

网络出版时间:2016-11-24 13:52

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2017.01.003

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20161124.1352.006.html

L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗生长、 氨基酸组成及相关酶活性的影响

杨翼羽^a,陈玉珂^b,林伟杰^b,王秋举^b,罗莎^b,甘旭^b,张东鸣^{a,b}

(吉林农业大学 a 生命科学学院,b 动物科学技术学院,吉林 长春 130118)

【摘要】【目的】研究 L-蛋氨酸强化卤虫无节幼体对鳙开口苗生长、氨基酸组成及肌酸激酶、 γ -谷氨酰转移酶、 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶活性的影响,为鳙开口苗的培育提供参考。【方法】用 0(对照),400,800,1 600 mg/L 的 L-蛋氨酸强化初孵卤虫无节幼体(*Artemia nauplii*)16 h,投喂鳙(*Aristichthys nobilis*)开口苗 21 d,分别于试验第 7,14 和 21 天取样测定鳙开口苗的体长和体质量,第 21 天取样测定开口苗体内氨基酸组成和相关酶活性。【结果】试验第 7 和 14 天,L-蛋氨酸对各处理组鳙开口苗的特定增长率(SGR)和体长日增长率(BLGR)无显著影响($P>0.05$);在试验第 21 天,400 和 800 mg/L L-蛋氨酸处理组鳙开口苗的 SGR、BLGR 显著高于 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$)。L-蛋氨酸能显著提高各处理组卤虫无节幼体和鳙开口苗体内的蛋氨酸含量,且各处理组之间蛋氨酸含量差异显著($P<0.05$);800 mg/L L-蛋氨酸处理组鳙开口苗总氨基酸含量显著高于 0 和 1 600 mg/L 组($P<0.05$);400 和 800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗赖氨酸(Lys)、精氨酸(Arg)和半胱氨酸(Cys)的含量显著高于 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组;800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗甘氨酸(Gly)和丙氨酸(Ala)的含量显著高于 0 和 400 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$);800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗苏氨酸(Thr)含量显著高于其他 3 组($P<0.05$);800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗的苯丙氨酸(Phe)含量显著高于对照组($P<0.05$)。800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗肌酸激酶、 γ -谷氨酰转移酶活性显著高于其他 3 组($P<0.05$);400 和 800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗的 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶活性显著高于 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$)。【结论】在本试验条件下,800 mg/L L-蛋氨酸强化的卤虫无节幼虫能有效改善鳙开口苗体内的氨基酸组成和相关酶活性,进而提高其生长性能。

【关键词】 L-蛋氨酸;鳙开口苗;生长发育;氨基酸组成;酶活性。

【中图分类号】 S963.16

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2017)01-0014-07

Effects of L-methionine enriched *Artemia* nauplii on growth, amino acids composition and enzyme activities of the first feeding larvae of bighead carp (*Aristichthys nobilis*)

YANG Yiyu^a,CHEN Yuke^b,LIN Weijie^b,WANG Qiuju^b,

LUO Sha^b,GAN Xu^b,ZHANG Dongming^{a,b}

(a Faculty of Life Science and Technology,b Faculty of Animal Science and Technology,
Jilin Agricultural University,Changchun,Jilin 130118,China)

Abstract: 【Objective】Effects of L-methionine enriched *Artemia* nauplii on growth performance,amino acids composition and related enzyme activities of the first feeding larvae of bighead carp (*Aristichthys no-*

【收稿日期】 2015-09-21

【基金项目】 国家自然科学基金项目(30671621,31372540,30972191);吉林省发改委产业技术与开发项目(2011002-1);东北老工业基地外贸发展项目

【作者简介】 杨翼羽(1989—),女,吉林长春人,在读硕士,主要从事水生生物营养研究。E-mail:530630681@qq.com

【通信作者】 张东鸣(1962—),男,吉林长春人,教授,博士,博士生导师,主要从事水产动物营养研究。
E-mail:dongmingzhang0431@aliyun.com

bilis) were studied. 【Method】 Newly hatched *Artemia* nauplii, enriched with 4 levels (0, 400, 800, and 1 600 mg/L) of L-methionine for 16 h, were used as starter food for rearing larvae. The body length and body weight of the fish were determined at the 7th, 14th and 21st days, respectively. The amino acids composition and related enzyme activities were also determined at the 21st day. 【Result】 At the 7th and 14th days, there were insignificant differences in SGR and BLGR ($P>0.05$). There was significantly ($P<0.05$) higher growth performance in 400 and 800 mg/L groups than in the control and 1 600 mg/L groups at the 21st day. The L-methionine contents of *Artemia* nauplii and larvae had significant differences ($P<0.05$) between treatments. The content of amino acids in 800 mg/L group was higher than that in the control and 1 600 mg/L groups ($P<0.05$). Compared to the control and 1 600 mg/L groups, the content of Lys, Arg and Cys in the 400 and 800 mg/L groups were significantly ($P<0.05$) higher. The contents of Gly and Ala in the 800 mg/L group were significantly ($P<0.05$) higher than in the control and 400 mg/L groups. The content of Thr in the 800 mg/L group was significantly ($P<0.05$) higher than that of the others. Phe content in 800 mg/L group was significantly ($P<0.05$) higher than the control group. The activities of CK and γ -GT in 800 mg/L group were significantly higher ($P<0.05$) than that of the others. The activities of $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ in 400 and 800 mg/L groups were significantly higher ($P<0.05$) than that of the others. 【Conclusion】 In this experiment, the first feeding larvae of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) fed with 800 mg/L L-methionine enriched *Artemia* nauplii showed the best growth performance.

