

doi: 10.7541/2018.066

低磷饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响

艾凤^{1,2} 王连生² 李晋南² 王常安² 赵志刚² 罗亮² 都雪² 徐奇友²

(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, 哈尔滨 150070)

摘要: 试验旨在研究低磷饲料中添加 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, AKG)对松浦镜鲤(*Cyprinus carpio* Songpu)生长性能、体成分和血清生化指标的影响。选取平均体重为(6.67 \pm 0.14) g的松浦镜鲤630尾, 随机分成7组, 每组3个重复。分别投喂有效磷0.73%的正常磷饲料和有效磷0.47%的低磷饲料, 在低磷饲料中分别添加0、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%、2.0% (干物质含量)的AKG, 配制成等氮等能饲料, 试验期为8周。结果表明: 低磷组饲料系数(FCR)显著高于正常磷组($P < 0.05$), 但增重率(WGR)、特定增长率(SGR)、蛋白质效率(PER)、脏体指数(VSI)及肥满度(CF)差异不显著($P > 0.05$); 与低磷组比, 0.4%AKG组FCR显著降低($P < 0.05$), 1.6%AKG组血清磷、白蛋白含量(ALB)显著增加($P < 0.05$); 0.8%AKG组谷草转氨酶(AST)活性和1.20%AKG组谷丙转氨酶(ALT)活性显著高于正常磷组($P < 0.05$); 添加不同水平AKG对血清其他指标无显著影响($P > 0.05$)。与正常磷组相比, 低磷组粗灰分含量、骨钙含量和钙磷沉积率显著降低($P < 0.05$); 与低磷组相比, 添加不同水平AKG磷沉积率显著增加($P < 0.05$), 0.4%AKG组, 骨钙含量显著增加($P < 0.05$), 0.8%AKG组, 骨磷含量显著增加($P < 0.05$); 低磷饲料添加AKG对其他体成分指标无显著影响($P > 0.05$)。由此得出, 低磷饲料中添加适量的AKG可以降低FCR, 提高松浦镜鲤脊椎骨钙磷含量。

关键词: 磷; AKG; 鲤; 生长性能; 血清生化指标; 体成分

中图分类号: S963.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2018)03-0525-08

饲料中磷来源于动物、植物和矿物质添加剂(无机磷)。动物性原料价格偏高, 而植物中的磷大多以植酸磷的形式存在, 不易于消化吸收。养殖水体中磷含量少, 不能满足鱼类生长需求^[1]。饲料磷是鱼类生长免疫^[2]、骨骼发育^[3]和保持体内代谢平衡^[4]所必需的营养元素。大量研究表明: 适宜磷可促进黑线鳕(*Melanogrammus aeglefinus* L.)^[5]、黑鲷(*Sparus macrocephalus*)^[6]、花鲈(*Lateolabrax japo*)^[7]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[8]等水生动物的生长。磷缺乏则导致饲料效率降低、生长速度下降, 骨骼微量元素减少^[1]。此外, 缺磷直接影响维生素D介导的免疫反应以及鱼类易患厌食症, 降低生长, 体脂含量增加, 降低鱼肉品质^[9]。因此, 在饲料中添加无机磷以满足鱼类生长需求, 但添加过量的磷通

过水产动物排泄进入水中导致水体富营养化。

研究表明, 低磷可促进肠道及肾脏钠磷转运载体蛋白的表达^[10], 其决定了日粮磷在肾脏中的吸收速度, 提高磷利用率, 降低磷排泄^[11]。 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, AKG)是谷氨酰胺前体物质, 具有水中良好稳定性、无毒性的特性, 可促进细胞生长及机体氨基酸循环。AKG经多种机制参与细胞生长: (1)AKG是三羧酸循环循环的中间体, 提供细胞所需要的能量^[12]; (2)AKG加成作用是通过G蛋白偶联型受体, 增强细胞的新陈代谢信号, 因而促进细胞增殖^[13]; (3)AKG能够作用于由细胞释放氨的清除剂, 以尽量减少细胞有毒的氨的积累^[14]。此外, 动物的研究表明, AKG的研究已经显露出其对骨骼发育和稳态维持的积极影响^[15-17]。AKG, 抗坏血

收稿日期: 2017-05-26; **修订日期:** 2017-12-17

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-46); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(HSY201605)资助 [Supported by the earmarked fund for China Agriculture Research System (CARS-46); the Central-Level Non-profit Science Research Institutes Special Funds (HSY201605)]

作者简介: 艾凤(1990—), 女, 安徽芜湖人; 硕士; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: 18255067827@163.com

通信作者: 徐奇友, 研究员, 硕士生导师; E-mail: xuqiyu@sina.com

酸和 Fe^{2+} 通过脯氨酸水解酶将肽结合的脯氨酸羟基化转为羟脯氨酸,增加了前胶原转化为胶原和骨基质的形成^[18]。AKG可促进肋骨重量和长度,且诱导骨矿物质密度增加及促进骨机械性能^[19]。医学上研究,超重和肥胖的绝经后妇女,酮戊二酸和性类固醇促进骨矿物质密度和骨转换^[20]。根据目前对AKG及其代谢产物和周围神经系统功能的了解,已证实静脉肝细胞中,AKG还原氨化合成谷氨酸,并由骨组织中神经纤维释放谷氨酸^[21]。通过较高的谷氨酸合成及其作为骨代谢调节中的神经信号分子可以诱导改善骨质量^[22]。AKG在机体骨骼发育和矿物质沉积等生理过程中有重要作用,AKG促进动物机体钙磷沉积,已达到降低粪尿中磷含量的效果^[23],表明AKG可以有效改善钙磷代谢。综上所述,关于AKG促进细胞生长和骨骼发育的研究很多,对于磷吸收代谢的研究未见报导。松浦镜鲤是黑龙江水产研究所在德国镜鲤选育系(F4)的基础上选育的新品种,具有生长速度快、养殖成活率高、肉质鲜嫩等优点。因此,本试验通过低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤生长性能、血清生化指标和体成分的影响,探讨AKG与磷利用之间的联系,以期提高磷利用为解决当前生产与环境问题提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料及饲料的制备

