

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15448

吉富罗非鱼对饲料中苯丙氨酸的需要量

蒋明¹, 武文一^{1,2}, 文华¹, 刘伟¹, 吴凡¹, 田娟¹, 杨长庚¹

1. 中国水产科学研究院 长江水产研究所, 农业部淡水生物多样性保护与利用重点开放实验室, 湖北 武汉 430223;
2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 分别用含 6 种水平(质量比分别为 0.78%、0.95%、1.09%、1.34%、1.51%和 1.72%)苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)的等氮等能(粗蛋白 30.10%, 总能 17.73 MJ/kg)饲料, 在池塘网箱中(实验期间水温为 24~32℃)饲喂初始体重为 (52.70±1.80) g 的吉富罗非鱼 60 d, 考察饲料 Phe 对吉富罗非鱼(GIFT, *Oreochromis niloticus*)生长性能、饲料系数、体成分、部分血清生化指标及前肠消化酶活性的影响, 以期获得吉富罗非鱼对饲料苯丙氨酸的需要量。结果表明, 随着饲料中 Phe 水平的升高, 吉富罗非鱼的增重率、特定生长率、蛋白质效率、蛋白质沉积率、肥满度、肝体比和脏体比均呈现先上升后下降的趋势, 饲料系数呈现先下降后上升的趋势; 全鱼粗脂肪和全鱼灰分含量显著上升 ($P<0.05$), 肌肉灰分含量显著下降 ($P<0.05$)。饲料中 Phe 对全鱼水分和粗蛋白质、肌肉水分、肌肉粗蛋白质和肌肉粗脂肪含量无显著性影响 ($P>0.05$); 各实验组的肌肉氨基酸含量差异不显著 ($P>0.05$)。饲料中 Phe 显著影响血清中谷丙转氨酶活性, 甘油三酯、总胆固醇和葡萄糖的含量 ($P<0.05$), 对谷草转氨酶活性无显著性影响 ($P>0.05$); Phe 显著影响肠蛋白酶、肠脂肪酶和肠 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活性 ($P<0.05$), 而对肠淀粉酶活性影响不显著 ($P>0.05$)。以增重率、饲料系数和蛋白质效率为评价指标, 通过二次回归分析可知, 吉富罗非鱼对饲料中 Phe 需要量为 1.17%~1.21%, 占饲料蛋白质的 3.89%~4.02%。本研究结果为合理配制吉富罗非鱼配合饲料提供了理论依据。

关键词: 吉富罗非鱼; 苯丙氨酸; 需要量; 生长

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)05-1173-12

由于鱼粉资源的紧缺, 水产饲料中大量使用替代蛋白源, 易导致饲料中氨基酸不平衡, 由此引起养殖鱼类生长受阻, 饲料利用效率下降等问题^[1]。吉富罗非鱼(GIFT, *Oreochromis niloticus*)是我国罗非鱼主要养殖品系之一, 当前罗非鱼饲料中主要使用植物性蛋白源^[2], 因此更易出现氨基酸不平衡的状况, 所以有必要确定罗非鱼对饲料中 10 种必需氨基酸的需要量^[3], 以确保罗非鱼的健康养殖。

苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)是芳香族类非极性氨基酸, 是鱼类十大必需氨基酸之一^[3]。Phe 在机体内主要通过苯丙氨酸羧化酶转化为同为芳

香族类氨基酸的酪氨酸(Tyrosine, Tyr)。Tyr 在酪氨酸羧化酶作用下转化为多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素等儿茶酚胺类, 或经酪氨酸酶生成黑色素, 或经碘化生成甲状腺素等, 进而参与机体代谢^[4]。由于 Phe 可以转化成 Tyr, 而 Tyr 不能转化成 Phe, 鱼类对饲料中 Phe 的需要量会受到饲料中 Tyr 含量的影响, 但是鱼类对 Phe 的特定需要不能由酪氨酸替代^[5]。因此通常以鱼体肌肉氨基酸模式为参照, 固定饲料中 Tyr 的含量, 以单因子梯度法, 来确定鱼类对 Phe 的需要量^[6]。已有研究发现, 若饲料中缺乏 Phe 会使鱼生长受阻, 蛋白质沉积和饲料利用率降低, 存活率下降, 摄食

收稿日期: 2015-11-26; 修订日期: 2016-01-20.

基金项目: 国家罗非鱼产业技术体系(CARS-49); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201003020).

作者简介: 蒋明(1979-), 男, 副研究员, 主要从事鱼类营养与饲料研究. E-mail: jiangm.hb@163.com

通信作者: 文华, 研究员. E-mail: wenhua.hb@163.com

率降低^[7]; 而饲料中过量的 Phe 则可抑制草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[6]、喀拉鲃(*Catla catla*)^[8]、遮目鱼(*Chanos chanos* Forsskal)^[9]、异育银鲫(*Carrasius auratus gibelio*)^[10]和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[11]的生长。

当前已有研究者通过剔除法, 通过计算鱼体氮保留率推算出吉富罗非鱼(20 g)的总芳香族氨基酸的需要量为 1.57%^[12], Santiago 等^[13]通过生长观测法推测罗非鱼(0.013~1 g)对 Phe 的需要量为 1.05%(饲料中 Tyr 含量为 0.5%)。但研究证实, 利用体氨基酸组成数据推算罗非鱼氨基酸需要量并不准确, 需要应用生长观测法来确定罗非鱼对氨基酸的需要量^[14]。此外, 不同品系和不同生长阶段的罗非鱼对氨基酸的需要量亦可能改变, 因此本实验使用含有不同 Phe 水平的饲料喂养吉富罗非鱼 60 d, 考察其对吉富罗非鱼生长性能、血清生化指标和前肠消化酶活性的影响, 以期确定吉富罗非鱼对饲料中 Phe 的需要量, 为配制吉富罗非鱼配合饲料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

试验饲料以鱼粉、明胶、花生粕和豆粕及包膜氨基酸混合物(以羟甲基纤维素钠、卡拉胶、 α -淀粉按 1:1:1 比例为包被材料)为蛋白源, 大豆油、玉米油为脂肪源, 糊精为糖源。氨基酸混合物(除 Phe 和甘氨酸)参照吉富罗非鱼肌肉氨基酸组成模式配比^[15], 参照 Millamena 等^[16]的方法进行包膜, 再进行配制成半纯化饲料(表 1), Phe 设计梯度为 0%(对照组), 0.20%, 0.40%, 0.60%, 0.80% 和 1.00%(L-甘氨酸等氮替代)。各原料经粉碎过 80 目筛网后, 按照表 1 配比进行称重, 充分混匀后, 用小型绞肉机制成直径为 2 mm 的条状饲料, 60℃ 烘干后经破碎机破碎成长度约为 5 mm 的颗粒饲料, 置于-20℃ 冰箱中保存。经检测实验饲料中 Phe 的质量分数分别为 0.78%, 0.95%, 1.09%, 1.34%, 1.51% 和 1.72%, 占饲料蛋白质含量的质量分数分别为 2.59%, 3.16%, 3.62%, 4.45%, 5.02% 和 5.71%。饲料氨基酸组成模式见表 2。

