

禁食对草鱼不同组织、器官蛋白质代谢的影响

叶元土 蔡春芳 王永玲 丁小峰 蒋蓉

(苏州大学生命科学学院 苏州 215006)

摘要:采用肌肉注射、以 ^3H 标记的亮氨酸作为示踪氨基酸的大剂量方法、茚三酮测定氨基酸总量的方法,测定了摄食和禁食45 d的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)各组织、器官游离氨基酸量、吸收积累的试验氨基酸量、非蛋白质水溶液和蛋白质结合的放射性强度(dpm值)。结果表明,肌肉是草鱼蛋白质代谢最为活跃的组织,禁食使其蛋白质合成量下降了38%左右,脑保持着较高的、稳定的蛋白质代谢活动,其新的蛋白质合成量没有受到禁食的影响,肾脏积累了较多的游离形式的试验氨基酸,禁食并没有使其蛋白质合成量下降,反而有少量增加,肠道是蛋白质代谢活跃的内脏器官,禁食使其蛋白质合成量显著减少,仅为摄食组的30%左右,脾脏进行着较为活跃的蛋白质代谢,禁食45 d后脾脏非蛋白质水溶液和蛋白质结合的dpm值均较摄食组增加了161%,其新合成的蛋白质质量为摄食条件下的2.6倍,禁食并没有使肝胰脏蛋白质合成量受到影响,心脏也进行着较为活跃的蛋白质代谢,禁食使其新的蛋白质合成量降低了一半左右。通过氮氮排泄率和排泄氮氮占体蛋白质氮百分比的分析结果,草鱼在禁食过程中整体蛋白质代谢活动在5 d以前快速下降,氮氮排泄率从第3 d的 $404.44 \mu\text{mol}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$ 下降到第5 d的 $325.68 \mu\text{mol}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$,5 d以后氮氮排泄率趋于稳定(水温在 21.5°C)。此时草鱼的氮氮排泄率为 $4.56 \text{ mg}/\text{kg}\cdot\text{h}$,氮氮排泄的氮占鱼体蛋白质的百分比为0.37%,可以作为草鱼内源性氮氮的排泄参考值。

关键词:蛋白质;氨基酸;氮氮;草鱼

中图分类号:Q591 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)03-13-08

Effects of Starving on Protein Metabolism of Tissues and Organs in the Grass Carp

YE Yuan-Tu CAI Chun-Fang WANG Yong-Ling DING Xiao-Feng JIANG Rong

(College of Life Science, Soochow University, Suzhou 215006, China)

Abstract: The quantity of free amino acids in the organs and tissues of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*) starving or feeding for 45 days was measured by the ninhydrin colorimetric analysis method. The specific radioactivity of the $[\text{L}-(4,5\text{-}^3\text{H})\text{leucine}]$ was measured by the large-dose method and the active protein metabolism was measured by the muscle injection method as well. The muscle is the most active tissue for the protein metabolism, and starvation made the synthesized protein quantity decrease about 38%. The brain maintains high and stable protein metabolism, and its new synthesized protein quantity is not affected by starvation. Free amino acids are accumulated in the kidney and the synthesized protein quantity is increased in kidney after starvation. The protein synthesis is very active in intestine. However the synthesized protein quantity in the intestine after starvation is only 30 percent of the feeding fish. The protein metabolism accelerates in spleen after starvation for 45 days, and the synthesized protein quantity is 2.6 times of feeding fish. The synthesized protein quantity in the intestine is decreased for 50% after starvation for 45 days.

基金项目 苏州大学 211 工程资助项目(No. Q4114021);

第一作者介绍 叶元土,男,理学硕士,教授,研究方向:水产动物营养与饲料, E-mail: yeyuant@pub.sz.jsinfo.net.

收稿日期 2005-11-22, 修回日期 2006-03-15

The excretion ratio of the ammonia nitrogen was measured during starvation. The ratio is decreased from 404.44 $\mu\text{mol}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$ to 100.44 $\mu\text{mol}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$ with the starvation from 3 days to 45 days. The ratio of the excretion ammonia nitrogen to the protein nitrogen of the body was calculated based on the changes in the chemical content during the starvation. The ratio is greatly decreased within 5 days of starvation from 0.64% to 0.37%. The ratio is decreased from 0.37% to 0.28% from 5 days to 45 days of starvation.

