酸使饲料中的总赖氨酸含量分别为 1.82%、2.32%、2.82%、3.32%、3.82%、4.32%和 4.82%7 个水平。饲料必需氨基酸组成见表 3。饲料配制时,使用甘氨酸、丙氨酸和天冬氨酸 3 种非必需氨基酸调节达到各个饲料等氮,用 6mol/L 的 NaOH 溶液调至中性^[20],制成直径为 3mm 的颗粒,60℃烘干后冰箱中 -4℃保存。

表 1 实验饲料配方及化学组成
Tab. 1 Formulation and composition of the experimental diets

成分 Ingredient	含量 Content (%)	
	实验饲料 experimental diet	对照饲料 Control diet
美国白鱼粉 White Fishmeal (USA)	52.00	62.30
鱼油 Fish oil	3.00	3.00
豆油 Soybean oil	3.00	3.00
淀粉 Starch	23.93	21.03
α-淀粉 α starch	2.00	2.00
纤维素 Cellulose	2.00	2.00
维生素预混物 Vitamin premix ¹	0.56	0.56
矿物盐预混物 Mineral premix ²	5.00	5.00
氯化胆碱 Choline Chloride	0.11	0.11
三氧化二铬 Chromic oxide	1.00	
混合结晶氨基酸 Crystalline L-amino acids	7.40	1.00(Met)
化学组成 Chemical composition(in dry matter)		
干物质 Dry matter (%)	95.70	96.32
粗蛋白 Crude protein (%)	38.45	37.86
粗脂肪 Crude lipid (%)	11.09	12.31
灰分 Ash (%)	16.26	16.79
能值 Energy(kJ/g)	18.10	17.91

1 维生素预混物(mg/ kg 饲料):维生素 B₁,20;维生素 B₂,20;维生素 B₆,20;维生素 B₁₂,0.020;叶酸,5;泛酸钙,50;肌醇,100;烟酸,100;生物素,0.1;淀粉,645.2;维生素 C,100;维生素 A,110;维生素 D,20;维生素 E,50;维生素 K,10;胆碱,1000。
Vitamin premix(mg/ kg diet):thiamin, 20;riboflavin, 20; pyridoxine, 20; cyanocobalamine, 0.020; folic acid, 5; calcium pantothenate, 50; inositol, 100; niacin, 100; biotin, 0.1; Starch, 645.2; ascorbic acid, 100; Vitamin A, 110; Vitamin D, 20; Vitamin E, 50; Vitamin K, 10; Choline chloride, 1000.

2 无机盐预混物(g/ kg 饲料):氯化钠,1;硫酸镁,15;磷酸二氢钾,32;磷酸二氢钙,20;硫酸亚铁,2.5;乳酸钙,3.5;硫酸锌,0.353;硫酸锰,0.162;硫酸铜,0.031;硫酸钴,0.001;碘酸钾,0.003;淀粉,0.45。
Mineral premix(g/ kg diet):NaCl, 1; MgSO₄ · 7H₂O, 15; KH₂PO₄, 32; Ca (H₂PO₄)₂ · H₂O, 20; FeSO₄, 2.5; C₆H₁₀CaO₆ · 5H₂O, 3.5; ZnSO₄ · 7H₂O, 0.353; MnSO₄ · 4H₂O, 0.162; CuSO₄ · 5H₂O, 0.031; CoSO₄ · 6H₂O, 0.001; KIO₃, 0.003; Starch, 0.45.

表 2 混合氨基酸组成(%干物质)
Tab.2 Composition of crystalline L-amino acids premix(%dry matter)

赖氨酸 Lysine level	1. 82	2. 32	2. 82	3. 32	3. 82	4. 32	4. 82
Arg	0. 493	0. 493	0. 493	0. 493	0. 493	0. 493	0. 493
His	0. 124	0. 124	0. 124	0. 124	0. 124	0. 124	0. 124
Thr	0. 787	0. 787	0. 787	0. 787	0. 787	0. 787	0. 787
Val	0. 361	0. 361	0. 361	0. 361	0. 361	0. 361	0. 361
Ile	0. 608	0. 608	0. 608	0. 608	0. 608	0. 608	0. 608
Leu	1. 614	1. 614	1. 614	1. 614	1. 614	1. 614	1. 614
Phe	0. 101	0. 101	0. 101	0. 101	0. 101	0. 101	0. 101
Tip	0. 312	0. 312	0. 312	0. 312	0. 312	0. 312	0. 312
Lys	0. 000	0. 500	1. 000	1. 500	2. 000	2. 500	3. 000
Asp	0. 810	0. 675	0. 540	0. 405	0. 270	0. 135	0. 000
Gly	1. 800	1. 500	1. 200	0. 900	0. 600	0. 300	0. 000
Ala	0. 390	0. 325	0. 260	0. 195	0. 130	0. 065	0. 000

表 3 饲料必需氨基酸组成(%干物质)
Tab.3 Composition of the essential amino acids for the experimental diets(%dry matter)

