

日粮中等硫添加 DL-蛋氨酸和蛋氨酸羟基类似物游离酸在幼建鲤上饲喂效果的比较研究

肖伟伟¹ 冯琳^{1,2} 刘扬^{1,2} 姜俊^{1,2} 姜维丹^{1,2} 胡凯^{1,2} 李树红¹ 周小秋^{1,2*}

(1. 四川农业大学动物营养研究所,雅安 625014;2. 动物抗病营养教育部重点实验室,雅安 625014)

摘要: 本研究旨在研究日粮中等硫添加 DL-蛋氨酸(DL-Met)和蛋氨酸羟基类似物游离酸(MHA-FA)对幼建鲤生长性能、消化吸收酶活性和抗氧化指标的影响。选择平均体重为(8.24±0.03)g的健康幼建鲤300尾,随机分成2组,每组3个重复,每个重复50尾,分别饲喂等硫的DL-Met和MHA-FA的实用日粮,试验期60d。结果表明:MHA-FA组的增重、饲料转化率以及蛋白质、脂肪和灰分的沉积率与DL-Met组差异不显著($P>0.05$),但摄食量显著低于DL-Met组($P<0.05$)。MHA-FA组的肌肉和肝胰脏中谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)活力以及血浆氮含量与DL-Met组差异不显著($P>0.05$)。MHA-FA组的肝胰脏和肠道胰蛋白酶、糜蛋白酶以及肠道脂肪酶和淀粉酶活力与DL-Met组均差异不显著($P>0.05$),但肝胰脏脂肪酶和淀粉酶活力显著低于DL-Met组($P<0.05$)。MHA-FA组的前肠和中肠碱性磷酸酶(AKP)、各肠段 Na^+ , K^+ -ATP酶、中肠 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)以及全肠肌酸激酶(CK)活力与DL-Met组均差异不显著($P>0.05$),但后肠AKP、前肠和后肠 γ -GT活力显著低于DL-Met组($P<0.05$)。与DL-Met组相比,MHA-FA组的血清、肠道和肝胰脏丙二醛(MDA)含量显著升高($P<0.05$),血清谷胱甘肽(GSH)、血清和肠道过氧化氢酶(CAT)、肠道和肝胰脏谷胱甘肽硫转移酶(GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力显著降低($P<0.05$)。综上所述,幼建鲤基础日粮中等硫添加MHA-FA基本可以达到与DL-Met相同的饲喂效果。

关键词: 幼建鲤;MHA-FA;DL-Met;等硫;饲喂效果

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2010)04-1122-09

蛋氨酸是水生动物重要的含硫必需氨基酸,同时也是许多植物性原料的第一限制性氨基酸^[1]。随着鱼粉价格不断上涨且产量达到饱和,水生动物饲料逐渐以植物蛋白替代鱼粉作为主要的蛋白质源,造成饲料中蛋氨酸普遍缺乏,补充合成蛋氨酸源成为解决此问题的重要途径^[2]。DL-蛋氨酸(DL-Met)和蛋氨酸羟基类似物(蛋氨酸羟基类似物游离酸是其中一种形式,英文简称为MHA-FA)是目前常见的合成蛋氨酸源,都已在陆生动物饲料中广泛使用^[3]。但水生动物上关于MHA-FA的应用效果还存在争议。Keembiyehetty等^[4]和Kelly^[5]在条纹石鲈(*Morone chrysops* ♀ × *Morone saxatilis* ♂)上,Goff等^[6]在眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)上的研究发现,等硫添加DL-Met和MHA-FA时,MHA-FA促生长的效果显著低于DL-Met。水生动物的生长与肠道消化酶和刷状缘吸收酶活力

密切相关^[7],但目前还未见MHA-FA和DL-Met在水生动物肠道消化酶和刷状缘吸收酶活力上的比较研究。蛋氨酸的特殊结构与功能使其具有重要的抗氧化作用^[8]。零星的研究表明,DL-Met提高条纹石鲈肝脏谷胱甘肽(GSH)含量和降低条纹石鲈肝脏丙二醛(MDA)含量的幅度明显高于等硫的MHA-FA^[5,9]。但关于MHA-FA和DL-Met在水生动物多种抗氧化酶上的比较研究还未见报道。因此,本试验拟从幼建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)的生长性能、消化吸收和抗氧化能力方面比较MHA-FA和DL-Met的饲喂效果。

1 材料与amp;方法

1.1 试验日粮与amp;试验设计

试验日粮以鱼粉、大米蛋白粉、棉籽粕、菜籽粕、豆粕为蛋白质源,其组成及营养水平见表1。日粮1

收稿日期:2010-02-28

基金项目:教育部长江学者和创新团队发展计划(IRTO555)

