

文章编号:1000-0615(2009)05-0813-10

草鱼幼鱼对异亮氨酸的需要量

尚晓迪¹, 罗莉¹, 文华², 高文¹, 王庆水¹, 胥辉¹

(1. 西南大学动物科技学院水产系, 重庆 400716;

2. 中国水产科学研究院长江水产研究所淡水生态与健康养殖重点开放实验室, 湖北荆州 434000)

摘要:以初始体重(8.25±0.37)g的草鱼幼鱼为试验对象,分别采用异亮氨酸(isoleucine, Ile)水平为0.77%、1.07%、1.37%、1.67%、1.97%和2.27% 6组等氮(粗蛋白35.25%)半纯化日粮对草鱼进行了72d生长试验,研究其日粮异亮氨酸需要量。结果表明:(1)日粮Ile水平为1.67%时,草鱼增重率、特定生长率和蛋白质效率最高,饲料系数最低;鱼体空壳率和肥满度达到最大值,内脏指数最小;草鱼体水分、体脂最低,体蛋白、灰分最高;肌肉水分最低,粗蛋白最高。而各水平之间肌肉粗脂肪无显著差异($P > 0.05$);日粮Ile水平为1.67%时,草鱼肌肉Ile含量和肌肉氨基酸总量最高。(2)随日粮Ile水平增加,肌肉RNA/DNA呈先升后降趋势,Ile 1.67%水平组最高;而肝脏谷氨酸脱氢酶却呈先降后升趋势,Ile 1.67%水平组最低。血氨在Ile 0.77%~1.67%水平组之间处于稳定状态,高于1.67%水平后呈上升趋势。血清白蛋白受日粮Ile水平的影响不显著($P > 0.05$)。(3)随日粮Ile水平增加,血清甘油三酯和胆固醇均呈先降后升趋势,且在Ile 1.67%水平组,两项指标均为最低值,显著低于其他水平组($P < 0.05$)。根据增重率、特定生长率、饲料系数和蛋白质效率与日粮Ile水平的二次曲线关系,确定草鱼幼鱼日粮(粗蛋白35.25%)Ile适宜需要量范围为1.41%~1.49%(日粮基础)或4.0%~4.23%(日粮蛋白基础)。

关键词:草鱼;异亮氨酸;生长;代谢;需求量

中图分类号:S 963

文献标识码:A

异亮氨酸(isoleucine, Ile),属支链氨基酸,是水产动物必需氨基酸之一。目前,国外学者已对海鳗(*Muraenesox cinereus*)^[1]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[1]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[2]、大麻哈鱼(*Oncorhynchus spp.*)^[2]、鲈(*Parasilurus asotus*)^[3]、虱目鱼(*Chanos chanos* Forsskal)^[4]和斑节对虾(*Penaeus monodon* Fabricius)^[5]的Ile需求展开了研究,而国内未见水产动物对该氨基酸需求研究的相关报道。草鱼是我国最主要的淡水养殖品种之一,对其氨基酸需求的研究目前仅限于赖氨酸^[6-7]、蛋氨酸^[8]和精氨酸^[8]。本试验研究了Ile对草鱼生长及生理效应的影响,旨在获得草鱼幼鱼Ile需要量,同时初步探讨Ile对草鱼的营养作用机理,为确定草鱼饲料理想蛋白模式奠

定理论基础,亦为研制草鱼营养平衡,特别是氨基酸平衡的人工配合饲料提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼及其驯饲

草鱼鱼种购自重庆北碚歇马渔场,体重(8.25±0.37)g。选取体质健壮、规格整齐的个体分配到已编号网箱。用基础饲料进行10d的驯养和预饲。待草鱼正常摄食后,按照随机分组法分组,进入正式试验。

1.2 试验日粮

基础日粮为半精制饲料(表1),其蛋白源由酪蛋白、明胶、玉米蛋白粉和包膜氨基酸混合物组成。氨基酸混合物的包膜参照王冠等^[9]方法。

收稿日期:2008-05-25

修回日期:2008-11-24

资助项目:国家“十一五”科技支撑计划(2006BAD03B03)

通讯作者:罗莉, E-mail: luoli1972@163.com

因本试验选用鱼种均重为 8.25 g,故设计基础日粮蛋白质水平为 35.25% (实测值),其氨基酸组成模式参照草鱼幼鱼全鱼蛋白质的氨基酸组成模式^[10] (Ile 除外)。基础日粮氨基酸组成见表 2。

表 1 基础日粮配方及其营养组成
Tab.1 Formulation and chemical composition of the basal diet

组分 ingredient	含量 (g/kg) content	营养组成(实测值) nutritional level(measured value)	含量 (%) content
酪蛋白 casein	50	干物质 dry matter	90.24 ± 0.27
明胶 gelatin	70	粗蛋白 crude protein	35.25 ± 0.32
玉米蛋白粉 corn gluten meal	250	粗脂肪 crude lipid	5.93 ± 0.10
氨基酸混合物 amino acid mixture ¹	107	灰分 ash	2.99 ± 0.07
糊精 dextrin	130	异亮氨酸 Isoleucine	0.769
玉米淀粉 corn starch	200		
纤维素粉 cellulose	83		
豆油 soybean oil	60		
添加剂预混料 additive premixture ²	10		
磷酸二氢钙 calcium biphosphate	20		
谷氨酸 glutamic acid	20		

注:1. 氨基酸混合物见表 2; 2. 添加剂预混料为每千克全价日粮提供铁,150 mg; 铜,3.2 mg; 锌,34.1 mg; 锰,13.0 mg; 碘,5.7 mg; 硒,0.3 mg; 钴,12.4 mg; 维生素 A,2 000.0 IU; 维生素 D,2 000.0 IU; 维生素 E,100.0 mg; 维生素 K₃,10.0 mg; 维生素 B₁,5.0 mg; 维生素 B₂,10.0 mg; 烟酸,100.0 mg; 维生素 B₆,10.0 mg; 泛酸钙,40.0 mg; 叶酸,5.0 mg; 维生素 B₁₂,0.02 mg; 生物素,1.0 mg; 维生素 C,300 mg
Notes:1. Amino acid mixture was showed in Tab. 2; 2. additive premixture (provide mg or IU to diet per kg) Fe,150 mg; Cu,3.2 mg; Zn,34.1 mg; Mn,13.0 mg; I,5.7 mg; Se,0.3 mg; Co,12.4 mg; vitamin A,2 000.0 IU; vitamin D,2 000.0 IU; vitamin E,100.0 mg; vitamin K₃,10.0 mg; vitamin B₁,5.0 mg; vitamin B₂,10.0 mg; niacin acid,100.0 mg; vitamin B₆,10.0 mg; calcium pantothenic acid,40.0 mg; folic acid,5.0 mg; vitamin B₁₂,0.02 mg; biotin,1.0 mg; vitamin C,300 mg

