



大菱鲆对饲料精氨酸的需求量及饲料精氨酸水平对大菱鲆生长和代谢的影响

付丰顺^{1,2}, 刘成栋^{1,2}, 王旋^{1,2}, 周慧慧^{1,2}, 麦康森^{1,2,3}, 何良^{1,2,3*}

(1. 中国海洋大学, 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 中国海洋大学, 农业农村部水产动物营养与饲料重点实验室, 山东 青岛 266003;

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 山东 青岛 266235)

摘要: 为研究大菱鲆最适饲料精氨酸需求量及饲料精氨酸水平对大菱鲆生长和代谢的影响, 选取初始体质量为 (43.07±0.10) g 的大菱鲆为对象, 使用酪蛋白和明胶作为蛋白质来源, 鱼油和大豆卵磷脂作为脂质来源, 配制 5 组等氮等脂 (51% 粗蛋白和 12.5% 粗脂肪) 的精制饲料, 通过添加晶体氨基酸混合物, 使得饲料中精氨酸含量分别为干物质的 1.92%、2.65%、3.40%、4.17% 和 4.88% (对应饲料号为 1、2、3、4、5), 以喂食 1.92% 精氨酸水平饲料的处理组作为对照组, 每个处理 3 个重复, 每个重复 12 尾鱼, 养殖周期为 10 周。结果显示, 与对照组相比, 3.40%~4.88% 饲料精氨酸水平 (占饲料蛋白质 6.66%~9.52%) 显著改善了大菱鲆的生长性能和饲料利用率。基于特定生长率 (SGR) 的折线回归分析, 大菱鲆的最适饲料精氨酸需求量为饲料干物质的 3.17%, 饲料蛋白质的 6.21%。适宜的饲料精氨酸水平显著提高了鱼体蛋白含量和血浆总蛋白水平, 同时显著降低了血浆葡萄糖水平。此外, 适宜的饲料精氨酸水平显著提高了肝脏脂肪酸合成、脂肪酸 β-氧化、糖酵解、三羧酸循环和氧化磷酸化相关基因的表达, 而显著降低了肝脏氨基酸降解相关基因的表达。研究表明, 3.40%~4.88% 饲料精氨酸水平 (占饲料蛋白质 6.66%~9.52%) 可以调节大菱鲆的营养代谢, 并促进大菱鲆的生长。

关键词: 大菱鲆; 精氨酸需求量; 生长; 代谢

中图分类号: S 963

文献标志码: A

植物蛋白作为鱼粉的替代性蛋白源已被广泛应用于水产饲料中。与鱼粉相比, 大多数植物蛋白中存在一种或多种限制性氨基酸, 致使必需氨基酸平衡性较差, 这成为限制鱼类生长性能和饲料利用的重要因素。精氨酸是鱼类的必需氨基酸, 是植物性或酪蛋白型饲料中最重要限制性氨基酸之一^[1-2]。精氨酸除了作为蛋

白质的重要组分外, 还是一种功能性氨基酸, 是鸟氨酸、一氧化氮 (NO)、胍基丁胺、肌酸、多胺、脯氨酸和谷氨酸等物质合成的底物, 能够调节鱼体的代谢、免疫和内分泌等^[3-5]。在对鱼类的研究中发现, 饲料中精氨酸缺乏会影响鱼类的生长和蛋白沉积^[6-7]。

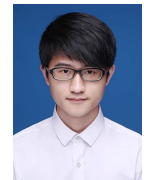
在对哺乳动物的研究中发现, 饲料中添加

收稿日期: 2021-03-18 修回日期: 2021-05-10

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0900400); 国家自然科学基金 (31772860)

第一作者: 付丰顺 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 764229864@qq.com

通信作者: 何良, E-mail: hegen@ouc.edu.cn



精氨酸可促进脂质代谢、葡萄糖代谢、能量代谢和蛋白质合成^[8-11]。精氨酸可以通过多条途径调节动物体内的营养代谢。首先, 精氨酸具有激活生长主控因子雷帕霉素机理靶蛋白复合物 1 (mechanistic target of rapamycin complex-1, mTORC1) 的能力, 激活 mTORC1 可以促进蛋白质和脂质合成^[12-13]。其次, 精氨酸和 NO 通过 NO/c-GMP 通路促进脂质氧化和糖酵解作用^[8, 14]。另外, 精氨酸还可以不依赖于血糖促进胰岛素的释放, 从而促进葡萄糖的利用^[15-16]。而且精氨酸是 NO 的直接前体, NO 可激活过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 辅激活因子-1 α 的表达, 从而促进线粒体的生物发生和氧化磷酸化^[14, 17]。

大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 是一种海水经济养殖鱼类, 因其生长速率快、肉质鲜美, 在欧洲和我国北部沿海地区得到了广泛的养殖。研究发现, 部分经济养殖鱼类对饲料精氨酸的最适需求量为饲料蛋白质的 3.80%~7.74%^[6-7, 18-29]。研究报道的精氨酸需求范围如此之广, 使得从一种鱼类推断另一种鱼类饲料精氨酸需求量是不现实的^[21]。另外, 精氨酸影响营养代谢的研究主要集中在哺乳动物上, 在鱼类中的研究相对较少。因此, 有必要对大菱鲆精氨酸需求量进行评估, 并在此基础上研究饲料精氨酸水平对大菱鲆营养代谢的影响, 进而阐释精氨酸影响大菱鲆生长的调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

使用酪蛋白和明胶作为蛋白质来源, 鱼油和大豆卵磷脂作为脂质来源, 配制 5 种等氮、等脂饲料 (51% 的粗蛋白和 12.5% 的脂质), 精氨酸梯度为饲料干重的 1.92%、2.65%、3.40%、4.17% 和 4.88% (对应饲料号为 1~5), 并用甘氨酸进行配平 (表 1)。采用不含精氨酸的晶体氨基酸混合物模拟大菱鲆体内氨基酸模式^[30]。所有原料经 80 目筛研磨成细粉, 先后与鱼油和水充分混合, 并将其挤压成颗粒 (直径和长度约为 5 mm)。饲料在 45 °C 烘箱中干燥 18 h, -20 °C 保存。

