

# 蛋氨酸二肽在幼鲤饲料中的有效性研究及幼鲤蛋氨酸需求量的再评估

尹子煜<sup>1</sup> 何菊云<sup>2</sup> 梁晓芳<sup>1,3</sup> 薛敏<sup>1,3\*</sup> 郑银桦<sup>1</sup> 谷旭<sup>1</sup> 吴秀峰<sup>1</sup>

(1.中国农业科学院饲料研究所,国家水产饲料安全评价基地,北京 100081;2.赢创德固赛(中国)投资有限公司广州分公司,广州 510050;3.农业部饲料生物技术重点开放实验室,北京 100081)

**摘要:** 本试验通过在低蛋氨酸(Met)饲料中添加不同水平的蛋氨酸二肽(Met-Met),评价Met-Met在幼鲤饲料中的有效性并确定幼鲤的Met需求量。试验用幼鲤初始体重为(16.7±0.08)g,随机分为7组,每组6个重复,每桶30尾鱼。在以豌豆浓缩蛋白作为蛋白质源的低Met基础饲料[Met含量为4.8g/kg,半胱氨酸(Cys)含量为4.4g/kg]中分别添加0、1.5、2.0、2.5、3.0、4.0g/kg的Met-Met,饲喂6组试验鱼,分别命名为M0、M1.5、M2、M2.5、M3、M4组;剩余的1组试验鱼饲喂含10%鱼粉同时补充3.0g/kg晶体DL-Met的试验饲料,命名为FM组,作为正对照组。饲养试验持续10周。结果显示:与M0组相比,各Met-Met添加组幼鲤的末均重、增重率、特定生长率均显著增加( $P<0.05$ ),而饲料系数均显著降低( $P<0.05$ )。分别以增重率、饲料系数为评价指标,通过一元二次回归模型分析获得幼鲤Met需求量分别为8.1、7.9g/kg;以蛋白质沉积率为评价指标,通过折线模型分析获得幼鲤Met需求量为7.6g/kg。饲料中添加不同水平Met-Met均可显著增加全鱼中Met、Met+Cys、赖氨酸(Lys)、色氨酸(Trp)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、缬氨酸(Val)、组氨酸(His)的含量( $P<0.05$ ),而各Met-Met添加组与FM组之间均没有显著差异( $P>0.05$ )。M0组幼鲤必需氨基酸沉积率显著低于其余各组( $P<0.05$ );M0、M1.5、M2、M2.5组的Met沉积率显著高于FM组( $P<0.05$ );除M1.5组外,各Met-Met添加组的Lys沉积率均显著高于M0组( $P<0.05$ ),且各Met-Met添加组与FM组之间差异不显著( $P>0.05$ )。M4组血浆高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)/总胆固醇(TC)显著高于FM和M0组( $P<0.05$ )。M2、M4组血浆总抗氧化能力(T-AOC)显著高于M0组( $P<0.05$ )。血浆丙二醛(MDA)含量以M3组最低,显著低于除M1.5、M4组外的其余各组( $P<0.05$ )。由此得出,在Met缺乏的基础饲料(含4.8g/kg Met)中添加适量Met-Met可有效促进幼鲤摄食和生长,促进脂肪的转运与代谢,提高抗氧化能力。基于增重率、饲料系数和蛋白质沉积率的回归分析,获得幼鲤Met需求量为7.6~8.1g/kg(饲料中Met-Met添加量为2.95~3.47g/kg),占饲料蛋白质的2.0%~2.1%。饲料中Met-Met所提供的Met与天然蛋白质源中Met在消化吸收与利用上特性相似,以Met-Met为来源评估幼鲤Met需求量会更加准确。

**关键词:** 幼鲤;蛋氨酸二肽;蛋氨酸需求量;生长性能;回归模型;再评估

中图分类号:S963

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)06-2765-12

收稿日期:2018-11-21

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0900400);国家重点研发计划项目(2016YFF0201800);北京市现代农业产业技术体系(BA-IC08-2018);中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2017-FRI-08)

作者简介:尹子煜(1992—),男,山东济南人,硕士研究生,研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: yinziyu1992@163.com

\*通信作者:薛敏,研究员,博士生导师,E-mail: xuemin@caas.cn



续表 1

项目 Items	饲料 Diets						
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4
大豆油 Soybean oil	4.00	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>							
粗蛋白质 CP	37.93	38.53	39.01	38.74	38.90	38.37	38.47
粗脂肪 EE	8.51	9.34	8.64	9.46	9.15	9.35	8.16
粗灰分 Ash	6.39	5.86	5.85	5.89	5.79	5.67	5.82
水分 Moisture	8.46	8.66	8.64	8.60	8.58	8.65	8.65
总能 Gross energy/(MJ/kg)	18.55	18.77	18.60	18.59	18.60	18.43	18.49

<sup>1)</sup> 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets: VA 28 mg, VB<sub>1</sub> 12 mg, VB<sub>2</sub> 12 mg, VB<sub>6</sub> 16 mg, VB<sub>12</sub> 0.2 mg, VE 30 mg, VK<sub>3</sub> 20 mg, VD<sub>3</sub> 14 mg, 烟酸胺 niacinamide 80 mg, VC 600 mg, 泛酸钙 calcium pantothenate 100 mg, 生物素 biotin 0.4 mg, 叶酸 folic acid 3 mg, FeSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 300 mg, ZnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 300 mg, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O 100 mg, KI 80 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 67 mg, CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 2.5 mg, MgSO<sub>4</sub> 500 mg。

<sup>2)</sup> 营养水平均为测定值。Nutrient levels were determined values.

表 2 试验饲料 Met-Met 含量与必需氨基酸组成 (干物质基础)

Table 2 Met-Met content and EAA composition of experimental diets (DM basis)

%

项目 Items	饲料 Diets						
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4
蛋氨酸二肽 Met-Met			0.16	0.20	0.25	0.30	0.38
必需氨基酸 EAA							
蛋氨酸 Met	0.88	0.48	0.64	0.68	0.74	0.81	0.92
半胱氨酸 Cys	0.40	0.44	0.45	0.42	0.41	0.43	0.43
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	1.28	0.92	1.08	1.10	1.16	1.24	1.35
赖氨酸 Lys	2.49	2.69	2.60	2.57	2.60	2.56	2.55
苏氨酸 Thr	1.78	1.94	1.92	1.87	1.89	1.92	1.93
色氨酸 Trp	0.41	0.42	0.42	0.41	0.41	0.42	0.42
精氨酸 Arg	2.39	3.18	2.63	2.83	2.61	2.60	2.59
异亮氨酸 Ile	1.31	1.37	1.35	1.35	1.37	1.36	1.34
亮氨酸 Leu	3.03	3.11	3.14	3.13	3.15	3.09	3.09
缬氨酸 Val	1.99	2.03	2.01	2.05	2.06	2.00	2.01
组氨酸 His	1.13	1.23	1.19	1.19	1.20	1.17	1.17
苯丙氨酸 Phe	1.86	1.96	1.98	1.97	1.99	1.96	1.96

