

DOI: 10.3969/j.issn.1004-6755.2018.07.001

饲料中精氨酸水平对大菱鲆幼鱼生长、血浆游离氨基酸和肠道形态的影响

高中月,王旋,何良

(中国海洋大学农业部水产动物营养与饲料重点实验室,山东青岛266003)

摘要:为研究在饲料中添加不同水平的精氨酸对大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)幼鱼生长、血浆游离氨基酸和肠道组织结构的影响,以酪蛋白和明胶为蛋白源设计三组等氮等脂的纯化饲料,在基础配方中分别添加0%、2%、4%的晶体L-精氨酸,分别命名为LA、MA和HA处理组,用上述3种试验饲料分别饲喂初始体重为(13.30±0.01)g的大菱鲆幼鱼8周。结果显示,精氨酸不足(LA)和精氨酸过量(MA)都显著降低了鱼体的生长性能($P<0.05$)。随着饲料中精氨酸的添加量提高,血浆游离精氨酸浓度显著升高($P<0.05$)。精氨酸缺乏还造成了血浆游离蛋氨酸和苏氨酸浓度的下降,而丝氨酸和甘氨酸浓度升高($P<0.05$)。此外,精氨酸缺乏造成了肠道褶皱、上皮细胞和微绒毛高度的降低($P<0.05$)。这些结果表明精氨酸在大菱鲆的生长、氨基酸代谢和肠道健康上发挥着重要的作用。

关键词:精氨酸;生长;血浆游离氨基酸;肠道形态;大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)

精氨酸是鱼类的必需氨基酸之一,在蛋白质的合成和代谢方面都发挥着重要的作用。精氨酸也是肌酸、多胺、一氧化氮(NO)等多种生物活性物质的前体,具有调节鱼体的能量代谢、免疫反应和内分泌等多种生理功能^[1-2]。大量的研究表明精氨酸缺乏会造成哺乳动物、家禽、鱼类的生长缓慢、饲料利用下降、肠道损伤、氧化损伤等问题^[3-5]。

肠道是水产动物重要的营养和免疫器官,是氨基酸末端消化吸收和代谢的主要场所^[6]。在哺乳动物和细胞水平上的研究表明精氨酸在维持肠道健康、预防肠道疾病和修复肠道损伤方面发挥着重要的作用^[7-9]。然而,对于自身不能合成精氨酸或合成精氨酸能力很弱的鱼类,精氨酸对鱼类肠道影响的研究却非常有限。

大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)在我国俗称“多宝鱼”,是一种我国北方广泛养殖的海水底栖肉食性鱼类。大菱鲆的人工养殖高度依赖于人工配合饲料的质量,营养物质的缺乏或不平衡

容易造成大菱鲆的肠道损伤,从而影响鱼体的生长和品质。因此,本实验通过设计不同精氨酸水平的饲料,研究其对大菱鲆幼鱼的生长性能、血浆游离氨基酸和肠道组织结构的影响。为保证研究目的,实验饲料以纯化饲料为基础以避免其他因子可能造成的影响。

1 材料和方法

1.1 饲料配方和饲料制作

以Wang^[10]的实验饲料配方为参考,设计三组等氮(52%粗蛋白)等脂(12.5%粗脂肪)的纯化饲料。按照大菱鲆幼鱼鱼体氨基酸组成添加除精氨酸以外的其他晶体氨基酸,设计出精氨酸缺乏的基础配方^[11]。然后在基础配方中分别添加0%、2%、4%的晶体L-精氨酸(纯度>99%,青岛福林生物科技有限公司),分别命名为LA、MA和HA处理组,具体实验配方见表1。饲料精氨酸的实测值为LA(1.50%)、MA(3.46%)、HA(5.45%),实验饲料氨基酸组成见表2。

基金项目:本项目获得海水鱼体系CARS-47-G10及公益性行业科研专项(201303053)的支持。

作者简介:高中月(1992-),男,硕士生,研究方向:水产动物营养与饲料。E-mail:1468397139@qq.com。

通讯作者:何良(1975-),男,教授,博士生导师,研究方向:水产动物营养学。E-mail:hegen@ouc.edu.cn。

表1 实验饲料配方和主要营养成分(%干物质)

