

大口黑鲈对饲料中蛋氨酸需求量的评定

陈乃松*, 马建忠, 周恒永, 周洁, 仇小洁, 靳利娜, 林丽芳

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为了评定大口黑鲈对饲料中蛋氨酸的最适需求量, 配制了蛋氨酸含量分别为 0.61%, 0.82%, 0.98%, 1.21%, 1.42% 和 1.59% 的 6 水平等氮等能饲料(44.39% 粗蛋白质, 0.30% 胱氨酸, 19.81 kJ/g 总能), 以初始体重为 (37.88 ± 0.40) g 的大口黑鲈为试验对象, 进行了 66 d 的饲养试验。饲养试验在室内循环水养殖系统中进行, 每饲料处理设 3 个重复, 每重复放养试验鱼 25 尾。饲养试验采取表观饱食投喂, 每天投喂两次(8:30 和 15:30)。试验期间水温 (27 ± 1) °C, 溶解氧 6 mg/L 以上。结果表明, 试验鱼的特定生长率、饲料效率、蛋白质效率、蛋白沉积率随着饲料中蛋氨酸水平从 0.61% 到 1.21% 的升高而显著提高 ($P < 0.05$), 此后则呈降低的趋势。饲料中蛋氨酸水平对全鱼和肌肉中粗蛋白含量有显著影响 ($P < 0.05$); 但各组间水分、粗脂肪和粗灰分含量差异不显著 ($P > 0.05$)。0.61% 蛋氨酸的饲料组的肝体比和脏体比显著大于其他组 ($P < 0.05$), 其他组间无显著差异 ($P > 0.05$)。饲料中蛋氨酸水平显著影响血清溶菌酶活力, 头肾白细胞吞噬活性及其呼吸爆发活性 ($P < 0.05$)。以特定生长率为评价指标经二次回归分析得出, 当饲料中的胱氨酸占饲料蛋白质的 0.68% 时, 大口黑鲈对饲料中蛋氨酸的最适需求量为 1.22%, 占饲料蛋白质的 2.75%。

关键词: 大口黑鲈; 蛋氨酸需求量; 生长; 体组成; 非特异性免疫

中图分类号: S 963

文献标识码: A

蛋氨酸是脊椎动物生长和发育所必需的氨基酸。除直接参与蛋白质的合成外, 也可以在机体中转化为半胱氨酸、活性甲基和肌酸等作为其它生理活性物质合成的前体物质^[1]。蛋氨酸在常见的植物性蛋白质饲料(豆粕、花生粕和棉粕等)中是限制性的必需氨基酸之一。到目前为止, 已有多种经济鱼类对饲料中蛋氨酸的需求量被研究^[2]。现有的研究发现, 饲料中蛋氨酸的缺乏导致斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[3]、鲤 (*Cyprinus carpio*)^[4]、罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂)^[5]、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[6] 和印鲷 (*Cirrhinus mrigala*)^[7] 等的生长性能下降, 或是负面影响红拟石首鱼 (*Sciaenops ocellatus*)^[8] 和五条鲷 (*Seriola quinqueradiata*)^[9] 等的鱼体组成。蛋氨酸对鱼类免疫功能影响的报道较少见。孙崇岩

等^[10] 研究认为, 饲料中添加适量蛋氨酸能提高建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) 的免疫力。

大口黑鲈(俗名加州鲈鱼) (*Micropterus salmoides*) 是一种典型的肉食性鱼类, 自 20 世纪 80 年代从美国引进我国后已发展成为我国淡水养殖的主要经济品种之一。目前, 我国大口黑鲈的养殖生产中主要以冰鲜杂鱼为饲料, 大口黑鲈的专用人工配合饲料尚未开发成功。迄今为止, 关于大口黑鲈的营养研究尚不全面, 现有的研究曾涉及蛋白质需要量^[11]、能蛋比^[12]、赖氨酸需求量^[13] 和碳水化合物的耐受量^[14] 等方面, 而对于大口黑鲈饲料中蛋氨酸的需求量的研究未见报道。本研究采用剂量—效应法, 对添加不同水平的包膜晶体蛋氨酸的饲料进行生长、体组成和非特异性免疫力影响的评估, 以确定大口黑鲈饲料中蛋氨酸的适宜需求量, 为大口黑鲈人工饲料的

收稿日期: 2010-03-10 修回日期: 2010-05-16

资助项目: 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农攻字(2006)第 6-4 号]

通讯作者: 陈乃松, E-mail: nschen@shou.edu.cn

配制提供参考。

1 材料与方

1.1 试验饲料

本研究设计了6种等氮等能的试验饲料(表1)。试验饲料以白鱼粉、喷干血球粉、花生粕、大豆分离蛋白和晶体必需氨基酸为主要蛋白源,模拟与大口黑鲈肌肉相似的必需氨基酸组成。除蛋氨酸水平不同外,其它成分基本一致。饲料中添加0.2%的Cr₂O₃作为指示剂以测定相关养分的氮消化率。试验饲料通过添加经玉米醇溶蛋白包膜的晶体L-蛋氨酸,使其水平变化范围为0.61%~1.59%,呈0.2%梯度递增。用等氮的经同样包膜的甘氨酸调整饲料的氮平衡。饲料的氨基酸组成实测值如表2。

晶体氨基酸包膜方法 取待包膜氨基酸质量5%的玉米醇溶蛋白,溶于100倍的95%乙醇之中,再加入要包膜的氨基酸并混合均匀,将混合物60℃烘干后粉碎备用。

试验饲料的制作 饲料原料经超微粉碎,80

目过筛,各组分混合均匀后,加45%水再一次混合均匀。用电动绞肉机制成直径2~4 mm的长条,冷冻后切成长约6 mm的颗粒,于-18℃下保存待用。

1.2 养殖试验的设计与饲养管理

试验鱼购自上海郊区的一个大口黑鲈育苗场,在上海水产研究所奉贤基地进行配合饲料驯化1个月。然后运回上海海洋大学生态实验室循环水养殖系统中再进行2周室内试验条件下的驯化。期间投喂含蛋氨酸水平最低的D1试验饲料。室内驯化后,经24 h的饥饿处理,挑选体格健壮、体重相近的鱼进行称重分组试验。试验鱼按6种饲料处理,每处理3重复,随机分配于18个200 L的玻璃水槽中,每水槽放养初始体重为(37.88±0.40)g的试验鱼25尾。本试验采取表观饱食投喂,每天两次(8:30和15:30)。养殖系统循环水经海绵和珊瑚砂过滤和微生物净化,不间断充气。水体溶氧≥6 mg/L,氨氮为(0.15±0.05)mg/L,pH为(7.2±0.2),温度控制于(27±1)℃。人工控制光周期在12L:12D。养殖试验共持续66 d。

