

## 投饲频率对摄食含有晶体蛋氨酸饲料的 凡纳滨对虾生长性能的影响

迟淑艳, 谭北平\*, 杨奇慧, 董晓慧, 刘泓宇

(广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088)

**摘要:** 为研究改变投饲频率后晶体蛋氨酸吸收利用的效率, 实验以凡纳滨对虾为研究对象, 以高鱼粉组为正对照组, 以低鱼粉且不添加蛋氨酸组为负对照组, 添加晶体蛋氨酸(MET)组为实验组, 配制 3 种等氮等脂的饲料。MET 组日投饲频率分别为 2(7:00 和 21:00)、4(7:00, 12:00, 18:00 和 21:00) 和 6 次(7:00, 9:30, 12:00, 15:00, 18:00 和 21:00), 正对照组和负对照组日投喂 4 次。将初重为(1.27 ± 0.01) g 的对虾随机分为 3 组, 每组 3 个重复, 每重复 30 尾虾, 养殖 5 周, 水温 29 ~ 30 °C。结果显示, 日投喂 6 次的 MET 组增重率和正对照组相比差异不显著, 全虾粗蛋白含量显著高于日投喂 4 次的, MET 组总蛋白酶活性随投喂次数增加而增加, 日投喂 4 次和 6 次的处理组与正对照组差异不显著。结果表明, 投饲频率由 4 次增加至 6 次, 晶体蛋氨酸组凡纳滨对虾的增重率、体蛋白的沉积和总蛋白酶的活性得到改善, 增加投饲频率有利于提高游离氨基酸的利用效率。

**关键词:** 凡纳滨对虾; 投饲频率; 晶体蛋氨酸; 生长性能

**中图分类号:** S 963

**文献标志码:** A

猪、禽可以有效利用晶体氨基酸(CAA), 所以 CAA 被广泛用于猪禽的氨基酸缺乏的饲料中<sup>[1]</sup>。然而, 水生动物中的日本对虾(*Penaeus japonicus*)<sup>[2-3]</sup>和斑节对虾(*Penaeus monodon*)<sup>[4]</sup>对 CAA 的利用上却存在障碍。Cowey 等<sup>[5]</sup>认为 CAA 的吸收是在蛋白结合态氨基酸之前, 从而导致氨基酸的不平衡, 这在中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)的研究中得到印证<sup>[6]</sup>。一些学者对 CAA 进行微胶囊化或者共价结合成肽降低其在饲料中的释放速度, 改善了 CAA 的利用<sup>[2-4, 7-9]</sup>。而另一种改善 CAA 利用的措施为改变投饲频率。增加日投喂次数不但可以促进对虾生长、获得较好的饲料转化效率和改善水质<sup>[10-12]</sup>, 还可以降低 CAA 和蛋白结合态氨基酸的吸收速度<sup>[13]</sup>, 改善氨基酸利用效率。

本实验旨在通过改变投饲频率研究凡纳滨对

虾(*Litopenaeus vannamei*)对 CAA 的吸收利用效率, 探讨缩短投喂间隔是否能够使游离氨基酸和蛋白结合态氨基酸吸收速度达到同步, 以便提高凡纳滨对虾生长性能。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕和肉骨粉作为主要蛋白源, 配制 3 种等氮等脂的实验饲料(表 1)。以高鱼粉组为正对照组, 以低鱼粉且不添加蛋氨酸组为负对照组, 晶体蛋氨酸(MET)添加组为试验组。饲料配制前, 所有原料经粉碎, 过 60 目筛。将粉碎配合好的原料投入双螺杆制粒机(F-26 II, 华南理工大学监制)中挤压成直径 1.5 mm 的条状, 在 60 °C 恒温下干燥 1 h, 阴干后破碎, 置 -20 °C 冰箱备用, 饲料氨基酸含量见表 2。

收稿日期:2012-08-27 修回日期:2013-01-28

资助项目:公益性行业(农业)科研专项(201003020);广东省高等学校珠江学者特聘教授基金(GDUPS-2011);湛江市科技攻关计划(2010C3113013)

通信作者:谭北平, E-mail: bptan@126.com

表 1 饲料配方  
Tab. 1 Ingredients and nutrient composition of the basal diet (% dry matter)

