

饲料中添加蛋氨酸寡肽对大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)生长、饲料利用和蛋白质代谢反应的影响*

马俊 魏泽宏 邢淑娟 依丽娜 徐玮
周慧慧 张文兵^① 麦康森

(水产动物营养与饲料农业部重点实验室 海水养殖教育部重点实验室 中国海洋大学水产学院 青岛 266003)

摘要 为研究饲料中添加蛋氨酸寡肽(OMet)对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)幼鱼生长、饲料利用和蛋白质代谢反应的影响,并与在饲料中添加等量的晶体蛋氨酸(CMet)的效果相比,实验以初始体重为(26.0±1.6) g的大黄鱼幼鱼为研究对象,以鱼粉和豆粕为主要蛋白源,设计1个低鱼粉(31.8%)对照饲料(LF)。在LF的基础上分别添加0.35%、0.65%和0.95%的晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽,配制其他6组饲料,并分别命名为CMet 0.35、CMet 0.65、CMet 0.95、OMet 0.35、OMet 0.65和OMet 0.95,养殖周期为8周。结果显示,与LF组相比,OMet组和CMet组大黄鱼的增重率均显著升高,并随着蛋氨酸水平的增加而显著提高($P<0.05$),其中,OMet 0.95组的增重率最高。与CMet组相比,OMet组大黄鱼的增重率和蛋白质效率均显著提高($P<0.05$)。不同饲料处理对大黄鱼存活率、饲料系数、体组成(粗蛋白、粗脂肪、灰分和水分)、脏体比和肥满度没有显著影响($P>0.05$)。OMet组大黄鱼的肝体比较CMet组显著降低($P<0.05$)。饲料中添加晶体或蛋氨酸寡肽显著影响了大黄鱼幼鱼的肝脏谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力,OMet组大黄鱼肝脏中这两种酶的活力均显著高于CMet组的($P<0.05$),蛋氨酸添加水平对大黄鱼肝脏谷草转氨酶活力也有显著影响($P<0.05$)。但各饲料处理组之间血清中的血氨浓度和尿素氮含量没有显著差异($P>0.05$)。综上所述,等量添加蛋氨酸寡肽比晶体蛋氨酸更能促进大黄鱼幼鱼的生长及其对饲料的利用。

关键词 蛋氨酸寡肽;晶体蛋氨酸;大黄鱼;生长;饲料利用

中图分类号 S963.7 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)03-0126-08

大黄鱼(*Larimichthys crocea*)属鲈形目(Perciformes),石首鱼科(Sciaenidae),黄鱼属(*Larimichthys*),是我国传统“四大海产”之一。其营养价值高,肉质鲜美,为我国近海主要养殖鱼类。目前,大黄鱼养殖主要采用传统的网箱养殖,其养成阶段以投喂冰冻鲜杂鱼为主或辅以配合饲料。但是,鲜杂鱼饵料极易流失,不仅导致饲料系数过高而浪费资源,而且会造成水环境

污染,诱发疾病(张彩兰等,2002)。随着颗粒饲料的推广,海水养殖对鱼粉的需求量也日益增加。寻求廉价高效的鱼粉替代蛋白源已成为大黄鱼等海水鱼配合饲料开发亟待解决的问题。

豆粕类与其他植物蛋白源相比,氨基酸组成较好,消化吸收率高(唐晓亮等,2010),但因其蛋氨酸和赖氨酸含量低,限制了其在饲料中的使用(熊本海等,

* 国家自然科学基金项目(31372542)资助。马俊, E-mail: majun200801@163.com

① 通讯作者: 张文兵, 教授, E-mail: wzhang@ouc.edu.cn

收稿日期: 2015-05-19, 收修改稿日期: 2015-06-09

2014)。目前, 主要以添加晶体氨基酸的方式补充替代鱼粉饲料中的必需氨基酸。已有研究表明, 饲料中添加晶体氨基酸普遍在鲑鳟鱼类饲料中有效(Yamamoto *et al.*, 2005; Rodehutsord *et al.*, 2000), 而在斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*) (Robinson, 1991; Li *et al.*, 1998) 和鲤鱼(*Cyprinus carpio*) (Viola *et al.*, 1991)等的研究中结论并不一致。导致晶体氨基酸利用率低的原因主要是其在水中易溶失(刘永坚等, 2002), 以及与饲料中蛋白质结合态氨基酸的吸收利用不同步等(冷向军等, 2007)。寡肽与晶体氨基酸相比, 随着肽链的延长, 其在水中的溶失率下降, 延缓了消化吸收速率, 从而有望替代晶体氨基酸成为一种新型、高效的外源氨基酸来源。国内外对于寡肽在水产动物饲料应用方面的研究较少, 且多集中在动植物蛋白水解肽上。本研究以酶法合成的蛋氨酸寡肽为蛋氨酸源, 比较豆粕替代鱼粉饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼幼鱼生长、饲料利用和蛋白质代谢反应的影响, 为蛋氨酸寡肽在大黄鱼配合饲料中的应用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验设计

