

文章编号: 1000-0615(2017)12-1908-11

DOI: 10.11964/jfc.20161210663

## 饲料羟基蛋氨酸钙、DL-蛋氨酸对花鲈生长、抗氧化能力及肠道蛋白酶活性的影响

张树威, 鲁康乐, 宋凯, 王玲, 张春晓\*

(集美大学水产学院, 厦门市饲料检测与安全评价重点实验室, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 本实验研究了饲料羟基蛋氨酸钙(MHA)与DL-蛋氨酸(DLM)对花鲈生长、抗氧化能力及肠道蛋白酶活性的影响, 旨在比较两种外源蛋氨酸的生物效价及在饲料中适宜的蛋氨酸添加水平。饲料中添加外源蛋氨酸有效含量为0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%的MHA或DLM, 配制9种实验饲料(对照组、MHA 0.2、MHA 0.4、MHA 0.6、MHA 0.8、DLM 0.2、DLM 0.4、DLM 0.6和DLM 0.8)。用该9种饲料分别投喂初始体质量为(5.67±0.05)g的花鲈8周后, 采集样品进行分析。结果显示, 蛋氨酸形式与水平均显著影响鱼体增重率、特定生长率, 随饲料蛋氨酸水平的增加, 鱼体增重率呈先升高后降低的趋势, 并在蛋氨酸添加量为0.6%时达到最大值; 此外, 羟基蛋氨酸钙组鱼体增重率均高于同水平DL-蛋氨酸组。蛋氨酸水平显著影响饲料系数与鱼体组成, 饲料系数与鱼体粗脂肪含量随蛋氨酸水平升高呈现先降低后升高的趋势, 而粗蛋白与此相反, 水分与灰分则差异不显著。随蛋氨酸水平的升高, 肝脏超氧化物歧化酶(SOD)与对照组相比呈升高的趋势, 过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)活性呈先升高后降低的趋势, 而还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)与之相反。随蛋氨酸水平的升高, 血清谷丙转氨酶(ALT)的含量先降低后升高, 胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷草转氨酶(AST)的活性与对照组相比呈降低的趋势。蛋氨酸添加组溶菌酶(LZM)的活性显著高于对照组。随饲料蛋氨酸水平的增加, 肠道蛋白酶活性均呈先升高后降低的趋势, 并在0.6%添加量时达到最高。研究表明, 饲料添加外源蛋氨酸会显著促进花鲈的生长, 其中添加0.6%水平的蛋氨酸, 花鲈的增重率和特定生长率最高; 对特定生长率与饲料蛋氨酸水平进行回归分析, 得出花鲈饲料适宜的蛋氨酸水平为1.57%; 以特定生长率为评价指标, 羟基蛋氨酸钙的生物学效价为DL-蛋氨酸的134.15%; 添加外源蛋氨酸可以提高花鲈肝脏抗氧化能力, 有利于鱼体的肝脏健康。

**关键词:** 花鲈; DL-蛋氨酸; 羟基蛋氨酸钙; 抗氧化能力; 生物学效价

**中图分类号:** S 963.73

**文献标志码:** A

蛋氨酸是水产动物的必需氨基酸, 且具有重要生物学功能, 包括参与体内蛋白质合成, 促进水产动物的生长、发育<sup>[1-2]</sup>, 防止脂肪肝等疾病的产生等<sup>[3-4]</sup>; 当蛋氨酸不足时, 会导致养殖鱼类生长抑制等不利影响<sup>[5]</sup>。特别是以植物性蛋白源为主的饲料, 蛋氨酸通常是第一限制氨

基酸<sup>[6]</sup>。目前, 在畜牧生产和水产养殖中, 广泛使用合成蛋氨酸类添加剂, 以补充饲料中蛋氨酸的不足<sup>[7]</sup>; 其中, DL-蛋氨酸与蛋氨酸羟基类似物是最常见的2种蛋氨酸商品形式<sup>[8]</sup>。有研究发现虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)对羟基蛋氨酸钙的利用效果不如DL-蛋氨酸<sup>[9]</sup>, 在肉鸡上的研究表

收稿日期: 2016-12-26 修回日期: 2017-04-22

资助项目: 国家自然科学基金(31572625); 现代农业产业技术体系专项(CARS-47)

通信作者: 张春晓, E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

明,羟基蛋氨酸钙的生物效价仅为DL-蛋氨酸的60%<sup>[10]</sup>;但在蛋鸡上的研究表明,液体羟基蛋氨酸钙的生物学效价与DL-蛋氨酸相同<sup>[11]</sup>;而在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)上的研究表明,羟基蛋氨酸类似物较DL-蛋氨酸有更好的生长效果<sup>[6]</sup>。由于众多研究结果不一致,并且蛋氨酸的生产工艺也在不断更新,因此有必要对其生物学效价再次进行评价。

花鲈(*Lateolabrax japonicus*)又称为海鲈、七星鲈、寨花等,由于其为广温、广盐性鱼类,其味道鲜美、营养价值高<sup>[12]</sup>,被广泛养殖<sup>[13]</sup>,2016年其年产量已达13.94万t,是我国养殖产量较高的海水鱼类<sup>[14]</sup>。目前,花鲈蛋氨酸需求量的基础数据尚缺乏,并且花鲈能否有效利用晶体或其他形式的外源蛋氨酸还不清楚;基于此,本实验采用常见的2种蛋氨酸(DL-蛋氨酸与羟基蛋氨酸钙)为蛋氨酸源,研究饲料不同蛋氨酸水平对花鲈生长、抗氧化能力及血清生化指标的影响,旨在比较两种外源蛋氨酸的生物学效价,并为蛋氨酸在花鲈饲料中的合理使用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

本实验选用鱼粉、豆粕为主要蛋白源,鱼油、豆油、卵磷脂为主要脂肪源,制作等氮等能的基础饲料。并在此基础上分别添加DL-蛋氨酸、羟基蛋氨酸钙,并以花鲈鱼体氨基酸含量为标准,在基础饲料中添加相应的晶体氨基酸,使蛋氨酸以外的其他必需氨基酸达到鱼体氨基酸水平;其中添加蛋氨酸的有效量分别为0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%,配制成9种饲料。各组饲料配方表见表1。

