

黄河鲤对饲料蛋白质需求量研究

瞿飞虎^{1,2,3}, 姜晓娜^{2,3}, 葛彦龙^{2,3}, 翟钰姗^{2,3}, 张玲^{2,3}, 王继瑶^{2,3}, 寇寒^{2,3}, 李池陶^{2,3},
胡雪松^{2,3}, 石潇丹^{2,3}, 贾智英^{1,2,3}

1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

2. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所/农业农村部水产基因组学重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070

3. 中国水产科学研究院鲤遗传育种工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150070

摘要: 黄河鲤 (*Cyprinus carpio haematopterus*) 是中国黄河流域长期自然形成的特有重要淡水经济鱼类, 其对饲料蛋白的需求量较其他鲤低。为从生长性状、免疫、代谢等方面探究黄河鲤对不同饲料蛋白水平的适应和利用能力, 对初始体质量为 (360.22 ± 1.02) g 的黄河鲤投喂蛋白质质量分数分别为 22.63% (D1)、25.32% (D2)、28.15% (D3)、31.43% (D4)、34.18% (D5) 的实验饲料。结果表明: D3 组生长性状的体质量增长率、特定生长率和蛋白质效率极显著高于其他组 ($p < 0.01$), 而饲料系数显著低于其他组 ($p < 0.05$)。D3 组的生长基因 *GH*、*IGF-1* 和蛋白合成基因 *TOR*、*4EBP2* 的相对表达量显著高于 D1、D4 和 D5 组 ($p < 0.05$)。D3 组血清生化中的谷草转氨酶和谷丙转氨酶含量显著低于 D1 和 D5 组, 但碱性磷酸酶含量显著高于这两组 ($p < 0.05$)。D3 组免疫酶活中的 α -淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶、超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性及还原性谷胱甘肽含量显著高于 D1 和 D5 组 ($p < 0.05$), 而丙二醛含量极显著低于其他组 ($p < 0.01$)。D5 组氨代谢基因 *Rhag*、*Rhbg* 和 *Rhcg1* 的相对表达量显著高于其他组 ($p < 0.05$)。拟合回归分析表明, 黄河鲤的最佳饲料蛋白需求量约为 28.57%~29.04%。

关键词: 黄河鲤; 饲料蛋白质; 血清生化; 酶活; 相对表达

中图分类号: S 965.116

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Research on feed protein requirement of *Cyprinus carpio haematopterus*

QU Feihu^{1,2,3}, JIANG Xiaona^{2,3}, GE Yanlong^{2,3}, ZHAI Yushan^{2,3}, ZHANG Ling^{2,3}, WANG Jiyao^{2,3}, KOU Han^{2,3},
LI Chitao^{2,3}, HU Xuesong^{2,3}, SHI Xiaodan^{2,3}, JIA Zhiying^{1,2,3}

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

2. Heilongjiang Institute of Fishery, Chinese Academy of Fishery Sciences, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/ Key Laboratory of Aquatic Genomics, Harbin 150070, China

3. Research Center of Carp Genetics and Breeding Engineering Technology, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China

Abstract: Yellow River carp (*Cyprinus carpio haematopterus*) is a unique and important freshwater economic fish whose demand for feed protein is lower than that of other carps. In order to explore the adaptation and utilization ability of Yellow River carp to different dietary protein contents in terms of growth traits, immunity and metabolism, we fed the yellow carps of initial body mass of (360.22 ± 1.02) g with test diets with protein contents of 22.63% (D1), 25.32% (D2), 28.15% (D3), 31.43% (D4) and 34.18% (D5). The results show that the weight gain rate, specific growth rate and protein efficiency were highly significantly higher in D3 group than in the other groups ($p < 0.01$), and the feed coefficient was significantly lower in D3 group than in the

收稿日期: 2023-12-01; 修回日期: 2024-03-11

基金项目: 国家现代农业产业技术体系 (CARS-45-07); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助 (2023TD35)

作者简介: 瞿飞虎 (1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: fhqu2021@qq.com

通信作者: 贾智英 (1976—), 女, 研究员, 博士, 研究方向为鱼类遗传学和新品种选育。E-mail: zjia2010@163.com

other groups ($p<0.05$). Relative expression of growth genes *GH*, *IGF-1* and protein synthesis genes *TOR*, *4EBP2* were significantly higher in D3 group than in D1, D4 and D5 groups ($p<0.05$). Serum biochemistry levels of glutamic and glutamic amino-transferase were significantly lower in D3 group than in D1 and D5 groups, but alkaline phosphatase levels were significantly higher in D1 and D5 groups ($p<0.05$). The enzyme activities of α -amylase, lipase, trypsin, superoxide dismutase, catalase, etc. And the content of reduced glutathione in D3 group was significantly higher than those in D1 and D5 groups ($p<0.05$), and malondialdehyde was highly significantly lower in D3 group than in the other groups ($p<0.01$). The relative expressions of *Rhag*, *Rhbg* and *Rhcg1* among ammonia metabolism genes were significantly higher in D5 group than in other groups ($p<0.05$). The fit regression analysis shows that the optimal dietary protein requirement of Yellow River carp is about 28.57%–29.04%.

Keywords: *Cyprinus carpio haematopterus*; Feed protein; Serum biochemical; Enzyme activity; Relative expression

蛋白质是鱼体生长、繁殖和维持生命所必需的营养成分^[1]。为了促进动物的营养需求, 必须提供足够的蛋白质, 以满足生长、组织修复和维持最佳健康状态等^[2]。鱼类是人类的一种重要蛋白质来源, 对全球人口的营养供给具有重要作用^[3]。鲤(*Cyprinus carpio*)对饲料蛋白质的需求量因受温度^[4]、体质量^[5]、日粮中蛋白质含量^[6]等环境因素影响而存在差异。近年来, 鲤配合饲料的蛋白质原料如鱼粉、豆粕等资源匮乏^[7], 价格不断攀升, 因此不少学者从营养学角度积极探索用高效且低成本的蛋白源代替鱼粉^[8-9]。也有学者从遗传育种角度出发, 确定不同鲤种质对饲料蛋白质的需求, 进而培育出对蛋白质需求量低的种质, 从根本上解决鱼粉资源匮乏、价格昂贵等难题^[10-11]。