Key words: L-methionine; first feeding larvae; bighead carp; growth and development; amino acids; enzyme activity

蛋氨酸(Methionine)亦称甲硫氨酸,是鱼类的必需含硫氨基酸。蛋氨酸不仅是合成蛋白质的起始氨基酸,同时也以S-腺苷甲硫氨酸的形式作为各种化合物甲基化的供体参与机体的众多代谢过程。此外,蛋氨酸也是合成胱氨酸、谷胱甘肽、牛磺酸的前体物质,并参与嘌呤、嘧啶、胆碱、肌酸的生物合成^[1-2],具有旋光性,可分为L型与D型。在动物体内L型易被吸收,D型经酶转化为L型后才可参与蛋白质的合成^[3]。近年来,国内外开展了大量关于蛋氨酸对成鱼或幼鱼营养代谢影响的研究,初步探明了蛋氨酸调控鱼类生长代谢的作用机理^[4-6]。目前关于蛋氨酸对仔稚鱼生理机能影响的研究主要集中在海水仔鱼期^[7-8],而有关L-蛋氨酸对淡水鱼类(尤其是滤食性鱼类)仔鱼营养代谢的影响研究尚未见报道。仔鱼期鱼类代谢旺盛、生长快速,需要获取更多的外源氨基酸来合成机体蛋白以维持正常的生命活动^[7],尤其是一些必需氨基酸。由于仔鱼期鱼类主要摄食轮虫、卤虫等生物饵料,且这些生物饵料体内的蛋氨酸含量非常低^[9-10],因此蛋氨酸是仔鱼的第一或第二限制性氨基酸,对其生长发育极为重要^[8]。鳊(*Aristichthys nobilis*)是我国特有的半洄游性鱼类,主食浮游动物。目前国内外对鳊的研究主要集中在其肌肉营养价值评价方面^[11-12],而对于外源添加营养物质对鳊生长代谢影响的研究相对较少^[13]。本试验

选用L-蛋氨酸,通过“L-蛋氨酸-卤虫无节幼体-鳊开口苗”的食物链,将外源L-蛋氨酸传递到鳊开口苗体内,初步探讨L-蛋氨酸对鳊开口苗生长、氨基酸组成及肌酸激酶、 γ -谷氨酰转移酶、 $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$ 酶活性的影响,旨在为鳊开口苗培育技术的进一步完善及鳊营养学相关方面的深入研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

卤虫卵, ARGENTEMIA牌产品,产自美国大盐湖;海水,人工配制,盐度为20‰;海水晶,广东新广灵牌产品;L-蛋氨酸,购自上海瑞永生物科技有限公司,纯度为99.0%;鳊开口苗,购自吉林省梅河口市共安水产良种厂。

1.2 方法

1.2.1 卤虫的营养强化 取卤虫卵,在水温(28 ± 1)℃、盐度20‰、pH 8~9、溶解氧 $>3 \text{ mg/L}$ 、光照1 000 lx条件下,连续充气,进行虫卵孵化。参照陈玉珂等^[14]的方法,选用初孵卤虫无节幼体(以下简称卤虫)为试验材料,在5 L的烧杯中进行强化,强化体积为1~2.5 L,强化密度为1 000~3 000 mL^{-1} ,L-蛋氨酸添加量分别为0(对照,CK),400,800,1 600 mg/L,强化时间为16 h^[15]。

1.2.2 鳊开口苗的培养 在鳊开口苗开始主动摄

食卤虫时,即鳙 5 日龄开始试验。鳙开口苗初始平均体长为 (5.35 ± 0.12) mm,初始体质量为 (2.31 ± 0.36) mg/尾。将开口苗随机分配至 12 个已充分消毒的 60 L 长方形玻璃缸中,养殖水体积为 50 L,每缸鳙开口苗初始数量为 3 000 尾。开口苗养殖水体温度为 (25 ± 1) ℃,24 h 流水养殖。每天投喂 2 次(分别在 09:00 和 16:00 进行)L-蛋氨酸强化的卤虫,保持养殖水体中卤虫的密度为 $3\sim5$ mL⁻¹,投喂前计算各强化组卤虫的密度及每组的投喂量,按照投喂量量取卤虫培养液,经 0.05 mm 分样筛滤出卤虫,并用适宜温度的清水冲洗卤虫 3 遍,投喂给相应组别的鳙开口苗(开口苗摄食期间关闭流水循环系统)。试验每天采取虹吸法去除缸底残饵及死亡鳙开口苗,并记录各处理组死亡鳙开口苗数量。试验分组次日为试验的第 1 天,饲养周期为 21 d。试验共有 4 组 L-蛋氨酸水平,每组 3 个重复。

1.2.3 生长指标测定 试验第 1 天随机选取 40 尾鳙开口苗测量初始体长、体质量,于试验第 7,14 和 21 天在每缸中随机选取 40 尾鳙开口苗,用 200 μL/L 丁香酚麻醉后测量体长、体质量,每次用于测量的 40 尾鳙开口苗不再放回到原试验组继续饲养。按以下方法计算鳙开口苗的体长日增长率(BLGR)、特定生长率(SGR)和成活率(SR):

$$BLGR = (\ln \text{ 最终平均体长} - \ln \text{ 初始平均体长}) / \text{养殖试验时间} \times 100\%$$

$$SGR = (\ln \text{ 最终平均体质量} - \ln \text{ 初始平均体质量}) / \text{养殖试验时间} \times 100\%$$

$$SR = \text{终末鱼体尾数} / \text{初始鱼体尾数} \times 100\%$$

1.2.4 氨基酸含量的测定 试验结束后取鳙开口苗和饵料样品进行冷冻干燥处理。样品冻干后粉碎研磨,采用氧化水解法测定样品中的含硫氨基酸含量,酸水解法测定含硫氨基酸以外的其他氨基酸的含量,所用仪器为日立 A300 型氨基酸分析仪。