将各种原料粉碎过筛,根据饲料配方表称取各原料,逐级、充分混匀后,加适量的水制粒,制作两种不同直径(2.5和4.0 mm)的颗粒饲料,制粒后将饲料放置烘箱中45℃烘12 h,冷却后,装入自封袋保存于-20℃冰箱中待用。

### 1.2 实验鱼与饲养管理

本实验所用鱼苗来自厦门市某花鲈育苗场,养殖实验在集美大学水产实验场的室内循环系统中进行。将花鲈鱼苗运至实验场后,先

暂养于体积为1000 L的实验缸中,暂养期为1个月。在此期间投喂商品饲料,在实验正式开始之前用对照组饲料驯化1周。

驯化后,挑选405尾体质健壮、规格均一的花鲈(5.67±0.05) g,随机分到27个循环水养殖缸中,每缸15尾,每个处理设3个重复。每天投喂2次(8:30和17:30),每次投喂至大多数鱼不再采食为止,记录每缸鱼的摄食量。养殖实验周期为8周,期间水质条件:水温25~30℃,溶解氧≥6 mg/L,盐度为25.0~28.0 g/L,光照为自然光照。

### 1.3 样品采集与分析测定

**样品采集** 实验开始前,从暂养鱼群中随机取10条,测定体长和体质量,然后保存在-20℃冰箱内作为分析实验初始鱼体组成的样品。养殖实验结束后,禁食24 h,用丁香酚麻醉(1:10 000),将每缸中的鱼捞出、称量并计数。每缸随机取6尾鱼,尾静脉采血,分离血清。并采其肠道、肝脏放入冻存管中,立即液氮冷冻,然后于-80℃保存。将剩余的鱼称重后保存在-20℃冰箱中,用于分析鱼体组成。

**样品分析及测定** 饲料原料、饲料及鱼全体的常规营养成分(除蛋白质以外)采用AOAC<sup>[15]</sup>的方法进行分析。水分的测定,105℃的烘箱中烘至恒重;粗蛋白的测定采用杜马斯燃烧法定氮,测定仪器为全自动定氮仪(elementar, rapid N EXCEED);粗脂肪的测定采用索氏抽提仪;灰分的测定采用马弗炉灰化法,550℃灼烧8 h;饲料各组氨基酸组成由谱尼测试集团完成,其中,色氨酸用碱水解法测定,其余采用酸水解法测定。饲料氨基酸组成见表2。

谷胱甘肽还原酶(GR)、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、溶菌酶(LZM)采用南京建成试剂盒测定。其中GR采用紫外比色法,LZM采用比浊法,SOD采用羟胺法,GSH采用微板法,MDA采用TBA法,CAT采用可见光法测定。肠道蛋白酶采用国标法测定(SB/T 10317-1999)<sup>[16]</sup>。胆固醇(TC)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、甘油三酯(TG)采用生化分析仪(Selectra ProXL)来测定。

### 1.4 计算公式

$$\text{成活率}(\text{survival rate, SR, \%})=100 \times N_t / N_0$$

表 1 花鲈饲料配方及营养成分  
Tab. 1 Formulation and nutrient composition of the experimental diets %

原料 ingredients	对照组 control	MHA 0.2	MHA 0.4	MHA 0.6	MHA 0.8	DLM 0.2	DLM 0.4	DLM 0.6	DLM 0.8
鱼粉 fish meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
豆粕 soybean meal	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00	44.00
面粉 wheat flour	21.78	21.74	21.70	21.67	21.63	21.78	21.78	21.78	21.78
混合油 <sup>1</sup> mix oil	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90	8.90
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
预混料 <sup>2</sup> premix	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30	1.30
其他 <sup>3</sup> others	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
羧基蛋氨酸钙 <sup>4</sup> calcium 2-hydroxy-4-(methylthio) butyrate		0.24	0.48	0.71	0.95				
晶体DL-蛋氨酸 <sup>5</sup> DL-methionine						0.20	0.40	0.60	0.80
甘氨酸 glycine	0.80	0.60	0.40	0.20		0.60	0.40	0.20	
氨基酸混合物 <sup>6</sup> crystalline amino acid premix	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52	1.52
<b>营养水平(干物质基础) nutrient levels (DM basis)</b>									
粗蛋白 crude protein	45.89	45.63	44.85	45.05	45.10	45.43	45.00	45.41	45.25
粗脂肪 crude lipid	10.60	9.68	9.39	10.03	9.24	9.96	9.70	9.24	9.49
蛋氨酸 methionine	1.09	1.29	1.49	1.69	1.89	1.36	1.54	1.68	2.00

注: 1. 混合油: 鱼油3.5%, 豆油3.4%, 卵磷脂 2%; 2. 预混料: 复合矿物质(mg/kg饲料): 一水硫酸镁 4000 mg, 一水硫酸锰50 mg, 碘化钾(1%) 100 mg, 氯化钴(1%) 100 mg, 五水硫酸铜20 mg, 一水硫酸亚铁 260 mg, 一水硫酸锌150 mg, 亚硒酸钠(1%) 50 mg; 维生素混合物(mg或g/kg饲料): 硫胺素25 mg, 核黄素45 mg, 盐酸吡哆醇20 mg, 维生素B<sub>12</sub> 0.1 mg, 维生素K<sub>3</sub> 10 mg, 肌醇800 mg, 泛酸60 mg, 烟酸200 mg, 叶酸 20 mg, 生物素 1.2 mg, 维生素A乙酸酯32 mg, 维生素D<sub>3</sub> 5 mg, α-生育酚120 mg, 乙氧基喹啉150 mg, 胆碱(50%) 5000 mg; 3. 其他: 防霉剂0.015%, 抗氧化剂0.05%; 4. 羧基蛋氨酸钙: 羧基蛋氨酸含量84%, 由安迪苏生命科学制品(上海)有限公司提供; 5. DL-蛋氨酸: 由安迪苏生命科学制品(上海)有限公司提供; 6. 氨基酸混合物含量: 缬氨酸 0.25%, 赖氨酸 0.83%, 异亮氨酸 0.16%, 精氨酸 0.07%, 亮氨酸 0.21%