2022年, 我国鲤养殖产量高达284.3万吨, 占全国淡水鱼总产量的10.49%^[12]。黄河鲤(*C. carpio haematopterus*)是我国黄河流域长期自然形成的特有重要淡水经济鱼类, 具有金鳞赤尾、体型梭长、肉质鲜美等特点^[6]。前期研究表明, 黄河鲤较其他鲤的饲料蛋白需求量相对较低^[13]。本研究以黄河鲤为实验材料, 进一步测定不同饲料蛋白水平对黄河鲤生长性能、血清生化、肝肠酶活力及mRNA表达水平的影响, 确定黄河鲤对饲料蛋白水平的需求; 以期为低氮饲料的研究与开发奠定理论基础, 为优化鲤配合饲料的营养配比提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 饲料配方和制剂

饲料配方按《鲤鱼配合饲料》(GB/T 36782—2018)设计, 实验饲料以鱼粉和酪蛋白为主要蛋白源, 鱼油、豆油为主要脂肪源, 配制蛋白质质量分数为22%、25%、28%、31%、34%的饲料。各饲

料原料按饲料配方精确称取后, 过60目筛, 按逐级放大的原则将原料混合均匀, 后依据配方比例加入鱼油、豆油, 充分混合后, 制成直径为3 mm的饲料颗粒, 自然风干后于-20 ℃保存备用。饲料组成及营养成分见表1。

1.2 实验鱼及饲养管理

实验鱼来自中国水产科学研究院黑龙江水产研究所宽甸水产试验站, 暂养于水产养殖基地的室内循环水系统中。将平均体质量为(360.22±1.02) g的黄河鲤(120尾), 随机分配到15个玻璃水箱(46 cm×32 cm×52 cm), 每组设3个重复, 每个重复8尾鱼。实验之前饥饿24 h, 实验为期56 d。每天定时投喂3次, 日投喂量为体质量的5%, 根据体质量调整饲料量。养殖水源为曝气自来水, 全程水温控制在(25±1) ℃, 每2 d换水1次, 每次换1/3。

1.3 样品采集与处理

养殖结束后, 统计每个鱼缸投喂的饲料量、成活率并计算饲料转化率, 同时将鱼饥饿24 h, 用200 mg·L⁻¹的MS-222做快速深度麻醉, 称量每条鱼的体质量, 用于计算体质量增长率、特定生长率、蛋白质效率。每个平行随机取3尾鱼, 每个处理组共9尾, 用于血清和样品采集。将血液于4 ℃静置2 h, 在4 ℃、3500 r·min⁻¹离心20 min制备血清, 上清液分装于2 mL的冻存管中, 移置-80 ℃冰箱中保存, 用于血清生化分析。取血后立即解剖, 采集肠、肝脏立即放入液氮中, 随后存放于-80 ℃冰箱中, 用于肠道消化酶和肝脏抗氧化酶活性的分析。取脑、肠、鳃组织放入RNAlater(Thermo, 美国)保存液, 4 ℃放置24 h后, 更换RNAlater保存液, 于-20 ℃保存, 用于目的基因表达分析。

1.4 生长性能与计算公式

根据初始个体数和末个体数之差计算成活率

表1 实验饲料组成及营养水平(干物质)

Table 1 Formulation and proximate composition of experimental diet (Dry matter)

%

原料名称 Ingredient	蛋白质质量分数(组别) Mass fraction of protein (Group)				
	22.63% (D1)	25.32% (D2)	28.15% (D3)	31.43% (D4)	34.18% (D5)
鱼粉 Fish meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
酪蛋白 Casein	4.50	9.30	14.00	19.00	23.70
鱼油 Fish oil	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
豆油 Soybean oil	2.30	2.30	2.30	2.30	2.30
次粉 Wheat meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
玉米淀粉 Cornstarch	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
维生素预混料 Vitamin premix	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
矿物质预混料 Mineral premix	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
氯化胆碱 Choline chloride	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
纤维素 Cellulose	23.60	19.60	15.50	11.20	7.20
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.80	0.60	0.50	0.40	0.30
L-苏氨酸 L-Thr	1.20	1.00	0.80	0.60	0.40
赖氨酸 L-Lys	2.30	1.90	1.60	1.20	0.80
总计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient level					
粗蛋白 Crude protein	22.63	25.32	28.15	31.43	34.18
粗脂肪 Crude lipid	6.50	6.60	6.30	6.60	6.50
赖氨酸 Lys	3.12	3.14	3.17	3.28	3.07
蛋氨酸 Met	0.91	0.99	0.93	0.99	0.92
苏氨酸 Thr	1.83	1.70	1.70	1.71	1.70
总磷 Phosphorus	1.13	1.00	0.97	0.95	1.15

注: 每千克日粮中预混料提供以下成分: 维生素A 120 000 IU; 维生素D₃ 40 000 IU; 维生素E 1 400 mg; 维生素K₃ 350 mg; 维生素B₁ 200 mg; 维生素B₂ 200 mg; 维生素B₆ 270 mg; 维生素B₁₂ 1.2 mg; 维生素C 3 500 mg; D-泛酸钙 850 mg; 烟酰胺 1 000 mg; 叶酸 85 mg; D-生物素 4.0 mg; 肌醇 1 400 mg; 镁 850 mg; 锌 700 mg; 锰 370 mg; 铜 136 mg; 铁 3 100 mg; 钴 33 mg; 碘 20 mg; 硒 10 mg。

Note: The premix provides the following per kg of diets: Vitamin A 120,000 IU; Vitamin D₃ 40,000 IU; Vitamin E 1,400 mg; Vitamin K₃ 350 mg; Vitamin B₁ 200 mg; Vitamin B₂ 200 mg; Vitamin B₆ 270 mg; Vitamin B₁₂ 1.2 mg; Vitamin C 3,500 mg; Calcium D-pantothenate 850 mg; Nicotinamide 1,000 mg; Folic acid 85 mg; D-biotin 4.0 mg; Inositol 1,400 mg; Magnesium 850 mg; Zinc 700 mg; Manganese 370 mg; Copper 136 mg; Iron 3,100 mg; Cobalt 33 mg; Iodine 20 mg; Selenium 10 mg.

