

doi: 10.7541/2024.2023.0235

饲料中谷氨酸、谷氨酰胺和谷氨酸钠对鳊摄食、生长、 胃肠及肝功能的影响

方揽月¹ 许耀升¹ 刘天骥² 李洪琴² 刘 匆² 李 虹³ 翟旭亮³ 薛 洋³
沈子伟⁴ 陈拥军¹ 罗 莉¹

(1. 西南大学水产学院, 西南大学淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400716; 2. 四川新希望六和科技
创新有限公司, 成都 610000; 3. 重庆市水产技术推广总站, 重庆 400400; 4. 中国水产科学研究院
长江水产研究所西南渔业研究中心, 重庆 400400)

摘要: 为研究谷氨酸(Glu)、谷氨酰胺(Gln)和谷氨酸钠(MSG)对鳊(*Siniperca chuatsi*)摄食、生长及胃肠功能的影响, 以鳊基础饲料为对照组(CON), 分别添加0.2%和0.4%的Glu、Gln和MSG, 命名为Glu-0.2、Glu-0.4、Gln-0.2、Gln-0.4、MSG-0.2和MSG-0.4六个处理组, 饲喂初始体质量为(17.60±0.53) g的鳊56d。同CON相比, 结果显示: (1)三种添加剂均显著提高摄食量, 其中MSG组最明显; (2) Glu-0.2和Gln-0.2的增重率、饲料转化率显著提高; (3)各添加组的胃蛋白酶活力和Glu-0.2、Glu-0.4、Gln-0.2的胃H⁺-K⁺-ATPase活力显著增强; (4)肠道中的胰蛋白酶活力在Glu-0.2显著提高, Na⁺-K⁺-ATPase活力在Gln-0.4无促进作用, 其他组均显著增强; (5) Glu组、MSG组血浆中D-乳酸、内毒素含量和二胺氧化酶活性均显著降低; (6) Gln组血浆AST和ALT显著升高, 且肝细胞肿胀、空泡化明显增多; (7) Glu组和MSG组血浆抗氧化能力显著升高, Gln组显著降低; (8)肠道微生物组成Glu-0.2的门水平软壁菌门(Tenericutes)、属水平索氏鲸杆菌属(*Cetobacterium*)丰度显著高于CON组。综上, Glu具有促进鳊胃酸分泌和胃肠消化吸收能力, 增强肠道物理屏障, 改善肠道菌群, 促进生长; Gln能提升鳊胃肠功能, 而机体抗氧化力、肝功能下降; MSG促进摄食和生长效果最佳, 但对饲料转化无改善。

关键词: 谷氨酸; 谷氨酰胺; 谷氨酸钠; 胃; 肠; 肝; 鳊

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2024)04-0592-08



谷氨酸(Glutamate, Glu)和谷氨酰胺(Glutamine, Gln)是水产饲料和鱼体中含量丰富的氨基酸^[1], 在蛋白质代谢过程中占重要地位, 参与动物机体中的许多重要化学反应^[2]。谷氨酸钠(Monosodium Glutamate, MSG)由Glu (78%)、钠和水(22%)组成, 能增加饲料鲜味, 有诱食效果。对哺乳动物的研究发现, Glu和Gln是功能性氨基酸^[3], 可以调节代谢途径和细胞信号通路^[4], 提高抗氧化和免疫能力^[5], 改善肠道生长发育和健康^[6]; MSG可以提高日增重和饲料效率, 增加肠道绒毛高度和抗氧化能力^[7]。目前, 国外针对部分养殖鱼类饲料中Glu、Gln和MSG的需

求已开展研究, 如Glu在鲤(*Cyprinus carpio*)饲料中需求量为7.11%—8.20%^[8]、Gln在半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis* Günther)幼鱼饲料中的需求量为0.63%^[9]、MSG在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)饲料中的适宜添加量为0.5%^[10], 这3种添加剂在鳊饲料中的应用效果均未有报道。