## 1.2 饲养管理

试验在国家水产饲料安全评价基地(北京, 南口)室内循环流水养殖系统容积为 0.26 m<sup>3</sup> 的圆锥形养殖桶中进行。试验正式开始前, 试验鱼在养殖系统中暂养数周, 暂养期间投喂含 10% 鱼粉的试验饲料。随机挑选体质健康、个体均匀的幼鲤 [平均体重为 (16.7±0.08) g], 随机分为 7 组, 每组 6 个重复, 每个重复(桶)30 尾, 分别饲喂 1 种试验饲料, 以饲喂含 10% 鱼粉饲料的组为正对照组 (FM 组), 试验期为 10 周。每天表观饱食投喂 2 次, 投喂时间分别为 08:00、16:00。定期检测水

质, 水质条件保持在溶氧(DO)浓度>7.0 mg/L, 总氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)浓度<0.3 mg/L, pH=7.5~8.5, 水温保持在(20±3) °C。试验期间记录每日摄食量。

## 1.3 样品采集和指标检测

试验结束时, 每桶鱼饥饿 24 h 后称重, 统计摄食量, 计算生长指标。每桶随机取 6 尾鱼, 三氯叔丁醇(300 mg/L)麻醉后测量体长、体重, 然后尾静脉取血, 取内脏和肝脏称重, 用于计算形体指标。血液采用氟化钠草酸钾抗凝, 在 4 °C、4 000 r/min 的条件下离心 10 min, 取上层血浆保存在 -80 °C 冰箱中待测。每桶另取 3 尾鱼, 70 °C 烘干后粉碎

待测体成分。饲料和全鱼样品分别采用 105 ℃ 常压干燥法 (GB/T 6435—2014)、凯氏定氮法 (GB/T 6432—2018)、550 ℃ 灼烧法 (GB/T 6438—2007)、反相高效液相色谱法 (GB/T 18246—2000) 测定水分、粗蛋白质、粗灰分、氨基酸含量。饲料中粗脂肪含量采用 GB/T 6433—2006 所述方法测定, 总能采用氧弹仪燃烧法 (GB/T 213—2008) 测定, Met-Met 含量采用 AOAC (2005) [20] 中方法测定。

血浆生化指标包括总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、葡萄糖 (GLU)、尿素氮 (UN) 含量以及谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 活性; 血浆抗氧化指标包括丙二醛 (MDA) 含量、总抗氧化能力 (T-AOC)、谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 活性。其中 TC、TG、HDL-C 含量测定试剂盒购自浙江东瓯诊断产品有限公司, 其余指标测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所。按说明书所述方法使用酶标仪 (Bio-Tek, 美国) 对各指标进行检测。

#### 1.4 计算公式

$$\text{存活率 (SR, \%)} = 100 \times N_t / N_0;$$

$$\text{增重率 (WGR, \%)} = 100 \times (W_0 - W_t + W_d) / W_0;$$

$$\text{特定生长率 (SGR, \% / d)} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t;$$

$$\text{饲料系数 (FCR)} = C / (W_t + W_d - W_0);$$

$$\text{摄食率 (FR, \% / d)} = 100 \times C / [(W_0 + W_t + W_d) / 2] / t;$$

$$\text{蛋白质沉积率 (PRR, \%)} = 100 \times (W_t \times B_{pt} - W_0 \times B_{p0}) / (C \times D_p);$$

$$\text{氨基酸沉积率 (\%)} = 100 \times (W_t \times B_{aat} - W_0 \times B_{aa0}) / (C \times DM \times D_{aa});$$

$$\text{肥满度 (CF, g/cm}^3\text{)} = \text{平均体重 (g)} / \text{平均体长 (cm)}^3;$$

$$\text{脏体指数 (VSI, \%)} = 100 \times \text{内脏重 (g)} / \text{全鱼重 (g)};$$

$$\text{肝胰指数 (HSI, \%)} = 100 \times \text{肝脏重 (g)} / \text{全鱼重 (g)}。$$

式中:  $N_0$  为初始鱼数量 (尾);  $N_t$  为终末鱼数量 (尾);  $W_0$  为初始体总重 (g);  $W_t$  为终末鱼体总重 (g);  $W_d$  为死亡鱼体总重 (g);  $C$  为摄食量 (g);  $t$  为养殖天数;  $B_{aat}$  为终末鱼体氨基酸含量 (%);  $B_{aa0}$  为初始鱼体氨基酸含量 (%);  $D_{aa}$  为饲料氨基酸含量 (%);  $DM$  为饲料干物质含量 (%);  $B_{pt}$  为终末鱼

体粗蛋白质含量 (%);  $B_{p0}$  为初始鱼体粗蛋白质含量 (%);  $D_p$  为饲料粗蛋白质含量 (%)。

#### 1.5 数据统计与分析

试验数据以平均值  $\pm$  标准误 (mean  $\pm$  SE) 表示, 所有数据用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 并采用 Duncan 氏法进行组间多重比较, 显著性水平为  $P < 0.05$ 。幼鲤的 Met 需求量用一元二次线性回归模型 ( $y = ax^2 + bx + c$ ; 其中  $y$  代表相应指标,  $x$  代表饲料 Met 含量,  $a$  代表方程截距,  $b$  代表线性项系数,  $c$  代表二次项系数) 和折线回归模型 ( $y = a + bx$ ; 其中  $y$  代表相应指标,  $x$  代表饲料 Met 含量,  $a$  代表线性回归截距,  $b$  代表线性回归斜率) 确定 [21], 回归模型使用 GraphPad Prism 6.0 进行分析与绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤生长性能和形体指标的影响

饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤生长性能的影响见表 3。试验各组存活率均大于 99%。与 M0 组 (未添加 Met-Met 组) 相比, 各 Met-Met 添加组幼鲤的末均重、增重率、特定生长率均显著增加 ( $P < 0.05$ ), 而饲料系数均显著降低 ( $P < 0.05$ )。此外, M0 组幼鲤的摄食率显著高于除 M4 组外的其余各组 ( $P < 0.05$ )。各 Met-Met 添加组幼鲤的摄食率与 FM 组没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。当饲料中 Met-Met 添加量达到 2.5 g/kg 时, 增重率和特定生长率达到最大且饲料系数最低, 生长性能优于 FM 组 (饲料中含 10% 鱼粉的正对照组)。对增重率 ( $y$ ) 和饲料 Met 含量 ( $x$ ) 进行一元二次回归模型分析, 如图 1 所示, 通过回归方程  $y = -853.29x^2 + 1389.6x - 252.57$  ( $R^2 = 0.9714$ ) 可知, 在饲料 Met 含量达到 8.1 g/kg 时, 增重率最高, 据此获得幼鲤的 Met 需求量为 8.1 g/kg; 对饲料系数 ( $y$ ) 和饲料 Met 含量 ( $x$ ) 进行一元二次回归模型分析, 如图 2 所示, 通过回归方程 ( $y = 243.73x^2 - 385.22x + 249.19$ ,  $R^2 = 0.9847$ ) 可知, 在饲料 Met 含量为 7.9 g/kg 时, 饲料系数最低, 据此获得幼鲤的 Met 需求量为 7.9 g/kg。