表 1 实验饲料组成及主要营养水平(风干基础)
Tab. 1 Composition and nutrient levels of test diets (air-dry basis)

%

项目 item	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
饲料组成 composition						
鱼粉 fish meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
明胶 gelatin	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
花生粕 peanut	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
豆粕 soybean meal	21.00	21.00	21.00	21.00	21.00	21.00
氨基酸混合物 amino acid mixture	12.37	12.37	12.37	12.37	12.37	12.37
糊精 dextrin	38.00	38.00	38.00	38.00	38.00	38.00
大豆油 soybean oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
玉米油 corn oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
氯化胆碱 choline chloride	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
维生素预混料 ¹⁾ vitamin premix ¹⁾	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 ²⁾ mineral premix ²⁾	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
防霉剂 antiseptic	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
抗氧化剂 BHT	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
膨润土 bentonite	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
微晶纤维素 microcrystalline	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27	1.27
L-甘氨酸 L-Gly	1.00	0.80	0.60	0.40	0.20	0
L-苯丙氨酸 L-Phe	0	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

(待续 to be continued)

(续表 1 Tab. 1 continued)

项目 item	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
营养水平 proximate composition						
总能/(MJ·kg ⁻¹) gross energy	17.96	18.18	17.89	17.92	17.86	18.03
粗蛋白质 crude protein	30.01	30.05	30.31	30.38	30.16	30.70
粗脂肪 crude lipid	7.15	7.33	7.11	7.09	7.11	7.09
粗灰分 ash	6.70	6.70	6.79	6.77	6.64	6.69

注: ¹⁾维生素预混料可为每 kg 饲料提供: 维生素 A, 5000 IU; 维生素 D₃, 2000 IU; 维生素 E, 60 mg; 维生素 C, 120 mg; 维生素 K₃, 5 mg; 维生素 B₁, 5 mg; 维生素 B₂, 20 mg; 维生素 B₆, 10 mg; 烟酸, 120 mg; 泛酸钙, 10 mg; 叶酸, 1 mg; 生物素, 0.1 mg; 肌醇, 400 mg. ²⁾矿物质预混料可为每 kg 饲料提供: Ca(H₂PO₄)₂, 26000 mg; Ca(CH₃CHOHCOO)₂, 6540 mg; FeSO₄, 42.5 mg; MgSO₄, 1340 mg; NaH₂PO₄, 1744 mg; NaCl, 870 mg; AlCl₃, 3 mg; KIO₃, 2.5 mg; KCl, 1500 mg; CuCl₂, 2 mg; MnSO₄, 16 mg; CoCl₂, 20 mg; ZnSO₄, 60 mg.
Note: ¹⁾ The premix provided the following per kg of diets: vitamin A, 5000 IU; vitamin D₃, 2000 IU; vitamin E, 60 mg; vitamin C, 120 mg; vitamin K₃, 5 mg; vitamin B₁, 5 mg; vitamin B₂, 20 mg; vitamin B₆, 10 mg; nicotinic acid, 120 mg; calcium pantothenate, 10 mg; folic acid, 1 mg; biotin, 0.1 mg; inositol 400 mg. ²⁾ The premix provided the following per kg of diets: Ca(H₂PO₄)₂, 26000 mg; Ca(CH₃CHOHCOO)₂, 6540 mg; FeSO₄, 42.5 mg; MgSO₄, 1340 mg; NaH₂PO₄, 1744 mg; NaCl, 870 mg; AlCl₃, 3 mg; KIO₃, 2.5 mg; KCl, 1500 mg; CuCl₂, 2 mg; MnSO₄, 16 mg; CoCl₂, 20 mg; ZnSO₄, 60 mg.

表 2 基础饲料中氨基酸组成分析
Tab. 2 Analyzed amino acid composition of the basal diet %干物质 % dry matter

氨基酸 amino acid	鱼粉-明胶-花生粕-豆粕提供 provided by fish meal-gelatin-peanut meal-soybean meal	氨基酸混合物 provided by AA mixture	30%肌肉氨基酸 amount in 30% muscle protein	基础饲料(实测) AA in basal diet(measured value)
蛋氨酸 Met	0.20	0.78	0.98	0.93
赖氨酸 Lys	0.88	1.68	2.56	2.44
苏氨酸 Thr	0.55	0.80	1.35	1.25
色氨酸 Try	0.18	0.19	0.37	ND*
精氨酸 Arg	1.40	0.40	1.80	1.73
异亮氨酸 Ile	0.63	0.74	1.37	1.23
亮氨酸 Leu	1.08	1.42	2.50	2.46
缬氨酸 Val	0.68	0.56	1.24	1.22
组氨酸 His	0.38	0.32	0.69	0.67
苯丙氨酸 Phe	0.74	0.00	1.23	0.78
胱氨酸 Cys	0.22	0.07	0.28	0.32
甘氨酸 Gly	1.32	0.41	1.73	2.64
酪氨酸 Tyr	0.47	0.49	0.96	1.02
丝氨酸 Ser	0.80	0.40	1.20	1.15
脯氨酸 Pro	1.12	0.00	1.09	1.10
丙氨酸 Ala	0.88	0.94	1.82	1.75
天冬氨酸 Asp	1.77	1.20	2.97	2.86
谷氨酸 Glu	2.82	1.98	4.80	4.66

注: *色氨酸没有检测。
Note: *Try was not detected.

1.2 试验鱼与饲养管理

实验鱼购自广西南宁罗非鱼国家级良种场, 罗非鱼购回后进行消毒(3%NaCl 水溶液), 然后放入暂养池塘网箱中(4.0 m×4.0 m×1.5 m); 用对照组饲料喂养 15 d, 使罗非鱼适应实验饲料和实验环境。正式实验前, 将罗非鱼饥饿 24 h, 挑选 270

尾体格健壮的吉富罗非鱼[初始平均体重为 (52.70±1.80) g], 养殖于 18 个池塘网箱(1.0 m×1.0 m×1.5 m)中, 每个网箱 15 尾鱼, 随机分成 6 组, 每组设 3 个重复, 分别投喂 6 组饲料, 持续饲养 60 d。养殖期间, 每个网箱用 1 个曝气头进行连续充氧曝气。水温为 24~32℃, pH 6.5~7.0, 溶氧大于 4 mg/L,

氨氮浓度小于 0.05 mg/L。每天定时投食 2 次(上午 8:00; 下午 16:00), 表观饱食投喂, 每天记录实验鱼摄食及死亡情况。该池塘水面面积约为 7000 m², 水深 3 m, 池塘中间设 3 kW 叶轮式增氧机一台, 实验期间, 晴天下午 1:00 和凌晨 4:00, 各开机 2 h。阴雨天气, 定时检测溶氧, 当溶氧低于 4 mg/L 时, 开机增氧。