Notes: 1. mix oil: fish oil 3.5%, soybean oil 3.4%, soybean lecithin 2%. 2. premix: mineral premix (mg/kg diet): MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 4000 mg, Mn·H<sub>2</sub>O 50 mg, KI(1%) 100 mg, CoCl<sub>2</sub> (1%) 100 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 20 mg, FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 260 mg, ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 150 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (1%) 50 mg; vitamin premix (mg or g/kg diet): thiamin 25 mg, riboflavin 45 mg, hydrochloric acid pyridoxine 20 mg, vitamin B<sub>12</sub> 0.1 mg, vitamin K<sub>3</sub> 10 mg, inositol 800 mg, pantothenic acid 60 mg, nicotinic acid 200 mg, folic acid 20 mg, biotin 1.2 mg, retinal acetate 32 mg, vitamin D<sub>3</sub> 5 mg, alpha tocopherol 120 mg, ethoxy quinoline 150 mg, choline chloride 5000 mg. 3. others: mold inhibitor 0.015%, antioxidants 0.05%. 4. calcium-2-hydroxy-4-(methylthio)butyrate content 84%, supplied by Adisso (Shanghai) Co., Ltd. 5. DL-methionine: supplied by Adisso (Shanghai) Co., Ltd. 6. crystalline amino acid premix: valine 0.25%, lysine 0.83%, isoleucine 0.16%, arginine 0.07%, leucine 0.21%

$$\text{增重率(weight gain ratio, WGR, \%)}=100 \times (W_t - W_0) / W_0$$

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

$$\text{饲料系数(feed conversion ratio, FCR, \%)}=W_f / (W_t - W_0)$$

$$\text{氮保留率(nitrogen retention rate, NR, \%)}=100 \times (W_t \times P_t - W_0 \times P_0) / W_p$$

式中,  $N_t$ 为终末尾数,  $N_0$ 为初始尾数,  $W_t$ 为终末均重(g),  $W_0$ 为初始均重(g),  $t$ 为饲养天数(d),

$W_f$ 为平均每尾摄食饲料重(干重, g),  $P_t$ 为终末体蛋白质含量(g),  $P_0$ 为初始体蛋白质含量(g),  $W_p$ 为蛋白质摄入量(g)。

### 1.5 数据处理

用SPSS 22分析软件分别进行双因素方差分析(Two-Way ANOVA), 数据差异显著时, 采用Tukey检验法进行多重比较, 差异水平定为 $P < 0.05$ 。实验结果采用平均值±标准误(mean±SE)表示, 每个处理3个重复。

表 2 实验饲料各组氨基酸组成(干物质)  
Tab. 2 Amino acid composition of the experimental diets (dry-matter basis) %

氨基酸 amino acid	对照组 control	MHA 0.2	MHA 0.4	MHA 0.6	MHA 0.8	DLM 0.2	DLM 0.4	DLM 0.6	DLM 0.8
天门冬氨酸 Asp	3.29	3.37	3.42	3.29	3.33	3.34	3.35	3.24	3.35
苏氨酸 Thr	1.36	1.44	1.49	1.42	1.41	1.43	1.41	1.37	1.48
丝氨酸 Ser	1.59	1.71	1.63	1.51	1.62	1.67	1.56	1.57	1.66
谷氨酸 Glu	6.39	6.47	6.50	6.29	6.50	6.35	6.26	6.30	6.49
脯氨酸 Pro	4.35	4.36	4.76	4.94	4.54	4.73	4.64	4.46	4.60
甘氨酸 Gly	2.63	2.22	2.27	2.07	1.97	2.21	2.11	1.96	1.69
丙氨酸 Ala	2.18	1.64	1.74	2.08	1.91	1.73	1.96	1.67	1.68
胱氨酸 Cys	0.80	0.70	0.76	0.78	0.80	0.76	0.75	0.75	0.71
缬氨酸 Val	1.97	2.04	1.82	2.02	2.04	1.81	1.83	1.80	1.86
蛋氨酸 Met	1.09	1.29	1.49	1.69	1.89	1.36	1.54	1.68	2.00
异亮氨酸 Ile	1.33	1.21	1.13	1.21	1.29	1.45	1.19	1.27	1.16
亮氨酸 Leu	1.87	2.08	1.89	1.86	2.03	2.15	1.87	2.00	1.89
酪氨酸 Tyr	1.61	1.76	1.58	1.58	1.87	1.90	1.88	1.66	1.60
苯丙氨酸 Phe	0.75	0.83	0.71	0.69	0.85	1.02	1.00	0.81	0.75
赖氨酸 Lys	3.22	3.72	3.40	3.55	3.40	3.34	3.19	3.59	3.35
组氨酸 His	1.03	1.00	1.20	1.12	1.12	1.10	1.14	1.14	1.26
精氨酸 Arg	2.47	2.26	2.38	2.44	2.48	2.46	2.51	2.24	2.29
色氨酸 Trp	0.41	0.37	0.36	0.40	0.41	0.38	0.40	0.34	0.09

蛋氨酸生物效价的计算, 选择前四组数据, 以增重率和特定生长率为判定指标, 建立线性回归方程 $Y=aX+b$ , (其中 $Y$ 为所测指标,  $a$ 代表斜率,  $b$ 代表截距,  $X$ 代表不同的蛋氨酸水平), 用斜率比法计算两种蛋氨酸的生物效价<sup>[17-18]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 饲料羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸水平对花鲈生长与饲料利用的影响

饲料添加羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸对花鲈生长与饲料利用的影响如表3。饲料蛋氨酸来源与水平显著影响花鲈增重率、特定生长率( $P<0.05$ ), 随饲料蛋氨酸添加量的增加, 花鲈增重率、特定生长率显著升高, 并在0.6%时达到最大值, 但当蛋氨酸添加量达到0.8%时, 花鲈增重率、特定生长率降低; 同水平条件下, 羟基蛋氨酸钙组鱼体增重率大于DL-蛋氨酸组( $P<0.05$ )。蛋氨酸水平显著影响饲料系数( $P<0.05$ ), 呈先降低后增高的趋势, 但蛋氨酸形式对饲料系数无

显著影响( $P>0.05$ )。此外, 各组间氮保留率、成活率均无显著差异( $P>0.05$ )。根据特定生长率, 拟合蛋氨酸的需求量, 得出花鲈蛋氨酸需求量为1.57%(图1)。

