



高碳水化合物饲料添加精氨酸对杂交鳢的生长性能、抗氧化酶活性、肝脏免疫反应及糖代谢相关基因的影响

李培佳^{1,2}, 陈冰¹, 李敏^{1,2}, 彭凯¹, 胡俊茹¹,
黄文^{1,3}, 曹俊明², 赵红霞^{1*}

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东省农业科学院水产协同创新中心, 广东广州 510640;
2. 广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088;
3. 广州飞禧特生物科技有限公司, 广东广州 510640)

摘要: 为研究高碳水化合物饲料添加精氨酸对杂交鳢幼鱼生长性能、体组成、血浆生化、抗氧化酶活性、葡萄糖代谢以及免疫相关基因的影响。实验选取初始体重 (22.02±0.02) g 的杂交鳢 450 尾, 随机分为 3 个组, 每组 3 个重复, 每个重复 50 尾鱼, 分别投喂碳水化合物水平为 21.34% (低, LC 组)、27.45% (高, HC 组) 和 27.38% (添加 Arg, Arg 组) 的 3 种实验饲料饲喂 8 周。结果显示, 与低碳水化合物饲料 (LC 组) 相比, 高碳水化合物饲料 (HC 组) 显著降低杂交鳢增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR) 和蛋白质沉积率 (PDR), 饲料系数 (FCR) 提高, 精氨酸组 (Arg 组) 的添加显著降低了 FCR, 显著提高了 WGR、SGR、PDR、全鱼粗蛋白和血浆蛋白含量。与 LC 组相比, HC 组血浆和肝脏丙二醛 (MDA) 含量和肝脏肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达量显著升高, 肠道总抗氧化能力 (T-AOC)、过氧化物酶 (POD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px), 以及肝脏 POD、GSH-Px 活性、肝脏磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 (PEPCK)、葡萄糖转运蛋白-2 (GLUT2)、转化生长因子 (TGF- β) 和热休克蛋白 70 (HSP70) 基因表达量显著下降。氧化应激和肝脏炎症提示, 喂食高碳水化合物饲料的杂交鳢患有肝脏疾病。饲喂添加 Arg 的饲料可以通过减少 MDA 的含量和增强 T-AOC、POD、GSH-Px 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性来增强肝脏的抗氧化能力。与 HC 组饲料相比, 饲喂添加 Arg 饲料的杂交鳢促炎因子白细胞介素-8 (IL-8)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和 TNF- α 的表达量显著降低, 抗炎因子 TGF- β 、HSP70 和热休克蛋白 90 (HSP90) 表达量显著升高, 提示饲料补充 Arg 后肝脏炎症反应得到缓解。研究表明, Arg 通过上调肝脏胰岛素相关基因蛋白激酶 B (AKT)、胰岛素受体底物-1 (IRS-1)、磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 和葡萄糖代谢相关基因 PEPCK、葡萄糖-6 磷酸酶 (G6P) 和丙酮酸激酶 (PK) 的表达来促进胰岛素的产生和糖原分解, 从而调节鱼类的肝糖代谢。综上, 高碳水化合物饲料可诱发杂交鳢的氧化应激和炎症, 而补充 Arg 可增强抗氧化活性, 缓解炎症, 促进葡萄糖代谢。

关键词: 杂交鳢; 精氨酸; 生长性能; 血浆生化; 抗氧化; 免疫

中图分类号: S 963.73⁺¹

文献标志码: A

收稿日期: 2022-11-29 修回日期: 2023-03-13

资助项目: 国家自然科学基金 (31402307, 31902388); 广东省自然科学基金 (2021A1515010850)

第一作者: 李培佳 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 2633134605@qq.com;

陈冰, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: chenbing114@163.com

通信作者: 赵红霞, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: zhaohongxia8866@163.com



碳水化合物在制备鱼类商业型配合饲料中起着重要作用, 包括提高饲料质量, 并在制作膨化饲料时使其物理膨胀^[1]。然而, 自 1950 年的研究工作开始就已经表明, 大多数鱼类对葡萄糖不耐受, 这可能归因于鱼类血糖代谢不足等因素^[2]。在哺乳动物中, 葡萄糖是主要的能量来源之一, 但这种重要性在鱼类中是有限的^[3]。研究表明, 饲喂高碳水化合物饲料会导致虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 和欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 肝脏疾病和脂肪肝变性, 显著降低其饲料利用效率和蛋白质沉积效率, 限制了碳水化合物在鱼饲料中的应用^[4]。肉食性鱼类饲料碳水化合物的添加水平通常约为 20%^[5], 较高的饲料碳水化合物水平降低了增重率、蛋白质沉积率和抗氧化酶活性, 导致鱼类生长受到抑制, 肝糖原积累增加, 诱发炎症反应和肝功能异常^[6]。因此, 寻找可以促进葡萄糖代谢和缓解高碳水化合物饲料诱导鱼类炎症的饲料添加剂是非常必要的。

精氨酸是鱼类饲料蛋白质的天然成分, 参与蛋白质代谢和肌酸合成^[7]。精氨酸在杂食性或肉食性鱼类饲料中含量丰富, 也是鱼类饲料蛋白质摄入量的天然成分^[8]。研究表明, 精氨酸可显著促进杂交鳢 [*Channa maculata*(♀)×*C. argus*(♂)] 的生长^[9], 并提高杂交条纹鲈 [*Morone chrysops*(♀)×*M. saxatilis*(♂)] 的蛋白质沉积效率^[10], 增强杂交石斑鱼 [*Epinephelus fuscoguttatus*(♀)×*E. lanceolatus*(♂)] 的免疫力^[11], 提高黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 抗氧化活性^[12], 并增强鱼体的抗逆性。最新研究发现, 精氨酸作为内分泌系统的促分泌剂, 可有效诱导胰高血糖素分泌, 增加葡萄糖氧化并降低血糖水平^[13]。在对哺乳动物和人类的研究中, 已有大量证据表明精氨酸可提高胰岛素敏感性, 从而增强哺乳动物的葡萄糖利用效率^[14]。在鱼类中的研究报道显示, 精氨酸可显著增强葡萄糖代谢并激活胰岛素信号通路等。

杂交鳢又称杂交乌斑鳢, 是我国的重要肉食性经济鱼类^[15], 因生长速率快、抗病力和对极端环境的耐受性强等特点逐渐成为水产养殖中最受欢迎的品种之一^[16]。杂交鳢是典型的肉食性鱼类, 随着养殖业的持续发展, 人们越来越多地使用配方饲料。淀粉是配方饲料中重要的黏合剂, 包括在制作饲料时使其膨化。然而, 肉食性鱼类饲料中过量摄入碳水化合物会导致高血糖和脂质氧化积累以及炎症反应, 损害免疫及抗氧化能力。因

此, 本研究中设计了低碳、高碳及高碳基础饲料添加精氨酸等 3 种实验饲料来投喂杂交鳢, 研究精氨酸对摄食高碳水化合物饲料的杂交鳢生长、抗氧化能力、免疫反应和胰岛素信号通路相关基因表达的影响, 以期精氨酸在杂交鳢人工配合饲料生产实践中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

所有的动物实验都严格按照美国国立卫生研究院制定的“实验动物护理和使用指南”中的建议进行。动物实验方案由广东省农业科学院动物科学研究所(广州, 中国)动物伦理委员会批准。以鱼粉、豆粕、玉米蛋白粉为主要原料, 大豆油、鱼油、磷脂油为脂肪源, 按表 1 配制三种基础饲料。精氨酸添加量分别为 0 g/kg (低碳水化合物组, LC 组, 21.34%), 0 g/kg (高碳水化合物组, HC 组, 27.45%) 和 6 g/kg (精氨酸组, Arg 组, 27.38%)。饲料精氨酸采用 L-Arg, 菱形晶体, 纯度≥98%, 购自希杰(沈阳)生物科技有限公司。精氨酸含量采用 GB/T 18246—2019 法测定^[17]。

