

文章编号:1000-0615(2010)11-1736-08

DOI:10.3724/SP.J.1231.2010.07008

野生和人工养殖褐牙鲆亲鱼不同组织氨基酸的比较

王际英¹, 李培玉², 宋志东², 王世信¹, 李宝山¹,
黄炳山¹, 张利民^{1*}

(1. 山东省海洋水产研究所, 山东 烟台 264006;

2. 山东升索渔用饲料研究中心, 山东 烟台 265500)

摘要:为了探明野生和人工养殖褐牙鲆亲鱼的繁育性能和卵巢发育之间的关系,采用生物化学方法,将处于Ⅲ~Ⅳ期和Ⅴ期的野生和养殖褐牙鲆亲鱼中肌肉、肝脏及卵巢氨基酸含量分别进行测定,结果表明,(1)褐牙鲆肌肉、肝脏、卵巢3种组织器官中总氨基酸含量大小关系为肌肉>卵巢>肝脏;(2)发育同期的野生和养殖亲鱼肌肉中大部分氨基酸含量差异不显著($P > 0.05$),并且随着性腺的成熟,野生和养殖亲鱼肌肉中大部分氨基酸较为稳定,其中含量变化显著的必需氨基酸为蛋氨酸、组氨酸($P < 0.05$);(3)发育同期的养殖亲鱼肝脏中大部分氨基酸含量高于野生亲鱼,随着性腺发育,野生和养殖亲鱼肝脏中氨基酸含量呈明显上升趋势;(4)在Ⅴ期卵巢氨基酸组成中,除蛋氨酸、组氨酸含量存在显著差异外,野生和养殖亲鱼卵巢中氨基酸总量及必需氨基酸总量均不存在显著差异($P > 0.05$),同时,随着性腺发育,野生和养殖亲鱼卵巢中氨基酸含量呈明显上升趋势,差异显著的必需氨基酸有精氨酸、蛋氨酸、组氨酸($P < 0.05$)。

关键词:褐牙鲆; 肌肉; 肝脏; 卵巢; 氨基酸组成

中图分类号: S 917; S 965.3

文献标识码:A

褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)属于冷水、底栖肉食性高级珍贵的海洋经济鱼类之一,也是重要的海水增养殖鱼类。近年来,随着褐牙鲆苗种培育关键技术的突破,在我国南北方都有大规模的养殖。实际生产过程中,亲鱼培育多采用鲜杂鱼间或投喂配合饲料的方式喂养,但很容易使鲜杂鱼所携带的病原菌进入鱼体,影响亲鱼的机体健康从而导致产卵质量下降,对水质的污染也较为严重。在繁殖期间,如摄入的饲料不能满足亲鱼在产卵期间对特殊营养组成的需求,其结果可能导致仔稚鱼先天营养不足、抗逆能力降低、生长缓慢等现象的发生。已有研究表明,亲鱼的营养状况直接决定了产卵质量的高低,通过在饲料中调整营养素的含量可以达到提高亲鱼产卵质量的效果。目前,大多数研究多集中于脂肪、脂肪酸以及维生素对亲鱼产卵质量的影响,特别是

n-3PUFA^[1-4], n-6PUFA^[5-6]以及 ARA^[7-8]对亲鱼的繁殖性能和卵的发育的影响研究的较多。

蛋白质是机体生长发育的基本营养素,当饲料所含的蛋白质中必需氨基酸种类齐全,数量充足,各种氨基酸的比例与鱼体所含的氨基酸的比例相似时极易被鱼体吸收,不仅能保持鱼类生长的正常需要,而且能促进鱼类性腺的发育,尤其在亲鱼繁殖期间,氨基酸的吸收和合成对卵巢部位中的卵黄磷蛋白的形成具有重要的意义。

一些研究表明,饲料中蛋白质和氨基酸能影响到亲鱼的繁殖性能,适宜的蛋白质含量可以提高产卵量^[9],而蛋白含量过低能导致低的浮卵率和孵化率^[10]。饲料中蛋白质的质量受氨基酸组成影响,摄食低蛋白饲料的亲鱼通过影响卵巢的成熟和降低游离氨基酸从而影响卵的质量^[11-12]。饲料中的一些氨基酸对亲体的性腺发育和成熟起

重要的作用,饲料中的色氨酸作为神经递质 5-羟色胺的前体对雄性和雌性性腺的成熟都有促进作用。在香鱼(*Plecoglossus altivelis*)饲料中补充 0.1% 的色氨酸可显著提高雄鱼血清睾酮水平,从而使雄鱼排精时间提前,也能诱导雌鱼的成熟^[13]。因此,保证亲鱼饲料中某些特殊氨基酸的较高含量有利于亲鱼性腺发育及合成卵黄蛋白的需要。一般来说,卵中的氨基酸组成常作为配制亲鱼饲料的参考依据^[14],但也有以亲鱼的肌肉氨基酸组成作为配方主要参考依据,并参照卵巢的氨基酸组成进行调整^[15]。本实验通过采捕自然海域内性腺发育Ⅲ~Ⅳ期、Ⅴ期的野生及人工养殖褐牙鲆亲鱼,对比分析其肌肉、肝脏和卵中的氨基酸组成,为研究其在产卵期间的营养状况,提高苗种的质量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验用褐牙鲆亲鱼

