

文章编号: 1000-0615(2006)02-0246-08

饲料蛋白对翘嘴红鮊蛋白质周转代谢的影响

王桂芹^{1,3}, 周洪琪¹, 赵朝阳¹, 冷向军¹,
陈建明², 叶金云², 潘茜², 王友慧²

(1. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090;

2. 浙江省淡水水产研究所, 浙江湖州 313001; 3. 吉林农业大学动物科技学院, 吉林 长春 130118)

摘要: 选择健康的翘嘴红鮊(体重 12.84 ± 0.60 g)为试验鱼, 以红鱼粉为蛋白源, 配制 5 个蛋白水平(31.04%、35.51%、40.89%、46.62%、50.33%)的等能、等必需氨基酸(EAA)平衡关联度的半精制饲料; 又以豆粕替代鱼粉, 大豆蛋白分别替代 0、13.5%、27%、40.5%、54% 的鱼粉蛋白, 配制 5 个 EAA 关联度的等蛋白(40%)、等能($20 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$)的半精制饲料, 探讨饲料蛋白水平和大豆蛋白对鱼粉蛋白的替代对翘嘴红鮊肌肉和肝胰脏蛋白质周转代谢的影响。8 周饲养结果表明, 饲料蛋白水平对翘嘴红鮊的特定增重率(SGR)具有显著性影响($P < 0.05$), 40.89% 饲料蛋白组的 SGR 显著高于 31.04%、35.51% 饲料蛋白组($P < 0.05$), 但与 46.62% 和 50.33% 饲料蛋白组没有显著性差异($P > 0.05$); 饲料蛋白水平对白肌、肝胰脏蛋白质生长率具有相似的影响, 40.89% 饲料蛋白组的白肌、肝胰脏蛋白质生长率分别达到 $2.13\% \cdot \text{d}^{-1}$, 显著高于 31.04% 和 35.51% 两组($P < 0.05$), 但与 46.62% 和 50.33% 饲料蛋白组无显著性差异($P > 0.05$)。饲料蛋白水平的增加促进了翘嘴红鮊的生长和蛋白质的合成。肌肉蛋白质合成率(K_s)、蛋白质降解率(K_d)随饲料蛋白水平的增加而增加($P < 0.05$), 肌肉蛋白质的增加归因于蛋白质合成的增加较降解的增加更占优势, 蛋白质的沉积率在适宜蛋白水平时最高。当大豆蛋白分别替代 13.5%、27.0%、40.5% 的鱼粉蛋白时, 翘嘴红鮊的 SGR 与对照组差异不显著($P > 0.05$), 而且都显著高于 54.0% 替代组($P < 0.05$)。白肌蛋白质生长率(K_g)也显著受到大豆蛋白替代的影响($P < 0.01$), 当饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量为 40.5% 时, 与对照组相比, K_g 极显著下降($P < 0.01$)。随着饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量的增加, 白肌 K_s 随之降低, 当饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量达 54% 时, 与对照组相比, 肌肉 K_s 显著下降($P < 0.05$)。白肌 K_d 与白肌 K_s 的变化趋势相似($P < 0.1$), 而 PDE 没有受到饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代的影响($P > 0.05$)。可见随着大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量的提高, 氨基酸平衡关联度逐渐降低, 蛋白质合成逐渐降低($P < 0.05$), 生长下降, 饲料必须氨基酸平衡程度的变化没有改变蛋白质的沉积效率。

关键词: 翘嘴红鮊; 蛋白质水平; 大豆蛋白; 蛋白质周转代谢; 肌肉; 肝胰脏

中图分类号: S963 文献标识码: A

The effect of dietary protein on protein turnover of *Erythroculter ilishaformis* juveniles

WANG Gui-qin^{1,3}, ZHOU Hong-qi¹, ZHAO Chao-yang¹, LENG Xiang-jun¹,
CHEN Jian-ming², YE Jin-yun², PAN Qian², WANG You-hui²

(1. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China;

3. College of Animal Science and Technology, Jilin Agric University, Changchun 130118, China)

Abstract: A series of growth experiments was conducted to examine the effect of dietary protein on protein synthesis parameters [protein synthesis rate (K_s), protein degradation rate (K_d) and protein accumulation rate (K_g) and protein deposition efficiency

收稿日期: 2005-04-28

资助项目: 浙江省重大科技攻关项目(2002C12016); 浙江省湖州市科技重点项目(2003G N04)