AKG: 购自Sigma-Aldrich公司,白色粉末,纯度 $\geq 98.5\%$ 。饲料蛋白质源以进口鱼粉,豆粕为主,用羟甲基纤维素钠黏合,以2%和1%磷酸二氢钠为添加磷源,根据鲤鱼营养需求配制基础饲料:分别为含有效磷0.73%的正常磷饲料和含有效磷0.47%不同浓度AKG(0、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%、2.0%,干物质含量)的低磷饲料,用葡萄糖替代不同水平AKG,配置7种试验饲料,其组成及营养水平见表1。饲料原料经过80目筛,逐级混均后,加入一定量的水分充分混合,用小型颗粒机挤压成颗粒饲料(颗粒直径为2.0 mm),常温风干后,-20℃保存备用。

1.2 试验方法

松浦镜鲤幼鱼购自黑龙江水产研究所呼兰试验站,养殖在可控温水循环系统中,水温(23±1)℃左右,溶氧>6 mg/L,氨氮<0.02 mg/L, pH控制在7±0.5。试验前将松浦镜鲤经3%盐水消毒后在暂养池驯养2周,每日饱食投喂4次。投食1h候后,用虹吸管收集成型粪便,65℃恒温干燥箱烘干,-20℃冰

箱保存,用于总磷表观消化率的测定。

样品采集与处理 采样均在养殖实验结束停食24h后。统计每重复鱼总数,总重,然后每组取4尾鱼,于-20℃冰箱保存用于体成分分析,另外从每组中取出6尾鱼用浓度为100 mg/L的MS-222(化学名称:间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐)麻醉,称重、量体长后尾静脉采血,用于血清生化指标的测定。取内脏团称重分离出前中后肠,至于波恩氏液中,浸泡48h后进行包埋。再取其脊椎骨并彻底清除附着的肌肉组织后置于-20℃冰箱冷冻保存待用或立即使用,用去离子水洗净,恒温箱中60℃烘干充分磨碎后,分别采用分光光度法(GB/T9695.4—2009)和采用EDTA络合滴定法(GB/T6436—2002)测定骨钙磷含量^[25]。将血清保存于冰盒里送黑龙江省电力医院采用全自动生化分析仪(贝克曼ProCX4,德国)进行血清生化分析。血清生化分析指标包括:磷、钙、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)。计算出各组试验鱼的WGR、FCR、SGR、PER、VSI、CF、钙磷沉积率、磷表观消化率,计算公式如下:

增重率(WGR/%)=(末均重-初均重)/初均重×100;

蛋白质效率(PER/%)=(总末重+总死鱼重-总初重)/(总投饲量×饲料蛋白质含量)×100;

特定生长率(SGR, %/d)=[ln(末均重)-ln(初均重)]×100/天;

脏体比(VSI/%)=100×内脏重/体重;

肥满度(CF, g/cm)=100×体重/体长³;

成活率(SR/%)=成活数/总数×100;

饵料系数(FCR)=总投饲量/(总末重+总死鱼重-总初重);

磷沉积率(%)=[(结束时体磷-开始时体磷)/摄入磷量]×100;

钙沉积率(%)=[(结束时体钙-开始时体钙)/摄入钙量]×100;

磷表观消化率(%)=[1-(饲料指示剂含量×粪便磷含量/粪便指示剂含量×饲料磷含量)]×100

测定方法 饲料和体成分测定分别采用105℃烘箱干燥恒重法(GB/T5009.3—2003)和550℃高温灼烧法(GB/T5009.4—2003)测定水分和粗灰分;采用凯氏定氮法(GB/T5009.5—2003)测定粗蛋白质含量;采用索氏抽提法(GB/T5009.6—2003)测定粗脂肪含量。采用酸消化法测定饲料和粪便中三氧化二铬(Cr_2O_3)(SC/T 1089-2006)含量。

表 1 试验配方及营养组成(干物质基础)

Tab. 1 Formulation and nutritional of experimental diet (DM basis)

原料Ingredient	α -酮戊二酸浓度AKG concentration (%)						
	0	0	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
鱼粉Fish meal	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
豆粕Soybean meal	56.0	56.0	56.0	56.0	56.0	56.0	56.0
次粉Wheat middling	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0	22.0
豆油Soybean oil	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3
磷脂Phospholipide	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
维生素预混料Vitamin premix ¹⁾	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
矿物质预混料Mineral premix ²⁾	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
α -酮戊二酸 α -ketoglutarate	0.0	0.0	0.4	0.8	1.2	1.6	2.0
氯化胆碱Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钠NaH ₂ PO ₄	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
石粉Limestone	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
沸石Zeolite	1.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
三氧化二铬Chromium (III) oxide	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
葡萄糖Glucose	2.0	2.0	1.6	1.2	0.8	0.4	0.0
羧甲基纤维素钠CMC	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
蛋氨酸Met	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
苏氨酸Thr	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
合计Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
营养成分分析Nutritional composition analysis ³⁾							
粗蛋白CP	34.62	34.60	34.72	34.39	34.11	34.53	34.68
粗脂肪EE	9.79	9.52	9.41	9.55	9.35	9.54	9.17
粗灰分Ash	7.78	7.76	7.78	7.76	7.75	7.79	7.75
钙Ca	0.99	0.99	1.01	1.04	1.01	1.01	1.04
总磷TP	1.22	0.96	0.95	0.96	0.94	0.96	0.96
有效磷AP ⁴⁾	0.73	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47	0.47

