

生长中期花鲈对 L-异亮氨酸需要量的研究

路 凯, 徐 玮, 麦康森, 王 震, 严 晶, 徐瀚林, 艾庆辉*

(中国海洋大学教育部海水养殖重点实验室,农业部海水养殖重点实验室,山东 青岛 266003)

摘要: 本实验旨在研究生长中期花鲈对饲料 L-异亮氨酸的需要量。选取初始体质量(159.33 ± 1.20)g 的花鲈为实验对象,在基础饲料中梯度添加晶体 L-异亮氨酸,配制出异亮氨酸实测含量分别为 0.72%、1.11%、1.53%、1.93%、2.31% 和 2.72% 的 6 种饲料,在海水浮式网箱中进行 10 周养殖实验。实验结果表明,随饲料中 L-异亮氨酸含量的升高,花鲈增重率(WGR)、饲料效率(FE)及蛋白质沉积率(PR)均呈现先上升后下降的趋势,各组间差异显著($P < 0.05$),且在 1.93% L-异亮氨酸饲料组出现最大值,分别为 108.55%、0.89 和 37.57%。饲料中 L-异亮氨酸含量对存活率(SR)、摄食率(FI)、肝体比(HSI)、脏体比(VSI)、肥满度(CF)、体组成和肌肉氨基酸组成均无显著影响($P > 0.05$)。肝脏谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)活力随饲料中 L-异亮氨酸含量的升高呈现先上升后下降的趋势,各组间差异显著($P < 0.05$)。饲料中 L-异亮氨酸含量对血清甘油三酯(TG)含量有显著影响($P < 0.05$),在 L-异亮氨酸含量为 1.93% 时达到最大值,显著高于 0.72% 和 1.11% 组($P < 0.05$),但与其他各组差异不显著($P > 0.05$)。饲料中 L-异亮氨酸含量对血清谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)活力、血清总胆固醇(TC)含量无显著影响($P > 0.05$)。以增重率(WGR)和蛋白质沉积率(PR)为评价指标,得出生长中期花鲈对饲料中 L-异亮氨酸的需求量分别为 1.88% 和 1.84% 饲料干重,占饲料蛋白质的 4.41% 和 4.32%。

关键词: 花鲈; 异亮氨酸; 生长中期; 需求量

中图分类号: S 963

文献标志码: A

鱼类和其他动物一样,并没有真正的蛋白需求,而是需要配比均衡的氨基酸混合物^[1]。L-异亮氨酸(L-isoleucine, L-Ile)是鱼类十种必需氨基酸之一,参与调解氨基酸与蛋白质代谢,如促胰岛素分泌与蛋白质合成,为谷氨酰胺合成提供底物,作为机体内组织器官蛋白质代谢的信号物等,对机体组织修复和生长,维持机体氮平衡有重要作用,为鱼类生长和代谢所必需。目前,国外学者已完成了对印鲷(*Cirrhina mrigala*)^[2]、眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)^[3]、条纹鲈(*Morone saxatilis*)^[4]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[5]、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[6]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[7]等 20 多种鱼类 L-异亮氨酸需求的研究。而国内对水生动物 L-异亮氨酸的需求研究较少,主要集中在草鱼

(*Ctenopharyngodon idella*)^[8]、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[9]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[10]等少数几种养殖鱼类。

花鲈(*Lateolabrax japonicus*)又称七星鲈等,属鲈形目(Perciformes),鲈科(serranidae),花鲈属,是我国东南沿海普遍养殖的重要海水鱼类,因其肉质鲜美,价格便宜,深受广大消费者的喜爱。目前,花鲈的养殖主要依赖投喂冰鲜鱼,这导致了环境污染、资源浪费和疾病频发等一系列问题,因此,花鲈专用高效环保配合饲料亟待研发和推广应用。近年来,有关花鲈必需氨基酸营养需求的研究主要集中在幼鱼(0.5~8.5)g 阶段,而对生长中后期的研究较少,目前相关研究仅限于赖氨酸^[11]、苏氨酸^[12]、缬氨酸^[12]和组氨酸^[12]。生长中后期花鲈饲

收稿日期:2014-08-28 修回日期:2014-12-14

资助项目:公益性行业(农业)科研专项(201003020,200903029)

通信作者:艾庆辉, E-mail: qhai@ouc.edu.cn

料中必需氨基酸的添加多参考幼鱼的需求量,但是鱼类不同生长阶段对氨基酸的需求是存在差异的^[12-13]。李燕^[10]研究发现,以特定生长率为评价指标,初始体质量(8.0 ± 0.20)g 花鲈对饲料中 L-异亮氨酸需求量为1.94% 饲料干物质,本研究拟通过配制不同 L-异亮氨酸含量的饲料养殖花鲈,结合生长和生理指标来确定生长中期花鲈对 L-异亮氨酸的需求量,为生长中期花鲈高效环保配合饲料开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计

以鱼粉、豆粕、明胶为主要蛋白源,鱼油、大豆油和卵磷脂为脂肪源,糊精为主要糖源,补充矿物质、维生素,配制出粗蛋白含量 43%、粗脂肪含量 12.67% 的基础饲料(表 1)。以花鲈鱼体异亮氨酸含量为参考,添加晶体氨基酸,使基础料中除 L-异亮氨酸外,其他各种氨基酸含量达到花鲈鱼

表 1 实验饲料配方及营养组成(干重)