饲料可消化碳水化合物 (%) = 100% - 粗蛋白 (%) - 粗脂 (%) - 灰分 (%) - 纤维 (%)

饲料原料称量前过 60 目筛粉碎, 按照表 1 饲料配方配比进行称量, 经混匀后加入鱼油、豆油、磷脂油和水混匀, 充分混匀后, 采用小型膨化机制成颗粒状膨化饲料(华强膨化机械 T52 型膨化机), 风干自然冷却后, 置于-20 °C 冰箱备用。

1.2 养殖管理

实验用杂交鳢鱼苗购自广州市锦龙渔业有限公司, 在广东省农业科学院白云实验基地进行养殖实验。鱼苗运回后放入暂养池塘网箱(2.5 m×2.5 m×1.5 m)中暂养 1 周, 暂养期间每天饱食投喂基础饲料 2 次。暂养 1 周后饥饿 24 h, 称重, 随机挑选体格健壮, 平均体重为 (22.02±0.02) g 的杂交鳢鱼苗 450 尾, 平均置于 9 个网箱(1.5 m×1.5 m×1.5 m), 网箱高出水面 20 cm, 有效水体体积 293 L。实验分为 3 组, 每组 3 个重复(网箱), 每个网箱 50 尾鱼, 分别投喂 3 种实验饲料, 持续饲养 8 周。每天分别在 08:00 和 16:00 各投食 1 次, 最初投喂体重的 5%~6%, 然后逐渐增加至饱腹投喂, 及时根据环境条件调整投喂量, 每天记录摄食及死

表 1 实验饲料配方及营养组成(干重)

Tab. 1 Formulation and nutrient composition of experimental diets(dry matter) %

原料 ingredients	组别 groups		
	LC	HC	Arg
鱼粉 fish meal	35.00	35.00	35.00
豆粕 soybean meal	28.00	20.00	20.00
玉米蛋白粉 corn gluten meal	2.00	6.00	6.00
面粉 wheat flour	15.00	25.00	25.00
鱼油 fish oil	3.00	3.00	3.00
豆油 soybean oil	3.00	3.00	3.00
磷脂油 phospholipid oil	1.00	1.00	1.00
维生素预混料 vitamin premix ¹⁾	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 mineral premix ²⁾	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.50	1.50	1.50
VC酯 vitamin C phosphate (35%)	0.10	0.10	0.10
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50
褐藻酸钠 sodium alginate	1.00	1.00	1.00
纤维素 cellulose	7.90	1.90	1.30
L-精氨酸 L-Arg	0.00	0.00	0.60
合计 total	100.00	100.00	100.00
营养水平 nutrients levels			
水分 moisture	7.57	7.81	8.15
粗蛋白 crude protein	44.63	44.33	44.78
粗脂肪 crude lipid	8.22	7.97	8.07
灰分 ash	9.34	9.54	9.32
可消化碳水化合物 digestible carbohydrate	21.34	27.45	27.38
总能(kJ/g) gross energy	11.32	11.17	11.29

注: 1) 维生素预混料, 维生素 A 2 500 IU, 维生素 B₁ 1 mg, 维生素 B₂ 6 mg, 维生素 B₆ 5 mg, 维生素 C 50 mg, 维生素 D 2 000 IU, 维生素 E 50 IU, 维生素 K 1 mg, 叶酸 1 mg, 烟酸 10 mg, 胆碱 1 000 mg, 生物素 0.14 mg, D-泛酸钙 20 mg。2) 矿物质预混料, 硫酸亚铁 13 mg, 硫酸锌 60 mg, 硫酸锰 32 mg, 硫酸铜 7 mg, 氯化钠 1 200 mg, 碘化钾 8 mg。总能分别使用蛋白质、脂质和可消化碳水化合物的能量当量 18.81、35.57 和 14.59 kJ/g 计算。
Notes: 1) vitamin premix, VA 2 500 IU, VB₁ 1 mg, VB₂ 6 mg, VB₆ 5 mg, VC 50 mg, VD 2 000 IU, VE 50 IU, VK 1 mg, folic acid 1 mg, nicotinic acid 10 mg, choline 1 000 mg, biotin 0.14 mg, D-calcium pantothenate 20 mg. 2) mineral premix, FeSO₄·H₂O 13 mg, ZnSO₄·H₂O 60 mg, MnSO₄·H₂O 32 mg, CuSO₄·H₂O 7 mg, NaCl 1 200 mg, KI 8 mg. Gross energy was calculated using energy equivalents 18.81, 35.57, and 14.59 kJ/g for protein, lipid and digestible carbohydrate, respectively.

亡情况。实验期间水温为 25~32 °C, pH 8.0, 溶解氧含量约 8 mg/L, 氨氮浓度小于 0.1 mg/L。

1.3 样品采集与指标测定

生长指标计算公式 存活率(SR, %)= $\frac{\text{终末尾数}}{\text{初始尾数}} \times 100\%$

增重率(WGR, %)= $\frac{\text{终末鱼体重}-\text{初始鱼体重}}{\text{初始鱼体重}} \times 100\%$

饲料系数(FCR)= $\frac{\text{摄食饲料总重}}{\text{终末鱼体重}-\text{初始鱼体重}}$

蛋白质沉积率(PDR, %)= $\frac{\text{终末鱼体重} \times \text{终末}}{\text{摄食饲料总重}}$

鱼体蛋白含量-初始鱼体重×初始鱼体蛋白含量)/(饲料摄入量×饲料蛋白含量)×100%

特定生长率(SGR, %/d)= $\frac{\ln \text{终末鱼体重}-\ln \text{初始鱼体重}}{\text{养殖天数}} \times 100\%$

实验鱼样品采集与体成分测定 养殖实验结束后将实验鱼禁食 24 h, 对每个网箱进行计数和称重, 计算 WGR、FCR、PDR、SGR 和 SR。随后每个网箱随机选取 3 尾鱼置于-20 °C 保存, 用于检测全鱼体成分。鱼体水分采用 GB/T 6435—2014 法测定、鱼体粗蛋白质采用 GB/T 6432—2018 法测定、鱼体粗灰分采用 GB/T 6438—2007 法测定、鱼体粗脂肪采用 GB/T 6433—2006 法测定。

实验鱼血浆采集与生化指标分析 养殖实验结束后, 每个网箱随机取 8 尾实验鱼, 采用 120 mg/L 的 MS-222 溶液麻醉处理后进行尾静脉采血, 利用肝素钠抗凝管收集血液, 3 500 r/min 离心 10 min, 制备血浆, 于-80 °C 冰箱保存备用。采用双缩脲法测定总蛋白(TP)含量, 酶偶联速率法测定尿素氮(UN)含量, 采用酶法测定血糖(GLU)、甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)含量。

实验血浆抗氧化能力分析 实验结束后, 采集肝脏、肠道和血浆样品, 将肝脏和肠道样品进行匀浆并离心(2 500 r/min, 10 min, 4 °C), 收集上清液进行酶活性分析, 采用南京建成生物公司试剂盒, 测定超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性, 总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)和肝糖原含量。所有指标测定步骤和计算公式均严格按照南京建成生物工程研究所测试盒说明书进行。

实时荧光定量 PCR(RT-PCR)分析 采用总 RNA 提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)提取杂交鳢肝脏总 RNA。采用分光光度分析(260:280 nm)评估 RNA 的质量。将 RNA 逆转录为 cDNA(HiScript[®] III RT SuperMix for qPCR kit, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。采用 RT-PCR 进行样品表达量分析(ChamQ Universal SYBQ qPCR Master Mix kit, QuantStudio[™] Real-Time PCR Instrument Applied Biosystems, 美国)。在 NCBI(National Center for Biotechnology Information)查找杂交鳢目的基因的 cDNA 序列, 设计出特异性引物序列, 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成引物。 β -actin 作为内参基因, 采用 2