(Survival rate, SR), 根据初、末体质量计算体质量增长率(Weight gain rate, WGR)和特定生长率(Specific growth rate, SGR), 根据体质量与饲料量计算饲料系数(Feed coefficient, FCR)和蛋白质效率(Protein efficiency, PER):

$$SR = N_t / N_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$WGR = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\% \quad (2)$$

$$SGR = [(\ln W_t - \ln W_0) / t] \times 100\% \quad (3)$$

$$FGR = [F / (W_t - W_0)] \times 100\% \quad (4)$$

$$PER = [(W_t - W_0) / (F \times P)] \times 100\% \quad (5)$$

式中: N_t 为成活尾数; N_0 为初始尾数; W_t 为终末体质量(g); W_0 为初始体质量(g); F 为摄食量(g); t 为养殖周期(d); P 为饲料中粗蛋白质量分数(%)。

1.5 血清生化与酶活测定

采用深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司生产的生化试剂盒, 用(BS-350E, 中国)生化自动分析仪测定血清中的生化指标: 谷丙转氨酶(ALT)、谷

草转氨酶 (AST)、球蛋白 (GLO)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、碱性磷酸酶 (ALP)、高密度胆固醇 (HDL-C)、尿酸 (UA)，具体方法参照说明书。

肠道中胰蛋白酶 (TPS)、脂肪酶 (LPS)、 α -淀粉酶 (α -AMS) 和肝脏中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 等酶活性和丙二醛 (MDA)、微量还原性谷胱甘肽 (GSH) 含量均采用南京建成生物工程研究所有限公司提供的试剂盒测定，参照试剂盒说明书测定。

1.6 相对基因表达的测定

利用 RNA 提取试剂盒 (Qiagen, 德国) 提取各组织中肠、鳃和脑的总 RNA。采用 Prime ScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) (Takara, 中国) 进行 RNA 反转录。根据 NCBI 数据库获得生长相关基因生长激素 (GH)、类胰岛素生长因子 (IGF-1)，蛋白质合成相关基因雷帕霉素靶蛋白 (TOR)、真核细胞翻译起始因子 4E 结合蛋白 2 (4EBP2) 及氨代谢基因 Rh 蛋白家族 (Rhag、Rhbg 和 Rhcg1) 基因序列，并利用 NCBI 数据库的 Primer-BLAST 程序设计引物，委托生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成引物。以 β -actin 为参考基因，采用实时荧光定量 PCR，反应总体系 20 μ L，采用 SYBR Green 染料法，以 Agilent Mx3005P 实时定量 PCR 仪进行 mRNA 相对定量表达分析，每组至少重复 3 次。所用引物如表 2 所示。

1.7 数据统计与分析

使用 Excel 2016 软件和 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行实时荧光定量 PCR 实验数据分析，并使用 Excel 2016 软件绘制图表。采用 SPSS 21.0 软件进行数据分析 (单因素方差分析 One-way ANOVA)，Duncan's 检验进行多重比较，实验数据以“平均值 \pm 标准误 ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)”表示， $p<0.05$ 表示差异显著， $p<0.01$ 表示差异极显著，具有统计学意义。利用 Excel 2016 软件制作回归方程来拟合生长指标与饲料蛋白含量间的关系，确定饲料蛋白质需求量。

2 结果

2.1 饲料蛋白质水平对黄河鲤生长性能的影响

不同饲料蛋白质水平对黄河鲤生长性能的 WGR、PER、SGR、FCR、SR 的影响见表 3。随着饲料蛋白质水平增加，WGR、SGR 和 PER 均呈先升后降的趋势，均在 D3 组达到最高值，极显著高

表2 荧光定量 PCR 引物

Table 2 Primers used in quantitative real-time PCR

基因名称 Gene name	引物序列 (5'-3') Sequences of primers (5'-3')
<i>GH</i> ^①	F: GGGGAGAGCATCAGACAACC R: CAGGCTGTCTCAAAGTCGT
<i>IGF-1</i> ^②	F: GGCGCCTCGAGATGTATTGT R: TCCTTGGGCTGTCTGTATGC
<i>TOR</i> ^③	F: AGCTAAGCCAAGATGAAGCCA R: ACTATGGCCAGGATACCACCT
<i>4EBP2</i> ^④	F: CCTCACGACTATTGCACCACT R: CTGGCGATGGGTGAGTTA
<i>Rhag</i> ^⑤	F: AAAGAAAGACAATGTTACGGCCA R: AATCAGGCCTGTGATCAACCC
<i>Rhbg</i> ^⑥	F: TCGCAGCCTTCCCTACAG R: CTAGTCACGCCAACGTGGAT
<i>Rhcg1</i> ^⑦	F: GTTCCTCCAGTCCTGGTTAT R: ACGCTGCTCACGAAGTTT
β -actin	F: GCCGTGACCTGACTGACTACCT R: GCCACATAGCAGAGCTCTCCCTG

注: ① 生长激素；② 类胰岛素生长因子；③ 雷帕霉素靶蛋白；④ 真核细胞翻译起始因子 4E 结合蛋白 2；⑤—⑦ Rh 蛋白家族 (*Rhag*、*Rhbg* 和 *Rhcg1*)。

Note: ① Growth hormone; ② Insulin-like growth factor 1; ③ Rapamycin target protein; ④ Eukaryotic translation initiation factor 4e binding protein 2; ⑤—⑦ Rh protein family (*Rhag*, *Rhbg* and *Rhcg1*).