作者简介: 王桂芹(1968-), 女, 吉林辽原人, 副教授, 博士, 从事鱼类营养和饲料学的研究。E-mail: wggjku@sohu.com

通讯作者: 周洪琪, E-mail: hqzhou@shfu.edu.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(PDE)] in muscle and hepatopancreas of topmouth culter, *Erythroculter ilishaformis* Bleeker juveniles by using brown fishmeal as the protein source in formulated diets. Tested fish with initial weight (12.84 ± 0.60 g wet weight) were fed 5 isoenergetic($20\text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ gross energy) and the same relativity of essential amino acid balance experimental semi-purified diets containing different protein levels (31.04%, 35.51%, 40.89%, 46.62%, 50.33% dry matter) in 5% increments. And five isonitrogenous (40% protein) and isoenergetic($20\text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ gross energy) and different relativity of essential amino acid balance experimental semi-purified diets with soybean protein replacing 0%, 13.5%, 27%, 40.5%, 54% of fish meal protein were formulated. After 8-week trial, The results showed that with increasing dietary protein level, specific growth rate was significantly influenced by dietary protein levels ($P < 0.05$). Specific growth rate of the fish fed the 40.89% protein diets was significantly higher than that of the fish fed 31.04% and 35.51% protein diets ($P < 0.05$), but there was no significant difference from that of the fish fed the 46.62% and 50.33% protein diets ($P > 0.05$). Effect of dietary protein levels on protein accumulation rate in muscle followed the similar pattern as that of hepatopancreas, protein accumulation rate in muscle and hepatopancreas in fish fed the 40.89% protein diets were $2.13\% \cdot \text{d}^{-1}$ respectively. The specific growth rate of the fish fed the 40.89% protein diets was significantly higher than that of the fish fed 31.04% and 35.51% protein diets ($P < 0.05$), but there was no significant difference from that of the fish fed the 46.62%, 50.33% protein diets ($P > 0.05$). Protein synthesis rate (K_s) and protein degradation rate (K_d) in white muscle increased with the increase of dietary protein level ($P < 0.05$), protein increase in white muscle was much more due to the increase of K_s than K_d , the muscular protein deposition efficiency (the proportion of growth to synthesis) had a maximal value in optimistic dietary protein level. When the replacement level for fish meal protein with soybean protein was 13.5%, 27%, 40.5%, there were no significant difference in specific growth rate among the diets compared with control group ($P > 0.05$), and were significantly higher than specific growth rate in fish fed with 54% replacement of soybean protein ($P < 0.05$). Replacement of fish meal by soybean cake also affected significantly the protein accumulation rate (K_g) in white muscle ($P < 0.05$). When the replacement level for fish meal protein with soybean protein was 40.5%, there was significant decrease of K_g compared with control group ($P < 0.05$). When the replacement level for fish meal protein with soybean protein was 54.0%, there was significant decrease of K_s compared with control group ($P < 0.05$). In white muscle, increased replacement level for fish meal protein with soybean protein did not change PDE ($P > 0.05$). With the increase of replacement level for fish meal protein with soybean protein, worse EAA balance decreased gradually with the growth, but the change of EAA pattern in diets did not affect PDE of white muscle.

Key words: *Erythroculter ilishaformis*; dietary protein level; soybean protein; protein turnover; muscle; hepatopancrease

动物体蛋白质周转代谢受营养、环境及自身生理条件等众多因素的影响和控制,如环境温度、饥饿和再投饲、饲料颗粒的大小、摄食率、饲料的营养组成(蛋白、能量等)等^[1-5],其中饲料蛋白含量的变化直接影响细胞内氨基酸库的变化,从而影响蛋白质的周转。对鲤(*Cyprinus carpio*)^[5]、大西洋鳕(*Gadus morhua*)^[6]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[7]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[8]等研究表明,全鱼体、组织和器官的蛋白质合成率和生长率都随饲料蛋白水平的增加而增加,肌肉蛋白的增加是蛋白质合成的增加较降解的增加更占优势的结果。饲料蛋白质量或氨基酸平衡等也是较为关键的影响因素。给欧洲真鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[9]、欧洲鳗(*Anguilla anguilla*)^[10]和草鱼^[11]饲喂必需氨基酸缺乏的饲料,蛋白质合成和降解都降低,从而导致生长下降。虹鳟^[12]、草鱼^[13]饲料中补充必需氨基酸,结果促进蛋白质的合成和降解,合成的增加更占优势,从而促进生长。饲料氨基酸平衡对鱼类蛋白质代谢的影响不尽相同,欧洲真鲈^[14]饲料氨基酸越平衡,体蛋白质合成和降解均减少,降解的减少更占优势。有关饲料蛋白水平及其EAA平衡对翘嘴红鮊蛋白质代谢的

影响至今未见报导。本试验以鱼粉为蛋白源,研究饲料蛋白水平对翘嘴红鮊蛋白质周转的影响,以豆粕替代鱼粉,研究饲料EAA平衡对翘嘴红鮊蛋白质周转的影响,从而探讨翘嘴红鮊蛋白质周转代谢的规律。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

以鱼粉为动物蛋白源,以豆粕为植物蛋白源,鱼油和大豆油及糊精为能源,纤维素为填充物来配制半精制饲料。在研究饲料蛋白水平对翘嘴红鮊的蛋白质周转代谢影响的实验中,配制5个不同蛋白水平的等能、等EAA平衡关联度的饲料(表1),蛋白水平分别为30%、35%、40%、45%、50%。EAA的平衡关联度采用灰色关联分析法计算^[15],翘嘴红鮊对9种EAA需要量以实测的翘嘴红鮊肌肉EAA组成为依据,饲料原料的9种EAA的组成为实测数据。在研究豆粕替代鱼粉对翘嘴红鮊的蛋白质周转代谢影响的实验中,大豆蛋白分别替代0.0%、13.5%、27.0%、40.5%、54.0%的鱼粉蛋白,配成5个等氮(粗蛋白为40%)、等能(总能为 $20\text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$)、不同EAA平衡关联度的饲料。

(表2)。饲料原料经粉碎过60目筛,按配方称重、均匀混合,挤压成直径为2.0 mm颗粒,晒干

后置于-4℃冰柜中保存、备用。

表1 饲料蛋白水平对蛋白质周转代谢影响试验的饲料配方及主要营养成分

Tab. 1 Formulation and proximate chemical composition of the diets in the experiment of effect of dietary protein level on protein turnover