原料 ingredients	饲料中含量/% content		
	正对照 positive control	负对照 negative control	晶体蛋氨酸组 MET
鱼粉 fish meal	32	16	16
肉骨粉 meat and bone meal	7.8	28	28
啤酒酵母 beer yeast	3	3	3
豆粕 soybean meal	23	23	23
乌贼内脏粉 cuttlefish viscera meal	4	4	4
面粉 flour	17	17	17
鱼油 fish oil	1.6	1.4	1.4
磷脂 lecithin	1.5	1.5	1.5
磷酸二氢钙 CaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5	0.5	0.5
多维 vitamin mix	0.5	0.5	0.5
多矿 mineral mix	1.5	1.5	1.5
维生素 C ascorbic acid 2-Poly PhosPhat	0.03	0.03	0.03
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5
纤维素 cellulose	7.07	3.07	2.79
蛋氨酸 methionine*			0.30
营养成分分析 proximate composition (dry matter basis)			
粗蛋白 crude protein	41.65	41.63	41.82
粗脂肪 crude fat	7.7	7.74	7.83
蛋氨酸 methionine	1.00	0.82	1.01

注: \* 晶体蛋氨酸为 L-蛋氨酸(安迪苏,法国)。

Notes: \* methionine additive; crystalline L-methionine, MET (Adisseo, France).

表 2 饲料中氨基酸含量

Tab. 2 Amino acids composition of experimental diets

氨基酸 amino acids	饲料中含量/% content		
	正对照 positive control	负对照 negative control	晶体蛋氨酸组 MET
<b>必需氨基酸</b>			
赖氨酸 Lys	2.80	2.61	2.41
苏氨酸 Thr	1.80	1.90	1.79
缬氨酸 Val	2.16	2.21	2.24
蛋氨酸 Met	1.00	0.82	1.04
异亮氨酸 Ile	1.88	1.80	1.77
亮氨酸 Leu	3.44	3.64	3.29
精氨酸 Arg	2.82	3.38	3.27
组氨酸 His	1.02	0.92	0.84
苯丙氨酸 Phe	1.78	2.20	1.72
<b>非必需氨基酸</b>			
天冬氨酸 Asp	4.08	4.03	4.04
丝氨酸 Ser	2.01	2.51	2.33
谷氨酸 Glu	6.78	7.28	7.06
甘氨酸 Gly	2.45	3.13	3.00
丙氨酸 Ala	2.27	2.39	2.23
半胱氨酸 Cys	0.22	0.24	0.31
酪氨酸 Tyr	1.40	1.67	1.50
脯氨酸 Pro	1.99	2.30	2.29

## 1.2 饲养管理

养殖实验在粤海饲料东海岛试验基地进行,选择健康凡纳滨对虾虾苗用商业饲料暂养 2 周后进行分组。每个处理 3 个重复,每个重复放养 30 尾虾[均重为(1.27 ± 0.01) g]于 300L 玻璃钢养殖桶中,每天记录投饵量,根据查饵情况调整投喂量。每次投喂前除去残饵,干燥后称重计算摄食率和饲料转化率。养殖期间,24 h 供氧,溶解氧 10.45 ~ 10.5 mg/L。水温 29 ~ 30 °C, pH 7.8 ~ 8.0,养殖实验持续 5 周。正对照组和负对照组投喂 4 次, MET 组投喂频率分别为 2、4 和 6 次(表 3)。

表 3 投喂频率和投喂时间

Tab. 3 Feeding frequency and feeding time

投喂频率/(次/d) feeding frequency	投喂时间 feeding time
2	07:00 21:00
4	07:00 12:00 18:00 21:00
6	07:00 09:30 12:00 15:00 18:00 21:00

## 1.3 样品收集及化学分析

饲养实验结束时,禁饲 24 h,对每个重复的对虾进行称重,随机选取 5 尾供测体成份,放入 -20

℃冰箱保存。饲料、全虾和肌肉常规成份分析采用 AOAC<sup>[14]</sup>的方法。其中,水分的测定为 105 ℃ 烘干恒重法;粗蛋白的测定为凯氏定氮法(总 N × 6.25, FOSS Kjeltex System 2300, Sweden),脂肪的测定为索氏抽提法(Extraction System B-811, BÜCHI Labortechnik AG, Switzerland);粗灰分的测定为箱式电阻炉 550 ℃灼烧法。饲料中氨基酸的测定采用氨基酸自动分析仪(Biochrom 30, GE Health care Co. Ltd., USA)。