以鱼粉、豆粕为主要蛋白源, 鱼油、豆油、大豆卵磷脂为主要脂肪源, 配制7种等氮等脂的饲料, 每个处理组3个重复。设计1个低鱼粉(31.8%)对照组(LF)。在LF的基础上分别添加0.35%、0.65%和0.95%的晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽, 配制其他6组饲料, 并分别命名为CMet 0.35、CMet 0.65、CMet 0.95、OMet 0.35、OMet 0.65和OMet 0.95。饲料配方和常规成分分析见表1, 饲料氨基酸组成分析见表2。根据专利技术制备蛋氨酸寡肽(专利号为ZL 201110330500.8), 由质谱测定蛋氨酸寡肽中不同聚合度肽的分子量。结果显示, 蛋氨酸寡肽为蛋氨酸2肽、3肽、4肽、5肽、6肽、7肽和8肽的混合物。在饲料制作过程中, 原料粉碎后经80目过筛, 按照饲料配方混合后加入鱼油、豆油和大豆卵磷脂揉匀, 然后加入适量水混合均匀, 用F(II)-26型双螺杆挤条机(华南理工大学, 广州)加工成颗粒饲料(3 mm×3 mm), 最后用鼓风烘箱(55℃)烘干至水分含量10%以下, 储存于-20℃冰箱中备用。

1.2 实验鱼及饲养管理

实验于2013年9月2日-11月11日在宁波象山西沪港进行, 实验用大黄鱼购自浙江省宁波市象山港

湾水产苗种有限公司。正式实验前, 所有大黄鱼均置于3.0 m×3.0 m×3.0 m的网箱中暂养2周, 挑选规格相同、体格健壮的大黄鱼随机分配到21个1.5 m×1.5 m×2.0 m的网箱中进行养殖实验, 每个网箱放养50尾。大黄鱼初始平均体重为(26.0±1.6) g, 每天分别于05:30和17:30饱食投喂1次。养殖周期为8周, 养殖过程中的死鱼均计数并称重。养殖期间海水温度为24-31℃, 盐度24-29, pH为7.1-7.4, 溶解氧不低于6 mg/L。

1.3 样品收集和分析

正式养殖实验开始时, 从实验鱼中随机挑选6尾, 置于-20℃冰箱中保存, 用于全鱼体常规分析。养殖实验8周后, 所有实验鱼饥饿24 h, 然后计数, 称重。每个网箱随机取3尾鱼, 于-20℃冰箱中保存, 用于全鱼体常规分析。每个网箱随机取3尾鱼, 测量体长、体重、肝重、内脏重, 用于计算肥满度(CF)、肝体比(HSI)和脏体比(VSI)。每个网箱随机取8尾鱼, 进行尾静脉取血, 其中, 6尾鱼取血后立即解剖取肝脏, 保存于液氮中, 用于肝脏谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)活力测定。血液在4℃冰箱中静置12 h后, 3000 r/min离心10 min, 得到的血清置于液氮中保存, 用于血清中血氨、尿素氮含量的测定。

全鱼和饲料中常规成分的测定采用AOAC (2012)的标准方法。血氨、尿素氮、肝脏GOT活力和GPT活力采用专业试剂盒测定。大黄鱼饲料中的氨基酸组成采用日立L-8900型全自动氨基酸分析仪测定。

1.4 计算及统计方法

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=100×(终末体重-初始体重)/初始体重

存活率(Survival rate, SR, %)=100×终末实验鱼数量/初始实验鱼数量

摄食率(Feed intake, FI, %)=100×总摄食量/[(终末体重+初始体重)/2]/天数

饲料系数(Feed conversion ratio, FCR)=摄食量/(终末体重-初始体重)

蛋白质效率(Protein efficiency ratio, PER)=鱼体增重量/摄入蛋白

肝体比(Hepatosomatic index, HSI, %)=(肝脏重量/终末体重)×100

脏体比(Viscerosomatic index, VSI, %)=(内脏重量/终末体重)×100

肥满度(Condition factor, CF)=(终末体重/鱼体体长³)×100

表1 饲料配方及营养成分分析
Tab.1 Ingredients and proximate composition of the experimental diets (% dry matter)