成分 ingredients	饲料号 diet number					
	Diet 1 (0.72)	Diet 2 (1.11)	Diet 3 (1.53)	Diet 4 (1.93)	Diet 5 (2.31)	Diet 6 (2.72)
鱼粉 fish meal	14.39	14.39	14.39	14.39	14.39	14.39
豆粕 soybean meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
明胶 gelatin	8.20	8.20	8.20	8.20	8.20	8.20
啤酒酵母 beer yeast	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
糊精 dextrin	29.00	29.00	29.00	29.00	29.00	29.00
鱼油 fish oil	5.50	5.50	5.50	5.50	5.50	5.5
豆油 soybean oil	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30
卵磷脂 lecithin	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
混合氨基酸 amino acids premix ¹	16.89	16.89	16.89	16.89	16.89	16.89
多维预混料 mineral premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
多矿预混料 vitamin premix ³	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
诱食剂 attractant ⁴	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
防霉剂 mold inhibitor	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	2.77	2.77	2.77	2.77	2.77	2.77
L-谷氨酸 L-glutamic acid	2.00	1.60	1.20	0.80	0.40	0.00
L-异亮氨酸 L-isoleucine	0.00	0.40	0.80	1.20	1.60	2.00
成分分析 proximate analysis						
L-异亮氨酸 L-isoleucine	0.72	1.11	1.53	1.93	2.31	2.72
粗蛋白 crude protein	42.89	42.47	42.58	42.62	42.74	42.51
粗脂肪 crude lipid	12.39	12.49	12.35	12.42	12.53	12.45
灰分 ash	5.31	5.82	5.76	5.57	5.49	5.57
水分 moisture	7.43	7.51	7.19	7.21	7.40	7.29

注:1. 混合氨基酸(% 饲料):精氨酸 0.99;组氨酸 0.05;亮氨酸 1.73;赖氨酸 2.14;蛋氨酸 0.80;苯丙氨酸 0.91;缬氨酸 1.30;苏氨酸 0.84;天冬氨酸 2.16;丝氨酸 0.52;丙氨酸 0.86;胱氨酸 0.08;酪氨酸 0.66;谷氨酸 3.84。2. 维生素混合物(mg or g/kg 饲料):维生素 B₁, 25 mg;核黄素,45 mg;维生素 B₆, 20 mg;维生素 B₁₂, 0.1 mg;维生素 K₃, 10 mg;肌醇,800 mg;维生素 B₃, 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 D₃, 5 mg;维生素 E,120 mg;维生素 C,2 000 mg;氯化胆碱,2 000 mg;微晶纤维素,14.52 g。3. 无机盐混合物(mg or g/kg 饲料):氟化钠,2 mg;碘化钾,0.8 mg;氯化钴(1%),50 mg;五水硫酸铜,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,15.45 g。4. 诱食剂:甘氨酸:甜菜碱 = 1:1
Notes:1. essential amino acids premix(% diet): arginine, 0.99; histidine, 0.05; leucine, 1.73; lysine, 2.14; methionine, 0.80; phenylalanine, 0.91; valine, 1.30; threonine, 0.84; aspartic acid, 2.16; serine, 0.52; alanine, 0.86; cystine, 0.08; tyrosine, 0.66; glutamic, 3.84. 2. vitamin premix(mg or g/kg diet): thiamin, 25 mg; riboflavin, 45 mg; pyridoxine-HCl, 20 mg; vitamin B₁₂, 0.1 mg; vitamin K₃, 10 mg; inositol, 800 mg; pantothenic acid, 60 mg; niacin acid, 200 mg; folic acid, 20 mg; biotin, 1.20 mg; retinylacetate, 32 mg; cholecalciferol, 5 mg; alpha-tocopherol, 120 mg; ascorbic acid, 2 000 mg; choline chloride, 2 000 mg; microcrystalline cellulose, 14.52 g. 3. Mineral premix(mg or g/kg diet): NaF, 2 mg; KI, 0.8 mg; CoCl₂(1%), 50 mg; CuSO₄ · 5H₂O, 10 mg; FeSO₄ · H₂O, 80 mg; ZnSO₄ · H₂O, 50 mg; MnSO₄ · H₂O, 60 mg; MgSO₄ · 7H₂O, 1 200 mg; Ca(H₂PO₄)₂ · H₂O, 3 000 mg; NaCl, 100 mg; Zeolite, 15.45 g. 4. Attractant: glycine; betaine = 1:1

体中的含量(表 2)。分别在基础饲料中添加 0 (对照组)、0.4%、0.8%、1.2%、1.6% 和 2.0% 的晶体 L-异亮氨酸(饲料异亮氨酸实测含量为 0.72%、1.11%、1.53%、1.93%、2.31% 和 2.72%),以等量 L-谷氨酸作为其等氮替代物,配制出 6 种等氮等能(蛋白质含量为 43%,能量为 20.54 kJ/g)的饲料,分别称为 diet 1、diet 2、diet 3、diet 4、diet 5 和 diet 6。在饲料制作过程中,所

有原料经粉碎后过 80 目筛网后按配比定量混合均匀,加入鱼油、大豆油搅拌均匀,用 6 mol/L NaOH 溶液将饲料 pH 调至中性^[14],随后加入适量的水揉匀,用 F(II)-26 型双螺杆挤条机(华南理工大学,广州)加工成硬颗粒饲料(3 mm × 5 mm),然后置于 55 °C 鼓风烘箱烘干至饲料水分含量 10% 以下,用塑料袋包装后保存于 -20 °C 冰箱中备用。

表 2 各组饲料中氨基酸组成分析(干重)
Tab.2 Amino acid composition of diets(dry matter)

氨基酸 amino acids	43% 鱼体蛋白 43% whole body protein	饲料号 diet number						%
		diet 1 (0.72)	diet 2 (1.11)	diet 3 (1.53)	diet 4 (1.93)	diet 5 (2.31)	diet 6 (2.72)	
精氨酸 Arg	2.58	2.44	2.49	2.35	2.41	2.51	2.38	
组氨酸 His	0.55	0.51	0.54	0.49	0.46	0.53	0.52	
异亮氨酸 Ile	1.78	0.72	1.11	1.53	1.93	2.31	2.72	
亮氨酸 Leu	3.02	2.98	2.87	2.83	2.86	2.75	2.73	
赖氨酸 Lys	3.36	3.10	3.19	3.32	3.18	3.05	2.97	
蛋氨酸 Met	1.22	1.14	1.31	1.16	1.25	1.15	1.33	
苯丙氨酸 Phe	1.51	1.47	1.53	1.48	1.37	1.42	1.34	
苏氨酸 Thr	1.60	1.45	1.38	1.65	1.58	1.52	1.65	
缬氨酸 Val	2.01	2.06	2.26	2.18	2.06	2.04	2.14	
天冬氨酸 Asp	4.01	3.87	3.71	3.68	3.69	3.60	3.55	
丝氨酸 Ser	1.44	1.41	1.37	1.31	1.25	1.36	1.29	
甘氨酸 Gly	2.87	2.95	2.82	3.01	2.96	3.11	3.07	
丙氨酸 Ala	2.55	2.47	2.52	2.65	2.40	2.59	2.53	
胱氨酸 Cys	0.24	0.21	0.27	0.19	0.27	0.21	0.30	
酪氨酸 Tyr	1.21	1.19	1.32	1.31	1.29	1.41	1.17	
谷氨酸 Glu	6.60	8.39	8.08	7.83	7.32	6.78	6.49	