表 2 基础日粮氨基酸组成
Tab.2 Essential amino acid composition of the basal diet % dry mater

氨基酸 amino acid	酪蛋白-明胶-玉米蛋白粉 provided by casein-gelatin-zein	氨基酸混合物 provided by AA mixture	35% 全鱼氨基酸模式 amount in 35 g whole-body protein	必需氨基酸实测值 EAA in the diet (measured value)
必需氨基酸 essential amino acid				
精氨酸 Arginine (Arg)	0.995	0.920	1.915	2.020
组氨酸 Histidine (His)	0.410	0.622	1.032	1.093
异亮氨酸 Isoleucine (Ile)	0.770		1.565	0.769
亮氨酸 Leucine (Leu)	2.568	0.268	2.836	2.849
赖氨酸 Lysine (Lys)	0.851	2.400	3.251	3.260
蛋氨酸 Methionine (Met)	0.474	0.622	1.096	1.099
苏氨酸 Threonine (Thr)	0.723	0.657	1.380	1.375
苯丙氨酸 Phenylalanine (Phe)	1.069	0.496	1.565	1.566
色氨酸 Tryptophane (Trp)	0.138	0.258	0.396	ND*
缬氨酸 Valine (Val)	0.976	0.820	1.796	1.817
非必需氨基酸 non-essential amino acids				
胱氨酸 Cysteine (Cys)	0.229	0.148	0.377	0.382
丙氨酸 Alanine (Ala)	1.399	0.802	2.201	2.314
丝氨酸 Serine (Ser)	0.948	0	0.948	1.012
甘氨酸 Glycine (Gly)	1.917	0.754	2.671	2.651
天门氨酸 Asparagine (Asp)	2.901	0.534	3.435	3.430
脯氨酸 Proline (Pro)	1.412	0.964	2.376	2.335
酪氨酸 Tyrosine (Tyr)	0.132	0.890	1.022	0.995
谷氨酸 Glutamic (Glu)	2.114	1.007	5.121	5.020

注: * 色氨酸没有检测

Notes: * means not detected

试验日粮采用单因子浓度梯度法设计。在基础日粮中添加 0.00%、0.30%、0.60%、0.90%、1.20%、1.50% 的 L-Ile,使试验日粮 Ile 水平达到 0.77%、1.07%、1.37%、1.67%、1.97%、

2.27%,每一梯度递增0.30%。同时,调节日粮L-谷氨酸(Glu)含量,以0.30%的梯度水平递减,维持日粮氮平衡。配制好的试验日粮用6 mol/L的NaOH调节饲料pH达中性^[11],加工成为2 mm粒径的颗粒,60℃烘箱中烘干,塑料袋分装,-20℃保存备用。

1.3 试验鱼的分组与饲养管理

根据日粮Ile水平设6个试验处理组,每组3重复,每个重复30尾草鱼,在1 m × 1 m × 1 m的小体积网箱中饲养,网箱放置于面积为13 340 m²的池塘。养殖正式试验72 d。每天投喂3次(8:00,13:00,18:00),投饲率3%~5%,根据水温 and 鱼体大小调整投饲量。饲养期水温25~30℃,水中溶解氧5 mg/L以上,pH 6.6~7.2,氨氮小于0.5 mg/L。

1.4 样品收集、制备和分析方法

养殖实验结束后,测定增重率、特定生长率、饲料效率、蛋白质效率、空壳率、饱满度和内脏重比。每组取6尾测定全鱼营养成分;6尾取出背肌和肝脏,-20℃冰箱保存;6尾鱼静脉取血,3 500 r/min离心15 min吸取上层血清备用。

日粮、全鱼和肌肉常规成分的测定参照文献[12]的方法。肌肉和基础日粮氨基酸含量,用日立835-50型氨基酸分析仪测定。肌肉RNA、

DNA的测定采用朱俭等^[13]方法。血清生化指标用半自动生化分析仪测定,终点法测定血清总蛋白、甘油三酯、胆固醇浓度(南京建成试剂盒),溴甲酚绿比色法测定血清白蛋白(南京建成试剂盒),酶两点法测定血氨浓度(中生北控试剂盒)。肝脏谷氨酸脱氢酶活力的测定采用文献[14]的方法。

1.5 数据处理

试验数据均用平均值±标准误表示,采用统计软件SPSS 11.5分析。经单因素方差分析后,Duncan氏多重比较数据的差异显著性,显著水平为 $P < 0.05$ 。并对增重率、特定生长率、饲料系数、蛋白质效率、肌肉RNA/DNA和肝脏谷氨酸脱氢酶活力等进行回归分析。

2 结果与分析

2.1 Ile对草鱼生长及形体的影响

Ile对草鱼生长指标的影响 从表3可知,随日粮Ile水平增加,增重率、特定生长率和蛋白质效率均呈先升后降趋势,日粮Ile水平为1.67%时,增重率、特定生长率和蛋白质效率显著高于其他组($P < 0.05$);饲料系数呈先降后升趋势,当日粮Ile的水平为1.67%时,饲料系数最低。

表3 日粮Ile对草鱼生长指标的影响

Tab.3 The effects of dietary isoleucine on growth performance of grass carp mean ± SE, n = 3