成分 Ingredients	饲料组 Diets						
	LF	CMet 0.35	CMet 0.65	CMet 0.95	OMet 0.35	OMet 0.65	OMet 0.95
鱼粉 Fish meal	31.80	31.80	31.80	31.80	31.80	31.80	31.80
豆粕 Soybean meal	25.60	25.60	25.60	25.60	25.60	25.60	25.60
小麦淀粉 Wheat starch	20.78	20.78	20.78	20.78	20.78	20.78	20.78
啤酒酵母 Beer yeast	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
鱼油 Fish oil	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
豆油 Soybean oil	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81	0.81
卵磷脂 Lecithin	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
混合氨基酸 Amino acids premix ¹	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91
多维预混料 Vitamin premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
多矿预混料 Mineral premix ³	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
防霉剂 Mold inhibitor ⁵	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
复合诱食剂 Attractant ⁴	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
晶体蛋氨酸 CMet	0	0.35	0.65	0.95	0	0	0
蛋氨酸寡肽 OMet	0	0	0	0	0.35	0.65	0.95
丙氨酸 DL-Alanine	0.95	0.60	0.30	0.00	0.60	0.30	0.00
营养成分分析 Proximate composition							
粗蛋白 Crude protein	45.94	45.27	45.15	44.94	45.23	45.50	45.25
粗脂肪 Crude lipid	13.42	13.47	13.24	13.43	13.47	13.59	13.34
水分 Moisture	3.21	3.13	2.88	3.33	3.01	2.83	2.87

1. 混合氨基酸(%饲料): 以 45%大黄鱼鱼体氨基酸为标准, 平衡各处理组的必需氨基酸(蛋氨酸除外). 混合氨基酸成分如下: 精氨酸 1.24; 组氨酸 0.15; 异亮氨酸 0.31; 亮氨酸 0.71; 赖氨酸 0.77; 苯丙氨酸 0.10; 缬氨酸 0.31; 苏氨酸 0.25; 半胱氨酸 0.06. 2. 多维预混料(mg or g/kg 饲料): 维生素 B₁, 25 mg; 核黄素, 45 mg; 维生素 B₆, 20 mg; 维生素 B₁₂, 10 mg; 维生素 K₃, 10 mg; 肌醇, 800 mg; 泛酸钙, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 叶酸, 20 mg; 生物素, 60 mg; 维生素 A, 32 mg; 维生素 D₃, 5 mg; 维生素 E, 240 mg; 维生素 C, 2000 mg; 氯化胆碱, 4000 mg; 微晶纤维素, 12.47 g. 3. 多矿预混料(mg or g/kg 饲料)亚硒酸钠 20 mg; 碘酸钙, 60 mg; 氯化钴(1%), 50 mg; 五水硫酸铜, 10 mg; 硫酸亚铁, 80 mg; 硫酸锌, 50 mg; 硫酸锰, 45 mg; 硫酸镁, 1200 mg; 磷酸二氢钙, 10 g; 沸石粉, 8.49 g. 4. 诱食剂: 甜菜碱: 甘氨酸=1 : 1. 5. 防霉剂: 丙酸钙: 富马酸=1 : 1

1. Amino acids premix (% diet): arginine, 1.24; histidine, 0.15; isoleucine, 0.34; leucine, 0.71; lysine 0.77; phenylalanine, 0.10; valine, 0.31; threonine, 0.25; cysteine, 0.06. 2. Vitamin premix (mg or g/kg diet): thiamin, 25 mg; riboflavin, 45 mg; pyridoxine-HCl, 20 mg; vitaminB₁₂, 10 mg; inositol, 800 mg; pantothenic acid, 60 mg; niacin acid, 200 mg; folic acid, 20 mg; biotin, 60 mg; retinolacetate, 32 mg; cholecalciferol, 5 mg; alpha-tocopherol, 240 mg; ascorbic acid, 2000 mg; choline chloride, 4000 mg; microcrystalline cellulose, 12.47 g. 3. Mineral premix (mg or g/kg diet): Na₂SeO₃, 20 mg; Ca(IO₃)₂, 60 mg; CoCl₂ (1%), 50 mg; CuSO₄·5H₂O, 10 mg; FeSO₄·H₂O, 80 mg; ZnSO₄·H₂O, 50 mg; MnSO₄·H₂O, 45 mg; MgSO₄·7H₂O, 1200 mg; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 10 g; Zoelite, 8.49 g. 4. Attractant: betaine:glycine=1 : 1. 5. Mold inhibitor: calcium propionate: fumaric acid=1 : 1

计算方法中体重和摄食量单位均为 g, 体长单位为 cm。所得实验数据采用平均值±标准差(Mean±SD)表示, 采用 SPSS17.0 软件进行双因素方差分析(2×3, Two-way ANOVA), 差异显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 生长、存活和饲料利用

饲料中添加的蛋氨酸源和蛋氨酸水平对大黄鱼

幼鱼的增重率均有显著影响($P < 0.05$) (表 3)。饲料中添加蛋氨酸寡肽组大黄鱼的增重率显著高于添加晶体蛋氨酸组($P < 0.05$)。与低鱼粉对照组相比较, 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽均提高了大黄鱼的增重率, 且随着添加蛋氨酸水平的升高, 大黄鱼幼鱼的增重率显著升高($P < 0.05$), 其中, OMet 0.95 组大黄鱼幼鱼增重率最高。饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼幼鱼的存活率没有显著影响($P > 0.05$)。