### 2.2 饲料羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸水平对花鲈体组成的影响

饲料不同羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸对花鲈体组成的影响如表4。饲料蛋氨酸水平可显著影响鱼体水分、粗蛋白、粗脂肪、灰分的水平( $P<0.05$ ), 而蛋氨酸形式则对以上指标无显著影响( $P<0.05$ )(表4)。鱼体粗蛋白含量随饲料蛋氨酸添加量的增加呈现先升高后降低的趋势, 而鱼体粗脂肪含量则呈现相反的趋势。

### 2.3 饲料羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸水平对花鲈肝脏抗氧化能力的影响

饲料蛋氨酸水平显著影响花鲈肝脏GR、GSH、CAT、SOD活性和MDA含量( $P<0.05$ )。GR、CAT的活性随饲料中蛋氨酸水平的升高,

表 3 饲料不同蛋氨酸源及其水平对花鲈生长性能及饲料利用率的影响

**Tab. 3 Effect of dietary methionine sources and levels on growth performance and feed utilization of *L. japonicus***

组别 groups	末均重/g final body weight	增重率/% WGR	特定增长率/(%/d) SGR	饲料系数 FCR	氮保留率/% NR	成活率/% SR
对照组 control	29.75±0.57 <sup>b</sup>	425.29±11.38 <sup>ab</sup>	3.12±0.01 <sup>ab</sup>	2.07±0.02 <sup>c</sup>	24.33±2.39	97.78±2.22
MHA 0.2	30.66±0.78 <sup>ab</sup>	443.44±13.54 <sup>abc</sup>	3.24±0.01 <sup>cd</sup>	1.94±0.03 <sup>abc</sup>	27.98±1.46	97.78±2.22
MHA 0.4	31.22±0.79 <sup>ab</sup>	450.00±16.52 <sup>bc</sup>	3.28±0.01 <sup>d</sup>	1.89±0.05 <sup>ab</sup>	29.47±2.01	95.56±2.22
MHA 0.6	32.88±0.55 <sup>c</sup>	481.13±10.73 <sup>c</sup>	3.29±0.04 <sup>d</sup>	1.85±0.02 <sup>a</sup>	29.05±1.07	95.56±4.44
MHA 0.8	31.62±0.88 <sup>ab</sup>	454.93±14.39 <sup>bc</sup>	3.23±0.02 <sup>cd</sup>	2.05±0.02 <sup>c</sup>	26.61±2.92	95.56±4.44
DLM 0.2	30.32±0.38 <sup>abc</sup>	433.53±6.64 <sup>abc</sup>	3.17±0.01 <sup>abc</sup>	2.09±0.03 <sup>c</sup>	25.56±0.30	97.78±2.22
DLM 0.4	30.94±0.55 <sup>ab</sup>	443.67±8.41 <sup>abc</sup>	3.19±0.02 <sup>bc</sup>	1.87±0.04 <sup>a</sup>	29.37±1.48	95.56±4.44
DLM 0.6	31.72 ±0.14 <sup>ab</sup>	459.78±5.15 <sup>bc</sup>	3.25±0.02 <sup>cd</sup>	1.79±0.02 <sup>a</sup>	29.70±2.62	93.33±3.85
DLM 0.8	27.73 ±0.10 <sup>a</sup>	390.93±1.09 <sup>a</sup>	3.09±0.01 <sup>a</sup>	2.04±0.03 <sup>bc</sup>	27.86±1.53	97.78±2.22
<b>P值 P value</b>						
蛋氨酸源 methionine source	0.01	0.01	0.04	0.58	0.92	1.00
蛋氨酸水平 methionine level	0.00	0.00	0.02	0.00	0.09	0.80
交互作用 interaction	0.02	0.06	0.00	0.03	0.91	0.97

注：同列标注不同字母显示差异显著(P<0.05)，下同

Notes: the same column marked with different letters showed significant differences(P<0.05), the same below

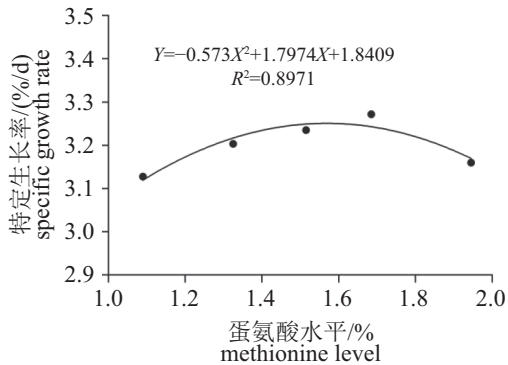


图 1 饲料蛋氨酸水平与花鲈特定增长率之间的二次回归分析

Fig. 1 Second-order regression analysis between specific growth rate and dietary methionine levels for *L. japonicus*

呈现先升高后降低的趋势，SOD与对照组相比呈现升高的趋势。此外，蛋氨酸形式还会显著影响MDA与CAT的含量(P<0.05)，并且同水平DL-蛋氨酸组MDA含量较低(表5)。

**2.4 饲料羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸水平对花鲈血清生化指标的影响**

饲料蛋氨酸水平显著影响血清ALT的活性

(P<0.05)，并随蛋氨酸水平的升高呈现先降低后升高的趋势；而TC、TG、AST与对照组相比呈降低的趋势。血清LZM活性受饲料蛋氨酸水平和形式显著影响(P<0.05)，添加蛋氨酸组LZM活性显著高于不添加蛋氨酸组(P<0.05)(表6)。

**2.5 饲料羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸水平对花鲈肠道蛋白酶活性的影响**

饲料蛋氨酸水平可显著影响肠道蛋白酶活性(P<0.05)，随蛋氨酸水平的升高，其呈现先升高后降低的趋势，但蛋氨酸形式对蛋白酶活性的影响不显著(图2)。

**2.6 饲料羟基蛋氨酸钙及DL-蛋氨酸生物效价的评价**

以DL-蛋氨酸为参比，以增重率为判定指标，羟基蛋氨酸钙的相对生物效价为153.23%；以特定生长率为判定指标，羟基蛋氨酸钙的相对生物效价为134.15%(表7)。