由表 3 可知, 与 M0 组相比, 饲料中添加不同水平 Met-Met 后幼鲤的肝胰指数和脏体指数均有所降低, 其中 M1.5 和 M4 组的肝胰指数以及 M2.5 和 M3 组的脏体指数与 M0 组的差异达到显著水

平 ( $P<0.05$ )。在相近的饲料 Met 含量下, FM 组 与 M3 组的肥满度差异显著 ( $P<0.05$ )。

表 3 饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤生长性能和形体指标的影响

Table 3 Effects of diets with different Met-Met supplemental levels on growth performance and body shape indexes of juvenile common carp ( $n=6$ )

项目 Items	组别 Groups						
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4
存活率 SR/%	99.40±0.57	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	99.40±0.57
末均重 FBW/g	72.04±1.50 <sup>b</sup>	58.33±1.25 <sup>a</sup>	71.75±1.24 <sup>b</sup>	71.35±0.87 <sup>b</sup>	76.72±1.70 <sup>c</sup>	75.50±1.48 <sup>bc</sup>	74.65±2.14 <sup>bc</sup>
增重率 WGR/%	290.43±7.06 <sup>b</sup>	217.83±7.07 <sup>a</sup>	291.09±6.13 <sup>b</sup>	288.59±4.55 <sup>b</sup>	317.06±8.89 <sup>c</sup>	309.58±7.97 <sup>bc</sup>	304.07±12.80 <sup>bc</sup>
特定增长率 SGR/(%/d)	1.84±0.02 <sup>b</sup>	1.56±0.03 <sup>a</sup>	1.84±0.02 <sup>bc</sup>	1.84±0.02 <sup>b</sup>	1.93±0.03 <sup>c</sup>	1.91±0.03 <sup>bc</sup>	1.88±0.04 <sup>bc</sup>
摄食率 FR/(%/d)	1.62±0.25 <sup>a</sup>	1.70±0.24 <sup>b</sup>	1.62±0.16 <sup>a</sup>	1.60±0.17 <sup>a</sup>	1.61±0.25 <sup>a</sup>	1.62±0.02 <sup>a</sup>	1.63±0.40 <sup>ab</sup>
饲料系数 FCR	1.01±0.01 <sup>b</sup>	1.21±0.01 <sup>a</sup>	1.01±0.01 <sup>b</sup>	1.00±0.01 <sup>b</sup>	0.97±0.01 <sup>b</sup>	0.99±0.01 <sup>b</sup>	1.00±0.03 <sup>b</sup>
肥满度 CF/(g/cm <sup>3</sup> )	2.16±0.03 <sup>c</sup>	1.99±0.06 <sup>ab</sup>	2.07±0.03 <sup>abc</sup>	2.12±0.04 <sup>bc</sup>	2.06±0.04 <sup>abc</sup>	1.96±0.07 <sup>a</sup>	2.00±0.03 <sup>ab</sup>
脏器指数 VSI/%	10.52±0.72 <sup>ab</sup>	11.44±0.34 <sup>b</sup>	9.79±0.36 <sup>ab</sup>	9.85±0.25 <sup>ab</sup>	10.71±0.90 <sup>b</sup>	11.17±0.43 <sup>b</sup>	9.00±0.26 <sup>a</sup>
肝胰指数 HSI/%	2.25±0.11 <sup>b</sup>	2.21±0.06 <sup>b</sup>	1.81±0.08 <sup>a</sup>	2.00±0.09 <sup>ab</sup>	1.91±0.14 <sup>ab</sup>	1.99±0.15 <sup>ab</sup>	1.84±0.13 <sup>a</sup>

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ), while with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same as below.

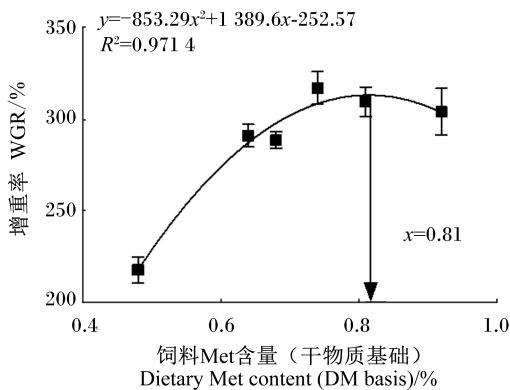


图 1 饲料 Met 含量与幼鲤增重率的回归关系

Fig.1 Regression relationship between dietary Met content and WGR of juvenile common carp

## 2.2 饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤体成分、全鱼必需氨基酸含量以及蛋白质、必需氨基酸、Met 和 Lys 沉积率的影响

饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤体成分的影响见表 4。与 M0 组相比, 饲料中添加不同水平 Met-Met 均可增加全鱼水分含量, 其中 M1.5 组

与对照组的差异达到显著水平 ( $P<0.05$ ), 但对全鱼粗蛋白质含量无显著影响 ( $P>0.05$ )。M0 组全鱼粗灰分含量显著高于其余各组 ( $P<0.05$ ), 其余各组间差异不显著 ( $P>0.05$ )。

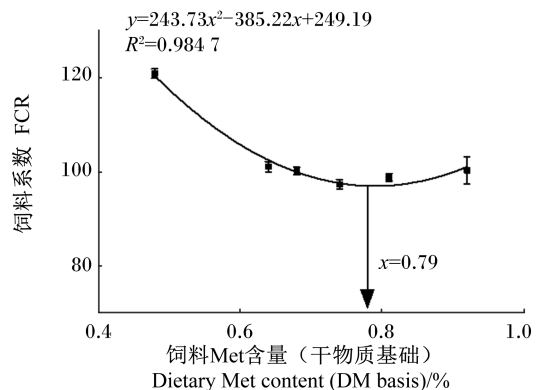


图 2 饲料 Met 含量与幼鲤饲料系数的回归关系

Fig.2 Regression relationship between dietary Met content and FCR of juvenile common carp

饲料中添加不同水平 Met-Me 对幼鲤全鱼必需氨基酸含量的影响见表 5。与 M0 组相比, 饲料

中添加不同水平 Met-Met 均可显著增加全鱼中 Met、Met+Cys、赖氨酸(Lys)、色氨酸(Trp)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、缬氨酸(Val)、组氨酸(His)的含量( $P<0.05$ ),但各 Met-Met 添加组之间

无显著差异( $P>0.05$ ),且各 Met-Met 添加组与 FM 组也没有显著差异( $P>0.05$ )。M0 组全鱼中 Thr 含量显著低于 M3、M4 组( $P<0.05$ ),其他组间差异不显著( $P>0.05$ )。

表 4 饲料中添加不同水平 Met-Me 对幼鲤体成分的影响

Table 4 Effects of diets with different Met-Met supplemental levels on body composition of juvenile common carp ( $n=3$ )%