原料	饲料		
	LA	MA	HA
酪蛋白 ¹	32.00	32.00	32.00
明胶 ²	8.00	8.00	8.00
晶体氨基酸 ³	9.08	9.08	9.08
鱼油	10.00	10.00	10.00
大豆磷脂	2.50	2.50	2.50
糊精	27.27	27.27	27.27
多维	2.00	2.00	2.00
多矿 ⁵	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙	2.50	2.50	2.50
复合诱食剂 ⁶	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱	0.50	0.50	0.50
丙酸钙	0.10	0.10	0.10
乙氧基喹啉	0.05	0.05	0.05
精氨酸 ⁷	0.00	2.00	4.00
甘氨酸	4.00	2.00	0.00
近似组成			
粗蛋白	52.15	52.56	52.93
粗脂肪	12.45	12.49	12.42

¹酪蛋白:(七好生物科技有限公司,山东,中国)粗蛋白93.69%。

²明胶:(福林生物科技有限公司,山东,中国)粗蛋白99.95%。

³晶体氨基酸(g/100g饲料):根据大菱鲂幼鱼鱼体氨基酸组成添加,精氨酸1.69,组氨酸0.55,亮氨酸0.22,异亮氨酸0.14,赖氨酸0.73,苯丙氨酸0.50,苏氨酸0.61,缬氨酸0.13,丙氨酸1.32,天门冬氨酸1.63,甘氨酸1.62,丝氨酸0.42,半胱氨酸0.40,酪氨酸0.10。

⁴维生素预混料(mg/kg饲料):维生素A,32;维生素D₃,5;维生素E,240;维生素K,10;维生素B₁,25;维生素B₂,45;维生素B₆,20;维生素B₁₂,10;泛酸钙,60;烟酸,200;叶酸,20;生物素,60;肌醇,800;维生素磷酸酯,2000;微晶纤维素,16473

⁵矿物质预混料(mg/kg饲料):MgSO₄·7H₂O,1200;CuSO₄·5H₂O,10;FeSO₄·7H₂O,80;ZnSO₄·H₂O,50;MnSO₄·H₂O,45;CoCl₂,5;Na₂SeO₃,20;碘酸钙,60;沸石粉,8485

⁶复合诱食剂:甜菜碱:二甲基-丙酸噻亭:甘氨酸:丙氨酸:5-磷酸肌苷=4:2:2:1

⁷精氨酸:(福林生物科技有限公司,山东,中国)L-精氨酸,纯度99.8%

表2 实验饲料氨基酸组成(%干物质)

氨基酸	LA	MA	HA
必需氨基酸 EAA			
蛋氨酸	1.67	1.69	1.66
异亮氨酸	1.68	1.69	1.67
亮氨酸	2.89	2.88	2.83
苯丙氨酸	2.08	2.07	2.04
赖氨酸	3.42	3.37	3.43
组氨酸	1.31	1.28	1.32
精氨酸	1.50	3.46	5.45
苏氨酸	2.25	2.19	2.20
缬氨酸	2.05	2.08	2.07
非必需氨基酸 NEAA			
天门冬氨酸	3.79	3.81	3.82
丝氨酸	2.20	2.18	2.16
谷氨酸	7.72	7.66	7.52
甘氨酸	6.59	5.55	4.56
丙氨酸	2.80	2.79	2.76
半胱氨酸	0.35	0.38	0.39
酪氨酸	1.50	1.52	1.52

饲料制作前,饲料原料经超微粉碎机粉碎并过320 μm筛。然后按照饲料配方将各种饲料原料准确称量并充分混合。然后再加入适量的蒸馏水并用手充分揉匀。最后将混合好的饲料原料放入自动制粒机中制成大小均匀的饲料颗粒,将饲料颗粒在50℃恒温下热风干燥8h,将风干后的饲料置于双层塑料袋中,并保存在-20℃冰箱中。

1.2 实验过程和饲养管理

实验用大菱鲂幼鱼是从山东省莱州市大菱鲂种苗场购买的当年人工培育的同一批苗种。养殖实验在青岛亿海丰水产有限公司养殖系统中进行。实验开始之前,用MA处理组饲料暂养大菱鲂幼鱼2周,以使大菱鲂幼鱼适应养殖系统环境和纯化饲料。暂养结束后将实验鱼禁食24h,挑选规格均一、体格健壮的大菱鲂幼鱼(初始平均体重:13.30±0.01g),并随机分配于9个养殖桶(300L),每桶30尾。

