

## 军曹鱼幼鱼对吡哆醇的需要量

刘凯, 麦康森\*, 艾庆辉, 张文兵, 王小洁, 肖林栋, 任鸣春

(中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:**以初始体重( $3.23 \pm 0.06$ ) g的军曹鱼为研究对象,以酪蛋白(不含维生素)、明胶、鱼肉浓缩蛋白为蛋白源,在基础饲料中分别添加0、2、4、8、16和32 mg PN/kg,配制出6种实验饲料,使饲料中吡哆醇的水平分别达到0.22、1.89、3.87、7.54、14.75和29.88 mg PN/kg,研究军曹鱼对吡哆醇的需要量。养殖实验在室内流水系统中(250 L)进行,每个处理设3个重复,每个重复放养军曹鱼25尾。养殖实验过程中,海水盐度为30~34,水温28~32℃,溶氧>7 mg/L,养殖实验持续9周。实验结果显示,在0.22~3.87 mg PN/kg水平范围内,随着饲料中吡哆醇含量的升高,实验鱼特定生长率显著升高,当饲料吡哆醇水平达到或高于3.87 mg/kg时,各饲料组实验鱼的特定生长率(2.68~2.71 %/d)无显著差异,而都显著高于0.22和1.89 mg/kg饲料组的特定生长率(1.17~2.06 %/d) ( $P < 0.05$ )。军曹鱼肝脏吡哆醇含量、吡哆醛含量、谷丙转氨酶活力、谷草转氨酶活力均与特定生长率有相似的变化趋势,即在3.87 mg/kg饲料组接近或者达到最大值,在达到或超过3.87 mg/kg时达到或近似达到一平台。根据实验结果,以军曹鱼幼鱼特定生长率和谷丙转氨酶活力、谷草转氨酶活力分别拟合折线模型,得到军曹鱼幼鱼对饲料中吡哆醇的需要量为3.09~3.26 mg/kg饲料。

**关键词:**军曹鱼; 吡哆醇; 需要量; 鱼类营养

**中图分类号:**S 963.7

**文献标识码:**A

维生素B<sub>6</sub>是维持动物正常生理功能的一种必需营养物质,包括吡哆醇(pyridoxine)、吡哆醛(pyridoxal)和吡哆胺(pyridoxamine)3种衍生物。维生素B<sub>6</sub>的主要生理功能是作为动物体内超过100种酶反应的辅酶。其中比较重要的是作为氨基酸代谢中转氨酶和脱羧酶的辅酶,因此,维生素B<sub>6</sub>对于氨基酸代谢和蛋白质合成起着重要作用<sup>[1]</sup>。除此之外,维生素B<sub>6</sub>还参与动物体内的抗氧化反应<sup>[2]</sup>、DNA和RNA合成<sup>[3-4]</sup>、调节肾上腺素和白蛋白的基因表达<sup>[5-6]</sup>。很多鱼类已经被证实需要维生素B<sub>6</sub>,如大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)<sup>[7]</sup>、大西洋鲑(*Salmo salar*)<sup>[8]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[9]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[10]</sup>、印度鲈(*Heteropneustes fossilis*)<sup>[11]</sup>、金头鲷(*Spatrus aurata*)<sup>[12]</sup>、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[13]</sup>、

真鲷(*Pagellus bogaraveo*)<sup>[14]</sup>。以上进行的研究表明,鱼类对饲料中吡哆醇的需要量范围为1~6 mg/kg,而Shiau等<sup>[15]</sup>的研究表明杂交罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*)对饲料中吡哆醇的需要量相对较高,达到10~15 mg/kg。Halver<sup>[16]</sup>对大鳞大马哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)吡哆醇需要量的研究也得到了较高的需要量,达到17~20 mg/kg。

军曹鱼(*Rachycentron canadum*)隶属于鲈形目、鲈亚目、军曹鱼科、军曹鱼属,俗名海鲷、海龙鱼。主要分布于大西洋、印度洋、太平洋(东太平洋除外)等沿岸海域及港湾<sup>[17]</sup>。军曹鱼属肉食性鱼类,以小型鱼类、鱿鱼和甲壳类为食<sup>[18]</sup>。军曹鱼生长速度可以达到4~6 kg/a,在自然状态下,军曹鱼体长可以达到2 m,体重可达60 kg。军曹鱼肉质鲜美,可用于制作生鱼片<sup>[19]</sup>。军曹鱼因具

收稿日期:2008-04-02 修回日期:2008-10-12

资助项目:国家科技支撑计划(2006BAD03B03)

通讯作者:麦康森, E-mail: kmai@ouc.edu.cn

有个体大生长快产量高的特点,成为海水养殖的潜力品种之一。20世纪90年代军曹鱼的人工育苗获得成功,军曹鱼逐渐成为我国南方重要的养殖品种,然而在军曹鱼实际生产中一般采用冰鲜鱼投喂而不是配合饲料。因此,为了推动我国水产养殖业的健康发展,有必要对军曹鱼的营养学参数进行研究,为高效环保配合饲料的开发提供数据。