饲料蛋白质水平(%)	dietary protein level	30	35	40	45	50	% dry matter
配方成分(% DM) ingredients							
鱼粉 fish meal		38.81	45.28	51.75	58.22	64.69	
鱼油 fish oil		2.29	1.98	1.67	1.36	1.05	
玉米油 corn oil		2.29	1.98	1.67	1.36	1.05	
氯化胆碱 choline chloride		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
糊精 dextrin		47.83	41.6	35.37	29.14	22.91	
维生素预混料 vitamin premix		1	1	1	1	1	
无机盐预混料 mineral premix		2	2	2	2	2	
磷酸二氢钙 mono-basic calcium phosphate		0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
微晶纤维素 cellulose microcrystalline		2.77	3.15	3.53	3.91	4.19	
黏合剂 binder		2	2	2	2	2	
营养组成(% DM) proximate composition							
粗脂肪 crude lipid		7.96	7.86	8.19	8.08	7.97	
灰分 crude ash		7.96	8.81	9.52	10.40	12.00	
蛋白质 crude protein		31.04	35.51	40.89	46.62	50.33	
计算总能(kJ•kg ⁻¹) calculated gross energy		19.59	19.71	20.01	20.20	20.13	
蛋白质:能量比(g•MJ ⁻¹) protein/energy ratio		15.84	18.02	20.44	23.08	25.00	
EAA 平衡关联度 relativity of EAA balance		0.7348	0.7348	0.7348	0.7348	0.7348	

注:根据蛋白质、脂肪、碳水化合物的能量(23.6, 39.5, 17.2 kJ•g⁻¹)计算饲料的能量^[16]。表2同

Notes: Dietary energy was calculated based on the energy of protein, lipid and carbohydrate(23.6, 39.5, 17.2 kJ•g⁻¹)^[16], the same as table 2

表2 豆粕替代鱼粉对蛋白质周转代谢影响试验的饲料配方及营养成分

Tab. 2 Formulation and proximate composition of diets in the experiment of effect of replacement of fish meal by soybean cake on protein turnover

大豆蛋白对鱼粉蛋白的替代量(% protein) replacement of fish protein by soybean protein	0.0	13.5	27.0	40.5	54.0	% dry matter
配方成分(% DM) ingredients						
鱼粉 fish meal	51.75	44.77	37.78	30.79	23.81	
豆粕 soybean cake	0.00	11.30	22.6	33.90	45.20	
鱼油 fish oil	1.67	1.79	1.90	2.01	2.13	
玉米油 corn oil	1.67	1.79	1.90	2.01	2.13	
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
维生素预混料 vitamin premix	1	1	1	1	1	
无机盐预混料 mineral premix	2	2	2	2	2	
磷酸二氢钙 mono-basic calcium phosphate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
糊精 dextrin	35.37	29.46	24.76	20.06	15.36	
纤维素 cellulose microcrystalline	3.53	4.90	5.06	5.21	5.38	
粘合剂 binder	2	2	2	2	2	
营养组成(% DM) proximate composition						
粗蛋白 crude protein	40.89	40.79	40.43	41.20	41.82	
粗脂肪 crude lipid	8.19	8.08	7.76	7.80	7.84	
灰分 crude ash	9.52	9.31	8.59	7.87	7.02	
计算总能(kJ•g ⁻¹) calculated gross energy	20.01	20.02	20.04	20.22	20.42	
蛋白质:能量比(g•MJ ⁻¹) protein/energy ratio	20.44	20.38	20.17	20.37	20.48	
EAA 平衡关联度 relativity of EAA balance	0.7535	0.7610	0.7224	0.6907	0.6771	

1.2 试验鱼的饲养管理及生长测定

试验鱼来自浙江省淡水水产研究所, 为同一批人工孵化的2龄鱼种。实验前暂养于室内水泥池中, 挑选健壮、规格均匀的翘嘴红鮊幼鱼700尾。放室内水泥池中驯化, 投喂蛋白含量为40%的实验饲料作为驯化饲料, 饱食投喂, 驯化15 d。

饲养试验从2004年7月1日~2004年8月27日, 为期8周。试验开始之前, 停止投喂1 d, 取20尾鱼的白肌和肝胰脏于-20℃保存待测。然后挑选体格健壮、规格均匀的翘嘴红鮊称体重(精确至0.01 g), 随机放养在室内水泥池里(1.6 m×2.8 m×1.4 m), 每种饲料处理设置3个重复, 每个重复20尾鱼, 日投喂率为体重的2.5%~4.0%。视水温、摄食情况作适当调整。每天投喂两次(9:00, 17:00), 试验期间水温为23~30℃, pH为(7.1±0.1), 溶解氧大于5 mg·L⁻¹, 氨氮小于0.5 mg·L⁻¹。