养殖实验周期为8周,每天按照大菱鲂体重的1.5%定量投喂两次(8:00和18:00),饲喂量每两周根据每桶的鱼体总重调整一次。摄食结束后进行换水以保证水质。养殖试验期间,水温保持在18~22℃,盐度29‰~32‰,氨氮小于0.1 mg/L,亚硝酸盐小于0.1 mg/L,溶解氧含量大于7 mg/L。

1.3 样品采集

养殖实验结束后,实验鱼被禁食24 h以达到基础的新陈代谢水平。取样前将试验鱼用丁香酚(纯度99%,1:10 000)麻醉,然后分别统计每桶鱼的重量和数量并随机选取5尾鱼用于鱼体常规成分分析。每桶随机选取2尾鱼,分别测量其鱼体重量、鱼体长度、内脏团重量、肝脏重量并记录数据。每桶随机选择3尾鱼,用注射器从鱼的尾静脉取出血液并将其放入抗凝管中,然后将血液在4℃3 000 g下离心5 min,将离出的上清液收集在离心管中并储存在-80℃冰箱备用。每桶再随机选择2尾鱼用于肠道组织学分析取样,选取后肠中间部分(约0.5 cm长)放入事先配好的波恩氏液中,24 h后转入70%酒精中直到进行肠道组织分析。

1.4 鱼体和饲料常规组成分析

鱼体和饲料常规成分分析均采用AOAC制定的方法。其中水分的测定采用105℃烘箱烘干至恒重的方法求得;粗蛋白质含量采用全自动凯氏定氮仪(Kjeltec 8400,瑞典FOSS)测定;粗脂肪含量采用索氏抽提仪(Soxtec 8000,瑞典FOSS)测定。

1.5 原料和饲料氨基酸组成分析

将饲料原料和饲料用冷冻干燥机冻干(ALPHA1-2 LD plus,德国Christ),随后在水解管中加入20~40 mg样品(准确称量),然后加入10 mL 6 M HCl,用氮吹仪排出水解管中的空气后将其密封,在110℃条件下水解22 h。将水解好的样品用50 mL的容量瓶定容并充分混合,然后准确吸出1 mL转入到离心管里,用氮吹仪将离心管里的液体吹干后加入1 mL 0.02 M HCl并充分溶解。最后,溶液用0.2 μm滤膜过滤并导入到进样瓶里,使用配备钠离子交换柱的全自动氨基酸检测仪(L-8900,日本HITACHI)检测氨基酸含量。

1.6 血浆游离氨基酸分析

将冷冻的血浆样品在4℃下解冻,解冻后将每个样品准确吸取400 μL加入1.2 mL 10%磺基水杨酸并充分混合,静止5 min后,13 000 r/min 4℃离心15 min,然后吸取上清液1 mL左右并用0.2 μm滤膜过滤到进样瓶中,使用配备锂离子交换柱的全自动氨基酸检测仪(L-8900,日本HITACHI)检测游离氨基酸含量。

1.7 肠道组织学分析

后肠组织样品经过波恩氏液固定、乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片机切片(5 μm)、苏木精-伊红染色制成肠道组织切片。在带有拍照系统的光学显微镜下(Olympus, CX31)用AJ-VERT软件统计后肠褶皱高度(HF)、肠上皮细胞高度(HE)和微绒毛长(HMV)。

1.8 计算公式和统计方法

存活率(SR,%) = $100 \times \text{鱼终末数量} / \text{鱼初始数量}$

增重率(WGR,%) = $100 \times (\text{鱼终末体重} - \text{鱼初始体重}) / \text{鱼初始体重}$

特定生长率(SGR,%/d) = $100 \times (\ln \text{鱼终末体重} - \ln \text{鱼初始体重}) / \text{养殖天数}$

饲料效率(FE) = $\text{鱼体湿增重} / \text{摄食饲料量}$

蛋白质效率(PER) = $\text{鱼体湿增重} / \text{摄食蛋白量}$

肥满度(%) = $100 \times \text{鱼体重} / \text{鱼体长}^3$

肝体比(HSI,%) = $100 \times \text{肝脏重} / \text{鱼体重}$

脏体比(VSI,%) = $100 \times \text{内脏团重} / \text{鱼体重}$

试验数据用平均值±标准误(M±SE)表示,采用SPSS 17.0版软件对所得数据进行数据分析和统计,先对数据作单因子方差分析(ANOVA),若处理间有显著差异,再作Tukey's多重比较, $P < 0.05$ 表示差异性显著。