	日粮Ile水平(%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
初始尾均重 IBW (g)	8.36 ± 0.14	8.15 ± 0.19	8.15 ± 0.35	8.19 ± 0.19	8.37 ± 0.32	8.25 ± 0.16
终末尾均重 FBW (g)	20.28 ± 0.83	22.22 ± 0.73	23.02 ± 0.68	24.7 ± 1.12	21.17 ± 0.83	18.65 ± 0.41
增重率 WG (%) ¹	143.70 ± 4.27 ^{ab}	172.55 ± 6.04 ^b	181.31 ± 3.72 ^b	201.59 ± 7.00 ^c	152.93 ± 7.74 ^{ab}	125.73 ± 4.63 ^a
特定生长率 SGR (%/d) ²	1.23 ± 0.02 ^b	1.32 ± 0.04 ^c	1.43 ± 0.06 ^c	1.53 ± 0.03 ^d	1.33 ± 0.05 ^c	1.13 ± 0.03 ^a
饲料系数 FCR ³	1.99 ± 0.04 ^b	1.83 ± 0.09 ^b	1.54 ± 0.07 ^a	1.40 ± 0.04 ^a	1.87 ± 0.07 ^b	2.33 ± 0.15 ^c
蛋白质效率 PER (%) ⁴	1.41 ± 0.02 ^b	1.53 ± 0.05 ^b	1.82 ± 0.06 ^c	2.00 ± 0.04 ^d	1.75 ± 0.09 ^c	1.28 ± 0.04 ^a

注:同行数据上标不同表示显著差异($P < 0.05$),下表同。1. 增重率(%) = 100 × (终末尾均重 - 初始尾均重) / 初始尾均重; 2. 特定生长率(%/天) = 100 × (Ln 终末尾均重 - Ln 初始尾均重) / 天; 3. 饲料系数 = 摄食量 / (终末尾均重 - 初始尾均重); 4. 蛋白质效率 = (终末尾均重 - 初始尾均重) / 蛋白质摄入量。

Notes: Values within the same row with different superscripts were significantly different ($P < 0.05$). The same as below tables. IBW, initial body weight; FBW, final body weight; 1. WG, weight gain (%) = 100 × (FBW - IBW) / IBW; 2. SGR, specific growth rate (%/d) = 100 × (Ln FBW - Ln IBW) / days; 3. FCR, feed conversion rate = feed intake / (FBW - IBW); 4. PER, protein efficiency ratio = (FBW - IBW) / protein intake

Ile对草鱼形体指标的影响 由表4可知,日粮Ile对草鱼形体指标(空壳率、内脏指数和饱满度)的影响显著($P < 0.05$),当日粮Ile水平为

1.67%时,草鱼空壳率最大,内脏指数最小,饱满度最高。

表 4 Ile 对草鱼形体指标的影响
Tab.4 The effects of isoleucine on body index of grass carp

	日粮 Ile 水平 (%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
空壳率/% deinternal organ rate ¹	90.08 ± 0.16 ^a	90.35 ± 0.14 ^{ab}	90.36 ± 0.25 ^{ab}	90.67 ± 0.12 ^b	90.50 ± 0.17 ^{ab}	90.32 ± 0.14 ^{ab}
内脏指数/% Viserosomatic index ²	9.92 ± 0.16 ^b	9.65 ± 0.14 ^{ab}	9.64 ± 0.25 ^{ab}	9.33 ± 0.12 ^a	9.50 ± 0.17 ^{ab}	9.68 ± 0.14 ^{ab}
肥满度/% condition factor ³	1.94 ± 0.025 ^{ab}	1.94 ± 0.02 ^{ab}	1.91 ± 0.03 ^{ab}	1.98 ± 0.03 ^b	1.96 ± 0.03 ^{ab}	1.88 ± 0.02 ^a

注:1. 空壳率(%) = 100 × (体重 - 内脏重) / 体重; 2. 内脏指数(%) = 100 × 内脏重 / 体重; 3. 肥满度(%) = 100 × 体重(g) / 体长³(cm³)

Notes:1. DOR, deinternal organ rate(%) = 100 × (body weight - visceral weight) / body weight; 2. VIS, viscera index(%) = 100 × visceral weight / body weight; 3. CF, condition factor(%) = 100 × body weight(g) / body length(cm³)

2.2 Ile 对草鱼营养成分的影响

Ile 对草鱼常规营养成分的影响 由表 5 可知,随日粮 Ile 水平增加,全鱼水分和粗脂肪呈先降后升趋势,均在 1.67 % 水平组最低;全鱼粗蛋白和灰分呈先升后降趋势,均在 1.67 % 水平组达最高。而且,全鱼水分(Y_1)、粗蛋白(Y_2)、粗脂肪(Y_3)和灰分(Y_4)均与日粮 Ile 水平(X)呈较好的相关性,相关关系分别为 $Y_1 = 1.9901 X^2 - 6.5203 X + 79.294, R^2 = 0.9223$; $Y_2 = -2.2976 X^2 + 7.8743 X + 8.2926, R^2 = 0.9017$; $Y_3 = 0.9583 X^2 - 3.2143 X + 10.22, R^2 = 0.9048$; $Y_4 = -0.244 X^2 + 0.8333 X + 2.4812, R^2 = 0.8908$ 。

随日粮 Ile 水平增加,肌肉水分呈先降后升趋势,在 1.67 % 水平组最低;而肌肉粗蛋白呈先升后降趋势,在 1.37 % 和 1.67 % 水平组最高。肌肉水分(Y_5)和粗蛋白(Y_6)均与日粮 Ile 水平(X)呈较好的相关性,相关关系分别为 $Y_5 = 1.254 X^2 - 4.7673 X + 84.522, R^2 = 0.9088$; $Y_6 = -2.2024 X^2 + 7.0638 X + 12.285, R^2 =$

0.9063。肌肉粗脂肪在各水平组之间无显著差异($P > 0.05$)。

Ile 对草鱼肌肉氨基酸含量的影响 由表 6 可知:日粮 Ile 水平对肌肉甘氨酸、精氨酸、苯丙氨酸和肌肉非必需氨基酸总量(Σ NEAA)无显著影响($P > 0.05$),但对其他 14 种氨基酸和氨基酸总量(Σ TAA)均有显著影响($P > 0.05$)。日粮中 Ile 水平为 1.67 % 时,肌肉 Ile 含量、肌肉必需氨基酸总量(Σ EAA)和肌肉氨基酸总量(Σ TAA)均为最大值。

2.3 Ile 对草鱼蛋白质代谢的影响

Ile 对草鱼肌肉中 RNA/DNA 的影响 日粮 Ile 水平在 0.77 % ~ 1.67 % 组, RNA/DNA 比值呈上升趋势, Ile 水平在 1.67 % 组, RNA/DNA 比值达到最大,之后 RNA/DNA 比值下降(表 7)。