实验用野生褐牙鲆亲鱼于 2008 年 4~6 月间,在烟台、日照、胶南、乳山沿海海域捕获,实验用人工养殖褐牙鲆亲鱼于 2008 年 11 月、2009 年 1 月和 2009 年 5 月购于日照和威海地区的养殖场。随机各选取 8 尾规格相近的处于Ⅲ~Ⅳ期野生褐牙鲆亲鱼、Ⅴ期野生褐牙鲆亲鱼、Ⅲ~Ⅳ期养殖褐牙鲆亲鱼、Ⅴ期养殖褐牙鲆亲鱼,全长为 (62.5 ± 3.5) cm, 体宽为 (26.25 ± 1.25) cm, 体重为 (4.05 ± 0.18) kg, 用于肌肉、肝脏、卵巢中氨基酸的组成分析。

1.2 实验亲鱼卵巢分期的判定

实验亲鱼卵巢分期的判定依据组织学法^[16],经判定所取亲鱼的卵巢发育时期为Ⅲ~Ⅳ期、Ⅴ期,其中Ⅲ~Ⅳ期为性腺发育具有Ⅲ期和Ⅳ期过渡特点的卵巢。

1.3 实验亲鱼的处理

采集亲鱼后,对亲鱼进行解剖,取完整的肝脏和性腺,并于鱼体背鳍下方取肌肉一块,−20 ℃下贮存以备氨基酸分析时用,使用时取部分样品于 110 ℃烘箱内烘干粉碎,备用。

1.4 野生及养殖褐牙鲆亲鱼肌肉、肝脏、卵巢氨基酸分析

采用改进后的 DABS 柱前衍生法对野生及养殖褐牙鲆亲鱼肌肉、肝脏和卵巢氨基酸进行分析比较,具体过程:称取 20 mg 蛋白当量的各亲鱼

肌肉、肝脏和卵巢干样品,加入 6 mL HCl(1:1),在 110 ℃下水解消化 22 h,转移至 50 mL 的容量瓶中,定容,过滤。取 1 mL 的滤液,水浴蒸干,加 1 mL 稀释试剂振荡溶解,取 40 μL 溶液,加 80 μL 衍生试剂进行衍生。采用 LC-10AT 高效液相色谱仪柱前衍生法测定。分析条件:ODS-DABS 色谱柱,柱温 45 ℃,波长 436 nm,梯度洗脱,洗脱液流量为 1.4 mL/min^[17]。

1.5 统计分析

实验结果以平均值±标准差表示,采用 SPSS 13.0 对所有数据进行单因素方差分析,如组间差异显著($P < 0.05$),采用 Duncan 氏多重比较。

2 结果及分析

2.1 野生与养殖褐牙鲆亲鱼不同性腺发育阶段肌肉氨基酸组成

表 1 列出了不同发育时期的野生、养殖褐牙鲆亲鱼肌肉的氨基酸组成。分析结果显示,褐牙鲆亲鱼肌肉中,谷氨酸含量最高,天冬氨酸次之,较低的有半胱氨酸和脯氨酸。含量比较高的必需氨基酸分别为赖氨酸、亮氨酸、缬氨酸等,含量较低的是蛋氨酸、组氨酸等。

Ⅲ~Ⅳ期野生褐牙鲆亲鱼和同期养殖褐牙鲆亲鱼比较可以看出,Ⅲ~Ⅳ期野生褐牙鲆亲鱼肌肉中的天冬氨酸显著高于同期养殖亲鱼($P < 0.05$),组氨酸显著低于同期养殖亲鱼($P < 0.05$),其它氨基酸含量差异不显著;Ⅴ期野生亲鱼和同期养殖亲鱼比较可以看出,Ⅴ期野生亲鱼肌肉中的必需氨基酸蛋氨酸含量和非必需氨基酸半胱氨酸显著高于同期养殖亲鱼($P < 0.05$),其它氨基酸含量差异不显著。

从亲鱼的性腺Ⅲ~Ⅳ期发育到Ⅴ期代表了繁殖期间氨基酸在亲鱼肌肉中的一种代谢趋势,此阶段亲鱼摄入的氨基酸除供应性腺组织和卵细胞的发育外,还用来维持机体组织的代谢和生长。比较表 1 的数据可知,除个别氨基酸发生显著的变化,大部分氨基酸含量较为稳定。Ⅲ~Ⅳ期野生褐牙鲆亲鱼肌肉中的天冬氨酸和谷氨酸含量显著高于Ⅴ期野生褐牙鲆亲鱼($P < 0.05$),其它氨基酸含量则差异不显著。Ⅲ~Ⅳ期养殖褐牙鲆亲鱼肌肉中的必需氨基酸蛋氨酸、组氨酸的含量以及非必需氨基酸半胱氨酸的含量均显著高于Ⅴ期养殖褐牙鲆亲鱼($P < 0.05$)。

表1 野生与养殖褐牙鲆亲鱼肌肉氨基酸组成比较
Tab.1 Comparison of amino acid composition in muscle between the wild and the cultured *P. olivaceus* broodstock