表1 试验饲料配方及组分分析

Tab.1 Formulation and proximate analysis of trial diets

饲料 diets	D1	D2	D3	D4	D5	D6
基础饲料 ^a basic ingredient	98.95	98.95	98.95	98.95	98.95	98.95
包膜蛋氨酸 coated L-methionine	0.00	0.21	0.42	0.63	0.84	1.05
包膜甘氨酸 coated glycine	1.05	0.84	0.63	0.42	0.21	0.00
组分分析 proximate analysis						
粗蛋白质 crude protein	44.44	44.36	44.36	44.41	44.41	44.36
粗脂肪 crude lipid	9.20	9.25	9.39	9.33	9.30	9.39
水分 moisture	6.50	6.56	6.55	6.49	6.51	6.49
粗灰分 crude ash	6.50	6.56	6.55	6.49	6.51	6.49
粗纤维 crude fibre	7.41	7.41	7.42	7.43	7.37	7.39
总能量(kJ/g) gross energy	19.75	19.88	19.80	19.83	19.82	19.76

注:a 基础饲料(%干饲料). 白鱼粉,12; 鱼精粉,1; 喷干血球粉,10; 花生粕,19; 大豆分离蛋白,10; 虾粉,2; 啤酒酵母,2; 谷元粉,3; 乌贼内脏粉,2; 酵母提取物,1; α-淀粉,22.3; 磷脂油,3; 海水鱼油,3; 大豆油,2; 氯化胆碱,0.3; 磷酸二氢钙,1.5; 三氧化二铬,0.2; 乙氧基喹啉(抗氧化剂),0.05; DSM多矿*,0.3; DSM多维**,0.4; 必需氨基酸混合物***,3.9。* DSM多矿(mg/kg干饲料). 铁,210; 铜,5.25; 锰,21; 锌,60; 镁,150; 碘,0.6; 硒,0.53; 钴,0.45。** DSM多维(mg or IU/kg干饲料). 维生素A,32,000 IU; 维生素D₃,6,000 IU; 维生素E,400 mg; 维生素K₃,40 mg; 维生素B₁,26.8 mg; 维生素B₂,40 mg; 维生素B₆,60 mg; 维生素B₁₂,0.054 mg; 泛酸,160 mg; 烟酸,260 mg; 叶酸,13.2 mg; 生物素,2 mg; 肌醇,540 mg; 维生素C,1 200 mg。*** 必需氨基酸混合物含有(%干饲料). 苏氨酸,0.57; 异亮氨酸,0.91; 色氨酸,0.115; 赖氨酸,1.795。

Notes: a basic ingredient(% dry diet). white fish meal,12; fish hydrolysate,1; spray-dried blood meal,10; peanut meal,19; soybean protein isolate,10; shrimp meal,2; brewer's yeast meal,2; wheat gluten meal,3; squid viscera meal,2; yeast extract,1; α-starch,22.30; crude soybean phospholipin(50%),3; marine fish oil,3; soybean oil,2; choline chloride(50%),0.3; calcium dihydrogen phosphate,1.5; Cr₂O₃,0.2; ethoxyquin(antioxidant),0.05; DSM mineral premix*,0.3; DSM vitamin premix**,0.4; EAA mixture***,3.9。* DSM mineral premix(mg/kg dry diet). Fe,210; Cu,5.25; Mn,21; Zn,60; Mg,150; I,0.6; Se,0.53; Co,0.45。** DSM vitamin premix(mg or IU/kg dry diet). retinol,32,000 IU; Vitamin D₃,6,000 IU; tocopherol acetate,400 mg; menadion,40 mg; thiamin,26.8 mg; riboflavin,40 mg; pyridoxine,60 mg; cyanocobalamin,0.054; pantothenate,160; nicotinic acid,260 mg; folic acid,13.2 mg; biotin,2 mg; inositol,540 mg; ascorbic acid,1 200 mg; *** EAA mixture containing(% dry diet). threonine,0.57; isoleucine,0.91; tryptophane,0.115; lysine,1.795。

表 2 试验饲料的氨基酸组成分析
Tab. 2 Analyzed amino acid composition of the experimental diets

氨基酸* amino acids	饲料 diets						45% 肌肉蛋白质 45% muscle protein
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	
苏氨酸 threonine	1.71	1.73	1.73	1.70	1.69	1.71	1.74
缬氨酸 valine	1.84	1.86	1.86	1.86	1.85	1.81	1.98
蛋氨酸 methionine	0.61	0.83	0.98	1.21	1.42	1.59	1.18
异亮氨酸 isoleucine	1.60	1.60	1.60	1.59	1.57	1.58	1.69
亮氨酸 leucine	3.32	3.32	3.31	3.30	3.24	3.28	3.24
苯丙氨酸 phenylalanine	2.03	2.02	2.03	2.00	1.98	1.98	1.68
组氨酸 histidine	1.33	1.30	1.32	1.31	1.34	1.35	1.08
赖氨酸 lysine	3.59	3.57	3.53	3.35	3.47	3.49	3.64
精氨酸 arginine	2.64	2.64	2.66	2.66	2.61	2.62	2.23
天冬氨酸 aspartic acid	4.18	4.17	4.20	4.21	4.20	4.21	3.97
谷氨酸 glutamic acid	6.07	6.05	6.02	6.09	5.98	6.06	6.14
甘氨酸 glycine	2.39	2.27	2.18	2.08	1.99	1.87	2.10
胱氨酸 cystine	0.29	0.29	0.30	0.31	0.31	0.30	0.74
酪氨酸 tyrosine	1.02	1.00	1.00	1.00	0.98	0.99	1.26
脯氨酸 proline	1.88	1.87	1.89	1.92	1.89	1.87	1.22
丝氨酸 serine	1.94	1.90	1.90	1.94	1.91	1.94	1.60
丙氨酸 alanine	2.47	2.49	2.44	2.48	2.43	2.45	2.39

注: * 本研究中色氨酸未检测。

Notes: * Tryptophane was not determined in this study.