Ile 对草鱼血清及肝脏生化指标的影响 日粮 Ile 对草鱼血清(白蛋白、总蛋白和血氨)及肝脏(谷氨酸脱氢酶)的影响见表 8。

表 5 Ile 对草鱼鱼体和肌肉营养组成的影响
Tab.5 The effects of isoleucine on nutrient composition in whole-body and muscle of grass carp

	日粮 Ile 水平 (%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
全鱼(%) whole body						
水分 moisture	75.42 ± 0.04 ^c	74.77 ± 0.08 ^b	73.86 ± 0.06 ^a	73.95 ± 0.07 ^a	74.36 ± 0.07 ^b	74.66 ± 0.07 ^b
粗蛋白 crude protein	13.17 ± 0.02 ^a	13.73 ± 0.59 ^a	14.78 ± 0.01 ^b	15.38 ± 0.09 ^c	14.71 ± 0.30 ^c	14.33 ± 0.13 ^b
粗脂肪 crude lipid	8.35 ± 0.09 ^c	7.84 ± 0.10 ^b	7.59 ± 0.07 ^b	7.46 ± 0.03 ^a	7.78 ± 0.07 ^b	7.78 ± 0.11 ^b
灰分 ash(%)	2.96 ± 0.04 ^a	3.12 ± 0.05 ^b	3.17 ± 0.04 ^b	3.20 ± 0.05 ^c	3.13 ± 0.02 ^{ab}	3.14 ± 0.03 ^{ab}
肌肉(%) muscle						
水分 moisture	81.57 ± 0.07 ^d	81.02 ± 0.08 ^c	80.13 ± 0.06 ^{ab}	79.96 ± 0.07 ^a	80.30 ± 0.10 ^b	80.03 ± 0.13 ^{ab}
粗蛋白 crude protein	16.48 ± 0.33 ^a	17.09 ± 0.38 ^a	18.06 ± 0.22 ^c	18.01 ± 0.24 ^c	17.43 ± 0.12 ^b	17.06 ± 0.09 ^b
粗脂肪 crude lipid	1.73 ± 0.12	1.74 ± 0.03	1.79 ± 0.07	1.84 ± 0.10	1.85 ± 0.05	1.87 ± 0.03

表 6 日粮 Ile 水平对草鱼肌肉氨基酸含量(克/100 克,干物质基础)的影响

Tab.6 The effect of dietary isoleucine level on AA composition (g/100g dry sample) of muscle of grass carp

	日粮 Ile 水平(%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
天冬氨酸(Asp)	7.23 ± 0.01 ^a	7.77 ± 0.01 ^b	7.71 ± 0.04 ^b	7.80 ± 0.01 ^b	7.78 ± 0.11 ^b	7.58 ± 0.09 ^b
苏氨酸(Thr)	3.99 ± 0.02	3.98 ± 0.01	3.89 ± 0.01	3.94 ± 0.05	3.90 ± 0.06	3.90 ± 0.03
丝氨酸(Ser)	3.67 ± 0.01 ^b	3.63 ± 0.01 ^{ab}	3.51 ± 0.03 ^a	3.52 ± 0.05 ^a	3.49 ± 0.04 ^a	3.54 ± 0.05 ^{ab}
谷氨酸(Glu)	9.34 ± 0.24 ^b	8.94 ± 0.01 ^{ab}	8.82 ± 0.02 ^a	8.87 ± 0.12 ^{ab}	8.92 ± 0.13 ^{ab}	8.85 ± 0.14 ^{ab}
甘氨酸(Gly)	3.73 ± 0.01	3.53 ± 0.06	3.64 ± 0.11	3.58 ± 0.05	3.67 ± 0.02	3.54 ± 0.09
丙氨酸(Ala)	4.60 ± 0.02 ^{ab}	4.45 ± 0.04 ^a	4.57 ± 0.02 ^{ab}	4.70 ± 0.02 ^b	4.69 ± 0.05 ^b	4.72 ± 0.11 ^b
半胱氨酸(Cys)	2.21 ± 0.01 ^b	2.02 ± 0.02 ^a	1.99 ± 0.06 ^a	2.00 ± 0.04 ^a	2.06 ± 0.01 ^a	2.04 ± 0.04 ^a
缬氨酸(Val)	3.75 ± 0.01 ^a	3.87 ± 0.03 ^{ab}	3.84 ± 0.04 ^{ab}	3.95 ± 0.01 ^b	3.94 ± 0.06 ^b	3.90 ± 0.10 ^{ab}
蛋氨酸(Met)	1.61 ± 0.01 ^a	1.61 ± 0.01 ^a	1.84 ± 0.12 ^b	1.91 ± 0.01 ^b	1.58 ± 0.01 ^a	1.59 ± 0.06 ^a
异亮氨酸(Ile)	3.04 ± 0.01 ^a	3.10 ± 0.01 ^a	3.27 ± 0.05 ^b	3.29 ± 0.03 ^b	3.26 ± 0.03 ^b	3.27 ± 0.05 ^b
亮氨酸(Leu)	6.79 ± 0.01 ^a	7.13 ± 0.12 ^b	6.93 ± 0.01 ^b	7.03 ± 0.03 ^b	7.06 ± 0.09 ^b	6.98 ± 0.05 ^b
酪氨酸(Tyr)	4.07 ± 0.01 ^b	4.02 ± 0.07 ^b	3.61 ± 0.03 ^a	3.55 ± 0.03 ^a	3.64 ± 0.07 ^a	3.60 ± 0.03 ^a
苯丙氨酸(Phe)	4.49 ± 0.07	4.39 ± 0.07	4.44 ± 0.02	4.47 ± 0.05	4.46 ± 0.04	4.50 ± 0.02
赖氨酸(Lys)	6.23 ± 0.20 ^a	7.56 ± 0.05 ^b	7.28 ± 0.04 ^b	7.37 ± 0.05 ^b	7.46 ± 0.06 ^b	7.43 ± 0.06 ^b
组氨酸(His)	1.93 ± 0.02 ^b	1.76 ± 0.02 ^a	1.71 ± 0.02 ^a	1.72 ± 0.02 ^a	1.73 ± 0.03 ^a	1.71 ± 0.02 ^a
精氨酸(Arg)	5.04 ± 0.01	5.00 ± 0.02	4.97 ± 0.03	5.02 ± 0.02	5.06 ± 0.05	5.12 ± 0.12
脯氨酸(Pro)	2.26 ± 0.01 ^a	2.32 ± 0.02 ^{ab}	2.48 ± 0.06 ^c	2.50 ± 0.01 ^c	2.38 ± 0.03 ^{bc}	2.35 ± 0.04 ^{bc}
ΣEAA ¹	36.72 ± 0.06 ^a	38.15 ± 0.17 ^b	38.17 ± 0.25 ^b	38.99 ± 0.03 ^b	38.23 ± 0.37 ^b	38.52 ± 0.43 ^b
ΣNEAA ²	36.85 ± 0.03	36.68 ± 0.04	36.32 ± 0.31	36.75 ± 0.03	36.57 ± 0.34	36.44 ± 0.51
ΣTAA ³	73.65 ± 0.01 ^a	74.83 ± 0.10 ^a	74.50 ± 0.05 ^b	75.74 ± 0.01 ^c	74.80 ± 0.07 ^b	74.97 ± 0.12 ^b