氨基酸 amino acid	野生亲鱼 the wild broodstock		养殖亲鱼 cultured broodstock		DM mg/g
	III ~ IV	V	III ~ IV	V	
天冬氨酸 Asp	82.22 ± 3.38 ^a	75.06 ± 1.92 ^b	77.67 ± 3.17 ^b	76.82 ± 2.08 ^b	
谷氨酸 Glu	119.55 ± 2.36 ^a	112.83 ± 1.89 ^b	115.58 ± 5.63 ^{ab}	114.21 ± 2.43 ^{ab}	
丝氨酸 Ser	32.48 ± 1.26	31.16 ± 0.63	32.51 ± 1.80	31.20 ± 0.77	
苏氨酸 Thr [*]	33.45 ± 1.31	32.67 ± 0.97	33.54 ± 1.72	32.64 ± 0.59	
精氨酸 Arg [*]	43.68 ± 0.81	43.75 ± 2.85	43.36 ± 2.39	43.31 ± 1.21	
甘氨酸 Gly	37.98 ± 1.32	37.12 ± 0.52	37.82 ± 0.51	37.24 ± 0.59	
丙氨酸 Ala	49.51 ± 0.69	47.97 ± 0.40	49.51 ± 1.19	49.03 ± 0.84	
脯氨酸 Pro	15.27 ± 0.16	14.62 ± 0.17	15.41 ± 0.69	14.58 ± 0.21	
缬氨酸 Val [*]	45.57 ± 0.19	44.10 ± 1.58	45.64 ± 1.13	45.02 ± 0.53	
蛋氨酸 Met [*]	23.65 ± 1.07 ^a	23.48 ± 0.23 ^a	24.17 ± 0.86 ^a	18.65 ± 2.18 ^b	
异亮氨酸 Iso [*]	42.59 ± 0.68	41.40 ± 1.45	43.01 ± 0.91	42.55 ± 2.03	
亮氨酸 Leu [*]	72.69 ± 1.33	70.30 ± 2.15	71.84 ± 1.4	72.36 ± 2.41	
苯丙氨酸 Phe [*]	38.49 ± 2.52	36.81 ± 0.68	37.59 ± 1.00	37.64 ± 1.52	
半胱氨酸 Cys	5.55 ± 0.29 ^a	5.52 ± 0.72 ^a	4.90 ± 0.29 ^a	3.59 ± 0.88 ^b	
赖氨酸 Lys [*]	81.19 ± 4.50	80.72 ± 2.90	85.51 ± 2.23	83.23 ± 1.56	
组氨酸 His [*]	20.05 ± 1.71 ^b	18.15 ± 0.83 ^b	26.53 ± 0.58 ^a	18.70 ± 2.24 ^b	
酪氨酸 Tyr	31.03 ± 1.57	29.57 ± 2.08	29.50 ± 0.47	31.14 ± 1.37	
氨基酸总量 total AA	774.96 ± 7.90 ^a	745.22 ± 9.18 ^b	777.11 ± 16.64 ^a	751.95 ± 13.71 ^b	
必需氨基酸总量 total EAA	401.37 ± 2.02 ^b	391.38 ± 8.81 ^b	414.21 ± 8.43 ^a	394.12 ± 6.37 ^b	

注: * 表示必需氨基酸; 表中数据为平均值 ± 标准差; 表中同行数据右上标不同表示组间差异显著($P < 0.05$); 表2、3同。

Notes: Date are shown as mean ± SD; Values that do not share the same letter on the superscript are significantly different($P < 0.05$); the same as Tab. 2, 3.

2.2 野生与养殖褐牙鲆亲鱼不同性腺发育阶段肝脏氨基酸组成

从表2可以看出, III ~ IV期野生褐牙鲆亲鱼肝脏中的大部分氨基酸含量与同期养殖亲鱼差异不显著, 只是在甘氨酸、缬氨酸和赖氨酸含量上存在显著差异($P < 0.05$)。而V期野生褐牙鲆亲鱼肝脏中精氨酸、组氨酸的含量显著低于同期养殖亲鱼($P < 0.05$), 其余氨基酸差异不显著。

比较III ~ IV期和V期亲鱼肝脏的氨基酸组成可以发现, 肝脏在性腺发育过程中其氨基酸组成变化较大, 并且野生和养殖亲鱼表现出了不同的趋势。III ~ IV期和V期野生褐牙鲆亲鱼肝脏的非必需氨基酸中, 天冬氨酸、丝氨酸和半胱氨酸含量差异不显著($P > 0.05$), 而V期野生亲鱼的其它非必需氨基酸含量要显著高于III ~ IV期($P < 0.05$)。III ~ IV期野生褐牙鲆亲鱼肝脏的大多数必需氨基酸显著低于V期野生亲鱼($P < 0.05$), 只有蛋氨酸和组氨酸含量差异不显著($P > 0.05$)。

III ~ IV期和V期养殖褐牙鲆亲鱼肝脏的大多数非必需氨基酸含量上差异不显著($P > 0.05$), 只是V期养殖亲鱼肝脏的谷氨酸含量显著高于III ~ IV期养殖亲鱼($P < 0.05$)。在必需氨基酸的组成上, V期养殖褐牙鲆亲鱼肝脏中的精氨酸、苏氨酸和组氨酸含量上显著高于III ~ IV期亲鱼, 其它氨基酸含量差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 野生与养殖褐牙鲆亲鱼不同性腺发育阶段卵巢氨基酸组成

III ~ IV期野生褐牙鲆亲鱼卵巢必需氨基酸中的精氨酸、赖氨酸和组氨酸含量显著高于同期养殖亲鱼($P < 0.05$), 其它必需氨基酸含量则差异不显著($P > 0.05$), 在非必需氨基酸方面, III ~ IV期野生褐牙鲆亲鱼卵巢中的甘氨酸含量显著高于同期养殖亲鱼($P < 0.05$), 而半胱氨酸含量则显著低于同期养殖亲鱼, 其它非必需氨基酸含量则差异不显著($P > 0.05$)。

