



## 饲料添加 L-精氨酸或 N-氨甲酰谷氨酸对杂交鳢肠道 黏膜形态和肠道菌群的影响

李培佳<sup>1,2</sup>, 侯冬强<sup>1,2</sup>, 赵红霞<sup>1\*</sup>, 黄文<sup>1</sup>, 郑春田<sup>1</sup>, 曹俊明<sup>2</sup>

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室,

广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东广州 510640;

2. 广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088)

**摘要:** 为研究饲料中添加精氨酸或 N-氨甲酰谷氨酸 (NCG) 对杂交鳢肠道黏膜形态和肠道菌群的影响, 实验选用初始体质量为 (22.02±0.02) g 的杂交鳢 450 尾, 分别饲喂基础饲料以及在基础饲料中添加 0.60% L-精氨酸 (Arg)、0.03% NCG, 饲养周期为 56 d。结果显示, 与对照组相比, 饲料中添加 0.60% Arg 显著提高了杂交鳢终末体质量和特定生长率, 添加 0.60% Arg 或 0.03% NCG 显著提高了杂交鳢的蛋白质沉积率, 显著降低了饲料系数。与对照组相比, NCG 组杂交鳢全鱼异亮氨酸、谷氨酸、赖氨酸含量显著升高。与对照组相比, Arg 组和 NCG 组杂交鳢全鱼精氨酸和亮氨酸含量显著升高, 其他氨基酸无显著差异。与对照组相比, 饲料添加 Arg 或 NCG 可显著提高杂交鳢肠道中肠、后肠肌层厚度, 中肠绒毛宽度, NCG 组后肠肌层厚度显著高于对照组与 Arg 组。各实验组肠道黏膜层、肌层结构清晰紧密、黏膜层绒毛丰富, 对照组与 Arg 组出现少量绒毛顶部上皮与固有层间隙增宽, NCG 组却未见明显异常。饲料添加精氨酸可显著提高杂交鳢肠道菌群物种丰度, Chao 指数与 Ace 指数显著高于对照组与 NCG 组。与对照组相比, NCG 组显著提高厚壁菌门及变形菌门的丰度, 但 NCG 组梭杆菌门丰度显著降低, 与 Arg 组具有显著差异。研究表明, 饲料中添加 Arg 在生长性能方面优于添加 NCG, 但饲料添加 NCG 可以显著增加肠道厚壁菌门等有益菌门的丰度, 维持肠道内环境稳定, 其作用效果优于补充 Arg。

**关键词:** 杂交鳢; L-精氨酸; N-氨甲酰谷氨酸; 肠道黏膜形态; 肠道菌群

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

鱼类肠道健康受到广泛关注, 肠道的消化功能、形态结构、菌群组成等与鱼类的生长性能密切相关<sup>[1]</sup>。营养素已被证明在提高鱼类免疫力方面起重要作用, 其中氨基酸在鱼类生长、代谢、信号传导等过程中发挥营养与生理性作用<sup>[2]</sup>。精氨酸 (Arg) 是鱼类必需氨基酸, 参与蛋白质的合成, 调控机体免疫机能, 改善鱼类生长性能<sup>[3]</sup>。N-氨甲酰谷氨酸 (NCG) 通过激活氨甲酰磷酸合酶-1

(CPS-1), 促进内源性精氨酸合成<sup>[4]</sup>。研究表明, 在不同鱼种饲料中添加精氨酸存在氨基酸吸收拮抗、投入成本高等因素, 因此精氨酸内源性合成途径成为高效经济的方法, 但是关于 NCG 在水产动物饲料中的应用研究较少<sup>[5]</sup>。NCG 研究主要集中在为内源性激活精氨酸, 饲料添加 NCG 可提高大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 的生长性能<sup>[6]</sup>, 改善镜鲤 (*Cyprinus carpio*) 的机体免疫活性<sup>[7]</sup>。NCG

收稿日期: 2022-03-31 修回日期: 2022-07-28

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;

侯冬强, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 739769016@qq.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



在鱼类体内可内源性合成 Arg, 生成的精氨酸与 NCG 比值约为 10 : 1~20 : 1<sup>[8]</sup>。本实验室开展了 Arg 或 NCG 在黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 体内的应用实验, 发现黄颡鱼中 NCG 的适宜添加水平为 Arg 适宜添加水平的 1/20<sup>[9]</sup>。在黄颡鱼<sup>[9]</sup>、大菱鲆<sup>[6]</sup>、镜鲤<sup>[7]</sup>、莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)<sup>[10]</sup>、花鲈 (*Lateolabrax maculatus*)<sup>[11]</sup> 中的研究表明, NCG 在饲料中的适宜添加水平为 0.03%。根据本实验室前期开展的杂交鳢 [*Channa maculata* (♀) × *C. argus* (♂)] 对精氨酸适宜需要量养殖实验, 当饲料中添加量为 6 g/kg, 饲料精氨酸水平为 2.91%~2.98% 时, 杂交鳢获得最佳生长性能<sup>[12]</sup>。本实验 NCG 按照杂交鳢饲料精氨酸适宜添加水平的 1/20 即 0.03% 添加。

肠道菌群、宿主与环境之间是一个互相依存, 相互制约的系统<sup>[13]</sup>。肠道微生物结构相对稳定时, 对宿主表现为不致病<sup>[14-15]</sup>。研究表明, 杂交条纹鲈 (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) 饲料中添加精氨酸可显著增加肠道皱褶深度及绒毛高度<sup>[16]</sup>, 精氨酸代谢产物如多胺、亚精胺可显著促进胃肠黏膜生长, 并且亚精胺已被证明可以改善十二指肠、空肠、回肠重量和肠黏膜细胞增殖<sup>[17]</sup>。杂交鳢为乌鳢 (*C. argus*) 和斑鳢 (*C. maculata*) 的杂交子 1 代新品种, 其优良性状明显, 深受珠三角养殖户欢迎。但随着养殖产量不断增加, 杂交鳢养殖面临的水环境污染、疾病频发等造成水生动物抗应激能力、免疫能力、抗病能力下降的问题日益严重。目前并没有关于杂交鳢肠道内源性精氨酸合成能力的探索。本实验通过对杂交鳢肠道黏膜结构观察和肠道 16S rRNA 测序, 根据杂交鳢肠道黏膜形态的改变及对肠道微生物群落的影响, 探讨精氨酸对杂交鳢的肠道形态结构及微生物群落的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕、玉米蛋白粉为蛋白质源, 鱼油、豆油、磷脂油为脂肪源, 配制基础饲料, 饲料配方、营养水平如表 1 所示。在基础饲料中分别添加基础饲料、0.60% 精氨酸、0.03% N-氨甲酰谷氨酸, 分别标记为对照组、Arg 组和 NCG 组, 实测精氨酸水平分别为 2.31%、2.92% 和 2.38%。实验用 L-精氨酸 (纯度 ≥ 98%) 购自沈阳希杰生物科技有限公司, NCG (纯度 ≥ 98%) 购自北京亚太兴牧科技有限公司。按照乌鳢营养需求分别添

加维生素、矿物质预混料。采用纤维素进行配方调平。饲料原料过 60 目筛粉碎, 加入微量原料、油脂成分、水逐级混匀, 采用膨化机 (华强膨化机械 T52 型膨化机, 广州) 制成膨化颗粒, 55 °C 下烘干。