注: ¹⁾维生素预混料为每千克饲料提供The vitamin premix provided the following in the diet per kg: VA 8000 IU, VC 500 mg, VD₃ 3000 IU, VE 60 mg, VK₃ 5 mg, VB₂ 30 mg, VB₆ 15 mg, VB₁₂ 0.5 mg; ²⁾矿物质预混料为每千克饲料提供The mineral premix provided the following in the diet per kg: Zn 25 mg, Cu 3 mg, Fe 25 mg, Mn 15 mg, I 0.6 mg, Co 0.1 mg, Se 0.4 mg; ³⁾粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分、钙和总磷为实测值, 其余为计算值CP, EE, Ash, Ca and TP were measured values, while the others were calculated values; ⁴⁾有效磷根据中国饲料成分及营养价值表2015年第27版^[24](中国饲料数据库)及NRC计算得出^[1]Available Phosphorus was calculated by China Feed Ingredients and Nutritional Value Table, Issue 27 (China Feed Database) and NRC (1993)

1.3 数据处理与分析

试验以不同水平AKG为影响因素, 采用SPSS-19.0软件进行单因素方差分析和Duncan氏法多重比较, 统计数据, 显著水平 $P=0.05$ 。试验结果以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果

2.1 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤生长性能的影响

与正常磷组相比, 低磷组FCR显著升高($P<0.05$), WGR、SGR、PER、VSI及CF差异没有达到显著水平; 低磷组添加0.4%、0.8%、1.2%、1.6%及2.0% AKG组WGR、FCR、SGR、PER、VSI及CF差异都没有达到显著水平。与低磷组相比, 添加0.4%、

0.8% AKG显著降低FCR ($P<0.05$)(表 2)。饲料总磷表观消化率随AKG浓度的升高, 先升高后降低, 差异不显著($P>0.05$)(图 1)。

2.2 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤形态结构的影响

与正常磷组相比, 低磷组前肠、中肠和后肠绒毛宽度、基层厚度均显著降低($P<0.05$), 与低磷组相比, 添加1.2% AKG前肠、中肠绒毛长度、宽度及基层厚度均显著增加($P<0.05$)(表 3)

2.3 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤体成分的影响

相比于正常磷组, 低磷组的粗灰分含量、骨钙含量和钙磷沉积率显著降低($P<0.05$)(表 4)。与低磷组比较, 添加AKG钙沉积率无显著影响($P>0.05$),

表2 低磷水平饲料中添加AKG对松浦镜鲤生长性能的影响

Tab. 2 Effects of AKG supplementation in low-phosphorous diets on growth performance of Songpu mirror carp (%)

项目Item	有效磷水平/ α -酮戊二酸浓度Ap level/AKG concentration (%)						
	0.73/0	0.47/0	0.47/0.4	0.47/0.8	0.47/1.2	0.47/1.6	0.47/2.0
初始体重 <i>IW</i>	6.72±0.06	6.68±0.06	6.67±0.09	6.71±0.04	6.71±0.08	6.68±0.08	6.73±0.06
增重率 <i>WGR</i>	465.26±40.43 ^a	399.83±43.30 ^{ab}	444.06±41.92 ^{ab}	429.56±38.93 ^{ab}	399.33±26.12 ^{ab}	406.21±15.22 ^{ab}	393.56±36.31 ^b
饲料系数 <i>FCR</i>	1.39±0.10 ^{bc}	1.64±0.15 ^a	1.36±0.08 ^c	1.43±0.15 ^{bc}	1.53±0.05 ^{abc}	1.56±0.03 ^{ab}	1.55±0.08 ^{ab}
特定生长率 <i>SGR</i>	2.47±0.10 ^a	2.30±0.12 ^{ab}	2.42±0.11 ^{ab}	2.38±0.11 ^{ab}	2.30±0.08 ^{ab}	2.32±0.04 ^{ab}	2.28±0.11 ^b
蛋白质效率 <i>PER</i>	2.00±0.10 ^a	1.75±0.14 ^{ab}	1.95±0.15 ^{ab}	1.84±0.10 ^{ab}	1.75±0.11 ^b	1.78±0.06 ^{ab}	1.77±0.19 ^{ab}
脏体比 <i>VSI</i>	8.82±1.48	7.38±0.50	8.78±0.92	9.24±1.07	9.13±0.64	9.31±0.60	8.36±1.58
肥满度 <i>CF</i>	1.69±0.19	1.71±0.13	1.73±0.15	1.74±0.23	1.78±0.16	1.74±0.17	1.81±0.19
成活率 <i>SR</i>	97.93±1.96	97.73±1.96	97.73±1.96	97.73±1.96	97.73±1.96	97.73±1.96	97.73±1.96

注: 同列数据肩标不含有相同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 小写字母相同或无字母表示差异不显著($P>0.05$), 下同

Note: In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while no or the same small letter superscripts mean significant difference ($P>0.05$). The same applies below