1.2 养殖实验

养殖实验在青岛亿海丰水产有限公司 (山东, 青岛) 的室内常流水养殖系统中进行, 实验大菱

鲆购自威海大菱鲆育苗场。在正式实验前 2 周, 用 3 号饲料 (精氨酸水平为 3.40%) 喂养大菱鲆并使其适应实验条件。暂养结束后, 先禁食 24 h, 然后挑选大小均匀、颜色均一、体格健壮的大菱鲆 (43.07±0.10) g 分配至各养殖桶 (300 L) 中, 每桶 12 尾鱼, 每个处理 3 个平行桶。在为期 10 周的饲养实验中, 每天 7:00 和 19:00 对实验鱼进行人工投喂至明显饱食, 并进行少量换水, 以清除粪便。每天记录大菱鲆的死亡情况和摄食量。实验期间养殖水质参数: 水温 16~20 °C, 盐度 29~32, 氨氮 < 0.1 mg/L, 亚硝酸盐 < 0.1 mg/L, 溶解氧 7 mg/L。

1.3 样品采集

养殖实验结束后, 大菱鲆饥饿 24 h 使其达到机体代谢基础水平。用 1 : 10 000 丁香酚对每个实验桶中的大菱鲆进行麻醉, 之后进行称重测量体质量。每桶取 3 尾鱼, 并在 -20 °C 冷冻保存, 用于全鱼生化分析以确定鱼体组成。每桶另取 3 尾鱼, 分别测量体长和体质量以及内脏和肝脏质量, 以确定肝体比、脏体比和肥满度。每桶取 3 尾鱼, 从大菱鲆尾静脉抽血置于肝素抗凝管中, 在 4 °C 静置 24 h 后离心 (4 °C, 3 000×g) 5 min, 小心吸取上清液转移至离心管中, 并迅速保存于 -80 °C 冰箱, 用于测定血浆代谢指标。取血后立即将肝脏取出置于 1.5 mL 离心管中, 保存于 -80 °C 冰箱, 用于测定营养代谢相关基因的表达水平。

1.4 饲料和鱼体组成分析

根据 AOAC(2012) 实验规范对原料、饲料和全鱼的水分、粗蛋白质、粗脂肪和灰分含量进行分析^[31]。将样品在 105 °C 烘箱中干燥 48 h 至恒重, 以测定水分含量。使用凯氏定氮仪 (Kjelttec TM 8400, FOSS, 瑞典) 测定粗蛋白质含量。粗脂肪含量采用索氏法 (Buchi 36680, 瑞士) 进行乙醚萃取分析。灰分含量通过在马弗炉中 550 °C 焚烧 16 h 进行测量。按国家标准 (GB/T 5009.124—2003) 对样品进行氨基酸分析。待测样品首先冷冻干燥 (ALPHA1-2 LDplus, Christco, Ltd, 德国) 48 h 至恒重, 用 6 mol/L 盐酸溶液在 110 °C 烘箱中消化 22 h, 最后用全自动氨基酸分析仪 (L-8900, HITACHI, 日本) 进行分析得到饲料氨基酸组成 (表 2)。

表 1 饲料配方及近似组成(干物质)
Tab. 1 Formulation and proximate composition of diets (dry matter)

项目 items	饲料号 diet numbers				
	1	2	3	4	5
原料 ingredients					
酪蛋白 casein (93.69% crude protein)	32.00	32.00	32.00	32.00	32.00
明胶 gelatin (99.95% crude protein)	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
晶体氨基酸预混料 crystalline amino acids mixture ¹	9.54	9.54	9.54	9.54	9.54
鱼油 fish oil	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
大豆卵磷脂 soy lectithin	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
糊精 dextrin	27.71	27.71	27.71	27.71	27.71
维生素预混料 vitamin premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
矿物质预混料 mineral premix ³	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
诱食剂 attractants ⁴	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
丙酸钙 calcium propionate	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
三氧化二钇 yttrium oxide	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
乙氧基喹啉 ethoxy quinoline	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
精氨酸 arginine	0.00	0.75	1.50	2.25	3.00
甘氨酸 glycine	3.00	2.25	1.50	0.75	0.00
近似组成 proximate composition					
干物质 dry matter	91.45	91.62	91.42	91.58	91.5
干物质中 in dry matter					
粗蛋白质 crude protein	50.97	51.11	51.05	50.89	51.28
粗脂肪 crude lipid	12.49	12.41	12.36	12.57	12.28
灰分 ash	3.87	3.82	3.86	3.79	3.77
精氨酸(%干物质) arginine (% dry matter)	1.92	2.65	3.40	4.17	4.88
精氨酸(%蛋白质) arginine (% protein)	3.77	5.19	6.66	8.19	9.52

注: 1. 晶体氨基酸混合物(g/100 g饲料), 组氨酸 0.60, 赖氨酸 0.64, 苯丙氨酸 0.31, 异亮氨酸 0.30, 苏氨酸 0.62, 蛋氨酸 0.96, 缬氨酸 0.30, 甘氨酸 1.75, 天冬氨酸 1.93, 丝氨酸 0.31, 丙氨酸 1.41, 胱氨酸 0.41。2. 维生素预混料(mg/kg饲料): 维生素A 32, 维生素D 5, 维生素E 240, 维生素K 10, 维生素磷酸酯 2 000, 维生素B₁₂ 10, 生物素 60, 叶酸 20, 肌醇 800, 烟酸 200, D泛酸钙 60, 盐酸吡哆醇 20, 维生素B₂ 45, 维生素B₁ 25, 微晶纤维素 16 473。3. 矿物预混料(mg/kg饲料): 硫酸镁 1200, 硫酸铜 10, 硫酸铁 80, 硫酸锌 50, 硫酸锰 45, 氯化钴 5, 亚硒酸钠 20, 碘化钙 60, 沸石粉 8 485。4. 诱食剂(g/kg饲料): 甜菜碱 4, 二甲基-丙酸噻亭 2, 甘氨酸 2, 丙氨酸 1, 5-磷酸肌苷 1