项目 Items	组别 Groups						
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4
水分 Moisture	72.61±1.00 <sup>ab</sup>	71.53±0.48 <sup>a</sup>	75.53±2.01 <sup>b</sup>	73.02±0.48 <sup>ab</sup>	72.29±0.28 <sup>ab</sup>	73.26±0.58 <sup>ab</sup>	73.52±1.23 <sup>ab</sup>
粗蛋白质 CP	14.85±0.52	14.57±0.23	13.45±1.16	14.85±0.09	15.30±0.16	14.89±0.27	14.87±1.09
粗灰分 Ash	2.73±0.10 <sup>a</sup>	3.27±0.10 <sup>b</sup>	2.64±0.46 <sup>a</sup>	2.87±0.17 <sup>a</sup>	2.82±0.14 <sup>a</sup>	2.78±0.04 <sup>a</sup>	2.69±0.17 <sup>a</sup>

表 5 饲料中添加不同水平 Met-Me 对幼鲤全鱼必需氨基酸含量的影响

Table 5 Effects of diets with different Met-Met supplemental levels on essential amino acid contents in whole body of juvenile common carp ( $n=3$ ) %

必需氨基酸 EAA	组别 Groups						
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4
蛋氨酸 Met	1.42±0.05 <sup>b</sup>	1.21±0.09 <sup>a</sup>	1.40±0.03 <sup>b</sup>	1.47±0.07 <sup>b</sup>	1.45±0.03 <sup>b</sup>	1.50±0.02 <sup>b</sup>	1.43±0.04 <sup>b</sup>
半胱氨酸 Cys	0.39±0.02	0.35±0.02	0.38±0.01	0.39±0.01	0.37±0.01	0.39±0.01	0.38±0.01
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	1.80±0.07 <sup>b</sup>	1.55±0.11 <sup>a</sup>	1.79±0.04 <sup>b</sup>	1.86±0.08 <sup>b</sup>	1.82±0.03 <sup>b</sup>	1.89±0.02 <sup>b</sup>	1.81±0.05 <sup>b</sup>
赖氨酸 Lys	4.17±0.14 <sup>b</sup>	3.78±0.27 <sup>a</sup>	4.22±0.07 <sup>b</sup>	4.39±0.15 <sup>b</sup>	4.29±0.02 <sup>b</sup>	4.41±0.06 <sup>b</sup>	4.30±0.03 <sup>b</sup>
苏氨酸 Thr	2.24±0.08 <sup>ab</sup>	2.00±0.11 <sup>a</sup>	2.27±0.04 <sup>ab</sup>	2.28±0.05 <sup>ab</sup>	2.28±0.01 <sup>ab</sup>	2.34±0.05 <sup>b</sup>	2.31±0.02 <sup>b</sup>
色氨酸 Trp	0.49±0.01 <sup>bc</sup>	0.43±0.02 <sup>a</sup>	0.49±0.01 <sup>b</sup>	0.50±0.01 <sup>bc</sup>	0.49±0.01 <sup>b</sup>	0.50±0.01 <sup>bc</sup>	0.51±0.01 <sup>bc</sup>
精氨酸 Arg	3.31±0.12	3.06±0.19	3.42±0.04	3.50±0.11	3.44±0.00	3.25±0.36	3.43±0.03
异亮氨酸 Ile	2.24±0.09 <sup>b</sup>	1.91±0.14 <sup>a</sup>	2.23±0.06 <sup>b</sup>	2.35±0.10 <sup>b</sup>	2.33±0.05 <sup>b</sup>	2.41±0.05 <sup>b</sup>	2.30±0.07 <sup>b</sup>
亮氨酸 Leu	3.66±0.17 <sup>b</sup>	3.14±0.24 <sup>a</sup>	3.69±0.11 <sup>b</sup>	3.89±0.17 <sup>b</sup>	3.82±0.08 <sup>b</sup>	3.95±0.07 <sup>b</sup>	3.76±0.10 <sup>b</sup>
缬氨酸 Val	2.51±0.08 <sup>b</sup>	2.19±0.16 <sup>a</sup>	2.51±0.06 <sup>b</sup>	2.62±0.09 <sup>b</sup>	2.59±0.04 <sup>b</sup>	2.67±0.04 <sup>b</sup>	2.57±0.06 <sup>b</sup>
组氨酸 His	1.75±0.05 <sup>b</sup>	1.48±0.12 <sup>a</sup>	1.78±0.05 <sup>b</sup>	1.86±0.07 <sup>b</sup>	1.81±0.05 <sup>b</sup>	1.88±0.04 <sup>b</sup>	1.85±0.02 <sup>b</sup>

饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤蛋白质、必需氨基酸、Met 和 Lys 沉积率的影响见表 6。鱼体蛋白质沉积率随饲料 Met-Met 添加水平的增加先增加后降低,蛋白质沉积率( $y$ )和饲料 Met 含量( $x$ )进行折线模型分析,如图 3 所示,通过折线模型( $y_1 = 38.23x_1 + 13.641, R_1^2 = 0.7737$ ;  $y_2 = -12.618x_2 + 52.167, R_2^2 = 0.9566$ )可知,饲料 Met 含量为 7.6 g/kg 时,蛋白质沉积率达到最大,据此获得幼鲤的 Met 需求量为 7.6 g/kg。M0 组幼鲤必需氨基酸沉积率显著低于其余各组( $P<0.05$ ); Met 沉积率随 Met-Met 添加量的增加整体呈下降趋势,M0、M1.5、M2、M2.5 组的 Met 沉积率显著高于 FM 组( $P<0.05$ )。除 M1.5 组外,各 Met-Met 添加组 Lys 沉积率均显著高于 M0 组( $P<0.05$ ),

且各 Met-Met 添加组之间以及它们与 FM 组之间均没有显著差异( $P>0.05$ )。

### 2.3 饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤血浆生化及抗氧化指标的影响

饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤血浆生化及抗氧化指标的影响见表 7。各组血浆生化指标(UN、ALB、GLU、TC、TG、TP 含量与 ALT、AST 活性)基本都在参考值范围之内;各组血浆 GLU 含量都处于较低水平;与 M0 组相比,饲料中添加不同水平 Met-Met 均显著降低了血浆 UN 含量( $P<0.05$ ),而 M0 组与 FM 组差异不显著( $P>0.05$ );与 M0 组相比,饲料中添加不同水平 Met-Met 不同程度地增加了血浆 TP 含量,M3、M4 组与 M0 组的差异达到显著水平( $P<0.05$ ),且 M3、

M4 组能获得与 FM 组相当的效果 ( $P>0.05$ )。血浆 ALT 活性随 Met-Met 添加量的增加呈波动变化, M2、M2.5、M3 组显著低于 M0、FM 组 ( $P<0.05$ ), M4 组显著高于 M0、FM 组 ( $P<0.05$ )。M2、M2.5、M3、M4 组血浆 AST 活性显著高于 FM 组 ( $P<0.05$ )。血浆 TC 含量随饲料 Met-Met 添加量的增加基本呈降低趋势, 其中 M1.5、M3、M4 组显著低于 M0 组 ( $P<0.05$ )。M2.5 组血浆 TG 含量最低, 显著低于 M0 组 ( $P<0.05$ )。M2、M3、M4

