

## 饲料中添加精氨酸对仿刺参幼参生长、 免疫能力及消化酶活力的影响

王际英, 李宝山, 张德瑞, 姜柯君, 孙永智, 王世信, 张利民\*

(山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东 烟台 264006)

**摘要:** 为研究精氨酸对仿刺参幼参生长、免疫能力及消化酶活力的影响, 在基础饲料中添加 0、1.00%、2.00%、3.00% 和 4.00% 的包膜精氨酸(精氨酸含量为 40%), 配制精氨酸含量为 0.32%、0.73%、1.16%、1.61% 和 1.99% 的 5 种实验饲料(命名为 D1、D2、D3、D4 和 D5), 饲喂初始体质量 9.10 g 的仿刺参幼参 60 d。结果表明, 精氨酸显著提高了仿刺参的增重率、特定生长率和蛋白质效率, 且在 D4 组达到最高; D3、D4 和 D5 组仿刺参的脏壁比、肠壁比及肠长比显著低于 D1 和 D2 组, 但 3 组之间差异不显著; 精氨酸显著提高了体壁粗蛋白的沉积, 但对水分及粗脂肪含量影响不显著; 精氨酸显著提高了体壁谷氨酸、精氨酸、亮氨酸、组氨酸、羟脯氨酸、必需氨基酸及总氨基酸的含量, 降低了赖氨酸含量; 体腔液中总超氧化物歧化酶(T-SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、一氧化氮(NO)、一氧化氮合成酶(NOS)、碱性磷酸酶(AKP)、谷丙转氨酶(ALT)及谷草转氨酶(AST)活力随着精氨酸含量的增加而显著提高; 肠道蛋白酶活力与饲料精氨酸含量呈二次负相关关系( $Y_{酶活} = -3.228X_{精氨酸}^2 + 2.865X_{精氨酸} + 26.24, R^2 = 0.934$ ), D3、D4 和 D5 组纤维素酶活力显著高于 D1 和 D2 组, 淀粉酶及脂肪酶活力不受精氨酸含量的影响。以增重率为评价指标, 一元二次回归分析表明, 体质量 9.10 g 的仿刺参饲料中精氨酸适宜含量为 1.55% (7.10% 饲料粗蛋白)。

**关键词:** 仿刺参; 精氨酸; 生长; 免疫能力; 消化酶

**中图分类号:** S 963.3

**文献标志码:** A

精氨酸是水生动物的必需氨基酸之一, 广泛参与生物体细胞分裂、伤口复原、激素分泌及机体免疫功能的调节等生理过程, 还是一氧化氮、尿素、鸟氨酸及肌丁胺的直接前体, 是合成肌肉素的重要元素, 且被用作合成聚胺、瓜氨酸及谷氨酰胺<sup>[1]</sup>。此外, 精氨酸还是合成胶原蛋白的重要原料<sup>[2]</sup>。研究表明, 精氨酸可以提高牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)<sup>[3]</sup>、黑棘鲷 (*Acanthopagrus schlegeli*)<sup>[4]</sup>、杂交鲈 (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)<sup>[5]</sup>、青石斑鱼 (*Epinephelus awoara*)<sup>[6]</sup> 等水生动物的生长性能及免疫能力, 减少大西洋鲑 (*Salmo salar*)<sup>[7]</sup> 对环境的应激。

仿刺参 (*Apostichopus japonicus* Selenka) 属于棘皮动物门 (Echinodermata), 海参纲

(Holothuroidea), 具有较高的经济药用价值, 被列为“海八珍”之一。仿刺参体壁中含有丰富的精氨酸<sup>[8]</sup>, 被誉为“精氨酸大富翁”, 精氨酸在仿刺参生命生理过程中起着重要的作用。目前, 海参精氨酸方面的研究仅见于精氨酸激酶折叠与结构<sup>[9]</sup>, 而精氨酸对仿刺参生长、免疫能力及消化酶活力的影响尚未见报道。因此, 本实验通过在饲料中添加不同含量梯度的精氨酸, 研究其对仿刺参幼参生长、免疫能力及消化酶活力的影响, 以期对仿刺参饲料中精氨酸需求的研究提供参考。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 实验设计与饲料

实验分为 5 个处理, 每个处理 3 个重复, 每个

收稿日期: 2014-11-07 修回日期: 2014-12-11

资助项目: 国家海洋生物产业水生动物营养与饲料研发创新示范平台 (201403001); 山东省现代农业产业技术体系仿刺参产业创新团队建设项目 (SDAIT-08-011-08)

通信作者: 张利民, E-mail: zhanglimin@126.com

重复放养 9.10 g 左右的仿刺参幼参 30 头。实验所用精氨酸购自无锡金维氨生物科技有限公司 (USP35 医药级,纯度 > 99.9%)。参考胡友军等<sup>[10]</sup>、王冠<sup>[11]</sup>的方法进行包被,包被后精氨酸含量为 39.67%。分别以 0、1.00%、2.00%、3.00% 和 4.00% 的包膜精氨酸等量替代基础饲料中海泥,配

制粗蛋白含量约为 20% 的 5 种实验饲料,命名为 D1、D2、D3、D4、D5 (表 1)。固体原料超微粉碎过 200 目标准筛,按配比称重,加入新鲜鱼油及适量蒸馏水混匀,用小型颗粒饲料挤压机制成直径为 0.3 cm 的颗粒,60 °C 烘干,用小型粉碎机破碎,筛选粒度在 80 ~ 100 目之间的颗粒备用。

表 1 实验饲料配方及基本成分

原料 ingredients	组别 groups					%
	D1	D2	D3	D4	D5	
海泥 sea mud	35	34	33	32	31	
包膜精氨酸 coated arginine	0	1	2	3	4	
鱼油 fish oil	1	1	1	1	1	
磷脂 phospholipid	1	1	1	1	1	
维生素预混料 vitamin premix <sup>a</sup>	2	2	2	2	2	
矿物质预混料 mineral premix <sup>a</sup>	1	1	1	1	1	
其它 others <sup>b</sup>	60	60	60	60	60	
合计 total	100	100	100	100	100	
<b>营养成分(干重) proximate composition (DM)</b>						
粗蛋白 crude protein	20.52	20.96	21.38	21.83	22.29	
粗脂肪 crude lipid	3.97	4.01	3.94	4.03	4.07	
粗灰分 crude ash	43.44	42.89	41.37	40.81	40.26	
能量/(kJ/g) gross energy	10.23	10.33	10.43	10.52	10.62	
精氨酸 Arg	0.32	0.73	1.16	1.61	1.99	