μL cDNA 与 $0.4 \mu\text{L}$ 上下游引物、 $10 \mu\text{L}$ ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix ($2\times$) 和 $7.2 \mu\text{L}$ 超纯水混合, 总体积为 $20 \mu\text{L}$ 。反应程序: 95°C 30 s ; 95°C , $3\sim 10 \text{ s}$; 60°C , $10\sim 30 \text{ s}$, 40 个循环; 95°C 15 s , 60°C 60 s , 95°C 15 s 。每个样本 3 个重复, 根据 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法计算相对表达量^[18]。

1.4 数据分析

使用 SPSS 25.0 统计软件进行单因素方差分析, 所有实验数据经方差齐性检验后, 采用 Duncan 氏法进行多重比较, 确定实验数据的显著性, 所有的实验结果均以平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 生长性能分析

与 LC 组相比, HC 组 WGR、SGR 和 PDR 下降, 但并不显著, Arg 组 WGR、SGR 和 PDR 显

著升高 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 FCR 升高但并不显著, Arg 组 FCR 显著降低 ($P<0.05$)。杂交鳢 SR 各实验组无显著差异 ($P>0.05$) (图 1)。

2.2 全鱼体成分含量分析

杂交鳢全鱼体成分如图 2 所示, 与 LC 组相比, Arg 组鱼体粗蛋白含量显著升高 ($P<0.05$), HC 组粗蛋白含量无显著差异 ($P>0.05$)。杂交鳢各实验组粗脂肪、灰分和水分含量无显著差异 ($P>0.05$)。

2.3 血浆生化指标分析

杂交鳢血浆生化指标如图 3 所示, 与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组血浆 TP 含量显著升高 ($P<0.05$)。杂交鳢各实验组 TC、TG 和 UN 含量无显著差异 ($P>0.05$)。

2.4 抗氧化指标分析

杂交鳢抗氧化活性指标如图 4 所示, 与 LC 组相比, HC 组血浆和肝脏 MDA 含量显著升高

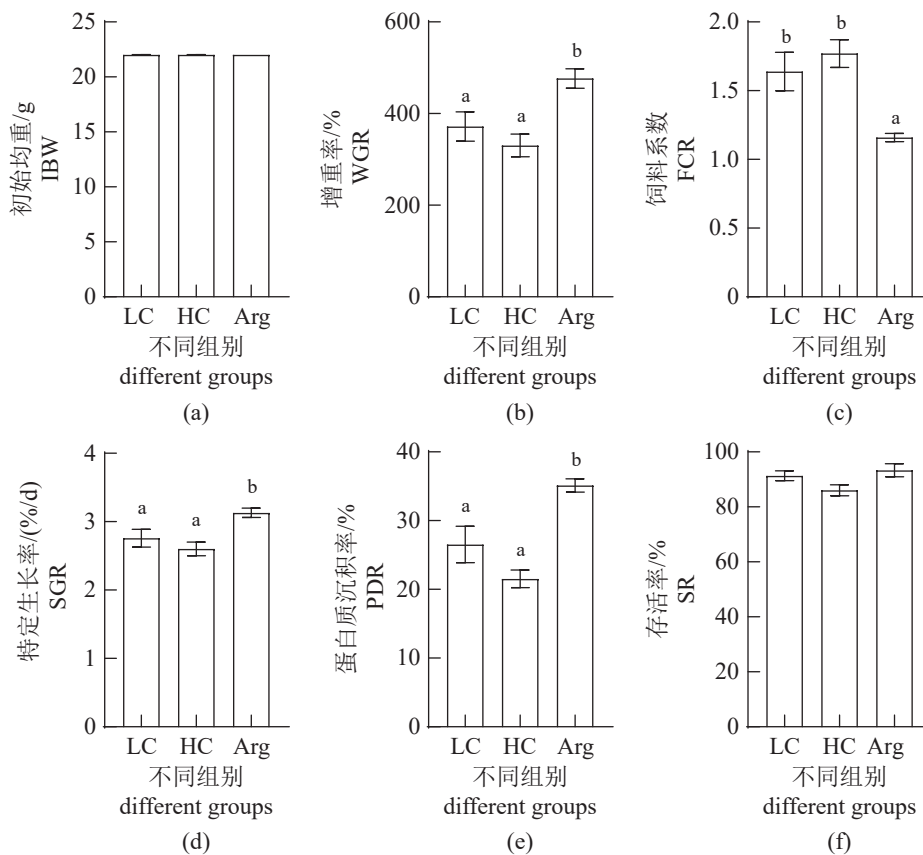


图 1 不同实验组饲料对杂交鳢生长性能的影响

LC. 低碳水化合物组, HC. 高碳水化合物组, Arg. 精氨酸组; 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。

Fig. 1 Effect of different experimental groups of diets on the growth performance of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

LC. low carbohydrate diet group, HC. high carbohydrate diet group, Arg. Arg group; values with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$); the same as below. .

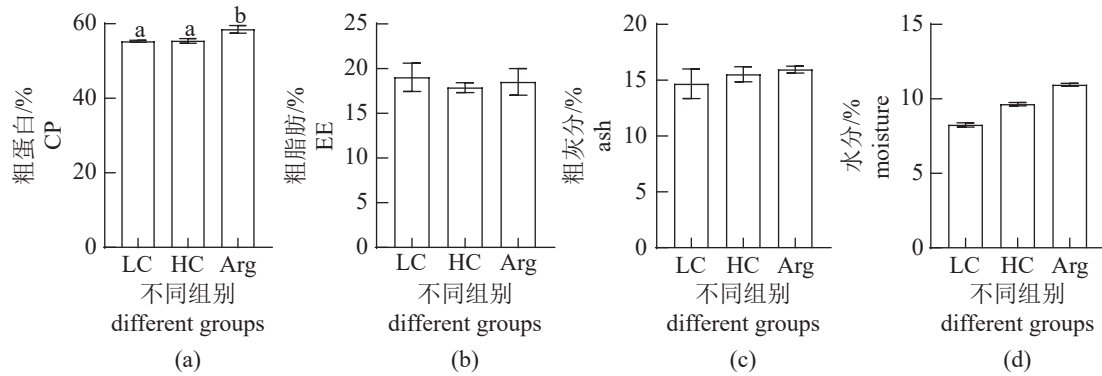


图2 不同实验组饲料对杂交鳢体成分的影响

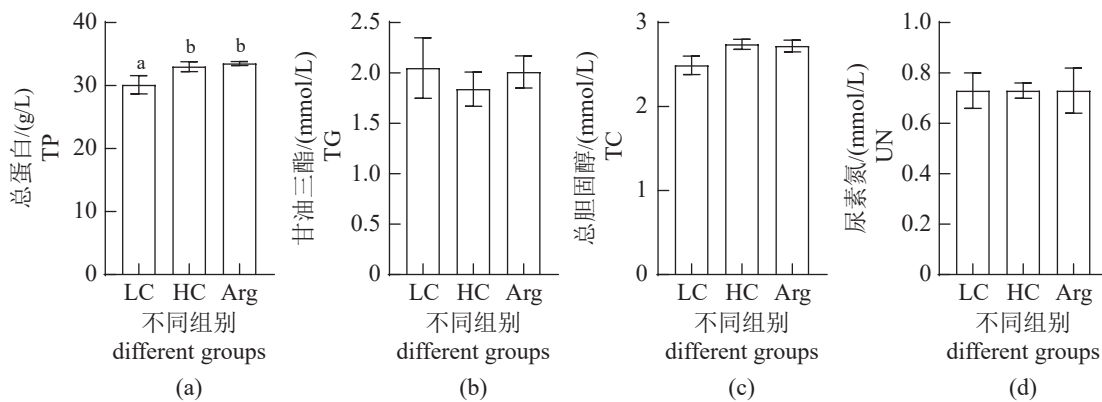
Fig. 2 Effect of different experimental groups of rations on the body composition of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

