

文章编号: 1000-0615(2019)10-2154-12

DOI: 10.11964/jfc.20190911963

饲料中赖氨酸水平对勃氏雅罗鱼生长、饲料利用、血液生化指标、赖氨酸代谢酶活性及相关基因表达的影响

牛小天¹, 左亚南¹, 张家松², 陈秀梅¹, 李沐阳¹,
田佳鑫¹, 孔祎頔¹, 王桂芹^{1*}

(1. 吉林农业大学动物科学技术学院, 吉林 长春 130118;

2. 吉林省水产科学研究院, 吉林 长春 130033)

摘要: 为探讨赖氨酸对勃氏雅罗鱼生长、饲料利用、血液生化指标、赖氨酸代谢酶活性及相关基因表达的影响, 配制6种等能(17 MJ/kg)、等氮(37% CP)且不同赖氨酸水平(1.82%、2.27%、2.72%、3.17%、3.62%和4.07%)的实验饲料, 以初始体质量为(13.44 ± 1.10) g的勃氏雅罗鱼为实验对象, 分6组, 每组3重复, 每重复50尾, 分别投喂6种实验饲料, 养殖周期为8周。结果显示: 饲料中赖氨酸水平达到3.17%时, 该组的勃氏雅罗鱼平均增重率(WG)和特定生长率(SGR)与3.62%组无显著性差异, 但显著高于其他各组。2.27%组、2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组的饲料效率(FE)和蛋白质效率(PER)均显著高于1.82%组。3.17%组的血清中胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、总胆固醇(TC)、总氨基酸(TAA)、总蛋白(TP)、球蛋白(GLB)和白蛋白(ALB)含量显著高于1.82%组; 血清中尿素氮(BUN)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)含量显著低于1.82%组。各实验组的肝胰脏赖氨酸酮戊二酸还原酶(LKR)活性均存在显著性差异, 且随赖氨酸水平的升高而显著升高; 2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组的肝胰脏氨基乙二酸半醛合成酶(AASS)活性差异不显著, 但均显著高于1.82%组和2.27%组。2.72%组、3.17%组、3.62%组的血清LKR活性差异不显著, 但均显著高于1.82%组和4.07%组; 2.72%组和3.17%组的血清AASS活性显著高于1.82%组和2.27%组, 显著低于3.62%组和4.07%组。肝胰脏中AASS基因表达量在2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组差异不显著, 但均显著高于1.82%组; 肝胰脏中阳离子氨基酸转运蛋白-1(CATI)基因表达量在3.17%组和3.62%组差异不显著, 但均显著高于1.82%组、2.27%组、2.72%组和4.07%组。在本实验条件下, 饲料中赖氨酸水平为3.17%或赖蛋比为8.5%时, 能够提高勃氏雅罗鱼的生长、饲料利用率、蛋白质代谢、赖氨酸代谢和转运能力。

关键词: 勃氏雅罗鱼; 赖氨酸; 生化指标; 代谢酶; 基因表达

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

赖氨酸是蛋白质的重要组成部分, 属于碱性氨基酸, 在动物饲料中被广泛应用, 具有促进机体生长、发育及提高免疫力等作用。由于动物自身无法合成, 所以赖氨酸又是一种必需氨基酸, 且在水产动物常用的蛋白质源中常作

为第一限制性氨基酸被使用。目前, 赖氨酸在畜禽^[1-2]和水产动物^[3]方面均有研究。饲料中添加赖氨酸能够保护草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)肠道细胞免受铜诱导的氧化损伤^[3]; 提高团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)的增重率、蛋白质效

收稿日期: 2019-09-16 修回日期: 2019-10-03

资助项目: 国家现代农业(特色淡水鱼)产业技术体系建设专项资金资助[CARS-46]; 吉林省公益性科研院所基本科研项目

通信作者: 王桂芹, E-mail: wgqilau@aliyun.com

率、能量利用率^[4]; 提高大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)肌肉中粗蛋白含量^[5]; 提高青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)幼鱼的免疫力^[6]。而在对卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)^[7]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[8,9]、鳊幼鱼(*Elopichthys bambusa*)^[10]等的研究中也得到类似结果。

陆生动物体内赖氨酸的分解代谢过程是在线粒体中完成的, 其中氨基乙二酸半醛合成酶(AASS)是一种含有赖氨酸酮戊二酸还原酶(LKR)和酵母氨酸脱氢酶(SDH)的双功能蛋白, 主要作用于赖氨酸不可逆分解代谢的前两步^[11]。肝脏分解代谢赖氨酸是在LKR和SDH及赖氨酸氧化酶(LOX)的作用下完成的, 所以LKR和AASS酶活性及其蛋白和mRNA表达可以作为赖氨酸代谢的指标^[12]。有研究报道赖氨酸水平升高使鸡肝脏中LKR活性和LKR mRNA表达增强^[12-13]。而关于动物体内赖氨酸水平调控AASS活性的研究还未见报道, 但是有研究表明, 奶牛肝脏中AASS的mRNA表达不受饲料中赖氨酸水平影响^[14], 而在小鼠的研究中发现LKR活性、AASS mRNA表达量和AASS蛋白表达随着赖氨酸水平的升高而增加^[11], 这可能是由于物种差异所引起的结果。阳离子氨基酸转运蛋白-1(CAT1)在赖氨酸代谢过程中起着转运的作用。有研究发现, 雏鸡肝脏中CAT1 mRNA表达量与其饲料中赖氨酸水平的高低有关^[15]。而在水产动物中尚未见到相关报道。

勃氏雅罗鱼(*Leuciscus brandti*)隶属鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、雅罗鱼属(*Leuciscus*), 具有营养价值高、生长速度快等优点, 目前已在分子生物学^[16]、遗传育种^[17]、组织学^[18]和营养^[19]等方面进行研究, 但尚未见到关于勃氏雅罗鱼赖氨酸需要量的研究报道。因此, 本实验探讨饲料中不同赖氨酸水平对勃氏雅罗鱼的生长、饲料利用、血清生化指标、赖氨酸代谢酶活性及其相关基因表达的影响, 为勃氏雅罗鱼饲料中赖氨酸的准确供给提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料及营养成分

以鱼粉和酪蛋白为蛋白源, 鱼油和植物油为脂肪源, 糊精和面粉为糖源, 同时添加维生素预混料和无机盐预混料, 配制6组不同赖氨酸

水平(1.82%、2.27%、2.72%、3.17%、3.62%、4.07%); 80%L-赖氨酸, 北京市星火科技有限公司)的等氮(37%)、等能(17 MJ/kg)饲料, 用丙氨酸调整饲料等蛋白质水平。将饲料原料粉碎并过60目筛后称重、混匀, 加工成粒径为1.0 mm的颗粒饲料, 自然风干后置于-20 °C条件下保存、待用。