饲养试验结束, 停食24 h后称体重(精确到0.01 g), 从每个饲料组中随机取翘嘴红鮊10尾, 将鱼去皮, 吸干体表水分, 而后分别以每尾鱼的白肌和肝胰脏为一个样品, 于-20℃保存、待测。采用凯氏定氮法测定白肌和肝胰脏的蛋白质含量。依据试验鱼的体重计算特定生长率(SGR), 依据试验鱼的蛋白质含量计算蛋白质生长率(kg), 计算公式如下:

$$\text{SGR}(\%) \cdot \text{d}^{-1} = 100 \times (\ln W_2 - \ln W_1) / d$$

W_1 , W_2 分别表示初始和结束尾均重(g), d 为试验的天数。

$$K \text{ g}(\%) \cdot \text{d}^{-1} = 100 \times (\ln P_2 - \ln P_1) / d$$

P_1 , P_2 分别表示初始和结束白肌或肝胰脏蛋白质含量(g), d 为试验的天数。

1.3 示踪氨基酸溶液及闪烁液的配制

³H-苯丙氨酸(L-[2,6³H]Phe)为Amersham Biosciences产品, 购自中国同位素总公司上海分公司, 放射化学纯, 比活性1 mCi·mL⁻¹。用鱼用生理盐水(NaCl 6.5 g, KCl 0.2 g, NaHCO₃ 0.20 g, 无水CaCl₂ 0.28 g, 用蒸馏水稀释至1 000 mL)配制浓度为135 mmol·L⁻¹、50 μCi·mL⁻¹的注射液。

闪烁液配方参见吴冠芸等^[17]的方法适当修改, 精确称取PPO 2.5 g, POPO 0.25 g, 用二甲苯溶解, 加入TritonX-100 150 mL(可视样品水分的多少作适当增减), 用二甲苯定容到500 mL。

1.4 翘嘴红鮊肌肉、肝胰脏蛋白质合成率的测定

试验鱼的注射、解剖和取样 饲养试验8周时, 每组取翘嘴红鮊6尾, 用MS-222(60 mg·L⁻¹)麻醉, 称重后, 在翘嘴红鮊侧线以上的背部肌肉注射L-[2,6³H]Phe溶液0.2 mL·(100 g)⁻¹BW[10 μCi·(100 g)⁻¹BW], 注射完毕后将鱼置于周转箱中, 分别在2 h和4 h各取3尾鱼击其头部并杀死, 将鱼迅速放入10 L液氮罐中(-180℃)以终止蛋白质合成反应, 3 min后将鱼取出, 室温条件下自然解冻, 从注射部位的另一侧鱼的背部取白肌4 g左右, 剖开腹部, 滤纸吸干血污, 冰盘中取肝胰脏。

游离氨基酸的分离 分别精确称取肌肉、肝胰脏样品1.0000 g左右, 按5倍重量体积加入冷的2% (w/v) HClO₄后、匀浆, 匀浆液转移到5 mL的塑料离心管中, 4℃、10 000 r·min⁻¹离心20 min, 收集上清液、冷冻保存。蛋白质的纯化: 上述离心后的蛋白质沉淀物用10 mL 2% HClO₄洗涤3次, 重悬于10 mL 0.3 mol·L⁻¹氢氧化钠中, 置于37℃水浴1 h使沉淀溶解, 10 000 r·min⁻¹ 4℃离心20 min, 取上清液、弃沉淀。上清液以终浓度2%的HClO₄沉淀蛋白质, 10 000 r·min⁻¹ 4℃离心20 min, 弃去上清液。沉淀用冰冷的无水乙醚和95%乙醇(1:15)洗涤1次, 10 000 r·min⁻¹ 4℃离心20 min, 弃去上清液, 沉淀再用冰冷无水乙醚洗涤2次。乙醚挥发后, 得到纯化的蛋白质。将制备好的纯化蛋白质放入70℃烘箱中干燥至恒重。游离氨基酸及蛋白质结合放射强度的测定: 精确称取一定量纯蛋白, 按5倍重量体积加入HClO₄, 70℃烘箱反应35 min至样品完全消化, 再加入7倍重量体积的H₂O₂, 震荡摇匀, 70℃烘箱反应至消化液透明无色, 冷却后取100 μL消化液于闪烁瓶中, 加入5 mL闪烁液, 再滴加TritonX-100使闪烁液被乳化至刚好澄清, 测定白肌和肝胰脏中蛋白质结合的放射强度, 取游离氨基酸上清液100 μL按上述方法测定其白肌和肝胰脏中游离氨基酸的放射强度, 每个样品2个平行测定, 取其平均值。放射性用SN-6930液体闪烁计数器进行测量、采用内标法淬灭校正。

计算 参照Harald等^[4]的报导。根据肌肉和肝胰脏游离和蛋白质结合的放射性来计算蛋白质合成率(K_s), 依据蛋白质生长率和蛋白质合成率计算蛋白质降解率(K_d)和蛋白质沉积效率

(PDE), 计算公式如下:

$$K_s (\% \cdot d^{-1}) = [(SB_{t_2} - SB_{t_1}) / SA(t_2 - t_1)] [100 / (t_2 - t_1)]$$

式中, SB_{t_1} SB_{t_2} 分别是 2 h、4 h 的蛋白质结合的放射强度, $SA(t_2 - t_1)$ 为平均游离氨基酸的放射强度, $t_2 - t_1$ 为试验间隔时间。

$$K_d (\% \cdot d^{-1}) = K_s - K_g$$

$$PDE(\%) = (K_d / K_s) \times 100$$

1.5 统计分析

采用 SPSS10.0 软件进行单因素方差分析, 用 Duncan 氏多重比较分析组间差异显著性程度, 采用双变量相关分析。

2 结果

2.1 饲料蛋白水平对翘嘴红鮊生长的影响

经过 8 周饲养试验, 饲料蛋白水平对翘嘴红

鮊的 SGR 具有极显著的影响 ($P < 0.01$, 表 3), SGR 随着饲料蛋白水平的升高呈先升高后稳定的趋势, 当饲料蛋白水平从 31.04% 升到 40.89% 时, SGR 随之升高; 然而饲料蛋白水平从 40.89% 再提高, 其 SGR 与 46.62%、50.33% 饲料蛋白组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。饲料蛋白水平对白肌、肝胰脏蛋白质生长率具有相似影响, 40.89% 饲料蛋白组的白肌、肝胰脏蛋白质生长率分别达到 $2.13 \% \cdot d^{-1}$, 显著高于 31.04% 和 35.51% 饲料蛋白组 ($P < 0.05$), 但与 46.62% 和 50.33% 饲料蛋白组无显著性差异 ($P > 0.05$)。翘嘴红鮊 SGR 和白肌 K_g 呈极显著正相关 ($P < 0.01$), 相关系数为 0.9824。