Key words Protein ; Amino acid ; Ammonia nitrogen ; *Ctenopharyngodon idellus*

蛋白质代谢的研究包括蛋白质的合成、降解及周转率,是了解动物对食物蛋白质的利用及动物体内蛋白质的再利用等代谢规律的重要领域。目前国内外对家畜、家禽整体蛋白质代谢的研究有一些报道^[1],也有文献^[2]研究了饲料氨基酸模式对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)肌肉和肝胰脏等组织、器官的蛋白质代谢情况,但在同一条件下对鱼类整体及各组织、器官的蛋白质代谢研究不多。本文采用同位素标记氨基酸测定蛋白质代谢的实验方法,在禁食和摄食条件下对草鱼主要组织、器官的蛋白质代谢状况进行了初步的研究,并对实验方法作了一些探讨。

1 材料与方法

1.1 试验草鱼 在室内循环养殖系统中养殖了70 d左右的草鱼分成二组,一组禁食,不投饲料且在养殖桶的进水口安置过滤棉以防止循环水带进饲料等物质;另一组投喂硬颗粒配合饲料。

1.2 试验鱼的饲养管理 草鱼分别饲养于6个养殖缸内,每缸养殖15尾。室内循环养殖系统为单缸养殖容积0.4 m³、16个养殖单体组成的一个养殖循环系统,以自来水为水源,养殖水体经过沉淀、过滤除去残余饲料和粪便后流到蓄水池,经过增氧后由水泵抽回到各养殖缸内,每天补充总水量5%~10%的自来水。

草鱼养殖试验从10月开始,到11月结束(45 d)实验期间水温从22℃下降到16℃,溶解氧保持在6.0 mg/L以上,pH值6.5~7.5。

1.3 标记氨基酸的引入方法 亮氨酸为日本进口分装、层析纯,标记氨基酸选用L-[4,5-³H]亮氨酸,比活度60 Ci/mol,购于中国原子能研究

院同位素研究所。采用大剂量方法^[2,3]通过肌肉注射引入³H标记的亮氨酸,注射氨基酸用鱼用生理盐溶液配制,浓度为75 mmol/L,50 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ 放射性强度的亮氨酸溶液。每尾草鱼的注射量视鱼体大小为0.2~0.3 ml。从草鱼背鳍基部末端、侧线鳞以上的背部肌肉进行注射。注射完毕后将鱼放入盛10 L左右水的桶中,30 min后对草鱼进行取样处理。

1.4 试验草鱼的解剖和取样 测定的组织、器官包括:心脏、肝胰脏、脾脏、肾脏和肠道内部器官及肌肉、大脑、血清外部组织、器官。

在注射后30 min时,开始从尾动脉取血,自然凝固后3 000 r/min离心20 min,取血清0.1 ml测放射性强度。取血过程控制在2 min内完成,之后将试验草鱼迅速放入10 L液氮罐中,以超低温终止蛋白质合成反应,5 min后将草鱼取出,在室温条件下自然解冻。

待草鱼解冻还没有完全,但可以进行解剖操作时对草鱼进行常规解剖,迅速取下草鱼的大脑;从注射同位素部位的另一侧背部、侧线鳞以上取下草鱼背部的白色肌肉,剖开腹部,取下冰冻状态下的心脏让其自然解冻后滤纸吸干血污再称重;全部取出还在冰冻状态下的肾脏迅速称重、处理;在冰冻状态下小心分离脾脏、肝胰脏和肠道,直接对脾脏、肝胰脏进行称重、处理;肠道解冻后去除肠道外脂肪、系膜和肠内容物,滤纸吸干后对肠道称重。

1.5 样品处理方法

1.5.1 组织、器官总放射性强度测定样品的处理 将新鲜样品称重后置于试管中,加入样品重量5倍体积的HClO₄,在70℃消化完全(约45 min)。再加入样品重量5倍体积的H₂O₂,在70℃褪色至无色透明。冷却后定量取消化液