1.2 实验鱼及饲养管理

实验在浙江省宁波市象山港湾水产苗种有限公司进行。实验鱼选用当年人工孵化的同一批鱼苗。正式实验前,所有花鲈暂养在尺寸为 3.0 m × 3.0 m × 3.0 m 网箱中,用商业饲料饲养 2 周,使之逐渐适应颗粒饲料和养殖环境。实验开始时,将所有实验用鱼饥饿 24 h,然后称重,挑选体格健壮、规格相似,初始体质量为(159.33 ± 1.20)g 的花鲈随机分配到 18 个 1.5 m × 1.5 m × 2.0 m 的网箱中进行实验,每个网箱中放养 20 尾实验鱼,每个处理组设 3 个重复。实验过程中,每天饱食投喂 2 次,投喂时间分别为 05:30 和 17:30,养殖周期为 10 周。养殖期间记录死亡情况,整个实验期间,海水水温为 24 ~ 31 °C,盐度 24 ~ 29,pH 值 7.1 ~ 7.4,溶解氧在 7 mg/L 左右。

1.3 样品收集和分析

实验开始时,从实验鱼中随机抽取 5 尾置于

-20 °C 冰箱中保存,用于全鱼体常规分析。养殖实验结束后,饥饿实验鱼 24 h,用丁香酚(1:10 000)麻醉,然后计数、称重。分别从每个网箱中随机抽取 4 尾鱼置于 -20 °C 冰箱中保存,用于全鱼体常规分析。另从每个网箱中随机抽取 6 尾鱼,立即从尾部静脉取血,注射到 2 mL 离心管中并放置在 4 °C 冰箱中静置过夜,随后 3 000 r/min 离心 15 min,将所得血清分装到 0.5 mL 离心管中,保存于 -80 °C 冰箱中,用于测定谷草转氨酶(GOT)活力、谷丙转氨酶(GPT)活力、甘油三酯(TG)含量和总胆固醇(TC)含量。取血后的鱼分别取其背部肌肉、肝脏,分别用于检测肌肉氨基酸组成和肝脏谷草转氨酶(GOT)活力及谷丙转氨酶(GPT)活力。另取 4 尾鱼测量体长、体质量,用于计算肥满度。随后,取其肝脏和内脏并称量,计算肝体比(HSI)和脏体比(VSI)。

全鱼和饲料中常规成分的测定方法采用

AOAC^[15]的标准方法。血清生化指标(GOT活力、GPT活力、TG含量和TC含量)用全自动生化分析仪测定(迈瑞医疗国际股份有限公司,BS-200)。肝脏的蛋白浓度、谷草转氨酶(GOT)活力和谷丙转氨酶(GPT)活力采用相应试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定。花鲈肌肉及饲料测定方法:将样品粉碎后,经冷冻干燥至恒重,取0.02 g样品用15 mL 6 mol/L盐酸于110 ℃烘箱中水解24 h,水解结束后,采用定量滤纸过滤至50 mL容量瓶中并用超纯水(Milli-Q system)定容至刻度线,混合均匀,取2 mL液体至5 mL玻璃瓶中并在真空干燥箱(VD23, Germany)中干燥,干燥完成后加2 mL超纯水将残留物溶解后再次干燥,重复以上操作3次。将pH调至中性,然后加2 mL上样缓冲液溶解残留物,用水相滤膜过滤上清液至进样小瓶中,采用日立8900全自动氨基酸测定仪(Hitachi L-8900 automatic amino acid analyzer, Hitachi, 日本)测定。

1.4 计算及统计方法

存活率(survival rate, SR, %) = 100 × 终末实验鱼数量/初始实验鱼数量

增重率(weight gain rate, WGR, %) = 100 × (终末体质量 - 初始体质量)/初始体质量

摄食率(feed intake, FI, %/d) = 100 × 摄食饲料干重/[(终末体质量 + 初始体质量)/2]/实验天数

饲料效率(feed efficiency, FE) = (终末体质量 - 初始体质量)/摄食量

蛋白质沉积率(protein retention, PR, %) = 100 × (鱼体蛋白增量/摄入蛋白)

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %) = (肝脏重量/终末体质量) × 100

脏体比(viscerosomatic index, VSI, %) = (内

脏重量/终末体质量) × 100

肥满度(condition factor, CF, %) = (终末体质量/鱼体体长³) × 100

所得实验数据采用平均值 ± 标准误(mean ± SE)表示,采用SPSS 17.0分析软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),当差异显著时($P < 0.05$),采用Tukey's进行多重比较。根据WGR和PR数据,利用二次曲线模型(second-order polynomial regression model)^[16]确定生长中期花鲈对饲料L-异亮氨酸的需求量。

2 结果

2.1 饲料中L-异亮氨酸含量对生长中期花鲈存活、生长及形体指标的影响

饲料中异亮氨酸含量对花鲈存活率(93.33%~97.33%)和摄食率(1.15~1.24%/d)均无显著影响($P > 0.05$)(表3)。随饲料L-异亮氨酸含量升高,终末体质量和增重率均呈现先上升后下降的趋势,当L-异亮氨酸含量为1.93%时终末体质量和增重率出现最大值,显著高于L-异亮氨酸水平0.72%、1.11%、2.31%及2.72%组($P < 0.05$),与1.53%组无显著差异($P > 0.05$)(表3)。饲料效率随饲料L-异亮氨酸含量升高,呈现先上升后下降的趋势,L-异亮氨酸含量为1.93%时显著高于L-异亮氨酸含量0.72%及2.72%组($P < 0.05$)(表3)。随饲料L-异亮氨酸含量的升高,蛋白质沉积率先升高后下降,当L-异亮氨酸含量为1.93%时达到最大值,显著高于0.72%、1.11%和2.72%组($P < 0.05$),与其他组无显著差异($P > 0.05$)(表3)。饲料中L-异亮氨酸含量对花鲈肝体比(2.01~2.16%)、脏体比(10.23~11.47%)和肥满度(1.49~1.72%)均无显著影响($P > 0.05$)(表4)。