2 结果

2.1 生长性能和饲料利用

饲料中精氨酸水平对大菱鲂幼鱼生长性能和饲料利用的影响如表3所示。所有大菱鲂幼鱼在养殖期间均未出现死亡。然而,与MA组相比,精氨酸缺乏(LA组)显著降低了鱼体的终末体重(FBW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饲料效率(FER)和蛋白质效率(PER)($P < 0.05$)。

另外,与 MA 组相比,饲料中过量的精氨酸水平(HM 组)也造成了鱼体的终末体重(FBW)、增重率(WGR)和特定生长率(SGR)的降低($P < 0.05$)。

表3 饲料精氨酸水平对大菱鲂生长和饲料利用的影响

	LA	MA	HA
初始体重(g)	13.30±0.01	13.30±0.01	13.30±0.01
终末体重(g)	51.79±0.50 ^a	58.80±0.62 ^c	56.17±0.67 ^b
成活率(%)	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
增重率(%)	289.41±3.74 ^a	342.10±4.66 ^c	322.30±5.02 ^b
特定生长率(%/d)	2.43±0.02 ^a	2.66±0.02 ^c	2.57±0.02 ^b
饲料效率	1.32±0.01 ^a	1.44±0.01 ^b	1.40±0.01 ^b
蛋白质效率(%)	2.40±0.02 ^a	2.60±0.01 ^b	2.55±0.01 ^b

注:数据表示方式为平均值±标准误(n=3)。同一行中具有不同上标字母的数值间具有显著性差异($P < 0.05$)。以下各表同。

2.2 形态指标和鱼体组成

饲料中精氨酸水平对大菱鲂幼鱼形态指标和鱼体组成的影响如表4所示。饲料中精氨酸水平的改变并没有引起大菱鲂肥满度(CF)、肝体比

(HSD)、脏体比(VSI)的显著性变化($P > 0.05$)。然而,与 LA 组和 MA 组相比,HA 组的鱼体水分显著提高,粗脂肪显著降低($P < 0.05$)。

表4 饲料精氨酸水平对大菱鲂体组成体状况指数的影响

	LA	MA	HA
水分(%)	77.49±0.15 ^a	77.54±0.16 ^a	78.24±0.12 ^b
粗蛋白(%)	14.88±0.11	15.11±0.15	15.15±0.07
粗脂肪(%)	4.31±0.15 ^b	4.09±0.07 ^b	3.34±0.09 ^a
肥满度 CF (%)	3.17±0.12	3.54±0.14	3.32±0.10
肝体比 HSI (%)	1.19±0.07	1.24±0.02	1.09±0.09
脏体比 VSI (%)	4.45±0.38	4.73±0.18	4.80±0.22

2.3 血浆游离氨基酸

饲料中精氨酸水平对大菱鲂幼鱼血浆游离氨基酸的影响如表5所示。在必需氨基酸方面,LA 组血浆游离精氨酸显著低于 MA 组($P < 0.05$),HA 组血浆游离精氨酸显著高于 MA 组($P < 0.05$)。另外,LA 组血浆游离蛋氨酸和苏氨酸显著低于 MA 组($P < 0.05$)。在非必需氨基酸方面,与 MA 组相比,HA 组血浆游离天门冬氨酸、丝氨酸和甘氨酸显著降低,LA 组的血

浆游离丝氨酸显著升高($P < 0.05$)。

2.4 肠道组织形态

饲料中精氨酸水平对大菱鲂幼鱼肠道组织形态的影响如图1所示,组织学参数如表6所示。LA 组的肠道褶皱高度(HF)和肠道微绒毛高度(HMV)显著低于 MA 组($P < 0.05$)。MA 组的肠上皮细胞高度(HE)显著低于 MA 组和 HA 组($P < 0.05$)。HA 组与 MA 组在肠道组织学指标没有显著性差异($P > 0.05$)。