100 μl 于闪烁瓶中。每个测定样品作 3 个平行,取其平均值。

1.5.2 游离氨基酸总量、游离氨基酸放射性强度和蛋白质结合放射性强度测定样品的处理 定量称取组织、器官样品(样品重量一般不超过 1.000 0 g,样品不足时将 2 或 3 尾草鱼合并为一个样品),按照样品重量 5 倍体积加入 2% 的 HClO_4 溶液,玻璃匀浆器匀浆,在 10 000 r/min 离心 20 min,取上清液 100 μl 于试管中按照茚三酮方法^[4]测定游离氨基酸总量。另取上清液 100 μl 于闪烁瓶中用于放射性强度的测定。每个测定样品作 3 个平行,取其平均值。

蛋白质的纯化方法 取上述离心样品,弃去多余的上清液、保留沉淀,用约 10 ml 的 2% 的 HClO_4 溶液洗涤沉淀,再在 10 000 r/min 离心 20 min,弃去上清液、保留沉淀。取约 10 ml 左右 0.3 mol/L 的 NaOH 于含蛋白质沉淀的离心管中,搅匀,置 70 $^{\circ}\text{C}$ 约 40 min 使沉淀溶解,在 6 000 r/min 离心 15 min,将上清液转入另一个离心管中、弃去沉淀。在上清液中加入 HClO_4 ,使其含量达到 2%,沉淀蛋白质,在 10 000 r/min 离心 20 min,弃去上清液、保留沉淀。先后用无水乙醇、无水乙醚、丙酮各 10 ml 洗涤沉淀,离心均在 2~4 $^{\circ}\text{C}$ 进行冷冻离心,10 000 r/min 离心 20 min。沉淀在 70 $^{\circ}\text{C}$ 烘干(约 2 h),得干的蛋白质。

精确称重干的蛋白质并置于试管中,加入样品重量 10 倍体积的 HClO_4 ,在 70 $^{\circ}\text{C}$ 消化完全(约 45 min)。再加入样品重量 10 倍体积的 H_2O_2 在 70 $^{\circ}\text{C}$ 褪色至无色透明。冷却后定量取消化液 100 μl 于闪烁瓶中,设 3 个平行,取平均值。

1.6 闪烁液及放射性强度测量 闪烁液的配制参考吴冠芸等^[5]方法修改,精确称取 PPO 2.5 g、POPO 0.25 g 用二甲苯溶解,加入 Triton X-100 150 ml(视样品水分多少可以适当调整用量),再用二甲苯定容到 500 ml。每个闪烁瓶中取闪烁液 5 ml。

放射性用 SN-6930 液体闪烁计数器进行测量,采用内源标准方法对 cpm 值进行校正,得到校正后的 dpm 值。

1.7 全鱼水分、粗蛋白质和氨氮排泄率的测定

氨氮排泄率的测定方法为将禁食的草鱼 3~4 尾放入已经经过曝气处理和定量量取(10 L)的自来水中,按照陈佳荣^[6]方法测定 24 h 的水样中的氨氮。每个分析样品设 3 个平行,以单位体重(kg)、单位时间(h)的氨氮排泄量计算禁食草鱼的氨氮排泄率。

草鱼全鱼水分采用常规烘干恒重方法,粗蛋白质的测定采用常规的凯氏定氮方法。

2 结果

2.1 组织、器官游离氨基酸含量的分析 大剂量方法^[2,3]测定机体蛋白质合成率的基本原理就是选择一种标记的氨基酸,其使用剂量为动物体内该种游离氨基酸含量的 5~50 倍,以便在较短的时间内使标记氨基酸在体内各组织、器官迅速达到平衡。本实验使用了 75 mmol/L 的亮氨酸、50 $\mu\text{Ci/ml}$ 的 ^3H 标记亮氨酸的注射剂量,在引入草鱼体内后是否会改变草鱼组织、器官原有的游离氨基酸平衡?或这种影响有多大?为此,我们采用茚三酮方法测定注射试验氨基酸溶液前后草鱼各组织、器官游离氨基酸含量,结果见表 1。

注射试验氨基酸前后的测定结果显示,摄食组草鱼注射氨基酸溶液后,其肝胰脏游离氨基酸含量增加了 23.82%($P < 0.05$),其他组织、器官没有显著性的变化。在禁食组,注射氨基酸溶液后,组织、器官游离氨基酸含量变化较大,肌肉游离氨基酸下降了 19.88%,而脾脏和肾脏游离氨基酸含量变化具有显著性的差异,分别增加了 78.84%($P < 0.05$)和 59.94%($P < 0.05$),其他组织、器官游离氨基酸含量没有显著性的差异,只是有一定的增加,如肝胰脏和肠道游离氨基酸含量分别增加了 19.51%和 20.47%。结果表明,草鱼肌肉注射试验氨基酸溶液后对禁食草鱼组织、器官的游离氨基酸含量影响较大,在 30 min 内使脾脏、肾脏游离氨基酸显著增加,对摄食组草鱼仅使肝胰脏游离氨基酸含量显著增加。因此对正常摄食的草鱼采用大剂量方法应该是可行的。