Notes: 1. amino acids mixture (g/100 g diet), histidine 0.60, lysine 0.64, phenylalanine 0.31, isoleucine 0.30, threonine 0.62, methionine 0.96, valine 0.30, glycine 1.75, aspartic acid 1.93, serine 0.31, alanine 1.41, cystine 0.41. 2. vitamin premix (mg/kg diet), retinyl acetate 32, cholecalciferol 5, α-tocopheryl acetate 240, menadione sodium bisulphite 10, ascorbic acid 2 000, cyanocobalamin 10, biotin 60, folic acid 20, inositol 800, niacin 200, D-calcium pantothenate 60, pyridoxine HCl 20, riboflavin 45, thiamine HCl 25, microcrystalline cellulose 16 473. 3. mineral premix (mg/kg diet), MgSO₄·7H₂O 1 200, CuSO₄·5H₂O 10, FeSO₄·7H₂O 80, ZnSO₄·H₂O 50, MnSO₄·H₂O 45, CoCl₂ 5, Na₂SeO₃ 20, calcium iodine 60, zeolite powder 8 485. 4. attractants (g/kg diet), betaine 4, DMPT 2, glycine 2, alanine 1, inosine-5'-diphosphate trisodium salt 1

1.5 血浆代谢指标分析

血浆样品解冻后, 用购自南京建成生物工

程研究所的总蛋白测定试剂盒(货号: A045-2)、

葡萄糖测定试剂盒(货号: A050-1-1)、甘油三酯

表 2 饲料氨基酸组成 (干物质)
Tab. 2 Amino acids composition of the diets (dry matter)

氨基酸 amino acids	饲料号 diet numbers				
	1	2	3	4	5
必需氨基酸 essential amino acids					
精氨酸 arginine	1.92	2.65	3.4	4.17	4.88
组氨酸 histidine	1.28	1.29	1.26	1.28	1.29
赖氨酸 lysine	3.29	3.26	3.3	3.27	3.29
苯丙氨酸 phenylalanine	1.98	1.96	1.96	1.98	1.97
亮氨酸 leucine	3.14	3.12	3.14	3.14	3.13
异亮氨酸 isoleucine	1.68	1.66	1.69	1.66	1.67
蛋氨酸 methionine	1.77	1.8	1.78	1.79	1.78
缬氨酸 valine	2.06	2.06	2.04	2.03	2.05
苏氨酸 threonine	1.65	1.67	1.65	1.66	1.67
非必需氨基酸 non-essential amino acids					
甘氨酸 glycine	7.69	6.96	6.23	5.46	4.72
谷氨酸 glutamic acid	7.46	7.43	7.44	7.45	7.43
天冬氨酸 aspartic acid	4.35	4.37	4.35	4.35	4.37
丝氨酸 serine	2.2	2.23	2.21	2.22	2.21
丙氨酸 alanine	2.89	2.87	2.88	2.86	2.88
半胱氨酸 cysteine	0.38	0.40	0.40	0.39	0.38
酪氨酸 tyrosine	1.93	1.96	1.94	1.96	1.94

测定试剂盒 (货号: C016-1-1)、总胆固醇测定试剂盒 (货号: A054-2-1) 进行测定。所有指标均严格按照说明书规定的方法操作计算。总蛋白水平单位用 g/L 表示, 其余指标单位用 mmol/L 表示。

1.6 实时荧光定量 PCR 分析

使用 RNAeasy™ 动物 RNA 提取试剂盒 (Beyotime Biotechnology, 中国) 从肝脏组织中提取总 RNA。提取的 RNA 浓度用 NanoDrop 2000 分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 测定。用 1.2% 变性琼脂糖凝胶确认提取的 RNA 的完整性。然后, 通过 Vazyme (中国南京) 的 HiScript® III RT SuperMix 试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。根据逆转录试剂盒的说明, 将 1 000 ng RNA 添加到反应系统中。用无 RNase 的水将反转录的 cDNA 稀释至 100 ng/μL。在定量热循环仪 (CFX96™ Real-Time System, BIO-RAD, 美国) 中进行 qRT-

PCR。在 qRT-PCR 结束时, 分析熔解曲线以确保仅存在单个 qRT-PCR 产物。由于 β -actin 在各处理的表达相对恒定, 所以选择 β -actin 作为内参基因。qRT-PCR 的引物序列见表 3。将结果用内参基因 β -actin 标准化以进行基因定量, 并基于 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算各目的基因的相对表达量。

1.7 数据分析

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) = $(\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$

饲料效率 (feed efficiency rate, FER, %) = $(W_t - W_0) / W_f \times 100\%$

蛋白质效率 (protein efficiency rate, PER, %) = $(W_t - W_0) / (W_f \times W_p) \times 100\%$

肥满度 (condition factor, CF, g/cm³) = $W/L^3 \times 100$

表 3 实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 3 Primer sequences used for qRT-PCR

基因 genes	上游引物 forward primer (5'-3')	下游引物 reverse primer (5'-3')	编号 accession no.
<i>glud1</i>	TTCGTCATCCAGGGGTTTG	GCGTTCAGATACTCCCGT	MH174955
<i>sds</i>	ATGGCAGCGGCTTATTCT	GCTTCACCCCTTAGGTCTCG	MH174956
<i>fas</i>	GGCAACAACACGGATGGATAC	CTCGCTTTGATTGACAGAACAC	KC189927
<i>g6pd</i>	ACGTGCCAGGAGACATATTTAGT	AACTCATCACTGCGGACAAAG	MH174959
<i>srebp1</i>	GCCATTGACTACATCCGTTAC	CATCAGCCTGTCCATCTACTTC	MH174964
<i>acox1</i>	AGTCTCGCCAGCTTTACT	GGCTTCACATAGGTTCCGTCT	KC189925
<i>cpt1a</i>	ATGGGAAGAGTGGACTGAATG	GCTGGAAGGCATCTGTGG	KC189926
<i>hadh</i>	TTCACAATGAATCCAGGCG	TCATCGGAACCTCGCAACAAG	MH174957
<i>gk</i>	CGACACGAGGACATTGACAAG	CCAACAATCA TCCCGACTTCAC	JX678944
<i>pk</i>	TGGATACGCTGAAGGAGATG	ACGCACGTCTTGATGGTC	DQ848903
<i>hif1a</i>	AGGGACAGGTCAGCACAGG	CATCATCGGTCTGCTCAAAG	MH174960
<i>cs</i>	GTGACCAACAGCCAGAAG	GAACAGACCAGGATCAAAGAAC	MH174951
<i>idh1</i>	TCCTGGAAGATGTCTTTGAAGCG	GAGAGCGGAGAACCCTGTTAAATATG	MH174952
<i>dlst</i>	CCGTTGCTGATGGTGAAG	CCCCTGTCAATGCTGTA	MH174953
<i>ucp1</i>	CAAAGTGGCAAGGCAGAT	GCGTGGACTATGGAAAGG	MH174946
<i>atp5a</i>	TTGGTCCCCATTGGTTCGT	GCGTTTCTGGTTGATGATTGTGTC	MH174954
<i>atp5c</i>	GGAAGCCAACGTCAAAGTGG	ACAGGGGCAGGACCTCAACT	MH174958
β -actin	GCGTGACATCAAGGAGAAGC	TGGAAGGTGGACAGGGAAGC	EU686692.1

