

文章编号: 1000-0615(2019)03-0628-11

DOI: 10.11964/jfc.20180111124

## 仿刺参幼参对缬氨酸最适需求量的研究

韩秀杰<sup>1,2</sup>, 李宝山<sup>2</sup>, 王际英<sup>2\*</sup>, 王丽丽<sup>1,2</sup>, 王雅平<sup>1,2</sup>,  
王成强<sup>2</sup>, 姜立生<sup>2</sup>, 孙永智<sup>2</sup>, 郝甜甜<sup>2</sup>

(1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心,  
水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306;

2. 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:** 为探讨仿刺参幼参对缬氨酸的最适需求量, 在基础饲料中添加0、0.80%、1.60%、2.40%、3.20%和4.00%的包膜缬氨酸, 配制缬氨酸含量分别为0.61%(D1, 对照组)、1.14%(D2)、1.46%(D3)、1.73%(D4)、2.17%(D5)和2.64%(D6)的实验饲料, 饲喂体质量为(9.20±0.12)g的仿刺参幼参8周。结果显示, ①添加缬氨酸对仿刺参幼参的成活率(SR)无显著影响; 增重率(WGR)和特定生长率(SGR)均呈先上升后下降趋势, D4组显著高于其他各组; ②添加缬氨酸对肠壁比和肠长比均无显著影响; ③体壁粗蛋白和粗脂肪含量均呈先上升后下降趋势, D4组粗蛋白含量显著高于其他各组, 添加缬氨酸显著提高了体壁组氨酸、缬氨酸、必需氨基酸和总氨基酸含量, 降低了亮氨酸、异亮氨酸和酪氨酸含量; ④肠道中总超氧化物歧化酶(T-SOD)和总抗氧化能力(T-AOC)随缬氨酸添加量的增加呈上升趋势, D1组显著低于其他各组; 丙二醛(MDA)呈先下降后上升趋势, D4组显著低于对照组; ⑤肠道蛋白酶和脂肪酶活力均呈先上升后下降趋势, D3组蛋白酶显著高于其他各组, 淀粉酶活力不受缬氨酸含量的影响。综上, 饲料中添加适宜的缬氨酸显著提高了仿刺参的生长性能和非特异性免疫力, 改变了体壁的常规成分和氨基酸含量。以增重率为评价指标, 经折线回归分析得出, 体质量为9.20 g的仿刺参其配合饲料中缬氨酸最适含量为1.79%(9.18%饲料蛋白质)。

**关键词:** 仿刺参; 缬氨酸; 生长性能; 免疫

**中图分类号:** S 963

**文献标志码:** A

缬氨酸是组成蛋白质的20种氨基酸之一, 化学名称为2-氨基-3-甲基丁酸, 是人体必需氨基酸之一和生糖氨基酸。缬氨酸在生物体正常生命活动中, 尤其是神经系统的正常运转中起重要作用, 缬氨酸缺乏会导致哺乳动物神经功能的衰退, 其与异亮氨酸和亮氨酸一起作用促进机体正常生长, 修复组织, 调节血糖, 并提供其需要的能量<sup>[1]</sup>。缬氨酸还可以帮助肝脏清除多余的氮, 并将身体需要的氮运输到各个部位。缬氨酸也是水生动物的必需氨基酸之一, 对水

生动物的生长性能、蛋白质利用等有重要的影响。目前, 国内外已经开展了一些鱼类和虾类缬氨酸营养需求的研究, 确定了鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[2]</sup>、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[3]</sup>、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)<sup>[4]</sup>、斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)<sup>[5]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[6]</sup>、印鲮(*Cirrhina mrigala*)<sup>[7]</sup>和南亚野鲮(*Labeo rohita*)<sup>[8]</sup>等多种水生动物的缬氨酸需求量。

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

收稿日期: 2018-01-05 修回日期: 2018-05-07

资助项目: 海洋公益性行业科研专项(201505022); 山东省现代农业产业技术体系-刺参创新团队建设(2015-22-06); 山东省重点研发计划(2016GSF115005)

通信作者: 王际英, E-mail: ytwjy@126.com

在波流静稳的岩礁底或细泥沙底,以混在泥沙中的有机碎屑和微小动物体为食。仿刺参是我国食用海参中品质最好、分布最广的一种,具有较高的营养和药用价值,近几年已成为我国北方地区重要的养殖种类之一<sup>[9-11]</sup>。目前,对仿刺参氨基酸营养需求的研究较少,仅精氨酸<sup>[12]</sup>、谷氨酰胺<sup>[13]</sup>和赖氨酸<sup>[14]</sup>的需求量已有研究确定,对缬氨酸的需求量则尚未见报道。研究仿刺参对缬氨酸的营养需求,对配制营养均衡、廉价高效、低污染的配合饲料有重要的指导意义<sup>[15]</sup>。因此,本实验通过在饲料中添加不同含量的缬氨酸,研究其对仿刺参幼参的生长性能、抗氧化能力及消化酶活力的影响,从而为仿刺参对缬氨酸需求的研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计与饲料制作

本实验以鱼粉、小麦粉和藻粉为主要蛋白源,鱼油为主要脂肪源配制基础饲料,在基础饲料中分别添加0、0.80%、1.60%、2.40%、3.20%和4.00%的包膜缬氨酸,配成缬氨酸含量分别为0.61%(D1),1.14%(D2),1.46%(D3),1.73%(D4),2.17%(D5)和2.64%(D6)的6组等氮等能的实验饲料。饲料配方、营养组成及氨基酸组成分别见表1和表2。

实验所用缬氨酸购自上海麦克林生化科技有限公司(纯度>99.9%),参考胡友军等<sup>[16]</sup>的方法进行包被,包被后缬氨酸含量约为40.00%。固体原料超微粉碎过200目标标准筛,按配比称重,加入新鲜鱼油及适量蒸馏水混匀,用小型饲料挤压机制成直径为0.3 cm、厚度0.05 cm的片状饲料,60℃烘干。

### 1.2 饲养管理及样品采集

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,为期8周。实验所用仿刺参幼参购自蓬莱安源水产有限公司。实验开始前,仿刺参放养于养殖系统中驯养2周,驯养期间投喂基础饲料。正式实验开始前,控食24 h,挑选体质健壮,规格相同,初始体质量为(9.20±0.12)g的720头仿刺参幼参随机分到18个圆柱塑料养殖桶(h桶80 cm, h水70 cm, d 60 cm)中,每桶放置2个海参养殖筐。实验分为6个处理,每个处理3个重复,每种饲料随机投喂