于其他组 ($p<0.01$)；而 FCR 呈先降后升的趋势，在 28.15% 时 D3 组极显著低于其他组 ($p<0.01$)。

以 SGR、FCR 为因变量 y ，以蛋白质水平为自变量 x ，分别进行二次回归方程拟合，得到方程 $y = -71.533x^2 + 40.874x - 4.5322$ ($r^2 = 0.9556$) 和 $y = 211.3x^2 - 122.74x + 19.838$ ($r^2 = 0.9896$)；当 $x = 28.57\%$ 时，SGR 最大 (图 1)；当 $x = 29.04\%$ 时，FCR 最小 (图 2)；因此，黄河鲤 SGR 和 FCR 的最佳蛋白质质量分数分别为 28.57% 和 29.04%。

2.2 饲料蛋白质水平对黄河鲤血清生化指标的影响

不同饲料蛋白质水平条件下，黄河鲤血清生化指标活性变化情况见表 4。随着饲料蛋白质水平的增加，ALT 和 AST 呈先降后升的趋势，在 D3 组达到最低，显著低于 D1 和 D5 组 ($p<0.05$)；而 ALP 呈先升后降的趋势，在 D3 组达到最高，显著高于 D1 和 D5 组 ($p<0.05$)。

表3 饲料蛋白质水平对黄河鲤生长性能的影响

Table 3 Effects of different protein contents on growth performance of Yellow River carp

生长性能 Growth performance	蛋白质质量分数(组别) Mass fraction of protein (Group)				
	22.63% (D1)	25.32% (D2)	28.15% (D3)	31.43% (D4)	34.18% (D5)
初始体质量 Initial body mass/g	357.30±0.92	360.30±3.01	363.23±0.52	362.04±2.14	358.23±1.76
终末体质量 Final body mass/g	650.31±0.33 ^a	703.12±4.82 ^c	765.01±7.27 ^a	729.81±9.51 ^b	654.48±0.72 ^d
体质量增长率 WGR/%	82.01±0.46 ^d	95.15±0.41 ^c	110.60±2.08 ^a	101.56±1.87 ^b	82.71±0.86 ^d
特定生长率 SGR/(%·d ⁻¹)	1.07±0.00 ^d	1.19±0.00 ^c	1.33±0.02 ^a	1.25±0.02 ^b	1.08±0.01 ^d
蛋白质效率 PER/%	1.58±0.01 ^c	1.70±0.02 ^b	1.80±0.01 ^a	1.50±0.05 ^c	1.15±0.02 ^d
饲料系数 FCR	2.87±0.01 ^a	2.35±0.03 ^c	1.97±0.01 ^d	2.16±0.07 ^c	2.57±0.05 ^b
成活率 SR/%	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

注: 同行数据中上标字母不同表示差异显著($p<0.05$)。

Note: The values with different superscript letters within the same line are significantly different ($p<0.05$).

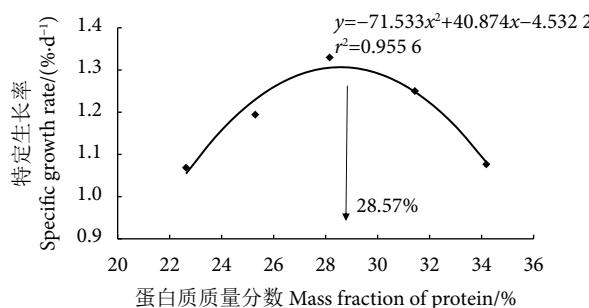


图1 不同饲料蛋白质水平与特定生长率的关系

Fig. 1 Relationship between different dietary protein content and specific growth rate

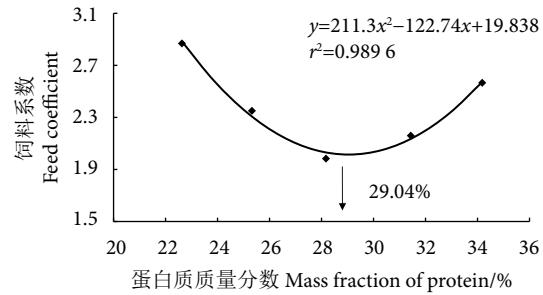


图2 不同饲料蛋白质水平与饲料转化系数的关系

Fig. 2 Relationship between different dietary protein content and feed coefficient

2.3 饲料蛋白质水平对黄河鲤肠道消化酶的影响

不同饲料蛋白质水平条件下, 黄河鲤肠道的

α -AMS、LPS 和 TPS 活性变化见表 5。随着饲料蛋白质水平的增加, α -AMS、LPS 和 TPS 活性均呈先

表4 饲料蛋白质水平对黄河鲤血清生化的影响

Table 4 Effects of different protein contents on serum biochemical of Yellow River carp

血清生化 Serum biochemical	蛋白质质量分数(组别) Mass fraction of protein (Group)				
	22.63% (D1)	25.32% (D2)	28.15% (D3)	31.43% (D4)	34.18% (D5)
谷丙转氨酶 ALT/(U·L ⁻¹)	18.40±1.31 ^a	15.10±1.41 ^{ab}	12.60±1.03 ^b	13.63±0.97 ^{ab}	17.63±1.08 ^a
谷草转氨酶 AST/(U·L ⁻¹)	100.77±4.36 ^a	80.93±1.05 ^{bc}	69.50±4.27 ^c	77.10±2.81 ^{bc}	89.53±3.91 ^{ab}
碱性磷酸酶 ALP/(U·L ⁻¹)	29.53±2.38 ^b	37.33±2.39 ^{ab}	45.47±2.77 ^a	37.73±2.98 ^{ab}	29.33±2.36 ^b
总蛋白 TP/(g·L ⁻¹)	33.40±0.91	32.80±0.79	33.40±0.08	33.23±0.21	34.03±0.41
白蛋白 ALB/(g·L ⁻¹)	12.20±0.54	12.23±0.27	12.30±0.25	11.97±0.30	12.43±0.07
总胆固醇 TC/(mmol·L ⁻¹)	5.81±0.17	5.56±0.16	5.36±0.09	5.21±0.21	5.23±0.37
甘油三酯 TG/(mmol·L ⁻¹)	1.07±0.12	1.24±0.12	1.04±0.07	1.04±0.15	1.14±0.10
高密度胆固醇 HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	2.78±0.02	2.72±0.06	2.69±0.02	2.69±0.03	2.70±0.07
尿酸 UA/(μmol·L ⁻¹)	33.73±2.41	33.77±0.69	34.90±1.27	30.10±1.35	32.33±1.12
球蛋白 GLO/(g·L ⁻¹)	1.07±0.00	1.19±0.00	1.33±0.02	1.25±0.02	1.08±0.01

注: 同行数据中上标字母不同表示差异显著($p<0.05$)。

Note: The values with different superscript letters within the same line are significantly different ($p<0.05$).