注:1.必需氨基酸的总量(共9种,色氨酸未检测出);2.非必需氨基酸的总量;3.氨基酸的总量

Notes: 1. gross of essential amino acid;2. gross of non-essential amino acid;3. gross of amino acid

表 7 日粮中 Ile 水平对草鱼肌肉 RNA/DNA 的影响

Tab.7 The effect of dietary isoleucine level on RNA/DNA of muscle of grass carp

	日粮 Ile 水平(%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
RNA/DNA	1.32 ± 0.13 ^a	1.81 ± 0.17 ^b	2.04 ± 0.16 ^b	2.65 ± 0.14 ^c	2.45 ± 0.13 ^c	1.91 ± 0.14 ^b

表 8 日粮 Ile 水平对草鱼血清和肝脏生化指标的影响

Tab.8 The effect of dietary isoleucine levels on biochemical parameters of serum and liver from grass carp

	日粮 Ile 水平(%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
血清 serum						
白蛋白(g/L) ALB	11.78 ± 0.24	12.37 ± 0.25	11.47 ± 0.29	11.56 ± 0.01	13.66 ± 0.15	12.19 ± 1.41
albumin protein						
总蛋白(g/L)	21.94 ± 0.69 ^a	28.44 ± 1.92 ^{ab}	30.70 ± 2.18 ^{ab}	28.86 ± 0.09 ^{ab}	33.49 ± 3.49 ^b	36.45 ± 0.79 ^b
total protein						
血氨(μmol/L)	728.31 ± 50.06 ^a	822.02 ± 29.63 ^a	750.04 ± 44.73 ^a	830.60 ± 6.5 ^{ab}	934.91 ± 6.5 ^b	1235.54 ± 11.73 ^c
ammonia						
肝脏 liver						
谷氨酸脱氢酶(μ/g) ³	217.95 ± 8.71 ^c	131.42 ± 20.40 ^b	114.98 ± 14.55 ^b	64.10 ± 10.33 ^a	101.65 ± 6.07 ^{ab}	134.40 ± 13.96 ^b
GDH						

由表 8 可知:血清白蛋白在各 Ile 水平组之间差异不显著($P > 0.05$);总蛋白在 0.77% ~ 1.67% 组之间和 1.07% ~ 2.27% 组之间差异不显著($P > 0.05$);在 0.77% ~ 1.67% 水平组之间,各

组血氨差异不显著($P > 0.05$),在 1.67% ~ 2.27% 水平组之间,血氨呈上升趋势。随着日粮 Ile 水平上升,肝脏谷氨酸脱氢酶活性先下降后上升,在 1.67% 水平组活力最低。

2.4 Ile 对草鱼脂质代谢的影响

由表9可知,随日粮 Ile 水平的增加,全鱼粗脂肪、血清甘油三酯和胆固醇均呈先降后升趋势,在 1.67 % 水平组均为最低值,与其它水平组差异显著 ($P < 0.05$)。经统计分析,全鱼粗脂肪 (Y_7)、血清甘油三酯 (Y_9) 和胆固醇 (Y_9) 分别与日粮 Ile 水平 (X) 呈二次曲线关系: $Y_7 = 0.9583 X^2 - 3.2143 X + 10.22, R^2 = 0.9048$; $Y_9 = 0.4603$

$X^2 - 1.5556 X + 2.9734, R^2 = 0.7975$; $Y_9 = 11.774 X^2 - 38.659 X + 171.36, R^2 = 0.8476$ 。而且血清甘油三酯 (Y_{10}) 和胆固醇 (Y_{11}) 与全鱼粗脂肪 (X) 也呈二次曲线关系: $Y_{10} = -0.2895 X^2 + 5.0953 X - 20.312, R^2 = 0.9483$; $Y_{11} = 8.8143 X^2 - 128.99 X + 612.06, R^2 = 0.8787$ 。

表9 日粮 Ile 水平对草鱼脂质代谢的影响

Tab.9 The effect of dietary isoleucine levels on lipid metabolism from grass carp

	日粮 Ile 水平 (%) dietary isoleucine level					
	0.77	1.07	1.37	1.67	1.97	2.27
全鱼粗脂肪 (%) crude lipid on whole body	8.35 ± 0.09 ^c	7.84 ± 0.10 ^b	7.59 ± 0.07 ^b	7.46 ± 0.03 ^a	7.78 ± 0.07 ^b	7.78 ± 0.11 ^b
血清甘油三酯 (mmol/L) triglyceride in serum	2.05 ± 0.91 ^c	1.83 ± 0.10 ^b	1.75 ± 0.03 ^b	1.55 ± 0.02 ^a	1.80 ± 0.05 ^b	1.78 ± 0.06 ^b
血清胆固醇 (mg/dL) cholesterol in serum	149.68 ± 0.90 ^c	140.95 ± 0.64 ^b	141.85 ± 2.34 ^b	121.34 ± 0.83 ^a	141.39 ± 2.32 ^b	143.84 ± 1.18 ^b