随机选取 5 尾取肝胰腺,放入 -80 ℃ 冰箱保存供测消化酶活性、转氨酶活性(南京建成,转氨酶试剂盒)。肝胰腺用预冷的双蒸水冲洗干净后 1:10 稀释,10 000 × g 离心,取上清液供测定酶活性。肝胰腺总蛋白酶活性的测定以偶氮酪蛋白(azocasein, Sigma)为底物,10 μL 酶液加入含有 1.5% 偶氮酪蛋白的 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液, pH 7.5, 25 ℃ 下反应 10 min,加入 0.5 mL 20% 三氯乙酸终止反应,混合物在 6 500 × g 离心 5 min,上清液在 366 nm 下测吸光度<sup>[15]</sup>。

胰蛋白酶活性测定参考施韦尔特-竹中法<sup>[16]</sup>,用 N-苯甲酰-L-Arg 乙酯(BAEE, Sigma)作为底物溶于含有氯化钙的 Tris-HCl pH 值 7.6,缓冲液中,25 ℃ 水浴下进行反应,立即混合于 253 nm 处比色,在连续 5 min 内每隔 1 分钟读取吸光度,直至每分钟吸光度增大值达恒定为止。活力单位定义为以 BAEE 为底物反应液 pH 值 7.6, 25 ℃,反应体积 3.0 mL,光经 1 cm 的条件下,测定  $\Delta A_{253\text{nm}}$ ,每分钟使  $\Delta A_{253\text{nm}}$  增加 0.001,反应液中所增加的酶量为一个 BAEE 单位。胰蛋白酶活力计算:

$$\frac{\Delta A_{253\text{nm}/\text{min}} \times \text{稀释倍数}}{0.001 \times 0.2} = \text{BAEE 单位}$$

$E_{253}$ : 每分钟内 253 nm 处吸光度增大值 ( $\Delta A_{\text{样}/\text{min}} - \Delta A_{\text{空}/\text{min}}$ ), 0.001: 一个酶单位每分钟吸光度增大 0.001, 0.2 为所用的酶液体积 (mL)。比活力 = 酶活力 / [蛋白含量 (mg/mL) × 0.2]。

胰凝乳蛋白酶活性的测定以琥珀酰二丙氨酸脯氨酸苯丙氨酸-2-对硝基苯胺 (SAPPN, Sigma) 为底物,参照 Del Mar 等<sup>[17]</sup>的方法,在 25 ℃ 恒温下,加入 0.69 mL 的 0.1 mmol/L SAPPN 底物溶液,溶于 pH 7.8 含 0.01 mol/L CaCl<sub>2</sub> 的 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液,滴加 10 μL 待测酶液,以重蒸

水校正吸光度,在 410 nm 波长下每隔 0.5 分钟读取吸光度,共读 3 min,直至每分钟吸光度增大值达恒定为止。计算出每分钟 A 的增加值 ( $\Delta A/\text{分}$ ) 为  $\Delta A_{410\text{nm}/\text{min}} = \Delta A_{\text{样}/\text{min}} - \Delta A_{\text{空}/\text{min}}$

酶活力单位定义为:每分钟释放 1 μmol/L 的产物时所需要的酶量。

酶比活力 (单位/mg) =  $\Delta A_{410\text{nm}/\text{min}} \times 1.5 / (8.8 \text{ mg酶/mL 反应混合液})$ 。

SAPPN 在 410 nm 处摩尔消光系数为 8 800 mol/cmol。

蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法<sup>[18]</sup>。

#### 1.4 计算与数据分析

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

蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER) =  $(W_t - W_0) / (W_d \times P_t)$