鳊(*Siniperca chuatsi*)是我国特有的淡水名贵鱼类, 俗称“桂花鱼”, 属于鲈形目、鳊亚科、鳊属。其肉质细嫩, 无肌间刺, 胆固醇低, 营养价值高, 深受国内外消费者青睐, 市场需求大。目前, 我国鳊产量已增至37.4万吨, 产值超200亿元, 是最具发展

收稿日期: 2023-07-31; 修订日期: 2023-10-17

基金项目: 四川新希望六和科技创新有限公司项目; 重庆市水产科技创新联盟项目(CQFTIU2022-04); 重庆市生态渔产业技术体系项目(2022)资助 [Supported by New Hope Liuhe Co., Ltd; Chongqing Aquatic Science and Technology Innovation Alliance Project (CQFTIU2022-04); Chongqing Ecological Fishery Industry Technology System Project (2022)]

作者简介: 方揽月(1999—), 女, 硕士研究生; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: 529063019@qq.com

通信作者: 罗莉, 教授; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: luoli1972@163.com

潜力的养殖品种之一^[11]。然而,随着配合饲料替代幼杂鱼行动的推进,鳊驯化转食及饲喂过程中仍存在饲料适口性、胃肠和肝功能欠佳的问题^[12],饲料配方有待优化。基于此,本实验在鳊饲料中添加不同含量的Glu、Gln和MSG,探讨其对鳊生长性能、胃肠消化吸收和屏障功能,以及肝功能等的影响差异,为鳊饲料配方的优化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

试验所需鳊购于重庆市潼南区名优鱼养殖基地, Glu、Gln和MSG由四川新希望畜牧科技有限公司提供。以鳊基础饲料为对照组(实测Glu含量为7.47%, 检验方法为GB/T 18246-2019酸水解法; 采用Waters ACQUITY UPLC I-CLASS超高效液相色谱进行色谱分离, 实测游离Gln含量为0.03%, LC-MS法检测), 在其基础上分别添加两个浓度梯度(0.2%和0.4%)的Glu、Gln和MSG, 组成1个对照组和6个试验处理组: CON、Glu-0.2、Glu-0.4、Gln-0.2、Gln-0.4、MSG-0.2和MSG-0.4。饲料配方及营养水平见表1。饲料原料在粉碎机(四川简阳棉丰农业机械制造厂3Z-110F型)粉碎后过40目筛, 混匀机(山东慧晨机械有限公司HC-50型)混合后, 经膨化制粒机(河北邢台裕工科技开发有限公司DGP40-C型)制成3 mm的浮性饲料(膨化加工温度为150℃),

经过自然风干后, -20℃冰箱保存备用。

1.2 饲养管理

实验用鳊基础饲料(CON)驯化15d后, 随机选择健康、规格整齐, 初始体质量(17.60±0.53) g的鳊分为7组, 每组3个重复, 每个重复15尾鳊, 饲养于农业农村部长江中上游渔业资源环境科学观测北碚实验站玻璃养殖缸中, 缸体规格: 长90 cm, 宽30 cm, 高60 cm。每日投喂2次(8:30和18:30), 投饲量为鱼体重的3%—5%。养殖水源为曝气自来水, 在养殖期间, 每天早晚各换水80%, 水温为23—29℃, pH为6.7—7.2, 溶解氧>7.0 mg/L, 氨氮<0.5 mg/L, 亚硝酸盐<0.05 mg/L, 硫化物浓度<0.05 mg/L, 光周期(L:D)为12:12。

1.3 样品的制备与分析

样品采集 在鳊养殖试验结束后饥饿24h, 每组每个重复随机选取6尾鳊用适量MS-222麻醉, 称重用以计算生长性能指标, 计算公式参照徐杭忠等^[13]的方法。用肝素钠处理过的1 mL一次性无菌注射器在尾静脉处取血, 4500 r/min离心10min制备血浆后, 转入-80℃冰箱内保存, 用于血液指标测定。后将鳊于冰上解剖, 分离肝脏, 在肝中部同一位置取1 cm³大小的组织放入装有多聚甲醛的离心管中, 分离胃、肠, 液氮速冻后, 转入-80℃冰箱备用。每组每个重复随机选取4尾鳊在无菌条件下取肠道, 液氮速冻后, 转入-80℃冰箱保存, 用于肠道