利用高效液相色谱法检测饲料中氨基酸含量、凯氏定氮法检测饲料中粗蛋白质含量、马弗炉550 °C灼烧法检测饲料中粗灰分含量、索氏抽提法检测饲料中粗脂肪的含量、105 °C恒温烘干法检测饲料中水分的含量和氧弹式热量计测定饲料中的总能。实验饲料组成及营养水平见表1, 氨基酸组成见表2。

1.2 饲养管理

饲养实验于吉林农业大学水产养殖实验室进行。实验前, 将雅罗鱼暂养在水族箱中, 驯化2周, 投喂基础日粮, 分组前, 禁食1 d, 挑选900尾规格相同、健康的勃氏雅罗鱼(13.44 ± 1.10) g, 随机分配到18个控温循环水族箱中, 每组实验饲料进行随机投喂3个水族箱, 每天饱食投喂两次(08:00, 17:00), 投喂1 h后观察水族箱中残饵情况, 用虹吸管吸出残饵烘干称重, 并及时调整投喂量。实验期间, 每3 d换水一次, 换水量为1/3, 同时记录每天的投喂量和水温。实验期间溶解氧大于5.0 mg/L, 氨氮小于0.5 mg/L, pH值7.1 ± 0.1, 水温(23 ± 1) °C。饲养时间为8周。

1.3 样品采集和指标测定

养殖实验结束后, 禁食1 d, 用麻醉剂MS-222将鱼麻醉, 统计尾数并称重。然后每个水族箱中随机捞取10尾勃氏雅罗鱼, 称量体质量后, 采用鱼体尾静脉处采血后室温静置12 h, 移入离心机中4 000 r/min离心15 min, 取上层无色透明的血清, 最后将血清置于-20 °C条件下保存待用; 将采血后的雅罗鱼放在冰块上并迅速采集肝脏, 放入液氮中速冻后转移到-80 °C条件下保存待用。

增重率 (weight gain rate, WGR, %) = 100% × (W_t - W₀)/W₀

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) = 100% × (ln W_t - ln W₀)/t

饲料效率 (feed efficiency, FE, %) = 100% × (W_t - W₀)/I;

表1 实验饲料组成及营养水平/(%干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient level of experimental diets/(% DM basis)

原料组分/% ingredients	赖氨酸水平/% lysine level					
	1.82	2.27	2.72	3.17	3.62	4.07
鱼粉 fish meal	26	26	26	26	26	26
酪蛋白 casein	10	10	10	10	10	10
丙氨酸 alanine	2.5	2	1.5	1	0.5	0
L-赖氨酸 L-lysine	0	0.5	1	1.5	2	2.5
混合氨基酸 mixed amino acid	11	11	11	11	11	11
鱼油 fish oil	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
植物油 vegetable oil	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38	1.38
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 calcium dihydrogen phosphate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
糊精 dextrin	17.48	17.48	17.48	17.48	17.48	17.48
维生素预混料 vitamin premix ¹	1	1	1	1	1	1
无机盐预混料 inorganic salt premix ²	2	2	2	2	2	2
面粉 flour	26.26	26.26	26.26	26.26	26.26	26.26
营养水平/% nutrient content						
赖氨酸 lysine	1.82	2.27	2.72	3.17	3.62	4.07
粗蛋白 crude protein	36.99	36.95	36.73	37.12	37.06	37.01
粗脂肪 crude lipid	6.38	6.32	6.13	6.43	6.05	6.22
粗灰分 ash	5.28	5.12	4.98	5.07	4.75	5.23
水分 moisture	6.93	7.42	7.36	6.85	7.53	6.87
总能/(MJ/kg) gross energy	17.52	17.47	17.41	17.35	17.32	17.33

注: 1. 维生素预混料向每千克饲料提供: 烟酸10 mg, 胆碱1 000 mg, D-泛酸钙20 mg, 生物素0.14 mg, 叶酸1 mg, VA 2 500 IU, VB₁ 6 mg, VB₂ 6 mg, VB₆ 5 mg, VB₁₂ 0.02 mg, VC 50 mg, VD₃ 2 000 IU, VE 50 IU, VK₃ 1 mg; 2. 无机盐预混料向每千克饲料提供: 氯化钠1 200 mg, 硫酸锰32 mg, 硫酸锌60 mg, 无水硫酸铜20 mg, 硫酸亚铁13 mg, 碘化钾8 mg; 3. 饲料营养成分为实测值

Notes: 1. Vitamin premix is supplied to a kilogram of diets: niacin 10 mg, choline 1 000 mg, D - calcium pantothenate 20 mg, biotin 0.14 mg, folic acid 1 mg, vitamin A 2 500 IU, vitamin B₁ 6 mg, vitamin B₂ 6 mg, vitamin B₆ 5 mg, vitamin B₁₂ 0.02 mg, vitamin C 50 mg, vitamin D₃ 2 000 IU, vitamin E 50 IU, vitamin K₃ 1 mg; 2. Inorganic salt premix is supplied to a kilogram of diets: NaCl 1 200 mg, MnSO₄ 32 mg, ZnSO₄ 60 mg, CuSO₄ 20 mg, FeSO₄·7H₂O 13 mg, KI 8 mg; 3. The feed nutrient content were measured values

蛋白质效率(protein efficiency rate, PER) = $(W_t - W_0)/(I \times C)$

式中, C为饲料蛋白质的含量(%); I为摄入饲料的重量(g); t为实验时间(d); W₀、W_t分别为实验初始和结束时勃氏雅罗鱼的总重量(g)。

利用南京建成生物工程研究所的试剂盒检测血中总蛋白(TP)、球蛋白(GLB)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆固醇(TC)、尿素氮(BUN)、类胰岛素生长因子1(IGF-1)、总氨基酸(TAA); ELISA试剂盒(鱼类专用)检测血和肝胰脏中的LKR和AASS活性。

1.4 提取组织总RNA及荧光定量PCR

利用Trizol法提取总RNA。取肝胰脏组织冻样100~200 mg, 放在高压灭菌后盛有液氮的研钵中研磨成粉末, 转移至盛有1 mL Trizol裂解液的1.5 mL无核酸酶EP管中, 根据Trizol说明书提取总RNA。然后分别利用1%琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪对所提取总RNA的完整性及纯度和浓度进行检测。以检测合格的总RNA为模板, 根据常州天地人和生物有限公司的反转录试剂盒说明书进行操作, 反转录获得的cDNA置

表 2 试验饲料氨基酸组成/(干物质基础)

Tab. 2 Amino acid composition of experimental diets/% (DM basis)