1.3 样品采集

实验结束后, 禁食 24 h; 以养殖网箱为单位进行称重, 计数吉富罗非鱼成活的尾数; 每个养殖网箱随机挑取 3 尾鱼, 用于全鱼的水分、粗蛋白质、粗脂肪和灰分等常规营养成分的测定。随后每个养殖网箱随机选取 3 尾鱼, 用 30 mg/L 的鱼安定(MS-222)溶液麻醉, 进行体重体长的测定, 并从尾静脉采血, 血液 4℃ 静置 2 h 后, 3000 r/min 离心 15 min, 取上层血清, 用于血清生化指标的测定。最后打开腹腔, 取其内脏、肝脏和前肠, 并对内脏和肝脏称重; 全鱼、肝脏保存于-40℃的冰箱中; 称取适量前肠通过加入生理盐水(4℃)匀浆后离心(4℃, 4000 r/min)15 min, 取上清液制成粗酶液。最后取侧线上方背部肌肉于下-40℃冰箱内保存, 用于其组成分析。

1.4 指标测定

根据以下公式, 计算增重率(weight gain rate)、特定生长率(specific growth rate)、饲料系数(feed conversion ratio)、蛋白质效率(protein efficiency rate)、蛋白质沉积率(protein deposition rate)、成活率(survival rate)、肥满度(condition factor)、肝体比(hepatosomatic index)和脏体比(viscerosomatic index)。

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

$$\text{特定生长率(SGR, \%} \cdot \text{d}^{-1}) = (\ln W_t - \ln W_0) \times 100 / t$$

$$\text{饲料系数(FCR)} = F / (W_t - W_0)$$

$$\text{蛋白质效率(PER, \%)} = (W_t - W_0) / F \times P$$

$$\text{蛋白质沉积率(PDR, \%)} \\ = 100 \times (W_t \times P_t - W_0 \times P_0) / F \times P$$

$$\text{肥满度(CF, g/cm}^3) = W \times 100 / L^3$$

$$\text{肝体比(HSI, \%)} = W_h \times 100 / W$$

$$\text{脏体比(VSI, \%)} = W_v \times 100 / W$$

式中, N_t 为终尾数, N_0 为初尾数; W_t 为末均体重(g), W_0 为初始均体重(g), W 为鱼体体重(g); t 为养殖时间(d); F 为饲料摄入总质量(g); P 为饲料中粗蛋白质含量(%), P_t 为实验鱼终末全鱼粗蛋白质含量(%), P_0 为实验鱼初始全鱼粗蛋白质含量(%), W_h 为肝重(g), W_v 为内脏重(g), L 为体长(cm)。

全鱼水分含量采用 105℃ 烘干恒重法测定, 肌肉水分采用冷冻干燥法测定; 粗蛋白质的测定为凯氏定氮法, 粗脂肪采用索氏抽提法, 灰分采用马福炉灰化法。总能采用氧弹测热仪(Parr-6200)测定, 肌肉和饲料中氨基酸含量采用日立 L-8900 氨基酸分析仪测定(方法依据 GB/T 5009.124-2003)。

采用全自动生化分析仪(Sysmex, CHEMIX-800)测定血清谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)和葡萄糖(GLU)的含量。

采用南京建成生物工程研究所生产试剂盒进行测定肠淀粉酶、肠蛋白酶、肠脂肪酶和肠 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的活性。

1.5 数据处理

实验结果均以平均值±标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示, 用 SPSS 18.0 统计软件中 One-Way ANOVA 方差分析和 Tukey's 均值多重比较法对实验结果的差异显著性进行分析, 当 $P < 0.05$ 时, 认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼生长性能和饲料蛋白质利用率的影响

从表 3 可以看出, 饲料中 Phe 显著影响了吉富罗非鱼终末质量(FBW)、增重率(WGR)、特定生率(SGR)、饲料系数(FCR)、蛋白质效率(PER)、蛋白质沉积率(PDR)、肥满度(CF)、肝体比(HSI)和脏体比(VSI)($P < 0.05$)。随着饲料中 Phe 水平的上升, 吉富罗非鱼的 WGR、SGR、PER 及 PDR 均呈现先上升后下降的变化趋势。在 1.34% 实验组, WGR、SGR、PER、PDR 均达到最大, 均与对照组差异显著($P < 0.05$)。随着饲料 Phe 水平的上升, 吉富罗非鱼的 FCR 先下降后上升, 在 1.34% 实验

组达到最低, 与对照组差异显著($P<0.05$)。饲料中 Phe 含量最高的组(1.72%组)的生长性能指标数值均低于对照组。吉富罗非鱼 CF、HSI 和 VSI 均随着饲料 Phe 水平的上升呈现先上升后下降; 肝体比在 1.34%组最大, 与 0.95 %、1.09%和 1.51%的

实验组差异不显著($P>0.05$), 与其他两个实验组差异显著($P<0.05$); 肥满度和脏体比在 1.09%组达到最大, 与 0.95%、1.34%和 1.51%的实验组差异不显著($P>0.05$), 与其他两个实验组差异显著($P<0.05$)。

表 3 饲料苯丙氨酸水平对罗非鱼生长性能、饲料利用和形态学指标的影响
Tab. 3 Effects of dietary phenylalanine levels on growth performance, feed utilization and morphometry
indexes of GIFT, *Oreochromis niloticus* n=3; $\bar{X} \pm SD$

项目 item	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
初始体重/g IBW	53.56±1.05	52.22±1.39	53.33±0.67	52.44±0.77	52.45±0.39	52.67±0.67
结束体重/g FBW	221.43±1.94 ^c	220.37±1.41 ^b	226.75±1.60 ^a	226.04±1.09 ^a	212.17±1.88 ^c	207.30±1.44 ^d
增重率/% WGR	313.65±1.17 ^c	322.05±1.74 ^b	328.22±2.10 ^a	330.85±2.20 ^a	314.67±1.27 ^c	293.67±2.47 ^d
特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	2.53±0.01 ^c	2.57±0.01 ^b	2.60±0.01 ^a	2.61±0.01 ^a	2.53±0.02 ^c	2.45±0.01 ^d
饲料系数 FCR	1.37±0.01 ^c	1.33±0.01 ^b	1.25±0.01 ^a	1.26±0.01 ^a	1.35±0.02 ^c	1.42±0.01 ^d
蛋白质效率/% PER	2.43±0.02 ^c	2.50±0.02 ^b	2.65±0.01 ^a	2.66±0.01 ^a	2.46±0.03 ^c	2.34±0.02 ^d
蛋白质沉积率/% PDR	38.44±0.10 ^c	39.99±0.10 ^b	40.88±0.17 ^a	40.91±0.17 ^a	39.27±0.32 ^b	38.50±0.28 ^d
肥满度/[g·cm ⁻³]CF	3.53±0.23 ^b	3.83±0.27 ^a	3.97±0.25 ^a	3.68±0.32 ^{ab}	3.75±0.18 ^{ab}	3.48±0.32 ^b
肝体比/% HSI	1.88±0.58 ^{bc}	1.99±0.59 ^{abc}	2.38±0.53 ^{ab}	2.49±0.64 ^a	2.02±0.43 ^{abc}	1.75±0.36 ^c
脏体比/% VSI	9.70±0.84 ^{ab}	9.69±1.30 ^{ab}	10.75±1.10 ^a	10.07±1.54 ^a	9.66±0.93 ^{ab}	8.68±1.11 ^b

注: 同行数据上标相同小写字母者差异不显著($P>0.05$, Tukey's 法); 反之差异显著($P<0.05$).
Notes: Values in the same line sharing the same superscript letter are not significantly different determined by Tukey's test ($P>0.05$), and values with different letters are significantly different ($P<0.05$).