3个桶。每天定时投喂1次(16:00),投喂量为仿刺参幼参初始体质量的3%,每天观察仿刺参摄食情况,调整次日投喂量。实验期间,每天换水1/3,换水时用虹吸法将残饵、粪便吸出,每隔2天清理1次,控制水中溶氧>5 mg/L,水温17.0~19.0℃,盐度27, pH 7.6~8.2,氨氮和亚硝酸盐含量低于0.05 mg/L,养殖实验在弱光环境中进行。

养殖实验结束后,控食24 h。记录每桶仿刺参的数量并称重,计算存活率、增重率和特定生长率等,每桶随机取10头仿刺参,测量体质量、体长后解剖,测量肠道重、肠道长、体壁厚,计算肠壁比和肠长比,并采集体壁和肠道,分别置于-20℃和-80℃保存,待测。

### 1.3 样品分析

实验饲料及体壁中水分用105℃恒重法测定(GB/T6435-2006),粗蛋白采用凯氏定氮法测定(GB/T6432-2006),粗脂肪采用索氏抽提法测定(GB/T6433-2006),粗灰分采用550℃失重法测定(GB/T6438-2007),能量采用燃烧法测定(IKA, C6000, Germany),饲料及仿刺参体壁氨基酸测定参照国标测定方法(GB/T14924.10-2008),采用全自动氨基酸测定仪(Hitachi L-8900, Japan)测定。

肠道中总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、总超氧化物歧化酶(total superoxide dismutase, T-SOD)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、蛋白酶(protease)、脂肪酶(lipase)和淀粉酶(amylase)的测定均采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定,酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性单位转换为国际单位,其他酶活性单位参照试剂盒说明书。

### 1.4 测定指标

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

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

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)= $L_i/L_b$

表1 饲料配方及营养组成(干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of the experimental diets (dry material basis)

项目 items	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
<b>原料/% ingredients</b>						
白鱼粉 white fish meal	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
小麦粉 wheatmeal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
藻粉 seaweed powder	34.00	34.00	34.00	34.00	34.00	34.00
包膜甘氨酸 coated glycine <sup>a</sup>	2.00	1.60	1.20	0.80	0.40	0.00
包膜缬氨酸 coated valine	0.00	0.80	1.60	2.40	3.20	4.00
多维 vitamins mixture <sup>b</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
多矿 minerals mixture <sup>c</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
鱼油 fish oil	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
抗氧化剂 antioxidant	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
大豆卵磷脂 soybean lecithin	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
海泥 sea mud	37.90	37.50	37.10	36.70	36.30	35.90
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
<b>营养组成(干物质) proximate composition (dry matter)</b>						
粗蛋白/% crude protein	19.22	19.44	19.39	19.40	19.47	19.45
粗脂肪/% crude lipid	1.75	1.78	1.72	1.74	1.70	1.72
粗灰分/% crude ash	48.69	48.73	49.09	49.50	49.86	49.80
能量/(kJ/g) gross energy	11.37	11.72	11.86	11.98	12.00	12.02

注: a.  $\beta$ -环糊精: 购自孟州市华兴生物化工有限责任公司; b. 多维(mg/kg饲料): 维生素A 38.00 mg, 维生素D<sub>3</sub> 13.20 mg, 维生素K<sub>3</sub> 10.00 mg, 硫胺素 115.00 mg, 核黄素 380.00 mg, 盐酸吡哆醇 88.00 mg, 泛酸 368.00 mg, 烟酸 1 030.00 mg, 生物素 10.00 mg, 叶酸 20.00 mg, 维生素B<sub>12</sub> 1.30 mg, 肌醇 4 000.00 mg, 抗坏血酸 500.00 mg; c. 多矿(mg/kg饲料): NaCl 100.00 mg, KCl 3 020.50 mg, KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 11.30 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 363.00 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 8.00 mg, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3 568.00 mg, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 65.10 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 2.30 mg, CoCl<sub>2</sub> 28.00 mg, KI 7.50 mg, NaF 4.00 mg, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 25 558.00 mg, Ca-lactate 15 978.00 mg, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Fe·5H<sub>2</sub>O 1 523.00 mg

Notes: a.  $\beta$ -cyclodextrin was purchased from mengzhou huaxing biochemical co. Ltd; b. vitamin mixture (mg/kg diet): vitamin A 38.00 mg, vitamin D<sub>3</sub> 13.20 mg, vitamin K<sub>3</sub> 10.00 mg, thiamin 115.00 mg, riboflavin 380.00 mg, pyridoxine HCl 88.00 mg, pantothenic acid 368.00 mg, niacin acid 1 030.00 mg, biotin 10.00 mg, folic acid 20.00 mg, vitamin B<sub>12</sub> 1.30 mg, inositol 4 000.00 mg, ascorbic acid 500.00 mg; c. mineral mixture (mg/kg diet): NaCl 100.00 mg, KCl 3 020.50 mg, KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 11.30 mg, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 363.00 mg, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 8.00 mg, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3 568.00 mg, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 65.10 mg, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 2.30 mg, CoCl<sub>2</sub> 28.00 mg, KI 7.50 mg, NaF 4.00 mg, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 25 558.00 mg, Ca-lactate 15 978.00 mg, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Fe·5H<sub>2</sub>O 1 523.00 mg

式中,  $N_0$ 为养殖实验开始前仿刺参数量,  $N_t$ 为养殖实验结束后仿刺参数量,  $W_0$ 为实验初始仿刺参体质量(g),  $W_t$ 为实验结束时仿刺参体质量(g),  $t$ 为养殖天数(d),  $W_t$ 为实验结束时仿刺参肠道质量(g),  $W_b$ 为实验结束时仿刺参体壁质量(g),  $L_t$ 为实验结束时仿刺参肠道长(cm),  $L_b$ 为实验结束时仿刺参体长(cm)。

### 1.5 数据统计分析

实验所得数据采用Microsoft Excel 2007和SPSS17.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 差异显著时( $P < 0.05$ )采用Duncan氏检

验进行多重比较分析。统计结果以平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)的形式表示。

## 2 结果

### 2.1 缬氨酸对仿刺参生长性能的影响

缬氨酸对仿刺参幼参的SR无显著影响( $P > 0.05$ )(表3); WGR和SGR随饲料缬氨酸含量的升高呈先上升后下降的趋势, D4组增重率显著高于其他各组( $P < 0.05$ ), D1组特定生长率显著低于其他各组( $P < 0.05$ ); 缬氨酸对肠壁比和肠长比均无显著影响( $P > 0.05$ )。