表 3 饲料蛋白水平对翘嘴红鮊生长的影响

Tab. 3 Effect of dietary protein levels on growth of *E. ilishaefformis*

饲料蛋白水平(%) dietary protein level	初始体重(g) initial mean body weight	末体重(g) final mean body weight	特定生长率 (%·d ⁻¹) specific growth rate	肌肉蛋白质生长率 (%·d ⁻¹) muscle protein growth rate	肝胰脏蛋白质生长率 (%·d ⁻¹) hepatopancreas protein growth rate
31.04	12.97 ± 0.55	33.70 ± 1.34	1.71 ± 0.08 ^{Cb}	1.72 ± 1.15 ^c	1.81 ± 0.08 ^c
35.51	12.96 ± 0.65	35.60 ± 2.13	1.80 ± 0.04 ^{BCb}	1.91 ± 0.04 ^b	1.97 ± 0.04 ^b
40.89	12.66 ± 0.48	39.15 ± 0.86	2.02 ± 0.09 ^a	2.13 ± 0.08 ^a	2.13 ± 0.09 ^a
46.62	13.07 ± 0.57	38.84 ± 1.34	1.94 ± 0.05 ^{ABa}	2.04 ± 0.07 ^{ab}	2.11 ± 0.05 ^a
50.33	12.79 ± 0.47	37.56 ± 0.60	1.92 ± 0.05 ^{ABa}	2.00 ± 0.01 ^{ab}	2.10 ± 0.05 ^a

注: 表中同列不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$), 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Notes: Means in a column with a different superscript capital letter indicate difference at $P < 0.01$, which with a different superscript letter are different at $P < 0.05$. The same below

2.2 饲料蛋白水平对翘嘴红鮊的蛋白质周转代谢的影响

饲料蛋白水平对翘嘴红鮊白肌的 K_s 、 K_d 具有显著性影响 ($P < 0.05$, 表 4), 白肌 K_s 随饲料蛋白水平的升高而升高, 46.62% 饲料蛋白组的白肌 K_s 显著高于 31.04% 饲料蛋白组 ($P < 0.05$)。50.33% 饲料蛋白组白肌 K_s 显著高于 31.04%、35.51% 和 40.49% 饲料蛋白组 ($P < 0.05$), 但与 46.62% 饲料蛋白组的 K_s 无显著性差异 ($P > 0.05$)。饲料蛋白水平对白肌 K_d 具相似影响, 饲料蛋白水平达 50.33% 时, 翘嘴红鮊的白肌 K_d 才显著高于 31.04%、35.51% 和 40.89% 饲料蛋白组 ($P < 0.05$)。饲料蛋白水平对白肌 PDE 亦有显著影响。当饲料蛋白水平从 31.04% 升高到

46.62% 时, 白肌 PDE 较为稳定, 当饲料蛋白达 50.33% 时, 白肌 PDE 显著低于其余各水平组。说明高蛋白饲料组鱼体蛋白质的沉积反而降低。

白肌 K_s 、 K_d 分别与饲料蛋白质水平呈正相关 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$), 相关系数分别为 0.953、0.910, 白肌 PDE 分别与白肌 K_g 和翘嘴红鮊 SGR 呈正相关, 相关系数分别为 0.571、0.688。表明随饲料蛋白水平的增加, 白肌蛋白质合成和降解加速, 即蛋白质周转加快。但白肌合成的蛋白质用于生长或沉积的效率在适宜饲料蛋白水平 (40.89%) 时最高。

各饲料蛋白水平的肝胰脏 K_s 、 K_d 都高于白肌, 肝胰脏的 PDE 低于白肌。肝胰脏 K_s 和 K_d 没有受到饲料蛋白水平的影响 ($P > 0.05$)。肝胰脏

PDE 则受到饲料蛋白水平的影响($P < 0.05$)。当饲料蛋白水平达到 40.89% 时, 其肝胰脏 PDE 显著高于 31.04% 的饲料蛋白组($P < 0.05$), 但与其它饲料蛋白组没有显著差异($P > 0.05$)。

2.3 饲料中豆粕替代鱼粉对翘嘴红鮊生长的影响

当饲料中大豆蛋白分别替代 13.5%、27.0%、40.5% 的鱼粉蛋白时, 翘嘴红鮊 SGR 与对照组差

异不显著($P > 0.05$, 表 5)。然而饲料大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量为 54.0% 时, 翅嘴红鮊的 SGR 极显著低于对照组($P < 0.01$)。白肌 K_g 也受到大豆蛋白替代的显著影响($P < 0.01$), 饲料大豆蛋白的替代对 K_g 的影响要比对 SGR 的影响明显, 当饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量为 40.5% 时, 与对照组相比, 白肌 K_g 呈现极显著下降($P < 0.01$)。各替代组肝脏 K_g 与对照组没有差异。