表 1 注射氨基酸溶液前后组织、器官游离氨基酸含量的变化

Table 1 The free amino acid content of the organs and tissues in Grass Carp before or after the injecting isotope amino acid

	禁食组 Starvation group			摄食组 Feeding group		
	注射前	注射后	与注射前比较	注射前	注射后	与注射前比较
	Before injection (mg/g·tissue)	After injection (mg/g·tissue)	Comparing (%)	Before injection (mg/g·tissue)	After injection (mg/g·tissue)	Comparing (%)
脑 Brain	0.905 ± 0.031	0.939 ± 0.020	3.76	0.925 ± 0.019	0.947 ± 0.017	2.38
肌肉 Muscle	3.898 ± 0.022	3.123 ± 0.070	-19.88	3.930 ± 0.008	3.984 ± 0.003	1.37
脾脏 Spleen	0.846 ± 0.014	1.513 ± 0.020	78.84	1.263 ± 0.023	1.271 ± 0.011	0.63
肝胰脏 Hepatopan creas	1.917 ± 0.024	2.291 ± 0.026	19.51	2.233 ± 0.024	2.765 ± 0.026	23.82
心脏 Heart	0.648 ± 0.036	0.696 ± 0.006	7.41	0.429 ± 0.031	0.486 ± 0.006	13.29
肠道 Intestine	1.319 ± 0.067	1.589 ± 0.035	20.47	2.364 ± 0.011	2.203 ± 0.005	-6.81
肾脏 Kidney	1.670 ± 0.045	2.671 ± 0.064	59.94	1.523 ± 0.034	1.554 ± 0.003	2.04
总量 Gross	11.203	12.822	14.45	12.667	13.211	4.29

2.2 试验氨基酸在组织、器官的分布 对摄食和禁食草鱼各 5 尾,注射含标记亮氨酸的氨基酸溶液 30 min 后液氮终止反应,常规解剖取新鲜的组织、器官经过消化后测定各组织、器官的总放射性,以单位重量(g)组织、器官所含有的

放射脉冲数(dpm)计算各组织、器官吸收的氨基酸含有的放射性强度。为了比较各组织、器官对试验氨基酸的吸收量的大小,计算得到各组织、器官单位重量 dpm 值占所测定的组织、器官 dpm 值总量的比例,结果见图 1。

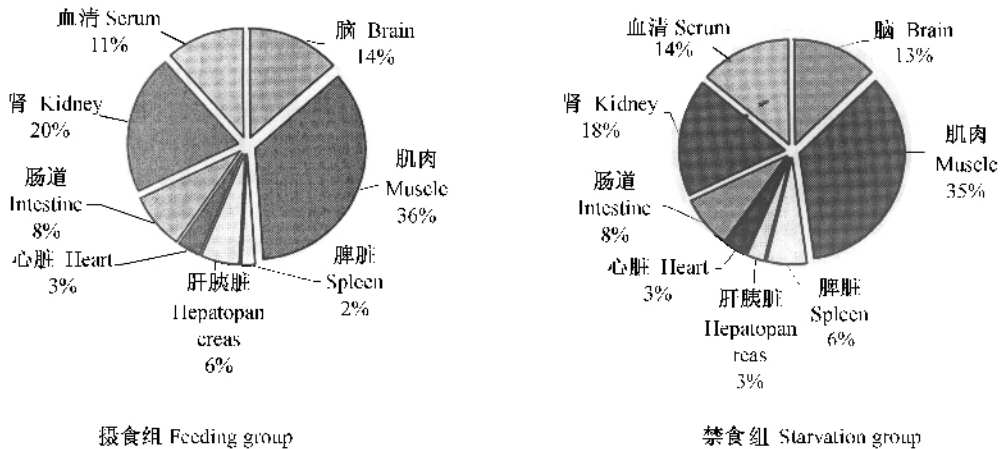


图 1 试验氨基酸在组织、器官的分布

Fig. 1 The distribution of the irradiation leucine in the organs and tissues in Grass Carp