V期野生褐牙鲆亲鱼卵巢的酪氨酸含量显著高于同期养殖亲鱼($P < 0.05$), 其它非必需氨基

酸则差异不显著 ($P > 0.05$)。在必需氨基酸方面,V期野生褐牙鲆亲鱼卵巢的组氨酸显著低于同期养殖亲鱼 ($P < 0.05$),而蛋氨酸含量则显著高于同期养殖亲鱼 ($P < 0.05$)。

表2 野生与养殖褐牙鲆亲鱼肝脏氨基酸组成比较

Tab.2 Comparsion of amino acid composition in liver between the wild and the cultured *P. olivaceus* broodstock

氨基酸 amino acid	野生亲鱼 the wild broodstock		养殖亲鱼 cultured broodstock		DM mg/g
	III ~ IV	V	III ~ IV	V	
天冬氨酸 Asp	27.02 ± 2.20 ^b	28.84 ± 0.83 ^{ab}	28.58 ± 1.25 ^{ab}	30.77 ± 0.78 ^a	
谷氨酸 Glu	36.14 ± 2.37 ^c	40.76 ± 1.15 ^{ab}	39.48 ± 1.88 ^{bc}	43.75 ± 2.23 ^a	
丝氨酸 Ser	13.23 ± 1.23 ^b	14.48 ± 0.37 ^{ab}	13.69 ± 0.98 ^{ab}	15.38 ± 0.61 ^a	
苏氨酸 Thr [*]	11.89 ± 1.17 ^c	13.85 ± 0.18 ^{ab}	12.92 ± 0.86 ^{bc}	14.72 ± 0.69 ^a	
精氨酸 Arg [*]	15.35 ± 1.85 ^c	18.28 ± 0.36 ^b	17.33 ± 1.51 ^{bc}	21.00 ± 0.89 ^a	
甘氨酸 Gly	14.56 ± 1.03 ^b	18.00 ± 0.78 ^a	16.74 ± 1.14 ^a	18.07 ± 0.15 ^a	
丙氨酸 Ala	16.56 ± 1.59 ^c	21.69 ± 1.42 ^a	18.62 ± 1.62 ^{bc}	21.07 ± 1.85 ^{ab}	
脯氨酸 Pro	6.30 ± 0.58 ^b	8.24 ± 0.70 ^a	7.23 ± 0.43 ^{ab}	7.47 ± 0.80 ^{ab}	
缬氨酸 Val [*]	16.59 ± 1.65 ^b	21.33 ± 1.27 ^a	19.15 ± 1.40 ^a	21.33 ± 1.15 ^a	
蛋氨酸 Met [*]	6.66 ± 1.03 ^{ab}	8.25 ± 0.87 ^a	6.12 ± 1.22 ^b	7.37 ± 0.73 ^{ab}	
异亮氨酸 Iso [*]	12.98 ± 1.52 ^b	17.08 ± 1.39 ^a	15.00 ± 1.21 ^{ab}	16.63 ± 1.47 ^a	
亮氨酸 Leu [*]	22.81 ± 2.42 ^b	28.49 ± 1.76 ^a	25.61 ± 1.06 ^{ab}	28.39 ± 2.51 ^a	
苯丙氨酸 Phe [*]	13.07 ± 1.33 ^b	16.45 ± 1.21 ^a	14.88 ± 1.47 ^{ab}	16.41 ± 1.59 ^a	
半胱氨酸 Cys	2.45 ± 0.22	2.09 ± 0.19	2.59 ± 0.29	2.29 ± 0.44	
赖氨酸 Lys [*]	20.01 ± 1.99 ^b	27.49 ± 3.07 ^a	25.23 ± 2.89 ^a	27.93 ± 1.14 ^a	
组氨酸 His [*]	5.78 ± 0.61 ^b	7.19 ± 0.09 ^b	6.43 ± 0.67 ^b	10.25 ± 1.21 ^a	
酪氨酸 Tyr	11.56 ± 1.34 ^b	14.60 ± 1.19 ^a	13.29 ± 0.84 ^{ab}	13.29 ± 1.21 ^{ab}	
氨基酸总量 total AA	252.97 ± 23.29 ^b	307.11 ± 12.98 ^a	282.91 ± 19.72 ^{ab}	316.15 ± 18.44 ^a	
必需氨基酸总量 total EAA	125.15 ± 13.06 ^b	158.40 ± 9.55 ^a	142.68 ± 10.89 ^{ab}	164.04 ± 11.24 ^a	

表3 野生与养殖褐牙鲆亲鱼卵巢氨基酸组成比较

Tab.3 Comparsion of amino acid composition in ovary between the wild and the cultured *P. olivaceus* broodstock