1.3 样品收集和分析

样品采集 养殖试验开始时抽取 10 尾鱼于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存,用于体组成分析。投饲 2 周后,用虹吸法采集包膜完整的粪便,用于消化率测定。养殖试验结束后,饥饿 24 h,按水槽称取鱼体总体重。每水槽取出 11 尾鱼,其中 5 尾于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存,用于体组成分析。另外 6 尾作体长和体重测量后进行解剖,分离内脏、肝胰脏并称重,并取侧线上方背部肌肉于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存,用于其组成分析。其余的鱼继续饲养作采集血清和非特异性免疫分析用。

饲料与鱼体组成分析 饲料、全鱼和肌肉的成分分析方法如下:在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干至恒重,通过失重法测定水分;粗蛋白质用定氮仪 (Kjeltec 2200, FOSS, 丹麦) 测定;全鱼和肌肉粗脂肪用氯仿-甲醇法测定^[15];粗灰分采用马弗炉 (上海实验仪器公司) 于 $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下灼烧法测定;饲料粗脂肪测定采用索氏脂肪测定仪 (SOX416, Gerhardt, 德国) 测定;饲料粗纤维用纤维测定仪 (FT12, Gerhardt, 德国) 测定;饲料总能量用氧弹量热仪 (6200, Parr, 美国) 测定;饲料和鱼体中的氨基酸测定参照文献 [16] 的方法,含硫氨基酸测定的样

品前处理采用过甲酸氧化法,其它氨基酸测定的样品前处理采用真空冲氮气酸水解,用氨基酸自动分析仪 (L-8800, Hitachi, 日本) 测定各氨基酸的含量。

血清指标测定 每水槽随机取 10 尾鱼,用 2 mL 注射器从尾静脉取血,每尾取血 0.7 mL, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存 4 h 后离心收集上层血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存待测。血清溶菌酶活力用比浊法测定。用 0.1 mol/L, pH 为 6.2 的磷酸盐缓冲液将溶壁微球菌 (*Micrococcus lysolei*) 冻干粉 (南京建成) 配成悬液 ($\text{OD}_{530\text{ nm}} \approx 0.3$)。取 3 mL 悬液于试管中,加入 200 μL 待测血清、溶菌酶标准液 (溶菌酶标准品, BioBasic) 和蒸馏水分别作为测定管、标准管和对照管。各管混匀后 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 震荡水浴 15 min, 结束后立即 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰水浴 3 min, 于 530 nm 处测定各管透光率。血清蛋白含量用考马斯亮蓝法测定^[17]。

头肾白细胞的分离 采血后的试验鱼被用于分离头肾白细胞。头肾白细胞的分离在参考文献 [18] 的方法基础上作了改动。整个分离过程在无菌操作下进行。经解剖取得的头肾置于盛有经冰浴的细胞培养液的烧杯中。用吸管吹打头肾

组织成为细胞悬液。细胞悬液经 150 目不锈钢细胞筛过滤后进入下一步的细胞分离。细胞培养液的配制:以 RPMI-1640 (Gibco) 为基础,配制成含 2% (V/V) 经补体灭活的胎牛血清 (Gibco)、100 IU/mL 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素的溶液,经 0.45 μm 的超滤膜抽滤后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。头肾白细胞的分离采用 Nycodenz (Axis-shield, 挪威) 配制的密度梯度分离液经离心 (400 \times g, 常温下 20 min) 得以实现。Nycodenz 密度梯度分离液含 14.1% (W/V) Nycodenz, 0.75% (W/V) NaCl, 5 mmol/L Tris-HCl, 3 mmol/L KCl 和 0.3 mmol/L CaNa_2EDTA 。其 pH 为 7.4, 密度为 1.077 g/mL, 渗透压为 290 mOsmol/kg。分离取得的白细胞再经悬浮于细胞培养液中的两次离心洗涤 (400 \times g, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下 10 min), 用血球计数板计数, 用台盼蓝排除法计算活细胞的密度, 用细胞培养液调整活细胞浓度至 1×10^7 cells/mL 细胞悬液, 用作吞噬和呼吸爆发活性测定。

吞噬和呼吸爆发活性测定 头肾白细胞吞噬活性测定在汤城等^[19]的方法基础作了改动, 按 Bodammer^[20]的方法对酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*, type II, Sigma) 进行预处理。取 100 μL 白细胞悬液 (1×10^7 cells/mL) 与 100 μL 酵母悬液 (5×10^7 cells/mL) 于 1.5 mL 离心管中 31 $^{\circ}\text{C}$ 下振荡孵育 45 min。取 60 μL 混合悬液于载玻片上, 在湿盒中孵育 45 min, 用不含钙、镁离子的 HBSS 冲洗掉未被吞噬的酵母和未贴壁的细胞。瑞姬复合染液染色后油镜检测吞噬活性。头肾白细胞呼吸爆发活性测定采用 Esteban 等^[18]的化学发光法并稍作改动, 用含钙、镁离子的 HBSS 配制 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的弗波醇酯 (Phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA, Sigma) 和 0.1 mmol/L 的发光底物鲁米诺 (Sigma), 白细胞悬液、鲁米诺和弗波醇酯各取 50 μL 依次加到酶标板孔中, 立即放入酶标仪 (FLUO star, BMG, 德国) 中检测。样品经 30 个循环的检测, 每个循环 2 min, 温度为 31 $^{\circ}\text{C}$ 。以不含 PMA 的样本作空白对照, 以发光反应的斜率作为应达指标。

1.4 计算公式

特定增长率 (%/d) = $100 \times (\text{Ln 终重} - \text{Ln 初重}) / \text{试验天数}$

饲料效率 = (终末体重 - 初始体重) / 摄入干饲料的量

蛋白质效率 (%) = $100 \times (\text{终末体重} - \text{初始体重}) / \text{摄入的蛋白质总量}$

蛋白质沉积率 (%) = $100 \times \text{体组织蛋白质沉积量} / \text{摄入的蛋白质总量}$

成活率 (%) = $100 \times \text{终鱼数} / \text{初鱼数}$

蛋白质消化率 (%) = $100 \times [1 - (\text{粪便中蛋白质含量} / \text{饲料中蛋白质含量}) \times (\text{饲料中 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量} / \text{粪便中 } \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ 含量})]$