项目 items	鱼粉提供 fish meal supply	酪蛋白提供 casein supply	晶体氨基酸混合物提供 crystalline amino acid mixtures supply	合计 totals
必需氨基酸 EAA				
精氨酸 Arg	1.19	0.36	0.89	2.44
组氨酸 His	0.37	0.25	0.32	0.94
异亮氨酸 Ile	0.69	0.46	0.63	1.78
亮氨酸 Leu	1.36	0.94	0.98	3.28
蛋氨酸 Met	0.53	0.33	0.57	1.43
苯丙氨酸 Phe	0.72	0.47	0.63	1.82
苏氨酸 Thr	0.8	0.42	0.62	1.84
缬氨酸 Val	0.77	0.61	0.71	2.09
非必需氨基酸 NEAA				
半胱氨酸 Cys	0.18	0.1	0.25	0.53
丙氨酸 Ala	1.08	0.3	1.03	2.41
丝氨酸 Ser	0.88	0.54	0.21	1.63
甘氨酸 Gly	1.23	0.19	0.94	2.36
天冬氨酸 Asp	1.65	0.71	1.7	4.06
酪氨酸 Tyr	0.58	0.5	0.38	1.46
谷氨酸 Glu	2.51	2.17	2.08	6.76

注: 色氨酸和脯氨酸没有检测

Note: Tryptophan and proline was not detected

于-20 °C条件下保存, 用于AASS和CAT1基因的检测。

利用Primer 5.0软件设计肝脏中赖氨酸代谢相关基因AASS和CAT1的特异性引物(表3), 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 以 β -ACTIN为参照基因。

荧光定量PCR反应体系为25 μ L, 将上下游引物各0.5 μ L、12.5 μ L 2 \times SYBR预混液(TaKaRa, Japan)、1 μ L cDNA模板和无核酸酶水10.5 μ L加入PCR管中, 将气泡轻轻弹碎后混匀, 放入ViiA7 Realtime PCR仪中开始分析。扩增条件为: 95 °C条件下预变性1 min; 95 °C条件下变性5 s, 58 °C条件下退火30 s, 进行40个循环。数据采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行分析, 取3次重复的平均值。

1.5 统计分析

实验结果利用SPSS 21.0统计软件进行单因素方差分析及Duncan氏法多重比较, 数据采用平均值 \pm 标准差的形式表示, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼生长和饲料利用的影响

饲料中赖氨酸水平对雅罗鱼的WGR、SGR、FE和PER均有显著影响。WGR和SGR均随着饲料中赖氨酸水平的升高呈先升高后降低的趋势, 并且WGR和SGR在3.17%组与3.62%组之间无显著性差异, 但是3.17%组显著高于1.82%组、2.27%组、2.72%组和4.07%组($P < 0.05$)(表4)。

FE和PER均随着饲料中赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓的趋势。其中2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组之间的FE无显著性差异, 但均显著高于1.82%组和2.27%组($P < 0.05$), 并且2.27%组显著高于1.82%组($P < 0.05$)。PER在2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 但显著高于1.82%组($P < 0.05$), 2.27%组与2.72%组之间无显著性差异, 而2.27%组显著高于1.82%组($P < 0.05$)。

表 3 引物信息

Tab. 3 Primer information

引物 primer	序列(5'-3') sequence from 5' to 3'	序列(3'-5') sequence from 3' to 5'	长度/bp sequence length
<i>β-ACTIN</i>	TCTTGGGTATGGAGTCTTGCGGT	TCTTGATTTTCATTGTGCTGGGG	189
<i>AASS</i>	AAAGCACAGGAGGCAAACAT	GGACTTGGGCATCAGACCTA	221
<i>CAT1</i>	CGAACCTCCAACCTGTCT	CAGATGGCAAATCGTATCCA	163

表 4 饲料中赖氨酸水平对雅罗鱼生长和饲料利用的影响

Tab. 4 Effect of dietary lysine level on growth and feed utilization of *L.brandti*

项目 items	赖氨酸水平/% lysine level					
	1.82	2.27	2.72	3.17	3.62	4.07
初始体重/g IBW	12.70±1.56	13.33±1.53	13.43±1.29	13.57±0.57	13.33±1.55	14.30±0.75
终末体重/g FBW	30.00±3.75 ^a	32.80±4.35 ^{ab}	35.03±0.97 ^b	39.95±0.79 ^b	38.64±3.59 ^b	38.40±0.98 ^b
增重率/% WG	157.64±7.19 ^a	178.11±6.35 ^b	196.02±11.95 ^c	212.75±8.74 ^d	208.10±8.61 ^{cd}	192.89±4.52 ^c
特定生长率/(%/d) SGR	1.69±0.05 ^a	1.83±0.04 ^b	1.94±0.07 ^c	2.04±0.05 ^d	2.01±0.05 ^{cd}	1.92±0.03 ^c
饲料效率 FE	56.05±5.36 ^a	67.67±5.23 ^b	75.90±4.11 ^c	82.39±2.16 ^c	79.03±6.11 ^c	78.75±2.61 ^c
蛋白质效率 PER	1.50±0.12 ^a	1.78±0.14 ^b	1.97±0.90 ^{bc}	2.17±0.06 ^c	2.08±0.16 ^c	2.07±0.07 ^c

注:表中数据均为3组数据的平均值±标准差(n=3),且同行数据肩标不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$);下表同

Notes: Data represented as mean±SD of three replicates (n=3). Values in the same row with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), the same as below

表 5 饲料赖氨酸水平对雅罗鱼血清生化指标的影响

Tab. 5 Effect of dietary lysine level on serum biochemical indexes of *L.brandti*

项目 items	赖氨酸水平/% lysine level					
	1.82	2.27	2.72	3.17	3.62	4.07
胰岛素样生长因子-1/(mmol/L) IGF-1	8.35±0.09 ^a	9.29±0.12 ^{ab}	9.78±0.46 ^{bc}	10.88±0.94 ^d	11.05±0.69 ^d	10.42±0.27 ^{cd}
总胆固醇/(mmol/L) TC	4.41±0.25 ^a	4.47±0.09 ^{ab}	4.85±0.24 ^c	5.74±0.09 ^d	4.86±0.11 ^c	4.67±0.53 ^{bc}
尿素氮/(mmol/L) BUN	0.19±0.1 ^c	0.18±0.01 ^b	0.17±0.00 ^b	0.16±0.01 ^a	0.15±0.01 ^a	0.15±0.00 ^a
总氨基酸/% TAA	33.7±0.13 ^a	34.7±0.14 ^b	34.23±0.15 ^b	37.82±0.1 ^c	35.86±0.25 ^c	35.1±0.16 ^c
总蛋白/(g/L) TP	23.9±1.09 ^a	24.82±0.82 ^{ab}	25.78±0.36 ^{bc}	26.94±0.41 ^c	25.89±1.53 ^{bc}	26.08±0.71 ^{bc}
球蛋白/(g/L) GLB	20.81±1.12 ^a	21.55±0.88 ^{ab}	22.42±0.25 ^{ab}	23.3±0.24 ^b	22.42±1.58 ^{ab}	22.78±0.85 ^b
白蛋白/(g/L) ALB	3.09±0.45 ^a	3.27±0.08 ^{ab}	3.36±0.17 ^{ab}	3.64±0.17 ^c	3.47±0.16 ^{bc}	3.3±0.16 ^a
谷丙转氨酶(IU/L) ALT	16.86±0.72 ^c	15.78±1.44 ^{bc}	14.22±1.06 ^b	12.09±1.77 ^a	15.61±0.44 ^{bc}	16.31±0.5 ^{bc}
谷草转氨酶(IU/L) AST	172.05±2.52 ^c	162.24±5.51 ^b	144.36±3.76 ^a	141.74±5.78 ^a	150.59±6.5 ^a	163.99±5.54 ^{bc}

