

草鱼幼鱼的饲料苏氨酸需要量

文华¹,高文²,罗莉²,尚晓迪²,何宋伟²,钟利桥²,李飞²

(1.中国水产科学研究院 淡水生态与健康养殖重点开放实验室,长江水产研究所,湖北 荆州 434000 ;2.西南大学 动物科技学院 水产系,重庆 400716)

摘要:选用初始体质量为 (8.35 ± 0.06) g的草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)540尾 随机分成6组,每组3个重复,每个重复30尾鱼,分别饲喂苏氨酸水平为0.72%、1.02%、1.32%、1.62%、1.92%和2.22%(占饲料的质量分数)的6组等氮半精制饲料(蛋白质质量分数35%)经60 d生长实验确定草鱼幼鱼的苏氨酸需要量。实验结果表明 随着饲料苏氨酸水平增加,草鱼的增重率、特定生长率、蛋白质效率、蛋白质沉积率、肌肉RNA/DNA比值和血氨水平显著升高($P < 0.05$),均在1.62%组达到最大值;饲料系数和肝脏谷氨酸脱氢酶活力显著降低($P < 0.05$)均在1.62%组达到最小值;随着饲料苏氨酸水平进一步提高,上述指标不再发生显著变化($P > 0.05$)。随饲料中苏氨酸水平的增加,草鱼血清总蛋白浓度显著升高,1.32%、1.62%和1.92% 3组显著高于0.72%和1.02%组($P < 0.05$),2.22%组达最大值,并显著高于其他各组($P < 0.05$);血清甘油三酯和胆固醇浓度在饲料苏氨酸水平为1.32%~2.22%的4组间没有显著差异($P > 0.05$),但显著高于0.72%组和1.02%组($P < 0.05$)。饲料中苏氨酸水平为1.62%时,草鱼肌肉苏氨酸含量和肌肉氨基酸总量均为最大值,显著高于其他各组($P < 0.05$)。饲料苏氨酸适宜水平能使草鱼全鱼水分显著降低,增加蛋白质、脂肪和灰分含量($P < 0.05$),同时降低草鱼肌肉水分,增加蛋白质含量($P < 0.05$),但不影响脂肪含量($P > 0.05$)。饲料中苏氨酸水平对草鱼肝脏谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力无显著影响($P > 0.05$)。以特定生长率、饲料系数、蛋白质沉积率、肌肉RNA/DNA和谷氨酸脱氢酶活力分别对饲料苏氨酸水平进行折线回归分析,并以这些指标达95%最佳值时为判断依据,得出草鱼幼鱼饲料中苏氨酸适宜需要量以占饲料的质量分数计为1.42%~1.61%(饲料蛋白质质量分数35%)或以占饲料蛋白质的质量分数为4.07%~4.60%。[中国水产科学 2009,16(2):238-247]

关键词:草鱼;幼鱼;苏氨酸需要量

中图分类号:S96

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2009)02-0238-10

鱼类对蛋白质的营养需求实质是对氨基酸的需求,当饲料蛋白质中一种或数种必需氨基酸不足时,鱼类利用饲料蛋白质的效率降低,正常生理功能受阻,生长缓慢。这种影响的程度由不足程度最大的那种氨基酸决定,即出现“水桶效应”。苏氨酸是鱼类10种必需氨基酸之一,在以植物性饲料为主要蛋白源的鱼类饲料中,苏氨酸常常是第二或第三限制性氨基酸^[1-2],属易缺乏类必需氨基酸。国外学者对鱼类苏氨酸的研究较多,如鲤(*Cyprinus carpio*)对饲料中苏氨酸的需要量为3.9%(以占饲料蛋白质的

质量分数计),尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)为3.75%、大鳞大马哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)为2.2%、大马哈鱼(*Oncorhynchus keta*)为3.0%、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)为4.0%^[3]。可见不同鱼类对苏氨酸的需要量不同,即使属于同一属的鱼类(如大鳞大马哈鱼和大马哈鱼),其苏氨酸需要量也有差异,而国内尚未见鱼类苏氨酸需要量的研究报道。

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是中国主要的养殖鱼类之一,其饲料蛋白质主要来自于植物性饲料原料,然而目前对其必需氨基酸需求的研究仅限于赖

收稿日期:2007-11-03;修订日期:2008-10-27.

基金项目:国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAD03B03).

作者简介:文华(1965-),男,副研究员,主要从事水产动物营养与饲料研究.E-mail:wenhua.hb@163.com

通讯作者:罗莉(1972-),女,副教授,主要从事鱼类营养生理与饲料研究.E-mail:ludli1972@163.com

氨酸^[4-5]、蛋氨酸和精氨酸^[6]尚不能充分反映草鱼对饲料必需氨基酸的需求状况。本实验用含有不同水平苏氨酸的半精制饲料饲喂草鱼幼鱼,通过生长实验确定其苏氨酸需要量,为构建草鱼饲料的理想氨基酸模式和配制营养平衡的配合饲料提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

基础饲料为半精制饲料(表1)以酪蛋白、明胶、玉米蛋白粉和晶体氨基酸混合物为蛋白源。参照

文献[7-8],其蛋白质含量设定为35%,氨基酸模式与草鱼幼鱼的全鱼氨基酸模式一致(除苏氨酸外)。在基础饲料中添加不同质量的L-苏氨酸,使6组实验饲料苏氨酸水平分别为0.72%、1.02%、1.32%、1.62%、1.92%和2.22%(以占饲料的质量分数计),其中苏氨酸的增减用谷氨酸等氮填充。基础饲料必需氨基酸含量实测值见表2。配制饲料时先将原料粉碎、混合均匀,同时加入6 mmol/L的NaOH调节饲料的pH值至中性^[9],饲料加工成2 mm粒径的颗粒,60℃烘干后置冰箱中于-20℃保存。

表1 基础饲料配方及营养组成
Tab.1 Formulation and chemical composition of the basal diet(dry matter)

成分 Ingredients	配合量/(g·kg ⁻¹)Content	化学组成 Chemical composition	含量/% Content
酪蛋白 Casein	50	干物质 Dry matter	92.48
明胶 Gelatin	70	粗蛋白质 Crude protein	35.13
玉米蛋白粉 Zein meal	250	粗脂肪 Crude lipid	5.88
氨基酸混合物* Amino acid mixture*	106	灰分 Ash	3.98
糊精 Dextrin	130	苏氨酸 Threonine	0.72
玉米淀粉 Corn starch	200		
纤维素粉 Cellulose	80		
豆油 Soybean oil	60		
添加剂预混料** Additive premixture**	10		
磷酸二氢钙 Calcium biphosphate	10		
谷氨酸 Glutamic acid	33		