有关军曹鱼营养生理的研究已有相关报道<sup>[20-23]</sup>,而军曹鱼维生素需求方面的研究仅一篇<sup>[24]</sup>,有关军曹鱼吡哆醇方面的研究尚未见报道。本研究的目的是通过饲养实验确定军曹鱼对吡哆醇的需要量,为军曹鱼配合饲料的开发提供基础参考数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 饲料配方和制作

实验饲料基础配方设计参考 Chou 等<sup>[19]</sup>和 Craig 等<sup>[20]</sup>的方法(表1)。以酪蛋白(不含维生素)、明胶、鱼肉浓缩蛋白为蛋白源,以鱼油为脂肪源,以糊精为糖源,同时在饲料中添加一种混合诱食剂以改善军曹鱼的摄食。基础饲料粗蛋白和粗脂肪含量分别为47.1%和13.8%左右。矿物质预混物和维生素预混物参考 Zhou<sup>[21]</sup>的方法,但在维生素预混物中去除吡哆醇。6组实验饲料添加吡哆醇(Sigma)的梯度分别为0、2、4、8、16和32 mg/kg 饲料,实际吡哆醇含量用 HPLC (HP1100,美国)测定,实测值分别为0.22、1.89、3.87、7.54、14.75和29.88 mg/kg。

饲料组分按照从小到大的顺序,用逐级扩大法充分混合后加鱼油搅拌均匀,然后加水使之制成有一定硬度的面团,用双螺杆挤压机压出1.5 mm和2.0 mm的两种粒径的饲料,在避光通风处风干,然后用破碎机破碎至2~4 mm长的颗粒,用塑料袋装好密封后放于-20℃冰箱备用。

### 1.2 动物饲养管理

军曹鱼鱼苗选自海南省三亚市某鱼苗场当年孵化的同批鱼苗(6~8 cm)。实验开始前鱼苗先放在养殖系统内暂养,使用不添加吡哆醇的饲料(基础饲料)驯化2周使其适应实验饲料。驯化结束后挑选体格健壮、规格均一的军曹鱼苗进行分组。

实验设6个处理,每个处理安排3个重复,每

个重复放养25尾军曹鱼苗(3.23±0.06)g。实验期间每日人工投喂2次达饱足(09:00,17:00),每日投喂结束后吸污以保持水质,同时收集残饵烘干称重以获得饲料摄食量。实验采用流水系统,有效水体体积为每桶250 L(圆柱形,直径80 cm,高80 cm),实验期间养殖系统持续充气,流水速度不小于2 L/min,海水盐度30~34,水温28~32℃,溶氧不小于7 mg/L,养殖实验持续9周。

表1 基础饲料配方组成(干重)

Tab.1 Composition of basal diet (dry weight)

饲料成分 ingredients	含量(%) content
牛乳酪蛋白 bovine casein	36
明胶 gelatin	9
鱼粉浓缩蛋白 fish protein concentrate	5
糊精 dextrin	25
优质鱼油 fish oil	14
维生素混合物 <sup>a</sup> X-free vitamin mix	1.5
矿物质混合物 <sup>b</sup> mineral mix	4
氯化胆碱 choline chloride	0.2
维生素 cascorbic acid	0.3
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.05
诱食剂 <sup>c</sup> attractant	0.7
微晶纤维素 MCC + vitamin	4.25
主要成分	
粗蛋白(%) crude protein	47.1
粗脂肪(%) crude lipid	13.8

注:a. 维生素混合物(mg or g/kg diet): 维生素 B<sub>1</sub>, 25 mg; 核黄素, 45 mg; 维生素 B<sub>12</sub>, 0.1 mg; 维生素 K<sub>3</sub>, 10 mg; 肌醇 800 mg; 维生素 B<sub>3</sub>(泛酸), 60 mg; 烟酸, 200 mg; 叶酸, 20 mg; 生物素, 1.20 mg; 维生素 A, 32 mg; 维生素 D<sub>3</sub>, 5 mg; 维生素 E, 120 mg; 乙氧基喹啉, 150 mg; 糊精, 13.52 g;

b. 无机盐混合物(mg or g/kg diet): 氯化钠, 2 mg; 碘化钾, 0.8 mg; 氯化钴(1%), 50 mg; 硫酸铜, 10 mg; 硫酸铁, 80 mg; 硫酸锌, 50 mg; 硫酸锰, 60 mg; 硫酸镁, 1 200 mg; 磷酸二氢钙, 3 000 mg; 氯化钠, 100 mg; 沸石粉, 38.45 g;

c. 诱食剂组成(g/7g 预混物): 牛磺酸, 1 g; 甘氨酸, 3 g; 甜菜碱, 3 g。

Notes: a. Vitamin premix (mg or g/kg diet): Thiamin, 25 mg; riboflavin, 45 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 0.1 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 10 mg; inositol, 800 mg; pantothenic acid, 60 mg; niacin acid, 200 mg; folic acid, 20 mg; biotin, 1.20 mg; retinol acetate, 32 mg; cholecalciferol, 5 mg; alpha-tocopherol, 120 mg; ethoxyquin 150 mg; dextrin 13.52 g;

b. Mineral premix (mg or g/kg diet): NaF, 2 mg; KI, 0.8 mg; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O(1%), 50 mg; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 10 mg; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 80 mg; ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 50 mg; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 60 mg; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1 200 mg; NaCl, 100 mg; Zeolite, 38.45 g;

c. Attractant composition (g/7g premix): taurine, 1 g; glycine, 3 g; betaine, 3 g.