升后降的趋势, 均在D3组达到最高值; 其中, α -AMS活性极显著高于D1和D5组($p<0.01$); LPS和TPS

活性显著高于D1和D5组($p<0.05$)。

表5 饲料蛋白质水平对黄河鲤消化酶的影响

Table 5 Effects of different protein contents on digestive enzyme of Yellow River carp

消化酶 Digestive enzyme	蛋白质质量分数(组别) Mass fraction of protein (Group)				
	22.63% (D1)	25.32% (D2)	28.15% (D3)	31.43% (D4)	34.18% (D5)
α -淀粉酶 α -AMS/(U·mg ⁻¹)	0.38±0.01 ^c	0.42±0.01 ^{ab}	0.44±0.01 ^a	0.42±0.01 ^{ab}	0.39±0.01 ^{bc}
脂肪酶 LPS/(U·g ⁻¹)	0.52±0.03 ^b	0.63±0.01 ^{ab}	0.70±0.02 ^a	0.62±0.04 ^{ab}	0.50±0.08 ^b
胰蛋白酶 TPS/(U·g ⁻¹)	0.38±0.05 ^b	0.47±0.03 ^{ab}	0.59±0.06 ^a	0.49±0.04 ^{ab}	0.38±0.03 ^b

注: 同行数据中上标字母不同表示差异显著($p<0.05$)。

Note: The values with different superscript letters within the same line are significantly different ($p<0.05$).

2.4 饲料蛋白质水平对黄河鲤肝脏抗氧化酶的影响

不同饲料蛋白质水平条件下, 黄河鲤肝脏SOD、CAT活性和GSH、MDA含量变化情况见表6。随着饲料蛋白水平的增加, SOD、CAT活性

和GSH含量均呈先升后降的趋势, 均在D3组达到最高; MDA含量呈先降后升的趋势, 且在D3组达到最低。D3组的SOD、CAT、GSH、MDA相较于D1和D5组有显著性差异($p<0.05$)。

表6 饲料蛋白质水平对黄河鲤抗氧化酶的影响

Table 6 Effects of different protein contents on antioxidant oxidase of Yellow River carp

抗氧化酶 Antioxidant oxidase	蛋白质质量分数(组别) Mass fraction of protein (Group)				
	22.63% (D1)	25.32% (D2)	28.15% (D3)	31.43% (D4)	34.18% (D5)
超氧化物歧化酶 SOD/(U·mg ⁻¹)	85.24±0.11 ^c	96.21±0.95 ^b	101.73±0.44 ^a	97.50±0.97 ^{ab}	82.70±2.45 ^c
过氧化氢酶 CAT/(U·mg ⁻¹)	1.85±0.06 ^c	2.67±0.29 ^{ab}	3.14±0.16 ^a	2.48±0.24 ^{abc}	2.02±0.11 ^{bc}
还原性谷胱甘肽 GSH/(μ mol·mg ⁻¹)	5.13±0.23 ^c	7.23±0.09 ^b	9.82±0.55 ^a	7.83±0.64 ^b	5.60±0.35 ^c
丙二醛 MDA/(nmol·mg ⁻¹)	0.55±0.06 ^a	0.34±0.05 ^{ab}	0.28±0.05 ^b	0.40±0.02 ^{ab}	0.53±0.09 ^a

注: 同行数据中上标字母不同表示差异显著($p<0.05$)。

Note: The values with different superscript letters within the same line are significantly different ($p<0.05$).

2.5 饲料蛋白质水平对黄河鲤生长基因相对表达量的影响

不同饲料蛋白质水平条件下, 黄河鲤的GH和IGF-1基因相对表达量变化情况见图3。随

着饲料蛋白质水平的增加, GH和IGF-1基因相对表达量均呈先升后降的变化规律, 且均为D3组显著高于其他实验组($p<0.05$)。

2.6 饲料蛋白质水平对黄河鲤的蛋白质合成基因相对表达量的变化

不同饲料蛋白质水平条件下, 黄河鲤TOR和4EBP2基因相对表达量变化情况见图4。随着饲料蛋白质水平的增加, TOR和4EBP2基因相对表达量均呈先升后降的变化规律, 且在D3组的表达量显著高于D1、D4和D5组($p<0.05$)。

2.7 饲料蛋白质水平对黄河鲤代谢基因相对表达量的变化

不同饲料蛋白质水平条件下, 黄河鲤Rhag、Rhbg和Rhcg1基因相对表达量变化情况见图5。随着饲料蛋白质水平的增加, Rhag、Rhbg和Rhcg1基因相对表达量均呈逐渐上升的趋势。D4和D5组的Rhag基因相对表达量显著高于D1组

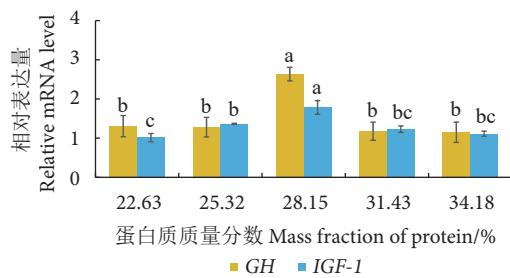


图3 饲料蛋白质水平对脑GH、IGF-1基因相对表达量的影响

注: 同色方柱上不同字母表示差异显著($p<0.05$)。

Fig. 3 Effects of different protein contents on relative expressions of GH and IGF-1 in brain

Notes: Different letters on the same colored square column represent significant differences ($p<0.05$).