氧化水解法的操作流程为:准确称取样品 50

mg,放入 20 mL 西林瓶中,加入冷却的过甲酸溶液 2 mL,盖好瓶塞,置于 4 ℃冰箱反应 16 h;以偏重亚硫酸钠为终止剂,每瓶加入 0.5 mL,摇匀后加入 6.8 mol/L 盐酸 17.5 mL,置 110 ℃的烘箱水解;水解 24 h 后取出冷却至室温,用水将内容物转移至 50 mL 容量瓶中,用 7.5 mol/L NaOH 中和至 pH 约为 2.2,并用缓冲液定容,5 000×g 离心 10 min,针管吸取少量经 0.22 μm 过滤器过滤后,上机分析。

酸水解法的操作流程为:准确称取样品 50 mg,放入 20 mL 西林瓶中,加入 6 mol/L 盐酸 10 mL,氮吹仪吹氮气 15 min,封瓶后置于 110 ℃的烘箱中水解;水解 24 h 后取出冷却至室温,开瓶后用小漏斗和滤纸过滤至 25 mL 容量瓶中,并用洗涤液定容至刻度;吸取定容后的样品 2 mL,置于 60 ℃真空脱酸仪上脱酸至干燥;向脱酸后的样品中加入 2 mL 样品缓冲液,混匀,经过 0.22 μm 过滤器过滤后,上机分析。

1.2.5 相关酶活性的测定 试验结束后,于鳙开口苗禁食 24 h 后采样,将开口苗全鱼样品用蒸馏水洗净,经液氮速冻后于-80 ℃冷藏备用。从每组随机称取 10 尾左右(约 1 g)的鳙开口苗全鱼样品,加入 9 倍生理盐水,配制组织匀浆液。采用南京建成公司生产的试剂盒测定肌酸激酶、γ-谷氨酰转肽酶和 Na⁺K⁺-ATP 酶活性,采用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量。

1.2.6 数据分析 采用单因子方差分析(ANOVA),比较不同处理组间相关指标的差异显著性,并应用 LSD 检验法进行均值间多重比较。所有统计分析均采用 SPSS 17.0 统计软件进行,结果以“平均值±标准误”表示。

2 结果与分析

2.1 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙鱼开口苗生长的影响 不同水平 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗生长的影响如表 1 所示。

表 1 不同水平 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗生长的影响

Table 1 Effects of L-methionine enriched *Artemia* nauplii on growth performance in first feeding larvae of bighead carp (*Aristichthys nobilis*)

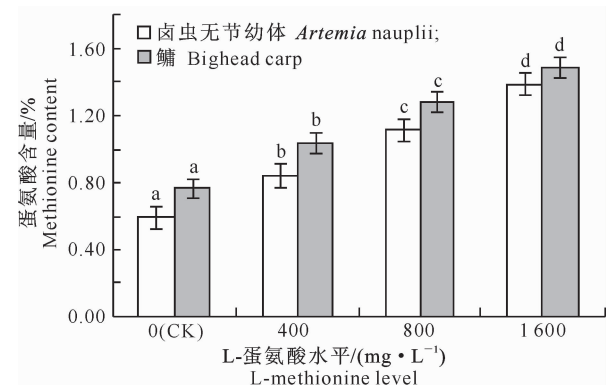
L-蛋氨酸水平/ (mg·L ⁻¹) L-methionine level	第 7 天 7th day		第 14 天 14th day		第 21 天 21st day		SR
	SGR	BLGR	SGR	BLGR	SGR	BLGR	
0(CK)	3.60±0.31 a	5.97±0.18 a	7.05±0.30 a	4.06±0.06 a	8.99±0.12 a	3.66±0.13 a	90.37±2.78 a
400	3.80±0.95 a	6.35±0.11 a	7.37±0.34 a	4.42±0.19 a	9.84±0.32 b	4.04±0.10 b	91.32±3.59 a
800	4.07±0.75 a	6.33±0.12 a	7.69±0.66 a	4.43±0.11 a	10.13±0.17 b	4.07±0.10 b	91.55±5.54 a
1 600	3.93±0.71 a	6.21±0.11 a	6.52±0.99 a	4.26±0.29 a	8.92±0.36 a	3.62±0.12 a	90.80±2.93 a

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。
Note: Different lowercase letters in each column indicate significant difference (P<0.05). The same below.