表 2 实验饲料氨基酸组成分析
Tab.2 Amino acid composition of the experimental diets (% , dry matter)

氨基酸 Amino acids	饲料组 Diets						
	LF	CMet 0.35	CMet 0.65	CMet 0.95	OMet 0.35	OMet 0.65	OMet 0.95
精氨酸 Arg	3.58	3.45	3.65	3.49	3.52	3.52	3.53
组氨酸 His	1.31	1.23	1.21	1.22	1.30	1.28	1.26
异亮氨酸 Ile	1.67	1.74	1.78	1.76	1.81	1.69	1.73
亮氨酸 Leu	3.54	3.59	3.48	2.52	3.61	3.62	3.55
赖氨酸 Lys	3.54	3.54	3.49	3.51	3.55	3.46	3.50
蛋氨酸 Met	0.78	1.13	1.41	1.73	1.12	1.42	1.72
苯丙氨酸 Phe	1.76	1.67	1.66	1.81	1.75	1.72	1.77
苏氨酸 Thr	1.79	1.88	1.91	1.83	1.97	1.87	1.90
缬氨酸 Val	1.88	1.97	1.96	1.89	1.95	2.01	1.96
天冬氨酸 Asp	3.85	3.92	3.86	3.87	3.91	3.79	3.88
丝氨酸 Ser	1.75	1.78	1.76	1.68	1.83	1.75	1.78
甘氨酸 Gly	1.90	1.89	1.96	1.94	1.86	1.93	1.97
丙氨酸 Ala	3.01	2.80	2.41	2.12	2.75	2.60	2.08
胱氨酸 Cys	0.19	0.20	0.18	0.21	0.18	0.21	0.19
酪氨酸 Tyr	1.35	1.38	1.35	1.37	1.41	1.28	1.30
谷氨酸 Glu	5.77	5.78	5.68	5.82	5.80	5.76	5.72

注：采用日立 L-8900 氨基酸分析仪检测氨基酸

Note: The amino acid compositions were analyzed with Automatic Amino Acid Analyzer (L-8900 Hitachi-hitech, Japan)

表 3 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼生长性能和饲料利用的影响
Tab.3 Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on the growth performance and feed utilization of large yellow croakers (Means±SD, n=3)

蛋氨酸源 Met sources	蛋氨酸水平 Met levels (%)	初始体重 IBW (g)	终末体重 FBW (g)	存活率 SR (%)	增重率 WGR (%)	饲料系数 FCR	蛋白质效率 PER
对照组 LF	0	26.0±1.6	44.59±4.73	75.33±11.021	71.50±18.18	1.83±0.22	0.81±0.21
晶体蛋氨酸 CMet	0.35	26.0±1.6	49.99±2.05	60.67±35.23	92.26±7.89	1.45±0.10	1.27±0.17
	0.65	26.0±1.6	50.58±1.53	56.00±17.44	94.54±5.91	1.66±0.30	1.09±0.16
	0.95	26.0±1.6	56.35±3.66	83.33±8.33	116.73±14.09	1.30±0.13	1.42±0.14
蛋氨酸寡肽 OMet	0.35	26.0±1.6	51.28±3.26	74.67±9.45	97.23±12.56	1.57±0.27	1.28±0.32
	0.65	26.0±1.6	57.87±2.33	75.33±7.02	122.58±8.98	1.21±0.15	1.57±0.27
	0.95	26.0±1.6	61.85±1.73	86.67±11.02	137.86±6.66	1.22±0.03	1.72±0.11
蛋氨酸源 Source	CMet	26.0±1.6	52.30±3.78 ^a	66.67±23.75	101.17±14.52 ^a	1.47±0.23	1.26±0.20 ^a
	OMet	26.0±1.6	57.00±5.11 ^b	78.89±9.96	119.22±19.66 ^b	1.34±0.23	1.52±0.29 ^b
蛋氨酸水平 Level	0	26.0±1.6	44.59±4.73 ^a	75.33±11.02	71.50±18.18 ^a	1.83±0.23	0.81±0.21
	0.35	26.0±1.6	50.63±6.38 ^b	67.70±28.93	94.74±24.52 ^b	1.51±0.39	1.28±0.42
	0.65	26.0±1.6	54.22±4.20 ^{bc}	65.67±12.44	108.56±16.17 ^{bc}	1.44±0.11	1.33±0.20
	0.95	26.0±1.6	59.08±5.08 ^c	85.01±4.08	127.29±19.54 ^c	1.26±0.15	1.57±0.20
蛋氨酸源 Source			0.005	0.168	0.005	0.112	0.018
蛋氨酸水平 Level			0.001	0.157	0.001	0.117	0.067
蛋氨酸源 × 水平 Source×level			0.233	0.733	0.233	0.066	0.183