表3 饲料中L-异亮氨酸含量对花鲈生长性能和饲料利用的影响

Tab.3 Effects of dietary L-isoleucine levels on growth performance and feed utilization of Japanese seabass

饲料编号/% diets no.	初始体质量/g IBW	终末体质量/g FBW	存活率/% SR	增重率/% WGR	摄食率/(%/d) FI	饲料效率 FE	蛋白质沉积率/% PR
diet 1(0.72)	157.00 ± 2.31	281.33 ± 2.60 ^d	93.33 ± 1.33	75.84 ± 1.61 ^d	1.24 ± 0.19	0.63 ± 0.04 ^c	28.38 ± 0.29 ^c
diet 2(1.11)	159.00 ± 3.61	300.67 ± 4.18 ^c	97.33 ± 1.33	88.05 ± 2.68 ^c	1.15 ± 0.19	0.76 ± 0.05 ^{ab}	33.91 ± 0.35 ^b
diet 3(1.53)	159.00 ± 3.51	324.00 ± 2.52 ^{ab}	96.00 ± 2.31	102.63 ± 1.53 ^{ab}	1.20 ± 0.27	0.81 ± 0.16 ^a	37.20 ± 0.99 ^a
diet 4(1.93)	161.00 ± 2.52	333.67 ± 1.86 ^a	96.00 ± 2.31	108.55 ± 1.14 ^a	1.23 ± 0.27	0.89 ± 0.15 ^a	37.57 ± 0.67 ^a
diet 5(2.31)	161.67 ± 3.28	313.00 ± 2.65 ^{bc}	96.00 ± 2.31	95.73 ± 1.69 ^{bc}	1.17 ± 0.18	0.79 ± 0.13 ^a	34.91 ± 0.58 ^{ab}
diet 6(2.72)	158.33 ± 2.91	303.67 ± 2.60 ^c	93.33 ± 1.33	89.75 ± 1.47 ^c	1.21 ± 0.11	0.71 ± 0.14 ^b	32.37 ± 0.61 ^b

注:表中数据为平均数和3个重复的标准误,同一列中上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$),下同

Notes: * Values show mean ± SE, $n = 3$; values in the same column with different superscripted small letters mean significant difference ($P < 0.05$), the same as the following

表 4 饲料中 L-异亮氨酸含量对花鲈肝体比、脏体比和肥满度的影响

Tab.4 Effects of dietary L-isoleucine levels on HSI, VSI and CF of Japanese seabass

饲料编号/% diets no.	肝体比/% HSI	脏体比/% VSI	肥满度/(g/cm ³) CF
diet 1(0.72)	2.06 ± 0.15	11.33 ± 0.27	1.68 ± 0.20
diet 2(1.11)	2.16 ± 0.12	10.32 ± 0.34	1.55 ± 0.02
diet 3(1.53)	2.07 ± 0.12	10.23 ± 0.64	1.49 ± 0.08
diet 4(1.93)	2.01 ± 0.10	10.65 ± 0.44	1.61 ± 0.10
diet 5(2.31)	2.11 ± 0.10	11.40 ± 0.68	1.72 ± 0.10
diet 6(2.72)	2.05 ± 0.12	11.47 ± 0.66	1.57 ± 0.15

以饲料 L-异亮氨酸含量为横坐标,花鲈的增重率(WGR)为纵坐标,经二次曲线回归分析得: $Y = -22.30X^2 + 83.71X + 25.81, R^2 = 0.922$;以饲料 L-异亮氨酸含量为横坐标,花鲈的蛋白质沉积率(PR)为纵坐标进行二次曲线回归分析得: $Y = -7.136X^2 + 26.19X + 13.45, R^2 = 0.975$ 。以 WGR 和 PR 为评价指标,经计算得出生长中期花鲈对饲料中 L-异亮氨酸的需求量分别为 1.88% 和 1.84% 饲料干重,占饲料蛋白质的 4.41% 和 4.32% (图 1,图 2)。

2.2 饲料中 L-异亮氨酸含量对生长中期花鲈体组成成分的影响

饲料中 L-异亮氨酸含量对花鲈全鱼水分(70.89%~72.21%)、粗蛋白(15.48%~16.18%)、粗脂肪(6.95%~7.41%)和粗灰分(5.55%~5.71%)含量都无显著影响($P > 0.05$) (表 5);由表

表 5 饲料中添加 L-异亮氨酸对花鲈体组成的影响(湿重)

Tab.5 Effects of dietary L-isoleucine levels on the body composition of seabass(wet weight) %

饲料编号 diets no.	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash	水分 moisture
diet 1(0.72)	15.71 ± 0.27	6.95 ± 0.13	5.71 ± 0.05	72.21 ± 0.48
diet 2(1.11)	15.77 ± 0.12	7.28 ± 0.15	5.63 ± 0.09	71.38 ± 0.19
diet 3(1.53)	16.18 ± 0.11	7.41 ± 0.09	5.55 ± 0.04	70.89 ± 0.28
diet 4(1.93)	16.16 ± 0.20	7.24 ± 0.14	5.63 ± 0.09	71.39 ± 0.41
diet 5(2.31)	15.48 ± 0.04	7.22 ± 0.17	5.59 ± 0.15	72.02 ± 0.14
diet 6(2.72)	15.86 ± 0.03	7.31 ± 0.07	5.62 ± 0.07	71.23 ± 0.20