表5 饲料精氨酸水平对大菱鲆血浆游离氨基酸的影响($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

	LA	MA	HA
必需氨基酸 EAA			
蛋氨酸	34.35±2.29 ^a	44.50±1.60 ^b	37.31±2.86 ^{ab}
苏氨酸	10.83±0.57 ^a	15.55±1.49 ^b	12.48±0.75 ^{ab}
缬氨酸	16.23±1.33	14.9±0.81	13.55±1.52
异亮氨酸	7.11±0.25	6.56±1.07	6.37±0.47
亮氨酸	13.39±0.91	12.01±1.70	12.19±0.93
苯丙氨酸	9.13±0.32	9.75±1.77	6.72±0.89
赖氨酸	7.29±0.82	6.96±0.66	7.10±0.58
组氨酸	8.15±0.23	8.82±0.54	8.54±0.71
精氨酸	3.24±0.27 ^a	6.29±0.07 ^b	9.72±0.87 ^c
非必需氨基酸 NEAA			
天门冬氨酸	5.43±0.33 ^{ab}	7.05±0.36 ^b	4.75±0.45 ^a
丝氨酸	59.97±2.33 ^a	34.24±7.02 ^b	15.79±0.62 ^b
谷氨酸	3.00±0.08	3.62±0.15	3.20±0.28
甘氨酸	22.20±0.74 ^a	22.74±2.45 ^a	11.99±0.79 ^b
丙氨酸	31.27±0.69	33.82±3.01	28.75±1.97
半胱氨酸	3.23±0.22	3.09±0.20	3.00±0.09

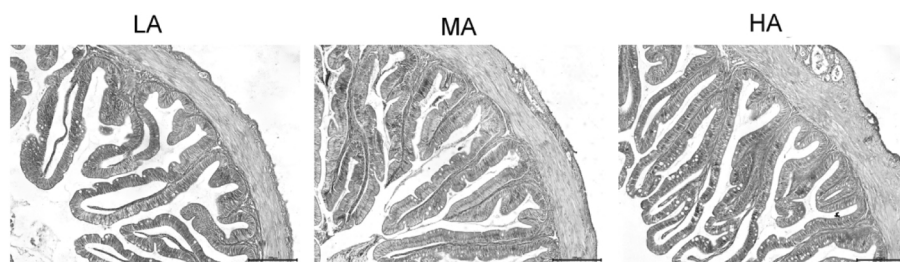
图1 苏木精-伊红染色肠道组织切片,比例尺为200 μm

表6 饲料精氨酸水平对大菱鲆肠道形态的影响

	LA	MA	HA
绒毛高度(HV) (μm)	820.72±35.87 ^a	985.36±15.64 ^b	909.77±33.26 ^{ab}
上皮细胞高度(HE) (μm)	34.88±1.78 ^a	43.62±1.97 ^b	43.83±2.12 ^b
微绒毛高度(μm)	2.74±0.10 ^a	3.30±0.08 ^b	3.00±0.05 ^{ab}

3 讨论

大菱鲆幼鱼对精氨酸的需求量的研究表明,以特定生长率为判定指标大菱鲆幼鱼对饲料中精氨酸的适宜需要量为饲料干重的3.13%^[12]。我们以此为依据在饲料中设计了三种精氨酸添加水

平,分别为精氨酸缺乏的LA饲料,精氨酸适宜的MA饲料和精氨酸过量的HA饲料。经过八周的养殖实验,我们测定了饲料中精氨酸水平对大菱鲆生产性能和饲料利用的影响。结果显示,精氨酸缺乏显著降低了大菱鲆鱼体末重(FBW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饲料效率

(FER)和蛋白质效率(PER)。在饲料中添加适量的晶体精氨酸,鱼体的生长和饲料利用情况显著改善。然而,当饲料中精氨酸过量时,鱼体的生长受到抑制。此类现象还出现在其他多种鱼类上,如团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[13]、牙鲮(*Paralichthys olivaceus*)^[14]、金昌鱼(*Trachinotus ovatus*)^[7]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[15]和青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)^[16]。这些结果表明精氨酸在大菱鲆幼鱼的生长和营养利用上发挥着重要作用,在饲料中适量地补充晶体氨基酸有利于大菱鲆的生长和饲料利用。