组血浆 HDL-C 含量显著低于 M0 组 ( $P<0.05$ )。M4 组血浆 HDL-C/TC 显著高于 FM 和 M0 组 ( $P<0.05$ )。与 M0 组相比, 饲料中添加不同水平 Met-Met 不同程度地增加了血浆 T-AOC, 且不同程度地降低了血浆 GST 活性, 其中 M2、M4 组血浆 T-AOC 以及 M2、M2.5、M4 组血浆 GST 活性与 M0 组的差异达到了显著水平 ( $P<0.05$ )。血浆 MDA 含量以 M3 组最低, 显著低于除 M1.5、M4 组外的其余各组 ( $P<0.05$ )。

表 6 饲料中添加不同水平 Met-Me 对幼鲤蛋白质、必需氨基酸、Met 和 Lys 沉积率的影响

Table 6 Effects of diets with different Met-Met supplemental levels on protein, EAA, Met and Lys retention rates of juvenile common carp ( $n=3$ )

项目 Items	组别 Groups						
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4
蛋白质沉积率 PRR	43.28±3.28 <sup>b</sup>	36.35±1.45 <sup>a</sup>	38.66±5.21 <sup>a</sup>	45.57±0.69 <sup>b</sup>	47.81±0.89 <sup>b</sup>	45.88±1.54 <sup>b</sup>	44.66±4.96 <sup>b</sup>
必需氨基酸沉积率 EAA retention rate	34.19±1.22 <sup>b</sup>	28.89±2.01 <sup>a</sup>	33.91±0.70 <sup>b</sup>	34.78±1.19 <sup>b</sup>	34.21±0.35 <sup>b</sup>	34.95±0.75 <sup>b</sup>	33.82±0.53 <sup>b</sup>
蛋氨酸沉积率 Met retention rate	44.21±3.88 <sup>bc</sup>	61.20±6.01 <sup>d</sup>	54.87±4.71 <sup>d</sup>	59.78±2.59 <sup>d</sup>	57.79±0.78 <sup>d</sup>	52.44±2.43 <sup>cd</sup>	42.71±1.75 <sup>bc</sup>
赖氨酸沉积率 Lys retention rate	46.05±4.23 <sup>bc</sup>	33.94±3.24 <sup>a</sup>	40.46±3.82 <sup>ab</sup>	47.55±1.79 <sup>c</sup>	48.79±0.26 <sup>c</sup>	48.90±2.24 <sup>c</sup>	46.19±2.95 <sup>c</sup>

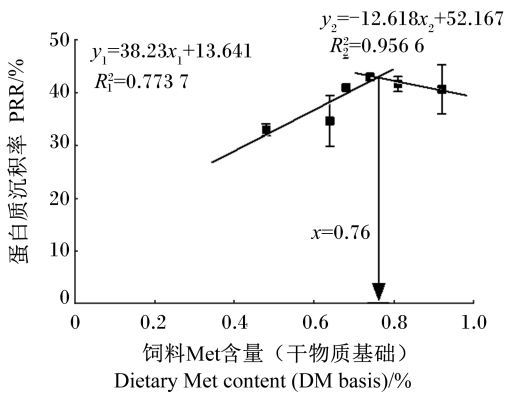


图 3 饲料 Met 含量与幼鲤蛋白质沉积率的回归关系

Fig.3 Regression relationship between dietary Met content and PRR of juvenile common carp

### 3 讨论

#### 3.1 利用 Met-Met 对幼鲤 Met 需求量进行再评估

目前, 鱼类饲料中关于 Met 需求量已有大量报道, 大部分鱼类品种对 Met 需求量均占饲料蛋白质的 2% 左右<sup>[23-25]</sup>。一般看来, 在生长速度较快

的幼鱼期氨基酸需求量要大于成鱼期, 肉食性鱼类<sup>[26]</sup>高于杂食性鱼类<sup>[27]</sup>。对于鲤鱼 Met 需求量的研究, 依据生长性能确定的需求量在 5.3 ~ 12.0 g/kg (占饲料蛋白质的 1.69% ~ 3.73%)<sup>[1,4,28-29]</sup>。已有研究中存在的主要问题是饲料加工工艺脱离实际, 试验鱼的生长性能偏低, 饲料系数偏高 (>2), 对商业鲤鱼饲料配方的指导意义有限。Tang 等<sup>[8]</sup>研究发现, 在含 Cys 3.0 g/kg 的饲料中添加 MHA-Ca 得出建鲤的 Met 需求量达到 12 g/kg, 虽然对 Met 需求量的评定受到投饵率、投饵频率、鱼的规格和品种、试验条件等因素的影响, 但主要原因是该研究在 24% 的鱼粉配方条件下, 经过 8 周试验, 建鲤的特定生长率仅为 1.0 左右, 饲料系数超过 2, 显著低于正常生产水平, 过低的生长性能导致建鲤 Met 需要量的高估。本研究在每天饲喂 2 次的频率下, 幼鲤特定生长率达到 1.84 ~ 1.93, 说明 Met-Met 相比高水溶性的晶体 Met 及 MHA-Ca 在饲喂效果和转化效率上更优。此外, 本研究中试验饲料采用商品饲料中普遍采用的蒸汽调制和环模制粒工艺, 也是

保证幼鲤正常生长的原因之一。通过增重率和饲料系数与饲料 Met 含量的一元二次回归分析得出,饲料 Met 含量达到 7.9~8.1 g/kg 时,即占饲料蛋白质的 2.0%~2.1% 时,生长性能较佳,与 Nose<sup>[1]</sup> 和 NRC(2011) 给出的幼鲤 8.0 g/kg 的 Met 需求量接近。本研究中,饲料中添加 Met-Met 后幼鲤的生长与摄食均得到改善,M2.5 组增重率、特定生长率均显著高于 FM 组。徐美娜<sup>[30]</sup> 研究发现 Met-Met 的生物学效价是 DL-Met 的 150%,这可能是由于 Met-Met 投入水中时溶失率较低<sup>[15]</sup>,并且在消化道内相比晶体形式的 Met 能够更有效地被吸收<sup>[16-18,31-32]</sup>。在罗非鱼的研究发现,饲料中添加适量 DL-Met 可促进罗非鱼脂肪沉积率、肝胰指数下降,导致出肉率下降<sup>[33]</sup>。本试验中,各 Met-Met 添加组相比 M0 与 FM 组,肝胰指数、脏器指数有降低趋势。同样,在大黄鱼上的研究也

发现饲料中添加 Met 寡肽(2~8 肽)相比添加晶体 Met 肝胰指数显著降低,这说明饲料中适量添加小肽形式的 Met 有助于改善幼鲤肝脏形态,促进生长。但是,本研究中,Met-Met 的添加显著提高了幼鲤的蛋白质沉积率,但降低了 Met 沉积率,由于氨基酸利用的木桶效应作用,Met-Met 的添加也提高了幼鲤的 Lys 与必需氨基酸沉积率,这与 Wang 等<sup>[23]</sup> 与贾鹏等<sup>[24]</sup> 研究发现植物性蛋白质源替代鱼粉时添加 DL-Met 或者 MHA-Ca 可以有效提高异育银鲫 Lys 沉积率,促进异育银鲫生长的结果相一致。在相近的饲料 Met 含量下,M2.5 组幼鲤的 Met 沉积率显著高于 FM 组,说明 Met-Met 利用率相比 DL-Met 更好。据此推测,与晶体和其他形式的 Met 相比,饲料中 Met-Met 提供的 Met 与蛋白质源中结合态 Met 的消化吸收特性相似,以 Met-Met 为 Met 来源评估幼鲤 Met 需求量会更加准确。