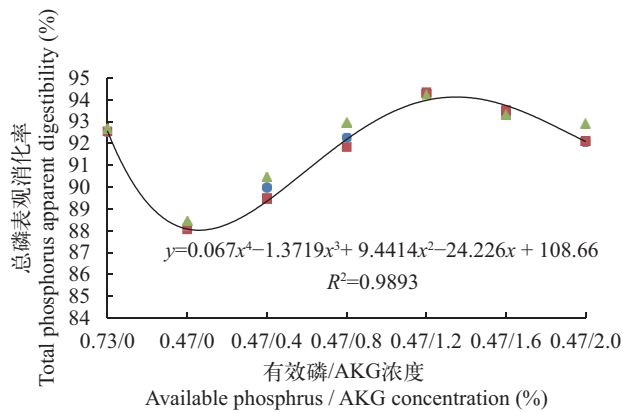


图1 低磷水平饲料中添加AKG对松浦镜鲤总磷表观消化率的影响

Fig. 1 Effects of AKG supplementation in low-P diets on total P apparent digestibility of Songpu mirror carp

而鱼体磷含量、磷沉积率显著增加($P<0.05$), 0.4% AKG组, 骨钙含量显著增加($P<0.05$), 0.8% AKG组, 骨磷含量显著增加($P<0.05$)。

2.4 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤血清生化指标的影响

低磷组与正常磷比, 除血清磷含量显著降低($P<0.05$)外, 血清各项指标无显著差异($P>0.05$)(表5)。与正常磷组相比, 0.8% AKG组谷草转氨酶(AST)活性及1.20% AKG组谷丙转氨酶(ALT)活性显著提高($P<0.05$); 1.6% AKG组, 血清磷、白蛋白含量(ALB)显著增加($P<0.05$); 添加不同水平AKG对血清其余各项指标无显著影响($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤生长的影响

Kim等^[26]研究指出, 在饲料中添加2%磷酸二氢

钙(有效磷水平0.67%), 镜鲤(*Cyprinus carpio* var. *specularis*)生长性能最佳。本试验低磷组有效磷0.47%, *WGR*、*SGR*、*PER*低于正常磷组, *FCR*显著高于正常磷组。在低磷饲料中添加不同浓度AKG能一定程度上促进鱼体生长, 降低饲料效率, 其原因可能是AKG可促进肠道生长、发育和在健康、病理条件下作为主要能源和结构组成发挥功能。已研究日粮补充1%的AKG增加疑似内毒素仔猪肠黏膜蛋白质的合成和减轻黏膜损伤, 并增加小肠的吸收功能^[27, 28]。此外, AKG可增强ATP的供给, 并刺激腺苷酸活化蛋白激酶的磷酸化和能量底物(例如葡萄糖、氨基酸、脂肪酸)在肠黏膜的氧化, 支持肠细胞的功能^[29]。李晋南等^[30]研究表明, 日粮中添加1.5%的AKG可以促进松浦镜鲤肠道发育, 增强肠道消化酶活性。本试验肠道显微结构结果表明, 低磷中添加AKG可有效促进肠道发育, 与上述结论一致。本实验中AKG最高添加量未促生长作用, 其原因可能是AKG的积累限制谷氨酰胺分解降低细胞增殖^[21]。

3.2 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤体成分的影响

熊文等^[9]概述, 缺磷导致鱼体粗灰分含量、磷含量降低, 脂含量增加, 并以钙的流失为特征。杨原志等^[31]研究得出, 不同磷水平对军曹鱼(*Rachycentron canadum* Linnaeus)幼鱼水分、粗蛋白、粗脂肪含量无显著影响, 而鱼体磷含量在磷水平为0.61%时, 显著低于0.76%处理组。位莹莹等^[32]在蛋白水平34%条件下, 添加不同浓度AKG对松浦镜鲤鱼体粗蛋白含量无显著差异。本试验低磷组, 水分、粗蛋白和粗脂肪含量无显著变化, 粗灰分、钙磷沉积率显著降低, 与上述研究结论一致。低磷饲

表 3 低磷水平饲料中添加AKG对松浦镜鲤肠道形态的影响

Tab. 3 Effects of AKG supplementation in low-phosphorous diets on intestinal morphology of Songpu mirror carp (μm)

指标Index	有效磷水平/ α -酮戊二酸浓度Ap level/AKG concentration (%)							
	0.73/0	0.47/0	0.47/0.4	0.47/0.8	0.47/1.2	0.47/1.6	0.47/2.0	
前肠 Foregut	绒毛高度 Villi height	699.25±101.55 ^b	620.69±54.61 ^b	825.31±90.94 ^a	786.38±123.42 ^b	880.44±26.41 ^a	692.25±28.02 ^b	585.94±42.33 ^c
	绒毛宽度 Villi width	111.33±17.24 ^a	90.75±14.64 ^b	92.75±6.18 ^b	96.00±11.05 ^{ab}	111.00±9.49 ^a	100.25±5.74 ^{ab}	97.50±3.70 ^{ab}
	肌层厚度 Muscular thickness	79.00±10.61 ^{bc}	52.75±9.50 ^d	82.25±8.06 ^{ab}	86.50±20.27 ^{ab}	102.25±6.13 ^a	83.33±20.65 ^{ab}	61.75±8.73 ^{cd}
中肠 Midgut	绒毛高度 Villi height	414.19±28.79 ^{ab}	374.38±22.55 ^b	424.81±63.98 ^{ab}	470.44±37.34 ^a	465.44±19.81 ^a	439.75±44.07 ^a	415.50±16.20 ^{ab}
	绒毛宽度 Villi width	80.50±7.94 ^b	62.25±6.50 ^a	78.75±9.43 ^b	80.00±4.55 ^b	83.75±10.40 ^b	78.00±4.16 ^b	76.50±6.35 ^b
	肌层厚度 Muscular thickness	60.00±6.78 ^b	44.5±11.00 ^a	64.00±4.69 ^b	71.00±13.09 ^b	58.00±7.30 ^b	63.50±5.45 ^b	60.75±4.43 ^b
后肠 Hindgut	绒毛高度 Villi height	413.75±25.52 ^b	366.81±46.68 ^b	401.00±85.73 ^b	535.69±59.80 ^a	605.50±56.32 ^a	374.44±29.67 ^b	374.13±54.66 ^b
	绒毛宽度 Villi width	90.75±20.60 ^a	73.25±4.99 ^{bc}	71.00±7.87 ^{bc}	70.00±3.46 ^{bc}	63.00±7.07 ^c	84.00±14.67 ^{ab}	86.00±4.24 ^{ab}
	肌层厚度 Muscular thickness	67.00±4.69 ^{ab}	51.25±3.77 ^b	57.25±6.70 ^b	54.25±14.61 ^b	54.25±8.50 ^b	57.00±6.87 ^b	84.50±30.49 ^a