赖氨酸 Lysine level	1. 82	2. 32	2. 82	3. 32	3. 82	4. 32	4. 82	对照 Control
Lys	2. 38	2. 76	3. 03	3. 34	3. 69	4. 24	4. 52	2. 51
Met	0. 98	0. 95	0. 91	0. 92	0. 93	0. 94	0. 94	1. 88
Arg	1. 66	1. 91	1. 72	1. 91	1. 99	1. 71	2. 16	1. 82
Thr	2. 18	2. 21	2. 08	2. 07	2. 11	2. 18	2. 12	1. 69
Val	1. 94	1. 97	1. 87	1. 86	1. 92	1. 89	1. 92	1. 88
Ile	1. 84	1. 89	1. 76	1. 79	1. 83	1. 8	1. 83	1. 54
Leu	4. 19	4. 19	4. 03	4. 01	4. 1	4. 18	4. 11	2. 95
Phe	1. 35	1. 36	1. 3	1. 28	1. 34	1. 34	1. 33	1. 44
His	0. 74	0. 75	0. 7	0. 68	0. 74	0. 73	0. 74	0. 74

注 :表内数据为饲料氨基酸分析结果。Analytical result of the amino acids in the diet.

1.3 实验鱼及养殖条件 在室内 27 个 56L 平底玻璃钢养鱼缸组成的循环水系统中进行。实验鱼为异育银鲫当年幼鱼,购自湖北省水产良种站,在实验室驯养两个月。实验前 15d 用 7 种实验饲料等量混合物投喂,每天两次过量投喂(9:00 和 15:00)。实验开始时,禁食 24h,随机选择体质健壮、规格均匀的鱼(尾均重 7.85 ±0.03g),带水称重,随机分组,每缸 20 尾,3 个重复。各饲料组之间鱼始均重没有显著差异(*P* > 0.05)。从余下的鱼中随机选取 3 组,每组 10 尾,带水称重后,再抹干称重,以校正水分。实验期间,水温 22 ±3 ,光照 12L/12D(8:00 至

20:00),pH 为 6.2—7,溶氧 > 6mg/L,氨氮 < 0.2mg/L,余氯 < 0.1mg/L。
1.4 实验管理 每天两次过量投喂(9:00 和 15:00),投喂后 1h 用虹吸法收残饵,并在 70 ℃下烘干至恒重后称重;在鱼排粪高峰时用虹吸法收集新鲜粪样,并在 70 ℃下烘干后置冰箱中 - 4 ℃保存。
1.5 取样 生长实验结束时,在最后一次投喂后 3h,每缸取 5 尾鱼,测血浆游离氨基酸含量。余下的

鱼禁食 24h 后称重,方法同前。然后,每缸取 2 尾鱼称取肝脏重、空壳重,并将肝脏保存于 -20°C 冰箱中,测 AST、ALT 活性。另从每缸取 3 尾鱼用于血清尿素氮含量测定,取 3 尾鱼用于血红蛋白含量和红细胞数测定。

采取尾静脉取血,血样用 1% 肝素钠作抗凝剂,3000r/min 离心 15min 后,取出上清液即血浆于冰箱中 4°C 保存备用;将血样在室温下静置数小时后离心(同血浆),取上清液,并保存于 -20°C 冰箱中待分析用。

1.6 生化成分测定 饲料及粪样的干物质、粗蛋白、能量和 Cr_2O_3 含量,以及饲料灰分和脂肪含量的测定参照文献[7]的方法:干物质测定采用 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥恒重法,蛋白质测定采用凯氏定氮法测定,灰分通过样品在马福炉中 550 $^{\circ}\text{C}$ 焚烧 3h 测定,能值用 Phillipson 微量能量计 (Phillipson microbomb calorimeter, Gentry Instruments Inc., Aiken, U. S. A.) 测定。脂肪测定采用氯仿-甲醇(2:1)抽提法^[8]; Cr_2O_3 含量采用 Bolin 等^[6]的方法测定。每一样品至少测定两个平行样。

饲料用 6mol/L 的 HCl 在 110 $^{\circ}\text{C}$ 下水解 24h 后,用日立 835-50 型氨基酸分析仪测定其中的氨基酸;血浆游离氨基酸用 8% 的磺基水杨酸去蛋白后,用氨基酸分析仪测定。

血液中的红细胞数测定采用显微镜直接计数法,用 0.8% 的生理盐水将血液稀释 200 倍后显微镜下直接计数;血红蛋白含量的测定采用碱化比色法;血清尿素的测定采用二乙酰-一肟 (Diacetyl monoxine) 法^[9]。肝脏 ALT、AST 活性测定采用 Horder^[10] 的方法。

1.7 数据处理 所有实验数据用 Statistica 6.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 差异显著时进行多重比较 (Duncan's procedure)。通过折线法 (Broken-line), 根据异育银鲫的特定生长率与饲料中赖氨酸含量的相关性得出其最适赖氨酸需要量。