2.3 饲料中 L-异亮氨酸含量对生长中期花鲈肝脏转氨酶活力的影响

肝脏谷草转氨酶(GOT)活力随饲料中 L-异亮氨酸含量的升高有先上升后下降的趋势,其中 L-异亮氨酸含量 1.93% 组显著高于其他各组

6 可知,花鲈肌肉中氨基酸的含量均不受饲料中 L-异亮氨酸含量的显著影响($P > 0.05$)。

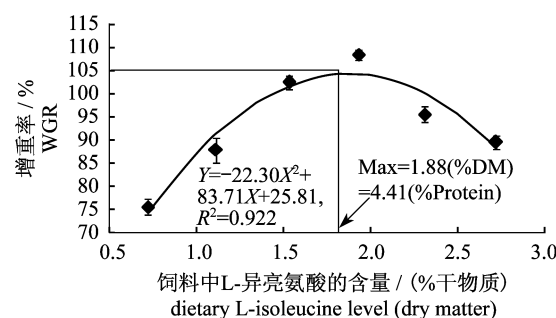


图 1 饲料中 L-异亮氨酸含量与鱼体增重率之间的关系

Fig.1 Relationship between weight gain rate and dietary L-isoleucine levels

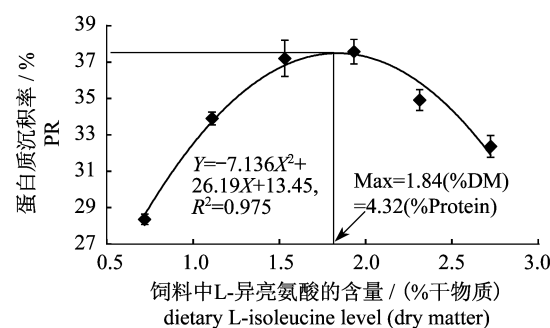


图 2 饲料中 L-异亮氨酸含量与蛋白质沉积率之间的关系

Fig.2 Relationship between protein retention and dietary L-isoleucine levels

($P < 0.05$) (表 7);谷丙转氨酶(GPT)的活力与谷草转氨酶(GOT)活力有相同趋势,当 L-异亮氨酸含量为 1.93% 时活力最高,显著高于 0.72% 和 2.72% 组 ($P < 0.05$),与其它各组差异不显著 ($P > 0.05$) (表 7)。

表 6 饲料中 L-异亮氨酸含量对花鲈肌肉氨基酸组成的影响(蛋白质)
Tab.6 Effects of dietary L-isoleucine levels on amino acid profile of
the muscle in Japanese seabass(protein)

氨基酸 amino acids	饲料号 diet number.					
	diet 1 (0.72)	diet 2 (1.11)	diet 3 (1.53)	diet 4 (1.93)	diet 5 (2.31)	diet 6 (2.72)
精氨酸 Arg	5.32 ± 0.13	5.28 ± 0.11	5.31 ± 0.05	5.25 ± 0.13	5.04 ± 0.13	4.98 ± 0.10
组氨酸 His	1.92 ± 0.04	1.90 ± 0.01	1.95 ± 0.01	2.01 ± 0.04	1.97 ± 0.06	1.90 ± 0.01
异亮氨酸 Ile	3.83 ± 0.06	3.79 ± 0.11	3.78 ± 0.03	3.96 ± 0.09	3.69 ± 0.05	3.70 ± 0.07
亮氨酸 Leu	5.82 ± 0.15	5.82 ± 0.13	5.84 ± 0.04	6.08 ± 0.10	5.83 ± 0.06	5.72 ± 0.12
蛋氨酸 Met	2.54 ± 0.07	2.72 ± 0.09	2.68 ± 0.04	2.78 ± 0.08	2.63 ± 0.34	2.65 ± 0.08
苯丙氨酸 Phe	3.66 ± 0.09	3.57 ± 0.10	3.63 ± 0.03	3.79 ± 0.05	3.59 ± 0.08	3.47 ± 0.03
赖氨酸 Lys	6.33 ± 0.29	6.14 ± 0.18	6.20 ± 0.04	6.53 ± 0.04	6.50 ± 0.10	6.19 ± 0.23
缬氨酸 Val	3.63 ± 0.03	3.71 ± 0.01	3.75 ± 0.01	3.75 ± 0.03	3.70 ± 0.04	3.71 ± 0.04
苏氨酸 Thr	3.94 ± 0.12	4.01 ± 0.07	3.98 ± 0.03	4.09 ± 0.07	4.04 ± 0.01	3.81 ± 0.10
天冬氨酸 Asp	7.96 ± 0.26	8.01 ± 0.28	8.16 ± 0.75	8.12 ± 0.50	8.05 ± 0.56	8.02 ± 0.27
丝氨酸 Ser	2.79 ± 0.18	2.84 ± 0.26	2.81 ± 0.19	2.84 ± 0.17	2.80 ± 0.27	2.83 ± 0.09
甘氨酸 Gly	4.63 ± 0.26	4.66 ± 0.25	4.65 ± 0.21	4.69 ± 0.29	4.66 ± 0.15	4.66 ± 0.19
丙氨酸 Ala	5.26 ± 0.09	5.29 ± 0.18	5.33 ± 0.19	5.32 ± 0.20	5.29 ± 0.35	5.28 ± 0.09
胱氨酸 Cys	0.73 ± 0.12	0.74 ± 0.15	0.77 ± 0.15	0.76 ± 0.06	0.76 ± 0.12	0.74 ± 0.15
酪氨酸 Tyr	2.56 ± 0.06	2.58 ± 0.18	2.57 ± 0.09	3.63 ± 0.12	2.60 ± 0.18	2.59 ± 0.16
谷氨酸 Glu	12.50 ± 0.32	12.48 ± 0.32	12.52 ± 0.24	12.55 ± 0.09	12.49 ± 0.15	12.48 ± 0.09

表 7 饲料中 L-异亮氨酸含量对花鲈肝脏
谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力的影响
Tab.7 Effects of dietary L-isoleucine levels on
activity of GOT and GPT in liver of
Japanese seabass (U/g prot)

饲料编号/% diets no.	谷草转氨酶 GOT	谷丙转氨酶 GPT
diet 1(0.72)	25.06 ± 0.63 ^b	50.00 ± 0.88 ^b
diet 2(1.11)	28.06 ± 0.89 ^b	50.59 ± 1.26 ^{ab}
diet 3(1.53)	28.13 ± 1.03 ^b	51.22 ± 1.36 ^{ab}
diet 4(1.93)	32.10 ± 0.26 ^a	56.22 ± 1.61 ^a
diet 5(2.31)	27.33 ± 0.96 ^b	52.01 ± 1.30 ^{ab}
diet 6(2.72)	27.20 ± 0.52 ^b	49.41 ± 0.87 ^b