以饲料 Phe 水平为自变量(X), 分别以吉富罗非鱼 WGR(Y_1)、FCR(Y_2)和 PER(Y_3)为因变量进行回归分析, 表明它们之间呈明显的二次回归关系(图 1—图 3)。得出回归方程为:

$Y_1 = -120.81X^2 + 282.73X + 164.94$ ($R^2=0.9523$), 增重率达到极值时 $X=1.17$; $Y_2=0.6529X^2-1.5756X +$

2.2048 ($R^2=0.95$), 饲料系数达到极值时 $X=1.21$; $Y_3=-1.2277X^2+2.9688X+0.8507$ ($R^2=0.9367$), 蛋白质效率达到极值时 $X=1.21$ 。

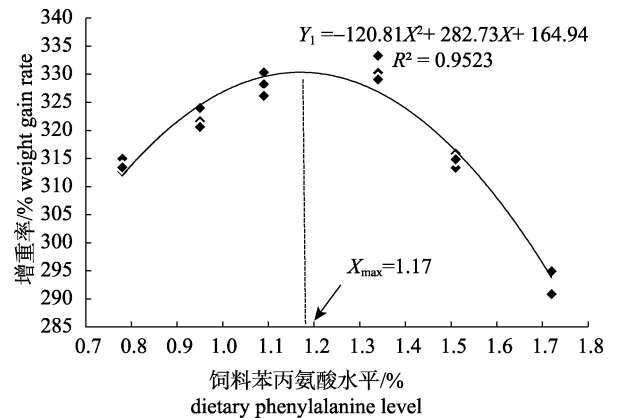


图 1 吉富罗非鱼增重率与饲料苯丙氨酸水平的关系
Fig. 1 The relationship between weight gain rate and dietary phenylalanine levels of GIFT, *Oreochromis niloticus*

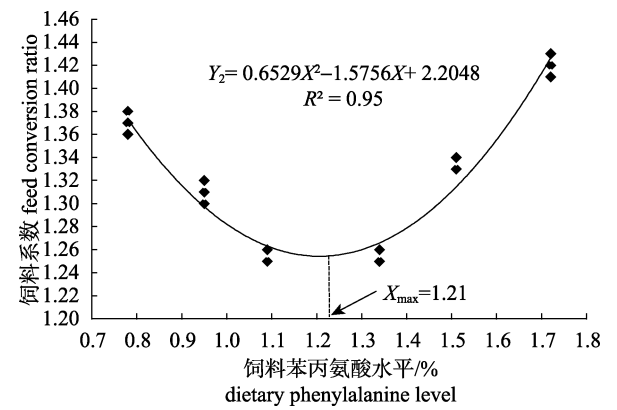


图 2 吉富罗非鱼饲料系数与饲料苯丙氨酸水平的关系
Fig. 2 The relationship between feed conversion ratio and dietary phenylalanine levels of GIFT, *Oreochromis niloticus*

2.2 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼体成分和肌肉氨基酸含量的影响

由表 4 可知, 饲料中 Phe 含量对全鱼粗脂肪、全

鱼粗灰分和肌肉灰分含量有显著性影响($P<0.05$), 对其他体组成分含量无显著影响($P>0.05$)。随着饲料中 Phe 水平的上升, 全鱼粗脂肪和全鱼粗灰分的含量先上升后趋于稳定, 在 1.34%组达到最大; 肌肉灰分呈先下降后上升趋势, 在 1.09%组达到最低。由表 5 可见, 饲料 Phe 含量对肌肉中所有氨基酸含量均无显著影响($P>0.05$)。

2.3 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼血清生化指标的影响

由表 6 结果表明, 饲料 Phe 含量对吉富罗非鱼血清中谷丙转氨酶(ALT)活性, 甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)和葡萄糖(GLU)含量有显著性影响($P<0.05$)。

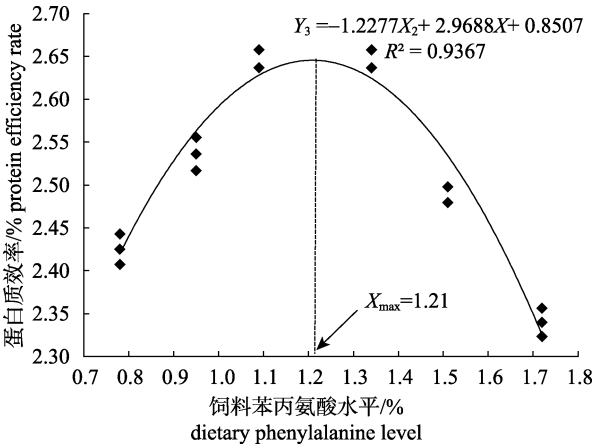


图 3 吉富罗非鱼蛋白质效率与饲料苯丙氨酸水平的关系
Fig. 3 The relationship between protein efficiency rate and dietary phenylalanine levels of GIFT, *Oreochromis niloticus*

表 4 饲料苯丙氨酸水平对罗非鱼全鱼和肌肉组成的影响
Tab. 4 Effect of dietary phenylalanine levels on body and muscle composition of GIFT, *Oreochromis niloticus*

项目 item	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
全鱼 whole fish						
水分 moisture	69.26±0.71	69.61±0.59	69.88±0.66	68.82±0.44	68.99±1.46	69.28±0.32
粗蛋白 crude protein	15.32±0.68	16.30±0.66	15.48±0.79	16.02±0.78	15.62±0.98	15.75±0.39
粗脂肪 crude lipid	9.41±0.85 ^b	9.46±0.40 ^b	9.69±0.48 ^b	11.24±0.97 ^a	11.17±0.23 ^a	10.23±0.78 ^{ab}
灰分 ash	3.10±0.22 ^a	4.25±0.35 ^c	3.50±0.17 ^{ab}	4.02±0.56 ^{bc}	3.58±0.37 ^{ab}	3.78±0.33 ^{bc}
肌肉 muscle						
水分 moisture	76.54±0.27	76.62±0.99	76.27±0.21	76.38±0.49	76.22±0.49	76.44±0.35
粗蛋白 crude protein	19.43±0.34	19.03±0.68	20.23±1.35	19.55±1.22	19.36±0.65	19.54±1.33
粗脂肪 crude lipid	1.54±0.15	1.43±0.34	1.81±0.29	1.54±0.37	1.92±0.10	1.45±0.45
灰分 ash	1.29±0.04 ^{ab}	1.32±0.08 ^{ab}	1.21±0.05 ^b	1.29±0.08 ^{ab}	1.37±0.09 ^{ab}	1.41±0.17 ^a

注: 同行数据上标相同小写字母者差异不显著($P>0.05$, Tukey's 法); 反之差异显著($P<0.05$)。
Notes: Values in the same line sharing the same superscript letter are not significantly different determined by Tukey's test ($P>0.05$), and values with different letters are significantly different ($P<0.05$).