肝体比 (hepatosomatic index, HSI, %) = $W_h/W \times 100\%$

脏体比 (viscerosomatic index, VSI, %) = $W_v/W \times 100\%$

存活率 (survival rate, SR, %) = $N_t/N_0 \times 100\%$

式中, W_t 为终末体质量 (final body weight, FBW, g), W_0 为初始体质量 (initial body weight, IBW, g), t 为实验天数 (d), W_f 为饲料摄入量 (g), W_p 为饲料蛋白质含量 (%), W 为鱼体质量 (g), L 为鱼体长 (cm), W_h 为鱼肝脏质量 (g), W_v 为鱼内脏质量 (g), N_t 为终末尾数, N_0 为初始尾数。

采用 SPSS 25.0 (SPSS Inc., 美国) 软件进行统计分析。使用单因素方差分析 (ANOVA) 处理数据, 采用 Tukey 氏多重比较检验处理组间的差异, 当 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。数值以平均值 \pm SE 表示。

2 结果

2.1 生长性能、饲料利用、形体指标和精氨酸需求量

随着饲料精氨酸水平从 1.92% 增至 3.40%,

大菱鲆的 SGR、FER、PER、WG 和 CF 显著提高 ($P < 0.05$), 3.40% 之后保持恒定 ($P > 0.05$) (表 4)。而饲料精氨酸水平没有对 SR、HSI 和 VSI 造成显著影响 ($P > 0.05$)。基于 SGR 数据进行折线回归分析, 大菱鲆的最适饲料精氨酸需求量为饲料干物质的 3.17%, 饲料蛋白质的 6.21% (图 1)。

2.2 体成分和血浆代谢指标

相比于对照组, 3.40% 饲料精氨酸水平显著提高了大菱鲆的体内蛋白质含量 ($P < 0.05$)。而饲料精氨酸水平没有对大菱鲆其他体组成 (水分、脂肪和灰分) 产生显著影响 ($P > 0.05$) (表 5)。

与对照组相比, 3.40%~4.88% 饲料精氨酸水平显著提高了大菱鲆血浆总蛋白质水平 ($P < 0.05$)。同时, 3.40%~4.88% 饲料精氨酸水平显著降低了血浆葡萄糖水平 ($P < 0.05$)。而饲料精氨酸水平对血浆甘油三酯、总胆固醇水平无显著影响 ($P > 0.05$) (表 6)。

2.3 肝脏氨基酸降解相关基因表达

饲料精氨酸下调了肝脏氨基酸降解相关基因谷氨酸脱氢酶 1 (glutamate dehydrogenase 1, *glud1*) 和 L-丝氨酸或 L-苏氨酸解氨酶 (L-serine or

表 4 饲喂不同精氨酸水平饲料对大菱鲆生长和形体指标的影响

Tab. 4 Growth performance and morphological indices of *S. maximus* fed diets of different arginine levels

指标 indexes	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	1.92	2.65	3.40	4.17	4.88
初始体质量/g IBW	43.11±0.06	43.07±0.04	43.04±0.07	43.04±0.04	43.07±0.02
终末体质量/g FBW	174.48±0.87 ^a	191.85±1.91 ^b	202.33±1.45 ^c	197.96±1.87 ^{bc}	197.04±1.73 ^{bc}
增重率/% WGR	305.07±2.03 ^a	345.39±4.08 ^b	369.73±3.06 ^c	359.59±4.47 ^{bc}	357.43±3.65 ^{bc}
特定生长率/(%/d) SGR	2.00±0.01 ^a	2.14±0.01 ^b	2.21±0.01 ^c	2.18±0.02 ^{bc}	2.17±0.01 ^{bc}
饲料效率/% FER	1.68±0.01 ^a	1.71±0.02 ^{ab}	1.75±0.01 ^b	1.73±0.01 ^b	1.74±0.01 ^b
蛋白质效率/% PER	3.29±0.01 ^a	3.37±0.03 ^{ab}	3.43±0.02 ^b	3.40±0.01 ^b	3.42±0.01 ^b
肥满度/(g/cm ³) CF	3.77±0.05 ^a	3.87±0.03 ^{ab}	4.17±0.06 ^c	4.12±0.07 ^{bc}	4.12±0.08 ^{bc}
肝体比/% HSI	0.82±0.03	0.84±0.04	0.89±0.03	0.88±0.04	0.84±0.01
脏体比/% VSI	3.26±0.1	3.28±0.11	3.36±0.06	3.37±0.1	3.34±0.08
存活率/% SR	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00	100±0.00

注: 同一行内不同上标字母表示存在显著差异($P<0.05$), $n=3$, 下同

Notes: values in the same row labeled with different superscript letters are significantly different ($P<0.05$), $n=3$, the same below