### 1.3 取样和样品的分析

实验结束时,实验鱼停喂24 h,对各处理组的实验鱼进行记数和称重。然后每桶随机取军曹鱼5尾,迅速解剖分离肝脏放-70℃保存,用于分析

肝脏维生素 B<sub>6</sub> 含量、谷丙转氨酶活力、谷草转氨酶活力。饲料和肝脏中吡哆醇含量的分析参照 Kimura 等<sup>[25]</sup> 和 Deitrick 等<sup>[26]</sup> 的方法,采用高效液相色谱(HPLC)进行。称取 0.5 g 组织或饲料样品,加入 4.5 mL 8% 的高氯酸匀浆。然后在 4 ℃、12 500 × g 下离心 10 min,上清液中加入 1 mL 正己烷抽提脂肪,然后去掉上层脂肪层,以 6 mol/L KOH 和 1 mol/L HCl 调节 pH 到 3.0,然后用惠普高效液相色谱系统(HP1100)检测,色谱柱为 Aquasil C18 柱(5 μm, 4 × 250 mm)。流动相 A 由 0.1 mol/L 磷酸二氢钾、0.1 mol/L 高氯酸钠和 0.5 g/L 亚硫酸氢钠组成,pH 用磷酸调至 3.0。流动相 B 由 30% 乙腈和 70% 超纯水(体积百分比 V:V)组成。以上所有试剂及样品上机前均通过 0.45 μm 滤膜过滤。流速为 0.8 mL/min,柱温 22 ℃。检测系统为荧光检测器,激发光 300 nm,发射光 400 nm。适量吡哆醇样品溶解在 0.01 mol/L HCl 中作为标准样品。

肝脏谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力使用赖氏法测定,样品的前处理参照 Casillas 等<sup>[27]</sup> 的方法。称取在 4 ℃下解冻的肝脏 0.5 g,加入 4 ml 冰冷的提取缓冲液(0.1 mol/L pH7.2 磷酸钠缓冲液;20% 非离子表面活性剂 TritonX-100;1.5 mmol/L 二硫苏糖醇),在 6 000 r/min 下匀浆 2 min。然后在 4 ℃下离心 20 min (12 500 × g),吸取上清液再次离心 20 min。单位酶活力定义为:反应溶液在波长 340 nm 下存在一吸光值,组织中每毫克蛋白在 25 ℃下反应 1 min 内生成的丙酮酸使 NADH 氧化成 NAD<sup>+</sup> 而引起该吸光值每下降 0.001 为一个酶活力单位。

#### 1.4 相关指标计算方法

实验鱼的特定生长率(SGR)、饲料效率(FCE)和蛋白质效率(PER),计算公式如下:

$$SGR = 100 \times [\ln W_f - \ln W_i] / \text{实验天数}$$

式中,  $W_f$ 、 $W_i$  分别表示平均末重(g)、平均初重(g);

$$FCE = \text{实验鱼体增重(g)} / \text{饲料消耗量(g)};$$

PER = 实验鱼体增重(g)/蛋白质摄入量(g)。

#### 1.5 数据统计分析

采用 SPSS 13.0 软件对实验数据进行单因素方差分析,如果差异显著( $P < 0.05$ ),则进行 Tukey 多重比较,显著性水平为  $P < 0.05$ 。采用折线模型对数据进行拟合<sup>[28]</sup>,计算军曹鱼对吡哆醇的需要量。

## 2 结果

### 2.1 饲料吡哆醇对军曹鱼成活率和生长的影响

各实验组的军曹鱼的成活率为 57.3% ~ 90.6%。各实验组军曹鱼成活率偏低,这是由于本实验使用的是精制饲料,虽然经过驯化但在实验早期有些鱼苗因无法适应实验饲料而死亡。其中,0.22 mg/kg 饲料组成活率最低(57.3%),其次为 1.89 mg/kg 饲料组(70.6%),这两组实验鱼成活率显著低于( $P < 0.05$ )其余各饲料组(分别为 90.6, 89.3, 88.0, 88.0%) (表 2)。但是军曹鱼的成活率在饲料中吡哆醇含量达到或超过 3.87 mg/kg 时差异不显著( $P > 0.05$ );不添加吡哆醇饲料组(0.22 mg/kg)军曹鱼特定生长率最低(1.17%/d),随着饲料吡哆醇含量的增加军曹鱼的特定生长率逐渐升高,而当饲料中吡哆醇达到或高于 3.87 mg/kg 时,特定生长率达到一平台(2.68 ~ 2.71%/d),各处理组的特定生长率差异不显著( $P > 0.05$ )。对照组军曹鱼的饲料效率(FCE)、蛋白质效率(PER)最低,分别为 0.40, 0.86,