表 5 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼肌肉氨基酸含量(干物质)的影响
Tab. 5 Effect of dietary phenylalanine levels on amino acid composition (dry matter) of GIFT, *Oreochromis niloticus*

氨基酸 amino acid	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
蛋氨酸 Met	2.50±0.04	2.44±0.07	2.47±0.07	2.42±0.08	2.43±0.08	2.42±0.14
赖氨酸 Lys	7.70±0.12	7.50±0.25	7.67±0.21	7.49±0.20	7.59±0.28	7.60±0.50
苏氨酸 Thr	3.84±0.07	3.75±0.09	3.80±0.08	3.71±0.08	3.75±0.08	3.70±0.15
精氨酸 Arg	5.05±0.06	4.97±0.09	4.95±0.11	4.89±0.11	4.98±0.10	4.97±0.26
异亮氨酸 Ile	3.89±0.05	3.81±0.13	3.87±0.08	3.78±0.14	3.83±0.12	3.87±0.24
亮氨酸 Leu	6.67±0.12	6.51±0.23	6.61±0.18	6.46±0.22	6.54±0.24	6.59±0.38
缬氨酸 Val	3.99±0.04	3.93±0.12	3.97±0.07	3.92±0.09	3.98±0.18	3.95±0.25
组氨酸 His	2.28±0.04	2.18±0.05	2.23±0.09	2.41±0.25	2.28±0.10	2.30±0.17
苯丙氨酸 Phe	3.61±0.07	3.51±0.11	3.58±0.12	3.50±0.13	3.50±0.10	3.56±0.17

(待续 to be continued)

(续表 5 Tab. 5 continued)

氨基酸 amino acid	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
酪氨酸 Tyr	2.70±0.03	2.66±0.04	2.68±0.03	2.67±0.03	2.66±0.04	2.68±0.01
胱氨酸 Cys	0.82±0.01	0.80±0.03	0.81±0.02	0.80±0.01	0.81±0.03	0.81±0.04
甘氨酸 Gly	4.81±0.06	4.87±0.08	4.78±0.16	4.77±0.08	4.89±0.12	4.88±0.28
丝氨酸 Ser	3.34±0.04	3.29±0.05	3.34±0.08	3.24±0.09	3.29±0.10	3.24±0.14
脯氨酸 Pro	2.81±0.26	2.75±0.06	2.59±0.09	2.62±0.03	2.76±0.12	2.79±0.17
丙氨酸 Ala	5.06±0.05	5.01±0.12	5.04±0.14	4.92±0.11	5.03±0.13	4.97±0.23
天冬氨酸 Asp	8.77±0.14	8.54±0.28	8.70±0.25	8.47±0.27	8.57±0.27	8.48±0.45
谷氨酸 Glu	12.38±0.22	12.06±0.38	12.24±0.35	11.93±0.32	12.19±0.44	12.07±0.60
必需氨基酸总量 Σ EAA	80.22±1.24	78.69±1.86	79.34±2.02	78.00±1.71	79.33±2.27	78.88±4.01
氨基酸总量 Σ TAA	39.53±0.56	38.60±1.13	39.16±0.97	38.57±0.87	38.87±1.19	38.96±2.24

注: 色氨酸未检测到。
Note: Try was not detected.

表 6 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼血清生化指标的影响
Tab. 6 Effect of dietary phenylalanine levels on serum biochemical parameters of GIFT, *Oreochromis niloticus*
n=3; $\bar{x} \pm SD$; %

项目 item	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
谷草转氨酶/(U·L ⁻¹) AST	98.25±5.99	99.25±6.19	101.25±9.45	96.75±2.87	96.25±2.78	99.25±1.01
谷丙转氨酶/(U·L ⁻¹) ALT	21.50±9.06 ^{ab}	17.25±4.50 ^{ab}	12.00±3.32 ^b	15.50±2.94 ^{ab}	23.50±9.38 ^{ab}	27.75±7.97 ^a
总胆固醇/(mmol·L ⁻¹) T-CHO	3.89±0.37 ^b	3.98±1.11 ^b	5.27±0.66 ^a	4.26±0.49 ^{ab}	4.38±0.70 ^{ab}	4.52±0.97 ^{ab}
葡萄糖/(mmol·L ⁻¹) GLU	3.13±1.01 ^b	2.42±1.06 ^b	5.13±0.72 ^a	4.98±1.88 ^a	3.43±0.85 ^{ab}	3.01±0.75 ^b
甘油三酯/(mmol·L ⁻¹) TG	2.71±0.31 ^b	3.79±2.38 ^{ab}	6.59±1.20 ^a	3.41±1.87 ^{ab}	3.70±1.39 ^{ab}	2.47±1.21 ^b

注: 同行数据上标相同小写字母者差异不显著($P>0.05$, Tukey's 法); 反之差异显著($P<0.05$).
Notes: Values in the same line sharing the same superscript letter are not significantly different determined by Tukey's test ($P>0.05$), and values with different letters are significantly different ($P<0.05$).

谷丙转氨酶活性在 1.09%组达到最低, 显著低于其他组($P<0.05$); 甘油三酯、总胆固醇和葡萄糖含量均呈先上升后下降趋势, 在 1.09%组达到最大, 与对照组差异显著($P<0.05$); 而各组谷草转氨酶活性差异不显著($P>0.05$)。

2.4 饲料苯丙氨酸水平对罗非鱼前肠消化酶活性的影响

饲料 Phe 显著影响了罗非鱼前肠消化酶活性(表 7)。随着饲料中 Phe 水平的上升, 肠 Na⁺-K⁺-ATP 酶、肠蛋白酶和肠脂肪酶活性均呈显升高趋

表 7 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼前肠消化酶活性的影响
Tab. 7 Effect of dietary phenylalanine levels on digestive enzyme activities in the intestine of GIFT, *Oreochromis niloticus*
n=3; $\bar{x} \pm SD$; %

项目 item	饲料苯丙氨酸水平/% dietary phenylalanine level					
	0.78	0.95	1.09	1.34	1.51	1.72
肠 Na ⁺ -K ⁺ -ATP 酶/(U·mg ⁻¹) intestinal Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	1.01±0.32 ^b	1.52±0.26 ^{ab}	1.21±0.43 ^{ab}	1.41±0.49 ^{ab}	1.44±0.31 ^{ab}	1.71±0.19 ^a
肠蛋白酶/(U·mg ⁻¹) intestinal protease	6.16±0.62 ^b	11.68±5.18 ^{ab}	19.07±9.83 ^{ab}	16.25±5.42 ^{ab}	24.55±18.47 ^a	22.90±6.94 ^a
肠脂肪酶/(U·g ⁻¹) intestinal lipase	83.56±5.55 ^c	113.04±13.82 ^b	178.88±16.38 ^{ab}	221.01±13.07 ^a	236.60±17.49 ^a	213.08±18.74 ^{ab}
肠淀粉酶/(U·mg ⁻¹) intestinal amylase	0.18±0.06	0.26±0.05	0.24±0.05	0.20±0.09	0.23±0.02	0.21±0.04

注: 同行数据上标相同小写字母者差异不显著($P>0.05$, Tukey's 法); 反之差异显著($P<0.05$).
Notes: Values in the same line sharing the same superscript letter are not significantly different determined by Tukey's test ($P>0.05$), and values with different letters are significantly different ($P<0.05$).