氨基酸 amino acid	野生亲鱼 the wild broodstock		养殖亲鱼 cultured broodstock		DM mg/g
	III ~ IV	V	III ~ IV	V	
天冬氨酸 Asp	45.60 ± 1.20	48.88 ± 3.89	44.03 ± 1.04	45.82 ± 0.50	
谷氨酸 Glu	68.02 ± 1.89	77.11 ± 6.08	71.37 ± 1.39	73.65 ± 1.24	
丝氨酸 Ser	26.35 ± 0.57 ^b	31.23 ± 1.99 ^a	23.98 ± 2.30 ^b	32.03 ± 1.34 ^a	
苏氨酸 Thr [*]	21.32 ± 0.55 ^{bc}	23.36 ± 1.59 ^{ab}	20.73 ± 1.73 ^c	24.38 ± 0.85 ^a	
精氨酸 Arg [*]	31.45 ± 1.12 ^a	32.75 ± 2.83 ^a	25.70 ± 2.54 ^b	34.63 ± 1.45 ^a	
甘氨酸 Gly	27.77 ± 1.98 ^a	26.05 ± 1.24 ^a	20.15 ± 1.71 ^b	27.16 ± 1.46 ^a	
丙氨酸 Ala	35.62 ± 2.66 ^b	45.99 ± 2.07 ^a	37.33 ± 2.65 ^b	43.61 ± 0.70 ^a	
脯氨酸 Pro	15.99 ± 0.57 ^b	18.70 ± 0.74 ^a	16.31 ± 0.96 ^b	19.17 ± 0.26 ^a	
缬氨酸 Val [*]	33.31 ± 2.08 ^b	41.53 ± 1.61 ^a	34.60 ± 2.95 ^b	41.69 ± 0.58 ^a	
蛋氨酸 Met [*]	14.07 ± 0.30 ^{ab}	15.61 ± 0.86 ^a	12.47 ± 0.86 ^b	12.56 ± 1.64 ^b	
异亮氨酸 Iso [*]	27.50 ± 2.47 ^b	37.15 ± 1.16 ^a	28.82 ± 2.52 ^b	35.92 ± 0.74 ^a	
亮氨酸 Leu [*]	48.01 ± 3.75 ^b	63.52 ± 2.05 ^a	49.08 ± 3.11 ^b	61.68 ± 1.19 ^a	
苯丙氨酸 Phe [*]	25.49 ± 1.34 ^b	28.75 ± 1.66 ^{ab}	25.84 ± 1.12 ^b	29.19 ± 0.21 ^a	
半胱氨酸 Cys	3.38 ± 0.22 ^b	4.32 ± 0.60 ^{ab}	5.28 ± 0.58 ^a	4.49 ± 1.43 ^{ab}	
赖氨酸 Lys [*]	46.46 ± 1.75 ^b	54.13 ± 3.26 ^a	35.90 ± 3.71 ^c	54.87 ± 1.40 ^a	
组氨酸 His [*]	11.01 ± 0.48 ^b	10.95 ± 1.24 ^b	9.08 ± 0.50 ^c	18.42 ± 1.46 ^a	
酪氨酸 Tyr	24.65 ± 2.64 ^b	31.66 ± 1.76 ^a	29.13 ± 3.17 ^{ab}	28.68 ± 1.26 ^b	
氨基酸总量 total AA	507.75 ± 15.34 ^b	591.68 ± 32.47 ^a	489.83 ± 41.43 ^b	587.96 ± 12.75 ^a	
必需氨基酸总量 total EAA	258.62 ± 11.34 ^b	307.75 ± 15.34 ^a	242.24 ± 20.46 ^b	313.34 ± 7.49 ^a	

在非必需氨基酸方面,Ⅲ~Ⅳ期野生褐牙鲆亲鱼卵巢的丝氨酸、丙氨酸、脯氨酸和酪氨酸含量显著低于V期野生亲鱼($P < 0.05$),其它几种非必需氨基酸含量则差异不显著($P > 0.05$)。必需氨基酸方面,Ⅲ~Ⅳ期野生褐牙鲆亲鱼卵巢的缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和赖氨酸含量显著低于V期野生亲鱼($P < 0.05$),其它必需氨基酸含量则差异不显著($P > 0.05$)。

Ⅲ~Ⅳ期养殖褐牙鲆亲鱼卵巢的丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸和脯氨酸含量显著低于V期养殖亲鱼,其它几种非必需氨基酸含量差异不显著($P > 0.05$)。Ⅲ~Ⅳ期养殖褐牙鲆亲鱼卵巢的大多数必需氨基酸含量显著低于V期养殖亲鱼(蛋氨酸含量除外)($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 野生与养殖褐牙鲆亲鱼不同组织的氨基酸比较

肌肉的氨基酸组成比较 氨基酸是鱼类肌肉的主要组成成分,相比较肝脏、卵巢而言,肌肉的氨基酸含量高而且稳定,常作为饲料配制的参考标准。亲鱼处在一种特殊的生理状态,其肌肉组成易受摄入饵料^[18]、活动状态以及健康程度等多方面的影响。亲鱼在繁殖期间肌肉不断地进行着蛋白的分解和合成,从而控制着游离氨基酸的含量,而游离氨基酸是胚胎发育的重要能量来源^[19],也是形成卵黄物质的组成部分之一,游离氨基酸和结合氨基酸相互补充,从而使血液与组织细胞内存在一动态平衡的氨基酸“代谢库”^[20]。而亲鱼在发育过程中常从肌肉中动用必需的氨基酸进行“母体补偿”^[21],所以通过对野生和养殖褐牙鲆亲鱼肌肉氨基酸含量的测定,可以对亲鱼的繁殖过程中氨基酸的贮备情况予以了解,也可为配制亲鱼饲料提供参考。本实验中,可以发现野生亲鱼和养殖亲鱼肌肉的大部分氨基酸含量基本差异不大,反映了鱼类肌肉种属的保守性和稳定性。在亲鱼肌肉中,含量较高的为谷氨酸、天冬氨酸和亮氨酸等,这与大多数海产鱼类的氨基酸含量的排列顺序基本一致^[22],这种氨基酸含量排列的顺序性是鱼类种属性的反映。实验结果也显示出野生与养殖的肌肉中的蛋氨酸含量差异显著,这与对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[23]、暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)^[24]、银鲳(*Pampus argenteus*)^[25]的研究结果一致。只在个别氨基酸方面差异显著,如V期野生亲鱼的蛋氨酸含量显著高于同期养殖亲鱼。