2.2 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼血清生化指标的影响

勃氏雅罗鱼饲料中不同赖氨酸水平对血清中IGF-1、TC、TAA、BUN、TP、GLB、ALB、ALT和AST均有显著性影响。血清IGF-1含量随着赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓的趋势,其

中3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异,但均显著高于1.82%组和2.27%组($P < 0.05$)。TC含量呈先升高后降低的趋势,其中3.17%组显著高于其他各组($P < 0.05$)。BUN含量呈先降低后平缓的趋势,其中3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异,但均显著低于1.82%组、2.27%组和2.72%组($P < 0.05$)。TAA含量呈先升高

后平缓的趋势, 其中3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 但均显著高于1.82%组、2.27%组和2.72%组($P < 0.05$)。TP含量呈先升高后平缓的趋势, 其中2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 但均显著高于1.82%组($P < 0.05$)。GLB含量呈先升高后平缓的趋势, 其中2.27%组、2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 1.82%组与2.27%组、2.72%组和3.62%组之间也无显著性差异, 而3.17%组和4.07%组显著高于1.82%组($P < 0.05$)。ALB含量呈先升高后降低的趋势, 其中3.17%组与3.62%组无显著性差异, 但显著高于1.82%组、2.27%组、2.72%组和4.07%组($P < 0.05$)。ALT和AST活性随着饲料中赖氨酸水平的升高均呈现先降低后升高趋势, 其中3.17%组的ALT活性显著低于其他各组($P < 0.05$); 而3.17%组的AST活性显著低于1.82%组、2.27%组和4.07%组($P < 0.05$), 与2.72%组和3.62%组无显著性差异(表5)。

2.3 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼肝胰脏和血清中LKR和AASS活性的影响

勃氏雅罗鱼饲料中不同赖氨酸水平对肝胰脏和血清中LKR和AASS活性均有显著影响。在肝胰脏中, 各组别之间的LKR活性随着赖氨酸水平的升高显著性升高($P < 0.05$); 而AASS活性随赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓的趋势, 其中2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 但均显著高于1.82%组和2.27%组($P < 0.05$)。在血清中, LKR活性随赖氨酸水平的升高呈先升高后降低的趋势, 其中2.72%组显著高于1.82%组、2.27%组和4.07%组($P < 0.05$), 而

与3.17%组和3.62%组无显著性差异; AASS活性呈升高趋势, 其中1.82%组和2.27%组之间、2.72%组和3.17%组之间、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 但是2.72%组和3.17%组显著高于1.82%组和2.27%组($P < 0.05$), 显著低于3.62%组和4.07%组($P < 0.05$)(表6)。

2.4 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼肝胰脏中AASS和CAT1基因表达量的影响

雅罗鱼饲料中不同赖氨酸水平对肝胰脏组织中AASS和CAT1基因表达量均有显著影响。AASS mRNA表达量随着赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓趋势, 其中2.72%组、3.17%组、3.62%组和4.07%组之间无显著性差异, 但均显著高于1.82%组($P < 0.05$)。CAT1 mRNA表达量随着赖氨酸水平的升高呈先升高后下降趋势, 其中3.17%组和3.62%组无显著性差异, 但均显著高于其他各组($P < 0.05$), 且4.07%组显著高于1.82%组($P < 0.05$)(表7)。

3 讨论

3.1 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼生长和饲料利用的影响

赖氨酸属于碱性必需氨基酸, 并且作为第一限制性氨基酸, 对鱼类的生长、发育及代谢等均起到非常重要的作用。若饲料中缺乏赖氨酸则会造成负氮作用, 破坏氨基酸的平衡, 降低蛋白质利用率, 造成鱼体生长缓慢, 还会出现死亡率高、食欲下降、饲料利用率降低和骨质钙化率降低等症候^[20-21]。本实验条件下, 1.82%组(未添加赖氨酸组)雅罗鱼出现食欲减退和生长

表 6 饲料赖氨酸水平对雅罗鱼肝胰脏和血清中LKR和AASS活性的影响

Tab. 6 Effect of dietary lysine level on LKR and AASS activity in hepatopancreas and serum of *L.brandti*

项目 items	赖氨酸水平/% lysine level					
	1.82	2.27	2.72	3.17	3.62	4.07
肝胰脏 hepatopancreas						
LKR(U/L)	1.56±0.2 ^a	2.59±0.12 ^b	3.39±0.29 ^c	5.59±0.43 ^d	6.37±0.1 ^e	7.56±0.31 ^f
AASS(U/L)	6.14±1.31 ^a	16.57±1.87 ^b	25.46±1.98 ^c	26.88±1.87 ^c	27.92±1.81 ^c	26.25±1.81 ^c
血清 serum						
LKR(U/L)	4.1±1.55 ^a	6.75±0.68 ^b	8.64±0.89 ^c	8.24±0.63 ^{bc}	7.28±0.44 ^{bc}	4.73±1.03 ^a
AASS(U/L)	7.44±0.92 ^a	8.38±0.64 ^a	34.32±2.05 ^b	38.02±2.11 ^b	75.64±3.58 ^c	72.19±2.84 ^c

表7 饲料赖氨酸水平对雅罗鱼肝胰脏中AASS和CAT1基因表达量的影响

Tab. 7 Effect of dietary lysine level on gene expression of AASS and CAT1 in hepatopancreas of *L.brandtii*

项目 items	赖氨酸水平/% lysine level					
	1.82	2.27	2.72	3.17	3.62	4.07
AASS	0.89±0.18 ^a	0.96±0.08 ^{ab}	1.15±0.11 ^{bc}	1.16±0.12 ^{bc}	1.24±0.11 ^c	1.27±0.08 ^c
CAT1	1.39±0.13 ^a	1.57±0.23 ^a	1.75±0.28 ^{ab}	2.43±0.14 ^c	2.64±0.1 ^c	2±0.32 ^b

缓慢,并且该组的WGR、SGR、FE和PER均显著低于其它各试验组,WGR和SGR随着赖氨酸水平的升高呈先升高后下降的趋势,其中3.17%组的WGR和SGR与3.62%组无显著性差异,却显著高于其他各组;而FE和PER随着赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓的趋势,赖氨酸水平达到2.72%时,FE和PER显著升高,而后随着赖氨酸水平的升高而趋于平缓。这一结果与黄颡鱼^[8]、草鱼^[20]、真鲷^[21](*Sparus aurata*)和团头鲂^[22]研究结果相一致。本研究结果表明,饲料中适宜的赖氨酸水平可以促进勃氏雅罗鱼的生长,提高FE和PER,而赖氨酸水平的不足或过量均能够导致勃氏雅罗鱼生长缓慢及影响其饲料利用。原因可能是勃氏雅罗鱼摄入赖氨酸含量不足使氨基酸平衡被打破,导致蛋白质利用率下降,鱼体生长缓慢,FE和PER降低;或是鱼体摄入过量的赖氨酸后,在脱氨作用下产生了大量的氨,导致鱼体中毒,从而抑制了勃氏雅罗鱼的生长和饲料利用率。Chiu等^[23]在研究中证实饲料中赖氨酸过量会对虹鳟(*Salmo gairdneridneri*)造成毒害作用,并抑制鱼体的生长,降低饲料利用率。