势, 各组肠淀粉酶活性无显著性差异($P>0.05$)。饲料 Phe 水平为 1.72% 时, 肠 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性达到最大并显著高于对照组($P<0.05$); 饲料苯丙氨酸水平为 1.51% 时, 肠蛋白酶、肠脂肪酶活性达到最大并显著高于对照组($P<0.05$), 与对照组相比分别增加了 298.53% 和 183.15%。

3 讨论

3.1 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼生长性能和饲料蛋白质利用率的影响

饲料中 Phe 可以提高水产动物生长性能及蛋白质利用, 降低饲料消耗^[3]。已有研究表明饲料中适量的 Phe 可促进虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[17]和银鲈(*Bidyanus bidyanus*)^[18]的生长, 但随着饲料中 Phe 水平进一步升高, 生长性能则无明显改善。而在对草鱼^[6]和团头鲂^[11]的研究中发现, 饲料中 Phe 缺乏或过量都将导致生长性能和饲料转化效率降低。本实验中, 吉富罗非鱼的生长性能和饲料转化均在缺乏和过量水平受到抑制, 而且过量 Phe 水平抑制能力要显著强于缺乏水平, 与上述研究结果基本一致。Phe 的缺乏和过量都将破坏饲料的氨基酸平衡, 影响鱼类对饲料中氨基酸的吸收利用, 降低鱼类对饲料的利用及蛋白质合成, 从而抑制生长^[10]。同时过量的 Phe 在体内的脱氨基作用消耗能量, 氧化产生大量苯丙酮酸以及其他代谢产物, 产生毒害作用甚至致病^[19], 影响鱼类生长。本研究中, 饲料中添加适量的 Phe 使饲料氨基酸达到平衡, 提高了吉富罗非鱼对蛋白质的消化和吸收, 降低了饲料系数, 从而提高了吉富罗非鱼的生长性能。

本研究以增重率、饲料系数和蛋白质效率为评价指标, 得到吉富罗非鱼 Phe 的最适需要量为 1.17%~1.21% (占饲料蛋白质的 3.89%~4.02%)。此结果略高于尼罗罗非鱼(0.013~1 g)对 Phe 的需要量(1.05%)^[13], 可能是因为吉富品系罗非鱼生长速度较尼罗罗非鱼原种快约 20%^[20], 较快的生长速度导致了吉富罗非鱼增加了对 Phe 的需要量; 此外生长阶段不同以及使用了不同的实验饲料亦可能是导致这种差异的原因。本实验结果需要量

高于异育银鲫^[10](1.09%)、团头鲂^[11](0.93%~1.00%)、草鱼^[6](1.04%)、大西洋鲑^[21](*Salmo salar*) (0.77%)、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[22](0.6%), 但是低于大鳞鲃(*Barbus capito*)^[23](1.70%)、银鲈(*Bidyanus bidyanus*)^[18](2.20%)和遮目鱼^[24](1.27%); 与高首鲟(*Acipenser transmontanus*) (1.19%)^[25]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) (1.16%)^[17]的需要量相近。鱼类对 Phe 的需要量与养殖品种、饲料类型、饲料中氨基酸组成和养殖管理等因素密切相关^[26], 另外饲料中的酪氨酸对 Phe 亦存在一定的节约作用^[7]。吉富罗非鱼饲料中的酪氨酸是否对 Phe 有节约作用及其转化比率需要进一步研究。

3.2 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼体组成的影响

饲料中 Phe 的含量影响吉富罗非鱼的体组成。Khan 等^[7]对喀拉鲃(*Catla catla*)的研究以及本试验的结果表明, 饲料中适量的 Phe 水平可提高全鱼粗脂肪及灰分含量。由于 Phe 是一种生酮氨基酸, 随着饲料 Phe 含量的上升, 更多的 Phe 被分解用来提供碳骨架用来合成脂肪, 因而导致全鱼粗脂肪含量增加^[10]。全鱼灰分的变化趋势与南亚野鲮(*Labeo rohita*)^[7]保持一致, 均呈先上升后稳定的趋势, 而肌肉灰分随饲料中 Phe 水平上升呈现先下降后上升的趋势。

尽管一些研究报道, 全鱼、血清或肌肉的氨基酸组成模式能作为获得氨基酸需要量的指标^[5], 而本实验随着饲料中 Phe 水平的上升, 肌肉各氨基酸含量、必需氨基酸总量及氨基酸总量差异均不显著。亦有报道表明, 饲料中 Phe 水平对草鱼肌肉氨基酸(除赖氨酸)含量无显著性影响^[27]。由此推测, 利用肌肉的氨基酸组成获得鱼类氨基酸需要量的方法可能存在一定局限性。

3.3 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼血清生化指标的影响

血清生化指标是一种用来判定鱼体健康程度的生理学诊断方法^[28]。本实验中, 血清中谷丙转氨酶(ALT)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)和葡萄糖(GLU)均受饲料 Phe 含量影响。谷丙转氨酶(ALT)是主要存在于机体肝脏细胞线粒体内的

氨基转移酶,其活性受氨基酸代谢强弱影响^[29]。本实验中随着饲料 Phe 水平的升高,血清中 ALT 先上升后下降,可能因为过多的 Phe 被摄入后,多余 Phe 在肝脏内氧化脱氨发生代谢反应后,影响整体氨基酸的吸收和利用,同时对肝细胞有一定的损伤,造成部分 ALT 释放到血清中造成其活性上升^[30];而本实验条件下,饲料中 Phe 对血清中的 AST 活性无显著性影响。

随着饲料中 Phe 水平的上升,GLU 的含量在 1.09%组达到最大,这与饲喂不同水平 Phe 的团头鲂^[11]血清中 GLU 变化规律一致;可能是饲料的各种氨基酸含量到达平衡状态后,氨基酸在体内主要用于合成蛋白质,因此机体调动能量物质,如 T-CHO、TG 进行氧化供能,从而提高了 GLU 在血清中的含量。同时,饲料中过量的 Phe 会影响小鼠脑中 GLU 的利用^[31],Zhou 等^[32]报道饲料中军曹鱼(*Rachycentron canadum*)的赖氨酸需要量实验中,发现饲料赖氨酸含量显著影响血清中血糖浓度;本实验血糖含量变化趋势与其一致。