表 4 饲料蛋白水平对翘嘴红鮊白肌、肝胰脏蛋白质周转代谢的影响

Tab. 4 Influence of dietary protein level on white muscle and hepatopancreas protein turnover of *E. ilishaformis*

	饲料蛋白水平(%) dietary protein level				
	31.04	35.51	40.89	46.62	50.33
白肌 white muscle					
$K_s (\% \cdot d^{-1})$	7.36 ± 1.27 ^c	8.13 ± 1.66 ^{ab}	8.45 ± 0.58 ^{ab}	9.80 ± 0.99 ^{ab}	11.59 ± 1.37 ^a
$K_d (\% \cdot d^{-1})$	5.64 ± 1.37 ^b	6.22 ± 1.63 ^b	6.32 ± 0.50 ^b	7.75 ± 1.02 ^{ab}	9.58 ± 1.38 ^a
PDE(%)	23.90 ± 5.41 ^{ab}	24.08 ± 4.05 ^a	25.25 ± 0.84 ^a	21.03 ± 2.59 ^b	17.49 ± 2.23 ^b
肝胰脏 hepatopancreas					
$K_s (\% \cdot d^{-1})$	21.89 ± 2.54	21.07 ± 2.61	20.27 ± 2.45	20.46 ± 1.48	20.18 ± 1.86
$K_d (\% \cdot d^{-1})$	20.07 ± 2.47	19.10 ± 2.64	18.14 ± 2.46	18.35 ± 1.52	18.09 ± 1.91
PDE(%)	8.31 ± 0.70 ^b	9.49 ± 1.29 ^{ab}	10.62 ± 1.46 ^a	10.34 ± 0.89 ^b	10.46 ± 1.15 ^a

表 5 饲料中豆粕替代鱼粉对翘嘴红鮊生长的影响

Tab. 5 Effect of replacement of fish meal by soybean cake on growth of *E. ilishaformis*

大豆蛋白对鱼粉蛋白的替代量 (% protein) replacement of fish meal protein by soybean protein	初始体重(g) initial mean body weight	末体重(g) final mean body weight	特定生长率 (% · d ⁻¹) specific growth rate	白肌蛋白生长率 (% · d ⁻¹) muscle protein growth rate	肝胰脏蛋白生长率 (% · d ⁻¹) hepatopancreas protein growth rate
0.0	12.66 ± 0.48	39.15 ± 0.86	2.02 ± 0.09 ^{ab}	2.13 ± 0.08 ^{Aa}	2.13 ± 0.09 ^{ab}
13.5	12.86 ± 0.77	40.70 ± 2.93	2.06 ± 0.05 ^{Aa}	2.14 ± 0.08 ^{Aa}	2.17 ± 0.05 ^a
27.0	12.87 ± 1.03	39.56 ± 1.97	2.01 ± 0.07 ^{ab}	2.06 ± 0.06 ^{Aa}	2.19 ± 0.07 ^a
40.5	13.08 ± 0.80	38.17 ± 1.45	1.91 ± 0.06 ^{Abc}	1.87 ± 0.03 ^{Bb}	2.09 ± 0.06 ^{ab}
54.0	12.79 ± 0.80	34.91 ± 1.52	1.81 ± 0.47 ^{Bc}	1.74 ± 0.08 ^{Bc}	2.05 ± 0.05 ^b

2.4 饲料中豆粕替代鱼粉对翘嘴红鮊蛋白质周转代谢的影响

饲料豆粕替代鱼粉对翘嘴红鮊白肌 K_s 、 K_d 具有显著影响($P < 0.05$, 表 6)。白肌 K_s 、 K_d 随着饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量的增加而降低, 当饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代量达 54% 时, 白肌 K_s 比对照组下降 $1.68\% \cdot d^{-1}$ 。白肌 K_d 比对照组降低 $1.3\% \cdot d^{-1}$, 而 PDE 没有受到饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代的影响($P > 0.05$)。

白肌 K_s 、 K_d 分别与饲料中豆粕对鱼粉替代量负相关($P < 0.01$), 相关系数分别为 -0.946, -0.946。白肌 K_s 分别与白肌 K_g 、翘嘴红鮊 SGR

呈正相关($P < 0.01$), 其相关系数分别为 0.999 和 0.980, 白肌 K_d 分别与白肌 K_g 、翘嘴红鮊 SGR 呈正相关($P < 0.01$), 其相关系数分别为 0.998 和 0.978。可见, 随着大豆蛋白替代量的增加, 肌肉蛋白质合成和降解都降低, 但白肌的 PDE 没有受到影响。

在所有各替代组中, 肝胰脏 K_s 、 K_d 都高于白肌, 肝胰脏的 PDE 低于白肌。肝胰脏 K_s 、 K_d 随着饲料中豆粕对鱼粉替代的增加而增加, 肝胰脏 PDE 随着饲料中大豆蛋白对鱼粉蛋白替代的增加而降低, 但是豆粕替代的影响不显著($P > 0.05$)。

表6 饲料中豆粕替代鱼粉对翘嘴红鮊白肌和肝胰脏蛋白质周转代谢的影响
Tab. 6 Influence of replacement of fish meal by soybean cake on white muscle and hepatopancreas protein turnover of *E. ilishaformis*