表 2 实验饲料氨基酸组成(干物质基础)  
Tab. 2 Amino acids composition of experimental diets (dry material basis) %

氨基酸 amino acids	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
精氨酸 Arg	0.98	1.01	0.90	0.96	1.00	1.01
组氨酸 His	0.24	0.28	0.24	0.26	0.27	0.28
异亮氨酸 Ile	0.51	0.54	0.50	0.49	0.53	0.56
亮氨酸 Leu	1.36	1.28	1.37	1.51	1.48	1.32
赖氨酸 Lys	0.84	0.95	0.82	0.89	0.93	0.97
蛋氨酸 Met	0.42	0.44	0.42	0.44	0.46	0.39
苯丙氨酸 Phe	0.72	0.77	0.73	0.76	0.77	0.78
苏氨酸 Thr	0.70	0.81	0.68	0.75	0.76	0.82
缬氨酸 Val	0.61	1.14	1.46	1.73	2.17	2.64
天冬氨酸 Asp	1.62	1.74	1.66	1.65	1.72	1.76
丝氨酸 Ser	0.96	0.94	0.90	0.93	0.95	0.94
甘氨酸 Gly	2.35	2.20	1.81	1.72	1.59	1.34
丙氨酸 Ala	1.19	1.18	1.14	1.18	1.21	1.21
半胱氨酸 Cys	0.62	0.56	0.61	0.62	0.54	0.61
酪氨酸 Tyr	0.46	0.44	0.45	0.49	0.51	0.46
谷氨酸 Glu	3.24	3.11	2.88	3.10	3.09	3.10
脯氨酸 Pro	0.84	0.92	0.85	0.91	0.94	0.93
总氨基酸 TAA	17.65	18.32	17.40	18.40	18.90	19.11

表 3 缬氨酸对仿刺参生长性能、饲料利用及形体指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary valine on growth performance, feed utilization and physical indicators of sea cucumber *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
初始体质量/g IBW	9.14±0.19	9.26±0.16	9.20±0.07	9.19±0.13	9.11±0.15	9.24±0.06
终末体质量/g FBW	17.32±1.48	18.45±3.65	19.87±2.42	21.86±3.77	21.18±2.21	21.35±0.74
增重率/% WGR	89.50±2.10 <sup>a</sup>	99.23±2.32 <sup>b</sup>	116.00±3.53 <sup>c</sup>	137.90±3.51 <sup>c</sup>	132.47±3.11 <sup>d</sup>	131.10±2.90 <sup>d</sup>
特定增长率/(%/d) SGR	1.10±0.03 <sup>a</sup>	1.19±0.01 <sup>b</sup>	1.33±0.01 <sup>c</sup>	1.49±0.02 <sup>c</sup>	1.45±0.01 <sup>d</sup>	1.44±0.01 <sup>d</sup>
肠壁比/% IBR	4.37±0.12	4.67±0.51	4.37±0.26	4.65±0.61	4.44±0.45	4.67±0.26
肠长比 IBL	3.52±0.08	3.58±0.05	3.59±0.02	3.60±0.06	3.56±0.08	3.59±0.02
成活率/% SR	95.83±1.44	91.25±1.77	96.67±3.82	95.83±3.82	90.83±2.89	90.00±0.00

注: 表格中同行上标不同字母表示差异显著( $P<0.05$ ); 下同

Notes: In the same row, values with different letter superscripts mean significant differences ( $P<0.05$ ); the same below

以WGR为评价指标, 经折线回归分析得: 体质量为9.20 g的仿刺参幼参饲料中缬氨酸的最适含量为1.79% (9.18%饲料蛋白质)(图1)。

## 2.2 缬氨酸对仿刺参体壁基本成分及氨基酸含量的影响

仿刺参体壁组成中, 水分含量在90.76%~



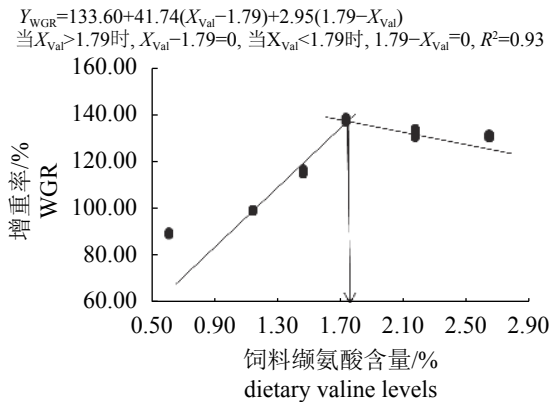


图1 仿刺参增重率与饲料缬氨酸含量的折线回归分析

Fig. 1 The broken-line regression analysis based on dietary valine and WGR of sea cucumber *A. japonicus*

91.46%，且各组间无显著性差异( $P > 0.05$ )(表4)；随饲料中缬氨酸含量的升高，粗蛋白含量呈先上升后下降的趋势且在D4组达到最大值( $P < 0.05$ )；粗脂肪含量也呈先上升后下降的趋势，在D3组达到最大值( $P < 0.05$ )；对照组粗灰分含量最高，显著高于D4组( $P < 0.05$ )，但与其他各组无显著差异( $P > 0.05$ )。

投喂添加缬氨酸的饲料显著提高了仿刺参体壁中的组氨酸、缬氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、必需氨基酸及总氨基酸含量( $P < 0.05$ )，显著降低了亮氨酸、异亮氨酸和酪氨酸含量( $P < 0.05$ )，但是对精氨酸、蛋氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、谷氨酸及脯氨酸无显著影响( $P > 0.05$ )(表5)。

以蛋氨酸为定量1，计算其他必需氨基酸与蛋氨酸的相应比值，各实验组仿刺参体壁中必需氨基酸与蛋氨酸的比值均无显著性差异( $P > 0.05$ )(表6)。

## 2.3 缬氨酸对仿刺参肠道抗氧化及消化酶活性的影响

随饲料缬氨酸含量的增加，肠道中T-AOC、T-SOD、CAT、ALT、AST、ACP及AKP活性均有显著提高( $P < 0.05$ )，其中D1组的T-AOC、T-SOD和AST的活性显著低于其他各组( $P < 0.05$ )，T-AOC和AST的活性在D3组达到最大值(表7)；T-SOD活性在D5组达到最大值；ACP和AKP活性均呈现先上升后下降趋势，分别在D4、D5组达到最大值；饲料中添加缬氨酸显著降低了MDA的含量，D1组显著高于其他各组( $P < 0.05$ )。饲料缬氨酸含量的增加显著提高了仿刺参肠道中蛋白酶和脂肪酶的活性( $P < 0.05$ )，蛋白酶和脂肪酶活性分别在D3、D4组达到最大值( $P < 0.05$ )；淀粉酶活性不受饲料中缬氨酸含量的影响( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 饲料中添加缬氨酸对仿刺参生长性能的影响