表 2 饲料中不同的吡哆醇水平对军曹鱼成活率、特定生长率、饲料转化效率及蛋白质效率的影响

Tab. 2 Effects of dietary pyridoxine levels on survival, SGR, FCE and PER of cobia

饲料吡哆醇含量 (mg/kg) diet pyridoxine	初重(g) initial body weight	末重(g) final body weight	特定生长率 (%/d) SGR	饲料效率 FCE	蛋白质效率 PER	成活率 (%) survival
0.22	3.23 ± 0.06	6.70 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.17 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.04 <sup>a</sup>	57.3 ± 1.3 <sup>a</sup>
1.89	3.23 ± 0.06	11.33 ± 0.46 <sup>b</sup>	2.06 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.55 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.16 ± 0.04 <sup>b</sup>	70.6 ± 1.3 <sup>b</sup>
3.87	3.23 ± 0.06	17.88 ± 0.43 <sup>c</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.02 <sup>c</sup>	1.50 ± 0.03 <sup>c</sup>	90.6 ± 1.3 <sup>c</sup>
7.54	3.23 ± 0.06	17.74 ± 0.31 <sup>c</sup>	2.71 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.69 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.46 ± 0.02 <sup>c</sup>	89.3 ± 1.3 <sup>c</sup>
14.75	3.23 ± 0.06	17.63 ± 0.37 <sup>c</sup>	2.68 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.71 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.51 ± 0.03 <sup>c</sup>	88.0 ± 2.3 <sup>c</sup>
29.88	3.23 ± 0.06	18.01 ± 0.47 <sup>c</sup>	2.71 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.70 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.49 ± 0.02 <sup>c</sup>	88.0 ± 2.3 <sup>c</sup>

注:同列肩字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

显著低于吡哆醇添加组 ( $P < 0.05$ ), 随着饲料中吡哆醇含量的增加军曹鱼的 FCE 和 PER 上升直到一平台, 在饲料吡哆醇含量达到或者超过 3.87 mg/kg 时各组军曹鱼的 FCE 和 PER 差异不显著 ( $P > 0.05$ )。以特定生长率为评价指标, 通过拟合折线模型 [ $y = 2.696 - 0.533(3.089 - x)$ ,  $R^2 = 0.998$  当  $x > 3.089$  时,  $(3.089 - x) = 0$ ], 计算得到军曹鱼对吡哆醇的需要量为 3.09 mg/kg 饲料 (图 1)。

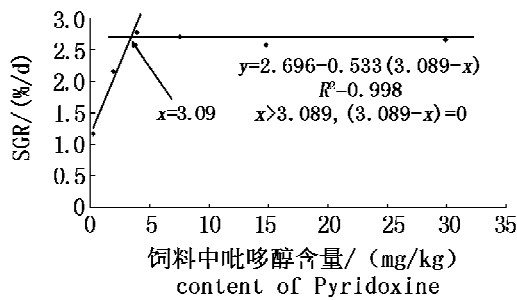


图 1 饲料中不同吡哆醇水平对军曹鱼特定生长率的影响

Fig.1 Relationship between dietary pyridoxine and SGR of cobia

## 2.2 肝脏谷丙转氨酶活力 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 的活力

在 0.22 mg/kg PN 饲料组军曹鱼肝脏 ALT 和 AST 活力分别是 1.68 U/mg 和 10.30 U/mg 蛋白 (表 3), 都显著低于其他各饲料组 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。随着饲料中吡哆醇含量的增加, 军曹鱼肝脏 ALT 活力逐渐升高, 在 3.87 mg/kg 饲料组 (2.68 U/mg protein) 出现拐点, 在高于 3.87 mg/kg 组的各处理组中军曹鱼肝脏的 ALT 活力和无显著差异 (2.68 ~ 2.71 U/mg protein) ( $P > 0.05$ )。军曹鱼肝脏 AST 活力随着饲料中吡哆醇含量的增加也从 10.30 U/mg protein 上升至 12.63 U/mg protein, 在饲料吡哆醇含量大于或者等于 3.87 mg/kg 各饲料组无显著差异 (12.52 ~ 12.63 U/mg protein) ( $P > 0.05$ )。以军曹鱼肝脏 ALT 活力、AST 活力为评价指标, 通过拟合折线模型 [ $y = 2.649 - 0.307(3.264 - x)$ ,  $R^2 = 0.985$ , 当  $x > 3.264$  时,  $(3.264 - x) = 0$ ;  $y = 12.62 - 0.686(3.676 - x)$ ,  $R^2 = 0.973$ , 当  $x > 3.676$  时,  $(3.676 - x) = 0$ ], 分别计算得到军曹鱼对吡哆醇的需要量分别为 3.26 mg/kg 饲料和 3.68 mg/kg 饲料 (图 2)。

