

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15222

斜带石斑鱼幼鱼的饲料精氨酸需求量

韩凤禄¹, 张琴², 黄国强², 迟淑艳¹, 谭北平¹, 董晓慧¹, 杨奇慧¹, 刘泓宇¹, 章双¹

1 广东海洋大学 水产动物营养与饲料实验室, 广东 湛江 524088;

2 广西海洋研究所, 广西海洋生物技术重点实验室, 广西 北海 536000

摘要: 通过配制 7 种含不同水平精氨酸(2.13%、2.42%、2.71%、2.95%、3.20%、3.48%、3.74%干物质)的等氮、等脂的实验饲料, 研究精氨酸对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)幼鱼生长、饲料利用和血清一氧化氮合酶等的影响。每组设 3 个重复, 每个重复 30 尾鱼(7.52±0.02g), 饲喂 8 周。结果显示, 饲料精氨酸水平对各组存活率无显著影响($P>0.05$); 精氨酸水平为 2.95%的斜带石斑鱼获得最大增重率和特定生长率, 显著高于其他各组($P<0.05$); 2.95%组饲料系数显著低于 2.13%、2.42%和 2.71%组($P<0.05$); 3.20%组体蛋白达到最大, 显著高于 2.13%组($P<0.05$)。随着饲料中精氨酸水平的增加, 斜带石斑鱼幼鱼血糖含量呈逐渐降低的趋势, 2.13%与 2.42%组显著高于其他各组($P<0.05$)。2.95%组血清总蛋白和血清总一氧化氮合酶显著高于其他各组($P<0.05$)。研究表明, 日粮中适宜的精氨酸水平不仅能促进斜带石斑鱼幼鱼生长和体蛋白的合成, 还能提高机体免疫力。以特定生长率为判据, 通过二次多项式回归分析表明, 斜带石斑鱼幼鱼精氨酸的最适需要量是饲料干重的 3.06%(饲料蛋白含量的 6.07%)。

关键词: 斜带石斑鱼; 精氨酸; 生长性能; 生化指标

中图分类号: S936

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)03-0584-10

精氨酸作为一种鱼类生长发育所必需的碱性氨基酸, 它不仅是机体合成蛋白质的重要成分, 还影响着动物体内脂类和糖类的代谢。精氨酸经精氨酸—一氧化氮(NO)途径参与小鼠体内脂肪的分解, 从而影响血清甘油三酯的含量和体脂的沉积量^[1]; 并且通过调控肥胖大鼠体内胰岛素的敏感性, 进而影响血糖含量^[2-3]。此外, 精氨酸作为 NO 和多胺等多种生物活性物质的合成前体, 在细胞生长、组织再生及炎症修复过程中发挥着重要作用^[4]。饲料中缺乏精氨酸会导致鱼类生长缓慢、免疫力下降和饲料利用率低^[5-6], 适量添加精氨酸则能显著地提高卵形鲳鲆(*Trachinotus ovatus*)血清和肝脏中总一氧化氮合酶和溶菌酶的活性, 提高机体免疫力^[7]。值得关注的是, 鱼类具有先天

性的“糖尿病”体质^[8], 对糖类的利用能力较低^[9-10], 有报道指出, 饲料精氨酸水平能显著降低条斑星鲈(*Verasper moseri*)^[11]和加州鲈(*Micropterus salmoides*)^[12]血糖水平, 同时促进鱼体生长。精氨酸如何调节海水鱼类的代谢机制, 进而促进机体健康生长, 值得深入探讨。

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)属鲈形目, 鮨科(Serranidae), 石斑鱼属(*Epinephelus*), 是一种低脂肪、高蛋白的暖水性中下层肉食性名贵鱼类, 肉质细腻, 营养丰富, 具有生长速度快、饲料系数低、经济价值高等优点, 被认为是精养条件下最具有养殖前景的鱼类之一^[13]。Luo 等^[5]对斜带石斑鱼幼鱼饲料中精氨酸需要量以及精氨酸水平对其生长性能的影响做了相关报道。本研究在

收稿日期: 2015-06-01; 修订日期: 2015-09-22.

基金项目: 国家公益性行业(农业)专项资金项目(201003020); 广东省科技创新项目(2013KJ CX0097); 广西海洋生物技术重点实验室开放基金资助课题(GLMBT-201405); 广东海洋大学优秀学位论文培育项目(校研[2014]3号).

作者简介: 韩凤禄(1989-), 男, 硕士研究生, 主要从事水产动物营养学研究. E-mail: hanfenglu@163.com

并列第一作者: 张琴(1982-), 女, 博士, 副研究员. E-mail: zhangqin821220@163.com

通信作者: 迟淑艳(1977-), 副教授, 主要从事水产动物营养与生理机制研究. E-mail: chishuyan77@163.com

此基础上拟通过评估生长性能、血清生化指标和相关免疫酶活性, 着重探讨饲料精氨酸水平对鱼类体内物质利用和代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 实验设计与实验饲料

本实验采用单因子梯度配方设计, 分别添加晶

体 L-精氨酸(99%, 上海三杰生物科技有限公司)0%、0.3%、0.6%、0.9%、1.2%、1.5%和 1.8%, 配制 7 种等氮等脂的实验饲料。按照实验配方(表 1)将所需原料粉碎过 60 目筛, 按比例逐级混匀后, 利用双螺杆挤条机(华南理工大学科技实业总厂, F-75 型)制成粒径为 3.0 mm 沉性颗粒饲料, 室温风干后装进密封袋放于-20℃冰箱内备用。饲料氨基酸组成见表 2。