表 4 低磷水平饲料中添加AKG对松浦镜鲤体成分的影响(干重基础)

Tab. 4 Effects of AKG supplementation in low-phosphorous diets on body composition of Songpu mirror carp (Dry weight basis)

项目Item	有效磷水平/ α -酮戊二酸浓度Ap level/AKG concentration (%)						
	0.73/0	0.47/0	0.47/0.4	0.47/0.8	0.47/1.2	0.47/1.6	0.47/2.0
初始鱼体成分Initial fish body composition							
粗蛋白Crude protein	1.72±0.01	1.71±0.01	1.71±0.01	1.71±0.01	1.71±0.01	1.71±0.01	1.72±0.01
粗脂肪Crude lipid	0.68±0.01	0.67±0.01	0.67±0.01	0.68±0.01	0.68±0.01	0.67±0.01	0.68±0.01
粗灰分Ash	1.11±0.01	1.10±0.01	1.10±0.01	1.11±0.01	1.11±0.01	1.10±0.01	1.11±0.01
终末鱼体成分Final fish body composition							
水分Moisture	75.36±0.38	74.31±0.64	74.58±0.42	74.45±1.08	75.19±0.28	74.77±0.10	75.32±0.30
粗蛋白Crude protein	14.09±0.27	14.55±0.23	14.25±0.16	14.27±0.55	14.14±0.18	14.27±0.19	13.73±0.20
粗脂肪Crude lipid	6.15±0.21	7.38±0.68	7.46±0.21	7.43±0.80	7.35±1.43	6.77±0.07	6.52±0.41
粗灰分Ash	2.79±0.16 ^a	2.45±0.07 ^b	2.37±0.16 ^b	2.25±0.04 ^b	2.42±0.20 ^b	2.36±0.02 ^b	2.26±0.12 ^b
钙沉积率Calcium deposition rate	51.11±4.86 ^a	35.88±2.19 ^b	35.38±1.30 ^b	31.80±3.33 ^b	36.40±6.47 ^b	35.60±2.51 ^b	32.74±5.32 ^b
磷沉积率Phosphorus deposition rate	33.87±2.59 ^a	18.53±1.08 ^b	32.76±2.03 ^a	33.52±2.20 ^a	36.95±4.39 ^a	33.58±2.55 ^a	31.64±3.10 ^a
骨钙Bone calcium	12.21±0.96 ^a	10.00±0.11 ^b	10.88±0.25 ^c	10.58±0.27 ^{bc}	10.16±0.20 ^{bc}	10.31±0.27 ^{bc}	10.42±0.01 ^{bc}
骨磷Bone phosphorus	5.19±0.09 ^{ab}	5.00±0.02 ^{bc}	5.22±0.05 ^{ab}	5.30±0.08 ^a	4.78±0.19 ^c	4.73±0.25 ^c	4.82±0.03 ^c
鱼体钙Body calcium	2.85±0.69 ^a	2.49±0.24 ^{ab}	2.63±0.06 ^{ab}	2.49±0.10 ^b	2.26±0.03 ^b	2.32±0.08 ^{ab}	2.26±0.23 ^b
鱼体磷Body phosphorus	1.87±0.05 ^a	1.19±0.08 ^c	1.48±0.07 ^b	1.58±0.14 ^b	1.81±0.07 ^a	1.81±0.07 ^a	1.81±0.11 ^a

料中全鱼脂肪含量有所提高,随着AKG水平的升高,全鱼体脂呈下降趋势,可能与AKG促进肠道脂肪酶活性有关。魏玉强^[33]等研究表明饲料添加AKG可显著降低松浦镜鲤肌肉粗脂肪含量。

钙和磷是骨生长和代谢中发挥重要作用的矿物元素^[34]。本试验低磷添加0.4%—0.8%AKG组,磷沉积与脊椎骨磷含量指标与正常磷组相一致,原因在于添加适宜水平AKG对骨骼矿物质沉积有积极的影响。研究证实,AKG对骨代谢的调控作用,

Harrison等^[35] AKG对仔猪(0.4 g/kg体重)和新生羊(0.1 g/kg体重)骨骼系统如骨形态、骨密度和机械性能的发育有促进作用。Andersen等^[36]在出生21—24d的仔猪饲料中添加0.1%AKG,其股骨矿物质密度显著增加。而本试验低磷饲料的基础上添加AKG,0.4%AKG组骨钙含量显著提高,0.8%AKG组骨磷含量、磷沉积率均显著提高。由此可见,AKG可有效地改善磷代谢。然而,AKG如何调控骨骼矿物质沉积的机制目前国内外鲜少报道。