3.4 饲料苯丙氨酸水平对吉富罗非鱼前肠消化酶活性的影响

鱼类消化吸收营养物质的能力与肠道消化酶活性密切相关^[33]。在肠道中,消化酶可将饲料中的物质水解成肠道吸收的小分子物质,其活力直接影响鱼类对饲料中营养物质的利用率^[34]。本实验中随着饲料中 Phe 水平的上升,肠蛋白酶、肠脂肪酶活性显著上升,而肠淀粉酶活性变化不显著。肠道内的消化酶主要由胰腺分泌,在进入肠道内才发挥出作用,虽然鱼类肠道壁也能分泌消化酶,但消化酶的含量主要取决于胰腺的分泌功能^[35]。Phe 能够促进胰腺消化酶的分泌,其机制可能是通过作用于胰腺腺泡酶原颗粒实现的,或促进调节胆囊收缩素的分泌而调节胰腺消化酶分泌,或是直接促进胰腺生长发育^[36]。 Na^+/K^+ -ATP 酶广泛分布于动物细胞中,是组成 Na^+/K^+ 泵活性的主要部分,其在肠道内活性直接影响营养物质吸收活动强弱^[37]。除维持细胞中电解质和膜电位外, Na^+/K^+ -ATP 酶在小肠黏膜细胞吸收葡萄糖和氨基酸进入细胞时,还具有 Na^+ 同向转运功能,

将细胞内累积的 Na^+ 不断排出才能保证葡萄糖和氨基酸的吸收转运。因此, Na^+/K^+ -ATP 酶活性与肠道吸收营养物质能力高度一致^[38]。本实验 Na^+/K^+ -ATP 酶活性随饲料中 Phe 水平的上升而显著上升。综上所述,饲料中适宜的 Phe 水平能提高肠蛋白酶、肠脂肪酶和肠道 Na^+/K^+ -ATP 酶的活性,促进饲料中营养物质的消化和吸收。

4 结论

饲料中适宜的 Phe 能够提高罗非鱼的消化能力,促进吉富罗非鱼的生长性能。在本实验条件下,以增重率、饲料系数和蛋白质效率为评价指标,吉富罗非鱼获得最佳生长时,对饲料中 Phe 的需要量为 1.17%~1.21%,占饲料蛋白质的 3.89%~4.02%。

参考文献:

- [1] Kanschik S J, Seiliez I. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: Current knowledge and future needs[J]. Aquac Res, 2010, 41(3): 322-332.
- [2] El-Sayed A F M. Tilapia feed and feeding in semi-intensive culture systems[C]//From the pharaohs to the future. Eighth International Symposium on Tilapia in Aquaculture Proceedings. Cairo, Egypt, 2008: 717-723.
- [3] National Research Council(NRC). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp[M]. Washington, D C: National Academies Press, 2011, 69-70: 323-325.
- [4] Zhou S W. Animal Biochemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999: 162-163. [周顺武. 动物生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 162-163.]
- [5] He Z G, Mai K S, Ai Q H. The recent advance on phenylalanine nutritional physiology in fish[J]. China Feed, 2012(5): 36-38. [何志刚, 麦康森, 艾庆辉. 鱼类苯丙氨酸营养生理研究进展[J]. 中国饲料, 2012(5): 36-38.]
- [6] Li W, Feng L, Liu Y, et al. Effects of dietary phenylalanine on growth, digestive and brush border enzyme activities and antioxidant capacity in the hepatopancreas and intestine of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Aquac Nutr, 2015, 21(6): 913-925.
- [7] Khan M A, Abidi S F. Total aromatic amino acid requirement of Indian major carp *Labeo rohita* (Hamilton) fry[J]. Aquaculture, 2007, 267(1-4): 111-118.
- [8] Zehra S, Khan M A. Dietary phenylalanine requirement and tyrosine replacement value for phenylalanine for fingerling

- Catla catla* (Hamilton)[J]. *Aquaculture*, 2014, 433(5): 256–265.
- [9] Borlongan I G. Dietary requirement of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles for total aromatic amino acids[J]. *Aquaculture*, 1992, 102(4): 309–317.
- [10] Ma Z Y, Zhu X M, Xie S Q, et al. Dietary phenylalanine requirement of juvenile gibel carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(5): 1012–1021. [马志英, 朱晓鸣, 解绶后, 等. 异育银鲫幼鱼对饲料苯丙氨酸需求的研究[J]. *水生生物学报*, 2010, 34(5): 1012–1021.]
- [11] Ren M, Liu B, Habte-Tsion H, et al. Dietary phenylalanine requirement and tyrosine replacement value for phenylalanine of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. *Aquaculture*, 2015, 442: 51–57.
- [12] Diógenes A F, Fernandes J B K, Dorigam J C P, et al. Establishing the optimal essential amino acid ratios in juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the deletion method[J]. *Aquac Nutr*, 2016, 22(2): 435–443.
- [13] Santiago C B, Lovell R T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia[J]. *J Nutr*, 1988, 118(12): 1540–1546.
- [14] Furuya W M, Furuya V E R R. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets[J]. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2010, 39: 88–94.
- [15] Zhou X H, Xiang X, Luo L, et al. Dietary threonine requirement of GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2014, 44(4): 83–89. [周兴华, 向泉, 罗莉, 等. 吉富罗非鱼对饲料中苏氨酸的需要量[J]. *淡水渔业*, 2014, 44(4): 83–89.]
- [16] Millamena O M, Teruel M B, Kanazawa A, et al. Quantitative dietary requirements of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon*, for histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine and tryptophan[J]. *Aquaculture*, 1999, 179(1–4): 169–179.
- [17] Kim K. Requirement for phenylalanine and replacement value of tyrosine for phenylalanine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 1993, 113(3): 243–250.
- [18] Ngamsnae P, Silva de S S, Gunasekera R M. Arginine and phenylalanine requirement of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* and validation of the use of body amino acid composition for estimating individual amino acid requirements[J]. *Aquac Nutr*, 1999, 5(3): 173–180.
- [19] Barrett G C. *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*[M]. Berlin: Springer Netherlands, 1985: 171.
- [20] Qiang J, Yang H, He J, et al. Comparison on growth performance in three different strains of Nile tilapia and physiological responses after short-term high stocking density stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(1): 142–152. [强俊, 杨弘, 何杰, 等. 3 种品系尼罗罗非鱼生长及高密度胁迫后生理响应变化的比较[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(1): 142–152.]
- [21] Rollin X, Mambrini M, Abboudi T, et al. The optimum dietary indispensable amino acid pattern for growing Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry[J]. *Br J Nutr*, 2003, 90(5): 865–876.
- [22] Robinson E H, Wilson R P, Poe W E. Total aromatic amino acid requirement, phenylalanine requirement and tyrosine replacement value for fingerling channel catfish[J]. *J Nutr*, 1980, 110(9): 1805–1812.
- [23] Xu H, Wang C A, Xu Q Y, et al. Requirement of essential amino acids of *Barbus capito*[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2013, 32(6): 126–131. [许红, 王常安, 徐奇友, 等. 大鳞鲃幼鱼氨基酸需要量[J]. *华中农业大学学报*, 2013, 32(6): 126–131.]
- [24] Borlongan I G, Coloso R M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids[J]. *J Nutr*, 1993, 123(1): 125–132.
- [25] Ng W K, Hung S S O. Estimating the ideal dietary indispensable amino acid pattern for growth of white sturgeon, *Acipenser transmontanus* (Richardson)[J]. *Aquac Nutr*, 1995, 1(2): 85–94.
- [26] Mambrini M, Kaushik S J. Indispensable amino acid requirements of fish: correspondence between quantitative data and amino acid profiles of tissue proteins[J]. *J Appl Ichthyol*, 1995, 11(3–4): 240–247.
- [27] Gao Y J, Liu Y J, Chen X Q, et al. Total aromatic amino acid requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquac Nutr*, 2016, 22(4): 865–872.
- [28] Kavitha C, Ramesh M, Kumaran S S, et al. Toxicity of *Moringa oleifera* seed extract on some hematological and biochemical profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2012, 64(7–8): 681–687.
- [29] Liao Y J, Liu B, Ren M C, et al. Effects of dietary arginine level on growth performance, free essential amino acids, hematological characteristics, and immune response in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(3): 549–559. [廖英杰, 刘波, 任鸣春, 等. 精氨酸对团头鲂幼鱼生长、血清游离精氨酸和赖氨酸、血液生化及免疫指标的影响[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(3): 549–559.]
- [30] Peres H, Oliva-Teles A. Effect of the dietary essential amino acid pattern on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture*, 2007, 267(1–4): 119–128.
- [31] Yasuhiro K, Misako S, Masuhide M. Effect of excess phenylalanine on utilization of glucose in rat brain[J]. *Pediatr Int*, 1974, 16(1): 24–28.
- [32] Zhou Q, Wu Z, Chi S, et al. Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. *Aquaculture*, 2007, 273(4): 634–640.