表 8 饲料中 L-异亮氨酸含量对花鲈血清生化指标的影响
Tab.8 Effects of dietary L-isoleucine levels on serum biochemical indexes of Japanese seabass

饲料编号/% diets no.	谷草转氨酶/(U/L) GOT	谷丙转氨酶/(U/L) GPT	总胆固醇/(mmol/L) TC	甘油三酯/(mmol/L) TG
diet 1(0.72)	10.33 ± 0.88	4.70 ± 0.25	5.90 ± 0.06	4.99 ± 0.11 ^b
diet 2(1.11)	10.00 ± 1.53	4.26 ± 0.12	5.79 ± 0.18	5.38 ± 0.14 ^b
diet 3(1.53)	9.67 ± 0.33	4.37 ± 0.12	5.97 ± 0.09	5.70 ± 0.12 ^{ab}
diet 4(1.93)	9.33 ± 1.33	4.13 ± 0.15	6.35 ± 0.24	6.16 ± 0.12 ^a
diet 5(2.31)	11.00 ± 1.00	4.50 ± 0.12	5.69 ± 0.22	5.75 ± 0.29 ^{ab}
diet 6(2.72)	10.00 ± 0.58	4.53 ± 0.16	5.71 ± 0.21	5.59 ± 0.15 ^{ab}

3 讨论

本实验以生长中期花鲈(159.33 ± 1.20)g 为

2.4 饲料中 L-异亮氨酸含量对生长中期花鲈血液生化指标的影响

血清甘油三酯(TG)含量随饲料 L-异亮氨酸含量的升高呈现先上升后下降的趋势,在 L-异亮氨酸含量 1.93% 时达到最大值,显著高于 0.72% 和 1.11% 组 ($P < 0.05$),与其他组差异不显著 ($P > 0.05$) (表 8)。饲料中 L-异亮氨酸含量对血清谷草转氨酶(GOT)活力、谷丙转氨酶(GPT)活力、血清总胆固醇(TC)含量影响均不显著 ($P > 0.05$) (表 8)。

研究对象,通过在基础饲料中添加不同水平的晶体 L-异亮氨酸,探讨饲料中 L-异亮氨酸含量对生长中期花鲈生长、成活、体成分及肝脏和血清生化

指标的影响,进而得出生长中期花鲈对饲料中 L-异亮氨酸的需求量。结果表明,对照组花鲈的生长受到严重抑制,随饲料中 L-异亮氨酸含量的升高,花鲈的生长显著提高,当饲料中 L-异亮氨酸含量为 1.93% 时,增重率、饲料效率和蛋白质沉积率均达到最大值(表 3)。而随着饲料中 L-异亮氨酸含量进一步升高,花鲈生长又受到抑制。这表明,L-异亮氨酸是生长中期花鲈(159.33 ± 1.20)g 正常生长所必需的营养成分,花鲈能有效地利用晶体 L-异亮氨酸,饲料中 L-异亮氨酸含量过高或过低都会对花鲈的生长产生抑制作用。

以增重率和蛋白质沉积率为评价指标,得出花鲈对饲料 L-异亮氨酸的最适需求量为 1.84% ~ 1.88% 饲料(4.32% ~ 4.41% 蛋白)。按其占蛋白含量比较,花鲈(159.33 ± 1.20)g 对饲料 L-异亮氨酸的需求量高于舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*) (2.60% 蛋白)^[17]、条纹鲈(2.50% 蛋白)^[4]、斑点叉尾鲷(2.58% 蛋白)^[6]、异育银鲫(3.47% ~ 3.70% 蛋白)^[9]、印鲮(3.15% 蛋白)^[18]等,而与对草鱼(4.00% ~ 4.23% 蛋白)^[8]、南亚野鲮(*Labeo rohita*) (3.80% ~ 3.98% 蛋白)^[19]、日本鳗鲡(*Anguilla japonicus*) (4.00% 蛋白)^[13]、遮目鱼(*Chanos chanos* Forskal) (4.00% 蛋白)^[20]等研究得到的结果相近。不同鱼类对 L-异亮氨酸的需求量不同,可能受到不同实验条件的影响,包括实验鱼的种类、大小、水温、盐度、投喂频率、投喂时间、养殖密度、饲料配方、研究方法和评价指标等方面^[20-24]。花鲈幼鱼(8.0 ± 0.20)g 对 L-异亮氨酸需求量为 4.69% 蛋白质^[10]略高于本研究结果,说明随着花鲈的生长,其对 L-异亮氨酸的需求量可能会逐渐降低。

已有研究表明,饲料中适宜 L-异亮氨酸水平能够显著提高印鲮^[2]、斑点叉尾鲷^[6]、草鱼^[8]、异育银鲫^[9]、大黄鱼^[10]的生长,而 L-异亮氨酸含量过高或过低都会抑制鱼类的生长,这与本研究结果相一致。饲料中 L-异亮氨酸水平过高或过低会降低花鲈的增重率和蛋白质沉积率等,主要原因是过高或过低的 L-异亮氨酸水平打破了饲料中氨基酸的平衡,降低机体蛋白质的合成效率,进而抑制生长。异亮氨酸、亮氨酸及缬氨酸同为支链氨基酸,在小肠壁吸收和转运时,会发生载体竞争的拮抗^[25],支链氨基酸在分解代谢途径中转氨和脱氢分别由支链氨基酸转氨酶和 α-酮酸脱氢

酶复合物催化^[26],当体内某种支链氨基酸含量过高时,会增强这两种酶活性,使其他两种支链氨基酸的分解增强,导致这两种支链氨基酸出现缺乏,破坏氨基酸平衡,降低鱼体蛋白质的合成效率,抑制鱼体生长^[9]。