2.5 Ile 需要量回归分析

分别将增重率、特定生长率、饲料系数、蛋白质效率、肌肉 RNA/DNA 和谷氨酸脱氢酶活力与日粮 Ile 水平 (X) 进行二次曲线回归分析(图 1 ~

6),经求导,各指标分别在日粮 Ile 水平为 1.46 %、1.49 %、1.45 %、1.41 %、1.71 % 和 1.68 % 时达到最佳值。

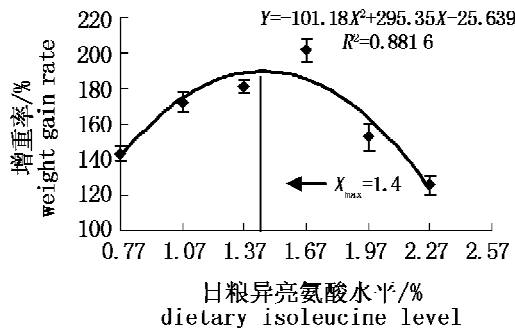


图1 增重率-日粮 Ile 水平关系

Fig.1 The relation between dietary isoleucine and weight gain ratio of juvenile grass carp

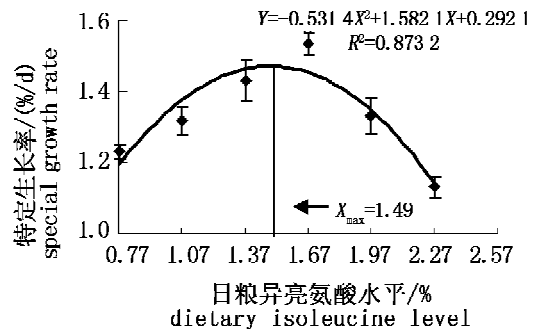


图2 特定生长率-日粮 Ile 水平关系

Fig.2 The relation between dietary isoleucine and specific growth rate of juvenile grass carp

3 讨论

3.1 Ile 对草鱼生长和蛋白质、脂肪代谢的影响

关于水产动物 Ile 营养的研究,国外学者分别对海鳗^[1]、鲤^[1]、虹鳟^[2]、大麻哈鱼^[2]、鲈^[3]、虱目鱼^[4]和斑节对虾^[5]等展开了研究,证明其缺乏或过量将会破坏支链氨基酸乃至整个氨基酸之间的

平衡,阻碍其他氨基酸的吸收,降低动物机体的蛋白质合成,从而抑制生长和饲料的转化。本研究结果与上述水产动物的研究结果相一致,当日粮 Ile 从缺乏到适量再到过量,草鱼的生长和饲料的转化受到显著影响。评价其生长的指标(增重率和特定生长率)和饲料转化效率指标(饲料系数、蛋白质效率)均随着日粮 Ile 水平的变化而变化。

表现为草鱼的生长和饲料的转化在缺乏和过量水

平均受到抑制,Ile 适量日粮水平为1.67 %。

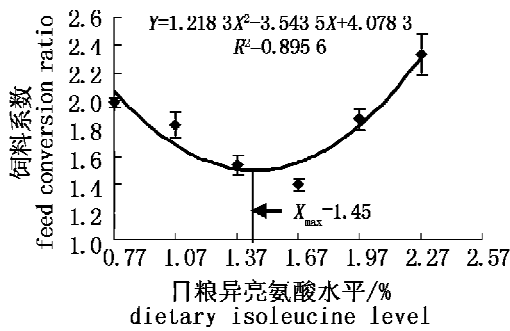


图3 饲料系数 - 日粮 Ile 水平关系

Fig. 3 The relation between dietary isoleucine and feed conversion ratio of juvenile grass carp

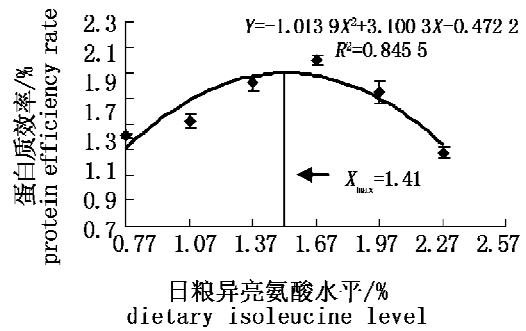


图4 蛋白质效率 - 日粮 Ile 水平关系图

Fig. 4. The relation between dietary isoleucine and protein efficiency ratio of juvenile grass carp

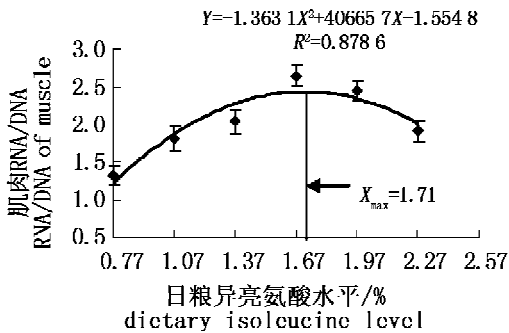


图5 肌肉 RNA/DNA - 日粮 Ile 水平关系图

Fig. 5 The relation between dietary isoleucine and RNA/DNA of muscle of grass carp

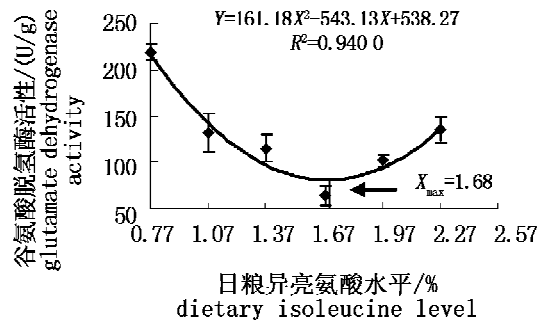


图6 谷氨酸脱氢酶活力 - 日粮 Ile 水平关系图

Fig. 6 The relation between dietary isoleucine and glutamate dehydrogenase activity of liver of grass carp

本研究结果表明,适宜 Ile 主要是通过促进全鱼和肌肉蛋白质增长,抑制全鱼脂肪的沉积来实现对草鱼生长的促进。基于此,本研究进一步探讨了 Ile 与草鱼蛋白质代谢和脂肪代谢的关系。