表 1 实验饲料配方

Tab. 1 Formulation and proximate analysis of trial diets

原料 ingredient	精氨酸含量/% arginine level						
	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
白鱼粉 white fish meal	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00
去皮豆粕 dehulled soybean meal	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
面粉 wheat meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
玉米蛋白粉 corn gluten meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.0
必需氨基酸 ¹ essential amino acids ¹	5.46	5.46	5.46	5.46	5.46	5.46	5.46
非必需氨基酸 ² nonessential amino acids ²	2.71	2.71	2.71	2.71	2.71	2.71	2.71
精氨酸 arginine	0.00	0.30	0.60	0.90	1.20	1.50	1.80
甘氨酸+天冬氨酸 glycine+aspartic acid	1.80	1.50	1.20	0.90	0.60	0.30	0.00
鱼油 fish oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
豆油 soybean oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
大豆磷脂 phospholipid	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
磷酸二氢钙 calcium monophosphate	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60	1.60
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
甜菜碱 betaine hydrochloride	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
维生素 C 磷酸酯 vitamine C phosphate	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
乙氧基喹啉 ethoxy quinoline	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
维生素预混料 ³ vitamin premix ³	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
矿物质预混料 ⁴ mineral premix ⁴	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
成分组成(%干物质) proximate composition (% dry matter)							
精氨酸 arginine	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
粗蛋白 crude protein	50.48	50.31	50.19	50.44	50.49	50.50	50.40
粗脂肪 crude lipid	10.34	10.33	10.67	10.33	10.43	10.20	10.65
粗灰分 crude ash	10.60	11.51	11.24	11.79	11.32	11.61	11.24

注: ¹ 必需氨基酸组成(每 100 克饲料): 赖氨酸, 1.659 g; 组氨酸, 0.085 g; 亮氨酸, 0.627 g; 异亮氨酸, 0.477 g; 蛋氨酸, 0.441 g; 苯丙氨酸, 0.243 g; 苏氨酸, 1.308; 缬氨酸, 0.704 g.

² 非必需氨基酸组成(每 100 克饲料): 天冬氨酸 : 甘氨酸 =1 : 1.

³ 维生素预混料的组成(每千克饲料): 硫胺素(B₁), 25 mg; 核黄素(B₂), 45 mg; 泛酸(B₃), 60 mg; 烟酸(B₅), 200 mg; 吡哆醇(B₆), 20 mg; 生物素(B₇), 1.20 mg; 维生素 B₁₂, 0.1 mg; 肌醇, 800 mg; 叶酸, 20 mg; 维生素 A, 32 mg; 维生素 E, 120 mg; 维生素 D₃, 5 mg; 维生素 K₃, 10 mg.

⁴ 矿物质预混料的组成(每千克饲料): 氯化钠, 2 mg; 碘化钾, 0.8 mg; 氯化钴(1%), 50 mg; 硫酸铜, 10 mg; 硫酸亚铁, 80 mg; 硫酸锌, 50 mg; 硫酸锰, 60 mg; 硫酸镁, 1200 mg; 氯化钠, 100 mg; 沸石粉, 1447.2 mg.

Note: ¹ essential amino acids(per 100 g diet): L-lysine, 1.659 g; L-histidine, 0.085 g; Leucine, 0.627 g; L-isoleucine, 0.477 g; L-methionine, 0.441 g; L-phenylalanine, 0.243 g; L-threonine, 1.308 g; L-valine, 0.704 g.

² nonessential amino acids(per 100g diet): L-aspartic acid : glycine=1 : 1.

³ vitamin premix(per kg diet): Vitamin B₁, 25 mg; Vitamin B₂, 45 mg; Vitamin B₃, 60 mg; Vitamin B₅, 200 mg; Vitamin B₆, 20 mg; Vitamin B₇, 1.20 mg; Vitamin B₁₂, 0.1 mg; Inositol, 800 mg; Folic acid, 20 mg; Vitamin A, 32 mg; Vitamin E, 120 mg; Vitamin D₃, 5 mg; Vitamin K₃, 10 mg.

⁴ mineral premix(per kg diet): Sodium fluoride, 2 mg; Potassium iodide, 0.8 mg; Cobalt chloride(%), 50 mg; Cupric sulphate, 10 mg; Ferrous sulphate, 80 mg; Zinc sulphate, 50 mg; Manganese sulphate, 60 mg; Magnesium sulfate, 1200 mg; Sodium chloride, 100 mg; Zeolite powder, 1447.2 mg.

表 2 实验饲料氨基酸组成
Tab. 2 Amino acid composition of the experimental diets of juvenile *Epinephelus coioides*