### 1.2 实验设计及养殖管理

实验鱼购自广州锦龙渔业有限公司, 购回后经湖泊网箱暂养 1 周, 每天投喂 2 次基础饲料, 养殖实验在广东省农业科学院动物科学研究所白云实验基地湖泊中进行。暂养结束饥饿 24 h 后开始实验。选取初始体质量 (22.02±0.02) g 的杂交鳢鱼苗 450 尾, 随机分为 3 组, 每组 3 个重复 (网箱), 每个重复 50 尾, 分别投喂 3 种实验饲料, 养殖网箱规格为 (1.5 m×1.5 m×1.5 m), 有效水体积 293 L, 饲喂 8 周。以饱食投喂方式, 每天分别于 8:00 和 16:00 定时投喂, 并根据水温、摄食和生长等因素及时调整投喂量, 每天进行摄食及死亡记录。养殖期间氨氮含量小于 0.1 mg/L, 溶解氧含量约 8 mg/L, 酸碱度约 8.0, 自然光照, 水温 25~32 °C。

### 1.3 样品采集与数据测定

生长性能计算

饲料系数 (feed coefficient rate, FCR) =  $D_{\text{总}} / (W_{\text{末}} - W_{\text{初}})$

蛋白质沉积率 (protein deposition rate, PDR, %) =  $(W_{\text{末}} \times CP_{\text{末}} - W_{\text{初}} \times CP_{\text{初}}) / (D \times CP_{\text{饲料}}) \times 100\%$

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) =  $(\ln W_{\text{末}} - \ln W_{\text{初}}) / T \times 100\%$

式中,  $W$  为体质量 (g),  $W_{\text{初}}$  为初始鱼体质量 (g),  $W_{\text{末}}$  为终末鱼体质量 (g),  $CP_{\text{初}}$  为初始鱼体蛋白质含量 (%),  $CP_{\text{末}}$  为终末鱼体蛋白质含量 (%),  $CP_{\text{饲料}}$  为饲料蛋白质含量 (%),  $D_{\text{总}}$  为摄入饲料总重 (g),  $D$  为饲料摄入量 (g),  $T$  为养殖时间 (d)。

肠道切片制作与数据测量 养殖实验结束后禁食 24 h, 每个重复随机选 3 尾鱼, 取肠道, 采用 10% 甲醛固定, 用于制作肠道组织切片, 观察肠道黏膜形态结构。固定状态良好后, 对肠道组织进行修剪、脱水、包埋、切片、染色、封片, 最后镜检合格的样片。在显微镜下浏览切片, 使用成像显微镜拍摄或使用 CaseViewer 2.2 软件截取对应不同典型病变的部位图, 对切片中典型病理改变如炎症、坏死、变性、增生以及纤维化等情况采用箭头标识, 并反映出不同组之间的差异。

表 1 饲料配方及营养水平 (干物质基础)

Tab. 1 Diet formula and nutrient level (DM basis)

%

项目 items	对照组 control group	Arg组 Arg group	NCG组 NCG group
<b>原料 ingredients</b>			
鱼粉 fish meal	35.00	35.00	35.00
面粉 wheat flour	25.00	25.00	25.00
豆粕 soybean meal	20.00	20.00	20.00
玉米蛋白粉 corn gluten meal	6.00	6.00	6.00
豆油 soybean oil	3.00	3.00	3.00
鱼油 fish oil	3.00	3.00	3.00
磷脂油 phospholipid oil	1.00	1.00	1.00
纤维素 cellulose	1.90	1.30	1.87
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1.50	1.50	1.50
褐藻酸钠 sodium alginate	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50
维生素C磷酸酯 vitamin C phosphate (35%)	0.10	0.10	0.10
矿物质预混料 mineral premix <sup>1)</sup>	1.00	1.00	1.00
维生素预混料 vitamin premix <sup>2)</sup>	1.00	1.00	1.00
L-精氨酸 L-Arg		0.60	
N-氨甲酰谷氨酸 NCG			0.03
合计 total	100.00	100.00	100.00
<b>营养水平 Nutrient levels<sup>3)</sup></b>			
精氨酸 Arg	2.31	2.92	2.38
粗蛋白质 crude protein	44.33	44.78	44.77
灰分 ash	10.04	9.32	9.55
水分 moisture	6.85	6.18	6.38
粗脂肪 crude lipid	7.97	8.07	8.44

注: 1) 维生素预混料, 维生素A 2 500 IU, 维生素B<sub>1</sub> 1 mg, 维生素B<sub>2</sub> 6 mg, 维生素B<sub>6</sub> 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。3) 营养水平均为实测  
Notes: 1) vitamin premix, VA 2 500 IU, VB<sub>1</sub> 1 mg, VB<sub>2</sub> 6 mg, VB<sub>6</sub> 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, FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 13 mg, ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 60 mg, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 32 mg, CuSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 7 mg, NaCl 1 200 mg, KI 8 mg. 3) nutrient levels were measured values

肠道菌群采集 每个重复组选 3 尾鱼, 取肠道, 立即装入 2 mL 冻存管中液氮速冻 4 h, 置于-80 °C 保存, 用于检测肠道菌群。

#### 1.4 生物信息分析

以 16S DNA “V3+V4” 设计引物序列, 引物序列为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), PCR 正式实验采用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20 μL 反应体系。采用分类单元 (OTU) 进行聚类 and 物种分析, 基于 OTU 进行 Alpha 多样性分析, 应用 Coverage 指数测定其物种覆盖度, 应用 Chao 指数、

Ace 指数测定肠道菌群丰度; 应用 Shannon 指数、Simpson 指数测定肠道菌群多样性。Illumina 肠道测序产生 2 177 059 个序列, 平均序列长度 450 bp。

#### 1.5 数据分析

肠道菌群基于 OUT 分析, 实验结果以平均值±标准差表示, 采用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析, 而后采用 Duncan 氏法进行多重比较。

## 2 结果

### 2.1 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢生长性能的影响

与对照组和 0.03% NCG 组相比, 饲料中添

加 0.60% Arg 显著提高了杂交鳢终末体质量及 SGR ( $P<0.05$ ) (图 1)。对照组和 0.03% NCG 组间杂交鳢终末体质量及 SGR 没有显著差异 ( $P>0.05$ )。与对照组相比, 饲料中添加 0.60% Arg 和 0.03% NCG 显著降低了杂交鳢 FCR ( $P<0.05$ )。与对照组相比, 饲料中添加 0.60% Arg 和 0.03% NCG 显著提高了杂交鳢的 PDR ( $P<0.05$ ), 0.60% Arg 和 0.03% NCG 组间 PDR 存在显著差异 ( $P<0.05$ )。

## 2.2 饲料添加 Arg 和 NCG 对杂交鳢鱼体氨基酸的影响

与对照组相比, NCG 组全鱼异亮氨酸、谷氨

酸、赖氨酸含量显著升高 ( $P<0.05$ ) (表 2)。Arg 组和 NCG 组全鱼精氨酸和亮氨酸含量显著升高 ( $P<0.05$ ), 其他氨基酸无显著差异 ( $P>0.05$ )。