作者简介:肖伟伟(1985-),女,四川犍为人,硕士研究生,主要从事水生动物营养研究。E-mail: xiaoxiao320717@126.com

* 通讯作者:周小秋,教授,博士生导师,E-mail: Zhouxq@sicua.edu.cn

中添加 2% 的 DL-Met 预混料(DL-Met 在日粮中含量为 0.52%, DL-Met 纯度为 98.5%, 日本住友化学提供),使日粮蛋氨酸总含量达到本课题组推荐的幼建鲤需要量^[10]。日粮 2 中添加 2% 的 MHA-FA 预混料(MHA-FA 在日粮中含量为 0.58%, MHA-FA 纯度为 88%, 日本住友化学提供),与日

粮 1 达到等硫。原料 60 目粉碎,混匀后制成粒径为 1.5 mm 的颗粒料,自然风干备用。试验选用 300 尾平均体重为(8.24 ± 0.03)g 的健康幼建鲤,随机分成 2 组,每组 3 个重复,每个重复 50 尾,分别饲喂日粮 1(DL-Met 组)和日粮 2(MHA-FA 组),试验期 60 d。

表 1 试验日粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets

(air-dry basis, %)

项目 Items	日粮 1 Diet 1	日粮 2 Diet 2
原料 Ingredients		
鱼粉 Fish meal	7.50	7.50
豆粕 Soybean meal	7.50	7.50
大米蛋白粉 Rice gluten meal	10.00	10.00
棉籽粕 Cottonseed meal	14.78	14.78
菜籽粕 Rapeseed meal	29.56	29.56
面粉 Wheat flour	17.57	17.57
鱼油 Fish oil	2.25	2.25
豆油 Soybean oil	0.72	0.72
预混料 Premix ¹⁾	2.00	2.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.67	2.67
氯化胆碱 Choline chloride (50%)	0.13	0.13
羧甲基纤维素 Carboxymethyl cellulose	2.00	2.00
乙氧喹 Ethoxyquin (30%)	0.05	0.05
苏氨酸 Thr (100%)	0.59	0.59
赖氨酸 Lys (78.8%)	0.68	0.68
DL-蛋氨酸预混料 DL-Met premix	2.00	—
蛋氨酸羟基类似物游离酸预混料 MHA-FA premix	—	2.00
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
粗蛋白质 CP	32.14	32.14
粗脂肪 EE	5.80	5.80
粗灰分 Crude ash	8.79	8.79
有效磷 AP	0.60	0.60
ω-3 必需脂肪酸 ω-3 EFA	1.00	1.00
ω-6 必需脂肪酸 ω-6 EFA	1.00	1.00
赖氨酸 Lys	1.99	1.99
苏氨酸 Thr	1.70	1.70
胱氨酸 Cys	0.79	0.79
蛋氨酸 Met	1.20	1.20

¹⁾ 每千克预混料含有 One kilogram of premix contained: 维生素 A 醋酸酯 retinol acetate (500 000 IU/g) 0.800 g; 胆钙化醇 cholecalciferol (500 000 IU/g) 0.480 g; DL-α-生育酚醋酸酯 DL-α-tocopherol acetate (50%) 20.000 g; 甲萘醌 menadione (50%) 0.200 g; 钴胺素 cyanocobalamin (10%) 0.010 g; D-生物素 D-biotin (20%) 0.500 g; 叶酸 folic acid (96%) 0.521 g; 硝酸硫胺素 thiamin nitrate (98%) 0.104 g; 维生素 C 醋酸酯 ascorhyl acetate (92%) 7.247 g; 烟酸 niacin (98%) 2.857 g; 磷脂酰肌醇 phosphatidylinositol (98%) 52.857 g; D-泛酸钙 calcium-D-pantothenate (98%) 2.511 g; 核黄素 riboflavine (80%) 0.625 g; 盐酸吡哆醇 pyridoxine hydrochloride (98%) 0.755 g; 玉米淀粉 corn starch 910.533 g; FeSO₄ · 7H₂O (Fe, 19.7%) 69.695 g; CuSO₄ · 5H₂O (Cu, 25.0%) 1.201 g; ZnSO₄ · 7H₂O (Zn, 22.5%) 21.640 g; MnSO₄ · H₂O (Mn, 31.8%) 4.089 g; KI (I, 3.8%) 2.895 g; NaSeO₃ (Se, 1.0%) 2.500 g; CaCO₃ 897.980 g。

²⁾ 粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分、蛋氨酸和胱氨酸为实测值,赖氨酸、苏氨酸、有效磷、ω-3 必需脂肪酸和 ω-6 必需脂肪酸根据 NRC(1993)饲料成分计算得出。CP, EE, crude ash, Met and Cys were measured values, while Thr, Lys, AP, ω-3 EFA and ω-6 EFA were calculated according to the feed component of NRC (1993)。

1.2 饲养管理

鱼苗购回驯化 30 d 后开始试验,饲养于循环流水过滤水族箱(90 cm×55 cm×30 cm)中,水源为曝气自来水。水温为(25.0±1.5)℃,pH 7.0,溶氧保持在 5 mg/L 以上。试验期间根据建鲤采食情况调整投喂量,保证每次饲喂 30 min 后有剩料,并迅速收集剩料,计算摄食量。