**3 讨论**

一些水产动物不能有效利用外源添加的晶体氨基酸，很多研究者认为这与氨基酸的吸收

表 4 饲料不同蛋氨酸源及其水平对花鲈体组成的影响

Tab. 4 Effect of dietary methionine sources and levels on the whole-body composition of *L. japonicus* %

分组 groups	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash
对照组 control	67.75±0.10	17.59±0.19 <sup>a</sup>	9.26±0.06 <sup>c</sup>	5.66±0.17
MHA 0.2	68.18±0.49	18.12 ±0.20 <sup>ab</sup>	8.87±0.06 <sup>bc</sup>	5.70±0.13
MHA 0.4	68.05±0.11	18.51±0.13 <sup>b</sup>	8.73±0.10 <sup>abc</sup>	5.93±0.06
MHA 0.6	68.93±0.20	18.14±0.11 <sup>ab</sup>	8.56±0.14 <sup>ab</sup>	5.82±0.17
MHA 0.8	68.06±0.24	17.86±0.09 <sup>ab</sup>	8.77±0.11 <sup>abc</sup>	5.43±0.12
DLM 0.2	68.18±0.60	17.64±0.17 <sup>a</sup>	8.81±0.14 <sup>abc</sup>	5.81±0.10
DLM 0.4	67.34±0.04	18.29±0.02 <sup>ab</sup>	8.67±0.17 <sup>ab</sup>	5.91±0.02
DLM 0.6	68.79±0.66	18.30±0.17 <sup>ab</sup>	8.28±0.12 <sup>a</sup>	5.91±0.07
DLM 0.8	67.78±0.33	18.19±0.17 <sup>ab</sup>	8.68±0.12 <sup>ab</sup>	5.65±0.11
<b>P值 P value</b>				
蛋氨酸源 methionine source	0.33	0.67	0.19	0.30
蛋氨酸水平 methionine level	0.03	0.00	0.00	0.04
交互作用 interaction	0.85	0.12	0.76	0.88

表 5 饲料不同蛋氨酸源及其水平对花鲈肝脏抗氧化能力的影响

Tab. 5 Effect of dietary methionine sources and levels on the antioxidant ability of *L. japonicus*

组别 groups	谷胱甘肽还原酶/ (U/g prot) GR	还原型谷胱甘肽/ (mol/g prot) GSH	过氧化氢酶/ (U/mg prot) CAT	超氧化物歧化酶/ (U/mg prot) SOD	丙二醛/ (nmol/mg prot) MDA
对照组 control	5.34±0.39 <sup>ab</sup>	48.41±0.22 <sup>b</sup>	139.68±2.92 <sup>a</sup>	334.58±1.81 <sup>ab</sup>	7.10±0.20 <sup>c</sup>
MHA 0.2	5.93±0.21 <sup>abc</sup>	46.53±1.12 <sup>ab</sup>	173.99±1.37 <sup>cd</sup>	343.42±2.05 <sup>abc</sup>	6.43±0.10 <sup>bc</sup>
MHA 0.4	6.74±0.29 <sup>c</sup>	46.27±0.52 <sup>ab</sup>	188.23±2.06 <sup>dc</sup>	364.64±4.66 <sup>d</sup>	6.10±0.56 <sup>bc</sup>
MHA 0.6	5.37±0.10 <sup>ab</sup>	46.16±1.76 <sup>ab</sup>	156.43±2.28 <sup>b</sup>	341.88±4.34 <sup>abc</sup>	4.73±0.60 <sup>ab</sup>
MHA 0.8	5.63±0.29 <sup>abc</sup>	47.90±0.58 <sup>ab</sup>	152.64±2.47 <sup>ab</sup>	337.97±2.81 <sup>ab</sup>	7.14±0.74 <sup>c</sup>
DLM 0.2	5.84±0.27 <sup>abc</sup>	47.31±0.55 <sup>ab</sup>	159.75±4.86 <sup>bc</sup>	335.88±3.61 <sup>ab</sup>	5.08±0.15 <sup>abc</sup>
DLM 0.4	6.10±0.35 <sup>abc</sup>	46.55±0.29 <sup>ab</sup>	183.87±4.84 <sup>dc</sup>	329.94±3.11 <sup>a</sup>	3.56±0.07 <sup>a</sup>
DLM 0.6	6.31±0.12 <sup>bc</sup>	45.90±0.66 <sup>ab</sup>	192.08±4.22 <sup>c</sup>	345.89±3.56 <sup>bc</sup>	4.57±0.48 <sup>ab</sup>
DLM 0.8	4.89±0.10 <sup>a</sup>	45.26±0.30 <sup>a</sup>	163.55±3.01 <sup>bc</sup>	356.89±1.05 <sup>cd</sup>	5.50±0.23 <sup>abc</sup>
<b>P值 P value</b>					
蛋氨酸源 methionine source	0.55	0.34	0.01	0.06	0.00
蛋氨酸水平 methionine level	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
交互作用 interaction	0.05	0.07	0.00	0.00	0.03

不同步有关。从本实验结果分析, 添加羟基蛋氨酸钙或DL-蛋氨酸均能显著提高鱼体增重率, 这表明花鲈可以有效利用外源蛋氨酸。添加0.6%的外源蛋氨酸组鱼体增重率、特定生长率均

达到最高值, 饲料系数最低, 而0.8%组鱼体增重率显著降低, 表明花鲈饲料中外源蛋氨酸的适宜添加量为0.6%。本实验结果也表明, 过量添加外源蛋氨酸对花鲈的生长有不利影响, 这可能

表 6 饲料不同蛋氨酸源及其水平对花鲈血清生化指标的影响

Tab. 6 Effect of dietary methionine sources and levels on serum biochemistry of *L. japonicus*