## 2.3 饲料添加 Arg 和 NCG 对杂交鳢肠道黏膜形态的影响

杂交鳢前、中、后肠绒毛长度, 前肠绒毛宽度在各实验组间均无显著差异 ( $P>0.05$ ) (表 3)。与对照组相比, Arg 组和 NCG 组中肠、后肠绒毛宽度显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 但 Arg 组和 NCG 组间中肠、后肠绒毛宽度无显著差异 ( $P>0.05$ )。与对照组相比, NCG 组前肠肌层厚度显著高于对照

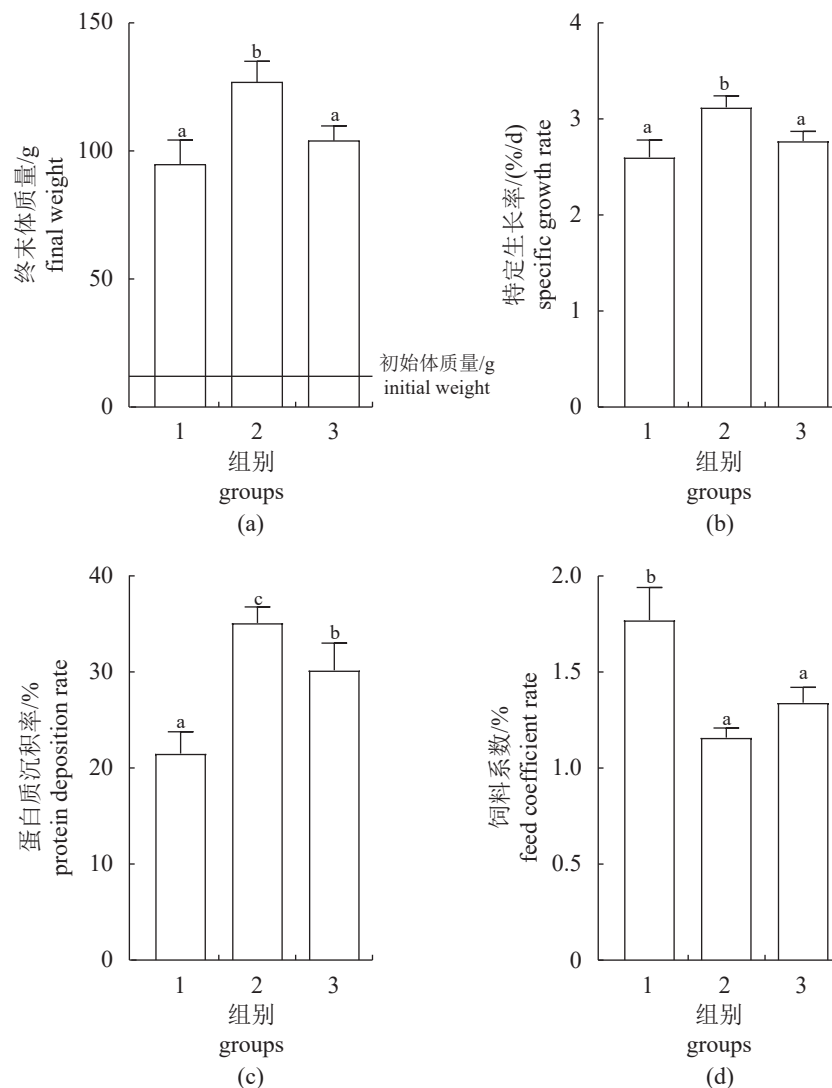


图 1 饲料添加 Arg 和 NCG 对杂交鳢生长性能的影响

(a) 体质量, (b) 特定生长率, (c) 蛋白质沉积率, (d) 饲料系数。图中数据来自文献<sup>[18]</sup>。1. 对照组, 2. Arg 组, 3. NCG 组, 下同。不同字母表示有显著差异 ( $P<0.05$ )

### Fig. 1 Effects of dietary Arg or NCG on growth performance of *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

(a) body weight, (b) specific growth rate, (c) protein deposition rate, (d) feed coefficient rate. The data are derived from reference<sup>[18]</sup>. 1. control group, 2. Arg group, 3. NCG group, the same below. Significant differences are marked with different letters ( $P<0.05$ )

表 2 饲料中精氨酸水平对杂交鳢鱼体氨基酸成分的影响 (干物质基础)

Tab. 2 Effects of dietary arginine levels on amino acid composition of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂) (DM basis) %

项目 items	组别 groups		
	对照组 control group	Arg 组 Arg group	NCG组 NCG group
<b>必需氨基酸 essential amino acids</b>			
精氨酸 Arg	3.85±0.03 <sup>a</sup>	4.17±0.15 <sup>b</sup>	4.21±0.04 <sup>b</sup>
组氨酸 His	1.24±0.09	1.24±0.05	1.33±0.06
异亮氨酸 Ile	1.86±0.10 <sup>a</sup>	1.95±0.02 <sup>ab</sup>	2.04±0.06 <sup>b</sup>
亮氨酸 Leu	4.13±0.12 <sup>a</sup>	4.21±0.04 <sup>b</sup>	4.49±0.03 <sup>c</sup>
赖氨酸 Lys	4.25±0.12 <sup>a</sup>	4.21±0.04 <sup>a</sup>	4.44±0.10 <sup>b</sup>
蛋氨酸 Met	1.28±0.06	1.30±0.02	1.36±0.05
苯丙氨酸 Phe	2.09±0.16	2.16±0.06	2.16±0.08
苏氨酸 Thr	2.31±0.12	2.35±0.06	2.45±0.03
缬氨酸 Val	1.93±0.12	2.01±0.04	2.09±0.06
<b>非必需氨基酸 non-essential amino acids</b>			
丙氨酸 Ala	3.59±0.10	3.67±0.09	3.75±0.03
天冬氨酸 Asp	5.10±0.29	5.14±0.11	5.41±0.04
谷氨酸 Glu	8.38±0.39 <sup>a</sup>	8.61±0.14 <sup>ab</sup>	9.04±0.08 <sup>b</sup>
甘氨酸 Gly	4.79±0.31	4.73±0.10	4.76±0.11
丝氨酸 Ser	2.24±0.14	2.27±0.04	2.39±0.06
酪氨酸 Tyr	1.45±0.05	1.46±0.02	1.54±0.06

注: 同行不同字母表示有显著差异( $P<0.05$ ), 下同  
Notes: significant differences in the same row are marked with different letters ( $P<0.05$ ), the same below

组 ( $P<0.05$ ), 但对对照组和 Arg 组间无显著差异 ( $P>0.05$ )。与对照组相比, Arg 组和 NCG 组中肠肌层厚度显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 但 Arg 组和 NCG 组间无显著差异 ( $P>0.05$ )。后肠肌层厚度在

各实验组间存在显著差异 ( $P<0.05$ ), NCG 组肌层厚度显著高于对照组和 Arg 组 ( $P<0.05$ )。

## 2.4 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢肠道黏膜病理状态的影响

杂交鳢前肠、中肠、后肠各实验组黏膜层、肌层结构清晰、紧密, 黏膜层绒毛丰富, 少量绒毛上皮细胞固缩、脱落 (黑色箭头), 肠腔可见较多脱落的上皮细胞 (红色箭头), Arg 组出现少量绒毛顶部上皮与固有层间隙增宽 (黄色箭头), 未见其他明显异常 (图 2)。