2 结果

2.1 摄食后血浆中游离赖氨酸含量的变化

如图 1 所示,在投喂后 3h,异育银鲫血浆中的游离赖氨酸含量最高 (21.87 和 19.89mg/mL), 显著高于其他时间段 ($P < 0.05$); 在投喂后 3—6h, 血浆中游离赖氨酸含量迅速下降, 此后下降缓慢, 到 24h 时最低, 约 4.4mg/mL。对于投喂 7 号饲料组, 6h 后没有显著差异, 而对于投喂对照饲料组, 6h 时游离

赖氨酸含量显著高于 9h、12h、24h ($P < 0.05$), 与 15h 差异不显著 ($P > 0.05$)。对于各个时间段, 两种饲料之间差异均不显著 ($P > 0.05$)。

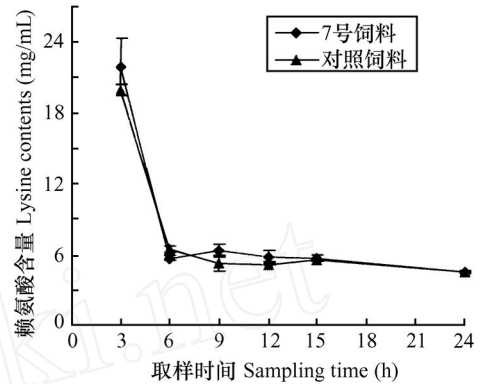


图 1 摄食后异育银鲫血浆游离赖氨酸的变化

Fig. 1 Plasma free lysine content in gibel carp after feeding

2.2 摄食后血浆中游离蛋氨酸含量的变化

如图 2 所示,在投喂后 3h,异育银鲫血浆中的游离蛋氨酸含量最高,显著高于其他时间段 ($P < 0.05$)。随着时间的推移,其含量持续下降,到 24h 时最低,分别为 0.75 和 0.87mg/mL。对于投喂 7 号饲料组,投喂后 3h、6h 和 9h,其血浆中的游离蛋氨酸含量均显著高于其后时间段 ($P < 0.05$), 之后的各时间段变化不显著。而对于投喂对照饲料组,在 3h 和 6h 时均显著高于其后时间段 ($P < 0.05$), 之后的各时间段变化不显著。在投喂后 9h 之前,对照饲料组其血浆中的游离蛋氨酸含量显著高于 7 号饲料组 ($P < 0.05$), 之后差异不显著 ($P > 0.05$)。

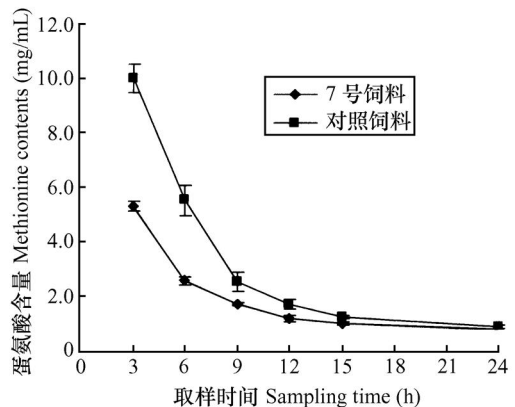


图 2 摄食后异育银鲫血浆游离蛋氨酸的变化

Fig. 2 Plasma free methionine content in gibel carp after feeding

2.3 生长和饲料利用

由表 4 可以看出,异育银鲫的终末尾均重和特定生长率以赖氨酸含量为 3.32% 的饲料组最高,显

著高于赖氨酸含量为 2.32 %的饲料组 ($P < 0.05$)。别的组 ($P < 0.05$) ,饲料转化效率显著低于别的组
赖氨酸含量为 2.32 %的饲料组 ,其摄食率显著高于 ($P < 0.05$) 。饲料转化效率以 2.82 %组最高。

表 4 饲料中不同赖氨酸水平对异育银鲫生长和饲料利用的影响(平均值 ±标准误) *
Tab.4 Effect of different dietary lysine levels on growth and feed utilization of gibel carp(mean ±S. E.)

赖氨酸(%干物质) Lysine level	初始尾均重 IBW(g)	终末尾均重 FBW(g)	特定生长率 SGRw(%/ d)	摄食率 FR(%/ d)	饲料转化效率 FCE(%)
1.82	7.84 ±0.02	21.50 ±0.82 ^{ab}	1.46 ±0.05 ^{ab}	2.12 ±0.04 ^a	63.61 ±1.28 ^a
2.32	7.85 ±0.02	20.17 ±0.16 ^a	1.37 ±0.01 ^a	2.70 ±0.06 ^b	44.95 ±3.18 ^b
2.82	7.87 ±0.01	21.36 ±0.47 ^{ab}	1.45 ±0.03 ^{ab}	2.03 ±0.09 ^a	66.11 ±1.99 ^a
3.32	7.84 ±0.03	21.87 ±0.66 ^b	1.49 ±0.05 ^b	2.10 ±0.02 ^a	65.16 ±1.17 ^a
3.82	7.84 ±0.02	20.51 ±0.46 ^{ab}	1.39 ±0.03 ^{ab}	2.05 ±0.04 ^a	63.15 ±0.90 ^a
4.32	7.83 ±0.02	21.26 ±0.06 ^{ab}	1.45 ±0.00 ^{ab}	2.13 ±0.03 ^a	62.78 ±0.74 ^a
4.82	7.87 ±0.01	20.93 ±0.12 ^{ab}	1.42 ±0.01 ^{ab}	2.05 ±0.04 ^a	64.04 ±0.79 ^a