饲料中氨基酸水平会影响鱼体体组成及肌肉中氨基酸水平^[27]。本研究发现,生长中期花鲈体组成不受饲料中 L-异亮氨酸含量的显著影响,与异育银鲫幼鱼^[9]、花鲈幼鱼^[10]等研究结果相一致,而尚晓迪^[8]研究发现饲料中添加晶体氨基酸对草鱼幼鱼体组成影响显著。主要原因可能是不同种类鱼维持体组分的能力存在差异,而花鲈对维持体组分能力较强(需要与花鲈幼鱼相比较)。另外,饲料中 L-异亮氨酸含量对生长中期花鲈肌肉氨基酸的组成无显著影响,与窦秀丽^[12]研究一致,而何志刚等^[28]发现饲料中添加晶体氨基酸对花鲈幼鱼肌肉氨基酸组成影响显著。出现该结果的原因可能是由于肌肉氨基酸组成相对保守,不受营养水平影响。而肌肉中游离氨基酸含量的不同可能是导致肌肉氨基酸组成出现差异的原因^[29]。另外,不同研究实验鱼规格、实验条件和不同氨基酸代谢途径等方面对鱼体体组成和肌肉中氨基酸组成产生影响^[18,28]。

谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)是鱼类蛋白质和氨基酸代谢的两种重要酶,主要存在于肝脏。肝脏 GOT 和 GPT 活力大小可以反映鱼体对饲料蛋白质的利用程度及鱼体肝脏健康状况^[30],其常作为评价鱼类营养的重要指标。转氨酶主要是催化氨基酸氧化分解时,将氨基转移到 α-酮酸的酶,正常情况下,其活力越高,鱼类机体代谢就越旺盛,表现为鱼体生长就越快。本研究发现,随着饲料中 L-异亮氨酸含量的升高,GOT 和 GPT 活力均呈现先上升后下降的趋势,最大值出现在 1.93% 组,各组间差异显著,表明饲料中适宜的 L-异亮氨酸含量可以提高鱼类机体的代谢水平,促进鱼体的生长。已有研究表明,瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)^[31]、花鲈^[11-12]饲料中添加晶体氨基酸,其肝脏 GOT 和 GPT 的活力随着晶体氨基酸添加水平的升高呈现先上升后下降的趋势,各组间差异显著,与本研究结果相一致。另有研究发现,随饲料中晶体氨基酸添加水平的升高,异育银鲫肝脏中 GOT 的活力有先上升后下降的趋势,但影响差异不显著^[9]。出现这种

结果的原因可能是,不同品种鱼类对饲料中添加不同晶体氨基酸的分解代谢途径存在差异。

研究发现,动物摄食缺乏某一必需氨基酸的食物后会使机体脂肪合成下降^[32-33],而甘油三酯(TG)是机体脂肪的主要存在形式^[32-34]。本研究发现,血清TG含量随饲料中L-异亮氨酸含量的升高,有先上升后下降的趋势,L-异亮氨酸含量为1.93%时达到最高值,显著高于0.72%、1.11%和2.72%组。可能是因为L-异亮氨酸跟亮氨酸同为支链氨基酸,具有相似的生理功能,当饲料中L-异亮氨酸含量不足时,抑制花鲈体内TG的合成及转运,抑制鱼体生长,具体影响机制有待进一步研究。同为支链氨基酸的亮氨酸和L-异亮氨酸在分解代谢途径中转氨和脱氢分别由支链氨基酸转氨酶和 α -酮酸脱氢酶复合物催化^[26],当饲料中L-异亮氨酸含量高时,这两种酶活性会增强,促进亮氨酸的分解代谢,造成亮氨酸缺乏,抑制TG合成及转运,降低鱼体生长速度。饲料中L-异亮氨酸含量的变化对血清胆固醇(TC)含量的影响差异不显著。与对异育银鲫^[9]的研究中得出了相似的结论。饲料中L-异亮氨酸含量的变化对血清GOT和GPT活力没有显著性影响,说明花鲈肝脏没有明显损害,花鲈具有较强的维持机体稳态的能力。

综上所述,以增重率(WGR)和蛋白质沉积率(PR)为评价指标,生长中期花鲈初始体质量(159.33 \pm 1.20)g对饲料L-异亮氨酸的需求量为1.84%~1.88%饲料干重,4.32%~4.41%饲料蛋白。

参考文献:

- [1] Wilson R P. Amino acids and proteins[M]//Halver J E. Fish Nutrition. New York: Academic Press, 2002:145-175.
- [2] Ahmed I, Khan M A. Dietary branched-chain amino acid valine, L-isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. British Journal of Nutrition, 2006, 96(3):450-460.
- [3] Moon H Y, Gatlin D M. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) [J]. Aquaculture, 1991, 95(1):97-106.
- [4] Small B C, Soares J H. Estimating the quantitative essential amino acid requirements of striped bass *Morone saxatilis*, using fillet A/E ratios [J]. Aquaculture Nutrition, 1998, 4:225-232.
- [5] Santiago C B, Lovell R T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia [J]. The Journal of Nutrition, 1988, 118(12):1540-1546.
- [6] Wilson R P, Poe W E, Robinson E H. Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish [J]. Journal of Nutrition, 1980, 110(4):627-633.
- [7] Rodehutsord M, Becker A, Pack M, et al. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to supplements of individual essential amino acids in a semipurified diet, including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids [J]. The Journal of Nutrition, 1997, 127(6):1166-1175.
- [8] Shang X D. Study on isoleucine requirement for juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [D]. Chongqing: Southwest University, 2009. [尚晓迪. 草鱼幼鱼对异亮氨酸需求量的研究. 重庆: 西南大学, 2009.]
- [9] Li G M. Studies on dietary threonine, leucine, valine and isoleucine requirements of juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, 2009. [李桂梅. 异育银鲫幼鱼对饲料苏氨酸、亮氨酸、缬氨酸和L-异亮氨酸需求量的研究. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2009.]
- [10] Li Y. Optimal requirements of branch chain amino acids and histidine in diet of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) and large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010. [李燕. 鲈鱼和大黄鱼支链氨基酸与组氨酸营养生理的研究. 青岛: 中国海洋大学, 2010.]
- [11] Men K K. Fish meal replacement and lysine requirement in diets of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014. [门珂珂. 饲料玉米蛋白粉及赖氨酸对鲈鱼生长和代谢的影响. 青岛: 中国海洋大学, 2014.]
- [12] Dou X L. The study on the optimum requirement of dietary threonine, valine and histidine of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) in the middle and late growing stage [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2010. [窦秀丽. 鲈鱼生长中后期缬氨酸、组氨酸和苏氨酸营养需求的研究. 大连: 大连海洋大学, 2014.]
- [13] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish and shrimp [M]. Washington, DC: National