本实验中，仿刺参幼参的成活率不受饲料中缬氨酸含量的影响，投喂添加缬氨酸饲料的实验组仿刺参增重率及特定生长率与对照组相比均有显著提高，证明饲料中添加适量的缬氨酸能够促进仿刺参幼参的生长。研究表明，仿刺参幼参的生长随饲料中缬氨酸的增加呈先升高后降低趋势，表明饲料中缬氨酸含量过低或过高均会抑制仿刺参幼参的生长。产生这种生长抑制主要有以下原因：①饲料中缬氨酸含量过低或过高，均会破坏氨基酸代谢平衡，导致机体代谢紊乱，生长受到抑制<sup>[17]</sup>；②缬氨酸参与机体的许多生理代谢过程，如作为蛋白质合成的原料，参与机体组织修复，维持机体氮代谢等，

表4 缬氨酸对仿刺参体壁基本成分的影响

Tab. 4 Effects of dietary valine on approximate composition of body wall of sea cucumber *A. japonicus* %

项目 items	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
水分 moisture	91.18±0.33	91.14±0.16	91.46±0.08	91.06±0.50	91.27±0.26	90.76±0.31
粗蛋白 crude protein <sup>a</sup>	43.66±0.43 <sup>a</sup>	44.61±0.27 <sup>b</sup>	44.77±0.41 <sup>b</sup>	45.67±0.23 <sup>c</sup>	44.75±0.47 <sup>b</sup>	44.57±0.18 <sup>b</sup>
粗脂肪 crude lipid <sup>a</sup>	3.32±0.16 <sup>a</sup>	4.27±0.18 <sup>cd</sup>	4.61±0.04 <sup>d</sup>	4.50±0.20 <sup>d</sup>	3.72±0.15 <sup>ab</sup>	3.88±0.07 <sup>bc</sup>
粗灰分 crude ash <sup>a</sup>	33.03±0.22 <sup>b</sup>	32.30±0.19 <sup>ab</sup>	32.87±0.23 <sup>ab</sup>	32.04±0.27 <sup>a</sup>	32.38±0.09 <sup>ab</sup>	32.70±0.16 <sup>ab</sup>

注：a. 粗蛋白、粗脂肪和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 5 缬氨酸对仿刺参体壁氨基酸组成的影响**  
**Tab. 5 Effects of dietary valine on amino acid composition of body wall of sea cucumber *A. japonicus*** %

氨基酸 amino acid	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
精氨酸 Arg	3.13±0.05 <sup>ab</sup>	3.12±0.14 <sup>ab</sup>	3.05±0.02 <sup>a</sup>	3.18±0.04 <sup>ab</sup>	3.20±0.11 <sup>ab</sup>	3.24±0.12 <sup>b</sup>
组氨酸 His	0.59±0.02 <sup>ab</sup>	0.60±0.02 <sup>abc</sup>	0.58±0.01 <sup>a</sup>	0.61±0.01 <sup>bc</sup>	0.62±0.01 <sup>c</sup>	0.64±0.02 <sup>d</sup>
异亮氨酸 Ile	1.32±0.03 <sup>c</sup>	1.26±0.05 <sup>b</sup>	1.25±0.06 <sup>b</sup>	1.22±0.04 <sup>ab</sup>	1.19±0.03 <sup>a</sup>	1.21±0.06 <sup>ab</sup>
亮氨酸 Leu	2.66±0.04 <sup>c</sup>	2.57±0.05 <sup>b</sup>	2.51±0.03 <sup>a</sup>	2.46±0.05 <sup>a</sup>	2.49±0.05 <sup>a</sup>	2.50±0.03 <sup>a</sup>
赖氨酸 Lys	1.89±0.04 <sup>a</sup>	1.92±0.07 <sup>a</sup>	1.89±0.03 <sup>a</sup>	1.95±0.06 <sup>ab</sup>	1.96±0.08 <sup>ab</sup>	2.05±0.10 <sup>b</sup>
蛋氨酸 Met	0.54±0.07	0.56±0.04	0.55±0.06	0.56±0.07	0.56±0.05	0.55±0.06
苯丙氨酸 Phe	1.36±0.03 <sup>a</sup>	1.37±0.05 <sup>ab</sup>	1.36±0.02 <sup>a</sup>	1.41±0.06 <sup>ab</sup>	1.40±0.06 <sup>ab</sup>	1.44±0.04 <sup>b</sup>
苏氨酸 Thr	2.37±0.03 <sup>a</sup>	2.40±0.09 <sup>ab</sup>	2.34±0.02 <sup>a</sup>	2.43±0.08 <sup>ab</sup>	2.43±0.09 <sup>ab</sup>	2.52±0.10 <sup>b</sup>
缬氨酸 Val	1.58±0.02 <sup>a</sup>	1.63±0.05 <sup>abc</sup>	1.61±0.04 <sup>ab</sup>	1.71±0.08 <sup>c</sup>	1.71±0.09 <sup>c</sup>	1.69±0.01 <sup>bc</sup>
天冬氨酸 Asp	4.50±0.02 <sup>a</sup>	4.64±0.16 <sup>ab</sup>	4.50±0.03 <sup>a</sup>	4.59±0.09 <sup>ab</sup>	4.66±0.12 <sup>ab</sup>	4.74±0.18 <sup>b</sup>
丝氨酸 Ser	2.27±0.03	2.32±0.09	2.23±0.03	2.30±0.05	2.31±0.06	2.34±0.10
甘氨酸 Gly	5.27±0.07	5.30±0.16	5.12±0.02	5.32±0.13	5.32±0.18	5.31±0.21
丙氨酸 Ala	2.70±0.03 <sup>b</sup>	2.68±0.06 <sup>ab</sup>	2.63±0.02 <sup>a</sup>	2.71±0.02 <sup>b</sup>	2.72±0.03 <sup>b</sup>	2.72±0.06 <sup>b</sup>
半胱氨酸 Cys	1.31±0.09	1.29±0.04	1.31±0.11	1.30±0.10	1.30±0.14	1.31±0.07
酪氨酸 Tyr	1.18±0.03 <sup>cd</sup>	1.19±0.05 <sup>cd</sup>	1.23±0.02 <sup>d</sup>	1.14±0.06 <sup>bc</sup>	1.11±0.04 <sup>b</sup>	0.90±0.07 <sup>a</sup>
谷氨酸 Glu	7.45±0.10 <sup>ab</sup>	7.51±0.32 <sup>ab</sup>	7.28±0.07 <sup>a</sup>	7.53±0.05 <sup>ab</sup>	7.58±0.22 <sup>ab</sup>	7.68±0.27 <sup>b</sup>
脯氨酸 Pro	3.02±0.06	3.00±0.17	2.96±0.04	3.08±0.03	3.08±0.11	3.12±0.14
必需氨基酸 EAA	11.72±0.14 <sup>a</sup>	11.68±0.12 <sup>a</sup>	11.51±0.13 <sup>a</sup>	11.74±0.11 <sup>ab</sup>	11.74±0.09 <sup>ab</sup>	11.96±0.13 <sup>b</sup>
总氨基酸 TAA	43.14±0.46 <sup>b</sup>	43.33±0.24 <sup>bc</sup>	42.40±0.35 <sup>a</sup>	43.50±0.34 <sup>bc</sup>	43.64±0.38 <sup>bc</sup>	43.96±0.33 <sup>c</sup>