* 同列数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$) 。Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$) .
初始尾均重 IBW(g) :initial body weight.
终末尾均重 FBW(g) :final body weight.
湿重特定生长率(%/ 天) = $100 \times (\text{Ln 终末尾均重} - \text{Ln 初始尾均重}) / \text{天}$;
SGRw :specific growth rate in wet weight (%/ d) = $100 \times (\text{Ln}(\text{FBW}) - \text{Ln}(\text{IBW})) / \text{days}$.
摄食率(%/ 天) = $100 \times \text{总摄食量} / ((\text{鱼总始重} + \text{鱼总末重}) / 2) / \text{摄食天数}$;
FR :feeding rate (%/ d) = $100 \times \text{feed intake} / (\text{initial body weight} + \text{final body weight}) / 2 / \text{days}$.
饲料转化效率(%) = $100 \times \text{总增重}(\text{鲜重}) / \text{总摄食量}$;
FCEw :feed conversion efficiency in wet weight (%) = $100 \times \text{wet weight gain} / \text{total feed intake}$.

表 5 饲料中不同赖氨酸水平对异育银鲫消化率的影响(平均值 ±标准误) *
Tab.5 Effect of different dietary lysine levels on apparent digestibility coefficients in gibel carp(mean ±S. E.)

赖氨酸(%干物质) Lysine level	干物质表观消化率 ADCd(%)	蛋白表观消化率 ADCp(%)	能量表观消化率 ADCe(%)
1.82	78.87 ±0.77 ^b	90.97 ±0.44	89.67 ±0.50 ^b
2.32	76.42 ±0.08 ^a	91.56 ±0.45	87.76 ±0.22 ^a
2.82	77.21 ±0.70 ^{ab}	90.50 ±0.21	89.38 ±0.41 ^b
3.32	78.72 ±0.33 ^b	90.75 ±0.43	89.60 ±0.14 ^b
3.82	79.34 ±0.63 ^b	91.30 ±0.34	90.01 ±0.62 ^b
4.32	76.66 ±0.33 ^a	90.89 ±0.24	89.29 ±0.09 ^b
4.82	78.56 ±0.53 ^b	91.17 ±0.38	90.14 ±0.34 ^b

* 同列数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$) ,Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$) .
干物质表观消化率(%) = $100 \times (1 - \text{饲料中的 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量} / \text{粪样中的 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量})$;
蛋白表观消化率(%) = $100 \times (1 - \text{饲料中的 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量} \times \text{粪样中的粗蛋白含量} / (\text{粪样中的 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量} \times \text{饲料中的粗蛋白含量}))$;
能量表观消化率(%) = $100 \times (1 - \text{饲料中的 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量} \times \text{粪样中的总能量含量} / (\text{粪样中的 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量} \times \text{饲料中的总能量含量}))$;
ADCd :Apparent digestibility coefficients of dry matter (%) = $100 \times (1 - \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ in the diet} / \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ in the feces})$;
ADCp :Apparent digestibility coefficients of crude protein (%) = $100 \times (1 - \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ in the diet} \times \text{crude protein content in feces} / (\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ in the feces} \times \text{crude protein in the diet}))$;
ADCe :Apparent digestibility coefficients of gross energy(%) = $100 \times (1 - \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ in the diet} \times \text{gross energy content in feces} / (\text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ in the feces} \times \text{gross energy in the diet}))$.

由表 5 可以看出,饲料的干物质表观消化率受饲料中赖氨酸水平的显著影响 ($P < 0.05$),赖氨酸含量为 2.32 %和 4.32 %的饲料组,其消化率明显低于赖氨酸含量为 1.82 %、3.32 %、3.82 %和 4.82 %的饲料组 ($P < 0.05$),与赖氨酸含量为 2.82 %的饲料组没有显著性差异 ($P > 0.05$),而以赖氨酸含量为 3.82 %的饲料组最高。饲料的蛋白表观消化率各饲料组间没有显著性差异 ($P > 0.05$),但以赖氨酸含量为 2.32 %的饲料组最高。赖氨酸含量为 2.32 %的饲料组,其能量表观消化率显著低于其他饲料组 ($P < 0.05$),以 4.82 %组最高。