* 氨基酸混合物(每kg饲料):精氨酸9.2 g,组氨酸6.2 g,异亮氨酸8.0 g,亮氨酸2.7 g,赖氨酸24.0 g,蛋氨酸6.2 g,苯丙氨酸5.0 g,色氨酸2.6 g,缬氨酸8.2 g,胱氨酸1.5 g,丙氨酸8.0 g,甘氨酸7.5 g,天门氨酸5.3 g,脯氨酸9.6 g,酪氨酸8.9 g,谷氨酸2.1 g

** 添加剂预混料(每kg饲料):Fe 150 mg, Cu 3.2 mg, Zn 34.1 mg, Mn 13.0 mg, I 5.7 mg, Se 0.3 mg, Co 12.4 mg;维生素A 2 000.0 IU, 维生素D 2 000.0 IU, 维生素E 100.0 mg, 维生素K 10.0 mg, 维生素B₁ 5.0 mg, 维生素B₂ 10.0 mg, 烟酸100.0 mg, 维生素B₆ 10.0 mg, 泛酸钙40.0 mg, 叶酸5.0 mg, 维生素B₁₂ 0.02 mg, 生物素1.0 mg, 维生素C 300 mg

* Amino acid mixture(per kg diet): Arg 9.2 g, His 6.2 g, Ile 8.0 g, Leu 2.7 g, Lys 24.0 g, Met 6.2 g, Phe 5.0 g, Trp 2.6 g, Val 8.2 g, Cys 1.5 g, Ala 8.0 g, Gly 7.5 g, Asp 5.3 g, Pro 9.6 g, Tyr 8.9 g, Glu 2.1 g

** Additive premixture(per kg diet): Fe 150 mg, Cu 3.2 mg, Zn 34.1 mg, Mn 13.0 mg, I 5.7 mg, Se 0.3 mg, Co 12.4 mg; vitamin A 2 000.0 IU, vitamin D 2 000.0 IU, vitamin E 100.0 mg, vitamin K 10.0 mg, thiamine 5.0 mg, riboflavin 10.0 mg, nicotinic acid 100.0 mg, pyridoxine 10.0 mg, Ca-pantothenate 40.0 mg, folic acid 5.0 mg, cyanocobalamin 0.02 mg, biotin 1.0 mg, vitamin C 300 mg

表2 基础饲料氨基酸组成
Tab.2 Amino acid composition of the basal diet(dry mater)

必需氨基酸 Essential amino acid	含量/% Content	非必需氨基酸 Non-essential amino acid	含量/% Content
精氨酸 Arg	2.02	胱氨酸 Cys	0.38
组氨酸 His	1.09	丙氨酸 Ala	2.31
异亮氨酸 Ile	1.57	丝氨酸 Ser	1.01
亮氨酸 Leu	2.85	甘氨酸 Gly	2.65
赖氨酸 Lys	3.26	天门氨酸 Asp	3.43
蛋氨酸 Met	1.10	脯氨酸 Pro	2.34
苏氨酸 Thr	0.72	酪氨酸 Tyr	1.00
苯丙氨酸 Phe	1.87	谷氨酸 Glu	5.02
色氨酸 Trp	*		
缬氨酸 Val	1.82		

注:*表示未测定。
Note:*donates not determined.

1.2 实验鱼

实验鱼购自重庆北碚吴乐祥鱼种场,为当年草鱼鱼种,体质量(8.35 ± 0.06)g。购入鱼种用3%食盐溶液消毒后,选取体质健壮、规格整齐的个体,放入已经编号的网箱中。用药饵投喂3 d后用基础饲料进行10 d的驯养和驯饲,待实验鱼均能较好摄食后,进行正式实验。

1.3 饲养与管理

每种实验饲料投喂组设3个重复,每个重复30尾草鱼,饲养于 $1 \text{ m} \times 1 \text{ m} \times 1 \text{ m}$ 的小体积网箱中。网箱设置于面积为 1.33 hm^2 的池塘中(池中放养约200 kg的鲢、鳙鱼种)。每天投喂3次(8:00, 13:00, 16:00),日投饲量为鱼体质量的3%~4%,并随时根据水温和鱼体生长调整投饲量。饲养期60 d,饲养期间水温 $25 \sim 30^\circ\text{C}$, pH值 $6.2 \sim 7.2$,溶氧大于 5 mg/L ,氨氮小于 0.2 mg/L 。9:00~10:00提取水面下约30 cm处水样测定水质指标,每3天取样测定1次。

1.4 样品采集和分析

饲养实验前取15尾鱼作为初始样品。饲养实验结束后,以箱为单位计数草鱼数量并称总质量,计算增重率、特定增长率、饲料效率、蛋白质效率、蛋白质沉积率。每组随机取18尾鱼,其中6尾用于测定全鱼化学组成;6尾取背部两侧白肌后,再进行解剖,分离出肝脏,将肝脏和白肌样品放在 -20°C 冰箱保存备用;6尾取静脉血,在 3000 r/min 离心15 min后吸取上层血清备用。

饲料、全鱼和肌肉化学组成按AOAC的方法测定^[10]:干物质采用 105°C 干燥恒重法;蛋白质采用凯氏定氮法;粗脂肪采用索氏提取法;灰分采用马福炉 550°C 灼烧法。肌肉和基础饲料样品的氨基酸含量采用日立835-50型氨基酸分析仪测定。肌肉RNA、DNA的测定参照文献[11]的方法。血清生化指标采用半自动生化分析仪测定,其中血清总蛋白、甘油三酯、胆固醇浓度使用南京建成试剂盒采用终点法测定,血氨浓度使用中生北控试剂盒采用酶两点法测定。肝脏谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)活力的测定采用赖氏法^[12],谷氨酸脱氢酶(GDH)活力的

测定采用Bergmeyer的方法^[13]。

1.5 数据处理

所有实验数据均用平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示,经过单因素方差分析后,使用Duncan's多重比较分析数据之间的差异显著性,显著水平为 $P < 0.05$,所使用的统计软件为SPSS 11.0 for Windows。并对特定增长率、饲料系数、蛋白质沉积率、肌肉、RNA/DNA比值和肝脏GDH活力进行了折线回归分析。