表 1 结果显示,在试验的第 7 和 14 天,L-蛋氨酸对鳊开口苗的 SGR 和 BLGR 无显著影响($P>0.05$)。试验第 21 天 400 和 800 mg/L L-蛋氨酸组鳊开口苗的 SGR 和 BLGR 差异不显著($P>0.05$),但均显著高于 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$)。鳊开口苗成活率随 L-蛋氨酸水平的升高而呈现先升高后降低趋势,但各试验组之间无显著差异($P>0.05$)。

2.2 L-蛋氨酸强化处理对卤虫和鳊开口苗体内蛋氨酸含量的影响

由图 1 可以看出,卤虫和鳊开口苗体内的蛋氨酸含量随外源 L-蛋氨酸水平的升高而显著增加,且不同水平 L-蛋氨酸处理之间均差异显著($P<0.05$)。



图柱上标不同小写字母表示不同处理组间差异显著($P<0.05$)
Different lowercase letters indicate significant difference among treatment groups ($P<0.05$)

图 1 不同水平 L-蛋氨酸处理对卤虫和鳊开口苗蛋氨酸含量的影响
Fig.1 Effects of different L-methionine levels on content of methionine in *Artemia nauplii* and bighead carp (*Aristichthys nobilis*)

2.3 L-蛋氨酸强化卤虫对鳊开口苗体内氨基酸组成的影响

由表 2 可知,鳊开口苗体内氨基酸总量随着 L-蛋氨酸水平的升高呈现先升高后下降的趋势,当蛋氨酸添加水平为 800 mg/L 时,鳊开口苗体内的氨基酸总量较 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组显著升高($P<0.05$),但与 400 mg/L L-蛋氨酸组差异不显著($P>0.05$)。

对必需氨基酸(共检测 9 种)而言,800 mg/L L-蛋氨酸处理组中鳊开口苗体内苏氨酸(Thr)含量显著高于其他各组($P<0.05$),苯丙氨酸(Phe)含量显著高于对照组($P<0.05$)。当 L-蛋氨酸水平为 400 和 800 mg/L 时,鳊开口苗体内精氨酸(Arg)和赖氨酸(Lys)含量显著高于 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$),且后两组之间差异不显著($P>0.05$)。L-蛋氨酸对鳊开口苗体内缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、组氨酸(His)、亮氨酸(Leu)含量则无显著影响($P>0.05$)。

对非必需氨基酸(共检测 6 种)而言,L-蛋氨酸水平为 800 mg/L 时,鳊开口苗体内的甘氨酸(Gly)含量显著高于 0 和 400 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$),但与 1 600 mg/L 组无显著差异($P>0.05$)。800 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组鳊开口苗体内的丙氨酸(Ala)含量差异不显著($P>0.05$),但均显著高于 0 和 400 mg/L 组($P<0.05$)。400 和 800 mg/L L-蛋氨酸组鳊开口苗体内的半胱氨酸(Cys)含量差异不显著($P>0.05$),但均显著高于 0 和 1 600 mg/L 组($P<0.05$)。L-蛋氨酸对鳊开口苗体内的天门冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、酪氨酸(Tyr)含量则无显著影响($P>0.05$)。

表 2 不同水平 L-蛋氨酸强化卤虫对鳊开口苗体内氨基酸组成的影响								
Table 2 Effects of L- methionine enriched Artemia nauplii on amino acids composition in first feeding larvae of bighead carp(<i>Aristichthys nobilis</i>)								
L-蛋氨酸水平/(mg·L ⁻¹) L-methionine level	苏氨酸 Thr	缬氨酸 Val	异亮氨酸 Ile	苯丙氨酸 Phe	赖氨酸 Lys	组氨酸 His	蛋氨酸 Met	精氨酸 Arg
0(CK)	43.3±2.5 a	23.0±1.2 a	15.6±0.8 a	19.4±1.0 a	34.8±1.6 a	13.6±0.7 a	7.6±0.5 a	5.7±1.0 a
400	46.0±1.8 a	24.8±1.6 a	17.0±1.2 a	21.4±1.3 ab	47.3±1.2 b	15.7±1.5 a	10.4±0.7 b	13.1±0.2 b
800	56.1±2.4 b	28.7±0.7 a	19.6±0.4 a	24.0±0.6 b	42.2±1.6 b	15.1±0.6 a	12.8±0.4 c	13.0±0.6 b
1 600	44.5±1.9 a	29.0±3.8 a	19.6±2.6 a	21.0±1.4 ab	30.3±2.9 a	15.1±1.0 a	14.8±0.7 d	7.6±0.5 a
L-蛋氨酸水平/(mg·L ⁻¹) L-methionine level	亮氨酸 Leu	天门冬氨酸 Asp	甘氨酸 Gly	谷氨酸 Glu	丙氨酸 Ala	半胱氨酸 Cys	酪氨酸 Tyr	氨基酸总量 Total amino acid
0(CK)	34.3±1.8 a	12.2±1.6 a	35.2±1.7 a	64.0±3.1 a	27.6±0.8 a	6.5±0.5 a	17.0±1.0 a	363.5±12.9 a
400	37.0±2.5 a	18.6±4.5 a	36.8±1.5 a	73.7±8.7 a	28.6±0.4 a	7.6±0.6 b	20.3±3.0 a	428.3±21.3 bc
800	42.5±1.0 a	18.7±4.3 a	45.2±1.4 b	75.0±1.8 a	40.9±2.0 b	9.4±0.3 b	21.0±0.6 a	464.2±17.0 c
1 600	42.0±5.0 a	11.8±2.1 a	39.9±1.9 ab	69.1±4.6 a	36.5±4.1 b	6.7±0.5 a	18.0±1.4 a	392.3±22.2 ab

注: Thr、Val、Ile、Phe、Lys、His、Met、Arg、Leu 为必需氨基酸; Asp、Gly、Glu、Ala、Cys、Tyr 为非必需氨基酸。
Note: Thr, Val, Ile, Phe, Lys, His, Met, Arg, and Leu are essential amino acids; Asp, Gly, Glu, Ala, Cys, and Tyr are non-essential amino acids.