体型指数 (= 体质量 (g) / 体长³ (cm³))

肝体比 (%) = $100 \times \text{肝重 (g)} / \text{鱼体重 (g)}$

脏体比 (%) = $100 \times \text{内脏重 (g)} / \text{鱼体重 (g)}$

溶菌酶含量 (U/mL) = (测试管的透光率 - 对照管的透光率) / (标准管的透光率 - 对照管的透光率) \times 样品稀释倍数 \times 标准管浓度。

吞噬活性 = $100 \times (\text{吞噬酵母的细胞总数} / \text{计数的总细胞数}) \times (\text{吞噬的酵母数} / \text{计数的总细胞数})$

1.5 数据处理与统计分析

有关数据以平均值 \pm 标准误来表示。采用 SPSS 13.0 对数据进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 用 Duncan 氏法进行多重差异显著性比较, 显著水平 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 蛋氨酸水平对生长的影响

66 d 的养殖试验结果显示, 饲料中蛋氨酸水平对试验鱼特定增长率 (SGR)、饲料效率 (FER)、蛋白质效率 (PER) 产生显著影响 (表 3)。但饲料中蛋氨酸水平对试验鱼的成活率、蛋白质消化率的影响差异不显著 (表 3)。对 SGR、FER 和 PER 与饲料中的蛋氨酸水平进行一元二次回归分析如图 1、图 2 和图 3 所示。从回归方程求得: 饲料中蛋氨酸水平分别为 1.22%、1.20% 和 1.20% (分别占饲料蛋白质的 2.75%、2.70% 和 2.71%) 时, SGR、FER 的 PER 达到最大值。

2.2 蛋氨酸水平对鱼体组成的影响

饲料中蛋氨酸水平对全鱼和肌肉的蛋白质含量有显著影响, 因而对饲料的蛋白质沉积率也产生显著影响 (表 4)。对饲料中的蛋氨酸水平与饲料蛋白质沉积率进行一元二次回归分析得出如图 4 所示的关系。饲料中蛋氨酸水平为 1.23% (占饲料蛋白质 2.77%) 时, 蛋白沉积率最大。但饲料的蛋氨酸水平对全鱼和肌肉的水分、粗脂肪和

粗灰分的影响差异不显著。

饲料的蛋氨酸水平对肝体比和脏体比有显著

影响。蛋氨酸水平为 0.61% 时,脏体比、肝体比显著高于其他组,但其他组之间无显著差异。

表 3 饲料中蛋氨酸水平对生长和饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of dietary methionine levels on growth and feed utilization

指标 index	饲料(蛋氨酸含量,%) diets						mean ± SE
	D1(0.61%)	D2(0.83%)	D3(0.98%)	D4(1.21%)	D5(1.42%)	D6(1.59%)	
初体重(g) initial body weight	37.78 ± 0.12	37.85 ± 0.24	37.95 ± 0.22	37.88 ± 0.24	37.96 ± 0.23	37.85 ± 0.24	
终体重(g) final body weight	77.15 ± 0.91 ^d	79.23 ± 0.28 ^c	80.78 ± 0.17 ^{bc}	82.83 ± 0.68 ^a	81.91 ± 0.59 ^{ab}	80.57 ± 0.89 ^{bc}	
特定增长率(%/d) specific growth rate(SGR)	1.08 ± 0.01 ^d	1.13 ± 0.01 ^c	1.17 ± 0.02 ^{ab}	1.18 ± 0.01 ^a	1.17 ± 0.01 ^{ab}	1.15 ± 0.01 ^{bc}	
饲料效率 feed efficiency ratio(FER)	0.82 ± 0.01 ^c	0.85 ± 0.01 ^b	0.89 ± 0.01 ^a	0.90 ± 0.02 ^a	0.89 ± 0.02 ^a	0.86 ± 0.02 ^b	
蛋白质效率(%) protein efficiency rate(PER)	1.84 ± 0.02 ^c	1.92 ± 0.02 ^b	2.00 ± 0.02 ^a	2.03 ± 0.02 ^a	2.00 ± 0.01 ^a	1.93 ± 0.02 ^b	
蛋白消化率(%) protein digestibility rate(PDR)	93.4 ± 0.21	93.6 ± 0.23	94.2 ± 0.46	93.8 ± 0.20	93.5 ± 0.55	94.0 ± 0.28	
成活率(%) survival rate	98.0 ± 1.0	100.0 ± 0.0	98.0 ± 1.0	100.0 ± 0.0	99.0 ± 1.0	100.0 ± 0.0	

注:同行数值带有不同上标字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

Notes: Row values with different superscripts indicate significant difference ($P < 0.05$). The following tables are the same as it.

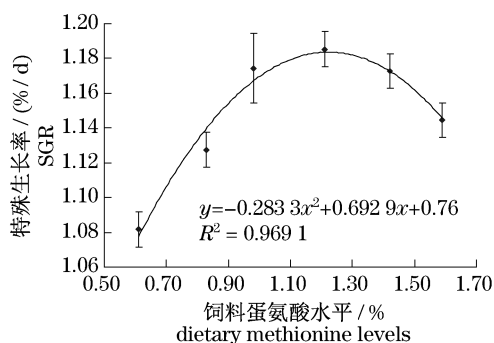


图 1 特定增长率和饲料中蛋氨酸水平的关系
Fig. 1 Relationship between special growth rate and dietary methionine levels

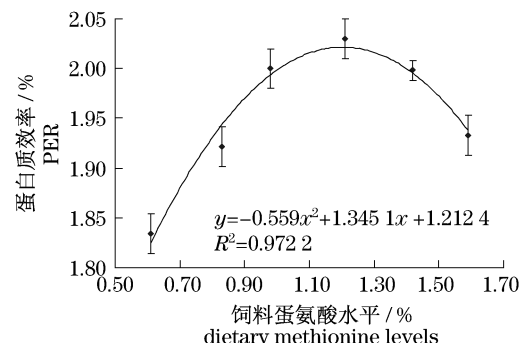


图 3 蛋白质效率和饲料中蛋氨酸水平的关系
Fig. 3 Relationship between protein efficiency rate and dietary methionine levels