- [33] Zhang S, Ai Q H, Mai K S, et al. Effects of fish meal replacement with crystalline amino acid on digestive and metabolic enzymes of tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther, 1873) larvae[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(5): 801–808. [张珊, 艾庆辉, 麦康森, 等. 晶体氨基酸替代鱼粉蛋白对半滑舌鲷稚鱼消化酶和代谢酶活力的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(5): 801–808.]
- [34] Pianesso D, Radünz Neto J, da Silva L P, et al. Determination of tryptophan requirements for juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*) and its effects on growth performance, plasma and hepatic metabolites and digestive enzymes activity[J]. Anim Feed Sci Technol, 2015, 210: 172–183.
- [35] Qian X, Wang G Q, Zhou H Q, et al. Effect of dietary protein on the activities of digestive enzymes of topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2007, 19(2): 182–187. [钱曦, 王桂芹, 周洪琪, 等. 饲料蛋白水平及豆粕替代鱼粉比例对翘嘴红鲌消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2007, 19(2): 182–187.]
- [36] Zeng T. Effects of dietary phenylalanine on digestive and absorptive function, antioxidative ability and immune function of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2011: 60–61. [曾婷. 苯丙氨酸对幼建鲤消化吸收功能、抗氧化能力和免疫功能的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011: 60–61]
- [37] Ye Y T, Lin S M, Luo L, et al. Study on the absorption of L-leucine and L-phenylalanine by the intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Acta Zoologica Sinica, 2000, 46(1): 52–57. [叶元土, 林仕梅, 罗莉, 等. 草鱼肠道对 L-亮氨酸和 L-苯丙氨酸的吸收[J]. 动物学报, 2000, 46(1): 52–57.]
- [38] Xiang X, Zhou X H, Ye Y T, et al. Absorption kinetics of L-methionine and L-phenylalanine in isolated intestine of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2009(2): 271–277. [向泉, 周兴华, 叶元土, 等. 鲤肠道对 L-甲硫氨酸和 L-苯丙氨酸的离体吸收动力学[J]. 水产学报, 2009, 33(2): 271–277.]

Dietary phenylalanine requirement of the GIFT strain of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, reared in freshwater

JIANG Ming¹, WU Wenyi^{1,2}, WEN Hua¹, LIU Wei¹, WU Fan¹, TIAN Juan¹, YANG Changgeng¹

1. Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation and Utilization, Ministry of Agriculture; Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Phenylalanine (Phe) is one of the essential amino acids for fish. It is an essential component of proteins that participate in many important physiological and metabolic processes, including growth and development. A deficiency or excess of phenylalanine in the diet can significantly affect the growth performance and/or feed utilization of farmed fish. Therefore, it is necessary to ensure that dietary levels of Phe meet, but do not exceed, the requirements of the fish. The GIFT strain of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia) is becoming an important and economically valuable farmed freshwater species. The aim of this study was to determine the optimal dietary Phe requirement of the GIFT strain by evaluating its growth performance, feed utilization, body composition, muscle amino acid composition, and digestive enzyme activities in a 60-day growth experiment. Triplicate groups of experimental tilapia (initial body weight, 52.70 ± 1.80 g) were cultured in freshwater in 15 floating net cages ($1.0 \text{ m} \times 1.0 \text{ m} \times 1.5 \text{ m}$). Six isonitrogenous (30.10% crude protein) and isocaloric (17.73 MJ/kg gross energy) diets were formulated with protein sources including fish meal, gelatin, peanut meal, soybean meal, casein, and crystalline amino acids. The measured Phe levels in the experimental diets were 0.78%, 0.95%, 1.09%, 1.34%, 1.51%, and 1.72%. The dietary amino acid pattern, except for Phe, was adapted to the muscle amino acid pattern of the GIFT strain. The results showed that with increasing dietary Phe levels, the weight gain rate, specific growth rate, protein efficiency ratio, and protein deposition efficiency increased significantly ($P < 0.05$) with the highest values in the 1.34% Phe group. The feed conversion ratio decreased significantly ($P < 0.05$) with increasing dietary Phe levels, and showed the lowest value in the 1.09% Phe group. The hepatosomatic index, viscerosomatic index, and condition factor of the GIFT strain all increased significantly ($P < 0.05$) as dietary Phe levels increased from 0.78% to 1.34%, but decreased when dietary Phe levels exceeded 1.34%. The highest whole body crude lipid and whole body ash contents were in the 1.34% dietary Phe group. There were no significant differences ($P > 0.05$) among the six groups in whole body moisture content, whole body crude protein content, muscle moisture content, muscle crude protein content, muscle crude lipid content, and muscle amino acids contents. The muscle ash content of the group fed 0.98% dietary Phe was significantly ($P < 0.05$) lower than that of the group fed 1.72% dietary Phe, but was not significantly different ($P > 0.05$) from those of the other groups. The serum chemistry analysis showed that dietary Phe significantly affected the glucose, total cholesterol, triglyceride, and alanine aminotransferase contents ($P < 0.05$), but not the aspartate aminotransferase content ($P > 0.05$). The dietary Phe levels also significantly affected the activities of intestinal protease, intestinal lipase, and Na^+/K^+ -ATPase ($P < 0.05$), but not intestinal amylase activity. The quadratic regression analyses of weight gain rate, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio showed that the optimum dietary Phe requirement of GIFT is 1.17%–1.21% of the diet or 3.89%–4.02% of dietary proteins.

Key words: GIFT(*Oreochromis niloticus*); phenylalanine; dietary requirement; growth

Corresponding author: WEN Hua. E-mail: wenhua.hb@163.com