增重率 (weight gain, WG, %) =  $(W_t - W_0) / W_0 \times 100$

摄食率 (feeding rate, FR, % / d) =  $100 \times W_d / [d \times (W_t + W_0) / 2]$

饲料系数 (feed conversion rate, FCR) =  $W_d / (W_t - W_0)$

式中,  $W_t$ : 终末体质量 (g),  $W_0$ : 初始体质量 (g),  $P_t$ : 饲料粗蛋白含量 (%),  $W_d$ : 摄食饲料干重 (g)。各处理的数据采用双因素方差分析,当处理之间差异显著 ( $P < 0.05$ ) 时,用 LSD 检验法进行均值间多重比较。统计分析所用的软件为 SPSS 11.5。

## 2 结果

### 2.1 生长性能的影响

各处理组对虾成活率为 94% ~ 98%, 投饲频率对各处理组对虾成活率没有显著影响 (表 4)。MET 组增重率随投饲频率的增加而增加,日投喂 2 次和 4 次的处理组显著低于正对照组 ( $P < 0.05$ )。正对照组 PER、SGR 显著高于 MET 各组。MET 组 PER 和 SGR 在不同投饲频率下差异不显著 ( $P > 0.05$ )。正对照组 FR 和 FCR 显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ ), 投饲频率从 2 次增加至 6 次, MET 组的 FR 和 FCR 均升高,但差异不显著。

表 4 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸凡纳滨对虾生长性能的影响  
Tab. 4 Effects of feeding frequency on growth performance of shrimp fed diets with crystalline methionine

投喂次数 feeding frequency	处理 treatment	增重率/% WG	蛋白质效率 PER	特定生长率/ (%/d) SGR	摄食率/ (%/d) FR	饲料系数 FCR	成活率/% survival
4	正对照 positive control	556.75 ± 26.62 <sup>a</sup>	1.31 ± 0.25 <sup>a</sup>	4.85 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.34 ± 0.76 <sup>b</sup>	1.65 ± 0.22 <sup>b</sup>	97.73 ± 3.22
4	负对照 negative control	460.41 ± 76.13 <sup>ab</sup>	0.98 ± 0.21 <sup>ab</sup>	4.37 ± 0.31 <sup>ab</sup>	8.32 ± 1.35 <sup>a</sup>	2.32 ± 0.49 <sup>a</sup>	94.21 ± 2.29
2	MET	399.68 ± 22.10 <sup>b</sup>	0.92 ± 0.10 <sup>b</sup>	4.23 ± 0.19 <sup>b</sup>	8.53 ± 0.68 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.27 <sup>a</sup>	95.77 ± 4.17
4	MET	403.04 ± 56.15 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.13 <sup>b</sup>	4.11 ± 0.27 <sup>b</sup>	8.56 ± 0.84 <sup>a</sup>	2.48 ± 0.36 <sup>a</sup>	95.06 ± 4.28
6	MET	463.03 ± 46.54 <sup>ab</sup>	0.86 ± 0.04 <sup>b</sup>	4.30 ± 0.01 <sup>b</sup>	9.33 ± 0.23 <sup>a</sup>	2.61 ± 0.06 <sup>a</sup>	94.31 ± 2.82

注:表中数据为平均值( $n=3$ ),同一列右上方不同英文上标字母表示有显著差异( $P<0.05$ ),下同。

Notes: Values are presented as means of triplication. Means in the same column with different superscripts are significantly different from each other ( $P<0.05$ ). The same as the following.

## 2.2 体成份的影响

投饲频率对各处理组凡纳滨对虾全虾水分和粗脂肪含量没有显著影响( $P>0.05$ )(表 5)。增加投饲频率, MET 组全虾的粗蛋白含量显著提高,日投喂 6 次的 MET 组全虾粗蛋白含量显著高

于日投喂 4 次的( $P<0.05$ ),与其他各组相比差异不显著( $P>0.05$ )。正对照组全虾灰分含量和日投喂 6 次的 MET 组相比差异不显著( $P>0.05$ ),但是显著高于其他处理组( $P<0.05$ )。

表 5 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸凡纳滨对虾全虾营养成份的影响(%干重)  
Tab. 5 Effects of feeding frequency on whole body compositions(% dry matter) of shrimp fed diets with crystalline methionine