1.3 指标测定

1.3.1 生长性能

试验开始和结束时对试验鱼称重,计算增重和饲料转化率。试验前随机选取与试验鱼体重一致的 30 尾鱼用于鱼体蛋白质、脂肪和灰分含量测定。试验结束时,每个重复随机选取 5 尾鱼,经冷冻干燥后分别用凯氏定氮法、索氏抽提法和灼烧法测定鱼体蛋白质、脂肪和灰分含量,并计算蛋白质、脂肪和灰分的沉积率。计算公式为:

$$\text{蛋白质(脂肪或灰分)沉积率} = [(B - A) / I] \times 100.$$

其中, B 为试验结束时鱼体中蛋白质(脂肪或灰分)总量(g); A 为试验开始时鱼体中蛋白质(脂肪或灰分)总量(g); I 为试验期蛋白质(脂肪或灰分)摄入总量(g)。

1.3.2 肝胰脏和肌肉谷草转氨酶(GOT)、谷丙转氨酶(GPT)活力及血浆氨含量

最后 1 次投饲 12 h 后,每个重复随机选取 15 尾鱼,尾静脉采血并将血液置于 4℃ 冰箱中过夜后,4℃,3 000 r/min 离心 10 min。取血清按测定各指标所需要的样品量进行分装,然后置于 -20℃ 冰箱中冷冻保存备用。同时取肝胰脏、肠道和肌肉用液氮冷冻后在 -70℃ 冰箱保存备测。肝胰脏和肌肉 GOT、GPT 活力用试剂盒测定(南京建成生物工程研究所)。最后 1 次投饲 6 h 后,每个重复随机选取 5 尾鱼,乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)抗凝

针管尾部血管采血,两点法测定血浆氨含量(中生北控测试盒),2 h 内完成。

1.3.3 消化吸收指标

肝胰脏和肠道糜蛋白酶、胰蛋白酶活力测定参照 Hummel^[11] 的方法进行。肝胰脏和肠道脂肪酶和淀粉酶活力测定参照 Furne 等^[12] 的方法进行。全肠肌酸激酶(CK)和各肠段碱性磷酸酶(AKP)、Na⁺,K⁺-ATP 酶活力的测定分别参照 Weng 等^[13]、Krogdahl 等^[14]、Ilenchuk 等^[15] 的方法进行。各肠段 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)活力用试剂盒测定(南京建成生物工程研究所),具体按试剂盒说明书进行。

1.3.4 抗氧化指标

血清、肠道和肝胰脏的 MDA 含量测定参照 Lingstone 等^[16] 的方法,超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力的测定参照 Zhang 等^[17] 的方法,过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)、GSH 和谷胱甘肽硫转移酶(GST)活力的测定分别参照 Aebi^[18]、Lora 等^[19] 和 Lushchak 等^[20] 的方法。

1.4 统计分析

采用 SPSS 11.5 对试验数据进行 t 检验,结果以平均值±标准差表示。

2 结果

2.1 生长性能

由表 2 可知,MHA-FA 组幼建鲤的末重、增重、饲料转化率以及蛋白质、脂肪和灰分的沉积率与 DL-Met 组均差异不显著($P > 0.05$),但摄食量显著低于 DL-Met 组($P < 0.05$)。

表 2 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤生长性能的影响

Table 2 Effects of equal-sulfur supplementation with DL-Met and MHA-FA on growth performance of juvenile Jian carp

项目 Items	组别 Groups	
	DL-Met 组 DL-Met group	MHA-FA 组 MHA-FA group
初重 Initial weight (g)	8.27±0.06	8.27±0.02
末重 Final weight (g)	55.17±1.28	54.34±1.44
增重 Weight gain (g)	46.90±1.28	46.07±1.44
摄食量 Feed intake (g)	62.37±0.22 ^b	61.00±0.78 ^a
饲料转化率 Feed conversion ratio	1.33±0.03	1.32±0.04
蛋白质沉积率 Protein productive value (%)	34.82±0.89	34.97±1.09
脂肪沉积率 Lipid productive value (%)	76.14±2.03	74.42±2.40
灰分沉积率 Ash productive value (%)	26.00±0.67	26.02±0.81

同行数据肩注不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

Values within the same row with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

2.2 肌肉和肝胰脏 GPT、GOT 活力以及血浆氨含量

由表 3 可知, MHA-FA 组幼建鲤的肝胰脏

GOT、肌肉和肝胰脏 GPT 活力以及血浆氨含量与 DL-Met 组均差异不显著($P>0.05$), 但肌肉 GOT 活力显著低于 DL-Met 组($P<0.05$)。

表 3 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤肌肉和肝胰脏 GPT、GOT 活力以及血浆氨含量的影响

Table 3 Effects of equal-sulfur supplementation with DL-Met and MHA-FA on GPT and GOT activities in muscle and hepatopancreas and plasma ammonia content of juvenile Jian carp (U/g)