注：同一列中上标字母不同表示差异显著(P<0.05)

Note: Values in the same column with different superscript letters denoted significant difference (P<0.05)

饲料中的蛋氨酸源对大黄鱼幼鱼的蛋白质效率有显著影响($P<0.05$) (表 3)。饲料中添加蛋氨酸寡肽组, 大黄鱼的蛋白质效率显著高于添加晶体蛋氨酸组($P<0.05$)。与低鱼粉对照组相比较, 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽均增高了大黄鱼的蛋白质效率, 且随着添加蛋氨酸水平的提高, 大黄鱼幼鱼的蛋白质效率呈升高趋势, 但无显著差异($P>0.05$), 其中 OMet 0.95 组大黄鱼幼鱼的蛋白质效率最高。与低鱼粉对照组相比较, 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽均降低了大黄鱼的饲料系数, 但差异不显著($P>0.05$)。

2.2 体常规组成

经过 8 周的养殖实验, 不同饲料处理对大黄鱼的体常规组成无显著影响($P>0.05$) (表 4)。其中, 鱼体粗蛋白含量为 15.60%–16.60%, 粗脂肪含量为 7.70%–8.30%, 灰分含量为 3.17%–4.70%, 水分含量为 70.77%–72.77%。

2.3 形体指数

蛋氨酸源对大黄鱼的肝体比有显著影响($P<0.05$), 饲料中添加蛋氨酸寡肽组大黄鱼幼鱼的肝体比显著高于添加晶体蛋氨酸组, 其中, OMet 0.95 组大黄鱼幼鱼的肝体比最低。饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼幼鱼的脏体比和肥满度没有显著影响

($P>0.05$)。

2.4 蛋白质代谢反应

饲料中蛋氨酸源对大黄鱼幼鱼肝脏谷丙转氨酶活性有显著影响($P<0.05$) (表 6)。饲料中添加蛋氨酸寡肽组大黄鱼的谷丙转氨酶活性显著高于添加晶体蛋氨酸组($P<0.05$), 其中, OMet 0.95 组大黄鱼的肝脏谷丙转氨酶活性最高。饲料中蛋氨酸源和蛋氨酸水平对大黄鱼幼鱼肝脏谷草转氨酶影响显著($P<0.05$)。蛋氨酸寡肽组大黄鱼幼鱼的肝脏谷草转氨酶活性显著高于晶体蛋氨酸组($P<0.05$)。晶体蛋氨酸组和蛋氨酸寡肽组大黄鱼肝脏谷草转氨酶活性均显著高于低鱼粉组, 且随着蛋氨酸添加水平升高, 肝脏谷草转氨酶活性显著升高($P<0.05$)。其中, OMet 0.95 组的肝脏谷草转氨酶活性最高, 为 38.73 U/g·prot。大黄鱼血清中的血氨浓度和尿素氮含量均不受不同饲料处理的显著影响($P>0.05$)。

3 讨论

蛋氨酸是豆粕中的主要限制性氨基酸, 本研究采用外源晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽补充低鱼粉饲料中的蛋氨酸。结果显示, 在 LF 组饲料基础上补充晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽, 大黄鱼幼鱼的增重率显著提高, 并随着蛋氨酸水平提高而显著增加($P<0.05$), 这

表 4 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼体组成的影响
Tab.4 Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on the body composition of large yellow croakers (% wet weight) (Means±SD, $n=3$)

蛋氨酸源 Met sources	蛋氨酸水平 Met levels	粗蛋白 Crude protein	粗脂肪 Crude lipid	灰分 Ash	水分 Moisture
对照组 LF	0	15.60±0.36	8.20±0.60	3.53±0.47	72.77±0.74
晶体蛋氨酸 CMet	0.35	15.93±0.61	8.10±0.26	3.30±0.50	72.63±0.90
	0.65	16.13±0.31	8.00±0.62	3.73±1.12	72.23±0.76
	0.95	16.27±0.51	8.03±0.78	3.17±0.29	72.57±1.07
蛋氨酸寡 OMet	0.35	16.60±0.44	8.30±0.44	4.03±2.25	71.20±2.36
	0.65	16.43±0.47	8.03±0.72	4.70±0.52	70.77±0.91
	0.95	16.47±0.25	7.70±0.70	4.00±0.95	71.83±1.94
蛋氨酸源 Source	CMet	16.11±0.45	8.04±0.52	3.40±0.68	72.48±0.82
	OMet	16.50±0.35	8.01±0.61	4.24±1.30	71.27±1.66
蛋氨酸水平 Level	0	15.60±0.36	8.20±0.61	3.53±0.47	72.77±0.74
	0.35	16.27±0.59	8.20±0.60	4.33±1.35	71.73±1.90
	0.65	16.28±0.38	8.02±0.39	3.55±0.62	71.95±1.14
	0.95	16.36±0.36	7.87±0.62	3.58±1.03	71.93±1.00
蛋氨酸源 Source		0.080	0.910	0.103	0.067
蛋氨酸水平 Level		0.914	0.650	0.205	0.344
蛋氨酸源 × 水平 Source×level		0.632	0.748	0.650	0.498