氨基酸 amino acid	精氨酸含量/% arginine level						
	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
天门冬氨酸 aspartic acid	5.10	4.96	4.81	4.63	4.58	4.45	4.33
苏氨酸 threonine	2.50	2.48	2.55	2.38	2.49	2.54	2.54
丝氨酸 serine	1.73	1.71	1.76	1.65	1.72	1.73	1.76
谷氨酸 glutamic acid	6.10	6.05	6.26	5.88	6.03	6.13	6.26
甘氨酸 glycine	4.39	4.05	4.00	3.93	3.81	3.54	3.41
丙氨酸 alanine	2.17	2.15	2.18	2.11	2.14	2.17	2.20
胱氨酸 cystine	0.54	0.56	0.56	0.58	0.53	0.52	0.58
缬氨酸 valine	2.09	2.04	2.10	2.13	2.13	2.08	2.10
蛋氨酸 methionine	1.10	1.12	1.09	1.22	1.07	1.11	1.12
异亮氨酸 isoleucine	1.97	1.81	1.84	1.76	1.79	1.83	1.82
亮氨酸 leucine	3.63	3.58	3.70	3.55	3.61	3.68	3.75
酪氨酸 tyrtophane	1.29	1.29	1.31	1.50	1.26	1.24	1.36
苯丙氨酸 phenylalanine	1.75	1.76	1.75	1.67	1.72	1.72	1.80
赖氨酸 lysine	3.76	3.34	3.65	3.57	3.80	3.51	3.49
组氨酸 histidine	0.72	0.73	0.74	0.74	0.73	0.73	0.74
精氨酸 arginine	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
脯氨酸 proline	2.11	2.09	2.12	2.09	2.06	2.10	2.16
氨基酸总量 amino acid sum	43.08	42.14	43.13	42.34	42.67	42.56	43.16

1.2 实验用鱼与饲养管理

养殖试验在湛江东海岛海洋生物研究基地的室内养殖系统中进行。实验用鱼购自湛江东海岛浩利斜带石斑鱼良种场, 驯养 2 周后, 挑选体格健壮、规格均一的斜带石斑鱼幼鱼, 初始体重为 (7.52±0.02) g, 随机分为 7 组, 每组 3 个重复, 每个重复 30 尾鱼, 分别放养于容积为 1 m³ 养殖水桶中静水养殖, 每天分别于 08:00 和 16:00 投喂饲料至表现饱食, 整个养殖周期内水体溶氧大于 6 mg/L, pH7.7~8.0, 水温 26~30℃, 饲养 8 周。

1.3 样品处理

实验结束前, 实验鱼饥饿 24 h 后, 分别对每个重复实验鱼计数、称重。每桶随机抽取 12 尾实验鱼, 保存于 -20℃ 冰箱中, 用于常规分析; 随机抽取 4 尾实验鱼, 取肝脏称重, 测定肝体比; 随机取 8 尾实验鱼进行尾静脉取血, 保存于 1.5 mL 离心管中, 静置 6 h 后 4000 r/min 离心 10 min, 吸取上层血清分装到 1.5 mL 离心管, 保存于 -20℃ 备用。

1.4 常规营养成分分析

参照 AOAC^[14]的方法, 将饲料原料、实验饲料及鱼体样品均在 105℃ 烘干至恒重, 差减法获得水分含量。采用凯氏定氮法测定粗蛋白的含量; 使用索氏抽提法测定粗脂肪的含量; 将样品在电炉上碳化后, 在马弗炉中 550℃ 灼烧 5 h 后测定粗灰分含量。饲料氨基酸检测采用 6 mol/L 的 HCl 在 110℃ 下水解 24 h 后, 经全自动氨基酸分析仪(曼默博尔 A300, 德国)测定。

1.5 血清生化指标及相关非特异性免疫酶活性的测定

血清中总蛋白(TP)、总胆固醇(CHOL)、葡萄糖(GLUC)和甘油三酯(TG)含量利用全自动生化分析仪(7020 HITACHI, Japan)检测。血清中一氧化氮合酶(NOS)和溶菌酶(LZM)活性采用南京建成试剂盒测定。

1.6 指标计算公式

增重率(weight gain rate, WGR, %)=100×
($W_t - W_i$) / W_i

特定生长率(special growth rate, SGR, %/d)=
 $100 \times [\ln(W_T) - \ln(W_i)] / D$

饲料系数(feed coefficient rate, FCR)= $W_f / (W_T + W_n - W_i)$

成活率(survival rate, SR, %)= $100 \times N_t / N_i$

肝体比(heptosomatic index, HSI, %)= $100 \times W_L / W_B$

蛋白质沉积率(protein deposition rate, PDR, %)=
 $100 \times (W_T \times CP_t - W_i \times CP_0) / CP$

脂肪沉积率(lipid deposition rate, LDR, %)=
 $100 \times (W_T \times CL_t - W_i \times CL_0) / CL$

式中, $W_i(g)$ 为终末鱼体均重; $W_i(g)$ 为初始鱼体均重; D 为养殖天数; $W_T(g)$ 为终末体总重; $W_n(g)$ 为死亡个体重量; $W_i(g)$ 为初始体总重; $W_f(g)$ 为每桶实验鱼鱼摄食饲料总量(干重); N_t 为终末鱼尾数; N_i 为初始鱼尾数; $W_L(g)$ 、 $W_B(g)$ 分别为鱼肝重和体重; $CP_t(\%)$ 、 $CP_0(\%)$ 分别为终末、初始鱼体粗蛋白含量; $CP(\%)$ 为饲料粗蛋白含量; $CL_t(\%)$ 、 $CL_0(\%)$ 分别为终末、初始鱼体粗脂肪含量; $CL(\%)$ 为饲料粗脂肪含量。

1.7 数据统计与分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对实验数据进行

ANOVA 单因素方差分析, 若差异显著($P < 0.05$), 再进行 Duncan's 多重比较, 结果均以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。