注:a. 维生素及矿物质预混料配方参考王际英等<sup>[12]</sup>; b. 鱼粉 10%, 大豆浓缩蛋白 10%, 豆粕 15%, 虾粉 5%, 面粉 10%

Notes: a. formulas of vitamins and minerals are the same as Wang J Y, et al<sup>[12]</sup>; b. fish meal 10%, soy protein concentrated 10%, soy meal 15%, shrimp powder 5%; wheat meal 10%

## 1.2 实验用参及实验管理

养殖实验在山东省海洋资源与环境研究院东营实验基地循环水养殖系统中进行,实验用的仿刺参购自山东蓬莱安源水产有限公司。实验开始前,1 000 头体质量 9 g 左右的仿刺参幼参放养于养殖系统中,使其适应养殖环境。21 d 后,挑选伸展状态好、肉刺尖挺的幼参 450 头,随机平均置于 15 个循环水桶 (Φ 65 cm × 80 cm) 中,每桶放置海参养殖筐 1 个,控制水深 60 cm,水流速 2 L/min。每天投喂 1 次 (16:00),投喂量为仿刺参初始体质量的 3%,饲料投喂时加入适量水润湿,泼洒投喂,每天观察仿刺参摄食情况,调整次日投喂量。实验期间,每隔 2 天换水 1 次,换水时用虹吸法将残饵粪便吸出。每隔 15 d 更换海参养殖筐 1 次。养殖期间,控制水温 19 ~ 21 °C,盐度 30, DO > 7 mg/L,氨氮 < 0.05 mg/L。实验时间为 2013 年 8 月 2 日—9 月 30 日,共 60 d。

## 1.3 样品采集与计算

养殖实验结束后,停饲 48 h。将仿刺参全部

捞出计数,放置在洁净的泡沫板上,待其自然舒展后称总重,然后随机选取 15 头,测量体长和体质量后解剖,采集体壁、肠道和体腔液,测量体壁重、肠道重和肠道长,计算增重率、特定生长率、饲料系数、蛋白质效率、成活率、脏壁比、肠壁比及肠长比。体腔液用超声波细胞破碎仪破碎后过 0.45 μm 滤膜,肠道用 0.75% 生理盐水冲洗干净,与体壁一起置于 -20 °C 保存,待测。

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

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) =  $(\ln W_t - \ln W_0) / d \times 100$ ;

饲料系数 (feed conversion ratio, FCR) =  $F / (W_t - W_0)$ ;

蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER, %) =  $(W_t - W_0) / (CP_d \times F)$ ;

存活率 (survival rate, SR, %) = 实验结束时参数 / 实验开始时参数 × 100;

脏壁比 (ratio of visceral weight to body wall

weight, VBR, %) =  $W_v/W_b \times 100$ ;

肠壁比 (ratio of intestine weight to body wall weight, IBR, %) =  $W_i/W_b \times 100$ ;

肠长比 (ratio of intestine length to body length, IBL) =  $L_i/L_b$ ;

式中,  $W_i$  为末体质量,  $W_0$  为初始体质量,  $d$  为实验天数,  $F$  为投喂量,  $CP_d$  为饲料粗蛋白含量,  $W_v$  为内脏重量,  $W_b$  为体壁重量,  $W_i$  为肠道重量,  $L_i$  为肠道长度,  $L_b$  为体长。

#### 1.4 样品测定

饲料及体壁中水分用 105 °C 恒重法测定, 粗蛋白含量用 Dumas 燃烧法 (Leco, FP-528), 粗脂肪用乙醚浸提法测定, 粗灰分用马弗炉灼烧法测定, 能量用氧弹仪燃烧法 (PARR, 6100) 测定; 体壁酸水解后, 用安捷伦 1200 系列 HPLC 测定氨基酸; 羟脯氨酸用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。

体腔液中总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD)、总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC)、一氧化氮 (nitric oxide, NO) 及一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOS) 均采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。

体腔液中碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP), 谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 及谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 采用生化分析仪 (Hitachi, 7020) 测定, 试剂购于北京利德曼生化股份有限公司。

肠道粗酶液用吴永恒等<sup>[13]</sup>的方法提取。蛋白酶 (protease) 活力采用福林酚方法测定, 在 pH 8.0, 50 °C 条件下, 每分钟分解酪蛋白生成 1 μg 酪氨酸的肠道蛋白的量为一个酶活力单位 (U); 纤维素酶 (cellulase) 活力采用沈文英等<sup>[14]</sup>方法测定, 在 pH 7.0, 30 °C 条件下, 每分钟催化纤维素生成 1 mg 葡萄糖的肠道蛋白的量为 1 个酶活力单位 (U)<sup>[15]</sup>; 淀粉酶 (amylase) 及脂肪酶 (lipase) 活力采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。

#### 1.5 数据统计

实验所得数据采用 Microsoft Excel 2007 及 SPSS® (SPSS, Inc, Chicago, IL) 11.0 软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 结果以平均值 ± 标准差 (mean ± SD) 表示, 差异显著 ( $P < 0.05$ ) 时用 Duncan 氏检验进行多重比较分析。

## 2 结果

### 2.1 精氨酸对仿刺参生长性能及形体指标的影响

饲料精氨酸含量对各组仿刺参成活率无显著影响, 但随着精氨酸含量的增加, 实验组仿刺参增重量、增重率、特定生长率及蛋白质效率均呈先升后降的趋势, 并在 D4 组达到最高值, 显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。D3、D4 及 D5 组仿刺参脏壁比、肠壁比及肠长比显著低于 D1 与 D2 组 ( $P < 0.05$ ), 但 3 组之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 2 饲料精氨酸对仿刺参幼参生长性能及形体指标的影响  
Tab. 2 Effects of dietary arginine on growth performance and figure indices of sea cucumber *A. japonicus* juveniles