投喂次数 feeding frequency	处理 treatment	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	粗灰分 ash
4	正对照 positive control	75.12 ± 1.20	75.91 ± 3.48 <sup>ab</sup>	10.56 ± 0.17	12.77 ± 0.54 <sup>a</sup>
4	负对照 negative control	75.61 ± 0.04	79.11 ± 0.61 <sup>ab</sup>	8.96 ± 1.07	10.34 ± 0.70 <sup>c</sup>
2	MET	75.57 ± 0.26	76.27 ± 3.04 <sup>ab</sup>	8.81 ± 0.87	11.23 ± 0.25 <sup>bc</sup>
4	MET	74.88 ± 0.36	71.92 ± 8.94 <sup>b</sup>	11.69 ± 3.56	11.23 ± 0.35 <sup>bc</sup>
6	MET	76.75 ± 2.07	83.17 ± 6.62 <sup>a</sup>	9.99 ± 3.39	11.86 ± 0.51 <sup>ab</sup>

## 2.3 蛋白酶活性的影响

MET 组胰蛋白酶活性在投喂 4 次时显著高于投喂 2 次和 6 次的处理组( $P<0.05$ )。MET 组胰凝乳蛋白酶活性随投喂次数的增加而呈现升高趋势,但是均显著低于正、负对照组( $P<0.05$ )。

MET 组总蛋白酶活性随投喂次数增加而增加,日投喂 4 次和 6 次的处理组与正对照组差异不显著( $P>0.05$ ),显著高于负对照组和日投喂 2 次的处理组( $P<0.05$ )。

表 6 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸凡纳滨对虾肝胰腺蛋白酶活力的影响  
Tab. 6 Effects of feeding frequency on protease enzyme activities of shrimp fed diets with crystalline methionine

投喂次数 feeding frequency	处理 treatment	胰蛋白酶 trypsin	胰凝乳蛋白酶 chymotrypsin	总蛋白酶 total protease
4	正对照 positive control	3 979.50 ± 863.11 <sup>a</sup>	4.05 ± 0.31 <sup>a</sup>	75.25 ± 6.59 <sup>a</sup>
4	负对照 negative control	1 759.84 ± 66.57 <sup>bc</sup>	3.24 ± 0.24 <sup>b</sup>	52.43 ± 2.36 <sup>b</sup>
2	MET	1 115.66 ± 89.35 <sup>c</sup>	0.90 ± 0.34 <sup>d</sup>	56.46 ± 2.11 <sup>b</sup>
4	MET	2 197.28 ± 118.28 <sup>b</sup>	1.14 ± 0.10 <sup>d</sup>	67.70 ± 1.38 <sup>a</sup>
6	MET	1 318.85 ± 189.41 <sup>c</sup>	2.04 ± 0.55 <sup>c</sup>	73.36 ± 0.78 <sup>a</sup>

## 2.4 转氨酶活性的影响

MET 组在投喂 2 次时谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)的活性均高于投喂 4 次的处

理组( $P<0.05$ ),但显著低于正对照组( $P<0.05$ )。投喂 4 次的 MET 组 GPT 和 GOT 的活性显著低于各处理组( $P<0.05$ )(表 7)。

表 7 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸凡纳滨对  
肝胰腺转氨酶活力的影响

Tab.7 Effects of feeding frequency on transaminase  
activities in liver of shrimp fed diets with  
crystalline methionine U/mg protein

投喂次数 feeding frequency	处理 treatment	谷丙转氨酶 GPT	谷草转氨酶 GOT
4	正对照 positive control	125.51 ± 3.21 <sup>a</sup>	241.04 ± 18.02 <sup>a</sup>
4	负对照 negative control	107.43 ± 3.35 <sup>b</sup>	102.98 ± 3.14 <sup>b</sup>
2	MET	99.68 ± 6.20 <sup>bc</sup>	124.12 ± 3.54 <sup>b</sup>
4	MET	80.01 ± 1.97 <sup>d</sup>	75.97 ± 4.83 <sup>c</sup>
6	MET	94.64 ± 2.01 <sup>c</sup>	103.28 ± 4.49 <sup>b</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸饲料的凡纳滨对虾生长性能的影响