另外,饲料中精氨酸水平也影响鱼体组成。饲喂 HA 饲料的鱼体表现为较低的粗脂肪含量。相似的结果也出现在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[17]和黑鲷(*Sparus macrocephalus*)^[18]上。精氨酸降低鱼体脂肪含量的作用可能与精氨酸的重要代谢产物一氧化氮(NO)有关。在哺乳动物上的研究发现 NO 有调节脂肪和葡萄糖代谢的作用,NO 可以促进长链脂肪酸氧化,抑制脂肪合成和糖异生,激活 AMPK 通路^[19-21]。在猪和鸡的研究中也表明,精氨酸有降低体脂肪的作用^[22-23]。

血浆游离氨基酸是动物蛋白质分解与氨基酸利用动态的中间形式,血浆各游离氨基酸的含量能够反映机体氨基酸代谢的概况。本研究中,血浆精氨酸的浓度随着饲料中精氨酸的添加显著性提高,这与在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[17]和罗非鱼(*Oreochromis* sp)^[24]上的研究结果相一致。精氨酸在动物体内有多种代谢途径,能够产生 NO、鸟氨酸、尿素、多胺、肌酸、谷氨酰胺等多种代谢产物,这些代谢产物在鱼体新陈代谢上都发挥着重要的作用^[1]。因此,血浆中游离精氨酸浓度的改变必然伴随着精氨酸代谢的改变,从而影响这个血浆氨基酸库的变化。对于其他必需氨基酸,饲料中精氨酸的缺乏引起了血浆蛋氨酸浓度的降低,相似的结果也出现在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)上^[17]。这可能与精氨酸的代谢产物肌酸相关。肌酸是重要的能量代谢分子,其主要功能是促进 ATP 的循环^[25]。蛋氨酸提供的甲基是精氨酸代谢生产肌酸必不可少的条件,因此肌酸的生物合成可以一定程度上调控蛋氨酸的代谢反应^[25]。另外,饲料中精氨酸

缺乏还导致了血浆苏氨酸浓度的降低,苏氨酸在提高鱼类免疫作用,调节脂肪代谢,维持肠道状态方面都发挥着重要的作用。然而,精氨酸与苏氨酸在代谢上的相互作用还需进一步研究。

肠道是鱼体重要的营养器官和免疫器官,并负责氨基酸的消化、吸收、代谢^[6]。大量的研究结果表明植物蛋白替代鱼粉会造成肠道绒毛破坏和肠道黏膜病变^[26]。然而,作为植物蛋白源的一个主要限制因素,氨基酸不平衡对鱼类肠道形态的影响却非常有限。本研究中我们分析了饲料中不同精氨酸水平对大菱鲆后肠形态结构的影响,结果显示精氨酸缺乏显著降低了大菱鲆后肠的肠道褶皱、上皮细胞和微绒毛的高度。这说明精氨酸与肠道上皮的生长密切相关,精氨酸缺乏影响了肠道的消化吸收能力。在杂交条纹鲈(*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*)上也有相似的结果^[27]。另外,Chen^[28]的研究发现饲料中添加适量精氨酸可以缓解大菱鲆由于饲喂豆粕所引起的肠道炎症。在哺乳动物上的研究显示精氨酸可以通过 NO 途径和非 NO 途径作用于肠道发挥保护肠道的作用^[8]。精氨酸的一条代谢途径是在精氨酸酶的作用下分解为鸟氨酸和尿素,鸟氨酸是合成多胺类物质(腐胺、尸胺、精胺等)的前体,多胺有着重要的生理功能,在肠道细胞生长、增殖和分化上发挥着重要作用^[29]。精氨酸另一条代谢途径是在一氧化氮合成酶(NOS)作用下生成瓜氨酸和 NO。研究表明 NO 有调节肠粘膜屏障完整性的作用^[30]。

4 结论

综上所述,当前研究表明饲料中精氨酸缺乏或过量都会抑制大菱鲆幼鱼的生长。不同的精氨酸摄入量不仅影响血浆游离精氨酸浓度还会引起多种氨基酸代谢反应,从而影响整个血浆游离氨基酸库。另外,精氨酸与肠道上皮的生长密切相关,精氨酸缺乏影响了肠道的消化吸收能力。本实验说明精氨酸在大菱鲆营养生理和肠道健康上发挥着重要作用,并且为探索精氨酸在硬骨鱼上的功能提供了新的线索。

参考文献:

- [1] Wu G, Bazer F W, Davis T A, et al. Arginine metabolism

- and nutrition in growth, health and disease[J]. *Amino acids*, 2009, 37(1): 153-168.
- [2] Evoy D, Lieberman M D, Fahey T J, et al. Immunonutrition: the role of arginine[J]. *Nutrition*, 1998, 14(7): 611-617.
- [3] Kim S W, McPherson R L, Wu G. Dietary arginine supplementation enhances the growth of milk-fed young pigs[J]. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134(3): 625-630.
- [4] Tan J, Applegate T J, Liu S, et al. Supplemental dietary L-arginine attenuates intestinal mucosal disruption during a coccidial vaccine challenge in broiler chickens[J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, 112(7): 1098-1109.
- [5] Cheng Z, Buentello A, Gatlin III D M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*[J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1-2): 247-252.
- [6] Wu G. Intestinal mucosal amino acid catabolism[J]. *Journal of Nutrition*, 1998, 128(8): 1249.
- [7] Liu Y, Huang J, Hou Y, et al. Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs [J]. *British Journal of Nutrition*, 2008, 100(3): 552-560.
- [8] Tan B, Yin Y, Kong X, et al. L-Arginine stimulates proliferation and prevents endotoxin-induced death of intestinal cells[J]. *Amino acids*, 2010, 38(4): 1227-1235.
- [9] Sukhotnik I, Helou H, Mogilner J, et al. Oral arginine improves intestinal recovery following ischemia-reperfusion injury in rat[J]. *Pediatric surgery international*, 2005, 21(3): 191-196.
- [10] Wang Q, He G, Wang X, et al. Dietary sulfur amino acid modulations of taurine biosynthesis in juvenile turbot (*Psetta maxima*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 422: 141-145.
- [11] Kaushik, Sadasivam J. Whole body amino acid composition of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), gilthead seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Psetta maxima*) with an estimation of their IAA requirement profiles[J]. *Aquatic Living Resources*, 1998, 11(5): 355-358.
- [12] 魏玉婷. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼对饲料中蛋氨酸、精氨酸、维生素A及维生素E需求量的研究[D]. 中国海洋大学, 2010.
- [13] Ren M, Liao Y, Xie J, et al. Dietary arginine requirement of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* [J]. *Aquaculture*, 2013, 414(2): 229-234.
- [14] Alam M S, Teshima S-i, Koshio S, et al. Arginine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters[J]. *Aquaculture*, 2002, 205(1-2): 127-140.
- [15] Zhou Q, Jin M, Elmada Z C, et al. Growth, immune response and resistance to *Aeromonas hydrophila* of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*, fed diets with different arginine levels [J]. *Aquaculture*, 2015, 437: 84-91.
- [16] Zhou Q-C, Zeng W-P, Wang H-L, et al. Dietary arginine requirement of juvenile yellow grouper *Epinephelus awoara*[J]. *Aquaculture*, 2012, 350: 175-182.
- [17] Liang H, Ren M, Habte-Tsion H-M, et al. Dietary arginine affects growth performance, plasma amino acid contents and gene expressions of the TOR signaling pathway in juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* [J]. *Aquaculture*, 2016, 461: 1-8.
- [18] Zhou F, Xiong W, Xiao J X, et al. Optimum arginine requirement of juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(10)
- [19] Jobgen W S, Fried S K, Fu W J, et al. Regulatory role for the arginine - nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates [J]. *The Journal of nutritional biochemistry*, 2006, 17(9): 571-588.
- [20] de Castro Barbosa T, Jiang L Q, Zierath J R, et al. L-Arginine enhances glucose and lipid metabolism in rat L6 myotubes via the NO/c-GMP pathway[J]. *Metabolism-Clinical and Experimental*, 2013, 62(1): 79-89.
- [21] Tan B, Li X, Yin Y, et al. Regulatory roles for L-arginine in reducing white adipose tissue[J]. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 2012, 17: 2237.
- [22] Tan B, Yin Y, Liu Z, et al. Dietary L-arginine supplementation increases muscle gain and reduces body fat mass in growing-finishing pigs[J]. *Amino acids*, 2009, 37(1): 169-175.
- [23] Fouad A, El-Senousey H, Yang X, et al. Dietary L-arginine supplementation reduces abdominal fat content by modulating lipid metabolism in broiler chickens[J]. *Animal*, 2013, 7(8): 1239-1245.
- [24] Pereira R, Rosa P, Gatlin III D. Glutamine and arginine in diets for Nile tilapia: Effects on growth, innate immune responses, plasma amino acid profiles and whole-body composition[J]. *Aquaculture*, 2017, 473: 135-144.
- [25] Wyss M, Kaddurahdaouk R. Creatine and creatinine metabolism[J]. *Physiological Reviews*, 2000, 80(3): 1107.
- [26] Gu M, Bai N, Zhang Y, et al. Soybean meal induces enteritis in turbot *Scophthalmus maximus* at high supplementation levels[J]. *Aquaculture*, 2016, 464: 286-295.
- [27] Cheng Z, Gatlin III D M, Buentello A. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) [J]. *Aquaculture*, 2012, 362: 39-43.
- [28] Chen Z, Liu Y, Li Y, et al. Dietary arginine supplementation mitigates the soybean meal induced enteropathy in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L [J]. *Aquaculture Research*