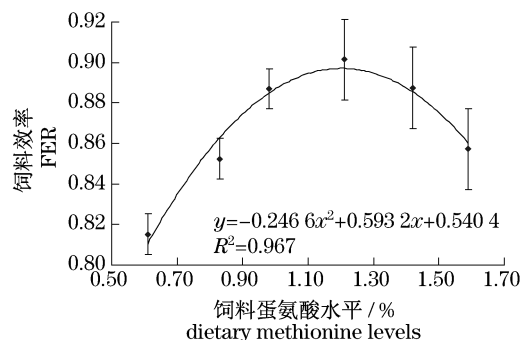


图 2 饲料效率和饲料中蛋氨酸水平的关系
Fig. 2 Relationship between feed efficiency ratio and dietary methionine levels

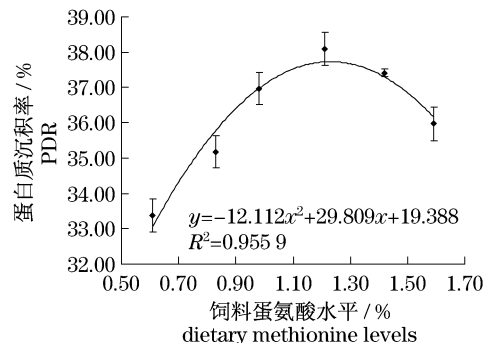


图 4 蛋白质沉积率和饲料中蛋氨酸水平的关系
Fig. 4 Relationship between protein deposition rate and dietary methionine levels

表 4 饲料中蛋氨酸水平对全鱼和肌肉组成的影响
Tab. 4 Effects of dietary methionine levels on whole-body and muscle composition mean ± SE

指标 index	饲料(蛋氨酸含量,%) diets					
	D1(0.61%)	D2(0.83%)	D3(0.98%)	D4(1.21%)	D5(1.42%)	D6(1.59%)
全鱼 whole fish						
粗蛋白质 crude protein	18.22 ± 0.06 ^b	18.30 ± 0.09 ^a	18.45 ± 0.22 ^{ab}	18.79 ± 0.08 ^a	18.78 ± 0.06 ^a	18.65 ± 0.21 ^a
粗脂肪 crude lipid	5.38 ± 0.33	5.39 ± 0.34	5.20 ± 0.44	5.17 ± 0.2	5.18 ± 0.11	5.15 ± 0.15
水分 moisture	71.68 ± 0.08	71.81 ± 0.07	71.45 ± 0.14	71.85 ± 0.30	71.12 ± 0.04	71.58 ± 0.17
粗灰分 crude ash	4.36 ± 0.32	4.23 ± 0.12	4.30 ± 0.12	3.92 ± 0.12	4.01 ± 0.22	4.30 ± 0.21
蛋白质沉积率 protein deposition rate(PDR)	33.37 ± 0.46 ^d	35.18 ± 0.46 ^c	36.97 ± 0.45 ^{ab}	38.10 ± 0.46 ^a	37.41 ± 0.11 ^a	35.98 ± 0.48 ^{bc}
肌肉 muscle						
粗蛋白质 crude protein	20.12 ± 0.37 ^b	20.64 ± 0.19 ^{ab}	20.82 ± 0.23 ^a	20.97 ± 0.10 ^a	20.88 ± 0.05 ^a	20.82 ± 0.16 ^a
粗脂肪 crude lipid	1.38 ± 0.03	1.28 ± 0.10	1.29 ± 0.01	1.22 ± 0.08	1.19 ± 0.03	1.28 ± 0.04
水分 moisture	78.24 ± 0.26	77.84 ± 0.20 ^b	77.83 ± 0.19	77.66 ± 0.04	77.64 ± 0.03	77.36 ± 0.09
粗灰分 crude ash	1.28 ± 0.01	1.32 ± 0.02	1.29 ± 0.03	1.25 ± 0.01	1.33 ± 0.01	1.26 ± 0.01

表 5 饲料中蛋氨酸水平对体型、脏体比、肝体比的影响
Tab. 5 Effects of dietary methionine levels on CF, VSI and HSI mean ± SE

指标 index	饲料(蛋氨酸含量,%) diets					
	D1(0.61%)	D2(0.83%)	D3(0.98%)	D4(1.21%)	D5(1.42%)	D6(1.59%)
体型 condition factor(CF)	2.11 ± 0.03	2.07 ± 0.02	2.12 ± 0.05	2.19 ± 0.03	2.17 ± 0.03	2.15 ± 0.07
脏体比(%) viscerasomatic index(VSI)	6.16 ± 0.26 ^b	5.05 ± 0.27 ^a	4.92 ± 0.38 ^a	5.47 ± 0.23 ^a	5.36 ± 0.04 ^a	5.56 ± 0.28 ^a
肝体比(%) hepatosomatic index(HSI)	3.08 ± 0.18 ^b	1.87 ± 0.15 ^a	1.70 ± 0.18 ^a	2.18 ± 0.09 ^a	1.86 ± 0.21 ^a	2.25 ± 0.34 ^a

2.3 蛋氨酸水平对非特异性免疫的影响

通过血清溶菌酶活力和蛋白质含量及头肾巨噬细胞吞噬活性和呼吸爆发活性 4 个指标来反映饲料中蛋氨酸水平对试验鱼的非特异性免疫力的影响。如表 6 所示,随着蛋氨酸水平上升,溶菌酶活力也逐渐升高,蛋氨酸水平 0.61% 组溶菌酶活力显著低于蛋氨酸水平为 1.42% 组,但是其他组

间差异不显著;血清蛋白含量组间没有显著差异。试验鱼头肾白细胞的吞噬活性和呼吸爆发活性,随着饲料中蛋氨酸水平的上升而上升,至 1.42% 时达到最高值,各蛋氨酸水平间的差异显著见表 6;但蛋氨酸水平进一步上升至 1.59% 时,头肾白细胞的吞噬活性和呼吸爆发活性则显著下降。