	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	0.32 (D1)	0.73 (D2)	1.16 (D3)	1.61 (D4)	1.99 (D5)
初体质量/g initial body weight	9.12 ± 0.08	9.05 ± 0.06	9.11 ± 0.08	9.10 ± 0.04	9.11 ± 0.09
末体质量/g final body weight	13.80 ± 0.30 <sup>a</sup>	16.12 ± 0.28 <sup>b</sup>	19.51 ± 0.51 <sup>c</sup>	21.41 ± 0.58 <sup>d</sup>	18.85 ± 0.69 <sup>c</sup>
增重量/g WG	4.68 ± 0.23 <sup>a</sup>	7.07 ± 0.25 <sup>b</sup>	10.40 ± 0.48 <sup>c</sup>	12.31 ± 0.55 <sup>d</sup>	9.74 ± 0.60 <sup>c</sup>
增重率/% WGR	51.32 ± 2.11 <sup>a</sup>	78.08 ± 2.78 <sup>b</sup>	114.08 ± 4.83 <sup>c</sup>	135.3 ± 5.64 <sup>d</sup>	106.88 ± 5.53 <sup>c</sup>
特定生长率/% d SGR	0.69 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.27 ± 0.04 <sup>c</sup>	1.42 ± 0.04 <sup>d</sup>	1.21 ± 0.05 <sup>c</sup>
投喂量/g feed amount	900.00	900.00	900.00	874.00	874.00
饲料系数 FCR	6.42 ± 0.30 <sup>d</sup>	4.24 ± 0.16 <sup>c</sup>	2.88 ± 0.14 <sup>b</sup>	2.38 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.00 ± 0.19 <sup>b</sup>
蛋白质效率/% PER	78.94 ± 3.86 <sup>a</sup>	117.25 ± 4.25 <sup>b</sup>	168.54 ± 7.66 <sup>c</sup>	200.95 ± 8.95 <sup>d</sup>	155.48 ± 8.54 <sup>c</sup>
脏壁比/% VBR	18.43 ± 0.93 <sup>b</sup>	17.4 ± 0.7 <sup>ab</sup>	16.5 ± 0.98 <sup>a</sup>	15.83 ± 0.7 <sup>a</sup>	16.57 ± 0.71 <sup>a</sup>
肠壁比/% IBR	4.64 ± 0.38 <sup>b</sup>	4.44 ± 0.27 <sup>b</sup>	3.59 ± 0.35 <sup>a</sup>	3.08 ± 0.48 <sup>a</sup>	3.67 ± 0.31 <sup>a</sup>
肠长比 IBL	4.24 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.96 ± 0.19 <sup>ab</sup>	3.87 ± 0.19 <sup>a</sup>	3.64 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.70 ± 0.19 <sup>a</sup>
成活率/% SR	86.67 ± 8.81	81.11 ± 8.38	82.22 ± 7.69	88.89 ± 7.70	83.33 ± 8.81

注: 表格中同行肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下表同

Notes: In the same row, values with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant differences ( $P > 0.05$ ), different small letter superscripts mean significant differences ( $P < 0.05$ ). The same as the following

分别以增重率和饲料系数为评价指标,经二次曲线回归拟合,体质量 9.10 g 的仿刺参饲料精氨酸最适含量为 1.55% 饲料(7.10% 饲料粗蛋白)和 1.54% (7.05% 饲料粗蛋白)(图 1)。

## 2.2 精氨酸对仿刺参体壁基本成分及氨基酸含量的影响

饲料精氨酸显著提高了仿刺参体壁粗蛋白含量( $P < 0.05$ ),降低了粗灰分含量( $P < 0.05$ )。饲料精氨酸含量对仿刺参体壁水分及粗脂肪含量影响不显著( $P > 0.05$ )(表 3)。

饲料精氨酸含量显著提高了仿刺参体壁天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、精氨酸、甘氨酸、亮氨酸、组氨酸、酪氨酸及羟脯氨酸含量( $P < 0.05$ ),降低了赖氨酸含量( $P < 0.05$ ),但是对丙氨酸、脯氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸及半胱氨酸含量无显著影响( $P > 0.05$ );饲料

精氨酸含量显著提高了仿刺参体壁必需氨基酸及总氨基酸的含量( $P < 0.05$ )(表 4)。

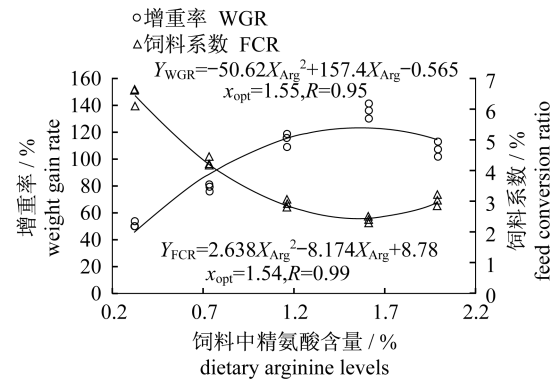


图 1 饲料精氨酸对仿刺参幼参增重率和饲料系数的影响  
Fig. 1 Relationships between weight gain rate (WGR) or feed conversion ratio (FCR) and dietary arginine levels in juvenile sea cucumber *A. japonicus* based on quadratic regression analysis

表 3 饲料精氨酸对仿刺参幼参体壁基本成分的影响  
Tab. 3 Effects of dietary arginine on approximate composition of body wall of sea cucumber *A. japonicus* juveniles  $n = 6$

	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	0.32 (D1)	0.73 (D2)	1.16 (D3)	1.61 (D4)	1.99 (D5)
水分 moisture	91.81 ± 0.63	91.82 ± 0.57	91.93 ± 0.77	92.41 ± 0.48	92.06 ± 0.21
粗蛋白 crude protein <sup>a</sup>	43.13 ± 0.64 <sup>a</sup>	44.51 ± 0.41 <sup>b</sup>	45.97 ± 0.04 <sup>c</sup>	46.33 ± 0.23 <sup>cd</sup>	46.84 ± 0.28 <sup>d</sup>
粗脂肪 crude lipid <sup>a</sup>	2.06 ± 0.45	2.28 ± 0.56	2.42 ± 0.71	2.03 ± 0.43	2.44 ± 0.17
粗灰分 crude ash <sup>a</sup>	34.78 ± 1.84 <sup>b</sup>	34.25 ± 0.87 <sup>ab</sup>	33.07 ± 1.57 <sup>a</sup>	33.06 ± 1.54 <sup>a</sup>	33.63 ± 0.79 <sup>ab</sup>

注:a. 粗蛋白、粗脂肪、粗灰分含量为干基含量

Notes: a. contents of crude protein, crude lipid and crude ash are based on dry basis

表 4 饲料精氨酸对仿刺参幼参体壁氨基酸含量的影响  
Tab. 4 Effects of dietary arginine on amino acid contents of body wall of sea cucumber *A. japonicus* juveniles mg/kg,  $n = 3$