2 结果及分析

2.1 饲料中不同水平精氨酸对斜带石斑鱼幼鱼生长性能、饲料利用率和肝体比的影响

从表 3 中可以得出, 各实验组斜带石斑鱼成活率都在 98%以上, 各组间未见显著性差异($P < 0.05$)。随着饲料中精氨酸水平逐渐升高, 斜带石斑鱼幼鱼增重率和特定生长率呈先升高后降低的趋势, 且在 2.95%组达到最大值, 显著高于其他各组($P < 0.05$)。与对照组(2.13%)相比, 其他各实验组的饲料系数显著降低($P < 0.05$)。各实验组之间肝体比差异性不显著($P > 0.05$)。如图 1 所示, 经二次曲线拟合饲料中精氨酸水平与斜带石斑鱼幼鱼 SGR 的关系($y = -0.3208x^2 + 1.9647x + 0.2864$, $R^2 = 0.8949$)得出, 斜带石斑鱼幼鱼对饲料中精氨酸最适需要量为饲料干重的 3.06%, 占饲料蛋白质干重的 6.07%。

表 3 饲料中精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼的生长、饲料利用和肝体比的影响

Tab. 3 Effect of dietary arginine level on growth performance, feed utilization and HSI of juvenile *Epinephelus coioides*

$n=3; \bar{x} \pm SD$

项目 item	精氨酸含量/% arginine level						
	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
成活率/% SR	100.00±0.00	98.89±1.92	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
鱼体初重/g W_i	7.52±0.01	7.52±0.02	7.52±0.02	7.53±0.02	7.51±0.01	7.51±0.00	7.53±0.02
鱼体末重/g W_t	40.83±0.87 ^a	43.66±0.56 ^b	46.64±0.39 ^d	49.32±0.46 ^e	45.62±0.38 ^c	44.97±0.32 ^c	43.91±0.48 ^b
增重率/% WGR	442.22±13.31 ^a	480.74±7.19 ^b	520.57±6.11 ^d	554.96±6.14 ^e	516.03±5.06 ^d	504.79±13.52 ^{cd}	488.81±15.88 ^{bc}
特定生长率 (%·d ⁻¹)SGR	3.02±0.05 ^a	3.14±0.02 ^b	3.26±0.02 ^d	3.35±0.02 ^e	3.25±0.02 ^d	3.21±0.04 ^{cd}	3.17±0.05 ^{bc}
饲料系数 FCR	1.43±0.04 ^d	1.32±0.02 ^c	1.22±0.02 ^b	1.18±0.02 ^a	1.21±0.01 ^{ab}	1.22±0.03 ^{ab}	1.22±0.02 ^{ab}
蛋白质沉积率/% PDR	25.65±1.22 ^a	27.42±0.78 ^a	30.22±0.51 ^b	31.87±1.88 ^b	30.28±0.79 ^b	30.32±1.79 ^b	30.64±0.63 ^b
脂肪沉积率/% LDR	42.96±1.31 ^a	47.34±1.75 ^{ab}	52.32±3.34 ^{bc}	57.89±3.92 ^d	53.15±4.81 ^{cd}	50.58±2.37 ^{bc}	48.81±1.32 ^{bc}
肝体比/% HSI	1.68±0.08	1.73±0.26	1.90±0.21	1.76±0.36	1.46±0.18	1.56±0.36	1.41±0.34

注: 同一行肩标字母不同表示不同组间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Values in the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

2.2 饲料中不同水平精氨酸对斜带石斑鱼幼鱼体组成的影响

由表 4 可以得知, 3.20%组斜带石斑鱼幼鱼体粗

蛋白显著高于 2.13%组($P < 0.05$), 而与其他各组差异性不显著($P > 0.05$)。饲料中精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼鱼体水分、粗脂肪和灰分均无显著影响($P > 0.05$)。

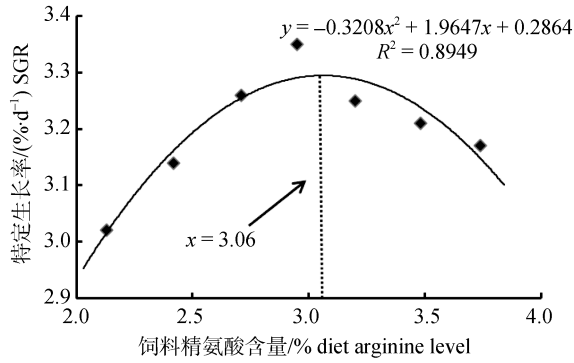


图 1 饲料中精氨酸水平与斜带石斑鱼幼鱼特定生长率 (SGR)的关系模式图

Fig. 1 Effect of dietary arginine level on specific growth rate of juvenile *Epinephelus coioides*

2.3 饲料中不同水平精氨酸对斜带石斑鱼幼鱼血清生化和非特异免疫指标的影响

由表 5 可知, 随着饲料中的精氨酸水平升高, 斜带石斑鱼幼鱼血清 GLUC 含量显著降低($P < 0.05$), 其中 2.13%和 2.42%组显著高于其他各组($P < 0.05$)。与其他各组相比, 2.95%组血清 TP 显著升高($P < 0.05$), 整体呈先升高后降低的变化。但饲料中的精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼血清 CHOL 和 TG 无显著性影响($P > 0.05$)。由表 6 可得出, 血清 T-NOS 呈现出随精氨酸水平升高而先升高后降低的变化趋势, 其中 2.95%组显著高于其他各组($P < 0.05$)。而血清 LZM 活力不受饲料中精氨酸水平变化的影响($P > 0.05$)。

表 4 饲料精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼体组分的影响

Tab. 4 Effect of dietary arginine level on body composition of juvenile *Epinephelus coioides*