项目 Items	组别 Groups	
	DL-Met 组 DL-Met group	MHA-FA 组 MHA-FA group
肌肉谷草转氨酶 GOT in muscle	2 639.4 ± 129.6 ^b	2 193.6 ± 147.5 ^a
肝胰脏谷草转氨酶 GOT in hepatopancreas	4 601.2 ± 270.7	4 369.3 ± 341.2
肌肉谷丙转氨酶 GPT in muscle	551.9 ± 33.8	537.0 ± 37.6
肝胰脏谷丙转氨酶 GPT in hepatopancreas	1 367.7 ± 135.5	1 308.7 ± 37.4
血浆氨 Plasma ammonia (μmol/L)	184.2 ± 11.3	192.1 ± 18.8

2.3 消化吸收指标

由表 4 可知, MHA-FA 组的肝胰脏和肠道胰蛋白酶、糜蛋白酶以及肠道脂肪酶和淀粉酶活力与

DL-Met 组均差异不显著($P>0.05$), 但肝胰脏脂肪酶和淀粉酶活力显著低于 DL-Met 组($P<0.05$)。

表 4 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤肠道和肝胰脏消化酶活力的影响

Table 4 Effects of equal-sulfur supplementation with DL-Met and MHA-FA on digestive enzyme activities in intestine and hepatopancreas of juvenile Jian carp (U/g)

项目 Items	组别 Groups	
	DL-Met 组 DL-Met group	MHA-FA 组 MHA-FA group
肠道 Intestine		
胰蛋白酶 Trypsin	1.25 ± 0.12	1.21 ± 0.03
糜蛋白酶 Chymotrypsin [$\Delta A/(g \cdot min)$]	8.08 ± 0.53	8.61 ± 0.23
脂肪酶 Lipase	1 378.2 ± 88.8	1 459.3 ± 102.6
淀粉酶 Amylase	1 941.8 ± 25.8	1 904.2 ± 24.6
肝胰脏 Hepatopancreas		
胰蛋白酶 Trypsin	1.97 ± 0.15	2.03 ± 0.06
糜蛋白酶 Chymotrypsin [$\Delta A/(g \cdot min)$]	6.39 ± 0.52	6.86 ± 0.51
脂肪酶 Lipase	1 216.1 ± 88.8 ^b	891.8 ± 88.8 ^a
淀粉酶 Amylase	1 329.2 ± 29.2 ^b	1 287.5 ± 13.7 ^a

由表 5 可知, MHA-FA 组的前肠和中肠 AKP、各肠段 Na⁺, K⁺-ATP 酶、中肠 γ -GT 以及全肠 CK 活力与 DL-Met 组均差异不显著($P>0.05$), 但后肠 AKP、前肠和后肠 γ -GT 活力显著低于 DL-Met 组($P<0.05$)。

2.4 抗氧化指标

由表 6 可知, MHA-FA 组的血清、肠道和肝胰脏 MDA 含量显著高于 DL-Met 组($P<0.05$)。

MHA-FA 组的肝胰脏和肠道 GSH 活力与 DL-Met 组差异不显著($P>0.05$), 但血清 GSH 活力显著低于 DL-Met 组($P<0.05$)。MHA-FA 组的血清、肝胰脏和肠道 SOD、GR 活力与 DL-Met 组无显著差异($P>0.05$)。MHA-FA 组的血清和肠道 CAT 以及肠道和肝胰脏 GST、GSH-Px 活力显著低于 DL-Met 组($P<0.05$), 而肝胰脏 CAT, 血清 GSH-Px、GST 活力与 DL-Met 组无显著差异($P>0.05$)。

表5 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤肠道吸收酶活力的影响

Table 5 Effects of equal-sulfur supplementation with DL-Met and MHA-FA on absorptive enzyme activities in intestine of juvenile Jian carp (U/g)

项目 Items	组别 Groups	
	DL-Met 组 DL-Met group	MHA-FA 组 MHA-FA group
前肠碱性磷酸酶 AKP in foregut	37.17 ± 2.99	39.00 ± 3.57
中肠碱性磷酸酶 AKP in midgut	33.00 ± 3.28	33.83 ± 3.18
后肠碱性磷酸酶 AKP in hindgut	8.50 ± 0.55 ^b	6.83 ± 0.41 ^a
前肠 Na ⁺ , K ⁺ -ATP 酶 Na ⁺ , K ⁺ -ATPase in foregut	328.95 ± 38.24	344.74 ± 13.59
中肠 Na ⁺ , K ⁺ -ATP 酶 Na ⁺ , K ⁺ -ATPase in midgut	269.08 ± 21.68	279.61 ± 24.89
后肠 Na ⁺ , K ⁺ -ATP 酶 Na ⁺ , K ⁺ -ATPase in hindgut	165.79 ± 16.18	160.53 ± 14.91
前肠 γ-谷氨酰转肽酶 γ-GT in foregut	235.27 ± 13.27 ^b	213.57 ± 14.52 ^a
中肠 γ-谷氨酰转肽酶 γ-GT in midgut	182.56 ± 13.86	175.58 ± 14.62
后肠 γ-谷氨酰转肽酶 γ-GT in hindgut	272.09 ± 20.27 ^b	233.33 ± 15.19 ^a
全肠肌酸激酶 CK in whole intestine	171.78 ± 7.01	172.41 ± 7.04