肝脏的氨基酸组成比较 肝脏在鱼类的氨基酸代谢、脂类代谢中扮演重要的角色,是卵黄蛋白前体物质——卵黄蛋白原这一卵黄主要营养物质的合成部位,也是外源营养转换成内源营养的主要部位,卵黄蛋白原在肝脏合成后,经血液运送到卵巢中参加卵内物质的合成。相比肌肉而言,肝脏的代谢活动较为活跃。然而从目前的研究来看,关于鱼类肝脏氨基酸组成的报道较为少见,仅对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis* Milne-Edwards)^[26~27]、银鲳肝脏的氨基酸组成等进行过研究。有研究表明,食物组成是影响鱼类肝脏各种氨基酸含量改变的主要原因^[28],受食物的可获得性的影响,野生亲鱼肝脏的氨基酸总量显著低于养殖亲鱼,是因为野生亲鱼在繁殖期间受生理条件的制约,摄入食物的数量远不如经过强化的人工养殖亲鱼,从而造成肝脏总氨基酸水平的降低。

在肝脏的氨基酸组成中,处于发育同期的大部分氨基酸含量不存在显著差异性。Ⅲ~Ⅳ期野生亲鱼肝脏中的赖氨酸和V期野生亲鱼组氨酸等两种氨基酸含量均低于同期养殖亲鱼,与其对应的卵巢中也出现了类似趋势,可能是由于养殖过程中在饲料中添加赖氨酸或饲料中使用血粉、豆粉等原料所致。Ⅲ~Ⅳ期亲鱼发育至V期,肝脏中赖氨酸、缬氨酸含量由差异显著变为差异不显著,精氨酸、组氨酸由差异不显著变为差异显著,说明在这两个卵巢发育时期,以这几种氨基酸改变为特点的食物组成发生了较大的变化,从而导致野生和养殖亲鱼肝脏中这4种氨基酸含量的差异变化。

卵巢的氨基酸组成比较 野生褐牙鲆和养殖褐牙鲆卵巢中氨基酸的差异这可能也暗示出这些氨基酸在卵的形成和发育具有重要的意义,如野生亲鱼卵巢中的精氨酸、赖氨酸、组氨酸等几种必需氨基酸要显著高于养殖亲鱼,这可能也与野生卵巢的卵母细胞体积大和发育较快有关。Srivastava等^[29]报道野生大西洋鲑(*Salmo salar* L.)卵的结构氨基酸和游离氨基酸含量要高于人工养殖的大西洋鲑卵,是由于野生大西洋鲑的卵较大。本实验中的野生亲鱼卵巢的总氨基酸含量

也显著高于养殖亲鱼的卵巢,与 Dabrowski 等^[30]的研究相一致,在其它实验中还发现胚胎发育过程中消耗卵细胞发育时所累积的营养物质,造成总氨基酸库减少,游离氨基酸含量升高,在同样条件下野生亲鱼卵巢较养殖亲鱼的卵巢发育得快。

通过实验数据可以看出,V 期野生亲鱼卵巢中的蛋氨酸含量高于养殖亲鱼,这与肌肉氨基酸比较结果具有一致性,蛋氨酸是必需氨基酸,与生物体内各种含硫化合物的代谢密切相关。蛋氨酸还可利用其所带的甲基,对有毒物或药物进行甲基化而起到解毒的作用。在机体中则可以转化为胱氨酸,参与蛋白质的合成。一些研究表明,蛋氨酸的转硫反应受到日粮中蛋氨酸水平的调控^[31],向饲料中添加液态蛋氨酸显著的提高鲤鱼的增重率,降低了饲料系数^[32]。彭燕等^[33]发现饲料蛋氨酸水平显著或极显著影响幼建鲤肝胰脏重、肝胰脏蛋白含量、肠道生理和肝胰脏蛋白酶活力、脂肪酶活力等,可促进幼建鲤消化器官生长发育、提高消化酶活性、增强吸收能力,从而提高生产性能。当缺乏蛋氨酸时,会引起食欲减退、生长减缓、肾脏肿大等现象。目前还未看到蛋氨酸的缺乏对亲鱼生理代谢影响的研究,但是通过本实验可以看出,蛋氨酸对亲鱼产卵质量可能产生一定的影响,应进一步对其进行研究。

3.2 亲鱼卵巢的发育与氨基酸的比较

在亲鱼的性腺发育过程中,鱼体吸收的营养首先满足亲鱼性腺发育的需要,当卵巢发育到一定阶段时,卵细胞内的营养积累达到一定程度后,额外的营养才用于肝脏以及其它器官蛋白的合成。本实验的结果表明从Ⅲ~Ⅳ期发展到V期,亲鱼肝脏的总氨基酸含量呈升高的趋势,说明亲鱼在性腺发育过程中,为了保证有足够的营养物质转移到卵巢中,可能的策略就是增大肝脏的氨基酸库的总量,减少肌肉的氨基酸库的总量,从而保证从肝脏中流出的血液能够携带更多的游离氨基酸到卵巢,有助于卵巢的进一步成熟。