$n=3; \bar{x} \pm SD$

项目 item	精氨酸含量/% arginine level						
	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
水分/% moisture	69.91±0.82	70.09±0.87	69.91±0.46	69.41±1.11	70.04±0.51	69.89±0.74	69.62±0.72
粗蛋白/% crude protein	61.72±0.04 ^a	61.78±0.05 ^{ab}	61.89±0.53 ^{ab}	61.85±0.17 ^{ab}	62.28±0.13 ^b	62.20±0.26 ^{ab}	61.95±0.27 ^{ab}
粗脂肪/% crude lipid	21.09±0.29	21.69±0.97	22.44±1.31	22.65±0.67	22.28±1.22	20.96±0.99	20.84±0.69
粗灰分/% ash	17.08±0.41	16.94±0.39	16.80±0.42	16.78±0.07	16.38±0.68	16.75±0.33	16.39±0.19

注: 同一行肩标不同表示不同组间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Values within the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

表 5 饲料中精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼血清生化指标的影响

Tab. 5 Effect of dietary arginine level on serum biochemical indicators of juvenile *Epinephelus coioides*

$n=3; \bar{x} \pm SD$

项目 item	精氨酸含量/% arginine level						
	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
葡萄糖/(mmol·L ⁻¹)GLUC	9.42±0.27 ^d	8.89±0.63 ^d	7.59±0.14 ^c	6.85±0.34 ^b	6.40±0.33 ^{ab}	6.11±0.43 ^a	5.97±0.07 ^a
总蛋白/(g·L ⁻¹)TP	15.81±0.25 ^a	18.01±0.30 ^{bc}	18.06±0.20 ^{bc}	24.34±1.00 ^d	18.91±0.10 ^c	19.12±0.61 ^c	17.54±0.63 ^b
总胆固醇/(mmol·L ⁻¹)CHOL	1.61±0.04	1.58±0.07	1.60±0.03	1.69±0.06	1.56±0.04	1.60±0.12	1.67±0.05
甘油三酯/(mmol·L ⁻¹)TG	0.77±0.02	0.75±0.05	0.73±0.04	0.80±0.05	0.79±0.02	0.73±0.04	0.74±0.03

注: 同一行肩标不同表示不同组间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Values within the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

表 6 饲料中精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼血清溶菌酶和总一氧化全酶的影响

Tab. 6 Effect of dietary arginine level on serum LZM and T-NOS activity of juvenile *Epinephelus coioides*

$n=3; \bar{x} \pm SD$

项目 item	精氨酸含量/% arginine level						
	2.13	2.42	2.71	2.95	3.20	3.48	3.74
溶菌酶/(μg·mL ⁻¹) LZM	2.86±0.01	2.91±0.13	2.97±0.13	2.97±0.02	2.94±0.09	2.98±0.10	2.95±0.03
总一氧化氮合酶/(U·mL ⁻¹) T-NOS	7.71±1.41 ^a	11.01±0.28 ^b	10.81±0.70 ^b	13.73±1.18 ^c	11.00±0.23 ^b	8.18±0.96 ^a	7.98±0.47 ^a

注: 同一行肩标不同表示不同组间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Values within the same row with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

3 讨论

精氨酸作为水生动物生长所必需的一种碱性氨基酸, 具有促进机体蛋白质合成和生长的重要作用^[15]。本实验中随着饲料精氨酸水平的升高, 斜带石斑鱼的生长得到明显的改善, 本实验条件下, 斜带石斑鱼幼鱼对饲料中精氨酸的最适需求量为饲料蛋白的 6.07%(饲料干重的 3.06%), 这一结果与卵形鲳鲹(饲料蛋白的 6.32%~6.35%)^[7]和牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)(饲料蛋白的 6.25%)^[16]的研究结果相近, 高于真鲷(*Pagrus major*)(饲料蛋白的 4.74%)^[17]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)(饲料蛋白的 5.29%)^[18]和异育银鲫(*Carassis auratus gibelio* var. CAS III)(饲料蛋白的 4.2%)^[19], 但低于黑鲷(*Sparus macrocephalus*)(饲料蛋白的 7.74%)^[20]和青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)(饲料蛋白的 6.5%)^[21]。鱼类对精氨酸的需要量差异如此之大, 可能是由于鱼的种类、饲料蛋白源和水平、饲养方式、投饲策略和实验条件的不同造成的结果^[10, 22]。即便是针对同种物种的研究结果也会有差异, 如与本实验相比, Luo 等^[5]研究的斜带石斑鱼(饲料蛋白的 5.5%)的结果偏低, 主要是因为本实验与 Luo 等实验用鱼规格(16.10±0.26) g 有差别; 其次, 也与选用实验饲料原料的不同有关。本实验研究结果显示, 随着饲料中精氨酸水平的进一步升高(高于 6.07%蛋白水平), 斜带石斑鱼的生长受到了抑制, 这和虹鲟(*Oncorhynchus mykiss*)^[23]和印度鲤鱼(*Cirrhinus mrigala*)^[24]的研究结果一致, 在对大西洋鲑(*Salmo salar*)的研究发现, 精氨酸和赖氨酸由于需要共同的氨基酸转运载体完成组织间的转运, 因此在肠道中的吸收存在竞争抑制现象^[25], 从而导致氨基酸营养不平衡而使生长受到抑制。然而, 对牙鲆^[26]和大菱鲆(*Psetta maxima*)^[23]的研究表明, 饲料中过量的精氨酸对生长无影响。因此, 精氨酸在鱼类体内的具体吸收和转运机制还有待进一步研究。在本实验中, 各组之间的成活率没有显著性差异, 但饲料系数却呈先降低后升高的趋势, 且都维持在较低水平(1.18~1.43)。说明饲料中精氨酸的添加量