## 2.5 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢肠道 Alpha 多样性分析的影响

各实验组 Coverage 指数均为 1.00, 显示测序深度已完成肠道所有物种菌群检测, 对照组和 NCG 组间 Chao 指数和 Shannon 指数无显著差异 ( $P>0.05$ ), 但 Arg 组显著高于对照组和 NCG 组 ( $P<0.05$ ), 各实验组 Simpson 指数和 Ace 指数均无显著差异 ( $P>0.05$ ) (表 4)。

## 2.6 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢肠道微生物物种组成的影响

结果表明, 在门水平上, 以厚壁菌门 (Firmicutes)、梭杆菌门 (Fusobacteriota)、变形菌门 (Proteobacteria) 为主 (图 3), 对这 3 个菌门的丰度进行组间显著性分析, 与对照组及 Arg 组相比, NCG 组厚壁菌群相对丰度显著增加 ( $P<0.05$ ), 但梭杆菌门丰度显著低于对照组及 Arg 组 ( $P<0.05$ ) (表 5)。与对照组相比, Arg 组和 NCG 组变形菌门丰度显著升高 ( $P<0.05$ )。在属水平上, 以支原体属 (*Mycoplasma*)

表 3 杂交鳢的肠道黏膜形态

Tab. 3 Intestinal mucosa morphology of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

项目 items	组别 groups			
	对照组 control group	Arg 组 Arg group	NCG组 NCG group	
前肠 foregut	绒毛长度 villus length	993.88±4.59	1040.71±34.96	1061.55±72.57
	绒毛宽度 villus width	125.76±5.78	135.44±0.75	125.22±22.72
	肌层厚度 muscular thickness	179.87±16.26 <sup>a</sup>	216.80±30.20 <sup>ab</sup>	255.82±21.30 <sup>b</sup>
中肠 midgut	绒毛长度 villus length	724.37±160.34	721.84±39.50	749.32±121.28
	绒毛宽度 villus width	107.10±6.82 <sup>a</sup>	133.54±6.03 <sup>b</sup>	123.23±6.81 <sup>b</sup>
	肌层厚度 muscular thickness	163.45±1.98 <sup>a</sup>	189.92±5.83 <sup>b</sup>	180.63±9.68 <sup>b</sup>
后肠 hindgut	绒毛长度 villus length	816.78±94.02	936.09±83.09	932.21±24.31
	绒毛宽度 villus width	111.89±4.57 <sup>a</sup>	127.86±4.73 <sup>b</sup>	123.13±9.18 <sup>ab</sup>
	肌层厚度 muscular thickness	189.10±14.91 <sup>a</sup>	232.29±6.05 <sup>b</sup>	279.51±26.71 <sup>c</sup>

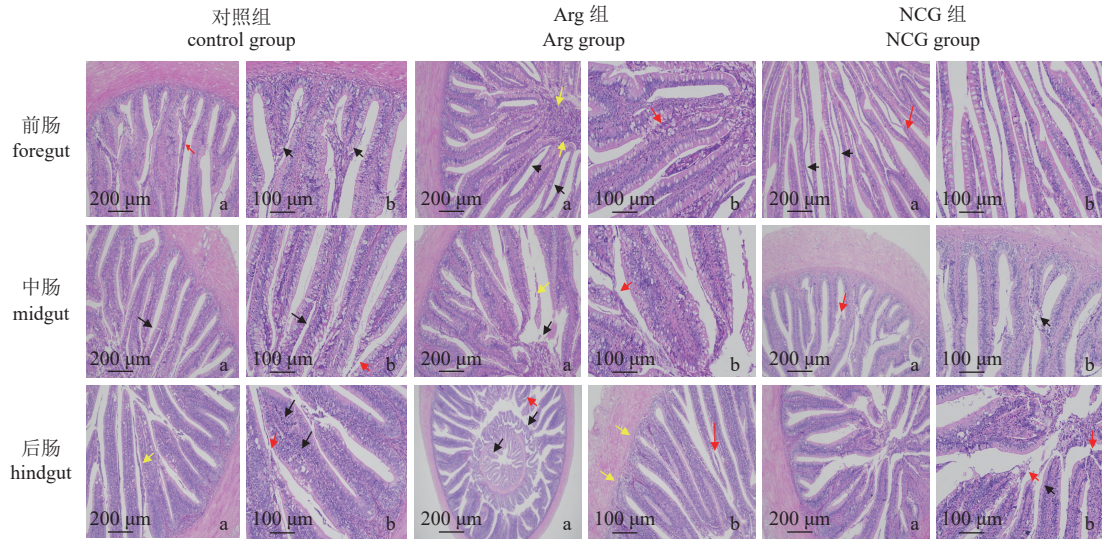


图 2 杂交鳢肠道黏膜形态

(a) 原始放大×100, (b) 原始放大×200。黑色箭头. 绒毛上皮细胞固缩、脱落, 红色箭头. 肠腔可见脱落的上皮细胞, 黄色箭头. 绒毛顶部上皮与固有层间隙增宽

Fig. 2 Intestinal mucosa morphology of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

(a) original magnification ×100, (b) original magnification ×200. Black arrow. villous epithelial cells shrink and fall off; red arrow. intestinal lumen with sloughed epithelial cells; yellow arrow. widening of the gap between the epithelium and the lamina propria at the top of the villi

表 4 杂交鳢肠道 Alpha 多样性

Tab. 4 Intestinal Alpha diversity of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂)

项目 items	组别 groups	组别 groups		
		对照组 control group	Arg 组 Arg group	NCG 组 NCG group
Coverage 指数 Coverage index		1.00	1.00	1.00
Chao 指数 Chao index		13.00±1.73 <sup>a</sup>	19.83±1.26 <sup>b</sup>	13.33±0.58 <sup>a</sup>
Ace 指数 Ace index		13.29±1.98 <sup>a</sup>	21.08±0.45 <sup>b</sup>	13.64±0.77 <sup>a</sup>
Shannon 指数 Shannon index		0.61±0.10	0.64±0.11	0.70±0.02
Simpson 指数 Simpson index		0.73±0.12	0.72±0.70	0.68±0.16

*plasmataceae*)、醋酸杆菌属 (*Cetobacterium*) 和梭菌属 (*Clostridium*) 为主, 对这 3 个菌属的丰度进行组间显著性分析, 对杂交鳢肠道微生物前 50 个属进行深度测序, 其中 Arg 组支原体属显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), NCG 组支原体属显著高于对照组和 Arg 组 ( $P<0.05$ ) (表 6)。

### 2.7 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢肠道微生物物种差异与进化的影响

在属水平上选取 40 个丰度较高的菌群进行热图分析。结果显示, 对照组与 Arg 组之间微生物差异较小, 与 NCG 组相比, 微生物组成差异表现明显 (图 4)。选取高丰度的细菌, 对比在线数据

库, 对物种进行更准确的注释, 通过 PICRUST 软件对 OTU 丰度表进行标准化, 即去除 16S marker gene 在物种基因组中的 copy 数目的影响, 然后通过每个 OTU 对应的 greengene id, 对 OTU 进行 COG 和 KEGG 功能注释, 获得 OTU 在 COG 和 KEGG 各功能水平的注释信息及各功能在不同样本中的丰度信息 (图 5)。结果显示, 肠道微生物功能预测结果为氨基酸转运和代谢、碳水化合物的运输和代谢、能源的生产和转化等。