但是如食物中某些必需氨基酸不足时,亲鱼则会动用肌肉或者肝脏中的营养物质,来保证卵巢的正常发育。与肝脏和卵巢相比,肌肉的氨基酸含量最为稳定,这是由肌肉的相对保守性决定的,但是如果外源氨基酸不平衡或者某种必需氨基酸缺乏,则会发生肌肉氨基酸库的总量降低,养殖褐牙鲆亲鱼从Ⅲ~Ⅳ期发展到V期,蛋氨酸、半

胱氨酸和组氨酸下降趋势明显,暗示了这几种氨基酸在褐牙鲆亲鱼性腺发育过程中的重要作用。

卵的氨基酸含量对后期仔鱼的发育有重要的影响,一般的说,卵的氨基酸库包括结合氨基酸和游离氨基酸,卵的发育伴随着卵的总氨基酸量和游离氨基酸量的改变^[34]。结合氨基酸形成了卵细胞的结构基础,也是游离氨基酸的来源之一,结合氨基酸含量的高低可以反映出氨基酸储备的高低,而游离氨基酸是在卵母细胞成熟后才产生,来自于卵黄蛋白的裂解,氨基酸库在仔鱼第一次摄食时排空,不仅作为代谢能源^[35],还用于体蛋白的合成^[36],所以本实验中无论野生亲鱼或者养殖亲鱼,随着卵巢的发育大部分氨基酸含量显著升高,说明卵母细胞在发育过程中在不断地进行营养物质的积累,从而造成氨基酸含量的上升,而这种营养物质的贮备也正是为了在受精卵发育阶段过程中作为能量消耗或合成体蛋白。

对比各发育期卵巢氨基酸的变化可以看出,缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸的含量在野生亲鱼卵巢中发生了显著的升高,有研究表明缬氨酸、异亮氨酸能提高动物的采食量以及生长性能^[37],并与其性腺发育具有一定的关系,但是目前还没有支链氨基酸对性腺发育影响的相关报道,今后需要进行更为深入的研究。

参考文献:

- [1] Watanabe T, Arakawa T, Kitajima C, et al. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1984, 50(3):495~501.
- [2] Watanabe T, Ohhashi S, Itoh A, et al. Effect of nutritional quality of diets on chemical components of red sea bream [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1984, 50(3):503~515.
- [3] Watanabe T, Itoh A, Satoh S, et al. Effect of dietary protein levels on chemical components of eggs produced by red seabream [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1985, 51(9):1501~1509.
- [4] Watanabe T, Koizumi T, Suzuki H, et al. Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal of raw krill shortly before spawning [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1985, 51(9):1511~1521.
- [5] Santiago C B, Reyes O S. Effects of dietary lipid source on reproductive performance and tissue lipids

- levels of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) broodstock [J]. *Appl Ichthyol*, 1993, 9 (1):33-40.
- [6] Rodriguez C, Cejas J R, Martin M V, et al. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L) and on eggs quality [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1998, 18(2):177-187.
- [7] Furuita H, Tanaka H, Yamamoto T, et al. Effects of n-3HUFAs levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder [J]. *Paralichthys Olivaceus Aqua*, 2000, 187(3-4):387-398.
- [8] Fernandez-Palacios H, Izquierdo M S, Robaina L, et al. Effect of n-3HUFAs level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream *Sparus aurata* [J]. *Aquaculture*, 1995, 132(3-4):325-337.
- [9] Gunasekera R M, Lam T J. Influence of dietary protein level on ovarian recrudescence in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture*, 1997, 149 (1-2):57-69.
- [10] Cerdá J, Carrillo M, Zanuy S, et al. Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L, reproductive performance and egg and larval quality [J]. *Aquaculture*, 1994, 128 (3-4):345-361.
- [11] Gunasekera R M, Shim K F, Lam T J. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia. *Oreochromis niloticus* L [J]. *Aquaculture*, 1995, 134 (1-2): 169-183.
- [12] 赵晓勤, 陈立侨, 顾志敏, 等. 越冬期饥饿对河川沙塘鳢雌鱼卵巢发育的影响 [J]. 水产学报, 2009, 33 (1):70-77.
- [13] Akiyama T, Shiraishi M, Yamamoto T. Effect of dietary tryptophan on maturation of ayu *Plecudossus altivelis* [J]. *Fisheries Science*, 1996, 62 (5): 776-782.
- [14] Ketola G H. Amino acid nutrition of fishes: Requirements and supplementation of diet [J]. *Comp Biochem Physiol B*, 1982, 73(1):17-24.
- [15] Laurel J, Ramseyer D L, Garling J R. Amino acid composition of the ovaries, muscle, and whole body of yellow perch [J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1994, 56(3):175-179.
- [16] 殷名称. 鱼类生态学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1993; 110-111, 262.
- [17] 王玳珠, 张露蓉, 江国荣. DABS-C1 柱前衍生 RP-HPLC 法在氨基酸分析中的应用 [J]. 苏州大学学报(医学版), 2003, 23(6):664-667.
- [18] 中央水产研究所生物机能部. 牙鲆的人工苗种和天然稚鱼的比较—肌肉中游离氨基酸组成的不同 [J]. 养殖, 1996, 33(10):112-113.
- [19] Ronnestad I, Tonheim S K, Fyhn H J, et al. The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent finding [J]. *Aquaculture*, 2003, 227(1-4):147-164.
- [20] 黎君友, 赖业馥, 周幼勤. 试验动物血及组织氨基酸含量 [J]. 氨基酸杂志, 1993(3):38.
- [21] Gunasekera R M, Shim T, Lam T J. Influence of dietary protein content on the distribution of amino acids in oocytes serum and muscle of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L [J]. *Aquaculture*, 1997, 152 (1-4):205-211.
- [22] 王波, 孙丕喜, 荆世锡, 等. 大西洋牙鲆幼鱼肌肉组成与营养需求的探讨 [J]. 海洋科学进展, 2006, 24 (3):336-341.
- [23] 杨兴丽, 周晓林, 常东州, 等. 池养与野生黄颡鱼肌肉营养成分分析 [J]. 水利渔业, 2004, 24 (5): 17-18.
- [24] 顾曙余, 赵越. 野生及人工养殖暗纹东方鲀肌肉营养成分的比较分析 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (33):14562-14563.
- [25] 彭士明, 黄旭雄, 赵峰, 等. 野生与养殖银鲳幼鱼氨基酸含量的比较 [J]. 海洋渔业, 2008, 30 (1): 26-30.
- [26] 康现江, 孙辉建, 米娅, 等. 摘除眼柄对中华绒螯蟹肝脏结构及其氨基酸含量影响的研究 [J]. 东海海洋, 1998, 16(4):35-39.
- [27] 华丹, 闻海波, 徐钢春, 等. 投喂圆背角无齿蚌对中华绒螯蟹生长及肌肉、肝脏中氨基酸的影响 [J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(1):83-86.
- [28] 赵玉蓉, 金宏, 王红权, 等. 普通草鱼与脆肉鲩肝胰脏氨基酸的差异 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2004, 30(3):295-297.
- [29] Srivastava R K, Joseph A, Shahidi F. Changes in the amino acid pool during embryonic development of cultured and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 131(1-2):115-124.
- [30] Dabrowski K, Luczynski M, Rusiecki M. Free amino acids in the late embryogenesis and pre-hatching stage of two coregonid fishes [J]. *Biochemical Systematics and Ecology Volume*, 1985, 13 (3): 349-356.
- [31] Rowling M J, McMullen M H, Chipman D C, et al. Hepatic glycine N-methyltransferase is upregulated