2.4 生理生化指标

饲料中赖氨酸水平对异育银鲫生理生化指标的影响见表 6。赖氨酸含量为 3.32 %的饲料组,其空壳占体重的百分比 (GW/ BW) 最高,肝体指数最低,但组间均没有显著差异 ($P > 0.05$)。异育银鲫肝脏谷氨酸草酰乙酸转氨酶 (AST) 活性以 4.82 %组最高,谷氨酸丙酮酸转氨酶 (ALT) 活性以 1.82 %和 4.82 %组最高,3.32 %组最低,各饲料组间差异不显著 ($P > 0.05$)。血红蛋白含量以赖氨酸含量为 2.82 %的饲料组最高,4.82 %组最低;随着饲料中赖氨酸含量的升高,异育银鲫血液红细胞数下降,血清尿素氮含量升高,且血清尿素氮含量具有组间显著性差异 ($P < 0.05$)。

由图 4 看出,随着饲料中赖氨酸含量的增加,异育银鲫血浆中的游离赖氨酸和游离精氨酸含量具有相近的变化,但组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.5 异育银鲫的赖氨酸需要量

通过折线法 (Broken-line),由异育银鲫的特定生

长率与饲料中赖氨酸水平的相关性得到其赖氨酸需要量为占饲料的 3.27 %,占饲料蛋白的 8.52 %。(图 3)

$y = 0.042x + 1.319 (x < 3.27 \%)$

$y = -0.031x + 1.556 (x > 3.27 \%)$

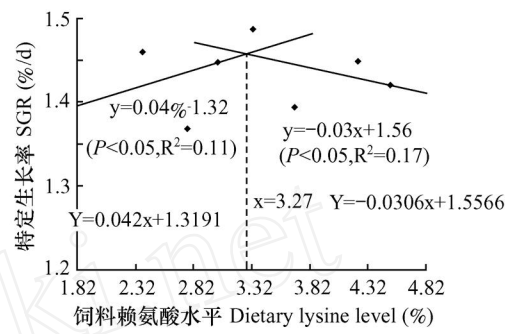


图 3 饲料中赖氨酸水平对异育银鲫特定生长率的影响
Fig.3 Effect of lysine levels in diets on specific growth rate of gibel carp

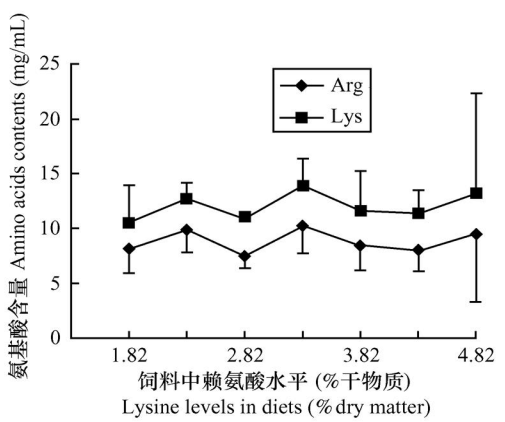


图 4 饲料中赖氨酸水平对异育银鲫血浆游离氨基酸的影响
Fig.4 Effect of lysine levels in diets on plasma free amino acids of gibel carp

表 6 饲料中不同赖氨酸水平对异育银鲫生理生化指标的影响(平均值 ±标准误) *

Tab.6 Effect of different dietary lysine levels on physiological and biochemical parameters of gibel carp (mean ±S. E.)

赖氨酸 (%干物质) Lysine level	1.82	2.32	2.82	3.32	3.82	4.32	4.82
空壳/ 体重 (%) CW/ BW	83.57 ±0.42 ^{ab}	83.63 ±0.26 ^{ab}	83.60 ±0.57 ^{ab}	84.85 ±0.24 ^a	82.46 ±0.51 ^b	83.62 ±0.09 ^{ab}	83.13 ±1.00 ^{ab}
肝脏/ 体重 (%) HSI	7.93 ±0.51	9.14 ±0.73	8.79 ±0.42	7.38 ±0.73	8.05 ±1.39	7.94 ±0.22	7.60 ±1.72
谷草转氨酶活性 AST(U/ g)	0.89 ±0.12	0.77 ±0.23	0.69 ±0.08	0.81 ±0.10	0.63 ±0.11	0.51 ±0.08	1.02 ±0.50
谷丙转氨酶活性 ALT(U/ g)	0.25 ±0.05	0.24 ±0.08	0.24 ±0.02	0.18 ±0.06	0.22 ±0.01	0.19 ±0.05	0.25 ±0.05
血红蛋白含量 Hb(g/ 100ml)	8.18 ±0.66	8.24 ±0.47	8.56 ±0.37	8.50 ±0.60	8.36 ±0.60	8.18 ±0.22	8.14 ±0.28
红细胞数 RBC(×10 ¹² /L)	1.51 ±0.04	1.41 ±0.16	1.34 ±0.34	1.25 ±0.04	1.26 ±0.08	1.13 ±0.04	1.04 ±0.10
血清尿素氮(mg/ 100ml)	17.28 ±1.51 ^b	20.07 ±1.47 ^{ab}	18.45 ±0.55 ^b	18.26 ±0.59 ^b	19.88 ±1.77 ^{ab}	22.40 ±0.78 ^a	20.03 ±0.88 ^{ab}

* 同行数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$), Means with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$)

CW/ BW: 鱼空壳占体重的百分比 (Carcass weight/ body weight ×100); HSI: 肝体指数 (Hepatosomatic index);

AST: 谷草转氨酶 (glutamic-oxalacetic transaminase); ALT: 谷丙转氨酶 (glutamic-pyruvic transaminase);

Hb: 血红蛋白 (Haemoglobin); RBC: 红细胞数 (Red blood cell).