### 3 讨论

精氨酸可激活雷帕霉素靶蛋白 (TOR) 信号通路调节机体蛋白质合成, 促进蛋白质沉积, 提高生长性能<sup>[19]</sup>。由于鱼类体内鸟氨酸转羧化酶 (OTC)、氨甲酰磷酸合成酶 (CPS) III 的活性偏低, 因此, 必须补充外源精氨酸以满足鱼类生长和代谢<sup>[3]</sup>。鱼类缺乏精氨酸会导致生长迟缓、营养障碍性疾病等<sup>[20]</sup>。本实验发现, 与对照组相比, NCG 组杂交鳢全鱼异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和谷氨酸含量显著升高, Arg 组和 NCG 组全鱼精氨酸含量显著升高, 表明饲料中添加 NCG 显著促进了杂交鳢合成异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和谷氨酸等氨基酸的能力, 而饲料中添加精氨酸和 NCG 均能显著提高杂交鳢合成精氨酸的能力。因此, 本实验中,

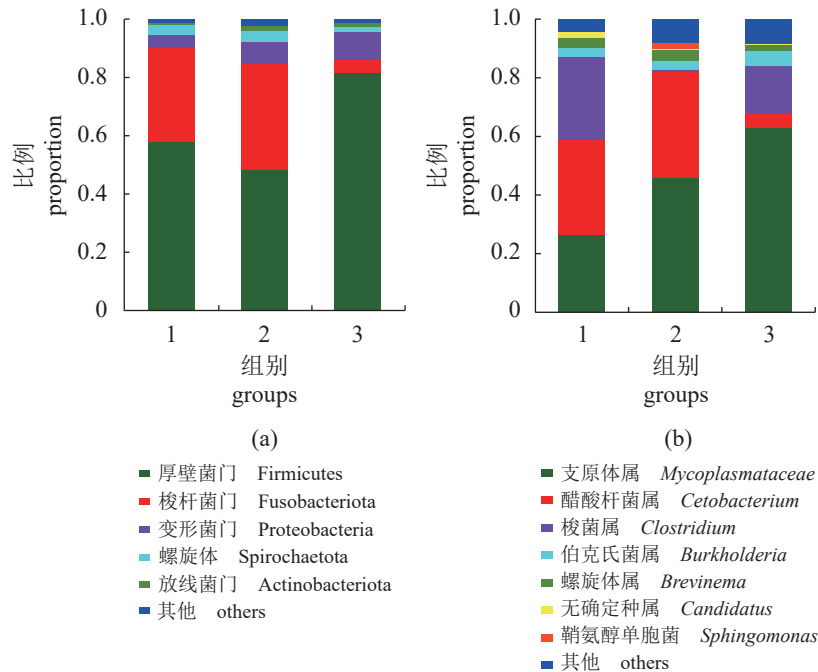


图 3 杂交鳢肠道菌群水平柱状图

(a) 门水平, (b) 属水平

Fig. 3 Horizontal bar graph of intestinal microbiota in *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

(a) phylum level, (b) genus level

表 5 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢肠道菌群门类组成的影响

Tab. 5 Effects Arg or NCG addition on intestinal flora composition at phylum levels of *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

项目 items	组别 groups	组别 groups		
		对照组 control group	Arg 组 Arg group	NCG 组 NCG group
厚壁菌门 Firmicutes		59.06±9.61 <sup>a</sup>	51.33±5.92 <sup>a</sup>	81.48±7.97 <sup>b</sup>
梭杆菌门 Fusobacteriota		30.77±4.88 <sup>b</sup>	32.39±4.07 <sup>b</sup>	4.46±1.63 <sup>a</sup>
变形菌门 Proteobacteria		4.71±0.17 <sup>a</sup>	7.84±1.11 <sup>b</sup>	9.46±0.61 <sup>c</sup>

饲料添加精氨酸和 NCG 可能具备促进杂交鳢内源性合成精氨酸的能力。此外, 本实验中饲料添加 0.60% Arg 可显著提高杂交鳢终末体质量和 SGR, 添加 0.03% NCG 虽未对生长产生显著促进作用, 但添加 Arg 和 NCG 可降低杂交鳢 FCR, 提高 PDR。这表明外源添加 Arg 或 NCG 都能够促进机体蛋白质沉积, 提高全鱼精氨酸含量。由于 N-乙酰谷氨酸 (NAG) 易降解, NCG 不易降解, NCG 作为 NAG 类似物, 与直接添加 Arg 相比, 可降低饲料成本, 促进机体代谢<sup>[21]</sup>。目前, 水产动物关于 Arg 和 NCG 的应用研究效果较缺乏, 研

表 6 饲料添加 Arg 或 NCG 对杂交鳢肠道菌群属类组成的影响

Tab. 6 Effects of Arg or NCG addition on intestinal flora composition at genus level of *C. maculata* (♀) × *C. argus* (♂)

项目 items	组别 groups	组别 groups		
		对照组 control group	Arg 组 Arg group	NCG 组 NCG group
支原体属 Mycoplasmataceae		27.33±2.00 <sup>a</sup>	48.64±7.55 <sup>b</sup>	63.47±3.91 <sup>c</sup>
醋酸杆菌属 Cetobacterium		30.77±4.88 <sup>b</sup>	32.39±4.07 <sup>b</sup>	4.46±1.63 <sup>a</sup>
梭菌属 Clostridium		28.74±3.22 <sup>a</sup>	1.65±0.61 <sup>a</sup>	16.12±0.89 <sup>b</sup>
伯克氏菌属 Burkholderia		3.26±0.62	3.31±0.90	4.90±1.27
螺旋体属 Brevinema		3.23±0.25 <sup>b</sup>	4.09±0.59 <sup>b</sup>	1.97±0.67 <sup>a</sup>

究中还要考虑到实验动物种类、饲料配方以及实际生产成本等因素。

肠道健康与肠道结构完整性、肠道微生态稳定性等有关<sup>[22]</sup>。外界环境胁迫和病原体入侵会破坏肠道黏膜结构, 增加疾病风险<sup>[23]</sup>。肠道不仅对营养物质进行容纳、吸收和消化, 同时也可抵御外部病原微生物入侵<sup>[24]</sup>。肠绒毛长度和肌层厚度与肠道结构的完整性有关, 完整的肠绒毛和肠道壁可以防止有毒物质的入侵<sup>[25]</sup>。肠道对营养物质