3.2 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼血清生化指标的影响

IGF-1是鱼类机体内分泌的促生长激素,能够促进鱼体或细胞摄取和利用饲料中的多种氨基酸,用于机体生长、RNA和蛋白质的合成^[24]。Azizi等^[21]对海鲷的研究中发现赖氨酸能够调控IGF-1基因的表达,除此之外,IGF-1还受氨基酸平衡^[25]和机体营养状态^[26]的影响。方桂友等^[27]和董志岩等^[28]的研究结果发现母猪血清中IGF-1含量随着饲料中赖氨酸水平的增加先升高后趋于平缓。在本实验条件下,勃氏雅罗鱼血清中IGF-1的含量受饲料中赖氨酸水平的影响显著,其随赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓的趋势,当赖氨酸水平达到3.17%时,IGF-1含量显著升高,而后随着赖氨酸水平的升高趋于平缓。这与上

述研究报道结果相一致。此结果表明饲料中赖氨酸水平适宜时,血清中IGF-1含量升高,促进鱼体的生长;而当赖氨酸水平不足或过量时,导致氨基酸平衡被打破,因此氨基酸对IGF-1的调控作用减弱。

胆固醇不仅与机体脂肪代谢和细胞膜的构成有关,还是生命机体活动所需要激素的前体物质。TC在代谢过程中会受到多种因素的影响,如养殖环境、品系、个体大小、生长阶段、机体的营养状态等^[7]。杨威等^[10]研究指出,鳃幼鱼的血清TC含量随着饲料中赖氨酸水平的升高先升高后降低;而许氏平鲈^[29](*Sebastes schlegelii*)和大菱鲆^[30]的研究显示饲料赖氨酸水平对血清TC含量没有显著影响。在本实验条件下,发现雅罗鱼血清中TC含量受饲料中赖氨酸水平的影响显著,其随赖氨酸水平的增加先升高后下降,这与杨威等^[10]的研究结果一致。当赖氨酸水平达到3.17%时,该组血清中TC含量显著高于其他各组,此结果表明当勃氏雅罗鱼饲料中赖氨酸水平适宜时,TC含量的增高为机体生长提供了充足的细胞组成成分及各种激素的前体物质^[7],间接促进了机体的生长。赖氨酸作为肉毒碱合成过程中的调控因子,间接调控着血清胆固醇含量,当赖氨酸过量时,肉毒碱可以降低血清胆固醇含量和脂肪酸的含量,并将脂肪酸转化为能量供机体生命活动所利用^[31]。

BUN作为动物体内蛋白质和氨基酸代谢的终产物,其与饲料中蛋白质的浓度或氨基酸利用率呈显著负相关。血清BUN含量越低,表明氨基酸组成越平衡,蛋白质利用率越高^[32]。方桂友等^[27]对后备母猪的研究中指出,血清BUN的含量随着饲料中赖氨酸水平的增加而降低。占秀安等^[33]在草鱼饲料中添加赖氨酸甲酯也得到类似结果。本实验研究结果与上述报道一致,勃氏雅罗鱼血清BUN的含量随饲料中赖氨酸水平的增加而降低,当赖氨酸水平达到3.17%至4.07%

时, BUN含量显著低于其他各组。这可能与氨基酸平衡有关, 当饲料中氨基酸平衡被打破时, 蛋白质的利用率降低, 导致蛋白质被滞留并代谢成氨被吸收入血液, 并在肝胰脏中转化成尿素, 从而BUN含量增加; 当饲料中氨基酸平衡时, 蛋白质利用率升高, 进而氮的利用率升高, 从而使BUN含量降低。本实验结果表明饲料中适宜赖氨酸水平能够降低BUN含量, 促进蛋白质和氨基酸代谢。

廖英杰等^[22]对团头鲂的研究结果发现, 饲料中赖氨酸水平在2.88%时显著提高了血清中TAA的含量, 促进机体生长, 而随着赖氨酸水平的增加, TAA呈先升高后趋于平缓的趋势。同时Kroeckel等^[5]对大菱鲆的研究以及Gómez-Requeni等^[34]对斑马鱼(*Danio rerio*)的研究都得到类似的结果。鱼类的糖代谢能力较低, 处于生长期的鱼类将合成的蛋白质用于生长外, 还有一部分作为能量来提供其它生命活动, 当体内氨基酸处于平衡时, 机体获得最佳生长状态; 然而当体内氨基酸过量时, 经过脱氨作用和分解代谢后将以氨的形式排出体外, 以免对机体造成危害。在本实验条件下, 勃氏雅罗鱼饲料中赖氨酸水平显著影响血清中TAA的含量, 赖氨酸水平达到3.17%时, 血清中TAA含量显著升高, 而后随着赖氨酸水平的升高趋于平缓, 表明饲料中赖氨酸水平的升高能够促进机体生长。这与上述的研究结果相一致, 分析原因可能是赖氨酸水平的升高促进了氨基酸平衡所造成的结果。

ALB和TP能够维持机体渗透压平衡, 同时还具有免疫、运输、修补损伤及合成机体组织细胞等功能^[33]; 而TP除了以上功能外, 还能够反映出蛋白质在机体内的代谢情况, 若血清TP含量高, 说明蛋白质代谢旺盛, 有利于动物的生长; GLB具有调控机体免疫力和代谢水平的功能, 尤其是rGLB是机体的重要免疫蛋白^[33, 35]。李雪玲等^[35]在用扣除30%赖氨酸的饲料饲养断奶羔羊的研究中发现, 90日龄羔羊的实验组血清中TP、ALB和GLB的含量与对照组之间无显著性差异, 但是在120日龄时, 实验组血清中TP含量显著低于对照组, 而ALB和GLB无显著性差异。这表明降低饲料中赖氨酸水平导致氨基酸失衡, 进而导致血清蛋白质代谢受阻。蔡万存等^[36]在团头鲂的研究中发现, 饲料中添加赖氨酸能够显著提高血清中TP和ALB的含量, 且占秀安^[33]的研究结