表 3 饲料中不同吡哆醇水平对军曹鱼肝脏谷丙转氨酶活力和谷草转氨酶活力以及磷酸吡哆醇和磷酸吡哆醛含量的影响

Tab.3 Effects of dietary pyridoxine levels on hepatic ALT and AST activity, and hepatic PN and PLP concentrations of cobia

饲料吡哆醇含量 (mg/kg) diet pyridoxine	肝脏吡哆醇含量 ( $\mu\text{g/g}$ ) hepatic PN	肝脏吡哆醛含量 ( $\mu\text{g/g}$ ) hepatic PLP	肝脏谷丙转氨酶活力 (U/mg 蛋白) hepatic ALT	肝脏谷草转氨酶活力 (U/mg 蛋白) hepatic AST
0.22	2.17 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.83 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	1.68 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	10.30 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
1.89	3.25 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	1.53 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	2.16 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>	11.39 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>
3.87	3.80 $\pm$ 0.17 <sup>bc</sup>	1.90 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	2.68 $\pm$ 0.23 <sup>bc</sup>	12.52 $\pm$ 0.22 <sup>c</sup>
7.54	4.22 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>	2.15 $\pm$ 0.07 <sup>d</sup>	2.61 $\pm$ 0.18 <sup>cd</sup>	12.63 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>
14.75	4.25 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	2.18 $\pm$ 0.09 <sup>d</sup>	2.47 $\pm$ 0.35 <sup>d</sup>	12.59 $\pm$ 0.27 <sup>c</sup>
29.88	4.23 $\pm$ 0.21 <sup>c</sup>	2.17 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>	2.64 $\pm$ 0.14 <sup>d</sup>	12.61 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>

注: 同列肩字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with different superscripts in the same column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

## 2.3 肝脏磷酸吡哆醇 (PN) 和磷酸吡哆醛 (PLP) 的含量

军曹鱼肝脏 PN 和 PLP 的含量在对照组最低, 分别为 2.17  $\mu\text{g/g}$  和 0.83  $\mu\text{g/g}$ 。随饲料中吡哆醇含量 (0.22、1.89、3.87 和 7.54 mg/kg) 的升高军曹鱼肝脏 PN 和 PLP 的含量显著升高 (表 3)。而当饲料中吡哆醇含量高于 7.54 mg/kg

时, 军曹鱼肝脏的 PN 和 PLP 没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 分别为 (4.22 ~ 4.25  $\mu\text{g/g}$ ) 和 (2.15 ~ 2.18  $\mu\text{g/g}$ )。以军曹鱼肝脏 PN 和 PLP 的含量为评价指标分别拟合折线模型 [ $y = 4.261 - 0.2594(6.85 - x)$ ,  $R^2 = 0.848$ , 当  $x > 6.85$  时,  $(6.85 - x) = 0$ ;  $y = 2.1849 - 0.1674(6.87 - x)$ ,  $R^2 = 0.839$ , 当  $x > 6.87$  时,  $(6.87 - x) = 0$ ], 分别计算