表 5 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼肝体比、脏体比和肥满度的影响
Tab.5 Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on HSI, VSI and CF of large yellow croakers (Means±SD, n=3)

蛋氨酸源 Met sources	蛋氨酸水平 Met levels (%)	肝体比 HSI (%)	脏体比 VSI (%)	肥满度 CF
对照组 LF	0	2.68±0.15	8.07±0.51	1.65±0.04
晶体蛋氨酸 CMet	0.35	2.40±0.85	8.11±1.90	1.68±0.15
	0.65	2.42±0.36	7.30±0.54	1.53±0.13
	0.95	2.50±0.74	7.97±0.99	1.77±0.28
蛋氨酸寡肽 OMet	0.35	2.09±0.69	7.96±1.33	1.69±0.11
	0.65	1.54±0.50	8.84±0.86	1.69±0.05
	0.95	1.10±0.12	8.07±1.08	1.71±0.98
蛋氨酸源 Source	CMet	2.44±0.59 ^a	7.79±1.29	1.66±0.14
	OMet	1.58±0.61 ^b	8.29±1.02	1.70±0.08
蛋氨酸水平 Level	0	2.68±0.15	8.07±0.51	1.65±0.04
	0.35	2.25±0.99	8.04±1.34	1.69±0.14
	0.65	1.98±0.71	8.07±0.93	1.61±0.78
	0.95	1.80±0.53	8.02±0.71	1.74±0.88
蛋氨酸源 Source		0.006	0.390	0.436
蛋氨酸水平 Level		0.420	0.998	0.108
蛋氨酸源 × 水平 Source×level		0.286	0.437	0.194

注: 同一列中上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Values in the same column with different superscript letters denoted significant difference ($P < 0.05$)

表明了蛋氨酸在豆粕替代鱼粉饲料中的重要作用。Mai 等(2006)研究表明, 当水生动物饲料鱼粉被部分或完全替代时, 补充外源蛋氨酸可提高蛋白质效率, 促进生长, 这与本研究的结果一致。

从本研究结果可以看出, 与晶体氨基酸相比, 蛋氨酸寡肽对大黄鱼幼鱼具有更好的促生长作用。蛋氨酸寡肽组大黄鱼幼鱼的增重率和蛋白质效率均显著高于晶体蛋氨酸组($P < 0.05$)。另外, 肝脏谷丙转氨酶和谷草转氨酶是蛋白质合成代谢过程中重要的转氨酶, 其活性间接反映了蛋白质合成效率。本研究中, 蛋氨酸寡肽组的大黄鱼幼鱼肝脏的谷丙转氨酶活力和谷草转氨酶活力均显著高于晶体蛋氨酸组($P < 0.05$), 与蛋氨酸寡肽组增重率和蛋白质效率的提高相一致, 但饲料中添加蛋氨酸寡肽或晶体蛋氨酸对大黄鱼血氨和尿素氮含量并没有显著影响($P > 0.05$), 说明了蛋氨酸寡肽较晶体蛋氨酸可以显著促进蛋白质的合成效率, 而对蛋白质的分解代谢影响较小, 从而促进了大黄鱼幼鱼的生长。

分析蛋氨酸寡肽较晶体蛋氨酸生长性能提高的原因, 可能是由于饲料中补充晶体蛋氨酸, 虽然可以弥补替代鱼粉饲料中蛋氨酸的缺失, 但是晶体蛋氨酸可能会被过早的吸收和利用, 从而导致与饲料中其他氨基酸吸收和利用不同步, 降低了晶体蛋氨酸的利用

率(Kaushik *et al*, 1983; Zarate *et al*, 1999)。而与晶体蛋氨酸相比, 蛋氨酸寡肽由于为多个蛋氨酸单体聚合而成, 其被分解、吸收的速率较晶体蛋氨酸明显下降, 从而可以更好地解决蛋白质合成代谢过程中蛋氨酸与其他氨基酸不同步的问题。目前, 关于寡肽对水产动物生长促进作用的机制尚不清楚, 除了以上原因之外, 还有研究表明, 蛋白质合成可能与完整吸收的寡肽有直接关系, 例如 Wang (1994)观察到蛋氨酸肽相比与游离蛋氨酸可以促进 $^3\text{H-Leu}$ 掺入组织蛋白。Nielsen 等(1994)研究发现水解酪蛋白可以降低大鼠整体蛋白质的降解率, 并与完整酪蛋白均可提高蛋白质合成率等, 其具体机理还有待进一步研究。