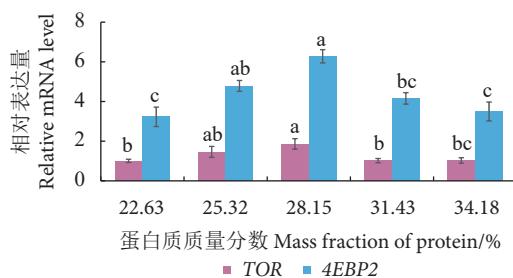


图4 饲料蛋白质水平对肠 TOR、4EBP2 基因相对表达量的影响

注: 同色方柱上不同字母表示差异显著 ($p<0.05$)。

Fig. 4 Effects of different protein contents on relative expressions of TOR and 4EBP2 in intestines

Notes: Different letters on the same colored square column represent significant differences ($p<0.05$).

($p<0.05$), D3、D4 和 D5 组的 *Rhbg* 和 *Rhcg1* 基因相对表达量显著高于 D1 和 D2 组 ($p<0.05$)。

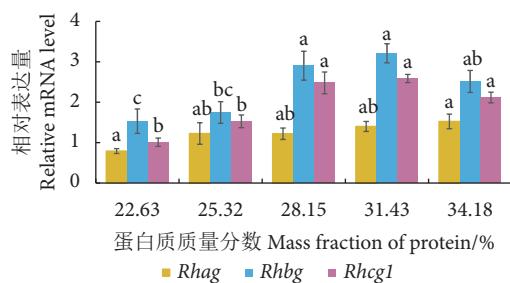


图5 饲料蛋白质水平对鳃 Rhag、Rhbg、Rhcg1 基因相对表达量的影响

注: 同色方柱上不同字母表示差异显著 ($p<0.05$)。

Fig. 5 Effects of different protein contents on relative expressions of Rhag, Rhbg and Rhcg1 in gill

Notes: Different letters on the same colored square column represent significant differences ($p<0.05$).

3 讨论

3.1 饲料蛋白质水平对黄河鲤生长和蛋白合成的影响

WGR、SGR 通常是鱼类营养学研究中用于评价生长速率的重要指标, PER 和 FCR 是评价饲料利用率的重要指标^[14]。本研究发现, 不同饲料蛋白质水平对黄河鲤的 SR 无显著性影响, 但对 SGR 和 FCR 影响显著, SGR 总体呈先升后降的趋势, 而 FCR 的变化趋势则相反; 拟合分析得出黄河鲤生长最佳饲料蛋白质需求量为 28.57%~29.04%。已有研究表明, 以小麦粉、白鱼粉为蛋白源, 水温 26 °C 时, 体质量为 (165.24±5.08) g 的松浦镜鲤 (*C. carpio* Songpu)^[15] 的生长最适饲料蛋白质需求量为 31.46%, 表明不同鲤鱼品种的饲料蛋

白质需求量存在差异。与其他鲤类群相比, 黄河鲤对蛋白质的需求量相对较低, 也可能与本研究所选的规格、实验水温等有关。而以豆粕为主要蛋白源, 水温 22.34 °C 时, 体质量为 (160.24±15.56) g 的黄河鲤^[16] 的生长最适饲料蛋白质需求量为 25%, 推测不同实验水温、规格的黄河鲤对饲料蛋白质的需求量存在差异。此外, 研究发现热带鲶鱼 (*Mystus nemurus*)^[17]、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)^[18]、方正银鲫 [*Caucian carp gibelio* (Bloch)]^[19] 的饲料蛋白质水平超过最佳水平后 SGR 降低, 这与本研究结果一致, 表明鱼体需要消耗更多的能量来代谢体内多余的饲料蛋白质, 进而造成用于生长的能量大大减少, 导致生长受阻。

GH、*IGF-1* 基因是生物体内蛋白质合成贮存的关键影响因子^[20], TOR 和 4EBP2 基因在细胞生长和蛋白质生物合成中发挥极其重要的作用^[21-22]。本研究表明饲料蛋白质质量分数为 25.32%~28.15% 时, *GH*、*IGF-1* 和 TOR、4EBP2 基因相对表达量较高, 这与 SGR 的变化趋势一致, 在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[3] 中也观察到了类似趋势, 推测鲤的生长和蛋白质合成相关基因的高水平表达促进和积累了更多的内源性途径和蛋白质合成, 它们不仅控制着鱼类生长、性腺发育、蛋白质的合成, 还会显著影响 SGR 和 FCR。

3.2 饲料蛋白质水平对黄河鲤生理代谢的影响

血清的 ALT 和 AST 是影响动物体内氨基酸代谢的重要酶类, 可作为判断肝脏是否损伤的指示物。ALT 作为肝脏中连接糖、脂质和蛋白质代谢的重要酶, 应激可导致血清 ALT 活性在短期内升高^[23]。动物在营养不良或胁迫状态下, 可提高肝细胞的产酶活性或增加细胞膜通透性与细胞坏死, 使 AST 大量进入血液, 导致血清中酶活性升高^[24]。本研究表明不同饲料蛋白质水平对黄河鲤血清中 ALT 和 AST 活性有显著性影响, 短期投喂过低或过高蛋白质水平的饲料可能有助于提高其自我保护能力, 降低细胞膜的通透性, 阻抑细胞内 ALT 的溢出。

ALP 是动物体内重要的代谢调控酶, 直接参与磷酸基团的转移和钙磷代谢, 作为评价机体免疫能力、代谢水平的指标, 可提高机体免疫力^[25-26]。本研究表明不同饲料蛋白质水平对黄河鲤血清中 ALP 指标有显著影响, 发现 ALP 总体呈先升后降的趋势。在吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)^[27] 和

脊尾白虾 (*Exopalaemon carinicauda*)^[28] 中观察到相同变化趋势, 表明适宜的饲料蛋白质水平可以使 ALP 活性增加, 进而提升自身免疫力; 而当饲料蛋白质水平高于或低于适宜范围时, 可能会增加肝脏负担, 降低鱼体免疫能力。