高密度养殖中,饲料投喂是一个非常关键的管理环节,饲料的投喂策略影响对虾的生长状况及多项指标<sup>[19]</sup>。增加投饲频率可以促进凡纳滨对虾的生长性能,随着投喂频率由 3 次/d 增加到 5 次/d,凡纳滨对虾的增重率、特定生长率和蛋白质效率显著提高,而饲料系数则显著降低<sup>[20-22]</sup>。然而,Velasco 等<sup>[23]</sup>和 Smith 等<sup>[24]</sup>的实验表明,增加投饲频率并未改变凡纳滨对虾和斑节对虾的生长率,这可能与投饲频率的设置、饲料配方和实验动物的个体状况等有关。

实验结果表明,随投饲频率的增加(2、4、6 次/d),MET 组凡纳滨对虾增重率有所提高,在日投喂 6 次时和正对照组相比差异不显著。冷向军等<sup>[25]</sup>认为在日投饲频率为 2 次和 3 次的情况下,在低鱼粉低蛋白饲料中添加晶体氨基酸对异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)增重率无影响,但在日投饲频率为 4 次时,添加晶体氨基酸对异育银鲫有显著的促生长作用。本试验中对凡纳滨对虾的研究表明,当投饲频率也增加时,MET 组的增重率虽然有所增加,但是和负对照组相比差异也不显著。同时观察到,PER 呈下降趋势,且显著低于正对照组,也就是说,投饲频率从 2 次增加至 6 次,并未改善饲料蛋白质效率。Zarate 等<sup>[26]</sup>认为不考虑赖氨酸的来源,斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)投喂 5 次的生长效果显著高于投喂 2 次,但是相同的投喂次数下,蛋白结合态的处理组增重高于添加晶体赖氨酸的处理组。增重率和 SGR 随投饲频率的增加

而得到改善,但是生长效果均不如正对照组。FR 和 FCR 随着投饲频率的增加而升高,提示增加投饲频率增加了养殖的成本。值得注意的是,负对照组的增重率与蛋氨酸添加组相比差异不显著,也就是说本实验条件下,蛋氨酸添加与否对凡纳滨对虾生长影响不大。

#### 3.2 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸饲料的凡纳滨对虾体成份的影响

相对于蛋白结合态赖氨酸而言,Zarate 等<sup>[26]</sup>认为晶体赖氨酸对生长的影响并没有通过增加投饲频率而改善(日投喂 2 次和 5 次),日投喂 5 次比投喂 2 次虽然能够提高斑点叉尾鲷体蛋白含量,但影响不显著,斑点叉尾鲷的体成份没有受到投饲频率的影响。本实验中,当投饲频率增加到 6 次时能够显著提高 MET 组全虾蛋白质含量,表明晶体蛋氨酸合成蛋白质的作用可以通过增加投喂次数得到改善。

#### 3.3 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸饲料的凡纳滨对虾蛋白酶活性的影响

胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶均属于肽链内切酶,是凡纳滨对虾体内主要的蛋白分解酶。本实验中 MET 组在投喂 4 次时胰蛋白酶活力最高,胰凝乳蛋白酶和总蛋白酶活性随着投喂次数的增加而增加,提示添加晶体蛋氨酸的饲料在日投喂 6 次的情况下能够更好的促进蛋白质消化酶的活性消化蛋白质类养分。

#### 3.4 投饲频率对摄食晶体蛋氨酸饲料的凡纳滨对虾转氨酶活性的影响

转氨酶是催化氨基酸与酮酸之间氨基转移的一类酶,普遍存在于动物肝、脑、心肌、肾等组织中参与氨基酸的分解和合成,其中以 GPT 和 GOT 最为重要,而 GOT 主要存在与肝脏影响氨基酸的合成和分解代谢。本实验中,投喂 4 次时 MET 组转氨酶活力显著低于正对照组,提示晶体蛋氨酸可能到达肠道吸收位点的速度比蛋白结合态蛋氨酸要快,在氨基酸代谢过程中产生了时间差,而导致转氨酶活力相对较低。有研究表明,饲料氨基酸吸收时间上的差异能够导致部分氨基酸被分解代谢而不是合成蛋白质<sup>[5]</sup>,游离赖氨酸比蛋白结合态赖氨酸更早的通过斑点叉尾鲷<sup>[26]</sup>和老鼠<sup>[27]</sup>的胃而进入肠道,晶体氨基酸和蛋白结合态氨基酸到达肠道消化位点的时间不同,可能导致其代谢上的差异。有一种观点认为,游离氨基酸的利