(下转第23页)

的两性生殖对育苗生产工作是极为不利的,产生的休眠卵必须经过7~10 d休眠,在条件适宜情况下才能孵化,耽误育苗生产使用;而单性生殖在适宜条件下,经10 d培养,轮虫可由原来的1个/mL增殖到1 500~2 000个/mL,保障了育苗生产中的正常使用量,因而要始终保持轮虫处于稳定、适宜的繁殖条件下,以提高轮虫的增殖率。

2.5 控制温度

在轮虫繁殖适宜温度范围之内,利用温度控制其个体大小,以便于供应不同大小个体的饵料,用于投喂不同大小个体的幼体。

温度对褶皱臂尾轮虫的体型变异有显著作用。轮虫繁殖适宜温度是25~40℃,个体随温度增高逐渐变小,超过30℃时,轮虫个体明显变小。育苗生产过程中可以通过温度的调整改变轮虫个

体的大小,满足生产中的不同需求。

2.6 合理投喂,适时收获

轮虫只有10 d左右的寿命,要及时收获并及时用于投喂,保证轮虫在利用时具有最丰富的营养成分。

参考文献:

- [1] 张树林,邢克智.水族饵料生物学[M].北京:中国农业出版社,2010:61-67.
- [2] 徐海龙,马志华,郭立,等.光照、pH值及盐度对褶皱臂尾轮虫培养效果的影响[J].水产科学,2013(2):85-87.
- [3] 孙迪杰,刘娟然.温度对褶皱臂尾轮虫寿命和繁殖的影响[J].水产科学,1993,12(6):14-17.
- [4] 陈明耀.生物饵料培养[M].北京:中国农业出版社,2002:93-110.

(收稿日期:2018-05-20;修回日期:2018-06-17)

(上接第7页)

- [29] Flynn N E, Bird J G, Guthrie A S. Glucocorticoid regulation of amino acid and polyamine metabolism in the small intestine[J]. Amino Acids, 2009, 37(1): 123.
- [30] Alican I, Kubes P. A critical role for nitric oxide in intestinal

barrier function and dysfunction[J]. American Journal of Physiology—Gastrointestinal and Liver Physiology, 1996, 270(2): G225-G237.

Effect of dietary arginine levels on growth, plasma free amino acids and intestinal morphology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

GAO Zhong-Yue, WANG Xuan, HE Gen

(The Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feeds, Ministry of Agriculture, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to evaluate the effect of dietary arginine levels on growth, plasma free amino acids and intestinal morphology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). Three isonitrogenous and isolipidic purified diets were formulated with casein and gelatin as protein source. 0%, 1.0% and 2.0% arginine were added to the basal diet to denominate LA, MA and HA diet, respectively. After the feeding trial, fish growth were significantly reduced by LA diet and HA diet ($P < 0.05$). The plasma free arginine concentration increased significantly following increased addition of dietary arginine ($P < 0.05$). Dietary arginine deficiency also resulted in a decrease of plasma free methionine and threonine, while serine and glycine concentrations increased ($P < 0.05$). Furthermore, arginine deficiency decreased the height of intestinal fold, enterocyte and microvilli ($P < 0.05$). These results indicate that arginine plays an important role in the growth, amino acid metabolism and intestinal health of turbot.

Key words: arginine; growth; plasma free amino acids; intestinal morphology; turbot (*Scophthalmus maximus* L.)

(收稿日期:2018-05-22)