	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	0.32 (D1)	0.73 (D2)	1.16 (D3)	1.61 (D4)	1.99 (D5)
天冬氨酸 Asp	35.46 ± 0.52 <sup>a</sup>	38.09 ± 1.52 <sup>b</sup>	37.90 ± 1.13 <sup>b</sup>	41.61 ± 1.53 <sup>c</sup>	40.89 ± 0.82 <sup>c</sup>
谷氨酸 Glu	66.60 ± 2.89 <sup>a</sup>	66.54 ± 0.97 <sup>a</sup>	68.46 ± 4.97 <sup>ab</sup>	68.76 ± 0.73 <sup>b</sup>	70.94 ± 0.99 <sup>c</sup>
丝氨酸 Ser	17.18 ± 1.91 <sup>ab</sup>	18.57 ± 0.96 <sup>b</sup>	16.21 ± 0.46 <sup>a</sup>	17.27 ± 1.16 <sup>ab</sup>	18.72 ± 0.32 <sup>b</sup>
苏氨酸 Thr	16.17 ± 1.01 <sup>a</sup>	17.45 ± 0.86 <sup>a</sup>	16.57 ± 3.60 <sup>a</sup>	19.21 ± 1.22 <sup>b</sup>	17.37 ± 0.29 <sup>a</sup>
精氨酸 Arg	33.02 ± 1.25 <sup>a</sup>	34.76 ± 0.96 <sup>ab</sup>	35.88 ± 1.36 <sup>bc</sup>	37.71 ± 1.12 <sup>c</sup>	37.22 ± 1.45 <sup>c</sup>
甘氨酸 Gly	41.16 ± 2.52 <sup>a</sup>	42.24 ± 3.46 <sup>ab</sup>	44.31 ± 1.31 <sup>ab</sup>	46.23 ± 1.59 <sup>b</sup>	44.16 ± 1.41 <sup>ab</sup>
丙氨酸 Ala	21.09 ± 1.00	21.48 ± 0.72	22.16 ± 0.94	21.69 ± 1.21	22.73 ± 0.78
脯氨酸 Pro	12.33 ± 0.60	13.23 ± 1.26	12.84 ± 0.64	12.85 ± 1.54	13.56 ± 0.31
缬氨酸 Val	18.05 ± 0.72	19.43 ± 1.59	19.23 ± 1.94	20.25 ± 1.11	20.76 ± 2.23
蛋氨酸 Met	6.60 ± 0.08	6.96 ± 0.91	6.49 ± 0.44	6.09 ± 0.96	6.49 ± 0.93
异亮氨酸 Ile	12.78 ± 0.29	14.16 ± 1.00	14.28 ± 0.41	14.24 ± 1.24	14.63 ± 0.43
亮氨酸 Leu	19.29 ± 0.21 <sup>a</sup>	20.34 ± 0.45 <sup>ab</sup>	21.15 ± 0.70 <sup>b</sup>	20.21 ± 1.43 <sup>ab</sup>	21.19 ± 1.06 <sup>b</sup>
苯丙氨酸 Phe	12.70 ± 0.15	13.85 ± 0.93	13.87 ± 0.22	14.26 ± 1.85	14.27 ± 0.52

续表 5

	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	0.32(D1)	0.73(D2)	1.16(D3)	1.61(D4)	1.99(D5)
半胱氨酸 Cys	4.06 ± 0.32	3.93 ± 0.72	3.97 ± 1.09	5.08 ± 0.85	3.98 ± 0.51
赖氨酸 Lys	18.76 ± 0.62 <sup>c</sup>	18.31 ± 0.43 <sup>bc</sup>	17.72 ± 0.76 <sup>b</sup>	15.54 ± 1.14 <sup>a</sup>	16.43 ± 0.99 <sup>a</sup>
组氨酸 His	4.12 ± 0.52 <sup>a</sup>	5.24 ± 0.76 <sup>ab</sup>	5.09 ± 0.78 <sup>ab</sup>	6.56 ± 1.14 <sup>b</sup>	5.99 ± 0.55 <sup>b</sup>
酪氨酸 Tyr	10.78 ± 0.32 <sup>a</sup>	10.93 ± 0.81 <sup>a</sup>	10.72 ± 1.57 <sup>a</sup>	11.33 ± 0.95 <sup>ab</sup>	13.02 ± 0.81 <sup>b</sup>
羟脯氨酸 Hyp	25.64 ± 1.75 <sup>a</sup>	30.27 ± 1.85 <sup>b</sup>	36.61 ± 1.94 <sup>c</sup>	39.48 ± 1.27 <sup>c</sup>	40.55 ± 2.04 <sup>c</sup>
必需氨基酸 EAA	141.49 ± 3.29 <sup>a</sup>	149.55 ± 3.42 <sup>b</sup>	149.28 ± 1.50 <sup>b</sup>	151.41 ± 5.20 <sup>c</sup>	153.35 ± 3.27 <sup>c</sup>
总氨基酸 TAA	375.79 ± 10.09 <sup>a</sup>	394.84 ± 5.32 <sup>b</sup>	402.48 ± 4.95 <sup>b</sup>	415.73 ± 8.42 <sup>c</sup>	421.89 ± 6.94 <sup>c</sup>

### 2.3 精氨酸对仿刺参体腔液酶活力的影响

随着饲料精氨酸含量的增加,体腔液中 T-SOD、T-AOC、NO、NOS、AKP、ALT 及 AST 活力均有显著提高 ( $P < 0.05$ ) (表 5)。其中, D3、D4、D5 组 T-SOD 活力显著高于 D1 组 ( $P < 0.05$ ), 但与 D2 组无显著差异 ( $P > 0.05$ ); D4、D5 组 T-AOC 显著高于其他 3 组, D2、D3 组显著高于 D1 组 ( $P < 0.05$ ); NO 及 NOS 随着饲料精氨酸含量的升高而逐渐升高 ( $P < 0.05$ ), 并在 D5 组达到最大值; AKP 活力呈先上升后平稳的趋势, D3、D4、D5 组活力显著高于 D1 组; D1 组 ALT 及 AST 活力显著低于 D4、D5 组 ( $P < 0.05$ ), 但与 D2、D3

组之间无显著差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.4 精氨酸对仿刺参肠道消化酶活力的影响

饲料精氨酸含量降低了仿刺参肠道蛋白酶活力 ( $P < 0.05$ ), 提高了纤维素酶活力 ( $P < 0.05$ ), 而淀粉酶及脂肪酶活力不受饲料精氨酸含量的影响 ( $P > 0.05$ ) (表 6)。仿刺参肠道蛋白酶活力与饲料精氨酸含量呈显著的二次负相关关系 ( $Y_{\text{酶活}} = -3.228X_{\text{精氨酸}}^2 + 2.865X_{\text{精氨酸}} + 26.24$ ,  $R^2 = 0.934$ ) (图 2); D3、D4 和 D5 组纤维素酶活力显著高于 D1 和 D2 组 ( $P < 0.05$ ), D1、D2 组之间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 5 饲料精氨酸对仿刺参幼参体腔液酶活力的影响