	大豆蛋白对鱼粉蛋白的替代量(%蛋白) replacement of fish meal protein by soybean protein				
	0.0	13.5	27.0	40.5	54.0
白肌 white muscle					
K _s (%•d ⁻¹)	8.45±0.58 ^a	8.43±1.18 ^a	8.15±0.70 ^{ab}	7.25±0.69 ^{ab}	6.77±0.49 ^b
K _d (%•d ⁻¹)	6.32±0.50 ^a	6.29±1.18 ^a	6.09±0.67 ^{ab}	5.39±0.69 ^{ab}	5.02±0.54 ^b
PDE(%)	25.25±0.84	25.67±3.43	25.38±1.81	25.89±2.45	25.88±2.62
肝胰脏 hepatopancreas					
K _s (%•d ⁻¹)	20.27±2.45	21.17±2.58	22.36±2.23	22.84±0.46	23.34±2.00
K _d (%•d ⁻¹)	18.14±2.46	19.00±2.63	20.18±2.29	20.76±0.42	21.29±1.96
PDE(%)	10.62±1.46	10.39±1.57	9.82±1.32	9.12±0.20	8.79±0.59

注: 表中 K_d 和 PDE 同行不同小写字母表示差异显著($P < 0.1$)

Notes: Means in a rank of K_d and PDE with a different superscript letter indicate difference at $P < 0.1$

3 讨论

3.1 翘嘴红鮊白肌和肝胰脏的蛋白质周转代谢

不同组织的蛋白质周转代谢不同, 本研究翘嘴红鮊肝胰脏蛋白质 K_s、K_d 大约是白肌的 3 倍左右, 而白肌的 PDE 却是肝胰脏的 2.5 倍左右, 因此肝胰脏的蛋白质周转速率要远高于白肌, 但白肌的蛋白质沉积效率要远高于肝胰脏。对虹鳟各组织的蛋白质周转的研究也得到相似的结果, 肌肉的蛋白质合成和降解最低, 而肌肉蛋白质沉积却是最高的^[2]。McMillan 等^[18]、Peragon 等^[7]先后对虹鳟、Higuera 等^[10]对欧洲鳗、Langar 等^[14]对欧洲真鲈、罗莉等^[8]对草鱼的研究也有类似报道。

饲料蛋白水平、豆粕替代鱼粉能显著影响白肌的 K_s、K_d, 而对肝胰脏的 K_s、K_d 无显著影响。可能是肝胰脏蛋白质代谢和肌肉蛋白质代谢的机制不同, 肝脏的蛋白周转代谢较高, 是合成蛋白质的重要器官, 如血清中的纤维蛋白原及部分球蛋白都在肝脏合成的, 鱼体所摄取的饲料蛋白质(氨基酸)必须经肝脏重新合成自身蛋白。但合成的蛋白质用于生长很少, 可能是肝脏中的蛋白质周转主要是维持组织代谢的功能, 而不是用于蛋白沉积和生长。肌肉是生长的最有代表性的组织, 也是蛋白沉积率最高的组织^[19], 且对饲料氨基酸的变化非常敏感。

3.2 饲料蛋白水平与肌肉蛋白质周转和生长

蛋白质周转是蛋白质合成和降解的动态过程, 净蛋白沉积是蛋白质合成和降解的差异, 肌肉

是蛋白沉积的主要器官, 肌肉蛋白的生长是蛋白周转的结果、动物生长的直接反应。摄食不同饲料蛋白水平的鱼类具有不同的蛋白质周转代谢率。本研究表明, 饲料蛋白水平与肌肉蛋白质周转呈正相关关系, 随着饲料蛋白质水平的提高, 翘嘴红鮊肌肉蛋白质合成和降解率都相应增加, 蛋白质周转加快。蛋白沉积的效率在适宜蛋白水平(40.89%)、适宜的蛋能比(20.44 g·MJ⁻¹)时最高。这与 Harald 等对大西洋鲑(*Salmo salar*)^[4]、Peregon 等对虹鳟^[7]、罗莉等对草鱼^[8]的研究结果相似。

有许多研究表明, 较高的蛋白周转和较高的生长率相连^[1, 19]。本研究适宜条件下, 翘嘴红鮊 SGR 和白肌 K_g 均达到最高水平, 白肌 K_d 未有显著提高, 因此, 这是白肌合成的增加更占优势的结果, 与罗莉等^[8]对草鱼的研究报导相似。与 Meyer 等^[5]对鲤的研究结果不一致, 饲料能蛋比适宜时, 鲤氮排泄量减少, 氨基酸氧化减弱, 因此, 蛋白质周转的代谢中蛋白质降解量与合成量之比降低, 从而促进生长, 由此可见, 适宜饲料蛋白质水平条件下获得鱼类最佳生长效果的蛋白质代谢机制不同。

3.3 饲料氨基酸平衡与肌肉蛋白质周转和生长

豆粕替代鱼粉影响鱼类蛋白质代谢和生长的原因之一是植物蛋白质的氨基酸不平衡^[10, 11, 13, 20]。有关饲料氨基酸平衡对蛋白质周转的影响的研究有两种结果, 一是饲料氨基酸的平衡促进肌肉蛋白质合成和降解, 蛋白质合成的增加更占优势, 从而促进生长。草鱼实用饲料中