图3 不同实验组饲料对杂交鳢血浆生化指标的影响

Fig. 3 Effect of different experimental groups of diets on plasma biochemical indexes of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

($P<0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组肝脏 MDA 含量显著降低 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组肠道 T-AOC 显著降低 ($P<0.05$), 与 HC 组相比, Arg 组肠道 T-AOC 显著升高 ($P<0.05$)。与 HC 组相比, Arg 组肝脏 CAT 和 SOD 活性显著升高 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组肠道 POD 活性显著降低 ($P<0.05$), Arg 组肝脏 POD 活性显著升高 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组肠道和肝脏 GSH-Px 活性显著降低 ($P<0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组肠道和肝脏 GSH-Px 活性显著升高 ($P<0.05$)。

2.5 血糖和糖原指标分析

如图 5 所示, 与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组血糖和肝糖原含量无显著差异 ($P>0.05$)。

2.6 胰岛素信号通路相关基因表达

杂交鳢胰岛素信号通路相关基因表达如图 6 所示, 与 LC 组相比, HC 组 *AKT* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), Arg 组 *AKT* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组 *IRS-1* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), 但与 HC 组相比,

AKT 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *PI3K* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), Arg 组 *PI3K* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。

2.7 糖代谢相关基因表达的影响

杂交鳢糖代谢相关基因表达如图 7 所示, 与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组 *GS* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *PEPCK* 基因表达量显著下调 ($P<0.05$), Arg 组 *PEPCK* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$), 与 HC 组相比, *PEPCK* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *G6P* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), Arg 组 *G6P* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *G6P* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组 *G6P* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *G6P* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *PK* 基因表达量无显著差异 ($P>0.05$), Arg 组 *PK* 基因表达量显著上调 ($P<0.05$)。与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组 *GK* 基因表达量无

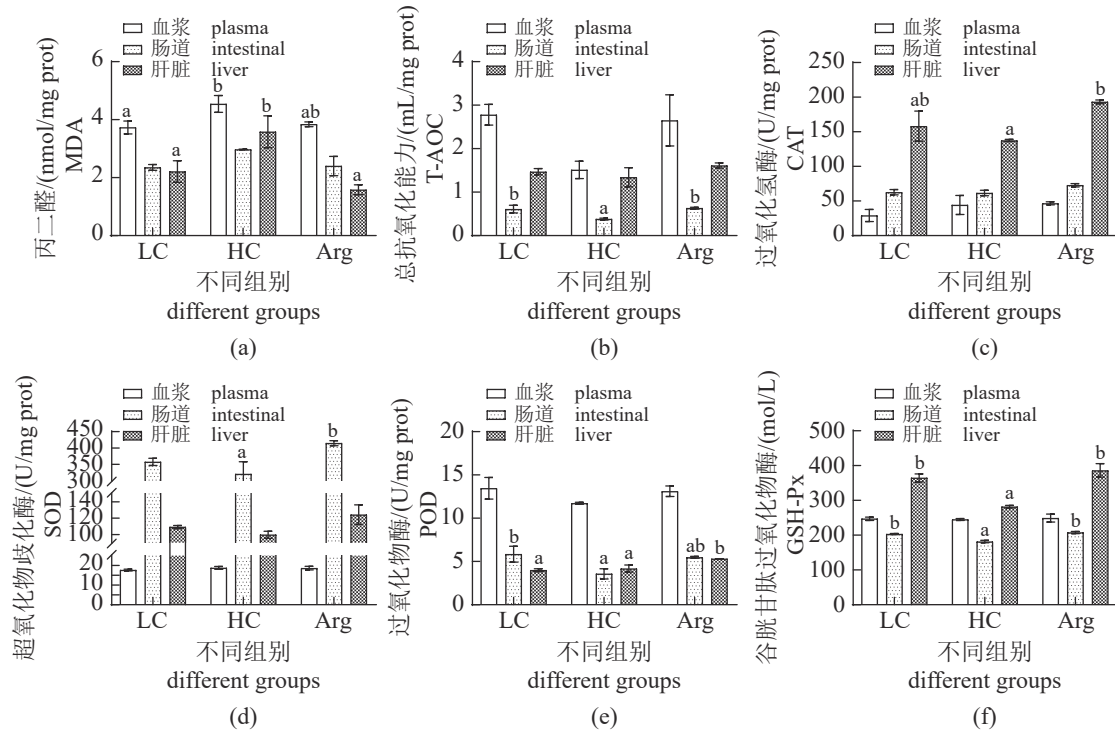


图 4 不同实验组饲料对杂交鳢抗氧化指标的影响

不同字母表示同一化合物不同组别之间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Fig. 4 Effect of different experimental groups of diets on antioxidant index of *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

Values with different letter superscripts from the same compound mean significant difference between different groups ($P < 0.05$), the same below.

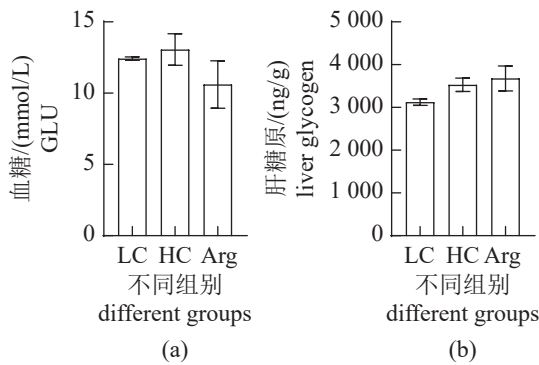


图 5 不同实验组饲料对杂交鳢血糖及糖原的影响

Fig. 5 Effect of different experimental groups of diets on blood glucose and glycogen of *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

显著差异 ($P > 0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *GLUT2* 基因表达量显著降低 ($P < 0.05$), Arg 组 *GLUT2* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.8 免疫相关基因表达

杂交鳢免疫相关基因表达如图 8 所示, 与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组 *IL-8* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *IL-8* 基因表达量显著下调 ($P < 0.05$)。与 LC 组相比, HC

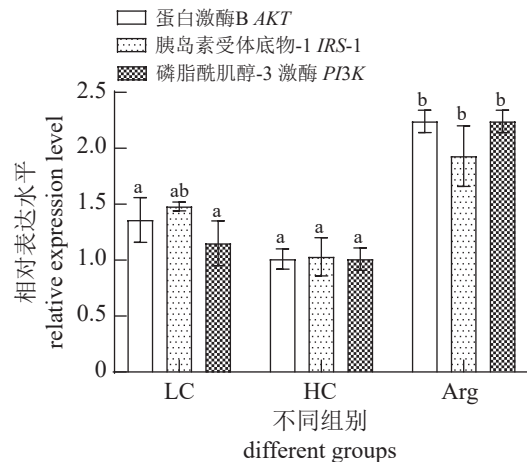


图 6 不同实验组饲料对杂交鳢胰岛素信号通路相关基因表达的影响

Fig. 6 Effect of different experimental groups of diets on the expression of genes related to insulin signaling pathway in *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

组和 Arg 组 *IL-1β* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *IL-1β* 基因表达量显著下调 ($P < 0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *TNF-α* 基因表达量显著上调 ($P < 0.05$), Arg 组 *TNF-α* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组