对斜带石斑鱼幼鱼的成活没有影响, 但能够显著降低其饲料系数, 然而过高的精氨酸水平(超过 2.95%)又会使其升高, 这在黑鲷^[27]、青石斑鱼^[21]以及团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[22]的研究中也有类似报道。此外, 本实验中蛋白质沉积率随着精氨酸水平的升高得到显著提高, 类似的结果也见于对真鲷^[17]、团头鲂^[22]和青石斑鱼^[21]的研究。脂肪沉积率随着饲料精氨酸水平升高呈先升高后降低, 说明适宜水平精氨酸的添加有利于斜带石斑鱼幼鱼体脂肪的沉积。

本实验各实验组之间的肝体比差异性不显著, 和加州鲈^[28]、黑鲷^[27]和卵形鲳鲹^[7]的研究结果一致。研究表明, 鱼体的肝体比受鱼的种类、规格和实验等其他因素的影响^[7]。精氨酸水平对全鱼体成分的影响也因不同鱼类利用精氨酸的能力而异^[7]。本研究表明饲料精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼生长阶段的粗蛋白含量有重要影响, 但不影响其水分、粗脂肪和粗灰分的含量。这与加州鲈^[28]和瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)^[29]的研究结果一致, 但也有许多其他鱼类的研究结果显示精氨酸水平对鱼体的体成分没有显著影响, 例如团头鲂^[22]、卵形鲳鲹^[7]、黄颡鱼^[18]和青石斑鱼^[21]等。

血清生化指标通常用来评判机体的代谢、营养和健康状况。血清 TP 含量的增加表明机体代谢水平和免疫力得到提高, 从而促进了体蛋白和氮的沉积^[30]。本实验中斜带石斑鱼血清 TP 含量随着精氨酸水平增加而显著升高, 当精氨酸水平超过 2.95%后, 血清 TP 含量又显著降低, 类似的结果在黑鲷^[27, 31]和卵形鲳鲹^[7]的研究中也有报道。过低或过高水平精氨酸都可能影响鱼类对营养素的利用效率, 使得血清 TP 水平降低。肝脏是精氨酸酶代谢途径发生的主要场所, 过量的精氨酸可能导致肝脏的代谢负担而发生功能障碍, 进而使血清 TP 水平降低^[27]。GLUC 是机体许多组织的直接燃料, 鱼类 GLUC 浓度受内分泌系统和神经系统的调控, 保持动态平衡的状态。而在本实验中, 斜带石斑鱼 GLUC 含量随着精氨酸的添加而显著降低, 这与黑鲷利用精氨酸^[27]的效果一致。膳食补充精氨酸能显著提高肥胖大鼠体内胰

胰岛素的敏感性,降低血糖、同型半胱氨酸和脂肪酸的水平^[2-3, 32-33]。对鱼类的研究表明外源添加精氨酸能显著提高条斑星鲃^[11]和加州鲈^[12]血浆中胰岛素水平,提示精氨酸水平也很可能影响斜带石斑鱼血浆胰岛素水平,最终导致其 GLUC 含量的变化。结合 SGR 数据发现,斜带石斑鱼幼鱼血清 GLUC 含量在 6.40~6.85 mmol/L 时,SGR 达到最大值,斜带石斑鱼幼鱼的生长表现较好,提示适量的精氨酸能够调控斜带石斑鱼幼鱼血清 GLUC 含量保持在适宜水平范围内,进而促进斜带石斑鱼的生长。但是精氨酸影响鱼类体内糖代谢的具体作用机制还有待进一步研究。TG 是细胞内脂肪的主要存在形式,也是机体新陈代谢的重要组成物质,对维持机体的能量平衡也起到重要作用。当体内能量过多时,脂肪组织会以 TG 的形式储存备用;反之,当能量缺乏时,会通过脂肪分解作用将 TG 转换成脂肪酸和甘油,提供动物体使用以维持正常生理机能,且利用此种转换合成作用来保持动物体之能量平衡^[27]。Jobgen^[2]研究发现,膳食补充精氨酸能显著降低肥胖大鼠血清 GLUC 和 TG 含量,提高胰岛素敏感性。而本研究表明,斜带石斑鱼血清 GLUC 变化与 Jobgen 的研究结果一致,但 TG 含量却不受饲料精氨酸水平的影响,提示精氨酸对斜带石斑鱼血清 TG 含量变化的调控与肥胖大鼠的调控机制可能存在差异,也可能是因为精氨酸引起血清 GLUC 含量的变化量未达到促使 TG 改变的阈值,因此各实验组之间的 TG 含量没有显著性差异。CHOL 是细胞膜的重要组成部分,参与动物体内的胆汁、维生素 D 和多种激素的合成,在一定程度上反映体内脂肪代谢状况。本实验的结果显示,斜带石斑鱼幼鱼血清 CHOL 含量不受精氨酸水平的影响,类似的发现在 Lin 等^[7]的研究中也有报道。

精氨酸在 NOS 的作用下分解得到 NO 和胍氨酸,而 NO 在控制血管张力、神经传递、血小板的聚集和粘附、细胞增殖和巨噬细胞的吞噬能力等生理活动方面有着重要的调节作用^[10, 34]。关于精氨酸对 NO 和 NOS 影响的研究主要集中在人和哺乳动物上^[35]。近年来,精氨酸对鱼类免疫系统