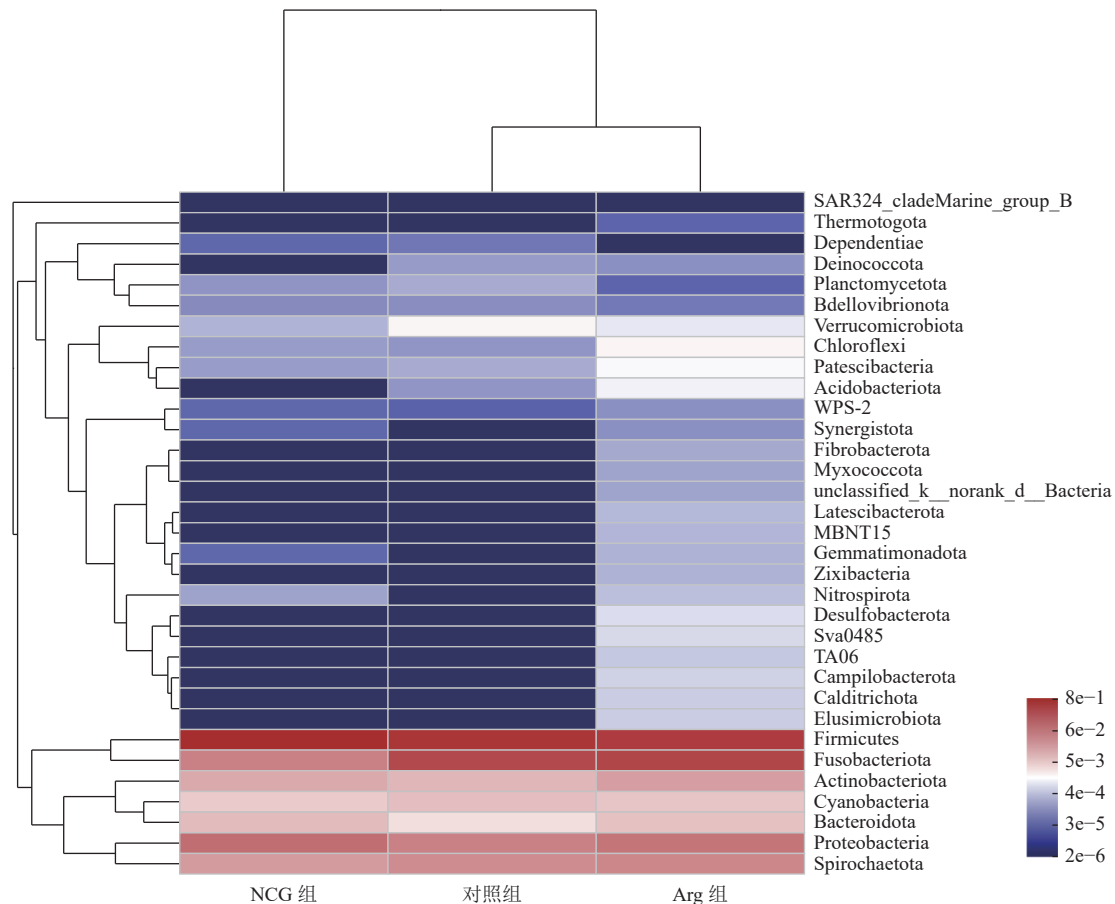


图 4 门水平上的群落热图分析

Fig. 4 Community heatmap analysis at phylum level

的吸收取决于肠上皮细胞和肠壁微绒毛形态及完整性<sup>[26]</sup>。膳食精氨酸可以显著增加水生动物绒毛宽度、减少隐窝深度、改善肠道萎缩状态、保护肠道健康<sup>[27]</sup>。此外,有研究表明,精氨酸可以显著增加杂交条纹鲈前肠、中肠、后肠褶皱及绒毛高度<sup>[16]</sup>。小鸡饲料中添加精氨酸也可以显著促进肠上皮细胞生长,增加肠绒毛高度<sup>[28]</sup>。断奶仔猪饲料中添加精氨酸可显著增加肠道绒毛高度,降低肠道隐窝深度<sup>[29]</sup>。

本实验结果表明,在饲料中添加精氨酸或 NCG 可显著增加杂交鳢前肠肌层厚度、中肠绒毛宽度,肌层厚度、后肠肌层厚度。本实验结果很好地证明了精氨酸在动物肠道形态结构稳定方面发挥的重要作用。通过对杂交鳢肠道黏膜形态的观察,杂交鳢各黏膜层、肌层结构清晰紧密、黏膜层绒毛丰富。Arg 组出现少量绒毛顶部上皮与固有层间隙增宽, NCG 组却未见这一明显异常,表明精氨酸内源性合成途径可保护肠道结构完整。本实验结果充分表明,饲料添加 Arg 或 NCG 可以

显著增加杂交鳢肠道绒毛及肌层厚度,增加肠道吸收面积。

肠道生理功能的正常运行也取决于肠道微生物群落的稳定性,肠道微生物群落紊乱会引发肠道消化性疾病如感染性腹泻、肠道炎症等<sup>[30]</sup>。作为研究最难点,鱼类在水环境中,其肠道的微生物群落甚至会更大。同时,肠道微生物可以促进肠道消化,提高营养物质的利用率,还可以提高机体的免疫活性,其肠道内环境稳定对维持机体的健康及抗病能力至关重要<sup>[31]</sup>。目前,肠道微生物群落研究广泛,肠道菌群通过对营养物质的吸收代谢和维持宿主肠道内环境稳态而有益于肠道,并同时利用某些特定微生物来决定身体的健康<sup>[22]</sup>。有研究表明,肠道微生物多样性决定了微生态系统稳定性,多样性越高,稳定性越难被破坏。当中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 肠道菌群组成发生显著性降低,会诱发一系列疾病,肠道微生物多样性降低,导致微生物群落功能稳定性降低,增加机体患病机率<sup>[32]</sup>。本研究表明,饲



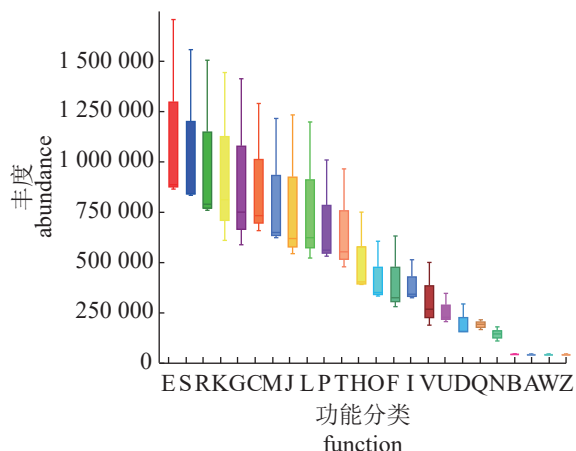


图5 肠道微生物功能预测

A. RNA 加工和修饰, B. 染色质结构和动力学, C. 能源生产和转化, D. 细胞周期控制, 细胞分裂, 染色体分割, E. 氨基酸运输与代谢, F. 核苷酸的运输和代谢, G. 碳水化合物的运输和代谢, H. 辅酶运输和代谢, I. 脂质运输与代谢, J. 翻译, 核糖体结构和生物发生, K. 转录, L. 复制、重组和修复, M. 细胞壁/膜/被膜生源论, N. 细胞运动, O. 翻译后修饰、蛋白质周转、伴侣, P. 无机离子转运与代谢, Q. 次生代谢物的生物合成、运输和分解代谢, R. 一般功能预测, S. 功能未知, T. 信号转导机制, U. 细胞内运输、分泌和囊泡运输, V. 防卫机制, W. 细胞外结构, Z. 细胞骨架