Tab. 5 Effects of dietary arginine on enzyme activities of coelomic fluid of sea cucumber *A. japonicus* juveniles

n = 6

	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	0.32(D1)	0.73(D2)	1.16(D3)	1.61(D4)	1.99(D5)
总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	62.82 ± 2.84 <sup>a</sup>	65.61 ± 3.79 <sup>ab</sup>	69.01 ± 2.57 <sup>b</sup>	69.63 ± 1.91 <sup>b</sup>	69.94 ± 3.65 <sup>b</sup>
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	6.66 ± 0.49 <sup>a</sup>	13.44 ± 1.27 <sup>b</sup>	14.18 ± 1.35 <sup>b</sup>	17.51 ± 1.20 <sup>c</sup>	17.64 ± 1.43 <sup>c</sup>
一氧化氮/(μmol/mL) NO	5.95 ± 0.08 <sup>a</sup>	6.57 ± 0.16 <sup>b</sup>	7.75 ± 0.60 <sup>c</sup>	9.47 ± 0.32 <sup>d</sup>	10.95 ± 0.22 <sup>e</sup>
一氧化氮合成酶/(U/mL) NOS	21.59 ± 4.82 <sup>a</sup>	36.93 ± 2.18 <sup>b</sup>	54.55 ± 3.21 <sup>c</sup>	69.31 ± 8.04 <sup>d</sup>	95.55 ± 4.27 <sup>e</sup>
碱性磷酸酶/(U/mL) AKP	2.34 ± 0.58 <sup>a</sup>	4.33 ± 0.58 <sup>b</sup>	5.67 ± 1.15 <sup>bc</sup>	6.67 ± 1.15 <sup>c</sup>	6.33 ± 1.15 <sup>c</sup>
谷丙转氨酶/(U/mL) ALT	4.20 ± 0.36 <sup>a</sup>	4.63 ± 0.32 <sup>ab</sup>	4.77 ± 0.31 <sup>ab</sup>	5.13 ± 0.64 <sup>b</sup>	5.37 ± 0.47 <sup>b</sup>
谷草转氨酶/(U/mL) AST	4.43 ± 0.58 <sup>a</sup>	5.10 ± 0.62 <sup>ab</sup>	5.47 ± 0.57 <sup>ab</sup>	6.23 ± 0.76 <sup>b</sup>	5.90 ± 0.32 <sup>b</sup>

表 6 饲料精氨酸对仿刺参幼参肠道消化酶活力的影响

Tab. 6 Effects of dietary arginine on digestive enzyme activities of intestine of sea cucumber *A. japonicus* juveniles

n = 6

	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	0.32(D1)	0.73(D2)	1.16(D3)	1.61(D4)	1.99(D5)
蛋白酶/(U/mg prot) protease	26.36 ± 1.85 <sup>b</sup>	27.89 ± 2.51 <sup>b</sup>	24.19 ± 2.49 <sup>b</sup>	22.63 ± 1.84 <sup>b</sup>	19.27 ± 2.95 <sup>a</sup>
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	6.63 ± 0.26	6.83 ± 0.38	6.76 ± 0.41	7.17 ± 0.55	6.98 ± 0.36
脂肪酶/(U/mg prot) lipase	0.74 ± 0.10	0.86 ± 0.09	0.78 ± 0.05	0.87 ± 0.13	0.81 ± 0.08
纤维素酶/(U/mg prot) cellulase	0.75 ± 0.57 <sup>a</sup>	1.29 ± 0.42 <sup>a</sup>	1.58 ± 0.29 <sup>b</sup>	1.85 ± 0.44 <sup>b</sup>	1.96 ± 0.73 <sup>b</sup>

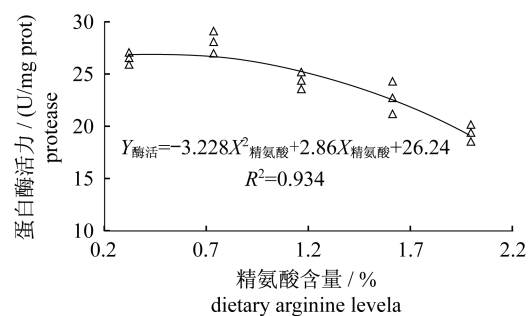


图2 饲料精氨酸对刺参肠道蛋白酶活力的影响  
Fig.2 Relationship between protease activities and dietary arginine levels(%) in juvenile sea cucumber *A. japonicus* based on quadratic regression analysis

### 3 讨论

#### 3.1 饲料中添加精氨酸对仿刺参生长及体成分的影响

关于精氨酸促进动物生长研究的报道已有很多,精氨酸可从激素、细胞及分子水平上影响动物生长及组织蛋白的合成<sup>[16-17]</sup>。本实验中,低水平精氨酸组仿刺参没有出现生长抑制或病理现象,随着饲料精氨酸含量的增加,仿刺参的生长性能得到了显著改善,这与在一些鱼类上的研究类似<sup>[3,18-19]</sup>,但随着饲料精氨酸含量的进一步提高,不同的水生动物表现出不同的生长响应,中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)<sup>[20]</sup>、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)<sup>[21]</sup>、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)<sup>[22]</sup>等表现为生长性能降低,而银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)<sup>[16]</sup>、斑点鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[23]</sup>、红拟石首鱼(*Sciaenops ocellata*)<sup>[24]</sup>等表现为维持生长性能。这主要是由3种原因导致:①饲料精氨酸水平。目前,针对精氨酸需求研究多为单因素梯度实验,梯度的大小可能影响实验动物的生长表征。从氨基酸平衡角度分析,饲料中过高的精氨酸含量会导致动物对氨基酸利用的紊乱<sup>[18,25-26]</sup>,由此导致动物生长受阻;②养殖环境。实验所采用的基础饲料<sup>[27]</sup>、养殖条件、养殖动物不同生长阶段<sup>[28-29]</sup>、养殖管理等也是造成研究结果存在差异的原因;③养殖动物的生理功能。某些鱼类体内存在着与哺乳动物类似的精氨酸合成途径和机制<sup>[23]</sup>,可以将瓜氨酸和鸟氨酸转化为精氨酸,而仿刺参是比鱼类低等的生物,其体内很可能不存在精氨酸合成体系,因此,其机体对饲料精氨酸含