2 结果与分析

2.1 饲料中苏氨酸水平对草鱼生长性能和饲料利用的影响

从表3可见,饲料中苏氨酸水平显著影响了草鱼的生长性能和饲料利用($P < 0.05$)。当饲料苏氨酸水平从0.72%增加至1.62%时,草鱼增重率、特定增长率、蛋白质效率和蛋白质沉积率逐渐增加,且在1.62%水平组达最大值;而饲料系数随苏氨酸水平的增加而逐渐降低,在1.62%水平组达最小值。饲料苏氨酸水平在1.62%~2.22%之间时,各组增重率、特定增长率、蛋白质效率、蛋白质沉积率和饲料系数均差异不显著($P > 0.05$)。

以饲料中苏氨酸水平为自变量(x),分别以特定增长率、饲料系数和蛋白质沉积率为因变量(y)进行折线回归分析(图1~图3)。得出特定增长率、饲料系数和蛋白质沉积率达最佳值时,饲料苏氨酸水平分别为1.72%、1.66%和1.61%;特定增长率、饲料系数和蛋白质沉积率达95%最佳值时,饲料苏氨酸水平分别为1.42%、1.52%和1.48%。

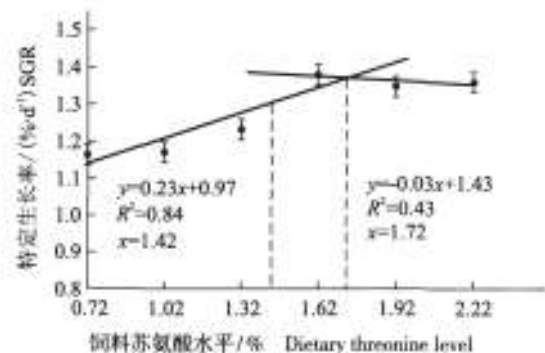


图1 饲料中苏氨酸水平对草鱼特定生长率的回归分析
Fig. 1 Regressive analysis between dietary threonine levels and specific growth rates of grass carp

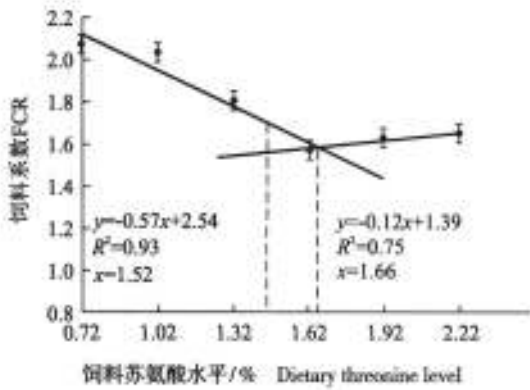


图2 饲料中苏氨酸水平对草鱼饲料系数的回归分析

Fig. 2 Regressive analysis between dietary threonine levels and feed conversion ratios of grass carp

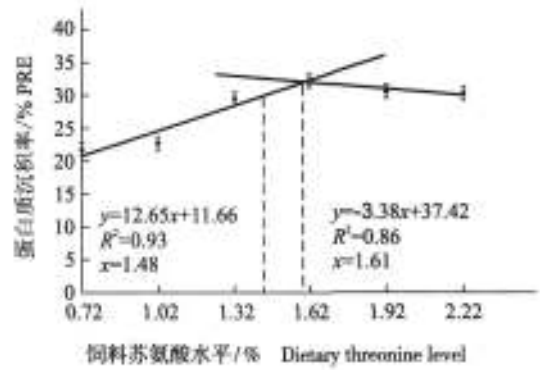


图3 饲料中苏氨酸水平对草鱼蛋白质沉积率的回归分析

Fig. 3 Regressive analysis between dietary threonine levels and protein retention efficiencies of grass carp

表3 饲料中苏氨酸水平对草鱼生长性能和饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of dietary threonine level on growth performance and feed utilization of grass carp n=3; $\bar{x} \pm SD$

项目 Item	苏氨酸水平/% Threonine level					
	0.72	1.02	1.32	1.62	1.92	2.22
初体质量/g IBW	8.22±0.13	8.24±0.10	8.63±0.11	8.37±0.18	8.33±0.16	8.31±0.15
末体质量/g FBW	18.67±0.32 ^b	18.90±0.05 ^b	20.59±0.51 ^b	22.10±0.34 ^a	21.46±0.13 ^a	21.39±0.40 ^a
增重率/% WG	127.45±6.81 ^b	128.57±5.49 ^b	138.51±2.75 ^b	164.24±5.03 ^a	157.75±3.87 ^a	160.38±11.9 ^a
特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	1.17±0.04 ^b	1.18±0.03 ^b	1.24±0.02 ^b	1.38±0.03 ^a	1.35±0.02 ^a	1.36±0.06 ^a
饲料系数 FCR	2.07±0.08 ^a	2.03±0.04 ^a	1.81±0.05 ^b	1.57±0.03 ^a	1.64±0.01 ^b	1.64±0.07 ^{ab}
蛋白质效率 PER	1.37±0.05 ^c	1.39±0.03 ^c	1.57±0.05 ^b	1.80±0.03 ^a	1.72±0.01 ^{ab}	1.73±0.08 ^{ab}
蛋白质沉积率/% PRE	21.73±0.74 ^a	22.66±0.36 ^a	29.30±0.88 ^b	32.17±0.61 ^a	30.45±0.12 ^{ab}	30.14±1.44 ^{ab}

注: 同行数据没有相同上标字母表示有显著性差异 (P<0.05)。增重率(%)=100×(末体质量-初体质量)/初体质量; 特定生长率/(%·d⁻¹)=100×(ln末体质量-ln初体质量)/饲养时间(d); 饲料系数=摄食量/(末体质量-初体质量); 蛋白质效率=(末体质量-初体质量)/蛋白质摄入量; 蛋白质沉积率(%)=100×蛋白质增加量/蛋白质摄入量。

Notes: Values in the same row marked with different superscripts are significantly different (P<0.05). WG (weight gain, %) = 100 × (FBW-IBW) / IBW; SGR (specific growth rate, %·d⁻¹) = 100 × (ln FBW - ln IBW) / culture days; FCR (feed conversion ratio) = feed intake / (FBW-IBW); PER (protein efficiency ratio) = (FBW-IBW) / protein intake; PRE (protein retention efficiency, %) = 100 × protein gain / protein intake.