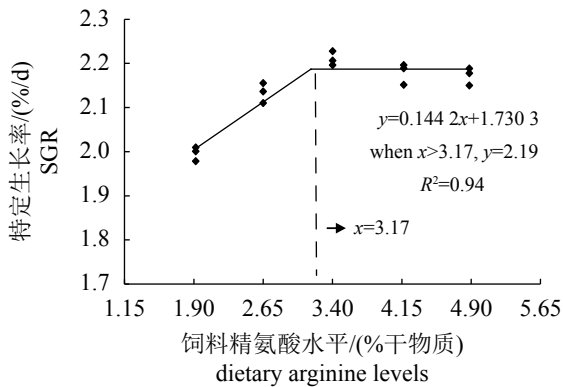


图 1 特定生长率与饲料精氨酸水平的折线关系

Fig. 1 Broken-line relationship of specific growth rate to dietary arginine levels

L-threonine ammonia-lyase, *sds*) 的表达 (表 7)。与对照组相比, 饲喂 3.40%~4.88% 精氨酸水平饲料

的组 *glud1* 和 *sds* 的 mRNA 水平显著降低 ($P<0.05$) (表 7)。结果表明, 与对照组相比, 适宜的饲料精氨酸水平抑制了大菱鲆肝脏氨基酸分解。

2.4 肝脏脂肪代谢相关基因表达

肝脏脂肪酸合成相关基因脂肪酸合成酶 (*fatty acid synthetase*, *fas*)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (*glucose-6-phosphate dehydrogenase*, *g6pd*) 和固醇调节元件结合蛋白-1 (*sterol regulatory element-binding protein 1*, *sreb1*) 的表达受饲料精氨酸的影响而上调 (表 7)。与对照组相比, 饲料精氨酸水平为 3.40%~4.88% 的 *fas* 和 *g6pd* 组 mRNA 表达量显著升高 ($P<0.05$)。4.88% 饲料精氨酸水平显著增强了 *sreb1* 基因表达量 ($P<0.05$) (表 7)。饲料精氨酸上调了肝脏脂肪酸 β 氧化相关基因酰基辅酶 A 氧

表 5 饲喂不同精氨酸水平饲料对大菱鲆体组成的影响 (湿重)

Tab. 5 Body composition of *S. maximus* fed diets of different arginine levels (wet weight)

体组成 body compositions	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	1.92	2.65	3.40	4.17	4.88
水分 moisture	78.09±0.26	77.93±0.20	77.91±0.13	77.84±0.30	77.8±0.36
粗蛋白质 crude protein	14.98±0.13 ^a	15.43±0.03 ^{ab}	15.58±0.15 ^b	15.54±0.10 ^{ab}	15.56±0.17 ^{ab}
粗脂肪 crude lipid	3.00±0.04	3.07±0.08	3.20±0.01	3.23±0.08	3.19±0.03
灰分 ash	3.94±0.13	3.57±0.08	3.35±0.06	3.43±0.17	3.44±0.17

表 6 饲喂不同精氨酸水平饲料对大菱鲆血浆代谢指标的影响

Tab. 6 Plasma metabolic index of *S. maximus* fed diets of different arginine levels

血浆代谢指标 plasma metabolic indexes	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	1.92	2.65	3.40	4.17	4.88
总蛋白/(g/L) total protein	24.93±0.33 ^a	25.53±0.27 ^{ab}	28.21±0.65 ^c	27.93±0.55 ^c	27.55±0.45 ^{bc}
葡萄糖/(mmol/L) glucose	2.45±0.09 ^a	2.07±0.12 ^{ab}	1.84±0.08 ^b	1.77±0.10 ^b	1.77±0.13 ^b
甘油三酯/(mmol/L) triglyceride	2.17±0.03	2.23±0.05	2.25±0.06	2.25±0.07	2.21±0.1
总胆固醇/(mmol/L) total cholesterol	1.44±0.05	1.46±0.05	1.43±0.03	1.46±0.05	1.46±0.09

表 7 饲喂不同精氨酸水平饲料对大菱鲆肝脏代谢相关基因表达水平的影响

Tab. 7 Expression of metabolism-related genes in liver of *S. maximus* fed diets of different arginine levels

基因 genes	饲料精氨酸水平/% dietary arginine levels				
	1.92	2.65	3.40	4.17	4.88
氨基酸降解 amino acid degradation					
<i>glud1</i>	1.01±0.08 ^b	0.76±0.07 ^{ab}	0.63±0.04 ^a	0.66±0.04 ^a	0.61±0.10 ^a
<i>sds</i>	1.01±0.09 ^b	0.84±0.04 ^{ab}	0.72±0.06 ^a	0.73±0.05 ^a	0.70±0.08 ^a
脂肪酸代谢 fatty acid metabolism					
脂肪酸合成 fatty acid synthesis					
<i>fas</i>	1.00±0.07 ^a	1.49±0.14 ^a	2.44±0.25 ^b	2.49±0.16 ^b	2.5±0.20 ^b
<i>g6pd</i>	1.00±0.06 ^a	1.01±0.10 ^a	1.44±0.10 ^b	1.43±0.11 ^b	1.43±0.13 ^b
<i>srebpl</i>	1.02±0.13 ^a	1.37±0.09 ^{ab}	1.52±0.11 ^{ab}	1.47±0.12 ^{ab}	1.68±0.14 ^b
脂肪酸β氧化 fatty acid β-oxidation					
<i>acox1</i>	1.02±0.14 ^a	1.73±0.16 ^{ab}	1.71±0.21 ^{ab}	2.06±0.25 ^b	1.98±0.24 ^b
<i>cpt1a</i>	1.00±0.07 ^a	1.25±0.15 ^{ab}	1.66±0.08 ^b	1.46±0.09 ^{ab}	1.47±0.09 ^{ab}
<i>hadh</i>	1.01±0.10 ^a	2.14±0.17 ^b	2.39±0.22 ^b	2.35±0.13 ^b	2.52±0.08 ^b
糖酵解 glycolysis					
<i>gk</i>	1.03±0.18 ^a	1.05±0.09 ^a	1.54±0.15 ^{ab}	1.6±0.10 ^{ab}	1.72±0.16 ^b
<i>pk</i>	1.01±0.1 ^a	1.55±0.09 ^{ab}	1.74±0.12 ^b	1.67±0.16 ^b	1.74±0.16 ^b
<i>hif1a</i>	1.02±0.13 ^a	1.27±0.05 ^{ab}	1.49±0.09 ^b	1.51±0.10 ^b	1.53±0.11 ^b
能量代谢 energy metabolism					
三羧酸循环 tricarboxylic acid cycle					
<i>cs</i>	1.00±0.06 ^a	2.11±0.12 ^b	2.37±0.17 ^{bc}	2.66±0.08 ^{bc}	2.88±0.14 ^c
<i>idh1</i>	1.03±0.19 ^a	1.98±0.12 ^b	2.33±0.16 ^b	2.29±0.16 ^b	2.42±0.19 ^b
<i>dlst</i>	1.01±0.09 ^a	1.43±0.13 ^a	2.27±0.16 ^b	2.31±0.21 ^b	2.25±0.22 ^b
<i>ucp1</i>	1.02±0.15 ^a	2.05±0.25 ^{ab}	2.77±0.31 ^{bc}	3.93±0.29 ^c	3.98±0.41 ^c
氧化磷酸化 oxidative phosphorylation					
<i>atp5a</i>	1.00±0.02 ^a	2.16±0.02 ^b	2.65±0.23 ^b	2.63±0.25 ^b	2.68±0.30 ^b
<i>atp5e</i>	1.02±0.13 ^a	1.62±0.15 ^{ab}	2.28±0.23 ^b	2.34±0.17 ^b	2.32±0.08 ^b