量的反应更为明显<sup>[30]</sup>,这有待于进一步研究。

以增重率或饲料系数为评价指标,仿刺参幼参精氨酸的最适需求量为1.55%和1.54%,相当于占饲料粗蛋白的7.10%和7.05%。该数值(占饲料粗蛋白)远高于鱼类对精氨酸的需求<sup>[31-32]</sup>。仿刺参对饲料粗蛋白的需求远低于一般海水鱼类<sup>[33-34]</sup>,而其体壁10种必需氨基酸中精氨酸含量最高,仿刺参快速增长需要补充大量精氨酸,因此,其对精氨酸的需求量远高于海水鱼类。在营养需求研究中,通常采用生长速率指标或营养物质利用率指标评价其最适需求量,但后一类指标在很大程度上依赖于对养殖动物的管理<sup>[35]</sup>。在仿刺参养殖实验中,摄食量是非常难以控制的,因此,对其饲料系数的计算只能以投喂量为依据,由此导致了饲料转化率高于实际数值。本实验中,以饲料系数为评价指标经二次回归得出的精氨酸最适需求量虽然与以增重率为评价指标得出的数值较为接近,但只能作为参考。

饲料精氨酸含量增加,提高了仿刺参体壁粗蛋白的沉积,这与在中华绒螯蟹<sup>[20]</sup>和海水鱼<sup>[21-24]</sup>上的研究一致。随着精氨酸含量的增加,饲料氨基酸模式得到改善,从而提高了养殖动物对饲料粗蛋白的利用。随着精氨酸含量的继续增加,氨基酸模式遭到破坏,尤其是精氨酸与赖氨酸之间发生了拮抗作用<sup>[1]</sup>,降低了体壁粗蛋白的沉积。随着饲料精氨酸含量的增加,仿刺参体壁必需氨基酸中精氨酸含量增加最显著,各实验组苏氨酸、亮氨酸、赖氨酸、组氨酸含量虽然显著高于对照组,但各实验组之间无显著差异,此外,赖氨酸含量只有高精氨酸组才有了显著降低,说明只有在某种氨基酸含量变化明显时,氨基酸之间的协同或拮抗作用才比较明显,由此推测,水生动物最优氨基酸模式可能为一个范围。饲料精氨酸含量的增加,显著增加了体壁羟脯氨酸和必需氨基酸的含量,说明体壁中胶原蛋白的含量有了显著提高。胶原蛋白和必需氨基酸含量的增加,提高了仿刺参的可食性和营养价值。

#### 3.2 饲料中添加精氨酸对仿刺参体腔液酶活力的影响

仿刺参体内免疫反应主要分为细胞免疫和体液免疫,二者之间密切相关,相辅相成<sup>[36]</sup>,仿刺参体腔液中主要免疫或抗氧化酶活性可以反映仿刺参机体的生理状况。SOD和T-AOC是机体抗氧

化酶系中2个重要的酶,在清除氧自由基,防止生物分子损伤方面具有重要作用。本实验中,随着饲料精氨酸含量的增加,仿刺参体腔液中T-SOD活力和T-AOC有显著提高,但各添加组之间差异不大,说明饲料中添加适量精氨酸能提高仿刺参机体抗氧化能力,这与在团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)<sup>[37]</sup>和凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)<sup>[38]</sup>上的研究一致。本实验中,NOS及NO含量随着饲料精氨酸含量的升高而显著升高,NOS是仿刺参敏感免疫学指标<sup>[39]</sup>,而NO的生成依赖于NOS,NO是软体动物体内重要的免疫调节因子和神经信使分子<sup>[40]</sup>。在杂色鲍(*Haliotis diversicolor*)上的研究表明,NO与SOD、NOS、ALP等免疫指标存在良好的相关性<sup>[41]</sup>。因此,可以推测转氨酶是催化氨基酸与酮酸之间氨基转移的一类酶,普遍存在于动物心肌、脑、肝、肾等组织中,谷丙转氨酶和谷草转氨酶通常被用来评价动物肝脏细胞受损的状况。在哺乳动物和鱼类上的研究表明,肝脏是重要营养物质合成代谢器官。仿刺参作为一种低营养等级的沉食性底栖生物,不具备肝脏等功能性器官<sup>[42-43]</sup>,因此,其营养物质的合成代谢与鱼类存在较大差异。本实验中,体腔液中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力随着饲料精氨酸的含量而显著上升,说明体腔液中氨基酸代谢活力有了显著升高,由此推测,体腔液可能参与了仿刺参营养物质代谢,但具体途径有待于进一步研究。

### 3.3 饲料中添加精氨酸对仿刺参肠道消化酶活力的影响

目前,关于仿刺参消化酶的报道较多,研究结果不尽相同,付雪艳<sup>[44]</sup>研究认为前肠具有较高的酸性蛋白酶及丝氨酸蛋白酶活力,后肠超碱性蛋白酶活力最高;而姜令绪等<sup>[15]</sup>研究表明,在偏碱性范围内,中肠蛋白酶活力最高;且报道的蛋白酶活力差异也很大。造成这种结果的原因除了对消化道的分节存在差异外,与实验仿刺参的不同生长阶段<sup>[45]</sup>及测定条件<sup>[15]</sup>也密切相关。本实验中,实验仿刺参末体质量较小(13~20)g,肠道重量约为(0.4~1.5)g,前中后肠分节不明显,故取整个肠道进行消化酶的测定。

本实验中,饲料精氨酸含量降低了仿刺参肠道蛋白酶活力,且蛋白酶活力与饲料精氨酸水平呈显著二次负相关关系( $Y_{酶活} = -3.228X_{精氨酸}^2 +$

$2.865X_{精氨酸} + 26.24, R^2 = 0.934$ )。目前,关于精氨酸与机体蛋白酶之间的关系尚未见报道,但付雪艳<sup>[44]</sup>、李淑霞<sup>[46]</sup>研究证明,仿刺参肠道蛋白酶在pH 8.0的条件下,活性最大的可能为丝氨酸蛋白酶中的胶原蛋白酶。胶原蛋白酶作用于蛋白质中L-精氨酸、L-赖氨酸、甘氨酸和L-瓜氨酸残基。饲料精氨酸含量增加相当于增加了酶产物浓度,从而抑制了酶活性。此外,精氨酸含量上升可能破坏了饲料的氨基酸平衡,从而导致了蛋白质消化利用率降低,这与王吉桥等<sup>[47]</sup>在饲料添加赖氨酸对仿刺参消化酶活力影响研究一致。仿刺参肠道内纤维素酶活力较低且周年变化不明显,受肠道中微生物数量和种类的影响较大<sup>[48]</sup>,本实验中纤维素酶活力上升的原因可能是精氨酸含量影响了仿刺参肠道微生物,从而使纤维素酶活力发生了改变。本实验中,肠道中淀粉酶和脂肪酶不受饲料精氨酸含量的影响,这与在仿刺参<sup>[47]</sup>、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[49]</sup>、大菱鲆<sup>[50]</sup>、宝石鲈(*Scortum bacoo*)<sup>[51]</sup>等中的研究类似,说明添加晶体氨基酸对脂肪及淀粉的代谢影响甚微。