2.2 饲料中苏氨酸水平对草鱼体营养组成的影响

从表4可见,随饲料苏氨酸水平的提高,草鱼全鱼水分呈显著下降趋势(P<0.05),其中1.62%和1.92%组显著低于其他各组;粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分在苏氨酸水平从0.72%上升到1.62%时呈增加趋势,从1.62%上升到2.22%时该3项指标不再发生

显著变化。随饲料苏氨酸水平的提高,草鱼肌肉水分也呈显著下降趋势,粗蛋白质也呈增加趋势,但粗脂肪在各个苏氨酸水平之间差异不显著(P>0.05),表明饲料苏氨酸适宜水平能降低草鱼全鱼水分,增加蛋白质、脂肪和灰分含量;同时降低草鱼肌肉水分,增加蛋白质含量,但不影响肌肉脂肪含量。

表4 饲料中苏氨酸水平对草鱼全鱼和肌肉营养组成的影响
Tab. 4 Effects of dietary threonine levels on chemical composition of whole body and muscle of grass carp

化学组成 Chemical composition	苏氨酸水平/% Threonine level					
	0.72	1.02	1.32	1.62	1.92	2.22
全鱼 Whole body						
水分 Moisture	76.01±0.05 ^a	75.64±0.04 ^a	74.47±0.02 ^b	73.52±0.51 ^c	73.08±0.36 ^c	74.48±0.24 ^d
粗蛋白质 Crude protein	13.97±0.49 ^b	13.69±0.52 ^b	15.47±0.17 ^a	15.71±0.21 ^a	15.31±0.25 ^a	15.19±0.17 ^a
粗脂肪 Crude lipid	7.38±0.17 ^c	7.61±0.34 ^c	7.73±0.25 ^{bc}	8.84±0.02 ^a	9.21±0.33 ^a	8.46±0.14 ^{cd}
灰分 Ash	2.83±0.06 ^b	2.92±0.04 ^b	2.98±0.03 ^{ab}	3.06±0.04 ^a	3.06±0.05 ^a	3.06±0.05 ^a
肌肉 Muscle						
水分 Moisture	81.90±0.02 ^a	80.89±0.07 ^{ab}	81.21±0.34 ^{ab}	80.81±0.15 ^{ab}	80.59±0.06 ^b	78.75±0.73 ^c
粗蛋白质 Crude protein	16.23±0.19 ^c	17.30±0.23 ^b	17.09±0.28 ^{bc}	17.85±0.26 ^b	17.68±0.69 ^b	19.16±0.18 ^a
粗脂肪 Crude lipid	0.91±0.06	1.12±0.25	1.04±0.17	0.91±0.03	0.89±0.18	1.11±0.11

注: 同行数据没有相同上标字母表示有显著性差异 ($P<0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.3 饲料中苏氨酸水平对草鱼肌肉氨基酸含量的影响

表5显示, 苏氨酸水平对草鱼肌肉组氨酸、蛋氨酸和苯丙氨酸含量无显著影响 ($P>0.05$), 但对其他14种氨基酸含量和氨基酸总量均有显著影响 ($P<0.05$).

饲料中苏氨酸水平为1.62%时, 肌肉苏氨酸含量、必需氨基酸总量、非必需氨基酸总量和氨基酸总量均为最大值, 其中肌肉苏氨酸含量和氨基酸总量显著高于其他各组 ($P<0.05$).

表5 饲料中苏氨酸水平对草鱼肌肉氨基酸含量的影响
Tab. 5 Effects of dietary threonine levels on amino acid composition in muscle of grass carp

氨基酸 Amino acid	苏氨酸水平/% Threonine level					
	0.72	1.02	1.32	1.62	1.92	2.22
苏氨酸 Thr	4.20±0.03 ^b	4.21±0.03 ^b	4.24±0.01 ^b	4.35±0.01 ^a	4.23±0.02 ^b	4.22±0.02 ^b
缬氨酸 Val	3.98±0.07 ^b	3.95±0.01 ^{ab}	4.11±0.01 ^{ab}	4.17±0.06 ^c	3.97±0.01 ^b	3.97±0.02 ^b
亮氨酸 Ile	3.32±0.08 ^b	3.53±0.06 ^{ab}	3.53±0.03 ^{ab}	3.56±0.09 ^c	3.42±0.01 ^{ab}	3.38±0.04 ^{ab}
异亮氨酸 Leu	6.96±0.13 ^c	6.99±0.09 ^{bc}	7.28±0.04 ^{bc}	7.69±0.17 ^a	7.43±0.05 ^{ab}	7.31±0.08 ^{bc}
苯丙氨酸 Phe	4.41±0.02	4.38±0.06	4.41±0.01	4.49±0.08	4.43±0.03	4.34±0.04
赖氨酸 Lys	7.75±0.14 ^{ab}	7.61±0.10 ^{ab}	8.03±0.01 ^a	7.99±0.01 ^{ab}	7.78±0.09 ^{ab}	7.70±0.04 ^b
组氨酸 His	5.85±0.12	5.78±0.15	5.84±0.01	5.68±0.09	5.66±0.03	5.58±0.09
精氨酸 Arg	5.47±0.06 ^b	5.40±0.05 ^b	5.61±0.08 ^{ab}	5.83±0.03 ^a	5.66±0.08 ^{ab}	5.62±0.16 ^{ab}
蛋氨酸 Met	1.82±0.24	1.76±0.20	1.55±0.01	1.73±0.03	1.77±0.16	1.74±0.01
胱氨酸 Cys	2.23±0.02 ^a	2.12±0.05 ^{ab}	2.17±0.01 ^{ab}	2.17±0.04 ^{ab}	2.11±0.04 ^{ab}	2.07±0.02 ^b
丙氨酸 Ala	4.67±0.05 ^a	4.75±0.01 ^{bc}	4.76±0.02 ^{bc}	4.99±0.09 ^c	4.84±0.01 ^{ab}	4.87±0.01 ^{ab}
丝氨酸 Ser	3.80±0.02 ^b	3.83±0.06 ^b	3.84±0.01 ^b	4.00±0.05 ^c	3.88±0.01 ^b	3.86±0.01 ^b
甘氨酸 Gly	3.84±0.05 ^b	3.96±0.06 ^{ab}	4.00±0.01 ^{ab}	4.08±0.05 ^c	4.05±0.07 ^c	4.08±0.06 ^c
天门冬氨酸 Asp	7.68±0.07 ^b	7.78±0.08 ^{ab}	8.03±0.06 ^a	8.00±0.03 ^a	7.91±0.10 ^{ab}	8.02±0.04 ^a
脯氨酸 Pro	2.09±0.05 ^b	2.29±0.01 ^a	2.31±0.01 ^a	2.43±0.07 ^a	2.42±0.04 ^a	2.42±0.06 ^a
酪氨酸 Tyr	3.98±0.02 ^b	4.06±0.01 ^a	4.12±0.01 ^a	4.14±0.03 ^a	4.02±0.01 ^b	4.02±0.04 ^b
谷氨酸 Glu	9.67±0.01 ^{bc}	9.58±0.05 ^{bc}	9.70±0.02 ^b	9.95±0.05 ^a	9.54±0.04 ^c	9.59±0.03 ^{bc}
Σ EAA	43.80±0.36 ^c	43.96±0.06 ^b	44.64±0.15 ^{ab}	45.52±0.30 ^a	44.38±0.27 ^b	43.89±0.44 ^b
Σ NEAA	37.98±0.28 ^c	38.46±0.31 ^{bc}	38.95±0.05 ^{ab}	39.8±0.27 ^a	38.81±0.21 ^b	38.96±0.21 ^{ab}
Σ TAA	81.79±0.64 ^c	82.42±0.23 ^b	83.60±0.11 ^b	85.34±0.57 ^a	83.21±0.06 ^{bc}	82.85±0.65 ^{bc}