表6 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤血清、肠道和肝胰脏抗氧化指标的影响

Table 6 Effects of equal-sulfur supplementation with DL-Met and MHA-FA on antioxidation indices in the serum, intestine and hepatopancreas of juvenile Jian carp (U/mg prot)

项目 Items	组别 Groups	
	DL-Met 组 DL-Met group	MHA-FA 组 MHA-FA group
丙二醛 MDA		
血清 Serum (nmol/L)	15.13 ± 0.81 ^a	17.12 ± 0.56 ^b
肠道 Intestine (nmol/mg prot)	1.11 ± 0.11 ^a	1.30 ± 0.04 ^b
肝胰脏 Hepatopancreas (nmol/mg prot)	2.04 ± 0.16 ^a	2.35 ± 0.13 ^b
谷胱甘肽 GSH		
血清 Serum (mg/L)	17.45 ± 1.35 ^b	10.02 ± 0.72 ^a
肠道 Intestine (mg/g prot)	15.10 ± 1.36	15.07 ± 1.04
肝胰脏 Hepatopancreas (mg/g prot)	9.40 ± 0.41	9.91 ± 0.52
超氧化物歧化酶 SOD		
血清 Serum (U/mL)	165.20 ± 8.63	166.32 ± 8.31
肠道 Intestine	57.87 ± 3.46	58.98 ± 5.52
肝胰脏 Hepatopancreas	134.26 ± 4.92	138.02 ± 6.52
过氧化氢酶 CAT		
血清 Serum (U/mL)	4.24 ± 0.25 ^b	2.89 ± 0.24 ^a
肠道 Intestine	2.37 ± 0.07 ^b	1.90 ± 0.11 ^a
肝胰脏 Hepatopancreas	28.11 ± 2.95	30.52 ± 2.55
谷胱甘肽还原酶 GR		
血清 Serum (U/L)	265.27 ± 22.02	273.31 ± 17.97
肠道 Intestine (U/g prot)	65.71 ± 3.28	61.08 ± 4.52
肝胰脏 Hepatopancreas (U/g prot)	89.94 ± 3.39	84.39 ± 5.23
谷胱甘肽硫转移酶 GST		
血清 Serum (U/mL)	85.33 ± 7.30	85.33 ± 5.57
肠道 Intestine	50.03 ± 2.98 ^b	41.76 ± 1.07 ^a
肝胰脏 Hepatopancreas	84.42 ± 2.43 ^b	68.38 ± 3.18 ^a
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px		
血清 Serum (U/mL)	219.13 ± 12.23	225.39 ± 15.39
肠道 Intestine	59.11 ± 1.92 ^b	54.24 ± 3.96 ^a
肝胰脏 Hepatopancreas	182.50 ± 8.42 ^b	161.76 ± 10.00 ^a

3 讨论

3.1 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤生长性能的影响

蛋氨酸是鲤鱼重要的含硫必需氨基酸,植物蛋白日粮中补充蛋氨酸可以促进鲤鱼的生长^[21-22]。在本试验日粮中补充等硫水平的 DL-Met 和 MHA-FA 并达到幼建鲤的蛋氨酸需要量,结果发现增重二者差异不显著。这与 Keembiyehetty 等^[4] 和 Kelly^[5] 在条纹石鲈及 Goff 等^[6] 在眼斑拟石首鱼上的研究得出的 DL-Met 的增重效果显著高于等硫的 MHA-FA 的结果不一致。结果不太一致的原因可能有:1)水生动物品种不同。MHA-FA 进入机体需要经 L-2-羟基酸氧化酶和 D-2-羟基酸脱氢酶转化为 2-酮-4-甲硫基丁酸,再由转氨酶转化为 L-蛋氨酸才能被机体利用^[23]。建鲤转化并利用 MHA-FA 的能力可能高于其他水生动物。2)日粮类型不同。本试验中采用实用日粮,以上研究均采用纯合或半纯合日粮。Gutteridge 等^[24] 和 Daenner 等^[25] 在肉鸡上的研究发现,实用日粮下等硫的 MHA-FA 与 DL-Met 的增重效果相当。

摄食量和饲料转化率是影响水生动物生长的 2 个重要因素,而体沉积的变化在一定程度上反映了动物对饲料的利用效率。本试验结果显示,MHA-FA 组的幼建鲤摄食量显著低于 DL-Met 组,但蛋白质、脂肪和灰分的沉积率 2 组差异不显著,二者的饲料转化率也相当。这表明,幼建鲤利用含等硫的 MHA-FA 和 DL-Met 饲料的效率是一样的。蛋白质沉积率与机体的氮代谢以及体蛋白质合成的能力有关^[26]。肝胰脏和肌肉是体内蛋白质代谢的主要场所,而 GOT 和 GPT 是 2 种主要参与氨基酸代谢的酶,其活力高低可以反映体内氨基酸被利用的情况^[27]。氨是鱼类蛋白质在肝脏和肾脏分解代谢的主要终产物,血浆氨含量与日粮氨基酸含量及比例有关^[28]。本研究发现,等硫的 MHA-FA 和 DL-Met 组的幼建鲤的肌肉、肝胰脏中 GOT 和 GPT 活力以及血浆氨含量无显著差异。这表明,等硫的 MHA-FA 和 DL-Met 调节氨基酸的周转代谢和蛋白质合成的效率几乎相当,表现出体蛋白质沉积的效果也一样。