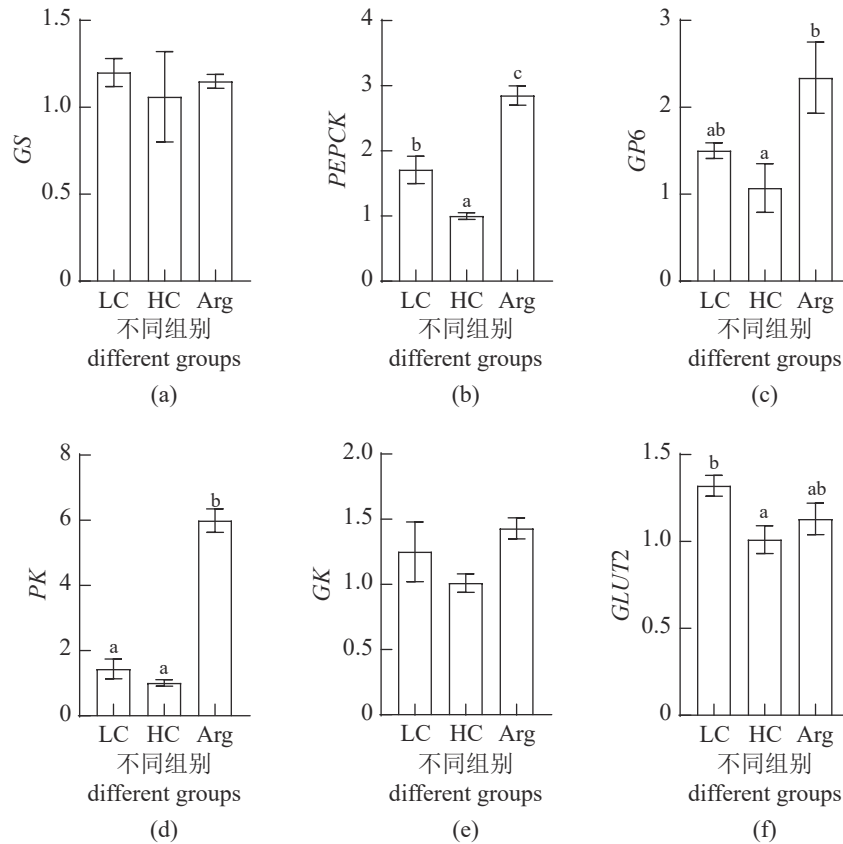


图7 不同实验组饲料对杂交鳢糖代谢相关基因表达的影响

Fig. 7 Effect of different experimental groups of diets on the expression of genes related to sugar metabolism in *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

TNF- α 基因表达量显著下调 ($P < 0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *TGF- β* 基因表达量显著下调 ($P < 0.05$), Arg 组 *TGF- β* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *TGF- β* 基因表达量显著上调 ($P < 0.05$)。与 LC 组相比, HC 组 *HSP70* 基因表达量显著下调 ($P < 0.05$), Arg 组 *HSP70* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *HSP70* 基因表达量显著上调 ($P < 0.05$)。与 LC 组相比, HC 组和 Arg 组 *HSP90* 基因表达量无显著差异 ($P > 0.05$), 但与 HC 组相比, Arg 组 *HSP90* 基因表达量显著上调 ($P < 0.05$)。

3 讨论

碳水化合物是哺乳动物重要的能量来源, 但在鱼类中的使用效率非常低^[19]。研究表明, 饲喂高碳水化合物日粮会显著降低虹鳟^[20] 和日本鳗鲡 (*A. japonica*)^[21] 的饲料利用效率和蛋白质沉积效率。当大西洋鳕 (*Gadus morhua*)^[22] 和大麻哈鱼 (*O. keta*)^[23] 的饲料淀粉含量超过干物质的 10% 时, 鱼类将通过升高摄食量以维持自身的生长^[24]。在本

实验条件下, HC 组杂交鳢的 WGR、SGR 和 PDR 均低于 LC 组, FCR 高于 LC 组。本实验结果表明, 杂交鳢饲喂高碳水化合物日粮会导致生长性能下降, 饲料成本升高, 经济效益降低。碳水化合物在制备鱼类商业配合饲料中起着重要作用, 但许多研究指出, 高碳水化合物饲料会导致肝脏代谢负担、肝脏脂肪变性等疾病^[25]。因此, 必须找到适合的添加剂来减轻或解决高碳水化合物饲料对鱼类造成的危害。研究表明, 精氨酸对鱼类的生长、抗氧化能力、内分泌调节和免疫反应有积极影响^[26]。此外, 在哺乳动物中的大量证据表明, 精氨酸可以有效诱导机体分泌胰高血糖素, 改变胰岛素敏感性, 提高葡萄糖利用效率^[27]。因此, 本研究探索了精氨酸供给对高碳水化合物饲料饲喂杂交鳢的保护作用。在本实验条件下, Arg 组显著增加了杂交鳢的 WGR、SGR、PDR 和鱼体粗蛋白含量, 显著降低了 FCR。本实验结果表明, 在饲料中添加精氨酸可以显著缓解高碳水化合物对杂交鳢生长性能的负面影响, 显著提高机体蛋白质沉积效率。

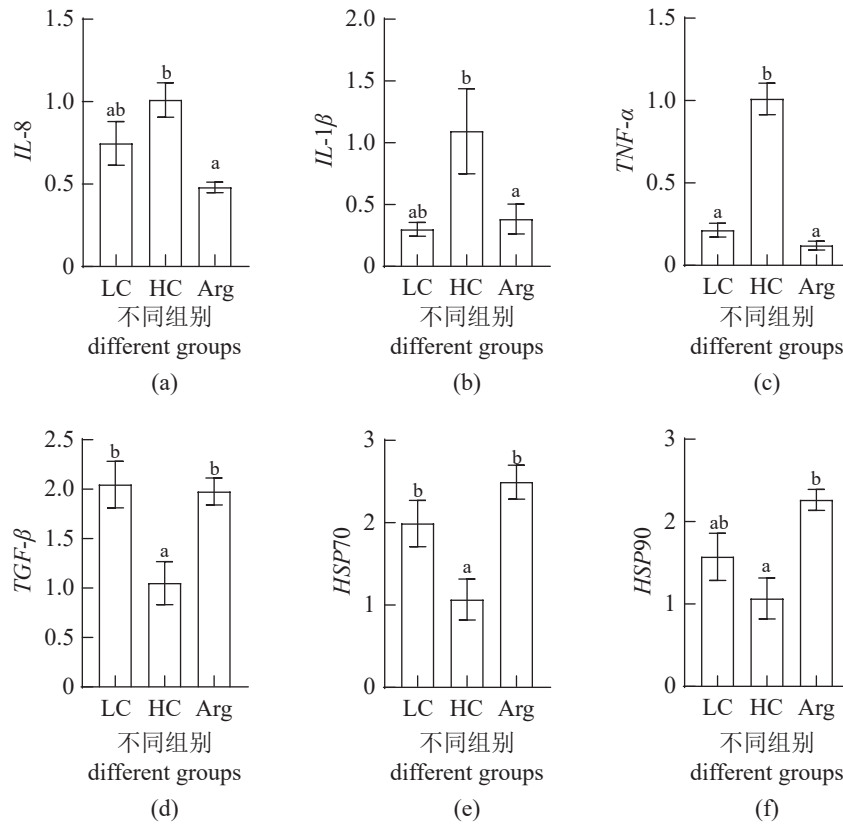


图 8 不同实验组饲料对杂交鳢免疫相关基因表达的影响

Fig. 8 Effect of different experimental groups of diets on the expression of immune-related genes in *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

血浆生化指标可以反映鱼体代谢、营养状况及对环境的适应性^[28]。血浆 TP 起维持血管正常渗透压、酸碱度的作用, 间接反映机体消化吸收的能力^[29]。本实验条件下, Arg 组血浆 TP 含量显著高于 LC 组和 HC 组, 但 LC 组与 HC 组无显著差异, 这与杂交鳢蛋白质沉积率及全鱼粗蛋白含量升高结果一致, 表明饲料添加适量精氨酸能够促进机体蛋白质生成。