得到军曹鱼对吡哆醇的需要量为 6.85 mg/kg 饲料和 6.87 mg/g 饲料(图 3)。

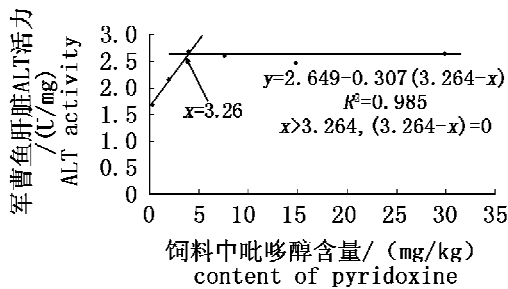


图 2 饲料中不同吡哆醇水平对军曹鱼肝脏谷丙转氨酶活性的影响

Fig. 2 Relationship between dietary pyridoxine and hepatic ALT activity of cobia

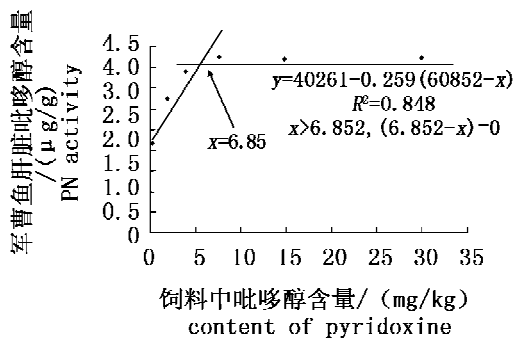


图 3 饲料中不同吡哆醇水平对军曹鱼肝脏吡哆醇的影响

Fig. 3 Relationship between dietary pyridoxine and hepatic PN activity of cobia

### 3 讨论

实验结果表明,饲料中吡哆醇缺乏显著降低了军曹鱼的生长和存活率,而随着饲料中吡哆醇含量升高,军曹鱼的生长和存活有先逐渐升高后达到一平台的趋势,这说明吡哆醇是军曹鱼生长和存活必需的营养素。分别以军曹鱼特定生长率、肝脏 ALT 为评价指标,通过拟合折线模型,得到军曹鱼对吡哆醇的需要量 3.09 ~ 3.26 mg/kg 饲料,这个结果与印度鲈(3.21 mg/kg)<sup>[11]</sup>、斑点叉尾鲟(3 mg/kg)<sup>[13]</sup>、虹鳟(2 ~ 6 mg/kg)<sup>[9]</sup>、红色杂交罗非(3 mg/kg)<sup>[29]</sup>、黄尾鲮(3 mg/kg)<sup>[30]</sup>对吡哆醇的需要量相似,而高于金头鲷(1.97 mg/kg)<sup>[12]</sup>、大菱鲆(1 ~ 2.5 mg/kg)<sup>[7]</sup>、玛拉巴石斑鱼(1.27 ~ 2.89 mg/kg)<sup>[31]</sup>的需要

量。但是,低于鲤(5 ~ 6 mg/kg)<sup>[10]</sup>、真鲷(5 ~ 6 mg/kg)<sup>[14]</sup>、杂交罗非鱼(15.0 ~ 16.5 mg/kg)<sup>[15]</sup>、大鳞大马哈鱼(17 ~ 20 mg/kg)<sup>[16]</sup>的需要量。这种差异可能是由于实验条件、种间差异、实验饲料、评价方法不同<sup>[11]</sup>而引起的。即使对于同种鱼类,饲料中不同蛋白水平也会影响其对吡哆醇的需要量<sup>[16]</sup>,Shiau 等<sup>[15]</sup>在红色杂交罗非鱼中发现随饲料蛋白含量从 28% 升高到 36% 时,红色杂交罗非鱼对吡哆醇的需要量也从 1.7 ~ 9.5 mg/kg 提高到 15.0 ~ 16.5 mg/kg,鱼体肝脏的转氨酶活力也随饲料中蛋白含量上升而升高,因此,饲料中的蛋白质水平是影响鱼类对吡哆醇需要量的一个因素。

在吡哆醇缺乏饲料组的军曹鱼出现了缺乏症状。主要表现为饲料转化效率下降、死亡率上升、厌食、游动异常、体色发黑。这些症状与在日本鳊<sup>[32]</sup>、红色杂交罗非<sup>[29]</sup>、斑点叉尾鲟<sup>[13]</sup>、金头鲷<sup>[12]</sup>、亚洲鲈鱼<sup>[33]</sup>等研究中发现的缺乏症相似。5-磷酸吡哆醛是吡哆醇在体内的重要活性形式,5-磷酸吡哆醛是很多合成反应特别是蛋白质和氨基酸合成的关键酶辅助基团;5-磷酸吡哆醛还参与生物体内神经递质 5-羟色胺的合成<sup>[12]</sup>。因此,在吡哆醇缺乏时军曹鱼会出现与蛋白质合成异常和神经系统异常相关的症状。

在本实验条件下,吡哆醇的缺乏造成了军曹鱼死亡率的上升,这说明吡哆醇的缺乏影响了军曹鱼的存活;这与 Mohamed<sup>[11]</sup>在印度鲈的研究结果相类似。在一定范围内饲料转化效率随着饲料中吡哆醇含量的升高而升高,而当饲料吡哆醇含量达到最适需要量后,继续增加饲料中的吡哆醇含量并不能显著提高饲料转化效率。因此吡哆醇的缺乏显著降低了军曹鱼的饲料效率;各实验组饲料的蛋白质效率也有同样的趋势。可见,吡哆醇影响了蛋白质代谢,吡哆醇的缺乏造成蛋白质代谢异常从而降低了饲料效率和蛋白质效率。同时,也影响了鱼体内与吡哆醇相关的各种代谢过程,严重的吡哆醇缺乏会造成军曹鱼的蛋白质代谢异常、体质下降进而死亡。当饲料中的吡哆醇含量高于其最适需要量时,继续增加饲料中的吡哆醇含量没有显著提高饲料效率和蛋白质效率,但这并不意味着高吡哆醇含量对军曹鱼无影响。饲料中高于最适需要量的吡哆醇含量对军曹鱼生理和免疫功能的影响,有待于后续的研究来

揭示。

增重率、肝脏谷丙转氨酶活力和肝脏吡哆醇含量在已经进行的研究中被用作评价动物对吡哆醇需要量的指标。增重率是最为常用的一个评价指标,但是仅以增重率作为评价指标确定鱼类对维生素的需要量是不合适的,因为动物可以沉积大量的脂肪而无实际意义的生长<sup>[34-35]</sup>。肝脏是鱼类蓄积维生素的一个代表性器官,因此鱼类对维生素的最适需要量可以根据其在肝脏组织中的蓄积量来确定<sup>[11]</sup>。