3 讨论

3.1 异育银鲫对饲料中游离赖氨酸、蛋氨酸的吸收

不同的鱼类对游离氨基酸的利用能力不同。虹鳟 (*Salmo gairdneri* R.)、银大马哈鱼 (*Oncorhynchus punctatus*)、鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 和罗非鱼 (*Tilapia nilotica*) 等能很好地吸收利用游离氨基酸,而鲤 (*Cyprinus carpio*) 和沟鲈 (*Ictalurus punctatus*) 对饲料中游离氨基酸的利用能力较差,必须将饲料调至中性后才能吸收利用。本实验饲料已调至中性,结果表明异育银鲫能够吸收利用饲料中的游离赖氨酸。如果不调节饲料的 pH 值,异育银鲫能否利用饲料中的游离氨基酸还有待进一步研究。

关于鱼类对饲料中游离氨基酸的吸收速度,不同的研究者有不同的报道。Steven 等以混合氨基酸饲料投喂鲤,其血浆游离精氨酸和赖氨酸 2h 达到峰值,而其他氨基酸则在 4h 达到峰值。Schlisio & Nicolai 在用混合氨基酸饲料喂虹鳟时,血浆氨基酸水平在 12—24h 达到最大值。Ok I H 等^[11]给虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 灌注食物后,血浆中的游离氨基酸在 4h 达到高峰,24h 时回到最低水平。Watanabe 等^[12]在给黄条 (*Seriola quinqueradiata*) 投喂非鱼粉饲料时,赖氨酸和苏氨酸在 3h 达到高峰。Murai 等报道指出,给虹鳟灌注晶体氨基酸后 6h 达到高峰,24h 回到最低水平。本实验结果显示,在投喂后 3h,异育银鲫血浆中游离赖氨酸、蛋氨酸含量最高,与 Watanabe 等在黄条中得到的结果类似。Covey & Walton 指出,高峰期出现较晚可能因为饥饿时间太长,强制喂食也会导制体蛋白分解,加速蛋白代谢,使得血浆中游离氨基酸含量上升。

鱼类摄食氨基酸饲料后,其血浆中游离氨基酸达到峰值后短时间内即迅速下降,而结合蛋白中氨基酸的吸收较游离氨基酸慢,达到峰值的时间较长,并且在达到峰值后下降的速度也较为缓慢。本实验在投喂后 3h,对照饲料组和实验饲料(赖氨酸含量为 4.82%)组均达到峰值,但添加了游离氨基酸的饲料组较没添加组下降快,与 Stockland 的结果相同。

3.2 异育银鲫的赖氨酸需要量及与其他鱼类的比较

饲料中合理的赖氨酸水平,对鱼类来说相当重要。本实验根据饲料中赖氨酸水平与异育银鲫的特定生长率关系,得出其赖氨酸最适需要量为占饲料的 3.27%,占饲料蛋白含量的 8.52%。按其占蛋白含量比较,这一值高于大西洋鲑 (*Salmo salar* L.) 的

6.1%,大鳞大马哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*) 的 5.0%,鲤的 5.7%,南亚野鲮 (*Labeo rohita*) 的 5.88%,5.68%,印度鲤 (*Catla catla*) 的 6.20%,虹鳟的 6.1%和团头鲂 (*Megalobrama amblyocephala*) 的 7.68%^[13];也比印度大鲤 (*C. mrigala*) 的 5.75%^[14]和长吻 (*Leiocassis longirostris*) 的 6.54%^[15]高。导致赖氨酸需求量差异较大的因素有很多,鱼类的大小和年龄、投喂方式、投喂水平、其他营养物的含量、水温、水流、鱼类的密度和养殖条件等都会影响赖氨酸的需要量^[16]。饲料的可消化率、氨基酸模式和能量含量也会影响氨基酸的需要量^[17]。在同一种类里,品系不同其氨基酸需要量也会有差异^[18]。本实验所用鱼为幼鱼,养殖期间水温在 22℃ 左右,这可能是其需要量高于其他鱼类的原因之一。

3.3 饲料中赖氨酸水平对生长和饲料利用的影响

大量研究表明,当饲料中赖氨酸的含量不足时,鱼类生长缓慢,饲料利用率低。随着饲料中赖氨酸含量的增加,生长逐渐加快,饲料利用率也得到提高。当饲料中赖氨酸水平超过需要量时,其生长速度下降。这与本实验所得结论一致。鱼类不但对氨基酸总量有一定的要求,而且要求各种氨基酸的比例适当,即食物中所获得的氨基酸比例与鱼所需要的比例正好合适。赖氨酸作为鱼类的必需氨基酸之一,其含量不足,会导致氨基酸不平衡,影响鱼类对饲料蛋白源的利用;含量过高,又会引起新的不平衡,同样不利于鱼类的生长。多余的氨基酸经脱氨基作用,含氮的部分以氨、尿素和三甲胺形式等排出体外,不含氮的部分分解成水和二氧化碳,释放出能量,或形成脂肪积蓄^[19]。饲料中氨基酸不平衡,加重了鱼类的脱氨基作用,这是赖氨酸不足和过量影响生长和饲料利用的原因之一。