鱼类与其他脊椎动物一样, 具有酶促和非酶抗氧化防御机制, 可作为对氧化应激的保护剂^[7]。通过饮食操纵增加鱼类的抗氧化活性是一种常见且实用的方法^[30]。肝脏的抗氧化系统在捕获和消除过量的活性氧 (ROS) 方面起着关键作用^[31]。以往的研究表明, SOD、CAT、GSH-Px、T-AOC、POD 和 MDA 可以作为测试鱼类抗氧化能力的重要指标^[32]。研究表明, 高碳水化合物饮食压力超过抗氧化防御, 肝脏经历氧化应激, 导致肝毒性和肝功能障碍, 进而导致生理代谢紊乱、生长抑制和炎症反应等现象^[6]。本研究结果表明, HC 组杂交鳢肝脏和血浆中 MDA 含量显著高于 LC 组,

Arg 组肝脏 MDA 含量显著降低。与 LC 组相比, HC 组杂交鳢肠道 T-AOC、POD 和 GSH-Px, 肝脏 POD 和 GSH-Px 显著降低, Arg 组肠道 T-AOC、SOD 和 GSH-Px, 肝脏 CAT、POD 和 GSH-Px 活性均显著升高。因此可以推断, 高碳水化合物摄食会对杂交鳢的肝脏、肠道和血浆造成不同程度的氧化损伤。然而, 在饲料中添加 Arg 显著减轻了这种氧化损伤。SOD 可以催化超氧阴离子自由基转化为无毒化合物, 从而降低毒性^[33]。因此, 在本实验中, 通过添加 Arg 缓解了高碳水化合物对杂交鳢造成的细胞损伤, 并通过 Arg 组肠道组织中 SOD 活性的增加来验证这一点。本实验结果表明, 杂交鳢饲料中补充 Arg 可增强抗氧化能力, 抑制肝脏脂质过氧化, 减少高碳饮食引起的氧化应激损伤。这可能是由于在饮食中添加 Arg, 从而促进机体生成一氧化氮 (NO)、谷氨酰胺等物质。NO 可以清除体内的氧自由基, 谷氨酰胺可以作为体内氧化的能量来源, 去除各种组织细胞中的氧化物, 减少对细胞的氧化损伤。同时观察到, Arg 组肝脏 CAT、GSH-Px 和 POD 活性显著升高,

而 Arg 组与 HC 组肝脏 T-AOC 活性无显著差异。这可能是由于在精氨酸的调节下, 抗氧化酶从肝脏中清除活性氧, 当活性氧恢复到基线时, 该酶活性下降至与 HC 组相似的水平, 不同实验组酶的抗氧化活性下降速率不一致, 导致了上述结果, 这与 Pan 等^[34]的研究结果类似。

本实验中, 杂交鳢 HC 组血浆葡萄糖含量高于 LC 组, 但并不显著。影响鱼体血浆葡萄糖水平的因素可能受到各种条件 (温度、网箱、鱼种、饲养管理、鱼体糖代谢能力、鱼类对胰岛素的敏感性及鱼体激活胰岛素的能力等) 的制约^[35]。胰岛素主要作用于糖酵解, 抑制肝脏和肌肉中的糖异生和糖原合成, 但不同组织之间存在重要差异, 肝脏中的胰岛素敏感性高于肌肉^[36]。IRS-1 是胰岛素信号通路 (IRS-1\PI3K\AKT) 中的信使分子, 是胰岛素作用的重要一步^[37]。PI3K 是 IRS-1 的下游基因, 在葡萄糖代谢的调节中起核心作用^[38]。AKT 作为胰岛素途径的一部分, 在调节胰岛素代谢方面具有特殊作用。在本实验条件下, Arg 组 IRS-1、PI3K 和 AKT 基因的相对表达量显著上调。与本研究结果一致, 在 2 型糖尿病中观察到 PI3K 基因损伤, 并且在高碳水化合物水平下 PI3K 基因显著下调, 这种现象对 PI3K 信号传导、胰岛素代谢和葡萄糖稳态的调节具有不利影响^[39]。AKT 基因的表达在高碳水化合物水平下也会降低, 但在 2 型糖尿病研究中没有观察到这种现象^[39]。因此, AKT 基因与胰岛素抵抗的关系需要在不同物种中进一步验证。本实验结果表明, 在高碳水化合物水平下, 胰岛素信号通路中关键基因的表达受到抑制, 但饲料中加入 Arg 显著促进了胰岛素信号通路的表达, 这可能是由于精氨酸可通过激活葡萄糖转运蛋白-4 (GLUT4) 易位来刺激葡萄糖摄取, 从而提高葡萄糖利用效率, 类似于大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的研究结果^[40]。

糖酵解是糖代谢的主要方式, GLUT2 介导葡萄糖和肝细胞之间的相互转运, 这是葡萄糖代谢的第一步^[41]。在本实验条件下, 与 LC 组相比, HC 组 GLUT2 基因表达量显著降低, Arg 组 GLUT2 基因表达出现上调, 但并不显著。高碳水化合物水平影响肝脏和血液之间的葡萄糖转移速率, 但与 Arg 组相比并不显著, 这可能取决于激素和不同的代谢条件。PK 是糖酵解途径中重要的限速酶^[42]。Arg 组 PK 基因表达量显著上调, 表明 Arg 在高碳水化合物水平下可显著提高肝脏葡

萄糖的利用效率。PEPCK 和 G6P 主要用于调节糖异生速率^[43]。G6P 作用于糖异生的最后一步, 将葡萄糖-6-磷酸从丙酮酸转化为游离葡萄糖^[44]。在本实验条件下, 饲料添加精氨酸显著上调了 PEPCK、PK 和 G6P 基因的表达, 表明精氨酸可以增加丙酮酸的合成, 从而进一步提高丙酮酸转化为葡萄糖-6-磷酸的能力。本实验中, 肝糖原含量也出现升高, 但不显著, 表明精氨酸对肝糖原分解途径的影响也取决于很多因素, 如采样时间、饱腹和饥饿状态等因素。以往的工作倾向于研究小鼠 (*Mus musculus*) 等哺乳动物的葡萄糖代谢机制, 而忽略了鱼类利用糖的能力机制。未来的工作应深入探索不同鱼类的糖原合成能力, 以及在饱腹和饥饿状态下糖生产和糖原转化的不同模式。

肝脏对免疫系统的贡献非常重要, 高碳水化合物摄入会导致肝脏炎症反应, 损害肝功能^[45]。白细胞介素 (IL) 和肿瘤坏死因子 (TNF) 是两种重要的细胞因子, 在动物生长、代谢、抗氧化和免疫应答过程中起重要作用^[46]。IL-8 作为一种重要的促炎细胞因子, 主要促进中性粒细胞黏附在内皮细胞上并迁移到炎症部位^[47]。IL-1 β 和 TNF- α 是两种有效的促炎因子, 可以通过调节其他细胞因子的表达来诱导炎症反应^[48]。TGF- β 是多效性抗炎因子, 通过抑制炎症细胞因子的释放来有效缓解炎症^[49]。热休克蛋白 (HSP) 在促进身体细胞对各种压力的抵抗力方面起着重要作用, 显著增强机体细胞对各种应激的抵抗力, 并在蛋白质跨细胞膜的转运和合成中起重要作用, HSP70 和 HSP90 基因表达水平的上调可以保护细胞免受氧化应激。因此, HSP 常用于水生动物转录调控和应激反应的研究^[50]。以往的研究表明, 高碳水化合物饮食观察到 IL-8 和 IL-1 β 基因表达的显著上调, 从而诱导炎症反应^[6]。本实验中, HC 组杂交鳢肝脏中免疫相关基因 TNF- α 表达显著上调, TGF- β 、HSP70 表达显著下调, 研究表明, 高碳水化合物饮食将会诱导杂交鳢肝脏炎症反应。与 HC 组相比, Arg 组肝脏 IL-8、IL-1 β 和 TNF- α 表达显著下调, TGF- β 、HSP70 和 HSP90 表达显著上调, 结果表明, 在高碳水化合物饮食中添加 Arg 显著缓解了杂交鳢的肝脏炎症反应, 这表明精氨酸的供给可防止 HSP70 和 HSP90 表达量降低, 缓解肝脏炎症反应, 保护肝脏免受氧化应激损伤。然而, HSP 在体内保护细胞的作用机制较复杂, 增强细