表 6 饲料中蛋氨酸水平对非特异性免疫的影响
Tab. 6 Effects of dietary methionine levels on non-specific immunity mean ± SE

指标 index	饲料(蛋氨酸含量,%) diets					
	D1(0.61%)	D2(0.83%)	D3(0.98%)	D4(1.21%)	D5(1.42%)	D6(1.59%)
溶菌酶活力(U/mL) lysozyme activity	332.6 ± 20.61 ^b	347.0 ± 26.81 ^{ab}	367.8 ± 45.74 ^{ab}	430.1 ± 26.19 ^{ab}	442.2 ± 22.82 ^a	414.5 ± 27.20 ^{ab}
血清蛋白含量(mg/mL) serum protein content	3.09 ± 0.24	3.22 ± 0.26	3.44 ± 0.42	3.54.7 ± 0.03	3.67 ± 0.29	3.27 ± 0.35
吞噬活性(%) phagocytosis activity	2.6 ± 0.60 ^d	3.20 ± 0.50 ^{cd}	4.25 ± 0.55 ^c	5.28 ± 0.17 ^{ab}	5.89 ± 0.64 ^a	4.47 ± 0.08 ^{bc}
呼吸爆发活性 respiratory burst activity	0.85 ± 0.05 ^d	1.10 ± 0.18 ^{cd}	1.25 ± 0.13 ^{bc}	1.58 ± 0.20 ^{ab}	1.84 ± 0.10 ^a	1.39 ± 0.15 ^{bc}

3 讨论

3.1 蛋氨酸水平对生长的影响

本研究通过单因子的蛋氨酸剂量——效应投饲试验,发现饲料中的蛋氨酸水平对试验鱼的生长、饲料效率等指标产生显著的影响。随着蛋氨酸水平的上升,特定生长率逐渐提高。依特定生长率得到大口黑鲈对饲料的蛋氨酸最适需求量为1.22%,占蛋白质2.75%(胱氨酸0.30%,占饲料蛋白质0.68%)。Luo等^[21]研究表明,斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的饲料蛋氨酸的最适需求量占饲料蛋白质2.73%(胱氨酸0.53%)。Zhou等^[22]对军曹鱼(*Rachycentron canadum*)的研究表明,当蛋氨酸占饲料蛋白质2.64%(胱氨酸1.49%)时,其特定生长率最大。Yan等^[23]对许氏平鲷(*Sebastes schegelc*)的研究表明,当蛋氨酸占饲料蛋白质2.80%(胱氨酸0.25%)时,其特定生长率最大。上述肉食性鱼类对饲料中蛋氨酸的最适需求量与本研究得出的大口黑鲈的需求量相近似。但Ruchimat等^[9]研究表明,五条鲷对饲料蛋氨酸的最适需求量占饲料蛋白质2.56%(胱氨酸0.72%),略低于本研究得出的大口黑鲈的需求量。Mai等^[6]对大黄鱼的研究表明,当蛋氨酸占饲料蛋白质3.34%(胱氨酸0.68%)时,其特定生长率最大,高于大口黑鲈的需求量。以上表明,尽管同是肉食鱼类,但取得最大生长率对饲料中蛋氨酸的需求量是不尽相同的。本研究中当饲料中蛋氨酸水平超过最适需求量后试验鱼生长受到抑制,这与大黄鱼^[6],印鲷^[7],斜带石斑鱼^[21],军曹鱼^[22]等一致。Murthy等^[24]推测,饲料中过量的蛋氨酸可能氧化产生酮或其他代谢产物,引起毒害作用从而影响试验鱼的生长。Coloso等^[25]研究认为,当饲料中某种氨基酸和其他氨基酸比例失衡时将影响其他氨基酸的利用效率,从而影响生长。关于饲料中过量的蛋氨酸对大口黑鲈的生长产生负面影响的确切机理有待于进一步的研究。

3.2 蛋氨酸水平对鱼体组成的影响

本研究表明,全鱼和肌肉的粗蛋白质含量在D1组(蛋氨酸0.61%)最低,显著低于D4组(蛋氨酸1.21%)。通过回归分析得出,当饲料的蛋氨酸水平为1.23%(占饲料蛋白2.77%)时,蛋白质沉积率最大。但蛋氨酸水平对鱼体中其它的组成指标(水分、粗脂肪和粗灰分)未产生显著影响。对

斑点叉尾鲷^[3]和罗非鱼^[5]的研究表明,饲料中蛋氨酸水平显著影响蛋白质沉积率,并且蛋氨酸水平与蛋白质沉积率呈二次相关。这与本研究的结果相一致。Schwarz等^[4]对鲤的研究表明,蛋白质沉积率也受饲料中蛋氨酸水平显著影响,但饲料的蛋氨酸水平与蛋白质沉积率呈折线相关。另外,对红拟石首鱼^[8]、五条鲷^[9]和斜带石斑鱼^[21]的研究表明,饲料蛋氨酸水平不仅影响全鱼的粗蛋白质含量,还对水分、粗脂肪和粗灰分含量有显著影响。然而,大黄鱼^[6]和军曹鱼^[22]的饲料蛋氨酸水平并没有显著影响鱼体组成。上述研究表明,饲料的蛋氨酸水平对鱼体近似组成指标的影响也存在着种类间的差异。当蛋白质沉积率越大时,饲料中的蛋白质转化为鱼体蛋白质越多,排入环境中的氮也越少。因此,在确定鱼类对饲料中必需氨基酸需要量时,对于鱼体蛋白质组成的影响应加以考虑。

本研究显示,蛋氨酸水平最低的D1组的肝体比和脏体比显著大于其他组,而其他处理间没有显著差异。对罗非鱼^[5]和大西洋鲑(*Salmo salar*)^[26]的研究结果同样显示,饲料的蛋氨酸水平低时肝体比较大。但五条鲷^[9]和许氏平鲷^[23]的研究结果表明,肝体比随着饲料蛋氨酸水平上升而显著升高。对于饲料的蛋氨酸水平影响肝体比原因的解釋同样也是不一致的。Espre等^[26]认为肝体比的减少是蛋氨酸引起的有益作用。Walton等^[27]对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的研究认为,肝体比的增加可能是饲料中过多的游离氨基酸转化为肝糖原的结果,类似于饲料中过多的碳水化合物对虹鳟产生的负面影响。