的重要作用得到了普遍关注。日粮中添加适量的精氨酸不仅能显著提高瓦氏黄颡鱼^[29]的头肾呼吸爆发活性与血清 NOS 活性,还能增强斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[36]对爱德华氏菌的免疫力。在本实验中,T-NOS 活力随着精氨酸的添加而显著增强,当精氨酸水平超过 2.95%后,其活力又显著降低。该结果与黄颡鱼^[18]、团头鲂^[22]和卵形鲳鲹^[7]的研究结果一致。LZM 又被称为胞壁质酶,主要通过破坏细菌细胞壁的肽聚糖,导致细胞壁破裂,内容物溢出而使细菌溶解^[37],用来作为鱼类非特异免疫能力的评判指标,如日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)^[38]、大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)^[39]和牙鲆^[40]等。在本实验中,饲料中精氨酸水平对斜带石斑鱼幼鱼血清 LZM 活性没有显著性影响,这与对牙鲆^[16]和杂交条纹鲈^[41]的研究结果不同,可能是因为溶菌酶活力本身就因鱼的种类不同而差异较大的原因^[37]。

经本实验研究表明,经二次曲线拟合饲料中精氨酸水平与斜带石斑鱼幼鱼 SGR 的关系得出,斜带石斑鱼幼鱼对饲料中精氨酸最适需要量为 3.06%,相当于饲料蛋白质的 6.07%,在此水平下,饲料中适宜精氨酸含量不仅能显著提高斜带石斑鱼幼鱼的体蛋白沉积,还能显著提高血清 T-NOS 酶活性。

参考文献:

- [1] Khedara A, Goto T, Morishima M, et al. elevated body fat in rats by the dietary nitric oxide synthase inhibitor, L-N^o nitroarginine[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63(4): 698-702.
- [2] Jobgen W S. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in diet-induced obese rats[D]. Texas: Texas A&M University, 2007.
- [3] Wu G, Collins J K, Perkins-Veazie P, et al. Dietary supplementation with watermelon pomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in Zucker diabetic fatty rats[J]. J Nutr, 2007, 137(12): 2680-2685.
- [4] Kaushik S, Fauconneau B, Terrier L, et al. Arginine requirement and status assessed by different biochemical indices in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.)[J]. Aquaculture, 1988, 70(1): 75-95.

- [5] Luo Z, Liu Y J, Mai K S, et al. Effects of dietary arginine levels on growth performance and body composition of juvenile grouper *Epinephelus coioides*[J]. J Appl Ichthyol, 2007, 23(3): 252–257.
- [6] Liao Y J, Liu B, Ren M C, et al. Effects of dietary arginine level on growth performance, free essential amino acids, hematological characteristics, and immune response in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(3): 549–559.[廖英杰, 刘波, 任鸣春, 等. 精氨酸对团头鲂幼鱼生长、血清游离精氨酸和赖氨酸、血液生化及免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 549–559.]
- [7] Lin H Z, Tan X H, Zhou C P, et al. Effect of dietary arginine levels on the growth performance, feed utilization, non-specific immune response and disease resistance of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*[J]. Aquaculture, 2015, 43(7): 382–389.
- [8] Wilson R P, Poe W E. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono-and disaccharides as energy sources[J]. J Nutr, 1987, 117(2): 280–285.
- [9] Enes P, Panserat S, Kaushik S, et al. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish[J]. Fish Physiol Biochem, 2009, 35(3): 519–539.
- [10] NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fish[M]. Washington, D C: National Academy Press, 2011.
- [11] Andoh T. Amino acids are more important insulinotropins than glucose in a teleost fish, barfin flounder (*Verasper moseri*)[J]. Gen Comp Endocrinol, 2007, 151(3): 308–317.
- [12] Sink T D, Lochmann R T. Insulin response of largemouth bass to glucose, amino acid, and diet stimulation[J]. N Am J Aquac, 2007, 69(4): 429–434.
- [13] Boonyaratpalin M. Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia[J]. Aquaculture, 1997, 151(1): 283–313.
- [14] Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the 16th Edn[M]. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1995: 69–78.
- [15] Wilson R P, Halver J E. Protein and amino acid requirements of fishes[J]. Annu Rev Nutr, 1986, 6(1): 225–244.
- [16] Han Y, Koshio S, Ishikawa M, et al. Interactive effects of dietary arginine and histidine on the performances of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* juveniles[J]. Aquaculture, 2013, 414–415: 173–182.
- [17] Rahimnejad S, Lee K J. Dietary arginine requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major*[J]. Aquaculture, 2014, 43(4): 418–424.
- [18] Zhou Q C, 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, 43(7): 84–91.
- [19] Tu Y Q, Xie S Q, Han D, et al. Dietary arginine requirement for gibel carp (*Carassis auratus gibelio* var. CAS III) reduces with fish size from 50g to 150g associated with modulation of genes involved in TOR signaling pathway[J]. Aquaculture, 2015, 449: 37–47.
- [20] Zhou F, Xiong W, Xiao J X, et al. Optimum arginine requirement of juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*[J]. Aquac Res, 2010, 41(10): e418–e430.
- [21] Zhou Q C, Zeng W P, Wang H L, et al. Dietary arginine requirement of juvenile yellow grouper *Epinephelus awoara*[J]. Aquaculture, 2012, 350(3): 175–182.
- [22] Ren M C, Liao Y J, Xie J, et al. Dietary arginine requirement of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. Aquaculture, 2013, 414–415: 229–234.
- [23] Fournier V, Gouillou-Coustans M, Metailler R, et al. Excess dietary arginine affects urea excretion but does not improve N utilisation in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and turbot *Psetta maxima*[J]. Aquaculture, 2003, 217(1): 559–576.
- [24] Ahmed I, Khan M A. Dietary arginine requirement of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton)[J]. Aquac Nutr, 2004, 10(4): 217–225.
- [25] Berge G E, Bakke-Mckellep A M, Lied E. *In vitro* uptake and interaction between arginine and lysine in the intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Aquaculture, 1999, 179(1): 181–193.
- [26] Alam S, Teshima S I, Yaniharto D, et al. Influence of different dietary amino acid patterns on growth and body composition of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Aquaculture, 2002, 210(1): 359–369.
- [27] Zhou F. Study on effects of dietary lysine and arginine on growth performance, and the arginine/lysine antagonism mechanism in juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.[周凡, 饲料赖氨酸和精氨酸对黑鲷幼鱼生长影响及其拮抗作用机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.]
- [28] Zhou H, Chen N, Qiu X, et al. Arginine requirement and effect of arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. Aquac Nutr, 2012, 18(1): 107–116.
- [29] Feng F X, Ai Q H, Xu W, et al. Effects of dietary arginine and lysine on growth and non-specific immune responses of juvenile darkbarbel catfish (*Pelteobagrus vachelli*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(7): 1072–1080.[封福鲜, 艾庆辉, 徐玮, 等. 精氨酸和赖氨酸对瓦氏黄颡鱼幼鱼生长和非特异性免疫力的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(7):