### 参考文献:

- [1] Kaushik S J, 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(1-2): 75-95.
- [2] Zimmermann N, Rothenberg M E. The arginine-arginase balance in asthma and lung inflammation [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2006, 533(1-3): 253-262.
- [3] Alam M S, Teshima S, 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.
- [4] 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(1-2): 72-80.
- [5] Cheng Z Y, 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,2012,362-363:39-43.
- [6] Zhou Q C, Zeng W P, Wang H L, *et al.* Dietary arginine requirement of juvenile yellow grouper *Epinephelus awoara* [J]. Aquaculture, 2012, 350-353:175-182.
- [7] Oehme M, Grammes F, Takle H, *et al.* Dietary supplementation of glutamate and arginine to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) increases growth during the first autumn in sea [J]. Aquaculture, 2010, 310(1-2):156-163.
- [8] Wang Y H, Li P B, Li T, *et al.* Study on nutritional Components of *Stichopus japonicus* [J]. Amino Acids & Biotic Resources, 2010, 32(4):35-37. [王永辉, 李培兵, 李天, 等. 刺参的营养成分分析. 氨基酸和生物资源, 2010, 32(4):35-37.]
- [9] Guo Q. Studies on the refolding and structure of arginine kinase from sea cucumber *Stichopus japonicus* [D]. Beijing: Tsinghua University, 2005: 52-64. [郭勤. 海参精氨酸激酶的折叠与结构研究. 北京: 清华大学, 2005:52-64.]
- [10] Hu Y J, Zhou A G, Yang F, *et al.* Study on the suitable feed processing parameter for starch gelatinization [J]. Feed Industry, 2002, 23(12):5-8. [胡友军, 周安国, 杨凤, 等. 饲料淀粉糊化的适宜加工工艺参数研究 [J]. 饲料工业, 2002, 23(12):5-8.]
- [11] Wang G. Studies on improvement of adding effect of crystalline amino acids by microcapsule technology [D]. Shanghai: Shanghai Fisheries University, 2005: 37-46. [王冠. 利用微胶囊技术改善晶体氨基酸添加效果的研究. 上海: 上海水产大学, 2005: 37-46.]
- [12] Wang J Y, Song Z D, Li P Y, *et al.* Effects of dietary galactomannan oligosaccharides on growth, digestion, body wall nutritional composition and immunity of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 2(2):310-319. [王际英, 宋志东, 李培玉, 等. 饲料添加半乳甘露寡糖对刺参幼参生长、体壁营养组成及免疫力的影响. 中国水产科学, 2014, 2(2):310-319.]
- [13] Wu Y H, Wang Q Y, Feng Z F, *et al.* The effect of dietary protein on the enzymes and intestinal structure of *Apostichopus japonicus* [J]. Marine Science, 2012, 36(1):36-41. [吴永恒, 王秋月, 冯政夫, 等. 饲料粗蛋白含量对刺参消化酶及消化道结构的影响. 海洋科学, 2012, 36(1):36-41.]
- [14] Shen W Y, Hu H G, Pan Y J. Effects of temperature and pH on activity of digestive enzymes in shrimp *Penaeus vannamei* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2004, 35(6):543-548. [沈文英, 胡红国, 潘雅娟. 温度和 pH 对南美白对虾 (*Penaeus vannamei*) 消化酶活性的影响. 海洋与湖沼, 2004, 35(6):543-548.]
- [15] Jiang L X, Yang N, Li J, *et al.* Effects of temperature and pH on the activities of digestive enzymes in *Apostichopus japonicus* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2008, 38(5):476-480. [姜令绪, 杨宁, 李建, 等. 温度和 pH 对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 消化酶活力的影响. 海洋与湖沼, 2008, 38(5):476-480.]
- [16] Luzzana U, Hardy R W, Halver J E. Dietary arginine requirement of fingerling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. Aquaculture, 1998, 163(1-2):137-150.
- [17] Kawk H, Austic R E, Dietert R R. Influence of dietary arginine concentration on lymphoid organ growth in chickens [J]. Poultry Science, 1999, 78(11):1536-1541.
- [18] 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, 2011:77-88. [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. 杭州: 浙江大学, 2011:77-88.]
- [19] Zhou H Y. Assessment of arginine requirement for largemouth bass, *Micropterus salmoides* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2011:33-35. [周恒永. 大口黑鲈对饲料中精氨酸需求量的研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2011:33-35.]
- [20] Ye J Y, Wang Y H, Guo J L, *et al.* Lysine, methionine and arginine requirements of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(10):1541-1548. [叶金云, 王友慧, 郭建林, 等. 中华绒螯蟹对赖氨酸、蛋氨酸和精氨酸的需要量. 水产学报, 2010, 34(10):1541-1548.]
- [21] Wei Y T. Studies on requirements of dietary methionine, arginine, vitamin A, vitamin E for turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010:29-30. [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. 青岛: 中国海洋大学, 2010:29-30.]
- [22] Zhao H X, Wu J M, Wu J K, *et al.* Studies of