胞对外部氧化应激等的反应能力和作用机制值得进一步探索。

4 结论

高碳水化合物饲料引起杂交鳢机体氧化损伤, 并通过上调 *TNF- α* 和下调 *TGF- β* 、*HSP70* 炎症因子的表达诱导肝脏炎症反应。高碳水化合物饲料中添加精氨酸可促进杂交鳢生长, 提高机体抗氧化能力, 激活胰岛素信号通路 (*IRS-1*、*PI3K*、*AKT*), 并通过抑制促炎症因子 (*IL-8*、*IL-1 β* 、*TNF- α*) 的表达, 缓解肝脏炎症反应。因此, 饲料添加精氨酸在缓解高碳水化合物导致的炎症方面具有较大潜力。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Li X Y, Han T, Zheng S X, *et al.* Hepatic glucose metabolism and its disorders in fish[M]//Wu G Y. Recent advances in animal nutrition and metabolism. Cham: Springer, 2022: 207-236.
- [2] Xia Y, Wang Y H, Xie J, *et al.* Effects of BBR on growth performance, serum and hepatic biochemistry parameters, hepatic morphology and gene expression levels related to glucose metabolism in largemouth bass, *Micropterus Salmoides*[J]. *Aquaculture Research*, 2022, 53(10): 3807-3817.
- [3] Dai Y F, Shen Y B, Guo J M, *et al.* Glycolysis and gluconeogenesis are involved of glucose metabolism adaptation during fasting and re-feeding in black carp (*Mylopharyngodon Piceus*)[J]. *Aquaculture and Fisheries*, 2022, doi: 10.1016/j.aaf.2022.04.003.
- [4] Erfanullah A K J. Growth rate, feed conversion, and body composition of *Catla catla*, *Labeo rohita*, and *Cirrhinus mrigala* fry fed diets of various carbohydrate-to-lipid ratios[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1998, 29(1): 84-91.
- [5] NRC. Nutrient requirements of fish and shrimp[M]. Washington: The National Academies Press, 2011.
- [6] Xu T T, Liu X W, Huang W Q, *et al.* Effects of dietary carbohydrate levels on growth, metabolic enzyme activities and oxidative status of hybrid snakehead (*Channa Maculata* ♀ × *Channa Argus* ♂)[J]. *Aquaculture*, 2023, 563: 738960.
- [7] Hoseini S M, Ahmad Khan M, 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.
- [8] Wang Q C, Xu Z, Ai Q H. Arginine metabolism and its functions in growth, nutrient utilization, and immunonutrition of fish[J]. *Animal Nutrition*, 2021, 7(3): 716-727.
- [9] Li P J, Hou D Q, Zhao H X, *et al.* Effects of dietary arginine levels on intestinal morphology, digestive enzyme activity, antioxidant capacity and intestinal flora of hybrid snakehead (*Channa Maculata* ♀ × *Channa Argus* ♂)[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 25: 101244.
- [10] 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.
- [11] Wu M J, Wu X Y, Lu S D, *et al.* Dietary arginine affects growth, gut morphology, oxidation resistance and immunity of hybrid grouper (*Epinephelus Fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus Lanceolatus* ♂) Juveniles[J]. *British Journal of Nutrition*, 2018, 120(3): 269-282.
- [12] Zhao H X, Qiao G X, Cao J M, *et al.* Dietary supplementation of N-carbamylglutamate and effects on growth, intestinal enzyme activities, immunological and antioxidant abilities of juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus Fulvidraco*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(6): 1250-1260.
- [13] Liang H L, Habte-Tsion H M, Ge X P, *et al.* Dietary arginine affects the insulin signaling pathway, glucose metabolism and lipogenesis in juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 7864.
- [14] Folope V, Meret C, Castres I, *et al.* Evaluation of a supervised adapted physical activity program associated or not with oral supplementation with arginine and leucine in subjects with obesity and metabolic syndrome: a randomized controlled trial[J]. *Nutrients*, 2022, 14(18): 3708.
- [15] Fang H H, Xie J J, Liao S Y, *et al.* Effects of dietary inclusion of shrimp paste on growth performance, digestive enzymes activities, antioxidant and immunological

- status and intestinal morphology of hybrid snakehead (*Channa Maculata* ♀ × *Channa Argus* ♂)[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 1027.
- [16] Yang C, Huang R, Ou M, *et al.* A rapid method of sex-specific marker discovery based on NGS and determination of the XX/XY sex-determination system in *Channa maculata*[J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735499.
- [17] Chen Q M, Zhao H X, Huang Y H, *et al.* Effects of dietary arginine levels on growth performance, body composition, serum biochemical indices and resistance ability against ammonia-nitrogen stress in juvenile yellow catfish (*Pelteobagrus Fulvidraco*)[J]. *Animal Nutrition*, 2016, 2(3): 204-210.
- [18] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [19] 赵柳兰, 唐小鸿, 廖磊, 等. 不同碳水化合物水平对大口黑鲈鳃组织结构、抗氧化能力和免疫能力的影响 [J]. 水产学报, 2022, 46(11): 2158-2167.
- Zhao L L, Tang X H, Liao L, *et al.* Effects of different carbohydrate levels on gill tissue structure, antioxidant capacity and immunity of *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2022, 46(11): 2158-2167(in Chinese).
- [20] Bergot F. Carbohydrate in rainbow trout diets: effects of the level and source of carbohydrate and the number of meals on growth and body composition[J]. *Aquaculture*, 1979, 18(2): 157-167.
- [21] Degani G, Viola S, Levanon D. Effects of dietary carbohydrate source on growth and body composition of the European eel (*Anguilla Anguilla* L.)[J]. *Aquaculture*, 1986, 52(2): 97-104.
- [22] Hemre G I, Lie Ø, Sundby A. Dietary carbohydrate utilization in cod (*Gadus morhua*): metabolic responses to feeding and fasting[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 1993, 10(6): 455-463.
- [23] Hemre G I, Sandnes K, Lie Ø, *et al.* Carbohydrate nutrition in atlantic salmon, *Salmo salar* L: growth and feed utilization[J]. *Aquaculture Research*, 1995, 26(3): 149-154.
- [24] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(3): 175-194.
- [25] Ma H J, Mou M M, Pu D C, *et al.* Effect of dietary starch level on growth, metabolism enzyme and oxidative status of juvenile largemouth bass, *Micropterus Salmoides*[J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 482-487.
- [26] Hoseini S M, Yousefi M, Hoseinifar S H, *et al.* Effects of dietary arginine supplementation on growth, biochemical, and immunological responses of common carp (*Cyprinus Carpio* L.), stressed by stocking density[J]. *Aquaculture*, 2019, 503: 452-459.
- [27] Hu S D, Han M, Rezaei A, *et al.* L-arginine modulates glucose and lipid metabolism in obesity and diabetes[J]. *Current Protein & Peptide Science*, 2017, 18(6): 599-608.
- [28] Love R M. The Chemical Biology of Fishes. With a key to the chemical literature[M]. New York: Academic Press, 1970.
- [29] Chen H Y, Leu Y, Roelants I. Quantification of arginine requirements of juvenile marine shrimp, *Penaeus monodon*, using microencapsulated arginine[J]. *Marine Biology*, 1992, 114(2): 229-233.
- [30] Hoseini S M, Vatnikov Y A, Kulikov E V, *et al.* Effects of dietary arginine supplementation on ureagenesis and amino acid metabolism in common carp (*Cyprinus Carpio*) exposed to ambient ammonia[J]. *Aquaculture*, 2019, 511: 734209.
- [31] Ma J G, Liu Y, Niu D C, *et al.* Effects of chlorpyrifos on the transcription of CYP3A cDNA, activity of acetylcholinesterase, and oxidative stress response of goldfish (*Carassius Auratus*)[J]. *Environmental Toxicology*, 2015, 30(4): 422-429.
- [32] Wang Y L, Wang C A, Liu S Y, *et al.* Effects of dietary arginine on growth performance, digestion, absorption ability, antioxidant capability, gene expression of intestinal protein synthesis, and inflammation-related genes of triploid juvenile *Oncorhynchus mykiss* fed a low-fishmeal diet[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2022, 2022: 3793727.
- [33] Zhang C, Bruins M E, Yang Z Q, *et al.* A new formula to calculate activity of superoxide dismutase in indirect assays[J]. *Analytical Biochemistry*, 2016, 503: 65-67.
- [34] Pan S M, Yan X B, Dong X H, *et al.* The positive effects of dietary inositol on juvenile hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatu*) fed high-lipid diets: growth performance, antioxidant capacity and