果与之相一致。而在本实验条件下研究发现, 勃氏雅罗鱼血清中TP、GLB、ALB含量受到赖氨酸水平的影响显著, 当赖氨酸水平在3.17%时, 三者含量均显著高于1.82%组, 其中TP和GLB含量随着赖氨酸水平的升高呈先升高后平缓趋势, ALB含量则呈先升高后降低的趋势。与上述的研究结果存在一定的差异, 分析原因可能是由物种差异所导致。本实验结果表明, 饲料中适宜的赖氨酸水平能够促进蛋白质代谢, 间接促进机体的生长, 同时ALB和GLB具有调节机体免疫力的功能, 所以饲料中适宜的赖氨酸水平也有可能提高勃氏雅罗鱼的机体免疫力, 但有待进一步验证。

ALT和AST是氨基酸代谢过程中非常重要的氨基转移酶, 二者的活性变化直接影响机体的蛋白质和氨基酸代谢强弱, 同时也是评价肝功能的标志酶^[37]。ALT和AST主要分布在肝细胞内, 若肝细胞遭受损伤, 则二者的活性就会升高并被释放入血液中, 同时随着肝细胞受损程度的逐渐增大, 二者的活性均逐渐升高^[8]。本研究发现, 勃氏雅罗鱼饲料中赖氨酸水平显著影响血清中ALT和AST的活性, 二者活性随着赖氨酸水平的升高呈先降低后升高的趋势, 当赖氨酸水平达到3.17%时, 二者的活性均显著低于1.82%组和4.07%组。此结果与许氏平鲈^[29]和卵形鲳鲹^[7]的研究结果相似。这表明饲料中赖氨酸不足或者过量时, 均能导致ALT和AST的活性增加。原因可能是饲料中赖氨酸不足或过量, 导致氨基酸失去平衡, 使氨基酸分解代谢的转氨作用增强, 从而降低了体内的氮沉积, 最终影响了机体的生长^[35]; 同时二者活性的变化也能够反映出肝胰脏组织的受损程度, 从而间接反映出机体的健康状态, 但有待进一步验证。本实验结果表明, 雅罗鱼饲料中适宜的赖氨酸水平可以降低ALT和AST活性, 增强蛋白质代谢能力。

3.3 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼肝胰脏和血清中LKR和AASS活性的影响

了解赖氨酸分解代谢及其调控规律, 有助于提高赖氨酸在鱼类饲料应用中的营养价值。赖氨酸在哺乳动物体内的主要代谢途径是在LKR和SDH催化作用下完成的, 并且它是机体产生AASS的主要途径。而临床上也已经应用抑制AASS的活性, 作为治疗癫痫症和赖氨酸分解代

谢遗传病的新方法^[38]。Kiess等^[12]对雏鸡研究发现, 缺乏赖氨酸饲料组饲喂的雏鸡肝脏中LKR活性低于充足赖氨酸组。Kobayashi等^[13]对肉鸡的研究发现高赖氨酸水平饲料组的LKR活性和LKR mRNA表达量均显著高于对照组。关于动物体中赖氨酸调控AASS活性的研究还未见报道。在本实验条件下, 勃氏雅罗鱼肝胰脏和血清中的LKR和AASS活性受饲料中赖氨酸水平的影响显著。肝胰脏中, 当赖氨酸水平达到2.72%时, AASS活性显著升高, 而后随着赖氨酸水平的升高趋于平缓; LKR活性随着赖氨酸水平的升高显著升高。血清中, LKR活性随着赖氨酸水平的升高呈先升高后降低的趋势, 其中1.82%组和4.07%组之间的LKR活性无显著性差异, 均显著低于其他各组, 其他各组间无显著性差异; AASS活性呈升高趋势, 其中2.72%组和3.17%组显著高于1.82%组和2.27%组, 显著低于3.62%组和4.07%组。此结果表明, LKR和AASS不仅存在于肝脏中, 血液中也存在, 且勃氏雅罗鱼饲料中赖氨酸水平适宜时, LKR和AASS活性升高, 能够增强肝脏和血液中赖氨酸代谢。

3.4 饲料中添加不同水平的赖氨酸对勃氏雅罗鱼肝胰脏AASS和CAT1基因表达的影响

赖氨酸分解代谢主要依靠阳离子氨基酸转运蛋白(CAT1/2)通过细胞膜和一个或两个线粒体鸟氨酸转运蛋白(ORC-1/ORC-2)通过线粒体内膜完成转运^[11]。Cleveland等^[11]在研究中发现敲除小鼠AASS基因后, 小鼠肝细胞中LKR活性、AASS mRNA表达量和AASS蛋白表达量均降低, 从而影响了赖氨酸的分解代谢。这表明AASS能够调控LKR活性, 可以作为衡量肝脏中赖氨酸分解代谢能力的评价指标。Humphrey等^[15]对雏鸡研究发现, 饲料中赖氨酸水平与肝脏中CAT1 mRNA表达量呈正相关。而CAT1是赖氨酸分解代谢过程中主要依靠的转运蛋白, 所以CAT1也可以作为衡量肝脏对赖氨酸分解代谢能力的评价指标。He等^[39]研究发现, 断奶仔猪饲料中赖氨酸水平的升高, 使空肠中CAT1 mRNA表达量显著高于对照组, 这表明赖氨酸水平的差异影响CAT1在肠道中的表达, 同时说明其能够调节赖氨酸在肠道的转运。本实验结果发现, 勃氏雅罗鱼肝胰脏组织中AASS mRNA表达量受饲料中赖氨酸水平的影响显著, 当赖氨酸水平达到2.72%时, AASS

mRNA表达量显著升高, 而后随着赖氨酸水平的升高趋于平缓, 这与肝胰脏和血清中AASS活性的变化一致, 表明赖氨酸对勃氏雅罗鱼肝胰脏组织中AASS mRNA表达水平与AASS酶活性变化的影响结果相一致; CAT1 mRNA表达量随着赖氨酸水平的增加先升高后降低, 且各实验组均显著高于1.82%组。由此表明, 二者参与了勃氏雅罗鱼肝胰脏中赖氨酸代谢及转运, 并且饲料变化所引起的赖氨酸代谢及转运不仅发生在畜禽动物肝脏中, 同时也发生在鱼类肝脏中。

4 结论

本实验结果表明, 体质量为13 g左右的勃氏雅罗鱼, 其饲料中赖氨酸水平为3.17%或赖蛋白为8.5%时, 能够提高勃氏雅罗鱼的生长、饲料利用, 蛋白质代谢、赖氨酸代谢和转运能力。

参考文献:

- [1] Girma D D, Ma L, Wang F, *et al.* Effects of close-up dietary energy level and supplementing rumen-protected lysine on energy metabolites and milk production in transition cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, 102(8): 7059-7072.
- [2] Ghoreyshi S M, Omri B, Chalghoumi R, *et al.* Effects of dietary supplementation of L-Carnitine and excess lysine-methionine on growth performance, carcass characteristics, and immunity markers of broiler chicken[J]. *Animals*, 2019, 9(6): 362.
- [3] Li X Y, Liu Y, Jiang W D, *et al.* Co-and post-treatment with lysine protects primary fish enterocytes against Cu-induced oxidative damage[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147408.
- [4] Cai W C, Liu W B, Jiang G Z, *et al.* Lysine supplement benefits the growth performance, protein synthesis, and muscle development of *Megalobrama amblycephala* fed diets with fish meal replaced by rice protein concentrate[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2018, 44(4): 1159-1174.
- [5] Kroeckel S, Dietz C, Schulz C, *et al.* Effect of diet composition and lysine supply on growth and body composition in juvenile turbot (*Psetta maxima*)[J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2013, 67(4): 330-345.
- [6] 胡毅, 张俊智, 黄云, 等. 高棉籽粕饲料中补充赖氨酸和铁对青鱼幼鱼生长、免疫力及组织中游离棉酚含量的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(11): 3443-3451. Hu Y, Zhang J Z, Huang Y, *et al.* Effects of high cottonseed meal diet supplemented with lysine and iron