3.2 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤消化酶和吸收酶活力的影响

水生动物的生长来源于对营养物质充分的消化吸收,营养物质的消化以酶消化为主,吸收靠多种吸收酶完成,因此生长与消化酶和吸收酶的活力密切

相关^[8]。本研究发现,MHA-FA 组的肝胰脏和肠道胰蛋白酶、糜蛋白酶以及肠道脂肪酶和淀粉酶活力与 DL-Met 组差异不显著,但肝胰脏脂肪酶和淀粉酶活力显著低于 DL-Met 组。这表明,DL-Met 可能更有利于脂肪酶和淀粉酶的分泌,但由于肠道消化酶活力大多与等硫的 MHA-FA 相当,二者在消化能力上几乎可达到相同的效果。

Na⁺,K⁺-ATP 酶是存在于多种生物膜上的一种蛋白酶,参与多种氨基酸的转运过程^[29],其活力间接反映肠道的吸收能力。由本研究结果可知,投饲等硫的 MHA-FA 和 DL-Met 饲料的幼建鲤的各肠段 Na⁺,K⁺-ATP 酶活力差异均不显著。 γ -GT 是谷氨酸循环的关键酶,可促进氨基酸向细胞内转运,为蛋白质生物合成提供原料^[30]。本研究发现,MHA-FA 组的中肠 γ -GT 活力与 DL-Met 组差异不显著,但前肠和后肠 γ -GT 活力显著低于 DL-Met 组。肠道 AKP 分布在肠上皮刷状缘细胞表面,与脂类、氨基酸、葡萄糖等多种物质的吸收有关,也反映肠上皮细胞的吸收能力^[31]。本研究显示,MHA-FA 组的前肠和中肠 AKP 活力与 DL-Met 组无显著差异,但后肠 AKP 活力显著低于 DL-Met 组。CK 在能量代谢中扮演重要角色,参与多种酶与 ATP 的组装过程,为肠道营养物质的吸收提供能量。本研究发现,投饲等硫的 MHA-FA 和 DL-Met 饲料的幼建鲤整个肠道 CK 活力差异不显著。以上结果表明,等硫添加 MHA-FA 和 DL-Met 时,幼建鲤的绝大部分肠道吸收酶活力相当。

3.3 等硫添加 DL-Met 和 MHA-FA 对幼建鲤抗氧化能力的影响

蛋氨酸代谢生成的 Cys 可参与抗氧化物质 GSH 和牛磺酸的合成^[2,32],且其本身的巯基具有氧化还原的特点^[33],使其在机体抗氧化系统中发挥着重要作用。体内脂质中的多不饱和脂肪酸易受活性氧物质(ROS)攻击发生氧化而生成终产物 MDA,因此 MDA 含量常用来反映体内脂质过氧化的程度^[34]。本研究结果显示,DL-Met 组的血清、肠道和肝胰脏 MDA 含量显著低于 MHA-FA 组,这与 Li 等^[9] 在条纹石鲈上的研究结果一致。这表明,补充 DL-Met 的水生动物体内脂质过氧化的程度小于等硫的 MHA-FA。正常情况下,体内抗氧化系统使体内 ROS 的产生和清除处于动态平衡,维持在适宜水平而不会造成机体的氧化损伤。SOD 主要负责清除超氧阴离子(O²⁻),将其转化为 H₂O₂;CAT 和 GSH-Px 作为 SOD 的下游酶类,分别在微粒体和胞浆、线粒体基质中清除 H₂O₂,同时 GSH-Px 还具

有清除脂质过氧化产物的能力^[35];GR主要负责将氧化型谷胱甘肽转化为GSH,维持体内GSH的平衡;GSH作为体内重要的抗氧化物质,可以直接还原H₂O₂和过氧化脂质,还参与了维生素C的再生过程;GST的同工酶能够将脂质过氧化产物清除出细胞^[36]。由本试验结果可知,MHA-FA组的血清、肠道和肝胰脏SOD、GR,肠道和肝胰脏GSH、肝胰脏CAT及血清GSH-Px和GST活力与DL-Met组差异不显著,但血清GSH、血清和肠道CAT、肠道和肝胰脏GST、GSH-Px活力显著低于DL-Met组。上述结果表明DL-Met组的多种抗氧化酶活力高于等硫的MHA-FA组,这可能是其血清、肠道和肝胰脏MDA含量较低的主要原因。DL-Met的抗氧化能力在一定程度上优于等硫的MHA-FA,可能是二者在体内参与的代谢有所不同,还有待进一步研究。

4 结 论

① 在本试验日粮中添加的MHA-FA能够很好地被幼建鲤吸收利用。

② 在生长性能方面,等硫的MHA-FA可以完全替代DL-Met;在消化吸收和抗氧化能力方面,等硫的MHA-FA可以部分替代DL-Met。

参考文献:

- [1] Hansen A C. Effects of replacing fish meal with plant protein in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.)[D]. Ph. D. Thesis. Bergen: University of Bergen, 2009: 13-21.
- [2] Cheng Z J, Hardy R W, Blair M. Effects of supplementing methionine hydroxy analogue in soybean meal and distiller's dried grain-based diets on the performance and nutrient retention of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)[J]. Aquaculture Research, 2003(34): 1 303-1 310.
- [3] Martín-Venegas R, Geraert P A, Ferrer R. Conversion of the methionine hydroxy analogue DL-2-hydroxy-(4-methylthio) butanoic acid to sulfur-containing amino acids in the chicken small intestine [J]. Poultry Science, 2006, 85: 1 932-1 938.
- [4] Keembiyehetty C N, Gatlin D M. Evaluation of different sulfur compounds in the diet of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 1995, 112: 155-159.
- [5] Kelly M C. Refined understanding of sulfur amino acid nutrition in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)[D]. Thesis. Texas: Texas A & M University, 2005: 5-14.
- [6] Goff J B, Gatlin D M. Evaluation of different sulfur amino acid compounds in the diet of red drum, *Sciaenops ocellatus*, and sparing value of cystine for methionine[J]. Aquaculture, 2004, 241: 465-477.
- [7] Hakim Y, Uni Z, Hulata G, et al. Relationship between intestinal brush border enzymatic activity and growth rate in tilapias fed diets containing 30% or 48% protein[J]. Aquaculture, 2006, 257: 420-428.
- [8] Métayer S, Seiliez I, Collin A, et al. Reviews: mechanisms through which sulfur amino acids control protein metabolism and oxidative status [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2008 (19): 207-215.
- [9] Li P, Burr G S, Wen Q, et al. Dietary sufficiency of sulfur amino acid compounds influences plasma ascorbic acid concentrations and liver peroxidation of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)[J]. Aquaculture, 2009, 287: 414-418.
- [10] Tang L, Wang G H, Jang 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): 477-483.
- [11] Hummel B C W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin [J]. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1959, 37: 1 393-1 399.
- [12] Furne M, Hidalgo M C, Lopez A, et al. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* a comparative study [J]. Aquaculture, 2005, 250: 391-398.
- [13] Weng C F, Chiang C C, Gong H Y, et al. Acute changes in gill Na⁺-K⁺-ATPase and creatine kinase in response to salinity changes in the euryhaline teleost, tilapia (*Oreochromis mossambicus*)[J]. Physiological and Biochemical Zoology, 2002, 75: 29-36.
- [14] Krogdahl A, McKellep A M B, Baeverfjord G. Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture Nutrition, 2003(9): 361-371.
- [15] Ilenchuk T T, Davey K G. Some properties of Na⁺, K⁺-ATPase in the follicle cells of *Rhodnius prolious* [J]. Insect Biochemistry, 1982(12): 675-682.
- [16] Lingstone D R, Garcia M P, Michel X, et al. Oxyrad-