补充结晶和包膜赖氨酸^[13]、鲤玉米蛋白粉饲料中补充赖氨酸^[20]、欧洲鳗葵花粉饲料中补充必需氨基酸^[10], 由于饲料氨基酸的平衡, 肌肉 K_s 、 K_d 和 PDE 都升高, 表明饲料氨基酸平衡促进蛋白质合成和降解, 而且蛋白质合成的增加更占优势, 从而促进生长。罗莉等对草鱼^[21]饲喂不同氨基酸模式的饲料时也发现同样的规律。这与本研究结果一致, 翘嘴红鱼白肌 K_s 、 K_d 分别与饲料中豆粕对鱼粉替代量显著负相关, 饲料必需氨基酸平衡促进肌肉蛋白质合成和蛋白质降解, K_s 的斜率要大于与 K_d 的斜率, 蛋白质合成降低的程度较蛋白质降解降低的程度更大, 而蛋白质沉积效率没有改变, 从而使生长显著下降。蛋白质合成的增加更显优势, 从而促进生长。这是由于蛋白合成最终依赖蛋白合成点氨基酸数量和可利用性, 即蛋白质合成所需的氨基酸在合成点同时到达、且有足够的浓度, 因此低质蛋白源因缺乏一种或几种氨基酸, 抑制 43 s 起始复合物的合成, 从而限制或损害蛋白质的合成^[22]。

对欧洲真鲈^[14]的研究得到另一种结果, 饲料氨基酸越平衡, 全鱼体蛋白质合成和降解都降低, 降解的减少更占优势。

参考文献:

- [1] Houlihan D F, Hall S J, Gray C. Effects of ration on protein turnover in cod [J]. Aquaculture, 1989, 79: 103– 110.
- [2] Fauconneau B F. In vivo protein synthesis in different tissues and the whole body of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R). Influence of environmental temperature [J]. Comp Biochem Physiol, 1985, 82A (1): 179– 187.
- [3] Loughna P T, Goldspink G. The effects of starvation upon protein turnover in red and white myocomal muscle of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. J Fish Biol, 1984(25): 223– 230.
- [4] Harald S, Arnt J R, Einar L. Growth and protein turnover in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): the effect of dietary protein level and protein particle size [J]. Aquaculture, 2000, 185: 101– 120.
- [5] Meyer B K H, Rosenow H. Protein turnover and energy metabolism in growing carp 2. Influence of feeding level and protein : energy ratio [J]. Journal of Animal Physiology and Nutrition, 1995, 73 (3): 134– 149.
- [6] Lied E, Braaten B. The effects of feeding and starving and different ratios of protein to total energy in feed on the excretion of ammonia in Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. Comp Biochem Physiol, 1984, 78A: 49– 52.
- [7] Peragon J, Barroso J B, Higuera M D L. Dietary protein effects on growth and fractional protein synthesis and degradation rates in liver and white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 1994, 124(3– 4): 35– 36.
- [8] 罗莉, 叶元土, 林仕梅. 相同 EAA 模式下不同日粮蛋白质水平对草鱼肌肉、肝脏蛋白周转代谢的影响 [J]. 动物营养学报, 2002, 14 (3): 24– 29.
- [9] Habib L, Jean G. Effect of feeding pattern and dietary protein source on protein synthesis in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Comp Biochem Physiol, 1994, 108A (2/3): 461– 466.
- [10] Higuera H, Akhabarbach M C, Hidalgo J, et al. Liver and white muscle protein turnover rates in the European eel (*Anguilla anguilla*): effects of dietary protein quality [J]. Aquaculture, 1999, 179: 203– 216.
- [11] 罗莉, 叶元土, 林仕梅. 灌喂必需氨基酸模式溶液对草鱼全鱼和肌肉、肝脏蛋白质合成代谢的影响 [J]. 水产学报, 2002, 26 (1): 73– 75.
- [12] Garzon A, Peragon J, Hidalgo M C. Influence of dietary lysine availability on the fractional rates of protein synthesis and degradation in liver and white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 1994, 124(1– 4): 64– 72.
- [13] 刘永坚, 田丽霞, 刘栋辉, 等. 实用饲料补充结晶或包膜赖氨酸对草鱼生长、血清游离氨基酸和肌肉蛋白质合成率的影响 [J]. 水产学报, 2002, 26 (3): 251– 258.
- [14] Langer H, Guillaume J, Mettailler R, et al. Augmentation of protein synthesis and degradation by poor dietary amino acid balance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. J Nutr, 1993, 123 (10): 1754– 1761.
- [15] 江龙建, 姜勋平, 周光宏. 应用灰色关联分析评价饲料蛋白质氨基酸平衡性 [J]. 四川动物和兽医学, 2001, 28 (2): 120– 124.
- [16] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 80– 105.
- [17] 吴冠芸, 潘华珍, 吴翠. 生物化学与分子生物学实验常用数据手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2002. 112.
- [18] McMillan D N, Houlihan D F. Short term response of protein synthesis to refeeding in rainbow trout [J]. Aquaculture, 1989, 79: 37– 46.
- [19] Houlihan D F, Hall S J, Gray C, et al. Growth rates and protein turnover in Atlantic cod, *Gadus morhua* [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1988, 45: 951– 964.
- [20] Higuera M, Garzon A, Hidalgo M C, et al. Influence of temperature and dietary protein supplementation either with free or coated lysine on the fractional protein-turnover rates in the white muscle of carp [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1998, 18: 85– 95.
- [21] 罗莉, 叶元土, 林仕梅. 日粮必需氨基酸模式对草鱼生长及蛋白质周转的影响 [J]. 水生生物学报, 2003, 27 (3): 278– 282.
- [22] Everson W V, Flaim K E, Susco D E, et al. Effect of amino-acid deprivation on initiation of protein synthesis in rat hepatocytes [J]. J Am Physiol, 1989, 256: 18– 27.