**表 6 仿刺参体壁氨基酸模式**  
**Tab. 6 Amino acid patterns of body wall of sea cucumber *A. japonicas*** %

氨基酸 amino acids	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
蛋氨酸 Met	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
组氨酸 His	1.11±0.17	1.07±0.05	1.06±0.12	1.10±0.17	1.11±0.09	1.17±0.10
异亮氨酸 Ile	2.50±0.34	2.24±0.25	2.28±0.33	2.21±0.36	2.13±0.25	2.22±0.25
苯丙氨酸 Phe	2.57±0.37	2.45±0.20	2.47±0.24	2.54±0.39	2.51±0.34	2.64±0.32
缬氨酸 Val	2.98±0.35	2.89±0.12	2.94±0.36	3.10±0.57	3.06±0.41	3.10±0.34
赖氨酸 Lys	3.57±0.51	3.42±0.31	3.44±0.39	3.52±0.51	3.50±0.40	3.77±0.58
苏氨酸 Thr	4.47±0.61	4.28±0.30	4.26±0.44	4.39±0.63	4.34±0.54	4.62±0.62
亮氨酸 Leu	5.01±0.58	4.57±0.23	4.57±0.46	4.43±0.55	4.45±0.46	4.57±0.42
精氨酸 Arg	5.91±0.82	5.56±0.46	5.56±0.59	5.75±0.76	5.7±0.48	5.93±0.66

饲料中缬氨酸含量过低, 机体蛋白质合成受限, 对生长产生抑制作用; ③饲料中缬氨酸含

量过高, 破坏了氨基酸平衡, 饲料中氨基酸含量越高, 机体氨基酸分解代谢就越旺盛, 氨基

表7 缬氨酸对仿刺参肠道抗氧化及消化酶活力的影响

Tab. 7 Effects of dietary valine on intestinal antioxidant and digestive enzymes of sea cucumber *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
总抗氧化能力/(U/g prot) T-AOC	0.21±0.01 <sup>a</sup>	0.26±0.01 <sup>b</sup>	0.26±0.02 <sup>b</sup>	0.26±0.01 <sup>b</sup>	0.24±0.02 <sup>b</sup>	0.26±0.02 <sup>b</sup>
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) T-SOD	174.43±6.08 <sup>a</sup>	188.62±6.39 <sup>b</sup>	188.85±5.8 <sup>b</sup>	191.23±6.81 <sup>b</sup>	191.83±4.27 <sup>b</sup>	192.34±3.45 <sup>b</sup>
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	0.70±0.02 <sup>d</sup>	0.52±0.02 <sup>ab</sup>	0.53±0.02 <sup>ab</sup>	0.50±0.03 <sup>a</sup>	0.61±0.02 <sup>c</sup>	0.56±0.02 <sup>b</sup>
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	27.62±2.46 <sup>a</sup>	29.74±2.41 <sup>ab</sup>	34.39±1.57 <sup>c</sup>	32.84±1.48 <sup>bc</sup>	33.90±1.59 <sup>c</sup>	30.99±1.75 <sup>bc</sup>
谷丙转氨酶/(U/g prot) ALT	3.48±0.08 <sup>a</sup>	3.82±0.17 <sup>b</sup>	3.82±0.10 <sup>b</sup>	3.99±0.17 <sup>b</sup>	3.49±0.16 <sup>a</sup>	3.33±0.16 <sup>a</sup>
谷草转氨酶/(U/g prot) AST	2.35±0.12 <sup>a</sup>	2.78±0.12 <sup>b</sup>	2.87±0.14 <sup>b</sup>	2.72±0.12 <sup>b</sup>	2.83±0.13 <sup>b</sup>	2.81±0.11 <sup>b</sup>
酸性磷酸酶/(U/g prot) ACP	1.50±0.08 <sup>a</sup>	1.58±0.10 <sup>ab</sup>	1.59±0.05 <sup>ab</sup>	1.78±0.13 <sup>c</sup>	1.74±0.13 <sup>bc</sup>	1.51±0.11 <sup>a</sup>
碱性磷酸酶/(U/g prot) AKP	2.06±0.05 <sup>a</sup>	2.12±0.05 <sup>ab</sup>	2.18±0.06 <sup>bc</sup>	2.24±0.04 <sup>c</sup>	2.25±0.03 <sup>c</sup>	2.21±0.06 <sup>bc</sup>
蛋白酶/(U/mg prot) protease	1 083.39±27.73 <sup>a</sup>	1 184.10±41.80 <sup>c</sup>	1 243.83±58.23 <sup>d</sup>	1 186.01±22.10 <sup>c</sup>	1 126.45±27.81 <sup>ab</sup>	1 152.09±26.48 <sup>bc</sup>
脂肪酶/(U/g prot) lipase	27.55±2.08 <sup>a</sup>	28.30±2.28 <sup>a</sup>	32.24±1.56 <sup>bc</sup>	33.13±1.64 <sup>c</sup>	32.91±2.18 <sup>bc</sup>	29.44±1.36 <sup>ab</sup>
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	4.09±0.31	4.24±0.21	4.24±0.46	4.42±0.18	4.42±0.39	4.40±0.22