组别 groups	谷丙转氨酶/(U/L) ALT	谷草转氨酶/(U/L) AST	胆固醇/(mg/dL) TC	甘油三酯/(mmol/L) TG	溶菌酶/(U/L) LZM
对照组 control	13.14±0.23 <sup>c</sup>	64.25±1.68 <sup>c</sup>	4.17±0.05 <sup>b</sup>	6.27±0.43 <sup>c</sup>	66.34±2.78 <sup>a</sup>
MHA 0.2	10.99±0.42 <sup>bc</sup>	52.16±0.94 <sup>b</sup>	4.11±0.05 <sup>bc</sup>	4.97±0.45 <sup>abc</sup>	100.00±3.33 <sup>bc</sup>
MHA 0.4	10.47±0.78 <sup>abc</sup>	51.73±2.80 <sup>b</sup>	4.07±0.01 <sup>bc</sup>	5.67±0.03 <sup>bc</sup>	96.15±2.15 <sup>bc</sup>
MHA 0.6	7.80±0.51 <sup>a</sup>	48.29±1.10 <sup>ab</sup>	4.06±0.004 <sup>bc</sup>	5.43±0.12 <sup>abc</sup>	125.00±2.61 <sup>d</sup>
MHA 0.8	8.21±0.37 <sup>a</sup>	42.29±0.11 <sup>a</sup>	4.01±0.001 <sup>bc</sup>	5.24±0.008 <sup>abc</sup>	102.88±6.11 <sup>bc</sup>
DLM 0.2	10.45±0.35 <sup>abc</sup>	54.04±1.36 <sup>b</sup>	3.54±0.04 <sup>a</sup>	4.03±0.29 <sup>a</sup>	92.70±1.53 <sup>bc</sup>
DLM 0.4	9.66±0.38 <sup>ab</sup>	53.10±2.06 <sup>b</sup>	3.90±0.10 <sup>b</sup>	4.28±0.58 <sup>ab</sup>	91.35±0.56 <sup>b</sup>
DLM 0.6	8.59±0.88 <sup>ab</sup>	51.88±1.56 <sup>b</sup>	4.11±0.00 <sup>bc</sup>	5.37±0.21 <sup>abc</sup>	109.62±5.55 <sup>cd</sup>
DLM 0.8	8.83±0.72 <sup>ab</sup>	43.05±2.19 <sup>a</sup>	3.97±0.006 <sup>bc</sup>	5.98±0.29 <sup>c</sup>	91.35±3.89 <sup>b</sup>
<b>P值 P value</b>					
蛋氨酸源 methionine source	0.97	0.03	0.00	0.14	0.00
蛋氨酸水平 methionine level	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
交互作用 interaction	0.50	0.00	0.000	0.039	0.26

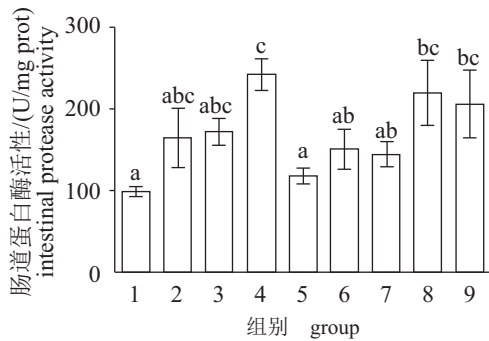


图 2 饲料不同蛋氨酸源及其水平对花鲈肠道蛋白酶活性的影响

1.对照组。不同小写字母表示差异显著(P<0.05)

Fig. 2 Effect of dietary methionine on intestinal protease activity of *L. japonicus*

1. control; 2. MHA 0.2; 3. MHA 0.4; 4. MHA 0.6; 5. MHA 0.8; 6. DLM 0.2; 7. DLM 0.4; 8. DLM 0.6; 9. DLM 0.8.

Different letters indicate significant difference (P<0.05)

是由于过量添加蛋氨酸会导致饲料氨基酸不平衡，不利于鱼体的氨基酸吸收；也有研究认为，过多的DL-蛋氨酸可能会通过转氨基作用生成2-酮-4-甲基硫代丁酸酯(KMTB)、3-甲基硫代丙酸酯(MTP)和甲硫醇(CH<sub>3</sub>SH, 甲基硫醇)等有毒物质<sup>[19]</sup>，从而减缓机体的生长。此外，鱼体的增重率、特定生长率受蛋氨酸形式的影响，同水平羟基蛋氨酸钙组鱼体增重率均高于DL-蛋氨酸

组，根据线性回归模型，以特定生长率为评价指标，羟基蛋氨酸钙的生物学效价为DL-蛋氨酸的1.34倍，这与Ma等<sup>[6]</sup>的研究结果较相似。有研究表明，DL-蛋氨酸的溶失率较羟基蛋氨酸钙的高<sup>[20]</sup>，并且不能与机体的氨基酸吸收同步；而羟基蛋氨酸钙为有机酸，需要被分解出L-蛋氨酸才能被吸收<sup>[21-22]</sup>，所以吸收速率降低，易与其他游离氨基酸保持吸收同步。因此，在实际生产中建议优先选择羟基蛋氨酸钙为外源蛋氨酸的添加形式。

在本实验中，以特定生长率为评价标准，花鲈的蛋氨酸需求量为1.57%。蛋氨酸参与体内蛋白质合成、甲基转移和磷的代谢，并参与各种含硫化合物如谷胱甘肽、胱氨酸、肾上腺素、胆碱和肌酸等的合成<sup>[3-4]</sup>，蛋氨酸缺乏或不足会导致鱼体的生长缓慢。结果显示，肠道蛋白酶活性随着饲料蛋氨酸水平的升高而呈现先升高后降低的趋势，这可能是添加外源蛋氨酸会促进鱼体生长的一个原因。此外，结果显示，不添加外源蛋氨酸组鱼体血清溶菌酶的活性显著低于其他各组，并且溶菌酶活性随蛋氨酸水平的升高呈先升高后降低的趋势。对建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)的研究也发现，添加晶体蛋氨酸<sup>[23]</sup>和羟基蛋氨酸钙<sup>[24]</sup>均能够提高机体的溶菌酶活性，表明添加外源蛋氨酸可以提高鱼

表 7 两种蛋氨酸源的生物效价

Tab. 7 Bioavailability of two methionine sources

项目 item	蛋氨酸源 methionine source	线性回归方程 linear regression equation	$R^2$	相对生物效价/% relative biological potency
增重率 WGR	MHA	$Y=87.04X+423.85$	0.93	153.23
	DLM	$Y=56.805X+423.53$	0.98	100.00
特定生长率 SGR	MHA	$Y=0.275X+3.15$	0.83	134.15
	DLM	$Y=0.205X+3.121$	0.97	100.00