鳃是鱼体进行气体交换的主要场所, 鱼体通过鳃丝表皮细胞进行离子平衡调节、氨氮 ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$) 排泄等重要生理过程^[29]。为缓解体内的高浓度氨 (NH_3) 的毒害作用, 鱼体内可能存在尿素代谢和谷氨酰胺代谢 2 种氨代谢途径, 谷氨酰胺代谢是主要的氨代谢途径, 能够在鳃组织中将谷氨酰胺还原成 NH_3 排出体外, 目前 *Rh* 蛋白家族基因 (*Rhag*、*Rhbg*、*Rhcg1*) 被认为直接参与了 NH_3 在鳃中的主动外排过程^[30] 和氨代谢过程^[31]。刘梦梅^[32] 和付锦锋^[33] 研究发现, 适量降低饲料中蛋白质水平能显著降低草鱼幼鱼、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 排放。赵兰等^[34] 研究发现, 鲤鱼 *Rh* 家族基因 mRNA 表达水平随着碱度升高而上升, 表明 NH_3 排泄对于鲤适应碱胁迫环境、维持体内渗透压平衡有重要作用。本研究发现随着饲料蛋白质水平的增加, *Rh* 家族基因相对表达量呈逐渐上升的趋势, 表明高饲料蛋白质水平能够显著增加黄河鲤的 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 排泄率, 进而增加了鱼体的蛋白质代谢负担, 超过适宜蛋白质水平反而会降低其生长性能。推测过高的饲料蛋白质水平不仅给鱼体带来氨代谢负担, 导致其生长缓慢, 更会污染环境, 增加养殖成本。

3.3 饲料蛋白质水平对黄河鲤免疫酶活的影响

鱼体消化酶活性与摄取的饲料营养水平关系密切, 其活性的高低决定着鱼类对营养物质的消化吸收, 进而影响鱼类的生长速度^[35]。肠道是 α -AMS 的主要消化场所, 对黄河鲤^[36]、黑脊倒刺鲃 (*Spinibarbus caldwelli*)^[37] 和点带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[38] 等的研究发现, 随饲料蛋白质水平的增加, 肠道的 α -AMS、TPS、LPS 活性在一定范围内均呈先升后降的趋势, 本研究中黄河鲤肠道上述酶活性随饲料蛋白质水平增加呈先升后降的趋势, 与上述研究结果一致, 推测适当的饲料蛋白质水平可增加鱼肠道消化酶活性, 但过量的蛋白质摄入会影响黄河鲤的消化功能, 进而导致其生长性能下降。

鱼类机体细胞生存需保持适度的氧化与抗氧化平衡, 如 SOD 和 CAT 等抗氧化酶及非酶性抗氧化物 GSH 在清除活性氧和防止机体受损伤方面具有

重要作用^[39-41], 适当的饲料蛋白质水平可以提高鱼体抗氧化能力。本研究显示, 随着饲料蛋白质水平的增加, 肝脏 SOD 和 CAT 活性和 GSH 含量呈先升后降的趋势, MDA 含量则呈现相反趋势。MDA 作为一种典型的氧化产物, 能够反映机体的氧化损伤程度^[42-43]。上述结果表明, 适当的饲料蛋白质水平可提高机体抗氧化能力, 同时减少氧化产物, 进而提高机体的免疫力, 但饲料蛋白水平过高会导致机体氧化损伤。本研究结果与松浦镜鲤^[2]、黄河鲤^[16,44-45] 等的研究结果一致, 表明饲料蛋白质水平与鲤的抗氧化能力具有一定相关性, 对维持细胞和机体的常规生理生化活动有重要作用^[46]。

4 结论

综上所述, 适当的饲料蛋白质水平对黄河鲤的生长性能及消化酶活性有明显促进作用, 能够增强黄河鲤的免疫功能和抗氧化能力。在本研究的实验条件下, 黄河鲤对饲料蛋白质的最佳需求量为 28.57%~29.04%。

参考文献:

- [1] 文远红, 曹俊明, 黄燕华, 等. 黄颡鱼营养需求研究进展[J]. 广东农业科学, 2011, 38(18): 108-111.
- [2] FAN Z, WU D, LI J N, et al. Dietary protein requirement for large-size Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio Songpu*)[J]. Aquac Nutr, 2020, 26(5): 1748-1759.
- [3] JIN Y, TIAN L X, XIE S W, et al. Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Aquaculture, 2015, 437: 75-83.
- [4] 杨振才, 谢小军, 孙儒泳. 温度和体重对鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 最大摄食率和消化率的影响[J]. 河北师范大学学报, 1993(04): 68-72.
- [5] 韩红艳. 不同蛋白水平对鲤鱼生长性能的影响[J]. 渔业致富指南, 2021(6): 65-68.
- [6] 王兵兵, 孙海坤, 孙建富, 等. 不同地域黄河鲤、建鲤肌肉生化组成的比较研究[J]. 水产科学, 2015, 34(9): 540-545.
- [7] 杜玉雯. 我国鱼粉市场供求分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016: 13-14.
- [8] 殷海成, 黄进, 李昕朔, 等. 豆粕和发酵豆粕替代鱼粉对黄河鲤生长和血清抗氧化性能及消化酶活性的影响[J]. 饲料工业, 2019, 40(12): 46-52.
- [9] 彭凯, 罗锦伟, 黄文. 植物蛋白原料替代鱼粉在水产饲料中的研究进展[J]. 饲料研究, 2022, 45(15): 136-140.
- [10] 孙金辉, 范泽, 程镇燕, 等. 降低饲料中蛋白质水平对鲤生长性能及肌肉营养成分的影响[J]. 中国饲料, 2016(19): 33-38.
- [11] 姜松. 饲料蛋白水平对斑节对虾家系的影响[D]. 上海: 上海海