注: $n=6$, 同一行内不同上标字母的值存在显著差异($P<0.05$)Notes: $n=6$. Values in the same row sharing a different superscript letter are significantly different ($P<0.05$)

化酶 1(*acyl-CoA oxidase 1, acox1*)、肉碱棕榈酰转移酶 1A(*carnitine palmitoyltransferase 1 isoforms A, cpt1a*)和 3-羟酰基辅酶 A 脱氢酶 (*3-hydroxy-acyl-CoA dehydrogenase, hadh*) 的表达量 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 4.17%~4.88% 饲料精氨酸水平显著促进了 *acox1* 的基因表达量 ($P < 0.05$)。3.40% 饲料精氨酸水平显著提高了 *cpt1a* 的基因表达量 ($P < 0.05$)。饲料精氨酸水平为 2.65%~4.88% 的组显著提高了 *hadh* mRNA 的基因表达量 ($P < 0.05$) (表 7)。结果表明, 与对照组相比, 适宜的饲料精氨酸水平不仅促进了脂质的合成, 还促进了脂肪酸的 β 氧化。综合以上结果, 说明适宜的饲料精氨酸水平促进了大菱鲆肝脏的脂质代谢。

2.5 肝脏糖酵解相关基因表达

饲料精氨酸上调了肝脏糖酵解相关基因葡萄糖激酶 (*glucokinase, gk*)、丙酮酸激酶 (*pyruvate kinase, pk*) 和缺氧诱导因子 1 α (*hypoxia-inducible factor 1-alpha, hif1a*) 的表达 (表 7)。与对照组相比, 4.88% 饲料精氨酸水平显著提高了 *gk* 的 mRNA 水平 ($P < 0.05$)。3.40%~4.88% 饲料精氨酸水平显著促进了 *pk* 和 *hif1a* 的 mRNA 表达量 ($P < 0.05$) (表 7)。结果表明, 与对照组相比, 适宜的饲料精氨酸水平促进了大菱鲆肝脏糖酵解, 促进了葡萄糖的利用。

2.6 肝脏能量代谢相关基因表达

饲料精氨酸上调了与 TCA 循环相关基因柠檬酸合成酶 (*citrate synthesis, cs*)、异柠檬酸脱氢酶 1 (*isocitrate dehydrogenase 1, idh1*)、二氢硫辛酰琥珀酰转移酶 (*dihydrolipoamide succinyltransferase, dlst*) 和解偶联蛋白 1 (*uncoupling protein 1, ucp1*) 的表达 (表 7)。饲料精氨酸水平为 3.40%~4.88% 的组, *cs*、*dlst* 和 *ucp1* 的 mRNA 表达量显著高于对照组 ($P < 0.05$)。饲料精氨酸水平为 2.65%~4.88% 的组, *idh1* 表达量显著升高 ($P < 0.05$) (表 7)。同时, 与氧化磷酸化相关基因 F 型 H^+ -转运 ATP 酶亚基 α (*F-type H^+ -transporting ATPase subunit alpha, atp5a*) 和 F 型 H^+ -转运 ATP 酶亚基 ϵ (*F-type H^+ -transporting ATPase subunit epsilon, atp5e*) 的表达也受到饲料精氨酸的影响 ($P < 0.05$) (表 7)。与对照组相比, 2.65%~4.88% 饲料精氨酸水平显著提升了 *atp5a* 的基因表达量 ($P < 0.05$)。饲喂 3.40%~4.88% 饲料精氨酸的组, *atp5e* 的基因表达量显著提高

($P < 0.05$) (表 7)。结果表明, 与对照组相比, 适宜的饲料精氨酸水平促进了大菱鲆肝脏的能量代谢, 提高了能量水平。

3 讨论

大量研究表明, 适宜的饲料精氨酸水平可以提高大多数鱼类的 SGR、FCR 和 PER^[18, 21, 25, 32], 这与本研究结果一致, 在本实验中, 适宜的饲料精氨酸水平显著提高了大菱鲆的 SGR、FCR、PER、WG 和 CF。而饲料精氨酸水平没有对 SR、HSI 和 VSI 产生影响, 这与在对牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)、卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*) 和团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 的研究结果一致^[1, 18, 26]。本研究表明, 饲料中过量的精氨酸水平 (4.17%~4.88%) 对大菱鲆没有明显不利影响, 这与在大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 和真鲷 (*Pagrus major*) 中的研究结果一致^[6, 29]。然而, 对军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 和卵形鲳鲹的研究表明, 饲料中过量的精氨酸水平抑制了它们的生长^[1, 7]。基于 SGR 折线回归分析, 大菱鲆饲料精氨酸的最适需求量为饲料干物质的 3.17%, 饲料蛋白质的 6.21%。一方面, 大菱鲆的最适饲料精氨酸需求量 (饲料蛋白质 %) 的评估值与一些鱼种的报告值相似, 如军曹鱼 (6.20%) 和卵形鲳鲹 (6.32%~6.35%); 另一方面, 该评估值也与某些鱼种有所不同, 其值低于团头鲂 (7.23%) 和黑鲷 (*Sparus macrocephalus*, 7.74%), 高于尖吻鲈 (*Lates calcarifer*, 3.8%)、牙鲆 (4.08%~4.20%)、大口黑鲈 (4.16%) 和真鲷 (4.74%)^[1, 6-7, 18, 23, 25, 27, 29]。