体的非特异性免疫能力。

饲料蛋氨酸水平除影响鱼体生长外, 还会影响鱼体组成。由本实验结果可见, 随饲料蛋氨酸水平的升高, 鱼体粗蛋白含量呈先升高后降低的趋势, 这与其肠道蛋白酶活性呈现相似的变化趋势, 说明蛋氨酸也可能通过影响肠道蛋白酶活性而影响鱼体蛋白质沉积。此外, 鱼体粗脂肪含量也受饲料蛋氨酸水平的显著影响, 随饲料蛋氨酸的升高而呈现先降低后升高的趋势, 有研究表明蛋氨酸可以促进脂肪代谢<sup>[25]</sup>。本实验花鲈血清中甘油三脂、总胆固醇与对照组相比均降低, 这表明鱼体的脂肪分解加强。对小鼠(*Mus musculus*)的研究也表明羟基蛋氨酸类似物有良好的降血脂的能力<sup>[26]</sup>。

有研究表明, 蛋氨酸可以清除机体内的氧自由基, 提高抗氧化能力<sup>[26]</sup>, 其抗氧化机制主要有: 蛋氨酸残基对活性氧较为敏感并可消耗活性氧, 蛋氨酸可以合成抗氧化物质谷胱甘肽。本实验结果表明, 花鲈肝脏丙二醛含量显著受饲料蛋氨酸水平和蛋氨酸来源的影响。随饲料蛋氨酸水平的升高, 丙二醛含量呈现先降低再升高的趋势, 并且DL-蛋氨酸组丙二醛含量更低, 这可能是由于抗氧化酶活性提高导致的。肝脏过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽还原酶是机体重要的抗氧化酶; 当机体氧自由基增加时, 它们的活性会随之增加, 用以清除自由基来降低机体的氧化损伤。从本实验的结果分析, 随着蛋氨酸水平的增加, 超氧化物歧化酶相比对照组有升高的趋势; 过氧化氢酶、谷胱甘肽还原酶的活性呈现出先升高再降低的趋势, 与丙二醛的含量呈相反的趋势, 表明添加适当的蛋氨酸有利于机体自由基的清除, 而过量添加也不利于其抗氧化能力的提高。相似的, 对建鲤的研究也表明蛋氨酸可以被作为抗氧化剂来使用<sup>[27]</sup>。此外, 本研究还发现血清谷丙

转氨酶、谷草转氨酶的活性也受蛋氨酸水平的显著影响, 随蛋氨酸水平的升高而降低。有研究发现, 食物中蛋氨酸较多时, 体内的半胱氨酸和牛磺酸的含量会升高, 半胱氨酸也具有氧化的作用, 而牛磺酸具有解毒的作用<sup>[26]</sup>, 因此, 这两种转氨酶活性的降低可能与肝脏解毒物质增多、肝脏损伤减少有关。

综上可知, 饲料添加外源蛋氨酸会显著促进花鲈的生长, 其中添加0.6%水平的外源蛋氨酸, 花鲈的增重率和特定生长率最高; 以特定生长率为评价指标, 羟基蛋氨酸钙的生物效价更高, 为DL-蛋氨酸的134.15%。以特定生长率为评价指标, 花鲈蛋氨酸需求量为1.57%。添加外源蛋氨酸可以提高花鲈肝脏抗氧化能力, 有利于鱼体的肝脏健康。

#### 参考文献:

- [1] Skiba-Cassy S, Geurden I, Panserat S, *et al.* Dietary methionine imbalance alters the transcriptional regulation of genes involved in glucose, lipid and amino acid metabolism in the liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2016, 454(3): 56-65.
  - [2] Browdy C L, Bharadwaj A S, Venero J A, *et al.* Supplementation with 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid (HMTBa) in low fish meal diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(4): 432-440.
  - [3] 梁雄培, 周歧存, 黎明, 等. 饲料中补充晶体蛋氨酸和羟基蛋氨酸钙对罗氏沼虾幼虾生长性能的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2015, 28(1): 1-7.
- Liang X P, Zhou Q C, Li M, *et al.* Effects of crystalline methionine and 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid on growth performance and protein metabolism of juvenile giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Ningbo University (NSEE)*,



- 2015, 28(1): 1-7(in Chinese).
- [ 4 ] 黄文文, 霍雅文, 王猛强, 等. 低鱼粉饲料中补充晶体蛋氨酸和羟基蛋氨酸钙在凡纳滨对虾上饲喂效果的比较研究[J]. 动物营养学报, 2015, 27(6): 1722-1732.  
Huang W W, Huo Y W, Wang M Q, *et al.* Comparative study of feeding effects of crystalline methionine and methionine hydroxy analogue calcium supplemented in low fish meal diets for pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(6): 1722-1732(in Chinese).
- [ 5 ] Wang Z, Mai K S, Xu W, *et al.* Dietary methionine level influences growth and lipid metabolism via GCN2 pathway in cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Aquaculture, 2016, 454: 148-156.
- [ 6 ] Ma R, Hou H P, Mai K S, *et al.* Comparative study on the effects of L-methionine or 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid as dietary methionine source on growth performance and anti-oxidative responses of turbot(*Psetta maxima*)[J]. Aquaculture, 2013, 412-413: 136-143.
- [ 7 ] 计峰, 武书庚, 张海军, 等. 蛋氨酸来源调控机体蛋氨酸代谢的研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(19): 74-78.  
Ji F, Wu S G, Zhang H J, *et al.* Research advances in the regulation of methionine metabolism by methionine sources and levels[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2011, 47(19): 74-78(in Chinese).
- [ 8 ] 刘伟龙. 不同形式和水平蛋氨酸对肉鸡及后代肉鸡生产性能的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.  
Liu W L. Effects of different forms and levels of methionine on production performance of breeder hens and their offspring[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011 (in Chinese).
- [ 9 ] Poston H A. Response of rainbow trout to source and level of supplemental dietary methionine[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1986, 83(4): 739-744.
- [10] Huyghebaert G. Comparison of DL-methionine and methionine hydroxy analogue-free acid in broilers by using multi-exponential regression models[J]. British Poultry Science, 1993, 34(2): 351-359.
- [11] 高庆, 张克英, 陈代文. 液体蛋氨酸羟基类似物对蛋鸡生产性能、鸡蛋品质、养分利用率和血液生化指标的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2006, 42(5): 40.  
Gao Q, Zhang K Y, Chen D W. Effect of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid on performance, egg quality, nutrient utilization and serum bio-parameters in laying hens[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2006, 42(5): 40(in Chinese).
- [12] Men K K, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary corn gluten meal on growth, digestion and protein metabolism in relation to IGF-I gene expression of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. Aquaculture, 2014, 428-429: 303-309.
- [13] Mai K S, Zhang L, Ai Q H, *et al.* Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. Aquaculture, 2006, 258(1-4): 535-542.
- [14] 农业部渔政渔业管理局. 2017年中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.  
Fishery Administration of the Ministry of Agriculture. China Statistical Yearbook of Fisheries 2017 [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2017 (in Chinese).
- [15] Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of AOAC International[M]. 16th ed. Arlington: AOAC International, 1995.
- [16] 中华人民共和国专业标准. SB/T 10317-1999 蛋白酶活力测定法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.  
Specialized Standard of the People's Republic of China. SB/T 10317-1999 Measurement of proteinase activity[S]. Beijing: China Standards Press, 1999(in Chinese).
- [17] 杨丽杰. 如何正确评定蛋氨酸及其羟基类似物的生物效价[J]. 饲料博览, 2004(5): 37-38.  
Yang L J. How to correctly evaluate the bioavailability of methionine and Hydroxy analogues[J]. Feed Review, 2004(5): 37-38(in Chinese).
- [18] 范淳. 酵母硒对正常和应激状态下肉仔鸡的添加效应及生物学效价[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.  
Fan C. Effectiveness and bioavailability of yeast selenium for broiler chickens under normal and stress conditions[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2009 (in Chinese).
- [19] Yamada H, Akahoshi N, Kamata S, *et al.* Methionine excess in diet induces acute lethal hepatitis in mice lacking cystathionine  $\gamma$ -lyase, an animal model of cystathioninuria[J]. Free Radical Biology & Medicine, 2012, 52(9): 1716-1726.
- [20] 张艳秋, 纪文秀, 吴玉波, 等. 添加晶体或包膜DL-蛋氨