2.4 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗体内相关酶活性的影响

由表 3 可知,鳙开口苗体内的肌酸激酶、 γ -谷氨酰转移酶、 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶 3 种酶的活性均随 L-蛋氨酸水平的升高呈先升高后降低趋势。800 mg/L

L-蛋氨酸组鳙开口苗体内的肌酸激酶和 γ -谷氨酰转移酶活性显著高于其他 3 组($P<0.05$);400 和 800 mg/L L-蛋氨酸组鳙开口苗体内的 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶活性差异不显著($P<0.05$),但均显著高于 0 和 1 600 mg/L L-蛋氨酸组($P<0.05$)。

表 3 不同水平 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗体内相关酶活性的影响

Table 3 Effects of L-methionine enriched Artemia nauplii on activities of related enzymes in first feeding larvae of bighead carp(*Aristichthys nobilis*)

L-蛋氨酸水平/(mg·L ⁻¹) L-methionine level	肌酸激酶/(U·mg ⁻¹) Creatine kinase	Na ⁺ K ⁺ -ATP 酶/(U·mg ⁻¹) Na ⁺ K ⁺ -ATPase	γ -谷氨酰转移酶/(U·g ⁻¹) γ -glutamyltransferase
0(CK)	2.78±0.05 a	1.796±0.5 a	16.31±0.9 a
400	2.90±0.04 ab	2.341±1.0 b	18.21±1.3 a
800	3.22±0.07 c	2.376±1.6 b	25.59±2.0 b
1 600	2.95±0.04 b	1.978±0.8 a	20.03±1.3 a

3 讨 论

3.1 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗生长的影响

蛋氨酸作为水生动物最重要的限制性氨基酸之一,在鱼类由仔鱼到成鱼的过渡中发挥着至关重要的作用。大量研究表明,蛋氨酸可提高鱼类摄食量,促进鱼类生长^[16-19]。本试验表明,在试验的第 21 天,当外源 L-蛋氨酸的水平为 800 mg/L 时,鳙开口苗的 SGR 和 BLGR 均达到最高($P<0.05$),可见 L-蛋氨酸可以显著促进鳙开口苗的生长,这与王光花^[6]和彭艳等^[19]对幼建鲤的研究结果相似。L-蛋氨酸可以促进鱼体生长的原因:一方面可能在仔鱼由内源性营养转变为外源性营养的过程中,卵黄消耗完后只能从消化道获得稳定的氨基酸^[20],当鳙开口苗摄食了含较高水平蛋氨酸的卤虫,其体内蛋氨酸含量升高,可促进其体内氨基酸趋于平衡,机体蛋白质代谢水平加快,促进了仔鱼的生长发育;另一方面,L-蛋氨酸还可通过参与精胺、半精胺及细胞分裂有关的化合物的合成,促进细胞增殖和动物生长^[21-22]。

本试验结果表明,当外源 L-蛋氨酸的水平达到 1 600 mg/L 时,鳙开口苗生长开始表现出下降趋势,说明 L-蛋氨酸超过一定水平后鳙开口苗的生长出现减慢现象,这与 Zhou 等^[23]的研究结果相似。其原因一方面可能是饲料中的各种氨基酸数量和比例应符合动物生理需要,当某种氨基酸过剩而超过再合成蛋白质的要求界限时,多余的氨基酸将通过脱氨基作用被当作能源利用,或者作为体脂的原料而被蓄积起来,从而使生长受到抑制;另一方面,可能是过量的蛋氨酸会造成蛋氨酸转向酮或其他有毒代谢物质的积聚和氧化,进而对生长产生负面影

响^[24]。

3.2 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗体内氨基酸组成的影响

卤虫的摄食方式主要为无选择性的滤食^[25],其每小时饮用海水的量约为体质量的 10.8%^[26]。卤虫吞食含有丰富氨基酸的海水,使氨基酸集中于肠道中,再由肠道中吸收进入组织和体液,促使体内氨基酸含量升高^[15]。本试验拟通过“L-蛋氨酸-卤虫-鳙开口苗”的食物链,将外源 L-蛋氨酸传递到鳙开口苗体内,以期达到改善鳙开口苗氨基酸组成的目的。结果显示,不同水平 L-蛋氨酸强化卤虫体内的蛋氨酸含量均随外源 L-蛋氨酸水平的升高而升高,且 4 个试验组之间均差异显著($P<0.05$),这与其他一些有关营养强化的试验结果^[15,27]相一致。鳙开口苗摄食 L-蛋氨酸含量较高的卤虫,使体内蛋氨酸含量随之升高,且 4 个试验组之间均差异显著($P<0.05$)。

本试验中,随着 L-蛋氨酸水平的升高,鳙开口苗体内的必需氨基酸 Thr、Phe、Arg 与 Lys 含量呈显著升高趋势($P<0.05$)。其原因可能是因为鱼体组织中的必需氨基酸水平和饲料需要量之间具有相关性,饵料中的一种必需氨基酸的不平衡可能会导致其他正常水平的必需氨基酸的氧化代谢增加^[8]。本试验中,随着外源添加 L-蛋氨酸水平的升高,鱼体自身蛋氨酸含量随之升高,因此可能会减慢氧化代谢的速度,从而提高其他必需氨基酸的含量。此外,随着鳙开口苗体内蛋氨酸含量的升高,促进了氨基酸的平衡,减少了必需氨基酸向非必需氨基酸的转化,节约了必需氨基酸需要量。