用率受体内氨基酸代谢池缓冲能力的影响, Batterham<sup>[13]</sup>提出,增加猪的日投喂次数对日粮中天然氨基酸的影响不明显。日粮中晶体氨基酸的添加量,可能受机体氨基酸代谢池的缓冲能力的影响,从而影响转氨酶参与氨基酸合成和分解代谢的活性。本实验中,同样投喂4次, MET 组 GOT 和 GPT 的活性显著低于正对照组,可能是由于日粮中完整蛋白质和“游离蛋白质”(添加晶体氨基酸总称)之间的比值不适宜。因此,改善晶体氨基酸饲用效果不仅要考虑投喂次数能否改善游离氨基酸到达消化位点的速度,还要考虑凡纳滨对虾低蛋白饲料中完整蛋白质和“游离蛋白质”(合成氨基酸总称)之间可能有一个使其获得最大生长的最低比值。

#### 参考文献:

- [1] Lewis A J, Bayley H S. Amino acid bioavailability [M]// Ammerman C A, Baker D H, Lewis A J, eds. Bioavailability of nutrients for animals; amino acids. Minerals and Vitamins Academic Press, Inc., San Diego, CA, 1995; 35 - 65.
- [2] Teshima S, Kanazawa A, Koshio S. Effects of methionine-enriched plastein supplemented to soybean-protein based diets on common carp *Cyprinus carpio* and tilapia *Oreochromis niloticus* [C]// Hirano R, Hanyu I, eds. The second Asian fisheries forum. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 1990; 279 - 282.
- [3] Teshima S, Kanazawa A, Koshio S. Supplemental effects of methionine-enriched plastein in *Penaeus japonicus* diets [J]. Aquaculture, 1992, 101 (1 - 2): 85 - 93.
- [4] Chen H Y, Leu Y T, Roelants I. Effective supplementation of arginine in the diets of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon* [J]. Aquaculture, 1992, 108 (1 - 2): 87 - 95.
- [5] Cowey C B, Sargent J R. Nutrition [M]// Hoar W S, Randall D J, Brett J. R, eds. Fish physiology. Vol. VIII. Bioenergetics and growth. Academic Press Inc. New York, 1979; 1 - 69.
- [6] 麦康森, 李爱杰, 尹左芬. 对虾对饵料蛋白质及氨基酸吸收利用的研究 [J]. 海洋学报, 1987, 9 (4): 489 - 495.
- [7] Murai T, Akiyama T, Nose T. Use of crystalline amino acid coated with casein in diets for carp [J]. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fisheries, 1981, 47 (4): 523 - 527.
- [8] Murai T, Akiyama T, Nose T. Effects of casein coating on utilization of dietary amino acids by fingerling carp and channel catfish [J]. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fisheries, 1982, 48 (6): 787 - 792.
- [9] Murai T, Ogata H, Nose T. Methionine coated with various materials supplemented to soybean meal diet for fingerling carp *Cyprinus carpio* and channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fisheries, 1982, 48 (1): 85 - 88.
- [10] Sedgwick R W. Effect of ration size and feeding frequency on the growth and food conversion of juvenile *Penaeus merguensis* de Man [J]. Aquaculture, 1979, 16 (4): 279 - 298.
- [11] Robertson L, Lawrence A L, Castille F L. Effect of feeding frequency and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone) [J]. Aquaculture and Fisheries Management, 1993, 24 (1): 1 - 6.
- [12] Jaime B, Galindo J, Álvarez J S, et al. La frecuencia de alimentación y su efecto sobre el crecimiento de juveniles de *Penaeus schimitti* [J]. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras, 1996, 20 (1): 3 - 5.
- [13] Batterham E S. The effect of frequency of feeding on the utilization of free lysine by growing pigs [J]. British Journal of Nutrition, 1974, 31 (2): 237 - 242.
- [14] Helric K. Official Methods of Analysis of AOAC, 15th edn [M]. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA. USA, 1990.
- [15] Garcra-Carreño F L. The digestive proteases of langostilla *Pleuroncodes planipes*, decapoda; their partial characterization, and the effect of feed on their composition [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 1992, 103 (3): 575 - 578.
- [16] Stellmach B. Best immungs methoden enzyme [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1992; 329.
- [17] Del Mar E G, Largman C, Brodrick J W, et al. A sensitive new substrate for chymotrypsin [J]. Analytical Biochemistry, 1979, 99 (2): 316 - 320.
- [18] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72 (1 - 2): 248 - 254.
- [19] Burford M A, Williams K C. The fate of nitrogenous waste from shrimp feeding [J]. Aquaculture, 2001, <http://www.sexuebao.cn>