- 酸对利用豆粕替代花鲈饲料中鱼粉的影响[J]. 水产学报, 2015, 39(2): 224-232.
- Zhang Y Q, Ji W X, Wu Y B, *et al.* Effects of crystalline and capsulated DL-methionine on fish meal replacement with soybean meal in diets for Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(2): 224-232(in Chinese).
- [21] Dibner J J. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid[J]. Worlds Poultry Science Journal, 2003, 59(1): 99-110.
- [22] 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 of Nutrition, 1984, 114(9): 1716-1723.
- [23] 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.
- [24] Kuang S Y, Xiao W W, Feng L, *et al.* Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32(5): 629-636.
- [25] Guo F F, Cavener D R. The GCN2 eIF2 $\alpha$  kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid[J]. Cell Metabolism, 2007, 5(2): 103-114.
- [26] 杨永兰, 夏淑芳, 刘骥, 等. 蛋氨酸羟基类似物对小鼠组织自由基和抗氧化作用研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(9): 399-402.
- Yang Y L, Xia S F, Liu J, *et al.* Research of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid on free radicals of tissues and antioxidation of mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(9): 399-402(in Chinese).
- [27] 肖伟伟. 蛋氨酸羟基类似物对幼建鲤消化吸收能力、抗氧化能力和免疫功能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- Xiao W W. Effects of dietary methionine hydroxy analogue on digestive ability, antioxidative ability and immune function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010 (in Chinese).

## Effects of crystalline methionine and calcium 2-hydroxy-4-(methylthio) butyrate on growth, antioxidant ability and intestinal protease activities of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)

ZHANG Shuwei, LU Kangle, SONG Kai, WANG Ling, ZHANG Chunxiao\*

(Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** To investigate the bioavailability and requirement of methionine, this experiment was conducted to study the effects of DL-methionine (DLM) or calcium 2-hydroxy-4-(methylthio) butyrate (MHA) on growth, antioxidant and intestinal protease activities of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). Fish [initial body weight: (5.67±0.05) g] were fed one of nine experimental diets containing 0%, 0.2%, 0.4%, 0.6% or 0.8% exogenous methionine (control, MHA 0.2, MHA 0.4, MHA 0.6, MHA 0.8, DLM 0.2, DLM 0.4, DLM 0.6 and DLM 0.8) for 8 weeks. After the feeding experiments, growth performance, body composition, antioxidant, intestinal protease and blood biochemistry were determined. The results showed that weight gain ratio (WGR) and specific growth rate (SGR) were significantly affected by dietary methionine level and source. Weight gain ratio increased with increasing level of DLM and MHA from 0% to 0.6% and then decreased. Moreover, weight gain of fish fed with MHA diet was higher than that of fish fed with diet contained the same DLM level. Dietary methionine level could significantly affect feed conversion ratio (FCR) and whole-body composition of fish. FCR and crude lipid content decreased and then increased with methionine levels increasing. The opposite is true for crude protein. In addition, superoxide dismutase activity was decreased in the methionine group than that in the control group. The activities of catalase and glutathione reductase in liver also increased and then decreased as methionine levels increased, but the contents of glutathione and malondialdehyde were just opposite. Serum alanine transaminase levels decreased and then increased with the increase of methionine levels. Cholesterol and triacylglycerol, aspartate aminotransferase activities decreased in the methionine group than that in the control group. Lysozyme activity was significantly higher in the methionine group than that in the control group. The activity of intestinal protease increased as DLM and MHA increased from 0% to 0.6% and then decreased with further increases of methionine levels. In conclusion, the optimal level of dietary MHA or DLM supplement for seabass was estimated at 0.6% on the basis of WGR and SGR. Based on the second-order regression analysis of SGR, the optimal methionine for seabass was 1.57%. The bioavailability of MHA was higher than that of DLM (134.15%). The supplement of DLM or MHA could improve the hepatic antioxidant ability of fish, which would benefit the health of liver.

**Key words:** *Lateolabrax japonicus*; DL-methionine; calcium 2-hydroxy-4-(methylthio) butyrate; antioxidant ability; bioavailability

**Corresponding author:** ZHANG Chunxiao. E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31572625); China Agriculture Research System (CARS-47)