从结果中可以看出,以军曹鱼肝脏吡哆醇蓄积量为评价指标得到的需要量要高于以生长和转氨酶为评价指标的需要量,Wu<sup>[31]</sup>的研究也有类似结果。这是由于水溶性的吡哆醇易于从肝脏流失。因此,以肝脏吡哆醇蓄积量为评价指标得到的军曹鱼对吡哆醇的需要量要高于以生长和转氨酶为评价指标的需要量,本研究中军曹鱼对吡哆醇的需要量应以生长和肝脏 ALT 为评价指标。有关吡哆醇在军曹鱼体内代谢和储存的动态关系有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Leklem J E. Vitamin B<sub>6</sub>: Present knowledge in nutrition [M]. 7th ed. Washington: International Life Sciences Institute Press, 1996: 83 - 174.
- [2] Grimble R F. Modification of inflammatory aspects of immune function by nutrients [J]. Nutr Res, 1998, 18: 317 - 1297.
- [3] Trakatellis A, Dimitriadou A. Effect of pyridoxine deficiency on immunological phenomena [J]. Postgrad Med J, 1992, 68 (Suppl 1. ): 7 - 70.
- [4] Trakatellis A, Dimitriadou A. Pyridoxine deficiency: new approaches in immune suppression and chemotherapy [J]. Postgrad Med J, 1997, 73: 17 - 22.
- [5] Allgood V E, Cidlowski J A. Novel role for vitamin B<sub>6</sub> in steroid hormone action: a link between nutrition and the endocrine system [J]. J Nutr Biochem, 1991, 2: 34 - 523.
- [6] Natori Y, Oka T. Vitamin B<sub>6</sub> modulation of gene expression [J]. Nutr Res, 1997, 17: 199 - 207.
- [7] Adron J W, Knox D, Cowey C B. Studies on the nutrition of marine flatfish: The pyridoxine requirement of turbot *Scophthalmus maximus* [J]. Br J Nutr, 1978, 40: 261 - 268.
- [8] Halver J E. Nutrition of salmonoids fishes; III Water-soluble vitamin requirements of Chinook salmon [J]. J Nutr, 1957, 62: 225 - 243.
- [9] Woodward B. Dietary requirements of some water-soluble vitamins for young rainbow trout [C]// Toronto Ontario : Proceeding of the 25th Annual Nutrition Conference for Feed Manufactures, 1989: 25 - 33.
- [10] Ogino C. B vitamin requirements of carp, *Cyprinus carpio*: I. Deficiency symptoms and requirements of vitamin B<sub>6</sub> [J]. Bull Jan Soc Sci Fish, 1965, 31: 546 - 551.
- [11] Mohamed J S. Dietary pyridoxine requirement of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* [J]. Aquaculture, 2001, 194: 327 - 335.
- [12] Kissil G W, Cowey C B, Adron J W, et al. Pyridoxine requirements of the gilthead bream, *Spatrus aurata* [J]. Aquaculture, 1981, 23: 243 - 255.
- [13] Andrews J W, Murai T. Pyridoxine requirements of channel catfish [J]. J Nutr, 1979, 109: 533 - 537.
- [14] Takeda T, Yone Y. Studies of nutrition of red seabream. 2. Comparison of vitamin B<sub>6</sub> requirement level between fish fed a synthetic diet and fish fed beef liver during prefeeding period [M]. Kyushu Univ: Rep Fish Res Lab, 1971: 37 - 47.
- [15] Shiao S Y, Hsieh H L. Vitamin B<sub>6</sub> requirements of tilapia *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* fed two dietary protein concentrations [J]. Fish Sci, 1997, 63: 1002 - 1007.
- [16] Halver J E. The vitamins: Fish Nutrition [M]. 3rd ed. New York: Academic Press, 2002: 66 - 98.
- [17] Brown-Peterson N J, Grier H J, Overstreet R M. Annual changes in germinal epithelium determine male reproductive classes of the cobia [J]. J Fish Biol, 2002, 60: 178 - 202.
- [18] Franks J S, Garber N M, Warren J R. Stomach contents of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, from the Northern Gulf of Mexico [J]. Fish Bull, 1996, 94: 374 - 380.
- [19] Chou R L, Su M S, Chen H Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia *Rachycentron canadum* [J]. Aquaculture, 2001, 261: 384 - 391.
- [20] Craig S R, Schwarz M H, McLean E. Juvenile cobia *Rachycentron canadum* can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics [J]. Aquaculture, 2006, 193: 81 - 89.