试验氨基酸主要集中在肌肉,积累量达到 35%~36%,大脑吸收了 13%~14% 的试验氨基酸,血清中积累了 11%~14% 的试验氨基酸。而在内脏组织、器官中,肾脏吸收了约 18%~20% 的试验氨基酸,显示出试验氨基酸很快、很大比例地进入了排泄器官。在肠道积累的试验氨基酸比例(8%)高于肝胰脏(3%~6%),预示着肠道具有较强的蛋白质代谢活动,

心脏积累了 3% 的试验氨基酸。

比较禁食组和摄食组的结果表明,在外周组织的肌肉、大脑的结果没有差异,而内脏组织、器官对试验氨基酸的吸收积累比例有一定的差异。在免疫器官的脾脏,禁食组为 6%,而摄食组为 2%;在排泄器官的肾脏,禁食组为 18%,摄食组为 20%;在物质和能量代谢器官的肝胰脏,禁食组为 3%,摄食组为 6%;另一个

较大的差异在血清,禁食组为 14%,而摄食组为 11%。其他内脏组织、器官几乎没有差异。

2.3 试验氨基酸在组织、器官非蛋白质水溶液中的含量 对上述样品测定了以 2% 的 $HClO_4$

沉淀蛋白质后上清液(称为非蛋白质水溶液)中的放射性强度,主要为游离状态的试验氨基酸和已经转移到其他水溶性成分中的试验氨基酸成分,其结果见图 2。

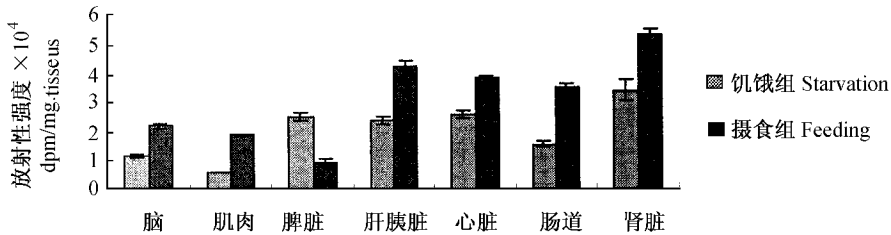


图 2 器官组织游离氨基酸放射性强度

Fig. 2 The dpm values of the free amino acid in organs and tissues

脑 Brain 肌肉 Muscle 脾脏 Spleen 肝胰脏 Hepatopan creas 心脏 Heart 肠道 Intestine 肾 Kidney。

试验氨基酸在所测定的组织、器官中均有较高的含量,尤以肾最大,表明试验氨基酸在 30 min 内就在排泄器官进行着大量的积累;其次在脾脏、肝胰脏、心脏和肠道等内脏组织、器官中含量较高,而肌肉和大脑含量相对较低。

比较禁食组和摄食组的结果,非蛋白质水溶液中摄食组 dpm 值高于禁食组的比例分别

为脑 88%、肌肉 219%、肝胰脏 79%、心脏 49%、肠道 129%、肾脏 56%,而脾脏则表现出相反的结果,是禁食组高于摄食组 161%。

2.4 各组织、器官新的蛋白质合成量 将各组织、器官经过分离得到的 70℃ 烘干的蛋白质用于测定其放射性强度,计算得到单位重量蛋白质的 dpm 值,结果见图 3。

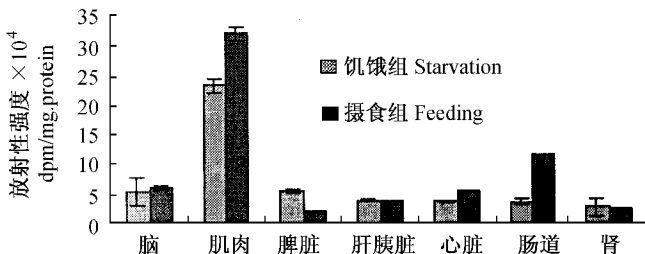


图 3 器官组织蛋白质结合的放射性强度

Fig. 3 The dpm values of the protein in organs and tissues

脑 Brain 肌肉 Muscle 脾脏 Spleen 肝胰脏 Hepatopan creas 心脏 Heart 肠道 Intestine 肾 Kidney。

由图 3 可知,所有测定的器官和组织均表现出较高的蛋白质合成速率,尤以肌肉蛋白质结合的放射性氨基酸最多,新合成的蛋白质质量较大,表现出很强的蛋白质合成率;其次是肠道,也具有较高的蛋白质合成率,大脑组织也表现出较高的蛋白质合成率,肠道和大脑新合成的蛋白质质量均高于肝胰脏。