#### Fig. 5 Prediction of intestinal microbiota function

A. RNA processing and modification, B. chromatin structure and dynamics, C. energy production and conversion, D. cell cycle control, cell division, chromosome partitioning, E. amino acid transport and metabolism, F. nucleotide transport and metabolism, G. carbohydrate transport and metabolism, H. coenzyme transport and metabolism, I. lipid transport and metabolism, J. translation, ribosomal structure and biogenesis, K. transcription, L. replication, recombination and repair, M. cell wall/membrane/envelope biogenesis, N. cell motility, O. posttranslational modification, protein turnover, chaperones, P. inorganic ion transport and metabolism, Q. secondary metabolites biosynthesis, transport and catabolism, R. general function prediction only, S. function unknown, T. signal transduction mechanisms, U. intracellular trafficking, secretion, and vesicular transport, V. defense mechanisms, W. extracellular structures, Z. cytoskeleton

料中添加精氨酸可显著增加肠道 OTU 个数, 提高肠道菌群 Chao 指数和 Ace 指数, 增加肠道菌群丰度, 提高肠道微生物群落稳定性。

厚壁菌门是肠道中的主要细菌, 厚壁菌门的增加有益于肠道健康, 作为肠道内最主要的细菌, 厚壁菌门可以通过乳酸发酵氧化糖, 抵御外界病原体入侵, 有利于机体生长发育<sup>[33]</sup>。大多数可以直接产生短链脂肪酸的细菌也属于厚壁菌门, 在肠道微生物群落中随厚壁菌门的增加, 肠道屏障功能增加, 炎症反应减弱<sup>[34]</sup>。梭杆菌门是一小类革兰氏阴性菌, 梭杆菌属常见于消化道, 作为多糖降解物, 有助于从膳食纤维和淀粉中释放能量,

<https://www.china-fishery.cn>

然而, 梭杆菌门也参与蛋白质分解过程中有毒产物释放, 同时有助于缓解肠道炎症作用。变形菌门属革兰氏阴性菌, 包括多种致病菌属, 如大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和沙门氏菌 (*Salmonella*)<sup>[35]</sup>。在本实验条件下, 饲料添加 NCG 可以显著提高肠道厚壁菌门、变形菌门的丰度, 显著降低了梭杆菌门的丰度。饲料添加精氨酸仅显著提高了肠道变形菌门的丰度。在饲喂实验结束后, 肠道中一些有益细菌属得到了富集, 其中 Arg 组支原体属、醋酸杆菌属显著高于对照组, NCG 组支原体属、梭菌属显著高于 Arg 组。其结果表明, 饲料添加精氨酸或 NCG 可以增加肠道微生物的多样性和有益代谢产物, 从而改善杂交鳢肠道健康, 维持肠道微生物群落的稳定性。

由微生物组成差异分析得出, NCG 组微生物组成较 Arg 组和对照组相比, 组成更为丰富、丰度更高、组间差异表现明显。继而对丰度高的微生物对比数据库进行注释与功能预测, 发现预测结果与精氨酸在水产动物体内进行氨基酸转运和代谢、能源的生产和转化等作用相同, 表明杂交鳢肠道利用精氨酸和 NCG 进行内源性合成精氨酸的过程是有效的。在杂交鳢养殖生产实践中可以确定, 饲料添加 NCG 在内源性合成精氨酸方面作用效果明显, 但使用过程中要考虑到不同鱼种之间的最适添加量, 饲料配方等条件的差异性。

## 4 结论

在饲料中添加 0.60% Arg 或 0.03% NCG 可显著提高杂交鳢蛋白质沉积率、全鱼精氨酸和亮氨酸含量、中肠和后肠肌层厚度、中肠绒毛宽度, 增加肠道变形菌门的丰度, 显著改善了肠道黏膜形态, 保护肠道结构的完整性。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] Zhao P F, Li F J, Chen X R, *et al.* Dietary lipid concentrations influence growth, liver oxidative stress, and serum metabolites of juvenile hybrid snakehead (*Channa argus* × *Channa maculata*)[J]. *Aquaculture International*, 2016, 24(5): 1353-1364.
- [2] 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.

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- [ 3 ] 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.
- [ 4 ] Yao K, Guan S, Li T J, *et al.* Dietary L-arginine supplementation enhances intestinal development and expression of vascular endothelial growth factor in weanling piglets[J]. *British Journal of Nutrition*, 2011, 105(5): 703-709.
- [ 5 ] 黄皓琰, 郁欢欢, 梁晓芳, 等. N-羧甲基谷氨酸对花鲈生长性能、形体指标和血浆生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(10): 4590-4601.
- Huang H Y, Yu H H, Liang X F, *et al.* Effects of N-carbamylglutamate on growth performance, morphometric parameters and plasma biochemical parameters of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(10): 4590-4601 (in Chinese).
- [ 6 ] 尚晓迪, 陈春秀, 贾磊, 等. N-羧甲基谷氨酸对大菱鲂幼鱼生长性能的影响[J]. *饲料研究*, 2017(3): 35-38.
- Shang X D, Chen C X, Jia L, *et al.* Effects of N-carbamoylglutamic acid on growth performance of juvenile turbot[J]. *Feed Research*, 2017(3): 35-38 (in Chinese).
- [ 7 ] Wang L S, Li J N, Wang C, *et al.* Effect of N-carbamoylglutamate supplementation on the growth performance, antioxidant status and immune response of mirror carp (*Cyprinus carpio*) fed an arginine-deficient diet[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 280-289.
- [ 8 ] Wu X, Yin Y L, Liu Y Q, *et al.* Effect of dietary arginine and N-carbamoylglutamate supplementation on reproduction and gene expression of eNOS, VEGFA and PIGF1 in placenta in late pregnancy of sows[J]. *Animal Reproduction Science*, 2012, 132(3-4): 187-192.
- [ 9 ] 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.
- [ 10 ] 程炜轩, 张丽, 许国焕, 等. N-羧甲基谷氨酸对罗非鱼幼鱼生长、血液氨基酸组成及脂肪沉积的影响[J]. *水生生物学报*, 2015, 39(3): 490-497.
- Cheng W X, Zhang L, Xu G H, *et al.* Effects of N-carbamylglutamate on the regulation of the growth, the blood amino acid composition and the fat deposition in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(3): 490-497 (in Chinese).
- [ 11 ] 黄皓琰. N-羧甲基谷氨酸在花鲈饲料中的有效性和耐受评价及其调控营养代谢的机制研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2019.
- Huang H Y. Efficacy and tolerance evaluation of N-carbamylglutamate in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) diet and the related nutrient metabolism regulation mechanism[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2019 (in Chinese).
- [ 12 ] 李培佳, 陈晓琰, 赵红霞, 等. 精氨酸对杂交鳢生长性能、体组成、血浆生化指标及抗氧化能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(3): 1820-1830.
- Li P J, Chen X Y, Zhao H X, *et al.* Effects of arginine on growth performance, body composition, plasma biochemical indexes and antioxidant capacity of hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀×*Channa argus* ♂)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(3): 1820-1830 (in Chinese).
- [ 13 ] Ren D Y, Gong S J, Shu J Y, *et al.* Mixed *Lactobacillus plantarum* strains inhibit *Staphylococcus aureus* induced inflammation and ameliorate intestinal microflora in Mice[J]. *BioMed Research International*, 2017, 2017: 7476467.
- [ 14 ] Adel M, Yeganeh S, Dawood M A O, *et al.* Effects of *Pediococcus pentosaceus* supplementation on growth performance, intestinal microflora and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(6): 1401-1409.
- [ 15 ] Gilbert J A, Blaser M J, Caporaso J G, *et al.* Current understanding of the human microbiome[J]. *Nature Medicine*, 2018, 24(4): 392-400.
- [ 16 ] 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.
- [ 17 ] Larqué E, Sabater-Molina M, Zamora S. Biological significance of dietary polyamines[J]. *Nutrition*, 2007, 23(1): 87-95.
- [ 18 ] 李培佳, 侯冬强, 赵红霞, 等. 饲料添加 L-精氨酸或 N-羧甲基谷氨酸对杂交鳢生长性能、血浆生化指标、肠道功能及抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*,