基于本研究结果, 适宜的饲料精氨酸水平显著提高了鱼体蛋白质含量和血浆总蛋白水平, 这与在真鲷和斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 中的研究结果一致^[6, 33]。同时, 适宜的饲料精氨酸水平显著降低了肝脏中与氨基酸降解相关关键酶 *glut1* 和 *sds* 的 mRNA 表达量。这些结果表明, 饲料中适宜的精氨酸水平可以抑制肝脏氨基酸降解, 提高血浆总蛋白水平, 并最终促进了大菱鲆蛋白质的沉积。此外, 研究表明精氨酸具有激活生长调控因子 mTORC1 的能力, 其激活可促进蛋白质合成^[12, 34]。这也可能是饲料精氨酸水平引起鱼体蛋白含量变化的原因。

实验结果表明, 饲料精氨酸水平对大菱鲆体脂含量、血浆甘油三酯和总胆固醇水平没有

显著影响。在卵形鲳鲹中也发现了类似的结果^[1]。此外,适宜的饲料精氨酸水平显著提高了肝脏脂肪酸合成相关基因 *fas*、*g6pd* 和 *srebp1* 的表达。同时,适宜的饲料精氨酸水平提高了肝脏中与脂肪酸 β 氧化相关关键酶 *acox1*、*cpt1 α* 和 *hadh* 的 mRNA 水平。也就是说,饲料中适宜的精氨酸水平促进了大菱鲆的脂肪酸代谢,但最终不影响血浆甘油三酯、总胆固醇水平和体脂含量。研究表明,精氨酸可以调控 mTORC1 的激活,它的激活可以促进脂类合成^[13]。此外,精氨酸和 NO 可通过 NO/c-GMP 通路增强脂质氧化^[8,14]。这可以解释本实验中精氨酸对大菱鲆脂质代谢的影响。

在本实验中,随着饲料精氨酸水平的升高,大菱鲆血浆中葡萄糖水平显著降低,这与对真鲷和石斑鱼的研究结果一致^[6,27,33]。结合 SGR 数据发现,当 SGR 达到最大值时,血浆葡萄糖水平为 1.76~1.84 mmol/L,这提示适宜的精氨酸水平可调节大菱鲆血浆葡萄糖水平,使其维持在适宜的范围内,促进大菱鲆的生长。本实验发现,饲料中适宜的精氨酸水平显著提高了肝脏糖酵解相关基因 *gk*、*pk* 和 *hif1 α* 的表达。糖酵解不仅为细胞代谢提供能量,还为细胞代谢提供各种代谢中间体^[35]。研究表明,精氨酸和 NO 可通过 NO/c-GMP 途径提高葡萄糖的利用^[8]。此外,精氨酸还可以不依赖于血糖促进胰岛素的释放,从而促进葡萄糖的利用^[15-16]。这可能是饲料中适宜的精氨酸水平促进糖酵解和降低大菱鲆血糖水平的原因。

实验结果表明,饲料中适宜的精氨酸水平显著提高了大菱鲆肝脏中与 TCA 循环相关的关键酶 *cs*、*idh1*、*dlst* 和 *ucp1* 的基因表达。同时,与氧化磷酸化相关的关键分子 *atp5 α* 和 *atp5 ϵ* 的 mRNA 水平也显著提高了。该结果表明,饲料中适宜的精氨酸水平对能量代谢有显著的促进作用。精氨酸是 NO 的直接前体。NO 可以激活过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子-1 α 的表达,从而促进线粒体生物发生和氧化磷酸化^[14]。这可能是饲料精氨酸促进大菱鲆能量代谢的原因。如上所述,糖酵解和脂肪酸氧化应该为 TCA 循环和氧化磷酸化提供更多的代谢中间体量。而能量代谢为蛋白质和脂类的合成提供能量。

综上所述,基于 SGR 折线回归分析,大菱鲆的最适饲料精氨酸需求量为饲料干物质的

3.17%,饲料蛋白质 1%。适宜的饲料精氨酸水平促进了肝脏脂质代谢、糖酵解、能量代谢,抑制了氨基酸降解,维持了血糖稳定,促进了鱼体蛋白质沉积,最终促进了大菱鲆的生长。本研究评估了大菱鲆饲料精氨酸的最适需求量,并揭示了精氨酸通过调节代谢影响大菱鲆生长的内在机制。

参考文献 (References):

- [1] 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, 437: 382-389.
- [2] 罗智,刘永坚,麦康森,等.鱼类精氨酸需求研究进展[J]. *水产学报*, 2004, 28(4): 450-459.
Luo Z, Liu Y J, Mai K S, *et al.* Advance in researches on arginine requirement for fish: a review[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(4): 450-459(in Chinese).
- [3] Hoseini S M, Khan M A, Yousefi M, *et al.* Roles of arginine in fish nutrition and health: insights for future researches[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(4): 2091-2108.
- [4] 万军利,麦康森,艾庆辉.鱼类精氨酸营养生理研究进展[J]. *中国水产科学*, 2006, 13(4): 679-685.
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(in Chinese).
- [5] Wu G Y, 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.
- [6] Rahimnejad S, Lee K J. Dietary arginine requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major*[J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 418-424.
- [7] Ren M C, Ai Q H, Mai K S. Dietary arginine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. *Aquaculture Research*, 2014, 45(2): 225-233.
- [8] 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*, 2013, 62(1): 79-89.
- [9] Clemmensen C, Madsen A N, Smajilovic S, *et al.* L-arginine improves multiple physiological parameters in mice exposed to diet-induced metabolic disturbances[J].