随着外源 L-蛋氨酸水平的升高,鳙开口苗体内非必需氨基酸中的 Gly、Ala、Cys 含量呈升高趋势

($P < 0.05$)。蛋氨酸是必需氨基酸中惟一的含硫氨基酸,在三磷酸腺苷转移酶的作用下可生成 S-腺苷蛋氨酸,再经过一系列生化反应在内酶作用下成为 Cys,进而合成胱氨酸^[2],故本试验的 Cys 含量随 L-蛋氨酸水平的升高而升高。Thr 可由苏氨酸醛缩酶催化裂解生成 Gly 和乙醛,本试验中随着 Thr 含量的升高,Gly 也随之升高。其他非必需氨基酸含量的显著升高,可能与 L-蛋氨酸在一定程度上促进了动物体内的氨基酸平衡,从而提高了个别氨基酸含量有关。

由必需氨基酸与非必需氨基酸的测定结果可知,随着 L-蛋氨酸水平的提高,鳙开口苗体内的氨基酸总量总体呈先升高后降低的趋势,其中以 L-蛋氨酸添加水平为 800 mg/L 时最佳。

3.3 L-蛋氨酸强化卤虫对鳙开口苗肌酸激酶、 γ -谷氨酰转移酶、 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶活性的影响

水生动物肠道内的吸收酶主要包括肌酸激酶, γ -谷氨酰转移酶和 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶^[28-30]。目前,关于蛋氨酸对鳙鱼开口苗肠道吸收能力的影响还未见报道。对幼建鲤及草鱼的相关研究显示,蛋氨酸可显著提高幼建鲤和草鱼肠道 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶、 γ -谷氨酰转移酶、肌酸激酶的活性^[4-5]。也有研究表明,日粮中添加蛋氨酸能够提高幼龄水生动物肠道的吸收能力^[5-6,19,31]。

γ -谷氨酰基循环的酶系广泛存在于肠黏膜细胞、肾小管和脑组织中,其中 γ -谷氨酰转移酶是位于细胞膜上的膜蛋白酶,能够促进氨基酸的吸收。本试验发现, γ -谷氨酰转移酶活性随着 L-蛋氨酸水平的升高而升高,并在 L-蛋氨酸水平为 800 mg/L 时达到最高。L-蛋氨酸对 γ -谷氨酰转移酶活性的促进作用可能与蛋氨酸的代谢有关,其在代谢过程中能够合成谷胱甘肽(GSH),而 γ -谷氨酰转移酶对氨酰基的转运需要 GSH 的参与。当 γ -谷氨酰转移酶发现氨基酸时,需与 GSH 结合并转运,然后在细胞内形成 γ -谷氨酰氨基酸和半胱氨酰甘氨酸。蛋氨酸吸收量的增加促进了 GSH 的生成,从而为 γ -谷氨酰转移酶的转运提供了充足的结合底物,使 γ -谷氨酰转移酶活性提高,进一步促进了氨基酸的吸收^[6]。

肌酸激酶能够催化肌酸和 ATP 偶联,在肠道内为营养物质的吸收提供能量^[32]。本试验表明,随着 L-蛋氨酸水平的升高,肌酸激酶的活性相应提高,并在 L-蛋氨酸水平为 800 mg/L 时达到最高。蛋氨酸对肌酸激酶活性的提高作用可能与肌酸的含量有

关,蛋氨酸代谢生成 S-腺苷甲硫氨酸,S-腺苷甲硫氨酸与甘氨酸、精氨酸共同参与肌酸的生物合成。本试验中,随着 L-蛋氨酸水平的提高,甘氨酸和精氨酸的含量均有所提升,促进了肌酸的合成,进而不断刺激肌酸激酶活性的增强。

$\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶是生物体内重要的水解酶,其在生物体内可水解三磷酸腺苷(ATP)并释放能量,鱼类氨基酸的转运主要依靠 Na^+ 浓度梯度完成,从而更好地吸收氨基酸和维生素。本试验中, $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶的活性同样随着 L-蛋氨酸水平的升高而升高,并以 800 mg/L 时最高。其原因可能与外源 L-蛋氨酸提高了甘氨酸与精氨酸的含量,从而提高机体肌酸的含量有关,而肌酸可与磷酸结合生成磷酸肌酸(CP),进而迅速补充 ATP 在鱼体中的含量。理论上讲,肌酸的贮存越多,CP 的合成越多,ATP 补给给机体能量的时间就越长。机体内 ATP 含量的升高,增强了 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶的活性,进而更多分解 ATP,以提高机体能量代谢和物质转运功能。

γ -谷氨酰转移酶、肌酸激酶和 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶是与鱼类自身吸收氨基酸功能密切相关的酶类。本试验发现,在 L-蛋氨酸水平为 400~800 mg/L 时,随鳙鱼体内蛋氨酸含量的升高,3 种酶活性均表现出升高趋势,说明 L-蛋氨酸对开口阶段鱼类吸收氨基酸的能力有很好的促进作用,且当其添加水平为 800 mg/L 时效果最为明显。这进一步解释了鱼体自身氨基酸含量随外源 L-蛋氨酸水平的升高而升高,以及随自身氨基酸总量的升高鱼体得到了更快地生长的原因。

在本试验条件下,800 mg/L L-蛋氨酸强化卤虫能有效改善鳙开口苗的生长性能,提高其体内的氨基酸含量及 γ -谷氨酰转移酶、 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATP 酶和肌酸激酶的活性。

〔参考文献〕

- [1] Kasper C S, White M R, Brawn P B. Choline is required by tilapia when methionine is not in excess [J]. The Journal of Nutrition, 2000, 130: 238-244.
- [2] Twibell R G, Griffin M E, Martin J, et al. Predicting dietary essential amino acid requirements for hybrid striped bass [J]. Aquaculture Nutrition, 2003, 9(6): 373-381.
- [3] 乔德堂. 动物的蛋氨酸营养研究进展 [J]. 山东畜牧兽医, 2007, 28(4): 57-58.
- Qiao D T. Research advance of methionine nutrition for animals [J]. Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2007, 28(4): 57-58.