酸的分解需要消耗能量,从而降低了蛋白质和饲料的利用率,对生长产生抑制作用。以增重率为评价指标,采用折线回归分析得出仿刺参幼参缬氨酸的最适需求量为1.79%,占饲料粗蛋白的9.18%。该数值(占饲料粗蛋白)分别远高于鲤<sup>[2]</sup>、真赤鲷(*Pagrus major*)<sup>[18]</sup>、尼罗罗非鱼<sup>[4]</sup>等对缬氨酸的需求量,这可能与实验动物的种属及规格大小等有关。

### 3.2 饲料中添加缬氨酸对仿刺参体壁成分的影响

在构成机体蛋白质的20种氨基酸中,支链氨基酸是唯一不局限于肝脏而可在全身组织特别是肌肉组织进行分解代谢的必需氨基酸。各支链氨基酸结构相似,它们在代谢途径中的转氨基和脱氢作用可共用支链氨基酸转氨酶和脱氢酶,因此在代谢过程中会出现拮抗作用,且拮抗程度在各动物间存在差异,最终影响动物的代谢及生长。在本实验中,随饲料中缬氨酸含量的增加,过量的缬氨酸抑制了体壁中亮氨酸和异亮氨酸的沉积,导致二者含量显著降低。当饲料中某种必需氨基酸含量不足时,机体生长缓慢,饲料和蛋白质利用率低,随饲料中该氨基酸含量的增加,机体生长逐渐加快,当该氨基酸含量超过一定水平时,其生长速率又呈现下降趋势,饲料和蛋白质利用率随之降低<sup>[19-21]</sup>,本实验中,仿刺参幼参的生长等指标也

出现类似的变化。饲料中缬氨酸含量过低或过高均会增加机体代谢负担,抑制其生长;在哺乳动物中研究发现,支链氨基酸对脂肪代谢具有重要的调控作用,能够显著影响体内脂肪沉积<sup>[22-24]</sup>。饲料缺乏或过量支链氨基酸均能减少小鼠体内脂肪沉积<sup>[25-27]</sup>。本实验所得结果与以上研究结果相似,即饲料缺乏缬氨酸能够抑制机体脂肪积累,缬氨酸过量导致脂肪含量减少,推测是由于氨基酸不平衡导致过度的能量消耗引起的。

本实验中,饲料中添加缬氨酸显著提高了仿刺参体壁中缬氨酸、组氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸及天冬氨酸的含量,显著降低了亮氨酸、异亮氨酸及酪氨酸含量,但在低缬氨酸饲料添加组中无显著差异,说明只有缬氨酸含量达到一定值时,上述几种氨基酸之间才会表现出显著的协同或拮抗作用。

蛋白质中各种必需氨基酸的构成比例称为氨基酸模式,即根据蛋白质中必需氨基酸含量,以含量最少的氨基酸为1计算出的其他氨基酸的相应比值。尽管仿刺参对不同氨基酸绝对需求量的差异比较大,但就某一阶段而言,各种氨基酸需求量相对于某一种氨基酸(蛋氨酸)的比例具有一定规律性。对仿刺参而言,其氨基酸模式相对恒定,受品种、年龄等因素的影响较小;随着仿刺参的生长,改变的只是各种氨

氨酸的绝对需求量,而相互比例基本保持不变。本实验中,仿刺参体壁中各实验组内几种必需氨基酸与蛋氨酸的比值均无显著性差异,该研究结果显示,不同氨基酸对促进蛋白质的合成应有适当的比例与浓度,氨基酸的平衡性对于提高蛋白质含量和合成效率具有重要意义,这也反映了氨基酸的吸收利用是按照一定模式进行的。目前,尚无关于仿刺参体壁氨基酸模式的报道,但通过其他研究中仿刺参体壁氨基酸含量的数据<sup>[12]</sup>,可得出与本实验较为相近的结果。

### 3.3 缬氨酸对仿刺参肠道抗氧化及消化酶活性的影响

水生动物的抗氧化能力主要通过机体的自身免疫反应实现<sup>[28]</sup>,研究表明,水生动物机体的抗氧化系统包括由SOD、CAT、GPx等组成的酶类抗氧化系统和由GSH、维生素C和维生素E组成的非酶类抗氧化系统<sup>[29]</sup>。本实验中,随饲料中缬氨酸含量的增加,仿刺参肠道中T-SOD和T-AOC的活性均显著提高,但各添加组之间无显著性差异,说明饲料中添加适量缬氨酸能增强肠道中T-SOD和T-AOC的活性,从而增强仿刺参机体清除氧自由基和抗氧化能力。仿刺参体内具有一定的抗氧化保护系统,但是其机体组织仍易受到氧自由基的攻击,生物膜中含有大量的多不饱和脂肪酸,极易受氧自由基攻击而形成脂质过氧化产物MDA。因此,MDA的含量常用来反映机体脂质发生过氧化的程度。本实验中,对照组仿刺参肠道中MDA的含量显著高于其他各组,当缬氨酸的添加水平达到1.73%时,仿刺参肠道中MDA的含量显著降低且达到最小值,随着缬氨酸含量的进一步增加,仿刺参肠道中MDA的含量又显著升高。说明,饲料中添加适量的缬氨酸可以降低仿刺参脂肪的氧化损伤,提高抗氧化能力。

谷丙转氨酶和谷草转氨酶是机体最重要的2种转氨酶,广泛分布于机体的各组织器官,通常分布于细胞膜、细胞质和线粒体中,ALT在肝脏中含量最高,AST在心脏中含量最高,肝脏次之<sup>[30]</sup>。这2种酶常参与机体内蛋白质和氨基酸代谢,其活性代表体内氨基酸代谢强弱<sup>[31-32]</sup>。本实验中,随饲料中缬氨酸含量的增加,仿刺参肠道中ALT和AST活性也显著提高,但各添加组之

间差异不大,说明随饲料缬氨酸的添加,氨基酸代谢反应增强,但具体机理需要进一步研究。酸性磷酸酶和碱性磷酸酶可以催化磷酸单酯水解及磷酸基团转移,是生物磷代谢的重要酶类,与物质代谢关系密切<sup>[33-34]</sup>,它们还是动物体内重要的解毒体系,并在脂肪、葡萄糖、钙以及磷的消化、吸收和转运过程中起重要作用。本实验中,随饲料中缬氨酸含量的增加,仿刺参肠道中ACP和AKP的活性均显著提高,说明缬氨酸能够提高酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性,从而促进脂肪、钙及磷等物质的吸收。