注: Σ EAA: 总必需氨基酸; Σ NEAA: 总非必需氨基酸; Σ TAA: 总氨基酸。

同行数据不同上标字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Σ EAA: gross essential amino acid; Σ NEAA: gross non-essential amino acid; Σ TAA: gross amino acid.

Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.4 饲料中苏氨酸水平对草鱼肌肉RNA/DNA比率的影响

表6显示,饲料苏氨酸水平在0.72%~1.32%时,苏氨酸水平的升高对草鱼肌肉RNA含量无显著影

响($P>0.05$);当饲料苏氨酸水平达1.62%时肌肉RNA含量显著升高($P<0.05$)继续提高苏氨酸水平,RNA含量无显著变化($P>0.05$)。饲料苏氨酸水平对肌肉DNA含量无显著影响($P>0.05$)。

表6 饲料中苏氨酸水平对草鱼肌肉RNA/DNA的影响
Tab. 6 Effects of dietary threonine levels on muscle RNA/DNA ratios of grass carp

项目 Item	苏氨酸水平/% Threonine level					
	0.72	1.02	1.32	1.62	1.92	2.22
DNA/(mg·g ⁻¹)	1.71±0.11	1.74±0.06	1.69±0.09	1.73±0.06	1.76±0.06	1.78±0.10
RNA/(mg·g ⁻¹)	4.35±0.47 ^a	4.79±0.37 ^a	5.90±0.10 ^b	7.07±0.61 ^c	6.94±0.45 ^c	6.60±0.62 ^c
RNA/DNA	2.53±0.12 ^c	2.75±0.12 ^c	3.49±0.13 ^b	4.07±0.21 ^a	3.93±0.11 ^a	3.70±0.14 ^{ab}

注:同行数据没有相同上标字母表示有显著性差异($P<0.05$)。

Note: Values in the same row marked with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

以饲料中苏氨酸水平为自变量(x),草鱼肌肉中RNA/DNA比值为因变量(y)进行折线回归分析(图4)得出肌肉RNA/DNA比值达最佳值时,饲料苏氨酸水平为1.66%;肌肉RNA/DNA达95%最佳值时,饲料苏氨酸水平为1.54%。

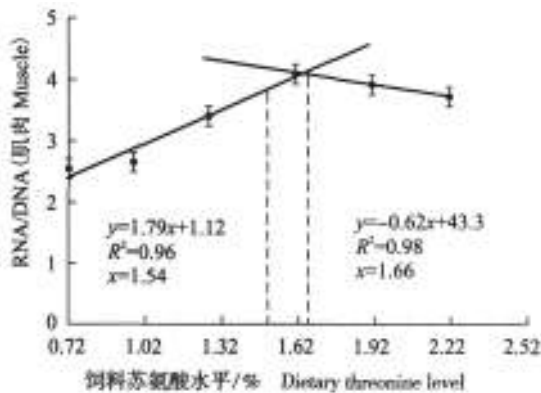


图4 饲料中苏氨酸水平对草鱼肌肉RNA/DNA的回归分析
Fig. 4 Regressive analysis between dietary threonine levels and muscle RNA/DNA ratios of grass carp

2.5 饲料中苏氨酸水平对草鱼血清和肝脏生化指标的影响

由表7可知 随饲料中苏氨酸水平的增加,草鱼血清总蛋白浓度显著升高,1.32%、1.62%和1.92% 3组显著高于0.72%和1.02%组($P<0.05$) 2.22%组达最大值,并显著高于其他各组($P<0.05$)。草鱼血清甘油三酯和胆固醇浓度在饲料苏氨酸水平为0.72%时最低,当饲料苏氨酸水平高于1.02%时,苏氨酸水平对草鱼血清

甘油三酯浓度和胆固醇浓度无显著影响($P>0.05$)。当饲料中苏氨酸水平从0.72%增加至1.62%时,草鱼血氨浓度显著提高($P<0.05$),饲料苏氨酸水平进一步增加至2.22%时,血氨浓度不再明显增加($P>0.05$)。

饲料中苏氨酸水平对草鱼肝脏ALT、AST活力无显著影响($P>0.05$),而对GDH活力有显著影响($P<0.05$)。随着饲料中苏氨酸水平的升高,肝脏GDH活力显著下降($P<0.05$),最小值出现在1.62%组;饲料苏氨酸水平为1.62%~2.22%时,各组肝脏GDH活力无显著差异($P>0.05$)。

以饲料中苏氨酸水平为自变量(x),草鱼肝脏中GDH活力为因变量(y)进行折线回归分析(图5)。得出肝脏GDH活力达最高值时,饲料苏氨酸水平为1.67%;肝脏GDH活力达95%最高值时,饲料苏氨酸水平为1.61%。