- 1072–1080.]
- [30] Zhou X H, Wu X, Tang X S, et al. Effects of different dietary arginine activator additive on growth performance and plasma biochemical parameters in early-weaned piglets[J]. *Res Agricult Modern*, 2010: 20–30.
- [31] Zhou F, Shao Q J, Xiao J X, et al. Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance, nutrient utilization and tissue biochemical profile of black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, fingerlings[J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1): 72–80.
- [32] Fu W J, Haynes T E, Kohli R, et al. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats[J]. *J Nutr*, 2005, 135(4): 714–721.
- [33] Kohli R, Meininger C J, Haynes T E, et al. Dietary L-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *J Nutr*, 2004, 134(3): 600–608.
- [34] Eddy F, Tibbs P. Effects of nitric oxide synthase inhibitors and a substrate, L-arginine, on the cardiac function of juvenile salmonid fish[J]. *Comp Biochem Physiol C: Toxicol Pharmacol*, 2003, 135(2): 137–144.
- [35] Wu G, Morris J S. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond[J]. *Biochem J*, 1998, 336: 1–17.
- [36] Pohlenz C, Buentello A, Criscitiello M F, et al. Synergies between vaccination and dietary arginine and glutamine supplementation improve the immune response of channel catfish against *Edwardsiella ictaluri*[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2012, 33(3): 543–551.
- [37] Saurabh S, Sahoo P. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system[J]. *Aquac Res*, 2008, 39(3): 223–239.
- [38] Ren T, Koshio S, Ishikawa M, et al. Influence of dietary vitamin C and bovine lactoferrin on blood chemistry and non-specific immune responses of Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. *Aquaculture*, 2007, 267(1): 31–37.
- [39] Ai Q H, Mai K S, Tan B P, et al. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*[J]. *Aquaculture*, 2006, 261(1): 327–336.
- [40] Zhou J, Song X L, Huang J, et al. Effects of dietary supplementation of A3 α -peptidoglycan on innate immune responses and defense activity of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Aquaculture*, 2006, 251(2): 172–181.
- [41] Cheng Z Y, Gatlin 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, 36(2): 39–43.*

Requirement of dietary arginine for juvenile orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*

HAN Fenglu¹, ZHANG Qin², HUANG Guoqiang², CHI Shuyan¹, TAN Beiping¹, DONG Xiaohui¹, YANG Qihui¹, LIU Hongyu¹, ZHANG Shuang¹

1. Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Guangxi Institute of Oceanology, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Guangxi, Beihai 536000, China

Abstract: Seven isonitrogenous and isolipidic commercial diets with arginine contents of 2.13%, 2.42%, 2.71%, 2.95%, 3.20%, 3.48%, or 3.74% (dry matter) were formulated to investigate the effects of dietary arginine on growth performance, feed utilization, and serum total nitric oxide synthase in the juvenile orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. Triplicate groups of 30 fish with mean body weight of (7.52±0.02) g were randomly assigned to each treatment in separate tanks. The fish were fed the experimental diets for 8 weeks. The different levels of dietary arginine had no significant effect on the fish survival rate ($P>0.05$). However, the weight gain rate and specific growth rate were significantly higher in the 2.95% arginine group than in the other groups ($P<0.05$). The feed coefficient of the fish fed 2.95% arginine was significantly lower than that of the fish fed 2.13%, 2.42%, or 2.71% arginine ($P<0.05$). The whole-body protein of the fish fed 3.20% arginine was significantly higher than that of the fish fed 2.13% arginine ($P<0.05$). Serum glucose tended to decrease as dietary arginine increased, and was significantly higher in the fish fed 2.13% or 2.42% arginine than in those of the other groups ($P<0.05$). Total protein and total nitric oxide synthase were significantly higher in the sera of fish fed 2.95% arginine than those in the sera of fish in the other groups ($P<0.05$). These results indicate that dietary arginine not only promotes growth and body protein synthesis, but also improves the immunity of the grouper. A quadratic regression analysis of the specific growth rate against dietary arginine indicated that the optimum arginine level for the maximum growth of the juvenile grouper is 3.06%, corresponding to 6.07% of dietary protein on a dry weight basis.

Key words: *Epinephelus coioides*; arginine; growth performance; biochemical parameters

Corresponding author: CHI Shuyan. E-mail: chishuyan77@163.com