肠道对食物蛋白质水解产物的吸收、转运是营养学研究的重要内容之一。虽然目前有许多研究资料表明,动物肠道除了对蛋白质的最终水解产物氨基酸进行有效吸收外,对次级水解产物如二肽、三肽等小肽也能进行有效的吸收和转移,且与氨基酸的吸收、转运存在不同的生理机制和通道。然而,对氨基酸的吸收、转运机制及其影响因素的研究依然还有许多空白<sup>[35]</sup>。消化酶活性能够反映仿刺参对不同营养成分的消化能力,仿刺参营养学是以仿刺参消化生理为基础的,因此,测定仿刺参体内消化酶的活性及性质,对加强仿刺参消化生理的研究具有重要意义<sup>[36]</sup>。本实验,饲料中添加缬氨酸显著提高了仿刺参肠道蛋白酶和脂肪酶活性,且分别在D3和D4组达到最大值,说明缬氨酸能够提高蛋白酶和脂肪酶活性,从而促进肠道发育,改善肠道抗氧化状态,提高机体的抗氧化能力和免疫能力。包膜缬氨酸减少了在水中的溶失率,延缓了在消化道中的吸收速度,促进了外源添加氨基酸与蛋白态氨基酸的同步吸收,改善了其吸收性,从而促进仿刺参的生长。肠道淀粉酶活性不受饲料中缬氨酸含量的影响,各实验组差异不大,说明饲料中添加缬氨酸对淀粉代谢影响比较小。

## 4 结论

在本实验条件下,根据本实验结果可得出以下结论:①饲料中适宜水平的缬氨酸可以促进仿刺参幼参的生长,以增重率为评价指标,得出,9.20 g仿刺参饲料中最适缬氨酸含量为1.79%(9.18%饲料蛋白);②饲料中适宜水平的缬氨酸可以提高仿刺参幼参的生长性能,改善体壁的常规成分及氨基酸含量;③饲料中适宜水平的



缬氨酸可以促进仿刺参幼参肠道发育、提高抗氧化酶和消化酶的活性,改善肠道的抗氧化状态,降低肠道的氧化损伤,从而提高机体的抗氧化能力及免疫能力。

#### 参考文献:

- [1] 廖国周,柴仕名.支链氨基酸营养研究进展[J].*饲料博览*,2005(4):7-10.  
Liao G Z, Chai S M. Research on branched-chain amino acids nutrition[J]. *Feed Review*, 2005(4): 7-10(in Chinese).
- [2] Nose T. Summary report on the requirements of essential amino acids for carp[J]. *Finfish Nutrition and Fish Feed Technology*, 1979, 15(2): 145-156.
- [3] 罗莉,王亚哥,李芹,等.草鱼幼鱼对缬氨酸需要量的研究[J].*动物营养学报*,2010,22(3):616-624.  
Luo L, Wang Y G, Li Q, *et al.* Research on dietary valine requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(3): 616-624(in Chinese).
- [4] Santiago C B, Lovell R T. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia[J]. *The Journal of Nutrition*, 1988, 118(12): 1540-1546.
- [5] Wilson R P, Poe W E, Robinson E H. Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish[J]. *The Journal of Nutrition*, 1980, 110(4): 627-633.
- [6] Ogino C. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1980, 46(2): 171-174.
- [7] Ahmed I, Khan M A. Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhina mrigala* (Hamilton)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2006, 96(3): 450-460.
- [8] Abidi S F, Khan M A. Dietary valine requirement of Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) fry[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2004, 20(2): 118-122.
- [9] 廖玉麟.我国的海参[J].*生物学通报*,2001,36(9):1-3.  
Liao Y L. Sea cucumbers, holothurians from China[J]. *Bulletin of Biology*, 2001, 36(9): 1-3(in Chinese).
- [10] 袁秀堂,杨红生,周毅,等.盐度对刺参(*Apostichopus japonicus*)呼吸和排泄的影响[J].*海洋与湖沼*,2006,37(4):348-354.  
Yuan X T, Yang H S, Zhou Y, *et al.* Salinity effect on respiration and excretion of sea cucumber *Apostichopus japonicus* selenka[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2006, 37(4): 348-354(in Chinese).
- [11] 崔龙波,董志宁,陆瑶华.仿刺参消化系统的组织学和组织化学研究[J].*动物学杂志*,2000,35(6):2-4.  
Cui L B, Dong Z N, Lu Y H. Histological and histochemical studies on the digestive system of *Apostichopus japonicus*[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2000, 35(6): 2-4(in Chinese).
- [12] 王际英,李宝山,张德瑞,等.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[J].*水产学报*,2015,39(3):410-420.  
Wang J Y, Li B S, Zhang D R, *et al.* Effects of dietary arginine on growth performance, immune responses and digestive enzyme of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(3): 410-420(in Chinese).
- [13] Yu H B, Gao Q F, Dong S L, *et al.* Regulation of dietary glutamine on the growth, intestinal function, immunity and antioxidant capacity of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 50: 56-65.
- [14] 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[J].*水产科学*,2009,28(5):241-245.  
Wang J Q, Jiang X J, 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(in Chinese).
- [15] 李桂梅,解绶启,雷武,等.异育银鲫幼鱼对饲料中缬氨酸需求量的研究[J].*水生生物学报*,2010,34(6):1157-1165.  
Li G M, Xie S Q, Lei W, *et al.* Dietary valine requirement for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(6): 1157-1165(in Chinese).
- [16] 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.  
Hu Y J, Zhou A G, Yang F, *et al.* The study of suitable feed processing parameter for starch gelatinization[J]. *Feed Industry*, 2002, 23(12): 5-8(in Chinese).
- [17] 周岐存,王用黎,黄文文,等.凡纳滨对虾幼虾的缬氨