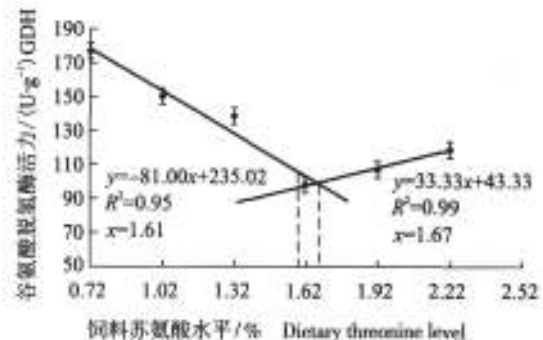


图5 饲料中苏氨酸水平对草鱼肝脏GDH活力的回归分析
Fig. 5 Regressive analysis between dietary threonine levels and liver glutamate dehydrogenase activities of grass carp

表7 饲料中苏氨酸水平对草鱼血清和肝脏生化指标的影响
Tab. 7 Effects of dietary threonine levels on biochemical parameters in serum and liver of grass carp $n=3; \bar{x} \pm SD$

指标 Indicator	苏氨酸水平/% Threonine level					
	0.72	1.02	1.32	1.62	1.92	2.22
血清 Serum						
总蛋白/($g \cdot L^{-1}$) Total protein	29.40±0.09 ^d	29.31±0.09 ^d	32.13±0.26 ^e	33.06±0.18 ^b	32.28±0.16 ^f	35.22±0.06 ^a
甘油三酯/($mmol \cdot L^{-1}$) Triglyceride	2.03±0.10 ^b	2.08±0.22 ^b	2.43±0.16 ^c	2.46±0.10 ^c	2.50±0.10 ^c	2.49±0.12 ^c
胆固醇/($mmol \cdot L^{-1}$) Cholesterol	5.52±0.06 ^b	6.32±0.14 ^a	6.42±0.42 ^a	6.71±0.20 ^c	6.46±0.18 ^c	6.51±0.24 ^a
血氨/($\mu mol \cdot L^{-1}$) Blood ammonia	356.5±9.5 ^d	515.3±10.6 ^c	889.2±61.45 ^b	1173.6±13.3 ^a	1295.7±32.6 ^a	1221.2±47.7 ^a
肝脏 Liver						
AST活力/($10^3 U \cdot g^{-1}$) ALT activity	25.58±1.77	23.91±1.02	26.86±1.13	19.19±1.17	21.31±1.60	23.64±1.05
ALT活力/($10^3 U \cdot g^{-1}$) AST activity	24.35±2.78	23.43±1.19	26.97±1.22	22.96±2.65	22.29±1.22	23.88±4.17
GDH活力/($U \cdot g^{-1}$) GDH activity	175.5±10.1 ^a	150.1±3.8 ^b	138.2±5.7 ^b	98.0±2.6 ^d	106.6±4.0 ^d	118.4±5.0 ^d

注: 同行数据不同上标字母表示显著性差异($P < 0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 鱼类必需氨基酸需要量的研究方法及评价指标

鱼类必需氨基酸需要量主要通过生长实验根据剂量-效应曲线测定^[3]采用的数学模型有折线模型和二次曲线模型等。实验选用的效应指标不同,需求量估算值可能就会产生差异^[14]。以往的研究报道中有3类常用的效应指标^[2,15-16]:1)生长性能指标,如特定生长率、增重率等;2)反映鱼类对饲料及其营养物质利用效率的指标,如饲料转化率、蛋白质效率等;3)体内蛋白质沉积指标,如全鱼蛋白质沉积率、肌肉蛋白质沉积量等。本实验通过对选取指标的显著性分析,认为肌肉RNA/DNA比值和肝脏GDH活力是最灵敏的指标;其次才是全鱼蛋白质沉积率、饲料利用效率和生长性能指标,且它们均符合折线回归模型。但若仅以某一类指标来确定苏氨酸的需要量显然不全面,因此本实验既采用3类常用指标,也采用了肌肉RNA/DNA比值和肝脏GDH活力指标对草鱼的生长及生理状况进行了综合评价。结果显示,以特定生长率、饲料系数和蛋白质沉积率为效应

指标确定的饲料中苏氨酸最适需要量分别为1.72%、1.66%和1.61%,差异不大;以肌肉RNA/DNA比值和肝脏GDH活力为指标确定的需要量分别为1.65%和1.67%,也在上述范围内,但肌肉RNA/DNA比值和GDH活力与饲料中苏氨酸水平的相关性比其他指标更好(图4、5),因此肌肉RNA/DNA比值和肝脏GDH活力可以作为在实验室条件下研究草鱼幼鱼苏氨酸需要量的效应指标。

Ogino^[17]对鲤和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)体蛋白中必需氨基酸的保留量进行了测定,并应用饲养14~28 d后鱼体必需氨基酸的增加量估计鱼对必需氨基酸的需要量。这种方法假定生长幼鱼的维持需要量低(虽然这种假设很难令人信服地解释只有30%~40%的氮被保留在体内这一事实),所以鱼体增重部分的氨基酸模式是鱼对氨基酸需求的主要决定因素。基于相近的假设,近年来不少学者通过测定鱼类肌肉氨基酸,根据其必需氨基酸模式直接估计鱼类对氨基酸的需求量^[18]。这2种方法具有实验过程简捷、可同时评估多种必需氨基酸需要量的优点,但较少考虑必需氨基酸在鱼体内的生理代谢过程。无论采用

何种方法研究鱼类的必需氨基酸需要量,其主要目的均是以研究数据指导饲料配制,并通过饲料在提高养殖生产效率中得到体现。因此通过生长实验,选用适宜的效应指标综合评价确定的鱼类必需氨基酸需要量,也许更接近于养殖生产的实际要求。

3.2 饲料苏氨酸水平对草鱼生长性能、饲料利用和部分生理指标的影响

根据氨基酸平衡理论,必需氨基酸的平衡有助于提高饲料氨基酸的消化、吸收和利用,提高蛋白质的营养价值,促进动物的生长和饲料的利用。本实验结果表明,饲料中适宜的苏氨酸水平能够提高全鱼和肌肉蛋白质的含量,降低水分含量。这些结果是饲料苏氨酸平衡程度的营养效应,符合氨基酸平衡理论。随着苏氨酸水平增加至需要量水平,草鱼肌肉中苏氨酸含量和氨基酸总量显著升高,在1.62%组达最大值,说明该组饲料氨基酸得以平衡,更多的苏氨酸用于合成肌肉蛋白质;在达到适宜水平后,肌肉中苏氨酸含量呈下降趋势,提示过多的苏氨酸氧化分解。