表5 低磷水平饲料中添加AKG对松浦镜鲤血清生化指标的影响

Tab. 5 Effects of AKG supplementation in low-phosphorous diets on serum biochemical indices of Songpu mirror carp

项目Item	有效磷水平/ α -酮戊二酸浓度Ap level/AKG concentration (%)						
	0.73/0	0.47/0	0.47/0.4	0.47/0.8	0.47/1.2	0.47/1.6	0.47/2.0
钙Ca (mmol/L)	2.39±0.18	2.44±0.05	2.40±0.11	2.55±0.11	2.60±0.31	2.66±0.13	2.49±0.05
磷P (mmol/L)	2.36±0.01 ^{ab}	2.03±0.07 ^a	2.77±0.52 ^{abc}	3.77±0.07 ^{abc}	3.60±0.36 ^{abc}	4.11±1.78 ^{bc}	4.58±0.28 ^c
碱性磷酸酶ALP (IU/L)	28.33±26.86	33.67±14.57	37.33±23.12	47.33±53.00	49.67±17.79	26.67±23.76	32.33±14.29
总蛋白TP (g/L)	28.63±1.32 ^{ab}	30.47±2.21 ^{ab}	30.90±3.68 ^{ab}	31.43±2.37 ^{ab}	32.00±3.16 ^{ab}	33.23±2.32 ^b	27.17±1.84 ^a
球蛋白GLB (g/L)	13.73±0.57	14.7±1.42	12.83±2.58	16.10±3.10	15.73±1.83	15.50±1.23	13.47±0.15
白蛋白ALB (g/L)	14.40±0.42 ^{ab}	14.40±0.57 ^{ab}	16.90±1.41 ^{cd}	15.85±0.07 ^{bc}	17.05±0.64 ^{cd}	18.60±0.71 ^d	12.75±0.64 ^a
谷草转氨酶AST (IU/L)	135.33±50.82 ^a	179.67±72.39 ^{ab}	223.67±99.76 ^{ab}	342.33±54.54 ^b	263.00±88.28 ^{ab}	184.00±60.65 ^{ab}	219.00±76.49 ^{ab}
谷丙转氨酶ALT (IU/L)	31.00±13.11 ^a	31.00±3.61 ^a	43.33±12.42 ^{ab}	44.00±24.02 ^{ab}	64.50±0.71 ^b	41.00±14.73 ^{ab}	39.33±10.50 ^{ab}

3.3 低磷饲料中添加AKG对松浦镜鲤血清生化指标的影响

血清Ca、P及ALP活性是反映机体钙磷代谢的重要指标。长时间采食低磷日粮血清磷降低, 较低的磷会引起血清离子钙的含量升高, 而刺激甲状旁腺的分泌, 减少肾脏中磷的排泄。血清中的ALP大部分由成骨细胞产生, 排泄经肝胆系统进行。本试验高浓度AKG组血清磷水平升高, 可能因为添加AKG总磷表观消化率逐渐升高, 磷消化率提高促进磷的吸收。磷含量增加, ALP活性增强, 促进磷代谢^[37]。在本试验条件下, 添加0.8%和1.2%水平AKG, 血清磷浓度、ALP活性均增加, 说明添加AKG可以促进磷代谢作用。

血清ALB和GLB与机体的免疫功能关系密切, 具有多种生理功能, 如运输多种代谢物, 调节被运输物质, 维持酸碱度和血管内正常胶体渗透压等。血清TP水平反映肝脏合成功能和肾脏病变造成蛋白质丢失的重要指标, TP检测可间接了解机体的营养状况。本试验条件下, 添加1.6%AKG显著提高TP含量和ALB含量, 说明添加AKG可以促进蛋白质的合成。

动物体内最主要的2个转氨酶ALT和AST, 主要反映蛋白质代谢利用率, 并在氨基酸代谢方面发挥重要作用。当饲料中蛋白质水平升高时, 氨基酸代谢强度增加, 从而造成转氨酶活性升高^[38]。在本试验中, 与低磷组比, 添加0.8%AKG显著提高AST活性, 添加1.2%AKG显著提高ALT活性, 表明添加AKG有利于促进松浦镜鲤肝脏氨基酸代谢, 提高蛋白质利用率。

4 结论

低磷饲料中添加适量的AKG可以在一定程度上促进松浦镜鲤的生长, 降低饲料系数, 增加鱼体

磷和脊椎骨钙磷含量。过高的AKG添加量不利于生长, 降低脊椎骨钙磷含量。

参考文献:

- [1] NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fish [M]. National Academy Press, Washington, D C. 1993, 334—347
- [2] Chen K, Jiang W D, Wu P, *et al.* Effect of dietary phosphorus deficiency on the growth, immune function and structural integrity of head kidney, spleen and skin in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, **63**: 103—126
- [3] Li J H, Yuan J M, Guo Y M, *et al.* The Influence of dietary calcium and phosphorus imbalance on intestinal NaPi-IIb and Calbindin mRNA expression and tibia parameters of broilers [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS)*, 2012, **25**(4): 552—558
- [4] Wang C F, Tang Q, Duan M M, *et al.* Phosphorus absorption and homeostasis regulation in fish [J]. *Freshwater Fisheries*, 2014, (1): 106—111 [王春芳, 唐琴, 段鸣鸣, 等. 鱼类磷吸收和磷平衡调节的机制及影响因素. 淡水渔业, 2014, (1): 106—111]
- [5] Roy P K. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2003, **221**(1-4): 451—468
- [6] Zhang J Z, Wang L L, Zhou F, *et al.* Dietary Protein Requirement of Juvenile Black Sea Bream, *Sparus macrocephalus* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010, **41**(1): 151—164
- [7] Zhang C X, Mai K S, Ai Q H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2006, **255**(1-4): 201
- [8] Jahan P, Watanabe T, Kiron V, *et al.* Reassessment of phosphorus and nitrogen discharge from commercial carp feeds [J]. *Fisheries Science*, 2003, **69**(1): 117—123
- [9] Xiong W, Shao Q J. Research of phosphorus deficiency pathology in fish [J]. *Feed Industry*, 2009, **30**(22): 49—52 [熊文, 邵庆均. 鱼类磷缺乏的病理研究进展. 饲料