3.3 蛋氨酸水平对免疫力的影响

本研究发现,饲料中添加蛋氨酸能提高血清溶菌酶活力,这与孙崇岩等^[10]对建鲤的研究结果一致。溶菌酶是广泛存在于鱼类体表黏液、肠道黏液、血清和巨噬细胞中的一种非特异性体液免疫因子^[28]。溶菌酶通过酶解病原体细胞壁的粘多糖将病原体灭活,其活性变化反映出鱼类非特异性免疫力的状况。本研究还显示,随着饲料的蛋氨酸水平升高,头肾白细胞的吞噬活性和呼吸爆发活性显著提高;但是当饲料中蛋氨酸水平高于0.98%和1.21%后,分别对头肾白细胞的吞噬活性和呼吸爆发活力则没有显著差异。头肾白细胞的吞噬活性和呼吸爆发活性作为指标反映鱼类非特异性免疫力已有报道^[29-30]。因此,适当的饲

料蛋氨酸水平,也有利于鱼类的非特异性免疫力的提高。

3.4 影响饲料中蛋氨酸需求量评定的因素

其它因素还影响饲料中蛋氨酸需求量的评定。其一,在鱼类饲料中添加游离氨基酸存在水中溶失和吸收不同步的问题。Rønnestad 等^[31] 对塞内加尔截鳍鲷 (*Solea senegalensis*) 幼体研究表明,游离氨基酸和蛋白质结合态氨基酸的吸收动力学不同,游离氨基酸的吸收速率比蛋白质结合态的氨基酸高 3.5 倍。氨基酸包膜有助于减少水中溶失和减缓晶体氨基酸的吸收速度。Segovia-Quintero 等^[32] 研究表明,经包膜后,饲料中的蛋氨酸在尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 肠道中的吸收速度显著降低。本研究中为了减少游离氨基酸的水中溶失和减缓吸收不同步,采用了玉米醇溶蛋白包膜氨基酸的措施。其二,蛋氨酸可以转化为胱氨酸参与蛋白质合成,所以胱氨酸可以节约蛋氨酸的需求量。对红拟石首鱼^[8,33] 的研究表明,胱氨酸可以替代 40% ~ 50% 的蛋氨酸。因此,试验饲料中的胱氨酸水平直接影响蛋氨酸需求量的评定。其三,拟合数学模型和评价指标的选择会影响饲料中蛋氨酸需求量的评定。折线法是常用的数学模型。Robbins 等^[34] 认为,当响应指标随着蛋氨酸水平增加而线性增加,满足需求后响应指标不再变化时折线法才适用。本研究结果表明,特定生长率、饲料效率、蛋白质效率、蛋白质沉积率都随着饲料蛋氨酸水平上升而显著升高,而后又下降,与饲料蛋氨酸水平呈高度的二次相关,所以采用二次曲线法。同样对大黄鱼^[6] 和军曹鱼^[27] 的饲料蛋氨酸需求研究也采用了二次曲线法。剂量-效应法评定饲料中蛋氨酸需求量时,会得到多个指标与剂量相关的效应关系。采用不同的评定指标,得到的蛋氨酸需求量也有所差异。Schwarz 等^[4] 对鲤的研究以终重和蛋白质沉积率为评价指标。Luo 等^[21] 对斜带石斑鱼的研究以增重率为指标。Zhou 等^[22] 对军曹鱼的研究以特定生长率为指标。Mai 等^[6] 对大黄鱼的研究以特定生长率和饲料效率为指标。本研究为了同时兼顾饲料效率、蛋白质沉积率和非特异免疫力,选取特定生长率作为评定饲料中蛋氨酸需求量的评价指标。

4 结论

本研究结果表明,饲料的蛋氨酸水平对大口

黑鲈的生长、饲料利用率、蛋白沉积率和非特异性免疫力产生显著的影响。取特定生长率为代表性评价指标,经二次回归分析得出:大口黑鲈对饲料中蛋氨酸的最适需求量为 1.22%,占饲料蛋白质 2.75%。本研究结果对于大口黑鲈人工饲料的配制具有一定的指导意义。

参考文献:

- [1] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. 生物化学[M]. 3 版:下册. 北京:高等教育出版社,2002:299-372.
- [2] Wilson R P. Amino acids and proteins[M] // 3th Edition. Halver J E. Fish nutrition. New York: Academic Press,2002:145-175.
- [3] Cai Y J, Burtle G J. Methionine requirement of channel catfish fed soybean meal-corn-based diets [J]. Journal of Animal Science, 1996, 74 (3): 514-521.
- [4] Schwarz F J, Kirchgessner M, Deuringer U. Studies on the methionine requirement of carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Aquaculture, 1998, 161 (1-4): 121-129.
- [5] 林仕梅,麦康森,谭北平. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响[J]. 水生生物学报,2008,32(5):742-749.
- [6] Mai K, Wan J, Ai Q, et al. Dietary methionine requirement of juvenile yellow croaker *Pseudosciaena crocea* R. [J]. Aquaculture, 2006 (251):564-572.
- [7] Ahmed I, Khan M A, Jafri A K. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. Aquaculture international,2003,11(5):449-462.
- [8] Goff J B, Gatlin III D M. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine [J]. Aquaculture, 2004, 241 (1-4):465-477.
- [9] Ruchimat T, Masumoto T, Hosokawa H, et al. Quantitative methionine requirement of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) [J]. Aquaculture, 1997, 150(1-2):113-122.
- [10] 孙崇岩,帅柯,冯琳. 蛋氨酸对幼建鲤疾病抵抗能力及免疫应答的影响[J]. 动物营养学报,2009,21(4):506-512.
- [11] Tidweij J H, Webster C D, Coyle, et al. Effects of dietary protein level on second year growth and water quality for largemouth bass (*Micropterus salmoides*)