对于蛋白质代谢,本研究选择了肌肉 RNA/DNA 反映蛋白质的合成^[15-16],血氮反映整个鱼体的蛋白质分解^[17-18],和采用谷氨酸脱氢酶反映肝脏蛋白质的分解。其代谢规律为 Ile 适宜水平促进肌肉蛋白质合成代谢,缺乏和过量均受到抑制。日粮 Ile 水平在 0.77 % ~ 1.67 %,肌肉中 RNA/DNA 比值呈增加趋势,血氮变化不显著,即说明 Ile 从缺乏到适量,蛋白质合成代谢增强,分解代谢处于稳定状态,从而促进蛋白质沉积和鱼体生长;而日粮 Ile 水平在 1.67% ~ 2.27 %时,肌肉 RNA/DNA 比值呈下降趋势,血氮呈上升趋势,即说明 Ile 从适量到过量,蛋白质合成代谢下降,分解代谢增强,从而抑制蛋白质沉积和鱼体生长。同时,本研究还发现,肝脏谷氨酸脱氢酶(该

酶主要存在肝脏中^[19])与日粮 Ile 水平呈先降后升的二次回归曲线关系,而且相关性很好, R^2 达到 0.940 0。当日粮 Ile 水平适宜时,谷氨酸脱氢酶活性最低。一般认为,谷氨酸脱氢酶和转氨酶联合脱氨基作用,是肝脏内氨基酸分解代谢过程中的途径^[20]。那么,日粮 Ile 适宜水平通过抑制谷氨酸脱氢酶的活性从而使肝脏氨基酸分解代谢减慢。而且,在适宜水平下,肝脏氨基酸分解减慢的同时,肌肉蛋白质合成增加。经分析,本研究中肝脏谷氨酸脱氢酶活性(Y)与肌肉 RNA/DNA (X)呈很好的负相关线性关系: $Y = -103.03 X + 336.57 (R^2 = 0.914 7)$ 。至于肝脏谷氨酸脱氢酶—肌肉 RNA/DNA 的相关性及其机制有待进一步研究证明。

对于脂肪代谢,当日粮 Ile 水平适宜时,草鱼血液中的甘油三酯、胆固醇和全鱼脂肪含量均为最低,而缺乏和过量水平均升高。即说明适宜 Ile 水平具有降低脂肪合成和沉积的作用。其原因可

能是适宜的 Ile 水平能够改善 Leu(生酮氨基酸)与 Ile(生糖兼生酮氨基酸)、Val(生糖氨基酸)3个支链氨基酸的平衡关系,乃至日粮整体氨基酸的平衡关系,从而提高蛋白质生物学价值,使转化成脂肪的氨基酸相应减少,并降低鱼体脂肪的积累。

3.2 草鱼对 Ile 需求量研究

鱼类氨基酸需求研究中,通常采用3种方法分析其剂量—效应关系,从而确定其需要量:(1)方差分析法;(2)折线模型;(3)二次回归模型(也称为抛物线模型),这是最常用方法之一。本试验表明:草鱼增重率、特定生长率、蛋白质效率和饲料系数4个效应指标,均与日粮 Ile 水平呈二次曲线关系的回归模型。经观测该4项指标,分别得到草鱼幼鱼 Ile 的需要量分别为占日粮的1.46%、1.49%、1.45%和1.41%,占日粮蛋白的4.14%、4.23%、4.11%、4.0%。因此我们确定草鱼幼鱼 Ile 需要量的适宜范围为占日粮的1.41%~1.49%,占日粮蛋白含量的4.0%~4.23%。

同时,为了综合评价 Ile 的营养需要,本研究还选用肌肉 RNA/DNA 和肝脏谷氨酸脱氢酶活力两项效应指标,两指标与日粮 Ile 水平呈较好相关性(R^2 值分别为 0.878 6 和 0.940 0),达到最佳效应的 Ile 水平分别为:占日粮的 1.71% 和 1.68%,占日粮蛋白的 4.85% 和 4.77%。该值与用增重率、特定生长率、饲料系数和蛋白质效率作为效应指标所得的值(如上段所述)相差较大。至于两项指标能否用来评价氨基酸需求量,尚待进一步研究证明。

水生动物对 Ile 的需要量表现出较大种类差异。如以日粮蛋白水平为基础,草鱼与其他水产动物相比,其幼鱼 Ile 需要量(4.0%~4.23%)高于鲢(2.2%)^[2]、鲤(2.6%)^[1]、鲈(2.58%)^[3]和斑节对虾(2.7%)^[5],与海鳗(3.6%)^[1]、虹鳟(3.8%)^[2]以及虱目鱼(4.0%)^[4]相近。造成这种差异的原因与不同种类鱼类对饲料蛋白水平的需求差异和肌肉蛋白质氨基酸组成差异相关。此外,鱼类生长阶段、饲喂水平、水温、溶氧、养殖密度、研究方法、评定指标等,这些影响因素也有一定影响,有待进一步研究完善。

以增重率、特定生长率、饲料系数和蛋白质效率为观测指标,草鱼幼鱼 Ile 的需要量分别为占日

粮的 1.46%、1.49%、1.45% 和 1.41%,占日粮蛋白的 4.14%、4.23%、4.11%、4.0%。即草鱼幼鱼 Ile 需要量的适宜范围为占日粮的 1.41%~1.49%,占日粮蛋白含量的 4.0%~4.23%。

参考文献:

- [1] National research council nutrient requirements of fish[M]. Washington, D. C.: National Academy of Sciences, 1977.
- [2] Ketola H G. Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout [J]. American society of Animal Science, 1983,56:101-107.
- [3] Robert P W, William E P, Edwin H R L, et al. Isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish [J]. Journal of Nutrition, 1980, 110(4): 627-633.
- [4] Ilda G B, Relicardo M C. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids[J]. Journal of Nutrition, 1993, 123(1):125-132.
- [5] Millamena O M, Teruel M B, Kanazawa A, et al. Dietary requirements of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan [J]. Aquaculture, 1999, 179:169-179.
- [6] Wang S, Liu Y J, Tian L X, et al. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. Aquaculture, 2005, 249: 419-429.
- [7] 黄更生,李贵生,周黎华,等. 草鱼生长阶段对赖氨酸需要量的研究[J]. 生态科学,2003,22(2): 147-149.
- [8] 王 胜. 草鱼幼鱼对蛋白质和主要必需氨基酸需求的研究[D]. 广州:中山大学,2006.
- [9] 王 冠. 晶体氨基酸经微胶囊技术处理后对异育银鲫生长影响的研究[D]. 上海:上海水产大学, 2006.
- [10] Lin D. Grass carp, *Ctenopharyngodon idella* [M]// Wilson R P, Ed. Handbook of nutrient requirement of finfish. Boca Raton: CRC Press, 1991.
- [11] Wilson R P, Harding D E, Garling D L Jr, et al. Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish [J]. J Nutr, 1977,107: 166-170.
- [12] Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis[M]. 14th ed. Arlington, VA: AOAC, 1984.