禁食组与摄食组相比较,肝胰脏蛋白质结

合的放射性强度几乎相等,在大脑、肌肉、心脏、肠道低于摄食组,而在肾脏和脾脏的结果为新合成的蛋白质质量显著高于摄食组。蛋白质中 dpm 值摄食组高于禁食组的比例分别为脑 13%、肌肉 38%、心脏 52%、肠道 238%,而肝胰脏、肾脏、脾脏则是禁食组高于摄食组,分别为 1%、11%、16%。

2.5 全鱼在禁食过程中氮氮的排泄率 为进

一步了解禁食条件下草鱼整体的蛋白质代谢情况,测定了在禁食过程中草鱼全鱼氨氮排泄率和粗蛋白质、水分的变化,并参考况莉等^[7]的方

法,计算草鱼在禁食过程中的氨氮排泄量占全鱼蛋白质总量的百分比。结果见表 2。

表 2 禁食过程中草鱼全鱼氨氮排泄率

Table 2 The excretion ratio of the ammonia nitrogen after starvation

禁食时间 Starvation time (d)	鱼体重 Body weight (g)	氨氮排泄率 The excretion ratio ($\mu\text{mo}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$)	排泄氨质量 Quality ($\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{h}$)	水分 Moisture of whole body (%)	蛋白质 Protein of whole body (%)	氨态氮/蛋白质氮* Ratio of ammonia nitrogen to protein nitrogen(%)
3	101.8	404.44	5.66	74.5	58.43	0.64
5	101.8	325.68	4.56	69.92	61.1	0.37
10	100.5	250.33	3.50	69.38	61.14	0.28
15	91.7	204.17	2.86	72.6	57.16	0.30
25	68.6	144.04	2.02	72.82	57.33	0.36
35	144.1	148.87	2.08	75.59	59.99	0.21
45	116.5	100.44	1.41	75.09	59.98	0.28

* 氨态氮/蛋白质氮(%)=(单位鱼体重氨氮排泄质量/单位体重全鱼蛋白质质量)×100。

Ammonia nitrogen/protein nitrogen(%)=(Ammonia nitrogen excretion quality of the body weight/protein quality of the body weight)×100。

表 2 中鱼体重量除第 35 d 为 4 尾鱼总重外,其余均为 3 尾鱼总重。由实验结果可知,在禁食过程中,草鱼的氨氮排泄率从第 3 d 的 404.44 $\mu\text{mo}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$ 下降到第 45 d 的 100.44 $\mu\text{mo}(\text{N})/\text{kg}\cdot\text{h}$,排泄的氨态氮质量从 5.66 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 下降到 1.41 $\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{h}$,表明草鱼整体的蛋白质代谢率呈下降趋势。氨态氮/蛋白质氮的大小反映了单位时间内草鱼排泄的氮质量占鱼体总的蛋白质氮的百分比^[7],在禁食条件下主要以消耗体内内源性的蛋白质,因此可以反映出草鱼内源性蛋白质的周转量,其值愈大表明消耗的内源性蛋白质量愈大。草鱼在禁食 3 d 时的排泄率为 0.64%。5 d 就下降到 0.37%,下降速度很快。但在以后的时间内则下降速度较慢,到 45 d 时下降到 0.28%。

3 讨论

3.1 草鱼组织、器官蛋白质代谢 本实验从各组织器官游离氨基酸量、吸收积累的试验氨基酸 dpm 值总量、非蛋白质水溶液试验氨基酸 dpm 值、蛋白质结合试验氨基酸 dpm 值等几个指标对蛋白质代谢情况进行研究分析。在禁食和摄食条件下草鱼各组织、器官游离氨基酸的