- 2022, 34(8): 5304-5312.
- Li P J, Hou D Q, Zhao H X, *et al.* Effects of dietary *L*-Arginine or *N*-carbamoylglutamate on growth performance, plasma biochemical indices, intestinal function and antioxidant ability of hybrid snakehead (*Channa maculata* ♀×*Channa argus* ♂)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(8): 5304-5312 (in Chinese).
- [19] Yu H X, Sun L, Fan W H, *et al.* Effects of dietary arginine on growth, anti-oxidative enzymes, biomarkers of immunity, amino acid metabolism and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* challenge in abalone *Haliotis discus hannai*[J]. *Aquaculture*, 2022, 549: 737707.
- [20] 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.
- [21] Schwahn B C, Pieterse L, Bisset W M, *et al.* Biochemical efficacy of *N*-carbamylglutamate in neonatal severe hyperammonaemia due to propionic acidaemia[J]. *European journal of pediatrics*, 2010, 169(1): 133.
- [22] Duan Y F, Wang Y, Dong H B, *et al.* Changes in the intestine microbial, digestive, and immune-related genes of *Litopenaeus vannamei* in response to dietary probiotic *Clostridium butyricum* supplementation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2191.
- [23] Gao C B, Fu Q, Su B F, *et al.* Transcriptomic profiling revealed the signatures of intestinal barrier alteration and pathogen entry in turbot (*Scophthalmus maximus*) following *Vibrio anguillarum* challenge[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2016, 65: 159-168.
- [24] 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.
- [25] Farhangi M, Carter C G. Growth, physiological and immunological responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to different dietary inclusion levels of dehulled lupin (*Lupinus angustifolius*)[J]. *Aquaculture Research*, 2001, 32(S1): 329-340.
- [26] Levy M, Blacher E, Elinav E. Microbiome, metabolites and host immunity[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 35: 8-15.
- [27] Cheng Z Y, Buentello A, Gatlin III D M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*[J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1-2): 247-252.
- [28] Yuan C, Zhang X Y, He Q, *et al.* *L*-arginine stimulates CAT-1-mediated arginine uptake and regulation of inducible nitric oxide synthase for the growth of chick intestinal epithelial cells[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2015, 399(1-2): 229-236.
- [29] Shan Y P, Shan A S, Li J P, *et al.* Dietary supplementation of arginine and glutamine enhances the growth and intestinal mucosa development of weaned piglets[J]. *Livestock Science*, 2012, 150(1-3): 369-373.
- [30] Giacomini P, Agha Z, Loukas A. Helminths and intestinal flora team up to improve gut health[J]. *Trends in Parasitology*, 2016, 32(9): 664-666.
- [31] Li E C, Xu C, Wang X D, *et al.* Gut microbiota and its modulation for healthy farming of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 2018, 26(3): 381-399.
- [32] Jones S E, Lennon J T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(13): 5881-5886.
- [33] Eckburg P B, Bik E M, Bernstein C N, *et al.* Diversity of the human intestinal microbial flora[J]. *Science*, 2005, 308(5728): 1635-1638.
- [34] Huang Y C, Shi X, Li Z Y, *et al.* Possible association of Firmicutes in the gut microbiota of patients with major depressive disorder[J]. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2018, 14: 3329-3337.
- [35] Yang W Y, Lee Y, Lu H, *et al.* Analysis of gut microbiota and the effect of lauric acid against necrotic enteritis in *Clostridium perfringens* and *Eimeria* side-by-side challenge model[J]. *PLoS One*, 2019, 14(5): e0205784.

## Effects of dietary L-arginine or N-carbamoylglutamate on intestinal mucosal morphology and intestinal flora of hybrid snakehead [*Channa maculata* (♀)×*C. argus* (♂)]

LI Peijia<sup>1,2</sup>, HOU Dongqiang<sup>1,2</sup>, ZHAO Hongxia<sup>1\*</sup>, HUANG Wen<sup>1</sup>,  
ZHENG Chuntian<sup>1</sup>, CAO Junming<sup>2</sup>

(1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences,  
Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,  
Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China;  
2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of dietary arginine or NCG on intestinal mucosal morphology and intestinal flora of hybrid snakehead [*Channa maculata* (♀)×*C. argus* (♂)]. A total of 450 *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂) with an initial weight of (22.02±0.02) g were selected. They were randomly divided into three groups of three replicates, each with 50 fish, and fed three experimental diets: basal diet, diet supplemented with 0.60% L-arginine (Arg) and diet supplemented with 0.03% N-carbamylglutamate (NCG). The feeding period was 56 days. Compared with the control group, adding 0.60% Arg to the diet significantly increased the final weight and specific growth rate of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂) ( $P<0.05$ ), adding 0.60% Arg or 0.03% NCG significantly increased the protein deposition rate of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂) ( $P<0.05$ ), and significantly decreased the feed coefficient ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the contents of isoleucine, glutamate and lysine in whole fish in NCG group were significantly increased ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the contents of arginine and leucine in whole fish of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂) in Arg and NCG groups were significantly increased ( $P<0.05$ ), but there was no significant difference in other amino acids ( $P>0.05$ ). Compared with the control group, the addition of Arg or NCG to the diet could significantly increase the thickness of the midgut and hindgut muscle layer and the width of the midgut villus in the *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂). The thickness of the hindgut muscle layer in the NCG group was significantly greater than that in the control group and the Arg group ( $P<0.05$ ). In each experimental group, the structure of intestinal mucosa and muscularis was clear and compact, and the mucosal villi were abundant. In the control group and Arg group, a small amount of gap between the epithelium and lamina propria was widened, but there was no obvious abnormality in the NCG group. The addition of arginine to the diet could significantly improve the species richness of the intestinal flora of *C. maculata* (♀)×*C. argus* (♂), and the Chao index and Ace index were significantly higher than those of the control group and the NCG group ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the abundance of Firmicutes and Proteobacteria was significantly increased in the NCG group, but the abundance of Fusobacterium was significantly decreased in the NCG group, differing significantly from the Arg group ( $P<0.05$ ). Research shows that the addition of Arg to the feed is better than the addition of NCG in terms of growth performance, but adding NCG to the diet can significantly increase the abundance of beneficial bacteria such as intestinal Firmicutes and maintain the stability of the intestinal environment, with effects superior to those of Arg supplementation.

**Key words:** *Channa maculata* (♀)×*C. argus* (♂); L-arginine; N-carbamylglutamate; intestinal mucosal morphology; intestinal flora

**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)