- on growth, immunity and tissue free gossypol content of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(11): 3443-3451(in Chinese).
- [7] 杜强, 林黑着, 牛津, 等. 卵形鲳鲹幼鱼的赖氨酸需求量[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(10): 1725-1732.
Du J, Lin H Z, Niu J, *et al.* Dietary lysine requirements of juvenile pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(10): 1725-1732(in Chinese).
- [8] 邱红, 黄文文, 侯迎梅, 等. 黄颡鱼幼鱼的赖氨酸需要量[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(10): 3057-3066.
Qiu H, Huang W W, Hou Y M, *et al.* Dietary lysine requirements of juvenile Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(10): 3057-3066(in Chinese).
- [9] Jiang J, Xu S X, Feng L, *et al.* Lysine and methionine supplementation ameliorates high inclusion of soybean meal inducing intestinal oxidative injury and digestive and antioxidant capacity decrease of yellow catfish[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2018, 44(1): 319-328.
- [10] 杨威, 樊启学, 宗克金, 等. 鳊幼鱼对晶体氨基酸的利用效果及赖氨酸需求量的研究[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(7): 1255-1263.
Yang W, Fan Q X, Zong K J, *et al.* Utilization effects of crystalline amino acids and requirement of lysine for juvenile Yellowcheek Carp (*Elopichthys bambusa*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(7): 1255-1263(in Chinese).
- [11] Cleveland B M, Kiess A S, Blemings K P. α -Amino adipate δ -semialdehyde synthase mRNA knockdown reduces the lysine requirement of a mouse hepatic cell line[J]. *The Journal of Nutrition*, 2008, 138(11): 2143-2147.
- [12] Kiess A S, Manangi M K, Cleveland B M, *et al.* Effect of dietary lysine on hepatic lysine catabolism in broilers[J]. *Poultry Science*, 2013, 92(10): 2705-2712.
- [13] Kobayashi H, Eguchi A, Takano W, *et al.* Regulation of muscular glutamate metabolism by high-protein diet in broiler chicks[J]. *Animal Science Journal*, 2011, 82(1): 86-92.
- [14] Tucker H A, Hanigan M D, Escobar J, *et al.* Hepatic expression of amino adipate semialdehyde synthase is unchanged by postprandial lysine supply in lactating dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(2): 1009-1018.
- [15] Humphrey B D, Stephensen C B, Calvert C C, *et al.* Lysine deficiency and feed restriction independently alter cationic amino acid transporter expression in chickens (*Gallus gallus domesticus*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 143(2): 218-227.
- [16] Hu S F, Niu J G, Xie P, *et al.* The complete mitochondrial genome of *Leuciscus baicalensis* (Cypriniformes: Cyprinidae)[J]. *Mitochondrial DNA*, 2015, 26(5): 751-752.
- [17] Lei D J, Zhao G, Xie P, *et al.* Analysis of genetic diversity of *Leuciscus baicalensis* using novel microsatellite markers with cross-species transferability[J]. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2017, 16(2).
- [18] Žlábek V, Randák T, Kolářová J, *et al.* Sex differentiation and vitellogenin and 11-ketotestosterone levels in Chub, *Leuciscus cephalus* L., exposed to 17 β -estradiol and testosterone during early development[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009, 82(3): 280-284.
- [19] Witeska M, Sarnowski P, Ługowska K, *et al.* The effects of cadmium and copper on embryonic and larval development of ide *Leuciscus idus* L.[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2014, 40(1): 151-163.
- [20] 谭芳芳, 叶元土, 肖顺应, 等. 补充微囊赖氨酸和蛋氨酸对草鱼生长性能的影响[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(3): 804-810.
Tan F F, Ye Y T, Xiao S Y, *et al.* Effects of microcapsule lysine and methionine supplementation on growth performance of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(3): 804-810(in Chinese).
- [21] Azizi S, Nematollahi M A, Amiri B M, *et al.* Lysine and leucine deficiencies affect myocytes development and IGF signaling in gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0147618.
- [22] 廖英杰, 刘波, 任鸣春, 等. 赖氨酸对团头鲂幼鱼生长、血清生化及游离必需氨基酸的影响[J]. *水产学报*, 2013, 37(11): 1716-1724.
Liao Y J, Liu B, Ren M C, *et al.* Effects of lysine on growth, physiological and biochemical indexes of blood and essential amino acids of serum in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(11): 1716-1724(in Chinese).
- [23] Chiu Y N, Austic R E, Rumsey G L. Interactions among dietary minerals, arginine and lysine in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1987, 4(1): 45-55.
- [24] 孙伟, 马文健, 宋恩亮, 等. 饲喂不同水平热处理大豆对肉牛体组织和血清中类胰岛素生长因子-I、生长激素、胰岛素和瘦素水平的影响[J]. *草食家畜*, 2011(2):