- 洋大学, 2013: 78.
- [12] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 30-31.
- [13] 田景文. 不同蛋白水平饲料对3种鲤生长、血清生化及肠道酶活力的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022: 35-36.
- [14] 程小飞, 李传武, 邹利, 等. 饲料蛋白水平对湘华鲮幼鱼生长性能、体成分及血清生化指标的影响[J]. 水生生物学报, 2020, 44(2): 346-356.
- [15] WANG C A, XU Q Y, ZHAO Z G. Effects of dietary protein and temperature on growth and flesh quality of Songpu mirror carp[J]. J NE Agric Univ (English Edition), 2014, 21(2): 53-61.
- [16] WANG S H, TIAN J W, JIANG X N, et al. Effects of different dietary protein levels on the growth performance, physicochemical indexes, quality, and molecular expression of yellow river carp (*Cyprinus carpio haematopterus*)[J]. Animals, 2023, 13(7): 1237.
- [17] KHAN S, ANG K J, AMBAK M A. The effect of varying dietary protein level on the growth, food conversion, protein utilization and body composition of tropical catfish *Mystus nemurus* (c. & v.) cultured in static pond water system[J]. Aquac Res, 1996, 27(11): 823-829.
- [18] 蒋阳阳, 李向飞, 刘文斌, 等. 不同蛋白质和脂肪水平对1龄团头鲂生长性能和体组成的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(5): 826-836.
- [19] 桑永明, 杨瑶, 尹航, 等. 饲料蛋白水平对方正银鲫幼鱼生长、体成分、肝脏生化指标和肠道消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2018, 42(4): 736-743.
- [20] 徐蒙蒙. 混合植物蛋白替代鱼粉对黄河鲤鱼生长、免疫功能及肝脏 GH/IGF-I 基因表达的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016: 7-8.
- [21] 冯琳. 苏氨酸对幼建鲤消化吸收能力和抗病力以及组织器官中蛋白质调控信号分子 TOR 表达的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010: 8-9.
- [22] 陈洪菊, 屈艺, 母得志. mTOR 信号通路的生物学功能[J]. 生命的化学, 2010, 30(4): 555-561.
- [23] 张磊, 樊启学, 赵志刚, 等. 慢性拥挤胁迫对鲤生长及血液生化指标的影响[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(6): 465-469.
- [24] RICHARD J S, CRAL B S, GAMES T G. Corticoid stress responses to handling and temperature in salmonids[J]. Trans Am Fish Soc, 1977, 106(3): 213-218.
- [25] 孙盛明, 戈贤平, 朱健, 等. 零换水条件下饲料蛋白水平对团头鲂幼鱼生长、消化酶活力和血清生化指标的影响[J]. 水生态学杂志, 2017, 38(1): 68-74.
- [26] 明建华, 谢骏, 徐跑, 等. 大黄素、维生素 C 及其配伍对团头鲂抗拥挤胁迫的影响[J]. 水生生物学报, 2011, 35(3): 400-413.
- [27] 强俊, 杨弘, 王辉, 等. 饲料蛋白水平对低温应激下吉富罗非鱼血清生化指标和 HSP70 mRNA 表达的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37(3): 434-443.
- [28] 范陈伟, 姜晓东, 何先林, 等. 饲料蛋白水平对池塘养殖脊尾白虾生长、生理指标和体组成的影响[J]. 广东农业科学, 2020, 47(10): 140-148.
- [29] 胡毅, 黄云, 钟蕾, 等. 氨氮胁迫对青鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶、组织结构及血清部分生理生化指标的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(4): 538-545.
- [30] 吴利敏, 徐瑜凤, 李永婧, 等. 急性氨氮胁迫对淇河鲫幼鱼脑、鳃、肝、肾组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(7): 789-800.
- [31] 涂翰卿. 碳酸盐碱胁迫下尼罗罗非鱼氨代谢途径与 Rh 蛋白氨转运作用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018: 66.
- [32] 刘梦梅. 低蛋白饲料中添加赖氨酸和蛋氨酸对草鱼幼鱼生长及氮排泄的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 33-35.
- [33] 付锦锋. 赖氨酸和蛋白水平对虹鳟生长、氨氮和磷排放的影响[J]. 饲料研究, 2012(2): 4-6.
- [34] 赵兰, 徐鹏, 孙效文. 碳酸盐碱度胁迫下鲤鱼氨排泄相关基因的差异表达[J]. 生物技术通报, 2013(4): 185-193.
- [35] 郭微, 尹恒, 莫爱杰, 等. 饲料蛋白水平对鳜生长、消化和代谢的影响[J]. 华中农业大学学报, 2023, 42(4): 215-224.
- [36] 孙如意, 程银峰, 张博洋, 等. 饲料中添加槲皮素对黄河鲤生长性能、消化酶活性以及免疫和抗氧化功能的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(4): 2514-2523.
- [37] 秦志清, 梁萍, 林建斌, 等. 饲料蛋白质水平对黑脊倒刺鲃幼鱼生长性能、消化酶活性、蛋白质代谢及肠道形态的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(2): 1134-1146.
- [38] 安贺麟, 范泽, 王庆奎, 等. 豆粕替代鱼粉对点带石斑鱼生长、消化和抗氧化能力的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(16): 128-132.
- [39] 王知行, 任兰兰, 韩潇宇, 等. 不同饲料维生素 C 水平对口黑鲈仔鱼生长、免疫、抗氧化能力的影响[J]. 水产学报, 2023, 47(10): 173-183.
- [40] 徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 高温胁迫对褐牙鲆生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1099-1105.
- [41] MADEIRA D, NARCISO L, CABRAL H N, et al. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish[J]. Comp Biochem Physiol A, 2013, 166(2): 237-243.
- [42] 张宝龙, 曲木, 程镇燕, 等. 饲料中豆油替代鱼粉对鲤鱼生长、免疫力及消化酶活性的影响[J]. 饲料工业, 2016, 37(20): 17-21.
- [43] 张宝龙, 高木珍, 程镇燕, 等. 降低饲料蛋白水平对鲤鱼生长、体成分及免疫力的影响[J]. 饲料研究, 2015(08): 49-55.
- [44] ZHOU Y, LUO W W, YU X M, et al. Brain and intestine transcriptome analyses and identification of genes involved in feed conversion efficiency of Yellow River carp (*Cyprinus carpio haematopterus*)[J]. Comp Biochem Physiol D, 2019, 29: 221-227.
- [45] 姜会民. 氨氮胁迫对黄河鲤幼鱼肝胰脏、肾脏抗氧化性的影响[J]. 山东大学学报(理学版), 2012, 47(1): 17-22.
- [46] 邵彦翔, 陈超, 张廷廷, 等. 高温胁迫对2种杂交石斑鱼存活率及血清生化指标的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2017, 37(6): 89-95.