- immunity[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 126: 84-95.
- [35] Polakof S, Panserat S, Soengas J L, *et al.* Glucose metabolism in fish: a review[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2012, 182(8): 1015-1045.
- [36] Wilcox G. Insulin and insulin resistance[J]. *Clinical Biochemist Reviews*, 2005, 26(2): 19-39.
- [37] Liu X L, Liang Z X, Duan H W, *et al.* Dengue virus is involved in insulin resistance via the downregulation of IRS-1 by inducing TNF- α secretion[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2022, 1868(10): 166472.
- [38] Liao H X, Ding M, Zhou N N, *et al.* B7-H3 promotes the epithelial-mesenchymal transition of NSCLC by targeting SIRT1 through the Pi3K/AKT pathway[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2022, 25(3): 79.
- [39] Cozzone D, Fröjdö S, Disse E, *et al.* Isoform-specific defects of insulin stimulation of Akt/protein kinase B (PKB) in skeletal muscle cells from type 2 diabetic patients[J]. *Diabetologia*, 2008, 51(3): 512-521.
- [40] Li P, Koike T, Qin B, *et al.* A high-fructose diet impairs Akt and Pkc ζ phosphorylation and GLUT4 translocation in rat skeletal muscle[J]. *Hormone and Metabolic Research*, 2008, 40(8): 528-532.
- [41] Röder P V, Geillinger K E, Zietek T S, *et al.* The role of SGLT1 and GLUT2 in intestinal glucose transport and sensing[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89977.
- [42] Matschinsky F M, Wilson D F. The central role of glucokinase in glucose homeostasis: a perspective 50 years after demonstrating the presence of the enzyme in islets of langerhans[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 148.
- [43] Singh M K, Dwivedi S, Yadav S S, *et al.* Anti-diabetic effect of *Emblica-officinalis* (Amla) against arsenic induced metabolic disorder in mice[J]. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2020, 35(2): 179-187.
- [44] Tiwari S, Sharma R. Renal gluconeogenesis in insulin resistance: a culprit for hyperglycemia in diabetes[J]. *World Journal of Diabetes*, 2021, 12(5): 556-568.
- [45] Jin H M, Yan C, Xiao T F, *et al.* High fish oil diet promotes liver inflammation and activates the complement system[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2018, 17(5): 6852-6858.
- [46] Ming J H, Ye J Y, Zhang Y X, *et al.* Optimal dietary curcumin improved growth performance, and modulated innate immunity, antioxidant capacity and related genes expression of NF- κ B and NRF2 signaling pathways in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) after infection with *Aeromonas hydrophila*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 97: 540-553.
- [47] El-Leithy A A A, Hemeda S A, El Naby W S H A, *et al.* Optimum salinity for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and mRNA transcripts of ion-regulation, inflammatory, stress- and immune-related genes[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(4): 1217-1232.
- [48] Zhang C N, Zhang J L, Ren H T, *et al.* Effect of tributyltin on antioxidant ability and immune responses of zebrafish (*Danio Rerio*)[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 138: 1-8.
- [49] Fabregat I, Moreno-Càceres J, Sánchez A, *et al.* TGF- β signalling and liver disease[J]. *The FEBS Journal*, 2016, 283(12): 2219-2232.
- [50] Roychowdhury P, Aftabuddin M, Pati M K. Thermal stress-induced oxidative damages in the liver and associated death in fish, *Labeo Rohita*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, 47(1): 21-32.

Effects of high carbohydrate diets supplemented with arginine on growth performance, antioxidant activity, immune response and genes related to glucose metabolism in hybrid snakehead [*Channa maculata* (♀)×*C. argus* (♂)]

LI Peijia^{1,2}, CHEN Bing¹, LI Min^{1,2}, PENG Kai¹, HU Junru¹,
HUANG Wen^{1,3}, CAO Junming², ZHAO Hongxia^{1*}

(1. Collaborative Innovation Center of Aquatic Sciences, Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

3. Guangzhou Fishtech Biotechnology Co., Ltd., Guangzhou 510640, China)

Abstract: This experiment investigated the effects of high carbohydrate diets supplemented with arginine on growth performance, body composition, plasma biochemistry, antioxidant activity, glucose metabolism and immune-related genes in juvenile hybrid snakehead [*Channa maculata* (♀)×*C. argus* (♂)]. The 450 hybrid snakehead with initial body weight of (22.02±0.02) g were randomly divided into three groups with three replicates of 50 fishes each and fed three experimental diets with carbohydrate levels of 21.34%, 27.45% and 27.38%, respectively, and were recorded as LC, HC and Arg groups for eight weeks. The results showed that compared with low-carbohydrate diet (LC group), high-carbohydrate diet (HC group) significantly decreased the weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), and protein deposition rate (PDR), and increased the feed ratio (FCR). The addition of arginine group (Arg group) significantly decreased FCR. Significantly improved the WGR, SGR, PDR, whole fish plasma protein and crude protein content. Compared with the LC group, the plasma and liver malondialdehyde (MDA) content and liver tumor necrosis factor- α (*TNF- α*) expression were significantly increased in the HC group. Intestinal total antioxidant capacity (T-AOC) and peroxidase (POD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and liver POD and GSH-Px activity, hepatic phosphoenolpyruvate carboxylase (*PEPCK*), glucose transporter protein-2 (*GLUT-2*), transforming growth factor (*TGF- β*) and heat shock protein 70 (*HSP70*) gene expression quantity dropped significantly. Oxidative stress and liver inflammation suggested liver disease in hybrid snakehead fed a high carbohydrate diet. Feeding the diet supplemented with Arg could enhance the antioxidant capacity of the liver by reducing the content of MDA and strengthening the activities of T-AOC, POD, GSH-Px and superoxide dismutase (SOD). Compared with the HC group, the expressions of pro-inflammatory factors interleukin-8 (*IL-8*), interleukin-1 β (*IL-1 β*) and tumor necrosis factor- α (*TNF- α*) were significantly decreased, and the expressions of anti-inflammatory factors *TGF- β* , *HSP70* and heat shock protein 90 (*HSP90*) were significantly increased in *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂) fed with Arg diet. These results suggest the liver inflammatory response was relieved after dietary supplementation with Arg. Studies have shown that, Arg promoted insulin production and glycogenolysis by up-regulating the expression of insulin-related genes protein kinase B (*AKT*), insulin receptor subset-1 (*IRS-1*) and phosphatidylinositol-3 kinase (*PI3K*) and glucose metabolism-related genes *PEPCK*, glucose-6 phosphatase (*G6P*) and pyruvate kinase (*PK*) in the liver. Thus, it regulates hepatic glucose metabolism in fish. In conclusion, a high carbohydrate (HC group) diet induced oxidative stress and inflammation in *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂), while Arg supplementation enhanced antioxidant activity, alleviated inflammation, and promoted glucose metabolism.

Key words: *Channa maculata* (♀)×*C. argus* (♂); arginine; growth performance; plasma biochemistry; antioxidant; immunity

Corresponding author: ZHAO Hongxia. E-mail: zhaohongxia8866@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31402307, 31902388); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2021A1515010850)