另外, 饲料中添加蛋氨酸寡肽对大黄鱼幼鱼的肝体比有显著影响。硫的代谢主要发生在肝脏组织(Mato *et al*, 1997)。Espe 等(2008)指出大西洋鲑(*Salmo salar*)每天摄入有 0.05–0.06 g 似乎可以保障良好的肝脏高甲基化能力, 从而避免肝脏的增大。Chiji 等(1990)的研究表明, 与添加晶体蛋氨酸相比, 在老鼠饲料中添加蛋氨酸寡肽可以显著降低老鼠肝脏脂肪沉积。近年来, 大黄鱼在养殖过程中, 肝病频发, 病鱼体表无显著特征而肝脏出现肝肿大、“花肝”、“绿肝”等现象。本研究在养殖过程中也发生过类似情况, 部分大黄鱼出现了肝脏肥大。本研究显示, 蛋氨酸寡肽组大黄鱼

表6 饲料中添加晶体蛋氨酸或蛋氨酸寡肽对大黄鱼蛋白质代谢反应的影响
Tab.6 Effects of dietary crystalline methionine or oligo-methionine on protein metabolism responses of large yellow croakers (Means±SD, n=3)

蛋氨酸源 Met sources	蛋氨酸水平 Met levels (%)	肝脏谷丙转氨酶 GPT (U/g·prot)	肝脏谷草转氨酶 GOT (U/g·prot)	血氨 Ammonia (μmol/L)	尿素氮 UN (mmol/L)
对照组 LF	0	61.53±0.71	32.13±0.45	537.33±20.60	8.20±0.36
晶体蛋氨酸 CMet	0.35	63.50±0.98	34.07±0.75	542.67±18.50	8.53±0.21
	0.65	64.50±0.44	34.43±2.08	538.00±18.15	8.50±0.40
	0.95	66.13±1.89	36.43±1.85	536.67±4.58	8.60±0.52
蛋氨酸寡肽 OMet	0.35	65.97±2.42	35.70±1.10	527.00±24.51	8.30±0.35
	0.65	66.43±2.27	36.47±1.17	539.67±19.66	8.80±0.30
	0.95	67.07±1.08	38.73±1.57	552.67±10.50	8.87±0.55
蛋氨酸源 Source	CMet	64.71±1.58 ^a	34.98±1.82 ^a	539.11±14.85	8.54±0.35
	OMet	66.49±1.81 ^b	36.97±1.77 ^b	539.78±19.95	8.66±0.45
蛋氨酸水平 Level	0	61.53±0.71	32.13±0.45 ^a	537.33±20.60	8.20±0.36
	0.35	64.73±1.80	34.88±1.55 ^b	534.83±23.68	8.42±0.53
	0.65	65.47±1.22	35.45±2.89 ^{bc}	542.17±12.74	8.65±0.26
	0.95	66.60±2.65	37.58±1.58 ^c	541.33±14.71	8.73±0.37
蛋氨酸源 Source		0.031	0.009	0.938	0.565
蛋氨酸水平 Level		0.155	0.011	0.741	0.388
蛋氨酸源 × 水平 Source×level		0.700	0.917	0.193	0.453

注：表中同一列中上标字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Note: Values in the same column with different superscript letters denoted significant difference ($P<0.05$)

幼鱼的肝体比较晶体蛋氨酸组显著降低($P<0.05$)。这表明与晶体蛋氨酸相比，饲料中添加蛋氨酸寡肽可以降低大黄鱼幼鱼的肝体比，保持肝脏活力，提高存活率。

综上所述，蛋氨酸寡肽较晶体蛋氨酸可以更好地改善增重率，蛋白质效率和蛋白质代谢反应，降低肝体比，从而促进大黄鱼幼鱼的生长。

参 考 文 献

- 刘永坚, 田丽霞, 刘栋辉, 等. 实用饲料补充结晶或包膜赖氨酸对草鱼生长、血清游离氨基酸和肌肉蛋白质合成率的影响. 水产学报, 2002, 26(3): 252–258
- 冷向军, 王冠, 李小勤, 等. 饲料中添加晶体或包膜氨基酸对异育银鲫生长和血清游离氨基酸水平的影响. 水产学报, 2007, 31(6): 743–748
- 张彩兰, 刘家富, 李雅瑾, 等. 福建省大黄鱼养殖现状分析与对策. 上海水产大学学报, 2002, 11(1): 77–83
- 唐晓亮, 曹俊明, 朱选, 等. 7种饲料原料蛋白质和氨基酸对凡纳滨对虾的影响. 饲料研究, 2010(2): 5–8
- 熊本海, 庞之洪, 赵峰, 等. 中国饲料成分及营养价值表(2014年第25版)制订说明. 中国饲料, 2014, 14(21): 29–39
- AOAC: Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC, 2012. Arlington, 19th ed
- Chiji H, Harayama K, Kiriya S. Effects of feeding rats low