赖氨酸和精氨酸的拮抗作用在陆生动物中已经得到证实,但这一作用在鱼类的报道不一。Berge 等^[20]研究认为,大西洋鲑存在赖氨酸-精氨酸拮抗作用。Berge 等^[21]进一步从动力学方面研究了大西洋鲑赖氨酸和精氨酸的相互作用,认为赖氨酸和精氨酸共用刷状缘膜为载体,赖氨酸和精氨酸比例不同时,赖氨酸可以作为精氨酸的激活物或作为精氨酸的抑制物;而无论饲料中两者含量比例如何变化,精氨酸都是赖氨酸的抑制物。Chiu 等研究了饲料中两种阳离子 (Na^+ , K^+) 和精氨酸、赖氨酸是否对虹鳟的生长有影响,研究者认为饲料中的矿物盐和氨基酸之间互相影响,赖氨酸和精氨酸两者之间无拮抗作用。本实验通过测定异育银鲫摄食后 3h 时血

浆中的游离氨基酸含量发现,赖氨酸和精氨酸具有相近的变化趋势(图4),没有观察到赖氨酸和精氨酸的拮抗作用。尿素是精氨酸的代谢产物,本实验结果显示,随着饲料中赖氨酸含量的升高,血清尿素含量有上升的趋势,因此推测可能是赖氨酸加强了精氨酸的分解作用。关于赖氨酸和精氨酸之间的关系,还有待进一步的研究。

红细胞内含大量血红蛋白(Hb),红细胞的机能主要由血红蛋白完成。血红蛋白除作为血液缓冲物质而发挥作用外,其主要功能在于携带氧气(O_2)和二氧化碳(CO_2)。本实验结果显示,随着饲料中赖氨酸水平的提高,异育银鲫的血红蛋白含量升高;当饲料中的赖氨酸含量超过其需要量时,血红蛋白含量下降。红细胞数随着饲料中赖氨酸水平的提高而下降。红细胞数和血红蛋白含量降低影响了氧和营养物的运输也可能是其生长和饲料利用下降的原因之一。AST和ALT是广泛存在于动物细胞线粒体中的重要氨基转移酶,在机体蛋白质和氨基酸代谢中起着重要作用,其活性与氨基酸代谢强弱有关。本实验测得的肝脏AST、ALT活性随着饲料中赖氨酸水平的增加先下降,然后上升,在赖氨酸含量为4.82%组最高,说明当赖氨酸含量不足和过量时,氨基酸模式不平衡,部分氨基酸可能分解并以能量的形式消耗,而供应机体合成蛋白和其他生理需要的氨基酸量不足,因而导致生长和饲料利用下降。在赖氨酸含量为3.32%组,所测得的异育银鲫肝体指数最低、空壳重/体重最高,进一步说明了当赖氨酸含量不足和过量时,供应机体合成蛋白和其他生理需要的氨基酸量不足,因而生长和饲料利用下降。

参考文献:

- [1] Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, et al. Biological effect of heterologous sperm on gynogenetic offspring in *carassius auratus gibelio*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1983, 8: 1—13[蒋一,梁绍昌,陈本德,等.异源精子在异育银鲫雌核发育子代中的生物学效应.水生生物学报,1983,8: 1—13]
- [2] Cai C F, Liu Y, Chen L Q, et al. Metabolic responses of allogynogenetic gibelio carp after oral administration of different doses of glucose[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27: 602—606[蔡春芳,刘影,陈立乔,等.异育银鲫口服不同剂量葡萄糖后的代谢反应.水生生物学报,2003,27: 602—606]
- [3] Cai C F, Wu K, Pan X F. The effects of protein nutrition on growth and immunological activity of allogynogenetic silver crucian carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25: 590—596[蔡春芳,吴康,潘新法.蛋白质营养对异育银鲫生长和免疫力的影响.水生生物学报,2001,25: 590—596]
- [4] Ye Y Z, Zhou J F, Wang Z W, et al. Comparative studies on the DNA content from three strains of crucian carp, *Carassius auratus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28: 13—16[叶玉珍,周建峰,王忠卫,等.三个鲫品系DNA含量的比较研究.水生生物学报,2004,28: 13—16]
- [5] Small B C, Soares J H. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile striped bass *Morone saxatilis* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2000, 6: 207—212
- [6] Yan A S, Xiong C X, Zhou Z J, et al. The contain of meat ratio and evaluation of nutrient on gibel carp[J]. *Water Conservancy and Fishery*, 1998, 3: 16—19[严安生,熊传喜,周志军,等.异育银鲫的含肉率及营养评价.水利渔业,1998,3: 16—19]
- [7] Williams S. Official Methods of Analysis. 14th[M]. Washington: Science press. 1984, 1018
- [8] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37: 911—917
- [9] Zhu X L, Jia L Z, Zhang M Y. Hematological studies on the grass carp. Year-round changes in nine hematological parameters[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1985, 9: 248—257[朱心玲,贾丽珠,张明瑛.草鱼血液学研究.九项血液常数的周年变化.水生生物学报,1985,9: 248—257]
- [10] Bergmeyer, Hans-Ulrich. Methods of enzymatic analysis[M]. Verlag Chemie, GmbH press. 1981, 3: 416—424, 444—450
- [11] Ok I H, Bai S C, Park G J, et al. The patterns of plasma free amino acids after force-feeding in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) with and without dorsal aorta cannulation[J]. *Aquaculture Research*, 2001, 32: 70—75
- [12] Watanabe T, Aoki H, Shimamoto K, et al. A trial to culture yellowtail with non-fish meal diets[J]. *Fisheries Science*, 1998, 64: 505—512
- [13] Cowey C B, Walton M J. Studies on the uptake of ^{14}C -amino acids derived from both dietary ^{14}C -protein and dietary ^{14}C -amino acids by rainbow trout[J]. *Journal of Fish Biology*, 1988, 33: 293—305
- [14] Imtiaz A, Mukhtar A K. Dietary lysine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. *Aquaculture*, 2004, 235: 499—511
- [15] Xie S Q, He X Q, Yang Y X. Quantitative lysine requirement by long snout catfish fingerlings[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1997, 21: 1—7[解绍启,贺锡勤,杨云霞.长吻鮠幼鱼的赖氨酸需要量.水生生物学报,1997,21: 1—7]
- [16] Kim K I, Kayes T B, Amundson C H. Requirements for lysine and arginine by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 1992, 106: 333—344
- [17] Simmons L, Moccia R D, Bureau D P, et al. Dietary methionine requirement of juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1999, 5: 93—100
- [18] Akiyama T, Oohara I, Yamamoto T. Comparison of essential amino acid requirements with A/E ratio among fish species[J]. *Fisheries Science*, 1997, 63: 963—970
- [19] Ling D. The research development of fish nutrition[M]. Beijing: Science press, 1993, 171—193[林鼎.鱼类营养研究进展.北京:科学出版社,1993,171—193]

- [20] 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 Part A*, 1998, **120**: 477—485
- [21] Berge G E, Bakke-McKellep A M, Lied E. In vitro uptake and interaction between arginine and lysine in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 1999, **179**: 181—193

THE UTILIZATION AND REQUIREMENT OF DIETARY LYSINE FOR JUVENILE GIBEL CARP

ZHOU Xian-Jun^{1,2}, XIE Shou-Qi², XIE Cong-Xin¹, LEI Wu² and ZHU Xiao-Ming²

(1. Fisheries College, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070;

2. Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Wuhan 430072)

Abstract: Two experiments were conducted to investigate the utilization of crystal amino acids and the dietary requirement of lysine for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). Two kinds of formulated diets supplemented with crystal lysine or methionine were fed to fish and blood were sampled and plasma free amino acids content were determined. A 69-day growth trial was conducted to determine the quantitative dietary lysine requirement using diets containing white fish meal as the main source of protein, supplemented with crystalline amino acids. Seven isonitrogenous and isocaloric diets containing graded levels of lysine (1.82, 2.32, 2.82, 3.32, 3.82, 4.32 and 4.82g/100g, dry diet) were formulated. Fish were randomly stocked in triplicate groups in 56-l indoor flow-through tanks. The fish were fed to apparent satiation during the experiment.

The results showed that juvenile gibel carp is able to absorb dietary crystalline lysine and methionine, the highest content of free lysine and free methionine in plasma were observed at 3h after feeding. The highest specific growth rate (SGR), final body weight and carcass weight/body weight (CW/BW) were observed at 3.32% dietary lysine, while hepatosomatic index (HSI) was lowest. The apparent digestibility coefficients of dry matter was significantly affected by dietary lysine contents, and the highest value was observed at 3.82% group ($P < 0.05$). The apparent digestibility coefficients of gross energy was also significantly affected by dietary lysine concentrations, and the highest was observed at 2.32% group ($P < 0.05$). The apparent digestibility coefficients of crude protein were not significant between the groups ($P > 0.05$). The activity of liver glutamic-oxalacetic transaminase (AST) and the glutamic-pyruvic transaminase (ALT) was not significantly affected by dietary lysine. AST and ALT was highest at 4.82% group. Haemoglobin was highest at 2.82% group, and lowest at 4.82% group. With the increase in dietary lysine, the content of serum urea increased significantly ($P < 0.05$) while the number of red blood cell decreased.

The optimal dietary lysine requirement for maximum growth of *Carassius auratus gibelio* was 3.27% of dry matter or 8.52% of protein based on broken-line regression.

Key words: *Carassius auratus gibelio*; Lysine; Absorption; Utilization; Requirement