鱼类个体的生长实质上是通过蛋白质合成来实现的。在蛋白质合成过程中,信使RNA和转运RNA是重要的参与者,RNA的浓度是生物生长率的敏感指标,而DNA的浓度是体现细胞数目的指标。鱼体肌肉中RNA/DNA比值是一个精确地反映鱼类代谢活动和生长状况的指标^[19]。本实验中饲料苏氨酸水平不影响DNA的浓度(肌肉细胞的数目),但苏氨酸水平的升高使肌肉RNA的含量以及肌肉RNA/DNA比值都显著上升,这意味着饲料苏氨酸水平的升高提高了肌肉蛋白质合成的速度^[20]。

GDH和转氨酶的联合脱氨基作用是肝脏氨基酸分解代谢的主要途径,饲料中适宜苏氨酸水平可以间接地抑制GDH的活性而使肝脏氨基酸分解代谢减慢,使蛋白质合成增多^[21]。本实验证实了这一点。氨是鱼类蛋白质在肝脏和肾脏通过氨基酸的脱氨基作用而产生的主要代谢终产物,血浆中氨浓度与饲料中蛋白质和氨基酸含量及比例密切相关。实验中随着饲料苏氨酸水平提高,血氨浓度显著升高;当苏氨酸水平达到一定值后,血氨浓度稳定。根据罗莉

等^[22]的研究结果,饲料氨基酸平衡时,蛋白质周转加快,草鱼鱼体蛋白质合成速率和分解速率均提高,而合成速率的增加高于分解速率,使合成与分解差值增大,促进生长。另外,Berge等^[23]证明饲料氨基酸的平衡可增强蛋白质分解代谢,促使血氨浓度升高。本实验结果与上述报道相符。

3.3 草鱼苏氨酸需要量及其与其他鱼类的比较

Zietoun等^[14]认为,在确定鱼的必需氨基酸需要量时,根据效应指标达到的最佳值确定的需要量似乎被过高地估计,因此动物营养研究中常用达到效应指标最佳值的90%~98%来确定营养物质的需要量,通常采用95%^[24]。虹鳟的赖氨酸、色氨酸、组氨酸、缬氨酸和蛋氨酸需要量^[25-26]、罗非鱼的精氨酸需要量^[27]以及稚鳖的赖氨酸和蛋氨酸^[28-29]需要量即是根据最大增重的95%确定的。分析本实验结果,根据95%最佳特定生长率和蛋白质沉积率确定的苏氨酸需要量分别为1.42%和1.48%;与根据最佳特定生长率和蛋白质沉积率确定的苏氨酸需要量相比分别下降了17.3%和12.6%,下降幅度较大。因此笔者认为采用效应指标的95%最佳值确定草鱼苏氨酸需要量是经济可行的。

以特定生长率、饲料系数、蛋白质沉积率、肌肉RNA/DNA比值和GDH活力为指标,并以达到这些指标95%最佳值时苏氨酸的需要量作为草鱼幼鱼苏氨酸的需要量,得出草鱼幼鱼苏氨酸的需要量以占饲料的质量分数计为1.42%~1.61%。而以占饲料蛋白质的质量分数计为4.07%~4.60%,这一范围与鲤科鱼类如鲤、南亚野鲮(*Catla catla*)、印鲮(*Cirrhinus mrigala*)和虱目鱼(*Chanos chanos*)的3.9%~4.5%相近^[3,15,30-31],高于鲑科鱼类如大鳞大马哈鱼、大马哈鱼和银大马哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)等的2.0%~3.4%^[3],亦高于鲈形目鱼类如尼罗罗非鱼、莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)、舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)、条纹石鲈(*Morone saxatilis*)和拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)等的2.28%~3.75%^[1-3,32]。导致苏氨酸需求量差异较大的因素很多,除了鱼类的种类外,还有年龄、规格、养殖条件和统计方法等,这些影响因素有待进一步研究。

4 结论

(1) 肌肉RNA/DNA比值和肝脏GDH活力可以作为实验室条件下研究草鱼幼鱼苏氨酸需要量的效应指标之一。

(2) 以特定生长率、饲料系数、蛋白质沉积率、肌肉RNA/DNA比值和GDH活力为评价指标,并以这些指标达95%最佳值时为判断依据,得出草鱼幼鱼苏氨酸的需要量以占饲料质量分数计为1.42%~1.61%(饲料蛋白质含量为35%),以占饲料蛋白质质量分数计为4.07%~4.60%。

参考文献:

- [1] Tibaldi E, Tulli F, Corsin F. Current estimates of the essential amino acid requirements of sea bass (*D. labrax*) as determined by unconventional (empirical) methods [C]. // The International Workshop on Seabass and Seabream Culture: Problems and Prospects, Verona, Italy, 1996: 320-323.
- [2] Tibaldi E, Tulli F. Dietary threonine requirement of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 1999, 175: 155-166.
- [3] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish [M]. Washington, DC, USA: National Academy Press, 1993: 12-19.
- [4] 黄更生, 李贵生, 周黎华. 草鱼生长阶段对赖氨酸需要量的研究 [J]. 生态科学, 2003, 22(2): 147-149.
- [5] Wang S, Liu Y, Tian L. Quantitative dietary lysine requirement of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. Aquaculture, 2005, 249: 419-429.
- [6] 王胜. 草鱼幼鱼对蛋白质和主要必需氨基酸需求的研究 [D]. 广州: 中山大学, 2006: 35-78.
- [7] 刘珂珂, 王华朗. 草鱼饲料与营养需求研究进展 [J]. 广东饲料, 2008, 17(3): 36-38.
- [8] Lin D. Grass carp, *Ctenopharyngodon idella* [M]. // Wilson R P Handbook of Nutrient Requirement of Finfish. Boca Raton, FL: CRC Press, 1991: 89-96.
- [9] Wilson R P, Harding D E, Garling DL Jr. Effect of dietary pH on amino acid utilization and the lysine requirement of fingerling channel catfish [J]. J Nutr, 1977, 107: 166-170.
- [10] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of Analysis [M]. 14th ed, AOAC, Arlington, VA, 1984.
- [11] 齐治家. 生物化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 159-177.
- [12] 郭晓英, 孙迎春, 孙贵范. 氟化物对原代培养大鼠肝细胞酶活力及超微结构的影响 [J]. 卫生研究, 2005, 34(1): 35-37.
- [13] Bergmeyer H U. Methods of Enzymatic Analysis [M]. New York: Academic Press, 1974: 1704-1708.
- [14] Zeitoun I H, Ullrey D E, Magee W T, et al. Quantifying nutrient requirements of fish [J]. J Fish Res Board Can, 1976, 33: 167-172.
- [15] Ahmed I, Khan M A, Jafri A K. Dietary threonine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. Aquac Res, 2004, 35: 162-170.
- [16] Ahmed I. Dietary amino acid L- threonine requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) estimated by growth and biochemical parameters [J]. Aquac Int, 2007, 143: 65-74.
- [17] Ogino C. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids [J]. Bull Jpn Soc Sci Fish, 1980, 46: 171-175.
- [18] 王武. 鱼类增养殖学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 142-145.
- [19] 赵振山, 林可椒, 张益明, 等. 用RNA/DNA比值评定鲤鱼的生长及其配合饲料的营养价值 [J]. 水产学报, 1994, 18(4): 257-264.
- [20] Hitomi Y, Yoshia A. Increase in the level of skeletal muscle alpha-actin mRNA in rats fed a non protein diet supplemented with cystine and threonine [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1993, 57(1): 158-159.
- [21] 梁之彦. 生理生化 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 155-156.
- [22] 罗莉, 叶元土, 林仕梅, 等. 日粮必需氨基酸模式对草鱼生长及蛋白质周转的影响 [J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 278-282.
- [23] Berge G E, Sveier H, Lied E. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): the requirement and metabolic effect of lysine [J]. Comp Biochem Physiol, 1998, 120(3): 477-485.
- [24] National Research Council. Nutrients requirement of Swine [M]. NW, Washington D C: National Academy Press, 1998: 19-30.
- [25] Rodehutsord M, Becket A, Pack E, et al. Response of rainbow trout to supplements of individual essential amino acid in a purified diet, Including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids [J]. J Nutr, 1997, 127: 1166-1175.
- [26] Murkus R, Stephan J, Micheal P, et al. Response of rainbow trout growing from 50-150 g to supplements of DL- methionine in purified diet containing low or high levels of cystine [J]. J Nutr, 1995, 125: 964-968.
- [27] Santiago C B. Amino acid requirement of Nile tilapia [D]. Alabama: Auburn University, 1985: 1-80.
- [28] 周小秋, 杨凤, 周安国, 等. 稚鳖赖氨酸营养的需要量 [J]. 水产学报, 2001, 25(5): 454-460.
- [29] 周小秋, 杨凤, 周安国, 等. 稚鳖蛋氨酸营养的需要量 [J]. 水生生物学报, 2003, 27(1): 69-74.
- [30] Ravi J, Devaraj K V. Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton) [J]. Aquaculture, 1991, 96: 281-291.
- [31] Borlongan I G, Coloso R M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids [J]. J Nutr, 1993, 123: 125-132.
- [32] Akiyama T, Arai S. Amino acid requirements of chum salmon fry and supplementation of amino acids to diet [C]. // Proceedings of the Twentieth US- Japan Symposium on Aquaculture Nutrition, 1993: 35-48.

Determination of dietary threonine requirement for juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella*

WEN Hua¹, GAO Wen², LUO Li², SHANG Xiao-di², HE Song-wei², ZHONG Li-qiao², LI Fei²

(1. Key Laboratory of Freshwater Ecology and Aquaculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000, China ;2. Department of Fishery Science, College of Animal Science and Technology of Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: This experiment was conducted to determine the dietary threonine requirement for juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by formulating six isonitrogenous diets (35% protein) containing threonine increasing levels of 0.72%, 1.02%, 1.32%, 1.62%, 1.92% and 2.22%, respectively. Casein-gelatin-zein meal and crystalline amino acid mixture were used as dietary protein source. The dietary amino acid pattern, except for threonine, was applied to the amino acid pattern of the whole body protein of juvenile grass carp. Each experimental diet was fed to triplicate groups of 30 juvenile grass carp with initial body weight (8.35 ± 0.06) g in freshwater floating net cages (1.0 m × 1.0 m × 1.0 m) for 60 d. The result showed that with the increase of dietary threonine levels, the weight gains (WG), specific growth rates (SGR), protein efficiency ratios (PER), protein retention efficiencies (PRE), RNA/DNA ratios in muscle, and blood ammonia contents of the fish increased significantly ($P < 0.05$), which reached their peaks in the 1.62% group, whereas the feed conversion ratios (FCR) and glutamate dehydrogenase (GDH) activities in liver decreased significantly ($P < 0.05$), which reached the lowest values in the same group, and all of these indices became stable thereafter ($P > 0.05$). Serum total protein increased significantly with the increase of dietary threonine levels ($P < 0.05$), with those of the three groups fed the diets supplemented with 1.32%, 1.62%, and 1.92% dietary threonine significantly higher than the groups fed the diets supplemented with 0.72% and 1.02% dietary threonine ($P < 0.05$), and serum total protein of the group fed the diet with 2.22% dietary threonine was significantly higher than those fed other diets ($P < 0.05$). Serum triglyceride and cholesterol contents of the four groups fed the diets with 1.32%- 2.22% dietary threonine were significantly higher than those fed the diets with 0.72% and 1.02% dietary threonine ($P < 0.05$), but among the formers, no significant difference was found ($P > 0.05$). Fish fed the diet with 1.62% dietary threonine had significantly higher threonine content and gross amino acid content in muscle than those fed the other diets ($P < 0.05$). Dietary threonine levels had no significant effect on the alanine amino transferase (ALT) and aspartate amino transferase (AST) activities in liver of fish ($P > 0.05$). Increasing dietary threonine levels could reduce moisture content and improve protein content in whole-body and muscle of fish, improve lipid and ash content in whole-body, but not affect lipid content in muscle. The broken-line regress analysis of SGRs, FCRs, PERs, RNA/DNA ratios and GDHs against dietary threonine levels indicated that the optimal requirement of dietary threonine for juvenile grass carp was 1.42%- 1.61% (of diet with 35% protein) or 4.07%- 4.60% of diet protein. [Journal of Fishery Sciences of China 2009, 16(2):238-247]

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; juvenile; threonine; requirement; efficiency

Corresponding author: LUO Li. E-mail: ludli1972@163.com