- [4] 孙崇岩, 帅 柯, 冯 琳, 等. 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.
Sun C Y, Shuai K, Feng L, et al. Effect of methionine on immune response and disease resistance of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2009, 21(4): 506-512.
- [5] 唐炳荣, 冯 琳, 刘 扬, 等. 生长中期草鱼蛋氨酸需要量的研究 [J]. 动物营养学报, 2012, 24(11): 2263-2271.
Tang B Y, Feng L, Liu Y, et al. Methionine requirement of grass carp (*Ctenopharyngodon idell*) during middle growth stage [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(11): 2263-2271.
- [6] 王光花. 蛋氨酸对幼建鲤肠道菌群、肠道酶活力和免疫功能的影响 [D]. 四川雅安: 四川农业大学, 2007.
Wang G H. Effects of methionine on intestinal microflora, digestive enzyme and immune function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [D]. Ya'an, Sichuan: Sichuan Agricultural University, 2007.
- [7] 马 静, 秦帮勇, 于朝磊, 等. 卤虫无节幼体的营养强化对半滑舌鲷稚鱼生长、消化酶及相关激素水平的影响 [J]. 渔业科学进展, 2012, 33(6): 35-43.
Ma J, Qin B Y, Yu C L, et al. Effects of nutrition-enriched *Artemia nupplii* on growth, digestive enzyme and associated hormones in tongue sole *Cynoglossus Semilaevis* postlarvae [J]. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33(6): 35-43.
- [8] 于海瑞, 艾庆辉, 麦康森, 等. 大黄鱼稚鱼 L-蛋氨酸需要量的研究 [J]. 水生生物学报, 2013, 37(6): 1094-1102.
Yu H R, Ai Q H, Mai K S, et al. L-methionine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) larvae [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(6): 1094-1102.
- [9] Fyhn H J, Finn R N, Helland S, et al. Nutritional value of phyto-and zooplankton as live food for marine fish larvae [M]// Reinertsen H Dahle L A, Jørgensen L, et al. Fish Farming Technology. Balkema; Rotterdam, 1993: 121-126.
- [10] Helland S. Modulation of the free amino acid pool and protein content in the brine shrimp *Artemia* [D]. Bergen: University of Bergen, 1995.
- [11] 王 琴, 马凌云, 赵 亮. 南湾鲷鱼肌肉氨基酸组成及营养分析 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(2): 131-133.
Wang Q, Ma L Y, Zhao L. Analysis of the contents of amino acids and nutrition in muscle of south bay bighead carp [J]. Food Research and Development, 2015, 36(2): 131-133.
- [12] 黄春红, 曾伯平, 黄建波. 青鱼、草鱼、鲢鱼和鳊鱼鱼头营养成分比较 [J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2008, 20(3): 46-48.
Huang C H, Zeng B P, Huang J B. Comparison of nutrients in the head of black carp, grass carp, silver carp and bighead carp [J]. Journal of Hunan University of Arts and Science (Natural Science Edition), 2008, 20(3): 46-48.
- [13] 陈玉珂, 蔺丽丽, 宋 丹, 等. L-肉碱强化卤虫对草鱼、鳊鱼和鲤鱼开口苗中长链脂肪酸组成的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(10): 50-56.
Chen Y K, Lin L L, Song D, et al. Effects of L-carnitine enriched *Artemia* on medium and long chain fatty acids composition in first feeding larvae of grass carp, bighead carp and common carp, *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichysn obilis*, *Cyprinus carpio* [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2012, 40(10): 50-56.
- [14] 陈玉珂, 徐 静, 蔺丽丽, 等. L-肉碱强化卤虫对草鱼开口苗生长、生命力及其 RNA/DNA 比率的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(2): 57-62.
Chen Y K, Xu J, Lin L L, et al. Effect of L-carnitine enriched *artemia* on growth, vitality and RNA/DNA ratio in first feeding larvae of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2010, 38(12): 57-62.
- [15] Tonheim S, Koven W, Rønnestad I. Enrichment of *Artemia*, with free methionine [J]. Aquaculture, 2000, 190(3/4): 223-235.
- [16] Ahmed I T, Khan M R. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) [J]. Aquaculture International, 2003, 11(5): 449-462.
- [17] Espe M, Heveroy E M, Liaset B, et al. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. Aquaculture, 2008, 274(1): 132-141.
- [18] Mai K S, Wan J L, Ai Q H, et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker [J]. Aquaculture, 2006, 253: 564-572.
- [19] 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, 45(13): 33-38.
Peng Y, Tang L, Shuai K, et al. Effect of methionine on digestive function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2009, 45(13): 33-38.
- [20] 李文杰. 不同氨基酸模式及来源对大黄鱼稚鱼生长、存活、消化酶活力及蛋白质代谢的影响 [D]. 山东青岛: 中国海洋大学, 2013.
Li W J. Effects of different dietary amino acid patterns and sources on growth, survival, activities of digestive enzymes and protein metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. [D]. Qingdao, Shandong: Ocean University of China, 2013.
- [21] 田亚东, 蔡辉益. 肉仔鸡氨基酸营养研究进展 [J]. 饲料工业, 2005, 26(1): 26-29.
Tian Y D, Cai H Y. Advance for amino acid nutrition of broiler chickens [J]. Feed Industry, 2005, 26(1): 26-29.
- [22] 王 冉, 周岩民. 动物蛋氨酸营养研究进展 [J]. 粮食与饲料工业, 1999(4): 27-30.
Wang R, Zhou Y M. Research advance of methionine nutrition for animals [J]. Cereal & Feed Industry, 1999(4): 27-39.
- [23] Zhou Q C, Wu Z H, Tan B P, et al. Optimal dietary methionine requirement for Juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*) [J]. Aquaculture, 2006, 31: 551-557.