- 35-39.
- Sun W, Ma W J, Song E L, *et al.* Effect of feeding different levels of heat-treated soybeans on levels of different hormones in longissimus dorsi muscle, back fat, liver and serum of beef cattle[J]. *Grass-Feeding Livestock*, 2011(2): 35-39(in Chinese).
- [25] Men K K, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary corn gluten meal on growth, digestion and protein metabolism in relation to IGF-I gene expression of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2014, 428-429: 303-309.
- [26] Hevrøy E M, Azpeleta C, Shimizu M, *et al.* Effects of short-term starvation on ghrelin, GH-IGF system, and IGF-binding proteins in Atlantic salmon[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2011, 37(1): 217-232.
- [27] 方桂友, 刘亚轩, 林长光, 等. 不同日粮赖氨酸水平对后备母猪生长性能和血清生化指标的影响[J]. *福建农业学报*, 2015, 30(3): 216-221.
- Fang G Y, Liu Y X, Lin C G, *et al.* Effects of DLys levels in diets on productive performance and serum BUN concentrations in gilts[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 30(3): 216-221(in Chinese).
- [28] 董志岩, 刘亚轩, 方桂友, 等. 不同氨基酸水平的低蛋白质饲料对后备母猪初情日龄、血清代谢产物和激素浓度的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(1): 131-138.
- Dong Z Y, Liu Y X, Fang G Y, *et al.* Effects of different dietary amino acid levels on age of puberty, serum metabolites and hormone concentration of replacement gilts fed low protein diets[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2018, 49(1): 131-138(in Chinese).
- [29] 严全根, 解绶启, 雷武, 等. 许氏平鲉幼鱼的赖氨酸需求量[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(4): 459-465.
- Yan Q G, Xie S Q, Lei W, *et al.* Quantitative dietary lysine requirement for juvenile *Sebastes schlegelii*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(4): 459-465(in Chinese).
- [30] Peres H, Oliva-Teles A. Lysine requirement and efficiency of lysine utilization in turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2008, 275(1-4): 283-290.
- [31] Zhou F, Shao J, Xu R, *et al.* Quantitative L - lysine requirement of juvenile black sea bream (*Sparus macrocephalus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 16(2): 194-204.
- [32] Yang Y X, Heo S, Jin Z, *et al.* Effects of lysine intake during late gestation and lactation on blood metabolites, hormones, milk composition and reproductive performance in primiparous and multiparous sows[J]. *Animal Reproduction Science*, 2009, 112(3-4): 199-214.
- [33] 占秀安, 郑严严, 王永侠, 等. 饲料中添加赖氨酸甲酯对草鱼生长相关指标的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(2): 114-119.
- Zhan X A, Zheng Y Y, Wang Y X, *et al.* Effects of dietary supplementation of lysine methyl ester on growth performance in grass carp *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(2): 114-119(in Chinese).
- [34] Gómez-Requeni P, de Vareilles M, Kousoulaki K, *et al.* Whole body proteome response to a dietary lysine imbalance in zebrafish *Danio rerio*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2011, 6(2): 178-186.
- [35] 李雪玲, 张乃锋, 马涛, 等. 开食料中赖氨酸、蛋氨酸、苏氨酸和色氨酸对断奶羔羊生长性能、氮利用率和血清指标的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2017, 48(4): 678-689.
- Li X L, Zhang N F, Ma T, *et al.* Effects of lysine, methionine, threonine and tryptophan in starter on growth performance, nitrogen utilization and serum parameters in weaned lambs[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(4): 678-689(in Chinese).
- [36] 蔡万存, 李向飞, 蒋广震, 等. 大米蛋白替代鱼粉对团头鲂生长、肠道消化吸收功能以及氨基酸代谢的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2017, 40(3): 529-538.
- Cui W C, Li X F, Jiang G Z, *et al.* Effects of fish meal replacement by rice protein concentrate on growth, intestinal digestive and absorptive capability and amino acid metabolism of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2017, 40(3): 529-538(in Chinese).
- [37] 宋理平, 韩勃, 王爱英, 等. 碳水化合物水平对厚唇弱棘鲷生长和血液指标的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2010, 25(4): 293-297.
- Song L P, Han B, Wang A Y, *et al.* The effects of dietary carbohydrate levels on growth performance and plasma biochemical indices in *Hephaestus fuliginosus*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2010, 25(4): 293-297(in Chinese).
- [38] Pena I A, Marques L A, Laranjeira Â B A, *et al.* Mouse lysine catabolism to amino adipate occurs primarily through the saccharopine pathway; implications for pyridoxine dependent epilepsy (PDE)[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2017, 1863(1): 121-128.
- [39] He L Q, Yang H S, Hou Y Q, *et al.* Effects of dietary L-lysine intake on the intestinal mucosa and expression of CAT genes in weaned piglets[J]. *Amino Acids*, 2013, 45(2): 383-391.

Effects of dietary lysine level on growth, feed utilization, serum biochemical indexes, lysine metabolizing enzyme activity and related gene expression of *Leuciscus brandti*

NIU Xiaotian¹, ZUO Yanan¹, ZHANG Jiasong², CHEN Xiumei¹, LI Muyang¹, TIAN Jiabin¹,
KONG Yidi¹, WANG Guiqin^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

2. Jilin Academy of Fishery Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: This experiment was aimed to investigate the effects of lysine on growth, feed utilization, serum biochemical indexes, lysine metabolism enzyme activity and its related gene expression of *Leuciscus brandti*. Six isoenergetic (17 MJ/kg) and isonitrogenous (37% CP) experimental diets were formulated with different levels of lysine (1.82%, 2.27%, 2.72%, 3.17%, 3.62% and 4.07%). Total 900 *L.brandti* with initial weight (13.44 ± 1.10) g were randomly divided into 6 groups (3 replicates per group and 50 *L.brandti* per replicate) and were reared with 6 experimental diets for 8 weeks. The results indicated that when the dietary lysine level reached 3.17%, the weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) of *L.brandti* in this group not significantly different from that in the 3.62% group, but significantly higher than that other groups ($P < 0.05$). The feed efficiency (FE) and protein efficiency (PER) of the 2.27%, 2.72%, 3.17%, 3.62% and 4.07% groups were significantly higher than that of the 1.82% group ($P < 0.05$). When the lysine level is 3.17%, the content of insulin-like growth factors-1 (IGF-1), total cholesterol (TC), total amino acid (TAA), total protein (TP), globulin (GLB) and albumin (ALB) were significantly higher than those of the 1.82% group in the serum ($P < 0.05$); at the same time, the content of blood urea nitrogen (BUN), the alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were significantly lower than those of the 1.82% group ($P < 0.05$). In the hepatopancreas, the lysine-ketoglutarate reductase (LKR) activity among all groups had significant differences ($P < 0.05$), and it increased significantly with the increase of lysine level; the aminoadipate-semialdehyde synthase (AASS) activity among the 2.72% group, 3.17% group, 3.62% group and 4.07% group had no significant difference, but they were significantly higher than those of the 1.82% group and 2.27% group ($P < 0.05$). In the serum, the LKR activity among the 2.72% group, 3.17% group and 3.62% group had no significant difference, but they were significantly higher than the 1.82% group and 4.07% group ($P < 0.05$); the AASS activity of the 2.72% and 3.17% groups was significantly higher than that in 1.82% and 2.27% groups, and significantly lower than that in 3.62% and 4.07% groups ($P < 0.05$). In the hepatopancreas, the AASS gene expression among the 2.72% group, 3.17% group, 3.62% group and 4.07% group was no significant difference, but they were significantly higher than the 1.82% group ($P < 0.05$); the cationic amino acid transporter-1 (CAT1) gene among the 3.17% group and 3.62% group was no significant difference, but they were significantly higher than those of the 1.82% group, 2.27% group, 2.72% group and 4.07% group ($P < 0.05$). In conclusion, when the lysine level was 3.17% of the diets or the lysine level was 8.5% of the protein, it could promote the growth, feed utilization, protein metabolism, lysine metabolism and transport ability of *L.brandti*.

Key words: *Leuciscus brandti*; lysine; biochemical indicators; metabolic enzymes; gene expression

Corresponding author: WANG Guiqin, E-mail: wgqjlau@aliyun.com

Funding projects: Modern Agro-industry Technology Research System of China (CARS-46); Public Welfare Research Institutes Basic Research Fees Project of Jilin Province