- raised in ponds[J]. *Aquaculture*, 1996, 145(1-4): 213-223.
- [12] Portz L, Cyrion J E P, Martion R C. Growth and body composition of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* in response to dietary protein and energy levels[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2001, 7(4): 247-254.
- [13] Dairiki J K, Dias C T dos S, Cyrino J E P. Lysine requirements of largemouth bass, *Micropterus salmoides*; a comparison of methods of analysis of dose-response trials data [J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 2007, 19(4): 1-27.
- [14] 谭肖英, 刘永坚, 田丽霞, 等. 饲料中碳水化合物水平对大口黑鲈 *Micropterus salmoides* 生长、鱼体营养成分组成的影响[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2005, 44(Z1): 258-263.
- [15] 谢音, 屈小英. 食品分析[M]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 44-50.
- [16] Llamas C R, Fontaine J. Determination of amino acids in feeds: Collaborative study [J]. *Journal of AOAC International*, 1994, 77(6): 1362-1402.
- [17] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72(1-2): 248-254.
- [18] Esteban M Á, Rodríguez A, Ayala A G, et al. Effects of high doses of cortisol on innate cellular immune response of seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2004, 137(1): 89-98.
- [19] 汤城, 薛雅蓉, 余飞, 等. 一种检测巨噬细胞吞噬鸡红细胞活性新方法的建立[J]. *畜牧与兽医*, 2005, 37(11): 47-49.
- [20] Bodammer J E, Robohm R A. Evaluation of phagocytic activity in a teleost fish (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1996, 5(3): 237-246.
- [21] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Dietary L-methionine requirement of juvenile grouper *Epinephelus coioides* at a constant dietary cystine level [J]. *Aquaculture*, 2005, 249(1-4): 409-418.
- [22] Zhou Q C, Zao H W, Tan B P, et al. Optimal dietary methionine requirement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. *Aquaculture*, 2006, 258(1-4): 551-557.
- [23] Yan Q, Xie S Q, Zhu X, et al. Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schegelic* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13(3): 163-169.
- [24] Murthy R K, Varghese T J. Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1998, 4(1): 61-65.
- [25] Coloso R M, Murillo-Gurrea D P, Borlongan I G, et al. Sulphur amino acid requirement of juvenile Asian sea bass *Lates calcarifer* [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 1999, 15(2): 54-58.
- [26] Espe M, Hevrøy E M, Liaset B, et al. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. *Aquaculture*, 2008, 274(1): 132-141.
- [27] Walton M J, Cowey C B, Adron J W. Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine content [J]. *Journal of Nutrition*, 1982, 112: 1525-1535.
- [28] Lie O, Evensen O, Sorensen E A, et al. Study on lysozyme activity in some fish species [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1989, 6(1-5): 1-5.
- [29] Seierstada S L, Hauglanda Ø, Larsena S, et al. Pro-inflammatory cytokine expression and respiratory burst activity following replacement of fish oil with rapeseed oil in the feed for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Aquaculture*, 2009, 289(3-4): 2121-2218.
- [30] Sitjà-Bobadilla A, Peña-Llopisa S, Gómez-Requena P, et al. Effect of fish meal replacement by plant protein sources on non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. *Aquaculture*, 2005, 249(1-4): 387-400.
- [31] Rønnestad I, Conceicao L E C, Aragão C, et al. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole (*Solea senegalensis*) [J]. *Journal of Nutrition*, 2000, 130: 2809-2812.
- [32] Segovia-Quintero M A, Reighr C. Coating crystalline methionine with tripalmitin-polyvinyl alcohol slows its absorption in the intestine of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture*, 2004, 238(1-4): 355-367.
- [33] Moon H Y, Gatlin III. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus* [J]. *Aquaculture*, 1991, 95(1-2): 97-106.
- [34] Robbins K R, Norton H W, Baker D H. Estimation of nutrient requirements from growth data [J]. *Journal of Nutrition*, 1979, 109: 1710-1714.

Assessment of dietary methionine requirement in largemouth bass, *Micropterus salmoides*

CHEN Nai-song*, MA Jian-zhong, ZHOU Heng-yong,
ZHOU Jie, QIU Xiao-jie, JIN Li-na, LIN Li-fang

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to estimate the quantitative requirement of dietary methionine in largemouth bass [initial body weight (37.88 ± 0.40) g]. Six isonitrogenous and isoenergetic diets (D1-D6) were formulated to contain 44.39% crude protein, 0.30% cystine, 19.81 kJ/g gross energy using plant protein and crystalline amino acids as the primary protein source to simulate the indispensable amino acid profile of largemouth bass muscle except for methionine under investigation. Six graded levels of methionine (0.61%, 0.83%, 0.98%, 1.21%, 1.42%, and 1.59%, respectively) at about 0.2% increment were achieved by adding zein-coated crystalline L-methionine at the expense of zein-coated crystalline glycine. Each diet was randomly assigned to triplicate tanks of 200-L capacity and 18 tanks were connected to a freshwater-flowing and air-aerated system in an aquaculture laboratory. In each tank, 25 fish were fed by hand twice daily (8:30 and 15:30) to apparent satiation for 66 days. Water temperature was maintained at (27 ± 1) °C and dissolved oxygen content kept about 6 mg/L. Light cycle was controlled under 12:12 h. At the end of the trial, data analysis showed that specific growth rate (SGR), feed efficiency rate (FER), protein efficiency rate (PER), protein deposition rate (PDR) increased with increasing dietary methionine levels from 0.61% to 1.21% ($P < 0.05$) and thereafter showed a declining tendency. The crude protein contents of whole body and muscle were significantly affected ($P < 0.05$) by dietary methionine levels, while moisture, crude lipid and crude ash contents showed no significant differences ($P > 0.05$). The hepatosomatic index and viscerosomatic index of fish fed D1 diet (0.61% methionine) were significantly higher than those of fish fed the other diets ($P < 0.05$). The serum lysozyme activity, phagocytosis activity and respiratory burst activity of head kidney leucocyte were significantly ($P < 0.05$) affected by dietary methionine levels, which indicated dietary methionine level would also exert an effect on non-specific immunity in largemouth bass. A quadratic regression analysis about specific growth rate (SGR) against dietary methionine level showed that the optimum dietary methionine requirement of largemouth bass was 1.22% of dry diet (corresponding to 2.75% of dietary crude protein containing 0.68% cystine). The present research may be helpful to formulating practical feed for largemouth bass.

Key words: largemouth bass (*Micropterus salmoides*); methionine requirement; growth; body composition; non-specific immunity

Corresponding author: CHEN Nai-song. E-mail: nschen@shou.edu.cn