- 酸需要量[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(2): 459-468.
- Zhou Q C, Wang Y L, Huang W W, *et al.* Valine requirement of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(2): 459-468(in Chinese).
- [18] Rahimnejad S, Lee K J. Dietary valine requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major*[J]. *Aquaculture*, 2013, 416-417: 212-218.
- [19] Li W J, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary amino acid patterns on growth and protein metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae[J]. *Aquaculture*, 2013, 406-407: 1-8.
- [20] Wu M J, Lu S D, Wu X Y, *et al.* Effects of dietary amino acid patterns on growth, feed utilization and hepatic IGF-I, TOR gene expression levels of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) juveniles[J]. *Aquaculture*, 2017, 468: 508-514.
- [21] Rahimnejad S, Lee K J. Dietary arginine requirement of juvenile red sea bream *Pagrus major*[J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 418-424.
- [22] Guo F F, Cavener D R. The GCN2 eIF2 $\alpha$  kinase regulates fatty-acid homeostasis in the liver during deprivation of an essential amino acid[J]. *Cell Metabolism*, 2007, 5(2): 103-114.
- [23] Zhang Y Y, Guo K Y, LeBlanc R E, *et al.* Increasing dietary leucine intake reduces diet-induced obesity and improves glucose and cholesterol metabolism in mice via multimechanisms[J]. *Diabetes*, 2007, 56(6): 1647-1654.
- [24] Cheng Y, Meng Q S, Wang C X, *et al.* Leucine deprivation decreases fat mass by stimulation of lipolysis in white adipose tissue and upregulation of uncoupling protein 1 (UCP1) in brown adipose tissue[J]. *Diabetes*, 2010, 59(1): 17-25.
- [25] Nishimura J, Masaki T, Arakawa M, *et al.* Isoleucine prevents the accumulation of tissue triglycerides and upregulates the expression of PPAR $\alpha$  and uncoupling protein in diet-induced obese mice[J]. *The Journal of Nutrition*, 2010, 140(3): 496-500.
- [26] Chen H, Simar D, Ting J H Y, *et al.* Leucine improves glucose and lipid status in offspring from obese dams, dependent on diet type, but not caloric intake[J]. *Journal of Neuroendocrinology*, 2012, 24(10): 1356-1364.
- [27] Hasek B E, Boudreau A, Shin J, *et al.* Remodeling the integration of lipid metabolism between liver and adipose tissue by dietary methionine restriction in rats[J]. *Diabetes*, 2013, 62(10): 3362-3372.
- [28] Lin M F, Shiau S Y. Dietary L-ascorbic acid affects growth, nonspecific immune responses and disease resistance in juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. *Aquaculture*, 2005, 244(1-4): 215-221.
- [29] Valko M, Leibfritz D, Moncol J, *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2007, 39(1): 44-84.
- [30] 王震, 徐玮, 麦康森, 等. 饲料缬氨酸水平对军曹鱼鱼体脂肪含量、血浆生化指标和肝脏脂肪代谢基因表达的影响[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(4): 744-751.
- Wang Z, Xu W, Mai K S, *et al.* The effects of valine level on plasma biochemical indexes, lipid content and gene expression involved in lipid metabolism in cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 744-751(in Chinese).
- [31] 任和, 占秀安. 水产动物氨基酸营养研究进展[J]. *饲料研究*, 2006(2): 41-43.
- Ren H, Zhan X A. Review on amino acid nutrition in aquatic animals[J]. *Feed Research*, 2006(2): 41-43(in Chinese).
- [32] Jing X L, Zhang S C. An ancient molecule with novel function: alanine aminotransferase as a lipopolysaccharide binding protein with bacteriocidal activity[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(1): 94-104.
- [33] Topham M K. Diacylglycerol kinases and phosphatidic acid phosphatases[J]. *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 2013: 659-663.
- [34] Ghosh K, Tagore D M, Anumula R, *et al.* Crystal structure of rat intestinal alkaline phosphatase—Role of crown domain in mammalian alkaline phosphatases[J]. *Journal of Structural Biology*, 2013, 184(2): 182-192.
- [35] 叶元土, 王友慧, 林仕梅, 等. 草鱼肠道对10种必需氨基酸的跨壁运输量[J]. *中国水产科学*, 2003, 10(4): 311-317.
- Ye Y T, Wang Y H, Lin S M, *et al.* Transmural fluxes of ten essential amino acids in intestinal gut of *Ctenopharyngodon idellus* in vitro[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2003, 10(4): 311-317(in Chinese).
- [36] 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[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(5): 476-480.  
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*, 2007, 38(5): 476-480(in Chinese).

## Optimum dietary valine requirement of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*

HAN Xiujie<sup>1,2</sup>, LI Baoshan<sup>2</sup>, WANG Jiying<sup>2\*</sup>, WANG Lili<sup>1,2</sup>, WANG Yaping<sup>1,2</sup>,  
WANG Chengqiang<sup>2</sup>, JIANG Lisheng<sup>2</sup>, SUN Yongzhi<sup>2</sup>, HAO Tiantian<sup>2</sup>

[1. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition (CREEFN) of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;  
2. Shandong Key Laboratory of Marine Ecological Restoration, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China]

**Abstract:** An 8-week feeding trial was conducted to determine the dietary valine requirement of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* with initial body weight ( $9.20 \pm 0.12$ ) g. Six experimental diets were formulated with the graded valine levels (0, 0.80%, 1.60%, 2.40%, 3.20% and 4.00% dry diets, respectively). The six trial diets were determined to contain valine of [0.61% (D1), 1.14% (D2), 1.46% (D3), 1.73% (D4), 2.17% (D5) and 2.64% (D6) dry diet], respectively. The results showed that: No significant differences in the survival rate (SR) were found among dietary treatments; the weight growth rate (WGR) and the specific growth rate (SGR) increased with increasing levels of valine up to 1.73% diet, and thereafter, declined. There were no significant effects on ratio of intestine weight to body wall weight (IBR) and ratio of intestine length to body length (IBL) of sea cucumber. Crude protein and crude lipid of body wall increased initially, then decreased, and crude protein of diet D4 was significantly higher than that of any other groups. Dietary valine significantly increased His, Val, essential amino acids (EAA) and total amino acids (TAA) contents of body wall, but decreased Leu, Ile and Tyr contents. Total superoxide dismutase (T-SOD) and total antioxidant capacity (T-AOC) increased with the increasing of dietary valine levels and those of D1 were significantly lower than other groups. Malondialdehyde (MDA) content decreased with increasing levels of valine up to 1.73% diet and then increased, and MDA of D4 was significantly lower than those of other groups. Protease and lipase increased initially and then decreased, and protease of D3 was significantly higher than that of other groups, however, there was no significantly effect on amylase of dietary valine. In conclusion, appropriate dietary valine improved significantly growth performance and immune response and modified chemical composition and amino acid contents of sea cucumbers. With WGR as evaluation indicator, regression analysis of broken-line model showed that the optimum dietary valine of sea cucumber with body weight 9.20 g was 1.79% (9.18% diet protein).

**Key words:** *Apostichopus japonicus*; valine; growth performance; immune response

**Corresponding author:** WANG Jiying. E-mail: ytwjy@126.com

**Funding projects:** Marine Public Welfare Industry Research Project (201505022); Shandong Modern Agriculture Industry Technology System - Sea Cucumber Innovation Team Construction Project (SDAIT-22-06); Shandong Key Research and Development Plan (2016GSF115005)