表 7 饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤血浆生化及抗氧化指标的影响

Table 7 Effects of diets with different Met-Met supplemental levels on plasma biochemical and antioxidant parameters of juvenile common carp ( $n=12$ )

项目 Items	组别 Groups							参考值 Reference values <sup>[22]</sup>
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4	
尿素氮 UN/(mmol/L)	3.24±0.22 <sup>c</sup>	3.33±0.37 <sup>c</sup>	2.64±0.13 <sup>b</sup>	2.22±0.21 <sup>ab</sup>	1.91±0.10 <sup>a</sup>	1.89±0.08 <sup>a</sup>	1.63±0.12 <sup>a</sup>	1~3
白蛋白 ALB/(g/L)	11.51±0.47 <sup>a</sup>	10.31±0.34 <sup>a</sup>	10.67±0.34 <sup>a</sup>	16.23±0.52 <sup>b</sup>	15.24±0.28 <sup>b</sup>	15.40±0.32 <sup>b</sup>	10.28±0.49 <sup>a</sup>	5~20
总蛋白 TP/(g/L)	21.76±0.33 <sup>c</sup>	17.06±0.59 <sup>a</sup>	17.46±0.6 <sup>a</sup>	18.70±0.75 <sup>ab</sup>	18.44±0.77 <sup>a</sup>	20.88±0.74 <sup>c</sup>	20.35±0.42 <sup>bc</sup>	20~40
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	15.9±0.55 <sup>b</sup>	14.51±1.51 <sup>b</sup>	15.81±2.06 <sup>b</sup>	8.94±0.83 <sup>a</sup>	7.17±0.56 <sup>a</sup>	8.40±0.91 <sup>a</sup>	20.01±1.59 <sup>c</sup>	5~32
谷草转氨酶 AST/(U/L)	14.20±1.61 <sup>a</sup>	18.53±1.66 <sup>ab</sup>	18.36±1.53 <sup>ab</sup>	20.80±1.29 <sup>b</sup>	23.96±3.56 <sup>b</sup>	18.17±1.72 <sup>ab</sup>	22.51±1.75 <sup>b</sup>	20~150
葡萄糖 GLU/ (mmol/L)	4.06±0.37 <sup>b</sup>	3.70±0.28 <sup>ab</sup>	3.28±0.41 <sup>ab</sup>	2.74±0.22 <sup>a</sup>	3.46±0.30 <sup>ab</sup>	3.43±0.32 <sup>ab</sup>	3.94±0.19 <sup>b</sup>	3~10
总胆固醇 TC/(mmol/L)	3.65±0.19 <sup>bc</sup>	3.84±0.17 <sup>c</sup>	3.28±0.18 <sup>ab</sup>	3.42±0.17 <sup>abc</sup>	3.37±0.14 <sup>abc</sup>	3.17±0.18 <sup>ab</sup>	3.03±0.19 <sup>a</sup>	1.2~12.0
高密度脂蛋白 胆固醇 HDL-C/ (mmol/L)	2.34±0.16 <sup>ab</sup>	2.71±0.17 <sup>b</sup>	2.27±0.19 <sup>ab</sup>	2.16±0.17 <sup>a</sup>	2.38±0.18 <sup>ab</sup>	2.21±0.11 <sup>a</sup>	2.15±0.15 <sup>a</sup>	
高密度脂蛋白 胆固醇/ 总胆固醇 HDL-C/TC	0.22±0.02 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.03 <sup>ab</sup>	0.25±0.02 <sup>ab</sup>	0.28±0.02 <sup>ab</sup>	0.27±0.02 <sup>ab</sup>	0.31±0.02 <sup>b</sup>	



续表 7

项目 Items	组别 Groups							参考值 Reference values <sup>[22]</sup>
	FM	M0	M1.5	M2	M2.5	M3	M4	
甘油三酯 TG/ (mmol/L)	2.36±0.12 <sup>ab</sup>	2.67±0.26 <sup>ab</sup>	3.29±0.54 <sup>b</sup>	2.07±0.28 <sup>a</sup>	1.92±0.19 <sup>a</sup>	2.60±0.29 <sup>ab</sup>	2.27±0.45 <sup>ab</sup>	1~4
总抗氧化能力 T-AOC/ (U/mL)	3.29±0.15 <sup>ab</sup>	2.91±0.16 <sup>a</sup>	3.37±0.32 <sup>ab</sup>	4.36±0.75 <sup>b</sup>	3.75±0.15 <sup>ab</sup>	3.57±0.19 <sup>ab</sup>	4.08±0.27 <sup>b</sup>	
谷胱甘肽硫 转移酶 GST/(U/mL)	86.60±6.39 <sup>bc</sup>	92.70±4.76 <sup>c</sup>	87.17±3.83 <sup>c</sup>	74.00±2.52 <sup>ab</sup>	72.83±3.08 <sup>a</sup>	82.31±3.33 <sup>abc</sup>	71.51±4.53 <sup>a</sup>	
丙二醛 MDA/ (μmol/mL)	14.60±0.16 <sup>bc</sup>	15.08±0.17 <sup>bc</sup>	13.66±0.22 <sup>ab</sup>	16.95±0.74 <sup>d</sup>	16.07±0.47 <sup>cd</sup>	12.63±1.22 <sup>a</sup>	14.31±0.30 <sup>abc</sup>	

### 3.2 饲料中添加不同水平 Met-Met 对幼鲤血浆生化和抗氧化指标的影响

对必需氨基酸需求量的设定除了要满足水产动物的需求外,还要考虑水产动物健康,血浆生化指标能够直观地反映鱼体生理代谢是否正常<sup>[23]</sup>。Met 及其分解代谢产物可以为体内各种生化反应提供甲基供体,促进肝脏脂肪代谢<sup>[34]</sup>并维持肝脏健康。高密度脂蛋白作为一种血清蛋白,它能够从周边组织转运胆固醇到肝脏中,参与合成胆汁酸<sup>[35]</sup>。HDL-C 作为容易检出的血液指标,其占 TC 的比例代表鱼体脂肪代谢转运系统的状况。饲料中 Met 的分解代谢为肝脏中胆碱的合成提供甲基<sup>[14]</sup>,为脂蛋白的合成提供了足够的磷脂,促进高密度脂蛋白的合成<sup>[36]</sup>;因此,血浆中 HDL/TC 随着饲料中 Met-Met 添加量的升高而升高;同时,各组血浆 TG 和 TC 的含量因 Met-Met 的添加而降低,印证了适量添加 Met-Met 可以促进胆固醇向肝脏运输。在哺乳动物中,食物中缺乏和过量 Met 均会影响肝脏正常脂肪代谢<sup>[37]</sup>,饲料中适量的 Met 会改善动物肝脏健康,这与本试验所得结果类似。血浆 ALT 与 AST 的活性是肝细胞损伤的敏感指标, Met-Met 适量添加组 (M2、M2.5、M3 组) 血浆中 ALT 活性显著低于 M0 和 FM 组,这一现象与在建鲤<sup>[38]</sup>上的研究结果相似。血浆 UN 含量能够间接反映动物体内蛋白质的代谢情况和饲料氨基酸的平衡状况,其含量与氨基酸的利用率或饲料氨基酸的平衡程度呈负相关<sup>[23]</sup>。在相同饲料