- 料工业杂志, 2009, **30**(22): 49—52]
- [10] Fang R J, Xiang Z F, Cao M H, *et al.* Different phosphate transport in the duodenum and jejunum of chicken response to dietary phosphate adaptation [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2012, **25**(10): 1457—1465
- [11] Bourgeois S, Capuano P, Stange G, *et al.* The phosphate transporter NaPi-IIa determines the rapid renal adaptation to dietary phosphate intake in mouse irrespective of persistently high FGF23 levels [J]. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2013, **465**(11): 1557—1572
- [12] Harrison A P, Pierzynowski S G. Biological effects of 2-oxoglutarate with particular emphasis on the regulation of protein, mineral and lipid absorption/metabolism, muscle performance, kidney function, bone formation and cancerogenesis, all viewed from a healthy ageing perspective state of the art-review article [J]. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 2008, **59**(1): 91—106
- [13] He WH, Miao FJP, Lin DCH, *et al.* Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors [J]. *Nature*, 2004, **429**(6988): 188—193
- [14] Nilsang S, Nehru V, Plieva F M, *et al.* Three-dimensional culture for monoclonal antibody production by hybridoma cells immobilized in macroporous gel particles [J]. *Biotechnology Progress*, 2008, **24**(5): 1122—1131
- [15] Kowalik S, Sliwa E, Tatar M R, *et al.* Influence of alpha-ketoglutarate on mineral density and geometrical and mechanical parameters of femora during postnatal life in piglets [J]. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2005, **49**(1): 107—111
- [16] Tatar M R, Brodzki A, Krupski W, *et al.* Effects of alpha-ketoglutarate on bone homeostasis and plasma amino acids in turkeys [J]. *Poultry Science*, 2005, **84**(10): 1604—1609
- [17] Tatar M R, Silmanowicz P, Majcher P, *et al.* Influence of alpha-ketoglutarate on cortical bone atrophy after denervation of the humerus in turkey [J]. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2005, **49**(1): 113—116
- [18] Tocaj A, Filip R, Lindergard B, *et al.* Alpha-ketoglutarate (AKG) inhibit osteoporosis development in postmenopausal women [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2003, **18**: 267
- [19] Tatar M R, Tygesen M P, Sawa-Wojtanowicz B, *et al.* Bone development: the effect of short-term alpha-ketoglutarate administration on long-term mechanical properties of ribs in ram lambs [J]. *Small Ruminant Research*, 2007, **67**(2-3): 179—183
- [20] Filip R, Raszewski G. Bone mineral density and bone turnover in relation to serum leptin, alpha-ketoglutarate and sex steroids in overweight and obese postmenopausal women [J]. *Clinical Endocrinology*, 2009, **70**(2): 214—220
- [21] Xiao D, Zeng L, Yao K, *et al.* The glutamine-alpha-ketoglutarate (AKG) metabolism and its nutritional implications [J]. *Amino Acids*, 2016, **48**(9): 2067—2080
- [22] Kristensen N B, Jungvid H, Fernández J A, *et al.* Absorption and metabolism of a-ketoglutarate in growing pigs [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2002, **86**(7-8): 239—245
- [23] Chen J S, Wu F, Duan Y H, *et al.* Effects of Dietary a-Ketoglutarate Supplementation on Nitrogen and Calcium & Phosphorus Metabolism of Growing Pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, **28**(7): 2154—2161 [陈家顺, 吴飞, 段叶辉, 等. 饲料添加 α -酮戊二酸对生长猪氮及钙、磷代谢的影响. 动物营养学报, 2016, **28**(7): 2154—2161]
- [24] China Feed Ingredients and Nutritional Value Table (20th Edition, 2016) (Continued) [J]. *Feed China*, 2016, (22): 37—42 [中国饲料成分及营养价值表(2016年第27版)(续). 中国饲料, 2016, (22): 37—42]
- [25] Yu L Y, Sun H M, Du C, *et al.* The Impact of Polyglutamic Acid on Calcium Absorption in Mice [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2014, **29**(A1): 202—205 [玉蕾叶, 孙洪敏, 杜朝, 等. 聚谷氨酸对小鼠钙吸收的影响. 华北农学报, 2014, **29**(A1): 202—205]
- [26] Kim J D, Kim K S, Song J S, *et al.* Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and phosphorus excretion of mirror carp, *Cyprinus carpio* [J]. *Aquaculture*, 1998, **161**(1-4): 337—344
- [27] Hou Y Q, Wang L, Ding B Y, *et al.* Dietary alpha-ketoglutarate supplementation ameliorates intestinal injury in lipopolysaccharide-challenged piglets [J]. *Amino Acids*, 2010, **39**(2): 555—564
- [28] Hou Y, Wang L, Ding B, *et al.* Alpha-ketoglutarate and intestinal function [J]. *Front Biosci Landmark*, 2011, **16**: 1186—1196
- [29] Burrin D G, Stoll B. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2009, **90**(3): 850—856
- [30] Li J N, Wei Y Q, Xu Q Y, *et al.* Effects of a-ketoglutarate supplementation on intestinal morphology and function of Songpu mirror carp (*Cyprinus carpio* Songpu) [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2016, **29**(4): 43—47 [李晋南, 魏玉强, 徐奇友, 等. α -酮戊二酸对松浦镜鲤肠道形态与功能的影响. 水产学杂志, 2016, **29**(4): 43—47]
- [31] Yang Y Z, Liu X Q, Dong X H, *et al.* Effects of feed phosphorus levels on the growth, body composition and biochemical indexes of juvenile cobia [J]. *Guangdong Feed*, 2016, (8): 24—28 [杨原志, 刘仙钦, 董晓慧, 等. 饲料磷水平对军曹鱼幼鱼生长、体成分以及生化指标的影响. 广东饲料, 2016, (8): 24—28]
- [32] Wei Y Y, Xu Q Y, Li J N, *et al.* Effects of α -ketoglutarate supplementation in different protein level diets on growth performance, body composition and serum bio-