- [21] Zhou Q C, Wu Z H, Chi S Y, *et al.* Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Aquaculture*, 2007, 273: 634 – 640.
- [22] Zhou Q C, Wu Z H, Tan B P, *et al.* Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 258: 551 – 557.
- [23] 刘兴旺, 谭北平, 麦康森, 等. 饲料中不同水平 n-3 HUFA 对军曹鱼生长及脂肪酸组成的影响 [J]. *水生生物学报*, 2007, 31(2): 190 – 195.
- [24] 王广军, 谢骏, 吴锐全, 等. 军曹鱼饲料中 VE、VC、胆碱、肌醇适宜添加量的研究 [J]. *浙江海洋学院学报*, 2006, 25(1): 10 – 14.
- [25] Kimura M, Kanehira K, Yokoi K. Highly sensitive and simple liquid chromatographic determination in plasma of B<sub>6</sub>, vitamers, especially pyridoxal 5-phosphate [J]. *J Chro A*, 1996, 722: 295 – 301.
- [26] Deitrick C L, Katholi R E, Huddleston D J, *et al.* Clinical adaptation of a high-performance liquid chromatographic method for the assay of pyridoxal 5-phosphate in human plasma [J]. *J Chro A*, 2001, 751: 383 – 387.
- [27] Casillas E, Sundquist J, Ames W E. Optimization of assay conditions for, and the selected tissue distribution of, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase of English sole *Parophrys vetulus* girard [J]. *J Fish Biol*, 1982, 21: 197 – 204.
- [28] Robbins K R, Norton H W, Baker D H. Estimation of nutrient requirements from growth data [J]. *J Nutr*, 1979, 109: 1710 – 1714.
- [29] Lim C, LeaMaster B R, Brock J A. Pyridoxine requirement of fingerling red hybrid tilapia grown in seawater [J]. *J Appl Aquacult*, 1995, 5: 49 – 60.
- [30] Shimeno S. Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*: Handbook of nutrition requirement of finfish [M]. Boca Raton: CRC Press, 1991: 181 – 191.
- [31] Wu M S. Vitamin B<sub>6</sub> requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon* and juvenile malabar grouper, *Epinephelus malabaricus* [D]. Taiwan: National Taiwan Ocean University, Keelung, 2000: 14 – 65.
- [32] Arai S T, Nose T, Hashimoto Y. Qualitative requirements of young eels *Anguila japonica* for water soluble-vitamins and their deficiency symptoms [J]. *Bull Freshwater Fish Res Lab Tokyo*, 1972, 22: 69 – 83.
- [33] Wanakowat J, Boonyaratpalin M, Pimoljinda T, *et al.* Vitamin B<sub>6</sub> requirement of juvenile seabass, *Lates calcarifer* [C] // Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture. Tokyo, Japan: Tokyo University of Fisheries, 1990: 141 – 147.
- [34] Phillips A M, Brockway D R. The nutrition of trout: IV. Vitamin requirements. [J]. *Fish Cult*, 1957, 19: 119 – 123.
- [35] Nanton D A, Lall S P, McNiven M A. Effects of dietary lipid level on liver and muscle lipid deposition in juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L [J]. *Aquacult Res*, 2001, 32: 225 – 234.

## Dietary pyridoxine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)

LIU Kai, MAI Kang-sen<sup>\*</sup>, AI Qing-hui, ZHANG Wen-bing,

WANG Xiao-jie, XIAO Lin-dong, REN Ming-chun

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

**Abstract:** Vitamin B<sub>6</sub> or pyridoxine in the form of pyridoxal phosphate participates as a prosthetic group of enzymes in a large number of metabolic reactions, particularly those associated with the metabolism of proteins and amino acids. With the success of artificial propagation and larval production, the culture of cobia becomes widely distributed in southern coastal provinces of China (especially in Guangdong and Hainan Provinces) as well as Southeast Asia. However, currently the growth of cobia heavily depends on trash fish and the development of formulated feeds for cobia is still in its infancy. The objective of this study is to detect the optimal requirement of pyridoxine in diet of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. Basal diet was formulated using vitamin-free casein, gelatin and fish protein concentrate as the protein source. The graded levels of PN (0, 2, 4, 8, 16 and 32 mg/kg diet) were added to the basal diets to formulate six experimental diets containing 0.22, 1.89, 3.87, 7.54, 14.75 and 29.88 mg PN/kg diet, analyzed by HPLC, respectively. Each diet was fed to three replicate groups of cobia in 300 L tanks for 9 weeks, and each tank was stocked with 25 fish [initial weight (3.23 ± 0.06) g]. The water salinity was from 30 to 34, temperature fluctuated from 28 to 32 °C and dissolved oxygen was above 7 mg/L. The results showed that specific growth rate (SGR) have an increasing trend with the increase of dietary pyridoxine (from 0.22 to 3.87 mg/kg), but no significant differences were observed among diets containing 3.87 mg/kg PN or above. The contents of PN and AST in liver of fish fed diets with 3.87 mg/kg were significantly higher than the treatments with the contents of PN lower than 3.87 mg/kg, however, there were no significant differences among diets containing 3.87 – 29.88 mg/kg PN. The contents of PLP and the activities of ALT of the diet containing 7.54 mg/kg PN were significantly higher than the diets containing PN < 7.54 mg/kg, however, no significant differences were discovered among diets containing PN > 7.54 mg/kg. The dietary pyridoxine requirement was estimated to be 3.09 – 3.26 mg/kg by the broken-line model based on the SGR, and the activities of ALT in fish liver.

**Key words:** *Rachycentron canadum*; pyridoxine; requirement; fish nutrition

**Corresponding author:** MAI Kang-sen. E-mail: kmai@ouc.edu.cn