分布有一定的差异,将摄食组和禁食组草鱼组织、器官游离氨基酸含量进行比较,在肌肉、肝脏、肠道的游离氨基酸含量是禁食组低于摄食组,而脾脏、心脏、肾脏的结果是禁食组高于摄食组,大脑的游离氨基酸几乎没有差异,较为稳定。

作为外周组织,肌肉积累了 35%~36% 的试验氨基酸,而在非蛋白质水溶液中的 dpm 值很低(在 2 000 dpm/g 组织以下),在蛋白质中的 dpm 值是最高的,表明草鱼肌肉吸收和积累的试验氨基酸主要用于了蛋白质的合成,且摄食组草鱼的蛋白质合成量比禁食组高 38% 左右,这些结果表明,草鱼肌肉在进行着较为活跃的蛋白质合成代谢。

脑是中枢神经器官,吸收和积累了 13%~14% 的试验氨基酸,脑进行着较为活跃的蛋白质代谢活动。摄食组与禁食组相比较,除了摄食组非蛋白质水溶液的 dpm 值高于禁食组 88% 左右外,蛋白质中 dpm 值、游离氨基酸总量均无显著性差异,表明草鱼脑的蛋白质合成量受禁食的影响不大,蛋白质代谢较为稳定。

在内脏器官中,肾脏积累了 18%~20% 的试验氨基酸,再结合肾脏游离氨基酸和蛋白质

中的 dpm 值看,肾脏蛋白质中的 dpm 值很低,而非蛋白质水溶液中的 dpm 值非常高,这些结果显示出,在肾脏积累的试验氨基酸数量较多,但主要还是以游离氨基酸状态存在。摄食组与禁食组相比较,摄食组游离氨基酸 dpm 值高于禁食组 56%,而蛋白质结合 dpm 值低于禁食组 10%,结果表明,摄食组草鱼肾脏的试验氨基酸主要以游离氨基酸(或非蛋白质)形式存在,在禁食条件下,草鱼肾脏依然进行着较强的蛋白质合成代谢。

肠道吸收和积累了 8% 的试验氨基酸,其比例高于肝胰脏,非蛋白质水溶液和蛋白质中的 dpm 值也很高,并高于肝胰脏的结果,表明肠道是内脏器官中蛋白质代谢较为活跃的器官。摄食组与禁食组的结果相比较,摄食组非蛋白质水溶液中 dpm 值高于禁食组 129%,蛋白质结合的 dpm 值高于禁食组 238%,结果显示出禁食后草鱼肠道的蛋白质合成代谢强度显著下降,在摄食条件下草鱼肠道的蛋白质代谢活动是很强的。

脾脏吸收和积累了 2% ~ 6% 的试验氨基酸,也是蛋白质代谢较为活跃的内脏器官。摄食组与禁食组相比较,禁食组非蛋白质水溶液中和蛋白质中的 dpm 值均为摄食组的 2.6 倍。这一结果表明,在禁食条件下草鱼脾脏的蛋白质代谢活动不仅没有减弱,反而增强了,表明在禁食条件下草鱼整体蛋白质代谢活动和肌肉、肠道等组织器官蛋白质代谢活动显著降低的时候,作为免疫器官的脾脏蛋白质代谢活动没有减弱,反而得到加强,这也是本实验得到的很有价值的结果之一。

肝胰脏吸收和积累了 3% ~ 6% 的试验氨基酸,是蛋白质代谢较为活跃的内脏器官。摄食组与禁食组相比较,摄食组肝胰脏积累的试验氨基酸为禁食组的 2 倍,其非蛋白质水溶液中的 dpm 值高于禁食组 79%,蛋白质结合的 dpm 值没有差异,表明摄食组草鱼肝胰脏积累的游离氨基酸较多,禁食后肝胰脏的蛋白质合成量并没有受到影响。