(11);24-28.

Xi L,Wang Y F,Chang J,et al. Effect of housing range model with perches on production performance,egg quality and immune function of layer hens [J]. China Animal Husbandry and Veterinary,2014,41(11):24-28.

[15] Bookkers E A M,Koene P. Behavior of fast and slow growing broilers to 12 weeks of age and the physical consequences [J]. Applied Animal Behavior Science,2003,81(1):59-72.

[16] Jones R B,Faure J M. Tonic immobility (righting time) in laying hens housed in cages and pens [J]. Applied Animal Ethology,1981,7(4):369-372.

[17] Campo J L,Gil M G,Davila S G,et al. Effect of lighting stress on fluctuating asymmetry,heterophil-to-lymphocyte ratio,and tonic immobility duration in eleven breeds of chickens [J]. Poultry Science,2007,86(1):37-45.

[18] 李保明. 畜禽健康养殖模式与环境控制技术进展 [J]. 中国猪业,2012(12):11-12.

Li B M. Progress of livestock breeding model and environmental control techniques [J]. China Swine Industry,2012(12):11-12.

[19] 姜旭明,卢庆萍,张宏福. 环境富集材料对肉鸡福利指标的影响 [J]. 家畜生态学报,2009,30(2):72-77.

Jiang X M,Lu Q P,Zhang H F. Effects of environmental enrichment materials on the indicators of broiler welfare [J]. Acta Ecologiae Animalis Domastici,2009,30(2):72-77.

[20] 赵芙蓉,陈永辉,祁艳霞. 富集型笼具对肉仔鸡行为与福利的影响 [J]. 中国家禽,2011,33(12):11-14.

Zhao F R,Chen Y H,Qi Y X. Effects of enriched cages on behavior and welfare of broilers [J]. China Poultry,2011,33(12):11-14.

[21] Tanaka T,Ozaki T,Watanabe T. Effects of perches on behavior and performance of caged hens [J]. Poultry Science,1993,30:183-189.

[22] 陈合强. 鸡舍空气质量的控制 [J]. 家禽科学,2011(12):24-25.

Chen H Q. The air quality control of henhouse [J]. Poultry Science,2011(12):24-25.

.....

(上接第 20 页)

[24] Murthy R K,Varghese T J. Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp,*Labeo rohita* (Hamilton) [J]. Aquaculture Nutrition,1998,4:61-65.

[25] 黄旭雄,王 瑞,吕耀平,等. 不同强化饵料对卤虫必需脂肪酸组成的影响 [J]. 水产科学,2006,24(10):1-4.

Huang X X,Wang R,Lü Y P,et al. The Effects of enrichments on essential fatty acids of cultured *Artemia* [J]. Fisheries Science,2006,24(10):1-4.

[26] 张永正,周 凡,邵庆均,等. 黑鲷幼鱼赖氨酸需求量的研究 [J]. 动物营养学报,2009,21(1):78-87.

Zhang Y Z,Zhou F,Shao Q J,et al. Study on lysine requirement of Juvenile Black Sea Bream (*Sparus macrocephalus*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition,2009,21(1):78-87.

[27] Naz M,Türkmen M. The changes in digestive enzymes and hormones of gilthead seabream larvae (*Sparus aurata* L 1758) fed on *Artemia* nauplii enriched with free methionine [J]. Aquaculture International,2009,17(3):243-256.

[28] Morth J P,Hanne P,Toustrup-Jensen M S,et al. The structure of the Na⁺,K⁺-ATPase and mapping of isoform differences and disease-related mutations [J]. Phil Trans R Soc B,2009,364:217-227.

[29] Wallimann T,Tokarska-Schlattner M,Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine [J]. Ammo Acids,2011,40:1271-1296.

[30] Bridges R J,Griffith O W,Meister A. L-gamma-(threo-beta-methyl) glutamyl-L-alpha-amino tyrate, a selective substrate of alpha-glutamyl cyclotransferase [J]. Journal of Biological Chemistry,1980,255(22):10787-10792.

[31] Tang L,Wang G X,Jiang J,et al. Effect of methionine on intestinal enzymes activities,microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Aquaculture Nutrition,2009,15(5):477-483.

[32] Kashiwada K,Tejima S,Kanazawa A. Studies on the production of B vitamins by intestinal bacteria of fish V. evidence of the production of B12 by microorganisms in the intestinal canal of carp,*Cyprinus carpio* [J]. Bull Japan Soc Fish,1970,36(4):421-424.