- [Amino Acids](#), 2012, 43(3): 1265-1275.
- [10] Wang R X, Jiao H C, Zhao J P, *et al.* L-arginine enhances protein synthesis by phosphorylating mTOR (Thr 2446) in a nitric oxide-dependent manner in C2C12 cells[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 2018: 7569127.
- [11] Kawano T, Nomura M, Nisikado A, *et al.* Supplementation of L-arginine improves hypertension and lipid metabolism but not insulin resistance in diabetic rats[J]. *Life Sciences*, 2003, 73(23): 3017-3026.
- [12] Bauchart-Thevret C, Cui L W, Wu G Y, *et al.* Arginine-induced stimulation of protein synthesis and survival in IPEC-J2 cells is mediated by mTOR but not nitric oxide[J]. *American journal of physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2010, 299(6): E899-E909.
- [13] Düvel K, Yecies J L, Menon S, *et al.* Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1[J]. *Molecular Cell*, 2010, 39(2): 171-183.
- [14] 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.
- [15] Charles M A, Lawecki J, Steiner A L, *et al.* Cyclic nucleotides in pancreatic islets: tolbutamide- and arginine-induced insulin release[J]. *Diabetes*, 1976, 25(4): 256-259.
- [16] Vincent S R. Nitric oxide and arginine-evoked insulin secretion[J]. *Science*, 1992, 258(5086): 1376-1378.
- [17] 吕怡航. 精氨酸对动物能量代谢的影响[J]. *饲料工业*, 2014, 35(24): 40-46.
- Lü Y H. Effect of arginine on energy metabolism of animal[J]. *Feed Industry*, 2014, 35(24): 40-46(in Chinese).
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Lall S P, Kaushik S J, Le Bail P Y, *et al.* Quantitative arginine requirement of atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water[J]. *Aquaculture*, 1994, 124(1-4): 13-25.
- [21] 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.
- [22] Luzzana U, Hardy R W, Halver J E. Dietary arginine requirement of fingerling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)[J]. *Aquaculture*, 1998, 163(1): 137-150.
- [23] 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.
- [24] Ngamsnae P, De Silva S S, Gunasekera R M. Arginine and phenylalanine requirement of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* and validation of the use of body amino acid composition for estimating individual amino acid requirements[J]. *Aquaculture Nutrition*, 1999, 5(3): 173-180.
- [25] 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.
- [26] Zhao Z X, Ren M C, Xie J, *et al.* Dietary arginine requirement for blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) with two fish sizes associated with growth performance and plasma parameters[J]. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2017, 17(1): 171-179.
- [27] 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): e418-e430.
- [28] 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.
- [29] Zhou H, Chen N, Qiu X, *et al.* Arginine requirement and effect of arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(1): 107-116.
- [30] Kaushik S 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.
- [31] AOAC. Official Method of analysis: association of analytical chemists[M]. 19th ed. Washington: AOAC, 2012:

- 121-130.
- [32] Tu Y Q, Xie S Q, Han D, *et al.* Dietary arginine requirement for gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III) reduces with fish size from 50 g to 150 g associated with modulation of genes involved in TOR signaling pathway[J]. *Aquaculture*, 2015, 449: 37-47.
- [33] 韩凤禄, 张琴, 黄国强, 等. 斜带石斑鱼幼鱼的饲料精氨酸需求量[J]. *中国水产科学*, 2016, 23(3): 584-593.
- Han F L, Zhang Q, Huang G Q, *et al.* Requirement of dietary arginine for juvenile orange-spotted grouper, *Epi-nephelus coioides*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016, 23(3): 584-593(in Chinese).
- [34] Chantranupong L, Scaria S M, Saxton R A, *et al.* The CASTOR proteins are arginine sensors for the mTORC1 pathway[J]. *Cell*, 2016, 165(1): 153-164.
- [35] Lunt S Y, Heiden M G V. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2011, 27: 441-464.

Dietary arginine requirement and effects of dietary arginine levels on the metabolism of *Scophthalmus maximus*

FU Fengshun^{1,2}, LIU Chengdong^{1,2}, WANG Xuan^{1,2}, ZHOU Huihui^{1,2},
MAI Kangsen^{1,2,3}, HE Gen^{1,2,3*}

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Key Laboratory of Aquaculture Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

3. Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266235, China)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the arginine requirement and effects of dietary arginine levels on the growth and metabolism of turbot (*Scophthalmus maximus*). Turbots with an initial body weight of (43.07±0.10) g were selected as the research object. Five isonitrogenous and isolipid diets (51% crude protein and 12.5% crude lipid) were formulated with casein and gelatin as the main protein sources and fish oil and soybean lecithin as the lipid sources. The arginine contents of the diets were 1.92%, 2.65%, 3.40%, 4.17% and 4.88% of dry matter by adding crystalline amino acid mixture, respectively. (The corresponding diet number was 1, 2, 3, 4 and 5, respectively). The group fed 1.92% arginine level diet served as control group. Each treatment was set to 3 replicates, each containing 12 fish, and the breeding period was 10 weeks. The results showed that 3.40% to 4.88% arginine (6.66% to 9.52% of dietary protein) significantly improved the growth performance and feed utilization of turbot compared with the control group. According to the broken line regression analysis based on specific growth rate (SGR), the optimal dietary arginine requirement of turbot was estimated to be 3.17% of dry matter (6.21% of dietary protein). Appropriate dietary arginine levels significantly increased body protein content and plasma total protein level, while significantly decreased plasma glucose level. In addition, appropriate dietary arginine levels significantly enhanced the expression of genes related to fatty acid synthesis, fatty acid β-oxidation, glycolysis, tri-carboxylic acid (TCA) cycle and oxidative phosphorylation, while significantly decreased the expression of genes associated with amino acid degradation in liver. The results demonstrated that 3.40% to 4.88% arginine (6.66% to 9.52% of dietary protein) can regulate the nutrient metabolism and promote the growth of turbot.

Key words: *Scophthalmus maximus*; arginine requirement; growth; metabolism

Corresponding author: HE Gen. E-mail: hegen@ouc.edu.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2018YFD0900400); National Natural Science Foundation of China (31772860)