心脏吸收和积累了 3% 的试验氨基酸,摄

食组草鱼心脏非蛋白质水溶液和蛋白质结合的 dpm 值分别高于禁食组 49% 和 52%,表明禁食组草鱼心脏的蛋白质合成量下降了一半左右。

3.2 禁食条件下草鱼的蛋白质代谢 鱼类可以调节自身的能量分配以适应食物的缺乏,禁食状态下鱼类的总体代谢水平将明显下降。张波等^[8]发现南方鲇幼鱼在 27.5℃ 禁食 20 d 代谢率下降 47%,崔亦波等^[9]测得草鱼在 30℃ 下禁食 35 d 的代谢率明显低于 Wiley 在正常状态的测定值,周洪琪等^[10]测定了 20℃ 时草鱼摄食和禁食条件下,氨氮和尿素氮的平均日排泄率分别为 2.68 mg/kg·h 和 0.65 mg/kg·h,以氨氮排泄为主,占总氮的 80% 左右。Carter 和 Brafield^[11]将禁食 2 d 的氮排泄率 4.58 mg/kg·h 作为内源性氮排泄。在试验条件下测定了草鱼的氨氮排泄率和排泄的氨氮占鱼体蛋白质氮的百分比。在禁食过程中,草鱼的氨氮排泄率从第 3 d 的 404.44 $\mu\text{mol(N)}/\text{kg}\cdot\text{h}$ 下降到第 45 d 的 100.44 $\mu\text{mol(N)}/\text{kg}\cdot\text{h}$,排泄的氨氮质量从 5.66 mg/kg·h 下降到 1.41 mg/kg·h,在禁食 5 d 时,氨氮排泄率 4.56 mg/kg·h(此时水温为 21.5℃),与 Carter 和 Brafield^[11]禁食 2 d 的结果相接近,在禁食 15 d 时,氨氮排泄率 2.86 mg/kg·h 与周洪琪在 20℃ 测定结果相接近。

参照况莉等^[7]的方法计算得到草鱼氨氮排泄量占体蛋白质量的百分比,草鱼在禁食 3 d 时的排泄率为 0.64%,在第 5 d 就下降到 0.37%,但是在第 5 d 以后的时间内则缓慢下降,到 45 d 时下降到 0.28%。况莉等^[7]测得南方鲇在 22.5℃ 时氨氮排泄量占体蛋白质量的百分比为 0.55%,本实验测得草鱼在 22℃ 左右禁食 3 d 的氨氮排泄量占体蛋白质量的百分比为 0.64%,两者较为接近。

上述结果反映出在禁食过程中草鱼整体的蛋白质代谢活动下降,禁食 5 d 以后氨氮排泄率趋于稳定,此时的水温在 21.5℃,其氨氮排泄率为 4.56 mg/kg·h,氨氮排泄的氮占鱼体蛋白质的百分比为 0.37%。这个结果可以作为草鱼在水温 21.5℃ 左右时的内源性氨氮排泄的参考值。

参 考 文 献

- [1] 张勇,周安国. 蛋白质周转代谢及其测定. 动物营养学报, 2001, **13**(4): 7~13.
- [2] 罗莉,叶元土,林仕梅. 灌喂必需氨基酸模式溶液对草鱼全鱼和肌肉、肝胰脏蛋白质合成代谢的影响. 水产学报, 2002, **26**(1): 73~78.
- [3] Peter J G, Margaret A M, Victor R P. A rapid and convenient technique for measuring the rate of protein synthesis in tissues by injection of [^3H]phenylalanine. *Biochem J*, 1980, **192**: 719~723.
- [4] 叶元土. 茚三酮法测定蛋白质饲料中水溶蛋白质成份. 饲料工业, 1993, **14**(9): 18~20.
- [5] 吴冠芸, 潘华珍, 吴翠. 生物化学与分子生物学实验常用数据手册. 北京: 科学出版社, 2002, 112.
- [6] 陈佳荣. 水化学实验指导书. 北京: 中国农业出版社, 1998, 136~141.
- [7] 况莉, 谢小军. 温度对禁食状态下南方鲇幼鱼氨氮排泄的影响. 西南师范大学学报, 2001, **26**(1): 45~50.
- [8] 张波, 谢小军. 南方鲇禁食代谢的研究. 海洋与湖沼, 2000, **30**(5): 480~484.
- [9] 崔奕波, 王少梅, 陈少莲. 饥饿状态下草鱼的代谢率和氮排泄率及其与体重的关系. 水生生物学报, 1993, **17**(4): 375~376.
- [10] 周洪琪, 潘兆龙, 李世钦等. 摄食和温度对草鱼氮排泄影响的初步研究. 上海水产大学学报, 1999, **8**(4): 293~297.
- [11] Carter C G, Brafield A E. The bioenergetics of Grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Vai.): the influence of body weight, ration and dietary composition on endogenous excretion. *Journal of Fish Biology*, 1991, **41**: 533~543.