- [13] 朱 俭,曹凯鸣,周润琦,等. 生物化学实验[M]. 上海:上海科技出版社,1981:133-136.
- [14] Bergmeyer H U. Methods of enzymatic analysis [M]. Deerfield Beach: Vch Pub, 1974.
- [15] 司亚东,金有坤,周洪琪,等. 鲤鱼白肌中 RNA/DNA 值与其生长的关系[J]. 上海水产大学学报,1992, 1(3-4):159-167.
- [16] 赵振山,林可椒,张益明,等. 用 RNA/DNA 比值评定鲤鱼的生长及其配合饲料的营养价值[J]. 水产学报,1994,18(4):257-264.
- [17] Cuesta A, Ortuno J, Rodriguez A, *et al.* Changes in some innate defence parameters of seabream (*Sparus aurata* L) induced by retinol acetate[J]. Fish & Shellfish Immunol, 2002, 13(4):279-291.
- [18] Walton M J, Cowey C B. Aspects of ammonio-genesis in rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. Comp Biochem Physiol, 1977, 57: 143-149.
- [19] 吴志兰,张协丰,李月珍,等. 肝移植患者谷氨酸脱氢酶水平变化及临床意义[J]. 临床肝胆病杂志,2004,20(2):113.
- [20] 胡倡华. 苏氨酸与赖氨酸不同比例对生长肥育猪生长性能、胴体组成的影响及其作用机理探讨[D]. 杭州:浙江大学,2001.

欢迎订阅 2010 年《水产学报》

《水产学报》是由中国科协主管、中国水产学会主办、上海海洋大学承办、科学出版社出版的以反映我国水产科学技术成果为主的学术类核心期刊(中国科学引文数据库 CSCD 核心库和中信所核心库),1964 年创刊,是中国水产界历史最为悠久的刊物之一。2002-2009 年连续荣获“百种中国杰出科技期刊”称号,2006-2008 年获得中国科协“精品期刊工程项目(C类)”资助,2009 年获得中国科协“精品科技期刊示范项目(B类)”资助。

本刊主要刊载水产基础研究、水产养殖和增殖、水产品病害防治、渔业水域环境保护、渔业资源与管理、水产品保鲜加工与综合利用等方面的研究论文、研究简报和综述。

为了不断扩增学报刊载信息量,提高论文时效性,《水产学报》将于 2010 年起由双月刊变更为月刊,每期 180 页,每期订价 49.00 元,全年订价 588.00 元。国内统一刊号:CN 31-1283/S,国际标准刊号:ISSN 1000-0615,国内邮发代号:4-297,国外发行代号:Q-387。读者可在当地邮局办理订阅,破季、漏订或补订均可直接与编辑部联系。个人订户可享受 6 折优惠。

编辑部地址:上海市临港新城沪城环路 999 号 201 信箱

邮政编码:201306

联系人:张美琼

联系电话与传真:021-61900227

E-mail: mqzhang@shou.edu.cn; jfc@shou.edu.cn

Website: www.scxuebao.cn

Study on isoleucine requirement for juvenile grass carp, *cenopharyngodon idellus*

SHANG Xiao-di¹, LUO Li¹, WEN Hua², GAO Wen¹, WANG Qing-shui¹, XU Hui¹

(1. Department of Fishery Science, College of Animal Science and
Technology of Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000, China)

Abstract: 540 grass carps [initial body weight (8.25 ± 0.37) g] were randomly divided into 6 treatments (90 for each treatment, 30 for each replicate) to investigate the nutritional physiological effects of dietary isoleucine on grass carp by feeding with six graded levels of crystalline isoleucine (0.77 g, 1.07 g, 1.37 g, 1.67 g, 1.97 g and 2.27 g per 100 g dry diet) which have the same isonitrogenous diets (35.25 % protein) with casein-gelatin-corn gluten meal-crystalline amino acid mixtures as protein source supplemented. Amino acid pattern in diet is to simulate the amino acid pattern found in the whole body protein of grass carp except for isoleucine. Each diet was randomly assigned to triplicate groups of 30 juvenile grass carp in freshwater floating net cages (1.0 m \times 1.0 m \times 1.0 m). After a 72-day feeding trail, the results showed that: When the dietary isoleucine level was 1.67 % level, weight gain (WG), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) got the maximum and feed conversion rate (FCR) got the minimum ($P < 0.05$); deinternal organ ratio (DOR) and condition factor (CF) got the maximum, viserosomatic index (VIS) got the minimum; moisture and crude lipid of body were minimum, protein and ash content of it were the maximum ($P < 0.05$); Moisture of muscle was minimum, protein were the maximum ($P < 0.05$), but the difference of crude lipid was not significant ($P < 0.05$). When the dietary isoleucine reached 1.67 % level, both the content of isoleucine and total amino acids in the muscle were maximum. The RNA/DNA of muscle rose first and then went down, when the dietary isoleucine reached 1.67 % level, RNA/DNA of muscle were the maximum, and the difference was significant ($P < 0.05$). Glutamate hydrogenase activity of liver went down first and then raise, when the dietary isoleucine reached 1.67 % level, glutamate dehydrogenase activity was the lowest, and the difference was significant ($P < 0.05$). When the content of isoleucine went up, the blood ammonia was leveling off at the beginning, when the dietary isoleucine reached 1.67 % level, the blood ammonia rose. The difference of the albumin in the serum was not significant ($P < 0.05$). TG and CHO went down first and then rose, when the dietary isoleucine level was 1.67 % level, TG and CHO were the lowest, and the difference was significant among groups ($P < 0.05$). The conic analysis of WG, SGR, FE and PER against dietary isoleucine level indicated that optimal dietary isoleucine requirement for juvenile grass carp was 1.46 %, 1.49 %, 1.45 % and 1.41 % of the diet (corresponding to 4.14 %, 4.23 %, 4.11 % and 4.0 % of dietary protein on a dry weight basis). So the range of optimal dietary isoleucine requirement for juvenile grass carp was 1.41% - 1.49% (dietary base) or 4.0 % - 4.23 % (protein base).

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; isoleucine; growth; metabolism; requirement