- protein diets containing casein or soy protein isolate supplemented with methionine or oligo-L-methionine. J Nutr, 1990, 120(2): 166–171
- Espe M, Hevroy, EM, Liaset B, et al. Methionine intake affect hepatic sulphur metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture, 2008, 274(1): 132–141
- Kaushik SJ, Dabrowski K, Blanc D. Nitrogen and energy utilization in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) fed casein, amino acids or a protein-free diet. Reprod Nutr Dévelop, 1983, 23(4): 741–754
- Li MH, Robinson EH. Effects of supplemental lysine and methionine in low protein diets on weight gain and body composition of young channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 1998, 163(3–4): 297–307
- Mai K, Wan J, Ai Q, et al. Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. Aquaculture, 2006, 253(1): 564–572
- Mato JM, Alvarez L, Ortiz P, et al. S-adenosylmethionine synthesis: molecular mechanisms and clinical implications. Pharmacol Ther, 1997, 73(3): 265–280
- Nielsen K, Kondrup J, Elsner P, et al. Casein and soya-bean protein have different effects on whole body protein turnover at the same nitrogen balance. Br J Nutr, 1994, 72(1): 69–81
- Robinson EH. Improvement of cottonseed meal protein with supplemental lysine in feeds for channel catfish. J Appl Aquacult, 1991, 1(2): 1–14

- Rodehutsord M, Borchert F, Gregus Z, *et al.* Availability and utilisation of free lysine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): 1. Effect of dietary crude protein level. *Aquaculture*, 2000, 187(1): 163–176
- Viola S, Lahav E. Effects of lysine supplementation in practical carp feeds on total protein sparing and reduction of pollution. *Isr J Aquacult Bamid*, 1991, 43(3): 112–118
- Wang S. Utilization of methionyl peptides as a source of methionine for the synthesis of secreted protein by mouse mammary explants and cultured and cultured bovine mammary epithelial cells. *J Dair Sci*, 1994, 77: 354
- Yamamoto T, Sugita T, Furuita H. Essential amino acid supplementation to fish meal-based diets with low protein to energy ratios improves the protein utilization in juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 2005, 246(1): 379–391
- Zarate DD, Lovell RT, Payne DM. Effects of feeding frequency and rate of stomach evacuation on utilization of dietary free and protein-bound lysine for growth by channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquacult Nutr*, 1999, 5(1): 17–22

(编辑 马瑾艳)

Effects of Dietary Oligo-Methionine on the Growth Performance, Feed Utilization and Protein Metabolism Responses of Juvenile Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*)

MA Jun, WEI Zehong, XING Shujuan, YI Lina, XU Wei, ZHOU Huihui,
ZHANG Wenbing^①, MAI Kangsen

(The Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feeds, Ministry of Agriculture; the Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract Enzyme-catalyzed synthesis of oligo-methionine (OMet) has been available, however, little is known on the application of OMet in aquatic feed. In this study, an 8 week feeding trial was conducted to investigate the effects of dietary crystalline methionine (CMet) and OMet on the growth performance, feed utilization and protein metabolism responses of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) with initial body weight of (26.0±1.6) g. A practical diet with low fish meal content (31.8%) was used as the control diet (LF). Six other experimental diets (CMet 0.35, CMet 0.65, CMet 0.95, OMet 0.35, OMet 0.65, and OMet 0.95) were formulated with 0.35%, 0.65% and 0.95% CMet or OMet respectively. The weight gain rate (WGR) of fish treated with OMet or CMet was significantly higher than control and increased significantly along with the elevated level of supplement ($P<0.05$). The WGR was the highest in fish treated with OMet 0.95. The WGR and protein efficiency ratio (PER) of fish in OMet treatment were significantly higher than those treated with CMet ($P<0.05$). In all treatments there was no significant difference in survival rate, feed conversion ratio or body composition (crude protein, crude lipid, ash, and moisture, $P>0.05$). Compared to CMet treatment, OMet caused lower hepatosomatic index (HSI) and higher activities of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT) in the liver ($P<0.05$). Meanwhile, the methionine level greatly affected activities of GOT. The fish in OMet 0.95 treatment showed the lowest HSI and the highest GPT and GOT activities. However, in all groups no significant difference was detected in the concentrations of ammonia and urea nitrogen in the serum ($P>0.05$). This study indicated that compared to CMet, OMet might be more effective in improving the growth performance and feed utilization of large yellow croakers, therefore could replace the former as the external methionine source to balance the amino acids in the soybean protein feed.

Key words Oligo-methionine; Crystalline methionine; Large yellow croaker; Growth; Feed utilization

① Corresponding author: ZHANG Wenbing. E-mail: wzhang@ouc.edu.cn