Met 含量下, Met-Met 添加组血浆 UN 含量显著低于 FM 组,并且 FM 组饲料中添加了 0.3% 的晶体 DL-Met 作为补充,这种现象可能说明了 Met-Met 的吸收利用率高于晶体 DL-Met,不易造成代谢负担。Met 代谢生成的 Cys 可参与抗氧化物质 GSH 和牛磺酸的合成<sup>[11]</sup>,且其本身的巯基具有氧化还原的特点,使其在机体抗氧化系统中发挥着重要作用<sup>[12-13]</sup>;当肝脏受到过氧化损伤时, GST 和 MDA 大量释放到血液中,是肝脏过氧化损伤的敏感指标。本试验中,幼鲤血浆中 GST 活性和 MDA 含量因 Met-Met 的添加而降低,同时总抗氧化力上升,且适量添加 Met-Met 组的效果好于 FM 组,说明饲料中添加适量 Met-Met 有利于促进幼鲤肝脏健康。

## 4 结论

Met-Met 可以作为幼鲤低鱼粉饲料中有效的 Met 补充剂。分别以增重率、饲料系数和蛋白质沉积率为指标构建回归模型,获得幼鲤 Met 需求量为 7.6~8.1 g/kg (饲料中 Met-Met 添加量为 2.95~3.47 g/kg),占饲料蛋白质的 2.0%~2.1%。饲料中 Met-Met 所提供的 Met 与天然蛋白质源中 Met 在消化吸收与利用上特性相似,以 Met-Met 为来源评估幼鲤 Met 需求量更加准确。

### 参考文献:

[1] NOSE T. Summary report on the requirements of es-

- sential amino acids for carp [ C ]//HALVER J E, TIEWS K. Finfish nutrition and fish feed technology. Berlin:Heinemann, 1979.
- [ 2 ] OGINO C. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids [ J ]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1980, 46 ( 2 ) : 171-174.
- [ 3 ] SCHWARZ F J, KIRCHGESSNER M, DEURINGER U. Studies on the methionine requirement of carp ( *Cyprinus carpio* L. ) [ J ]. Aquaculture, 1998, 161 ( 1/2/3/4 ) : 121-129.
- [ 4 ] 高文,董延, SILVA C. 饲料外源添加 DL-蛋氨酸对鲤鱼生长以及鱼体利用影响 [ J ]. 海洋与渔业·水产前沿, 2013 ( 3 ) : 90-92.
- [ 5 ] 周长海,贾友刚,齐淑艳,等.低鱼粉日粮添加蛋氨酸对幼鲤生长的影响 [ J ]. 水产科学, 2011, 30 ( 4 ) : 206-209.
- [ 6 ] 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.
- [ 7 ] 单玲玲,李小勤,郑小森,等.不同形式蛋氨酸对建鲤生长性能及血清游离氨基酸含量的影响 [ J ]. 水生生物学报, 2015, 39 ( 2 ) : 259-266.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] SARDAR P, ABID M, RANDHAWA H S, et al. Effect of dietary lysine and methionine supplementation on growth, nutrient utilization, carcass compositions and haemato-biochemical status in Indian major carp, Rohu ( *Labeo rohita* H. ) fed soy protein-based diet [ J ]. Aquaculture Nutrition, 2009, 15 ( 4 ) : 339-346.
- [ 10 ] AHMED I, KHAN M A, JAFRI A K. Dietary methionine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* ( Hamilton ) [ J ]. Aquaculture International, 2003, 11 ( 5 ) : 449-462.
- [ 11 ] 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, 127 ( 11 ) : 2135-2141.
- [ 12 ] 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 [ *Onchorhynchus mykiss* ( Walbaum ) ] [ J ]. Aquaculture Research, 2003, 34 ( 14 ) : 1303-1310.
- [ 13 ] HOSHI T, HEINEMANN S H. Regulation of cell function by methionine oxidation and reduction [ J ]. The Journal of Physiology, 2001, 531 ( 1 ) : 1-11.
- [ 14 ] NWANNA L C, LEMME A, METWALLY A, et al. Response of common carp ( *Cyprinus carpio* L. ) to supplemental DL-methionine and different feeding strategies [ J ]. Aquaculture, 2012, 356/357 : 365-370.
- [ 15 ] ZARATE D D, LOVELL R T. Free lysine ( L-lysine · HCl ) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine ( soybean meal ) in practical diets by young channel catfish ( *Ictalurus punctatus* ) [ J ]. Aquaculture, 1997, 159 ( 1/2 ) : 87-100.
- [ 16 ] DABROWSKI K, ARSLAN M, TERJESEN B F, et al. The effect of dietary indispensable amino acid imbalances on feed intake; is there a sensing of deficiency and neural signaling present in fish? [ J ]. Aquaculture, 2007, 268 ( 1/2/3/4 ) : 136-142.
- [ 17 ] DABROWSKI K, LEE K J, RINCHARD J. The smallest vertebrate, teleost fish, can utilize synthetic dipeptide-based diets [ J ]. The Journal of Nutrition, 2003, 133 ( 12 ) : 4225-4229.
- [ 18 ] RØNNESTAD I, CONCEIÇÃO L E C, ARAGÃO C, et al. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval Senegal sole ( *Solea senegalensis* ) [ J ]. The Journal of Nutrition, 2000, 130 ( 11 ) : 2809-2812.
- [ 19 ] FERJANCIC-BIAGINI A, GIARDINA T, PUIGSERVER A. Acylation of food proteins and hydrolysis by digestive enzymes; a review [ J ]. Journal of Food Biochemistry, 1998, 22 ( 4 ) : 331-345.
- [ 20 ] AOAC. Official methods of analysis [ S ]. 18th ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists, 2005.
- [ 21 ] KHAN M A, ABIDI S F. Dietary methionine requirement of Indian major carp fry, *Cirrhinus mrigala* ( Hamilton ) based on growth, feed conversion and nitrogen retention efficiency [ J ]. Aquaculture Research, 2013, 44 ( 2 ) : 268-281.
- [ 22 ] SVOBODOVA Z, PRAVDA D, PALACKOVA J. Unified methods of haematological examination of fish [ R ]. Arlington, Virginia: Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, 1991.
- [ 23 ] WANG X, XUE M, FIGUEIREDO-SILVA C, et al. Dietary methionine requirement of the pre-adult gibel carp ( *Carassius auratus gibelio* ) at a constant dietary