- 198(1-2):79-93.
- [20] Rørvang L, Lawence A, Castille F. The effect of feeding frequency and feeding time on growth of *Penaeus vannamei* (Boone) [J]. *Aquaculture and Fisheries Management*, 1993, 24(1):1-6.
- [21] 周歧存,郑石轩,高雷,等. 投喂频率对南美白对虾 (*Penaeus vannamei* Boone) 生长、饲料利用及虾体组成影响的初步研究[J]. *海洋湖沼通报*, 2003, 2: 64-68.
- [22] 叶乐,林黑着,李卓佳,等. 投喂频率对凡纳滨对虾生长和水质的影响[J]. *南方水产*, 2005, 1(4): 55-59.
- [23] Velasco M, Lawrence A L, Castille F L. Effect of variations in daily feeding frequency and ration size on growth of shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone), in zero-water exchange culture tanks[J]. *Aquaculture*, 1999, 179(1-4):141-148.
- [24] Smith D M, Burford M A, Tabrett S J, *et al.* The effect of feeding frequency on water quality and growth of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. *Aquaculture*, 2002, 207(1-2):125-136.
- [25] 冷向军,王冠. 投饲频率对异育银鲫饲料中添加晶体氨基酸的影响[J]. *饲料研究*, 2005(12): 50-52.
- [26] Zarate D D, Lovell R T. Effects of feeding frequency and rate of stomach evacuation on utilization of dietary free and protein-bound lysin for growth by channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 1999, 5(1):17-22.
- [27] Rolls B A, Porter J W G, Westgarth D R. The course of digestion of different food protein in the rat, 3. The absorption of proteins given alone and with supplements of their limiting amino acids[J]. *British Journal of Nutrition*, 1972, 28(3):283-293.

## Effects of feeding frequency on growth performance of *Litopenaeus vannamei* fed diet with crystalline methionine

CHI Shuyan, TAN Beiping\*, YANG Qihui, DONG Xiaohui, LIU Hongyu

(Laboratory of Aquatic Economic Animal Nutrition and Feed, College of Fisheries,  
Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** This study focused on evaluating the effects of feeding frequency on growth performance of *Litopenaeus vannamei* fed diet with crystalline methionine. The growth experiment was conducted to test three dietary treatments including fish meal(32%) as positive control, fish meal(16%) with methionine deficiency as negative control, and fish meal(16%) with crystalline L-methionine(MET) as the test diet. Feeding frequency trial was conducted in order to explore the difference in absorption of crystalline methionine and amino acid from intact protein(positive control and negative control). Shrimp were fed MET dietary in feeding frequency 2(7:00 and 21:00), 4(7:00, 12:00, 18:00 and 21:00), and 6 times-day(7:00, 9:30, 12:00, 15:00, 18:00 and 21:00), the positive control and negative control were fed 4 times per day only. Each treatment was randomly assigned to triplicate groups of 30 shrimps(initial weight  $1.27 \pm 0.01$  g) per aquarium. Shrimp were maintained in aquaria for 5 weeks at water temperature that ranged from 29 to 30 °C. The results showed that shrimp fed MET diet 6 times per day had no difference in weight gain with positive control ( $P > 0.05$ ). Crude protein contents of shrimp body of shrimp fed MET 6 times per day were significantly higher than that 4 times per day ( $P < 0.05$ ). Total protease activities of shrimp increased with feeding frequency increased, which fed MET 4 times per day and 6 times per day had no difference with positive control ( $P > 0.05$ ). These results indicate that the shrimp fed low fishmeal diet supplemented with methionine had better weight gain, body protein deposition and total protease activities with feeding frequency from 4 to 6 times per day. Increased feeding frequency could improve utilization of free amino acid.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; feeding frequency; crystalline methionine; growth performance

**Corresponding author:** TAN Beiping, E-mail: bptan@126.com