- Academy Press,1993:157 – 159.
- [14] Wilson R P, Harding D E, Garling D L. Effect of dietary PH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish [J]. The Journal of Nutrition,1977,107(1):166 – 170.
- [15] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis [M]. 19th ed. Arlington, VA; Association of Official Analytical Chemists,2012.
- [16] Zeitoun I H, Ullrey D E, Magee W T. Quantifying nutrient requirements of fish [J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada,1976,33(1):167 – 172.
- [17] Kaushik S J. Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles [J]. Aquatic Living Resources,1998,11(5):355 – 358.
- [18] Ahmed I, Khan M A. Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp (*Cirrhinus mrigala*) (Hamilton) [J]. British Journal of Nutrition,2006,96(3):450 – 460.
- [19] Abidi S F, Khan M A. Dietary leucine requirement of fingerling Indian major carp (*Labeo rohita*) (Hamilton) [J]. Aquaculture Research,2007,38(5):478 – 486.
- [20] Borlongan I G, Coloso R M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids [J]. The Journal of Nutrition,1993,123(1):125 – 132.
- [21] Chiu Y N, Austic R E, Rumsey G L. Effect of feeding level and dietary electrolytes on the arginine requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Aquaculture,1988,69(1):79 – 91.
- [22] Cowey C B. Protein and amino acid requirements: A critique of methods [J]. Journal of Applied Ichthyology,1995,11(3 – 4):199 – 204.
- [23] Khan M A, Abidi S F. Dietary isoleucine requirement of fingerling Indian major carp (*Labeo rohita*) (Hamilton) [J]. Aquaculture Nutrition,2007,13(6):424 – 430.
- [24] Dai W W. Lysine requirement and fish meal replacement in diet of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Gunther) [D]. Qingdao: Ocean University of China,2011. [代伟伟. 半滑舌鳎赖氨酸需求及其蛋白源替代研究. 青岛:中国海洋大学,2011.]
- [25] Harper A E, Miller R H, Block K P. Branched-chain amino acid metabolism [J]. Annual Review of Nutrition,1984,4(1):409 – 454.
- [26] Harris R A, Joshi M, Jeoung N H, et al. Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism [J]. The Journal of Nutrition,2005,135(suppl.):1527 – 1530.
- [27] Mai K S, Wan J L, Ai Q H, et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, (*Pseudosciaena crocea* R) [J]. Aquaculture,2006,253(1 – 4):564 – 572.
- [28] He Z G, Ai Q H, Mai K S, et al. Dietary threonine requirement of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Journal of Fisheries of China,2012,36(1):124 – 131. [何志刚,艾庆辉,麦康森,等. 鲈幼鱼对饲料中苏氨酸的需要量. 水产学报,2012,36(1):124 – 131.]
- [29] De Long D C, Halver J E, Mertz E T. Nutrition of salmonoid fishes X. quantitative threonine requirements of *Chinook salmon* at two water temperatures [J]. Journal of Nutrition,1962,76(2):174 – 178.
- [30] Cheng Z Y, Ai Q H, Mai K S, et al. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Aquaculture,2010,305(1):102 – 108.
- [31] Wang X L. Effects of dietary methionine on growth performance and methionine metabolism of juvenile darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*) [D]. Qingdao: Ocean University of China,2014. [王秀丽. 蛋氨酸对瓦氏黄颡鱼幼鱼生长和代谢的影响. 青岛:中国海洋大学,2014.]
- [32] Dudek S M, Semenkovich C F. Essential amino acids regulate fatty acid synthase expression through an uncharged transfer RNA-dependent mechanism [J]. The Journal of Biological Chemistry,1995,270(49):29323 – 29329.
- [33] Guo F F, Cavener D R. The GCN2 eIF2 α kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid [J]. Cell Metabolism,2007,5(2):103 – 114.
- [34] Lees E K, Król E, Grant L, et al. Methionine restriction restores a younger metabolic phenotype in adult mice with alterations in fibroblast growth factor 21 [J]. Aging Cell,2014,13(5):817 – 827.

Dietary L-isoleucine requirement of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) in the middle growing stage

LU Kai, XU Wei, MAI Kangsen, WANG Zhen, YAN Jing, XU Hanlin, AI Qinghui*

(Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feeds, Ministry of Agriculture; Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The present study was conducted to estimate the quantitative requirement of L-isoleucine in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [initial body weight (159.33 ± 1.20) g] by feeding six isonitrogenous and isoenergetic practical diets containing graded levels of L-isoleucine 0.72%, 1.11%, 1.53%, 1.93%, 2.31% and 2.72% (dry weight), respectively, named diet 1—diet 6. After a 10-week growth trial, results showed that weight gain rate (WGR), feed efficiency (FE) and protein retention (PR) were significantly influenced by the different diets ($P < 0.05$). The values increased first, and then declined as the dietary L-isoleucine levels increased. The highest values of these three parameters were 108.55%, 0.89 and 37.57% in fish fed the diet with 1.93% dry matter of dietary L-isoleucine, respectively. Survival rate (SR), feed intake (FI), hepatosomatic index (HSI), viscerosomatic index (VSI), condition factor (CF), body composition and the essential amino acids of muscle were not significantly influenced by dietary L-isoleucine level ($P > 0.05$). Dietary L-isoleucine significantly affected the activities of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) in livers ($P < 0.05$). The level of triglycerid (TG) in serum was significantly affected by dietary L-isoleucine levels ($P < 0.05$). Fish fed the diet with 1.93% L-isoleucine had the highest TG value. GOT and GPT activities and total cholesterol (TC) levels in serum were not significantly affected ($P > 0.05$). In conclusion, appropriate dietary L-isoleucine level can improve the growth of the seabass. On the basis of WGR and PR, using the second-order regression analysis, dietary L-isoleucine requirement of Japanese seabass in the middle growing stage were estimated to be 1.88% and 1.84% dry diet (4.41% and 4.32% dietary protein), respectively.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; L-isoleucine; middle growing stage; requirement

Corresponding author: AI Qinghui. E-mail: qhai@ouc.edu.cn