- cystine level[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(3): 509–516.
- [24] 贾鹏, 薛敏, 朱选, 等. 饲料蛋氨酸水平对异育银鲫幼鱼生长性能影响的研究[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(2): 217–226.
- [25] 林仕梅, 麦康森, 谭北平. 实用饲料中添加结晶蛋氨酸对罗非鱼生长、体组成的影响[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(5): 741–749.
- [26] 陈乃松, 马建忠, 周恒永, 等. 大口黑鲈对饲料中蛋氨酸需求量的评定[J]. *水产学报*, 2010, 34(8): 1244–1253.
- [27] KASPER C S, WHITE M R, BROWN P B. Choline is required by tilapia when methionine is not in excess[J]. *The Journal of Nutrition*, 2000, 130(2): 238–242.
- [28] 肖伟伟, 冯琳, 刘扬, 等. 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[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(4): 1122–1130.
- [29] SUPRAYUDI M A, INARA C, EKASARI J, et al. Preliminary nutritional evaluation of rubber seed and defatted rubber seed meals as plant protein sources for common carp *Cyprinus carpio* L. juvenile diet[J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(12): 2972–2981.
- [30] 徐美娜. 鲤鱼饲料蛋氨酸需求量的研究[D]. 硕士学位论文. 大连: 大连海洋大学, 2011.
- [31] MURAI T, OGATA H, HIRASAWA Y, et al. Portal absorption and hepatic uptake of amino acids in rainbow trout force-fed complete diets containing casein or crystalline amino acids[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1987, 53(10): 1847–1859.
- [32] COWEY C B, WALTON M J. Studies on the uptake of (<sup>14</sup>C) amino acids derived from both dietary (<sup>14</sup>C) protein and dietary (<sup>14</sup>C) amino acids by rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson[J]. *Journal of Fish Biology*, 1988, 33(2): 293–305.
- [33] MICHELATO M, FURUYA W M, GRACIANO T S, et al. Digestible methionine + cystine requirement for Nile tilapia from 550 to 700 g[J]. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2013, 42(1): 7–12.
- [34] BROSANAN J T, BROSANAN M E. The sulfur-containing amino acids: an overview[J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(Suppl.6): 1636S–1640S.
- [35] NOGA A A, VANCE D E. A gender-specific role for phosphatidylethanolamine N-methyltransferase-derived phosphatidylcholine in the regulation of plasma high density and very low density lipoproteins in mice[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(24): 21851–21859.
- [36] OBEID R, HERRMANN W. Homocysteine and lipids: S-adenosyl methionine as a key intermediate[J]. *FEBS Letters*, 2009, 583(8): 1215–1225.
- [37] TOUE S, KODAMA R, AMAO M, et al. Screening of toxicity biomarkers for methionine excess in rats[J]. *The Journal of Nutrition*, 2006, 136(Suppl.6): 1716S–1721S.
- [38] FENG L, XIAO W W, LIU Y, et al. Methionine hydroxy analogue prevents oxidative damage and improves antioxidant status of intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(6): 595–604.

## Effectiveness of Methionine Dipeptide in Juvenile Common Carp Diet and Methionine Requirement of Juvenile Common Carp Re-Evaluated by Methionine Dipeptide

YIN Ziyu<sup>1</sup> HE Juyun<sup>2</sup> LIANG Xiaofang<sup>1,3</sup> XUE Min<sup>1,3\*</sup> ZHENG Yinhua<sup>1</sup>  
GU Xu<sup>1</sup> WU Xiufeng<sup>1</sup>

(1. National Aquafeed Safety Assessment Station, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2. Evonik Degussa (China) Co., Ltd., Branch Company in Guangzhou, Guangzhou 510050, China; 3. Key Laboratory of Feed Biotechnology of Ministry of Agriculture, Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** This experiment was aim to evaluate the effectiveness of methionine dipeptide (Met-Met) in juven-

ile common carp diet and to determine the methionine (Met) requirement of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) by adding different levels of Met-Met into the diet. Juvenile common carp with the body weight of  $(16.70 \pm 0.08)$  g randomly assigned to 7 groups with 6 replicates per group and 30 juvenile fish per replicate. Using pea concentrated protein as protein source, six experimental diets supplemented with 0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 and 4.0 g/kg Met-Met were prepared based on a low Met diets with 4.8 g/kg Met and 4.4 g/kg cysteine (Cys) to fed fish in 6 groups, which was named as M0, M1.5, M2, M2.5, M3 and M4 groups, respectively. Fish in the last group were fed a diet contained 10% fish meal and supplemented with 3.0 g/kg crystal DL-Met, which was named as FM group (positive control group). The feeding trial lasted for 10 weeks. The results showed as follows: compared with M0 group, the final average body weight, weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) were significantly increased and the feed conversion ratio (FCR) was significantly decreased in each Met-Met group ( $P < 0.05$ ). Taking WGR and FCR as assessment indexes, the Met requirements of juvenile common carp were 8.1 and 7.9 g/kg according to monodic quadratic regression model analysis, respectively. Taking protein retention rate (PRR) as assessment index, the Met requirement of juvenile common carp was 7.6 g/kg according to broken-line regression analysis. Diets supplemented with different levels of Met-Met all could significantly increase the contents of Met, Met+Cys, lysine (Lys), tryptophan (Trp), isoleucine (Ile), leucine (Leu), valine (Val) and histidine (His) in whole body, but there were no significant differences between each Met-Met group and FM group ( $P > 0.05$ ). Essential amino-acid retention rate in M0 group was significantly lower than that in other groups ( $P < 0.05$ ). Met retention rate showed a decrease trend with the Met-Met supplemental level increasing, and the Met retention rate in M0, M1.5, M2 and M2.5 groups was significantly higher than that in FM group ( $P < 0.05$ ). Lys retention rate in M0 group was significantly lower than that in Met-Met groups except M1.5 group ( $P < 0.05$ ), and there was no significant difference between each Met-Met group and FM group ( $P > 0.05$ ). Plasma high density lipoprotein cholesterol (HDL-C)/total cholesterol (TC) in M4 group was significantly higher than that in FM and M0 groups ( $P < 0.05$ ). Plasma total antioxidant capacity (T-AOC) in M2 and M4 groups was significantly higher than that in M0 group ( $P < 0.05$ ). Plasma malondialdehyde (MDA) content in M3 group was the lowest, which was significantly lower than that in other groups except M1.5 and M4 groups ( $P < 0.05$ ). In conclusion, suitable level of Met-Met added into a Met deficiency diet with 4.8 g/kg Met can effectively promote the growth and feeding, improve the transport and metabolism of lipid, and increase antioxidant ability of juvenile common carp. Met requirement of juvenile common carp is estimated to be 7.6 to 8.1 g/kg (the supplemental level of Met-Met in the diet is 2.95 to 3.47 g/kg), which account for 2.0% to 2.1% dietary protein, by regression analysis base on WGR, FCR and PRR. The Met supplied by Met-Met has the similar characteristics in digestion, absorption and utilization with the Met from natural protein source. So, it is can be more accurate to evaluate the Met requirement of juvenile common carp using Met-Met. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31 (6):2765-2776]

**Key words:** juvenile common carp (*Cyprinus carpio*); Met-Met; Met requirement; growth performance; regression model; re-evaluation