- chemical indices of songpu mirror carp [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, **25**(21): 2958—2965 [位莹莹, 徐奇友, 李晋南, 等. 不同蛋白质水平饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响. *动物营养学报*, 2013, **25**(21): 2958—2965]
- [33] Wei Y Q, Xu Q Y, Wei Y Y, *et al.* Effect of α -ketoglutarate supplementation in different protein sources of diets on muscle composition, serum amino acids and biochemical indices of Songpu mirror carp [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2015, **46**(1): 94—100 [魏玉强, 徐奇友, 位莹莹, 等. 不同蛋白源饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤肌肉成分、血清氨基酸和生化指标的影响. *东北农业大学学报*, 2015, **46**(1): 94—100]
- [34] Wang J, Wang D, He J P, *et al.* Effect of Oral Calcium Intake on Ca/P Metabolism in Gansu Zokor [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2010, **45**(4): 46—51 [王剑, 王栋, 何建平, 等. 口服补钙对甘肃鼯鼠钙磷代谢的影响. *动物学杂志*, 2010, **45**(4): 46—51]
- [35] Harrison A P, Tygesen M P, Sawa-Wojtanowicz B, *et al.* α -ketoglutarate treatment early in postnatal life improves bone density in lambs at slaughter [J]. *Bone*, 2004, **35**(1): 204—209
- [36] Andersen, N K, Tataru M R, Krupski, W, *et al.* The long-term effect of α -ketoglutarate, given early in postnatal life, on both growth and various bone parameters in pigs [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2008, **92**(5): 519—528
- [37] Zheng Q S, Zhang W L, Xu Q Y, *et al.* The Influence on plasma biochemical parameters of yalng Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) by different levels of phosphorus [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2009, **22**(1): 38—41 [郑秋珊, 张文璐, 徐奇友, 等. 饲料中不同水平磷对西伯利亚幼鲟(*Acipenser baeri*)血浆生化指标的影响. *水产学杂志*, 2009, **22**(1): 38—41]
- [38] Abdel-Tawwab M, Ahmad M H, Khattab Y A, *et al.* Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. [J]. *Aquaculture*, 2010, **298**(3-4): 267—274

EFFECTS OF α -KETOGLUTARATE SUPPLEMENTATION IN LOW-PHOSPHOROUS DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, BODY COMPOSITION AND SERUM BIOCHEMICAL INDEXES OF SONGPU MIRROR CARP

AI Feng^{1,2}, WANG Lian-Sheng², LI Jin-Nan², WANG Chang-An², ZHAO Zhi-Gang², LUO Liang²,
DU Xue² and XU Qi-You²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: To study the effects of α -ketoglutarate (AKG) supplementation in low-phosphorous diets on growth performance, body composition and serum biochemical indexes of Songpu mirror carp, triplicate groups of Songpu mirror carp (6.67 ± 0.84) g were fed with practical diets containing available P (AP) 0.73% (normal P) and 0.47% (low-P) with graded levels of 0, 0.4%, 0.8%, 1.2%, 1.6% and 2.0% of AKG to satiation for 8 weeks, respectively. The results showed that the feed coefficient (*FCR*) of the low phosphorus group was significantly higher than that of the normal phosphorus group ($P < 0.05$), but the weight gain rate (*WGR*), specific growth rate (*SGR*), protein efficiency (*PER*), *VSI*, and *CF* were similar between normal P and Low-P groups ($P < 0.05$). Compared with low P group, *FCR* of 0.4% AKG group and the levels of phosphorus and albumin (ALB) in 1.6% AKG group in normal P group were significantly increased ($P < 0.05$), respectively. Compared with normal P group, ALT activity of the 0.8% AKG and AST activity of the 1.6% AKG in the low P group were significantly increased, respectively ($P < 0.05$). AKG had no effect on serum other indexes ($P > 0.05$). Compared with the normal phosphorus group, the content of crude ash and the deposition rate of calcium and phosphorus in the low phosphorus group decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with the low phosphorus group, the phosphorus deposition rate and bone calcium content of 0.4% AKG and bone phosphorus content of 0.8% AKG in normal P group increased significantly, respectively ($P < 0.05$). Adding AKG in low phosphorus diet had no significant effect on other body composition indexes ($P > 0.05$). Thus, the suitable supplementation of AKG in the low phosphorus diets can reduce the *FCR* and improve the content of calcium and phosphorus in bone of Songpu mirror carp.

Key words: Phosphorus; AKG; Carp; Growth performance; Serum biochemical index; Body composition