- ical production as a pollution-mediated mechanism of toxicity in the common mussel, *Mytilus edulis* L. and other mollusks[J]. *Functional Ecology*, 1990(4): 415-424.
- [17] Zhang X D, Zhu Y F, Cai L S, et al. Effects of fasting on the meat quality and antioxidant defenses of market size farmed large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. *Aquaculture*, 2008, 280: 136-139.
- [18] Aebi H. Catalase *in vitro*[J]. *Methods in Enzymology*, 1984, 105(2): 121-126.
- [19] Lora J, Alonso F J, Segura J A, et al. Antisense glutaminase inhibition decreases glutathione antioxidant capacity and increases apoptosis in Ehrlich ascitic tumour cells[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2004(21): 4 298-4 306.
- [20] Lushchak V I, Lushchak I P, Mota A A, et al. Oxidative stress and antioxidant defenses in goldfish *Carassius auratus* during anoxia and reoxygenation [J]. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2001(1): 100-107.
- [21] Murthy H S, Varghese T J. Total sulphur amino acid requirement of the Indian major carp[J]. *Aquaculture Nutrition*, 1998(4): 61-65.
- [22] Ahmed I T, Khan M R. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp[J]. *Methods in Enzymology*, 1984(2): 121-127.
- [23] Dibner J J, Knight C D. Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid to L-methionine in the chick: a stereospecific pathway[J]. *Journal Nutrition*, 1984, 114: 1 716-1 723.
- [24] Gutteridge D G A, Lewis D. Chick bio-assay of methionine and cystine: II. Assay of soybean meals, ground nut meals, meat meals, methionine isomers and methionine analogue [J]. *British Poultry Science*, 1964(5): 193-200.
- [25] Daenner E, Bessei W. Influence of supplementation with liquid DL-methionine hydroxy analogue-free acid (MHA-FA) or DL-methionine on performance of broilers[J]. *The Journal of Applied Poultry Research*, 2003(12): 101-105.
- [26] 彭 艳, 唐 凌, 帅 柯, 等. 蛋氨酸对幼建鲤生长及消化吸收功能的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2009(13): 33-38.
- [27] Balogun O O, Fetuga B L. Liver glutamate-oxalate transaminase and glutamate-pyruvate transaminase activity in pigs as influenced by dietary methionine and lysine levels[J]. *Biochemistry and Experimental Biology*, 1980(16): 42-50.
- [28] Yang S D, Liou C H, Liu F G. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*) [J]. *Aquaculture*, 2002, 213: 363-372.
- [29] Klein S, Cohn S M, Alpers D H. The alimentary tract in nutrition[M]. In: Shils M E, Shike M, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 1998: 605-630.
- [30] Griffith O W, Meister A. Excretion of cysteine and γ -glutamylcysteine moieties in human and experimental animal γ -glutamyl transpeptidase deficiency[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 1980, 77: 3 384-3 387.
- [31] Villanueva J, Vanacore R, Goicoechea O, et al. Intestinal alkaline phosphatase of the fish *Cyprinus carpio*: regional distribution and membrane association[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1997, 279: 347-355.
- [32] Wang S T, Chen H W, Sheen L Y, et al. Methionine and cysteine affect glutathione level, glutathione-related enzyme activities and the expression of glutathione S-transferase isozymes in rat hepatocytes [J]. *The Journal of Nutrition*, 1997(11): 2 135-2 141.
- [33] Hoshi T, Heinemann S H. Regulation of cell function by methionine oxidation and reduction[J]. *The Journal of Physiology*, 2001(1): 1-11.
- [34] Oruc E ö, Usta D. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio* [J]. *Environment Toxicology and Pharmacology*, 2007(23): 48-55.
- [35] Ana F, Venturin O, Ana M. Effects of carbaryl and azinphos methyl on juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) detoxifying enzymes[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2007(2): 134-142.
- [36] Alena S, Daniela W, Jitka P. Influence of silymarin and its flavonolignans on H₂O₂ induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts [J]. *Burns*, 2006(8): 973-979.

A Comparative Study of Feeding Effects of Equal-sulfur Supplementation with *DL*-methionine and Methionine Hydroxy Analogue Free Acid in Juvenile Jian Carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)

XIAO Weiwei¹ FENG Lin^{1,2} LIU Yang^{1,2} JIANG Jun^{1,2} JIANG Weidan^{1,2}
HU Kai^{1,2} LI Shuhong¹ ZHOU Xiaoqiu^{1,2*}

(1. Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. Key Laboratory for Animal Disease-resistance Nutrition of China Ministry of Education, Ya'an 625014, China)

Abstract: The purpose of this study was to study the effects of equal-sulfur *DL*-methionine (*DL*-Met) and methionine hydroxy analogue free acid (MHA-FA) supplementation in diets on growth performance, activities of digestive and absorptive enzymes and antioxidation indices of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). A total of 450 fish with average initial weight of (8.24 ± 0.03) g were randomly divided into 2 groups with 3 replicates in each group and 10 fish per replicate. The fish of two groups were fed practical diets supplemented with *DL*-Met and MHA-FA on equal-sulfur basis, respectively. The trial lasted for 60 days. The results showed as follows: MHA-FA and *DL*-Met had the same effects on weight gain, feed conversion ratio, productive values of protein, fat and ash in juvenile Jian carp ($P > 0.05$), but the feed intake in MHA-FA group was significantly lower than that in *DL*-Met group ($P < 0.05$). Glutamate-oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate-pyruvate transaminase (GPT) activities in muscle and hepatopancreas and plasma ammonia content also had no significant difference between MHA-FA and *DL*-Met groups ($P > 0.05$). The activities of trypsin and amylase in intestine and hepatopancreas, lipase and amylase in intestine were not significant different between MHA-FA and *DL*-Met groups ($P > 0.05$), while the activities of lipase and amylase in hepatopancreas in MHA-FA group were significantly lower than those in *DL*-Met group ($P > 0.05$). The activities of alkaline phosphatase (AKP) in foregut and midgut, Na^+ , K^+ -ATPase in foregut, midgut and hindgut, γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) in midgut and creatinekinase (CK) in whole intestine were not significantly different between MHA-FA and *DL*-Met groups ($P > 0.05$). However, the activities of AKP in hindgut, γ -GT in foregut and hindgut in MHA-FA group were significantly lower than those in *DL*-Met group ($P < 0.05$). Compared with the *DL*-Met group, the content of MDA in serum, intestine and hepatopancreas in MHA-FA group was significantly higher ($P < 0.05$), while the activities of glutathione (GSH) in serum, catalase (CAT) in serum and intestine, glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GSH-Px) in intestine and hepatopancreas in MHA-FA group were significantly lower ($P < 0.05$). In conclusion, supplementation of MHA-FA and *DL*-Met on equal-sulfur basis in juvenile Jian carp diet nearly obtained the same feeding effects. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(4): 1122-1130]

Key words: juvenile Jian carp; MHA-FA; *DL*-Met; equal-sulfur; feeding effects