- by excess dietary methionine in rats [J]. Journal of Nutrition, 2002, 132:2545–2550.
- [32] 李新帅,齐淑艳,周长海,等.液态蛋氨酸对鲤鱼生长性能的影响[J].安徽农业科学,2009,37(21):10023–10025.
- [33] 彭艳,唐凌,帅柯,等.蛋氨酸对幼建鲤生长及消化吸收功能的影响[J].中国畜牧杂志,2009,13:33–38.
- [34] Rasanthi M, Gunaseker, Sena S, et al. The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquariensis* and Murray cod, *Maccullochella peelii peilli* [J]. Aquatic Living Resources, 1999, 12(4):255–261.
- [35] Ronnestad I, Fyhn H J, Gravningen K. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Seophthalmus maximus*) [J]. Mar Biol, 1992, 114(4):517–525.
- [36] Ronnestad I, Thorsen A, Finn R N. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids [J]. Aquaculture, 1999, 177 (1–4): 201–216.
- [37] 黄红英,贺建华,范志勇,等.添加缬氨酸和异亮氨酸对哺乳母猪及其仔猪生产性能的影响[J].动物营养学报,2008,20(3):281–287.

Comparsion of amino acid composition in different tissues of the wild and the cultured *Paralichthys olivaceus* broodstock

WANG Ji-ying¹, LI Pei-yu², SONG Zhi-dong², WANG Shi-xin¹,

LI Bao-shan¹, HUANG Bing-shan¹, ZHANG Li-min^{1*}

(1. Shandong Marine Fisheries Research Institute, Yantai 264006, China;

2. Shandong Shengsuo Aquatic Feed Research Center, Yantai 265500, China)

Abstract: Amino acid composition in muscle, liver and ovary of the wild and cultured *Paralichthys olivaceus* broodstock at stages III – IV and V was determined by biochemical methods, to ascertain their effects on the reproductive performance. The results indicated that the total amino acid concentration of muscle, liver and ovary of both the wild and the cultured broodstock is as follows: muscle > ovary > liver; There were no significant differences in most amino acid concentration of muscle between the wild and the cultured broodstock. The muscle of the wild and the cultured broodstock have constant amino acid composition with development of the ovary except Methionine and Histidine; The most amino acid concentration in liver of the cultured broodstock were higher than the same-phased wild broodstock, and the amino acid concentration in liver of both the wild and the cultured broodstock increased with the development; There were no significant differences of total amino acid concentration and essential amino acid concentration in ovary between the wild broodstock and the same-phased cultured broodstock, but Methionine concentration of the wild broodstock was higher than the cultured one. The amino acid concentration in different tissues of the wild and the cultured broodstock increased with the development especially Arginine, Methionine, Histidine. Arginine, Methionine, Histidine were presumed to induce spawning differences between the wild broodstock and the cultured one, so further researches are needed.

Key words: *Paralichthys olivaceus*; muscle; liver; ovary; amino acid composition

Corresponding author: ZHANG Li-min. E-mail: zhanglimin@126.com