- arginine requirement for juvenile cobia [J]. Journal of South China Agricultural University, 2007, 28 (4): 87 - 90. [赵红霞, 曹俊明, 吴建开, 等. 军曹鱼幼鱼对饲料中精氨酸的需要量. 华南农业大学学报, 2007, 28(4): 87 - 90.]
- [23] Buentello J A, Gatlin III D M. The dietary arginine requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) is influenced by endogenous synthesis of arginine from glutamic acid [J]. Aquaculture, 2000, 188 (3 - 4): 311 - 321.
- [24] Cheng Z Y, 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.
- [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 - 4): 181 - 193.
- [26] Iaccarino D, Uliano E, Agnisola C. Effects of arginine and/or lysine diet supplementation on nitrogen excretion in zebrafish [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-part A: molecular & Integrative Physiology, 2009, 154 (1): 36 - 37.
- [27] Fournier V, Gouillou-Coustans M F, Metailler R, et al. Excess dietary arginine affects urea excretion but does not improve N utilization in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and turbot *Psetta maxima* [J]. Aquaculture, 2003, 217 (1 - 4): 559 - 576.
- [28] Griffin M F, Wilson K A, Brown P B. Dietary arginine requirement of juvenile hybrid striped bass [J]. The Journal of Nutrition, 1994, 124 (6): 888 - 893.
- [29] Yao Y F, Zhang J H, Fang J G, et al. Effects of water temperatures and diets quality on the ingestion rate of different size *Apostichopus japonicus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38 (7): 992 - 998. [姚永峰, 张继红, 方建光, 等. 温度、饵料质量对不同规格刺参摄食率、吸收率的影响. 水产学报, 2014, 38(7): 992 - 998.]
- [30] Wan J L, Mai K S, Ai Q H. The recent advance on arginine nutritional physiology in fish [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13 (4): 679 - 685. [万军利, 麦康森, 艾庆辉. 鱼类精氨酸营养生理研究进展. 中国水产科学, 2006, 13(4): 679 - 685.]
- [31] 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]. Journal of Applied Ichthyology, 2007, 23 (3): 252 - 257.
- [32] Murillo-Gurrea D P, Coloso R M, Borlongan I G, et al. Lysine and arginine requirements of juvenile Asian sea bass (*Lates calcarifer*) [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2001, 17 (2): 49 - 53.
- [33] Zhu W, Mai K S, Zhang B G, et al. Study on dietary protein and lipid requirement for sea cucumber, *Stichopus japonicus* [J]. Marine Science, 2005, 29 (3): 54 - 58. [朱伟, 麦康森, 张百刚, 等. 刺参稚参对蛋白质和脂肪需求量的初步研究. 海洋科学, 2005, 29(3): 54 - 58.]
- [34] Li S H, Liang M Q, Sun H L, et al. Optimum dietary protein and amino acid levels for the growth of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33 (5): 59 - 63. [李素红, 梁萌清, 孙慧玲, 等. 饲料中适宜蛋白质和氨基酸水平对刺参生长的影响. 渔业科学进展, 2012, 33(5): 59 - 63.]
- [35] Mai K S, Mercer J P, Donlon J. Comparative studies on the nutrition of two species of abalone, *Haliotis tuberculata* L. and *Haliotis discus hannai* Ino. IV. Optimum dietary protein level for growth [J]. Aquaculture, 1995, 136 (1 - 2): 165 - 180.
- [36] Chang J, Niu H X, Zhang W B. Immune functions of sea cucumber and the effects of different immunostimulants on immune responses [J]. China Feed, 2011 (6): 8 - 12. [常杰, 牛化欣, 张文兵. 刺参免疫系统及其免疫增强剂评价指标的研究进展. 中国饲料, 2011(6): 8 - 12.]
- [37] 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.
- [38] Zhou Q C, Zeng W P, Wang H L, et al. Dietary arginine requirement of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2012, 364 - 365: 252 - 258.
- [39] Change J. Studies on sensitive immunology parameters screening and evaluation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* and sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010: 88 - 100. [常杰. 对虾和刺参敏感免疫学指标的筛选和评价. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 88 - 100.]
- [40] Wang X A, Jiang X M, Zheng Z M. Advances in studies on nitric oxide and its synthase in molluse [J]. Chinese Journal of Zoology, 2003, 38 (6): 97 -

103. [王晓安,蒋小满,郑哲民. 软体动物的一氧化氮及其合酶的研究进展. 动物学杂志, 2003, 38(6):97-103.]
- [41] Wang G J, Xie J, Yu D G, *et al.* Effects of injecting L-Arginine and cyclophosphamide on serum NO concentration, NOS activity and other immune index in *Haliotis diversicolor* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(6):902-909. [王广军, 谢骏, 余德光, 等. 注射 L-精氨酸和环磷酰胺对杂色鲍血清 NO 水平、NOS 活性及免疫指标的影响. 中国水产科学, 2008, 15(6):902-909.]
- [42] Zang Y Q. Ecological and physiological mechanisms on typical environmental factors in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012: 5-8. [臧元奇. 刺参 (*Apostichopus japonicus* Selenka) 对典型环境胁迫的生理生态学响应及其机制研究. 青岛: 中国海洋大学, 2012: 5-8.]
- [43] Yu D X, Sun H L, Chen S Q, *et al.* Healthy Aquaculture of sea cucumber [M]. Beijing: Ocean Press, 2010: 46-61. [于东祥, 孙慧玲, 陈四清, 等. 海参健康养殖技术. 北京: 海洋出版社, 2010: 46-61.]
- [44] Fu X Y. Study of proteases from digestive tract of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2004: 24-26. [付雪艳. 海参 (*Stichopus japonicus*) 消化蛋白酶的初步研究. 青岛: 中国海洋大学, 2004: 24-26.]
- [45] Zhou W, Tian J S, Huang J P, *et al.* Changes in intestinal contents and digestive enzyme activities of sea cucumber *Apostichopus japonicus* at different growth stages [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2010, 25(5):460-464. [周玮, 田甲申, 黄俊鹏, 等. 不同生长阶段仿刺参肠道内含物及消化酶活性的变化. 大连海洋大学学报, 2010, 25(5):460-464.]
- [46] Li S X. Studies on protease and amylase of *Holothurian* [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2010: 27-38. [李淑霞. 海参蛋白酶与淀粉酶性质的研究. 大连: 大连工业大学, 2010: 27-38.]
- [47] Wang J Q, Jiang X H, Jiang Y S, *et al.* Effects of diets containing coated lysine on growth, digestion and proximate composition in juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. Fisheries Science, 2009, 28(5):241-245. [王吉桥, 蒋湘辉, 姜玉声, 等. 在饲料中添加包膜赖氨酸对仿刺参幼参生长、消化和体成分的影响. 水产科学, 2009, 28(5):241-245.]
- [48] Wang J Q, Tang L, Xu C, *et al.* Histological observation of alimentary tract and annual changes of four digestive enzymes in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) [J]. Fisheries Science, 2007, 26(9):481-484. [王吉桥, 唐黎, 许重, 等. 仿刺参消化道的组织学及其 4 种消化酶活力的周年变化. 水产科学, 2007, 26(9):481-484.]
- [49] Dong Y W, Niu C J, Du L. Effects of dietary protein levels on growth and activity of digestive enzyme of giant fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) [J]. Journal of Beijing Normal University: Nature Science, 2001, 37(1):96-99. [董云伟, 牛翠娟, 杜丽. 饲料蛋白水平对罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 生长和消化酶活性的影响. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2001, 37(1):96-99.]
- [50] Chen C, Chen J H. Effects of taurine and compound crystalline amino acid on feed intake, growth and feed utilization of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2012, 28(23):108-112. [陈超, 陈京华. 牛磺酸、晶体氨基酸对大菱鲆摄食、生长和饲料利用率的影响. 中国农学通报, 2012, 28(23):108-112.]
- [51] Shao Q J, Su X F, Xu Z R. Effects of dietary protein levels on growth performance and digestive enzyme activities of jade perch *Scortum bacoo*. [J]. Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Science, 2004, 30(5):553-556. [邵庆均, 苏小凤, 许梓荣. 饲料蛋白水平对宝石鲈增重和胃肠道消化酶活性影响. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2004, 30(5):553-556.]