表1 实验饲料组成及营养水平(风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient level of test diet (air-dry basis; %)

项目Item	组别Group						
	CON	Glu-0.2	Glu-0.4	Gln-0.2	Gln-0.4	MSG-0.2	MSG-0.4
谷氨酸Glutamate		0.20	0.40				
谷氨酰胺Glutamine				0.20	0.40		
谷氨酸钠Sodium glutamate						0.20	0.40
基础饲料Basal feed	99.10	99.10	99.10	99.10	99.10	99.10	99.10
膨润土Bentonite	0.90	0.70	0.50	0.70	0.50	0.70	0.50
合计Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养组成(实测值) Nutrients composition							
水分Moisture	5.51	5.52	5.51	5.52	5.51	5.52	5.52
粗蛋白Crude protein	47.01	47.21	47.18	47.19	47.24	47.21	47.17
粗脂肪Crude fat	9.65	9.63	9.64	9.71	9.65	9.63	9.66
粗灰分Coarse ash	14.35	14.15	14.27	14.32	14.18	14.41	14.28

注: 表中基础饲料包括秘鲁鱼粉38%、鸡肉粉18%、鱼排粉9.7%、谷朊蛋白粉6%、酶解鱼溶浆3%、木薯淀粉10%、玉米5%、鱼油2%、大豆油2%、磷酸二氢钙2%、胆汁酸粉(30%) 0.05%、复合预混料2% (含多维、多矿、功能性添加剂和载体; 多维、多矿参照肉食性鱼类)、氯化胆碱(50%) 0.2%、防霉剂0.1%、抗氧化剂0.05%和微晶纤维素1%

Note: The basic feed in the table includes Peruvian fish meal 38%, chicken powder 18%, fish steak powder 9.7%, protein powder 6%, enzymatic hydrolysis of fish slurry 3%, tapioca starch 10%, corn 5%, fish oil 2%, soybean oil 2%, calcium dihydrogen phosphates 2%, bile acid powder 0.05%, composite premix 2% (premix contains multi-vitamins, complex mineral, functional additives and carrier. multi-vitamin and complex mineral refer to carnivorous fishes), choline chloride 0.2%, antifungal agent 0.1%, antioxidant 0.05% and microcrystalline cellulose 1%

菌群的高通量分析。

常规营养成分的测定 水分采用105℃烘干恒重法测定;粗蛋白质含量采用凯式定氮法测定;粗脂肪含量采用索式抽提法测定;粗灰分含量采用550℃马弗炉煅烧法测定。

血浆转氨酶及抗氧化指标测定 谷草转氨酶(AST)活性(比色法)、谷丙转氨酶(ALT)活性(赖氏法)、总抗氧化能力(T-AOC)活性(比色法)和丙二醛(MDA)含量(TBA法),均采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定,具体测定方法参照试剂盒说明书进行。

肝脏HE染色切片 由重庆博诺恒生物科技有限公司代制。

消化酶指标测定 胃蛋白酶、胰蛋白酶、淀粉酶、 H^+-K^+-ATP 酶和 Na^+-K^+-ATP 酶活性采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定。

肠黏膜通透性指标测定 血浆D-乳酸(D-lactate)、内毒素(ET)含量、二胺氧化酶(DAO)活性均采用上海优选生物科技有限公司的Elisa试剂盒测定。

肠道微生物组成 由上海派诺森生物科技有限公司代测。

1.4 数据处理

实验结果用SPSS 22.0对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),用Duncan氏多重比较分析组间差异显著性程度,当 $P<0.05$ 时认为差异显著。结果数据用平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示。

2 结果

2.1 Glu、Gln和MSG对鳊生长性能及饲料利用的影响

在饲料中添加Glu、Gln和MSG后,增重率(WGR)指标, Glu-0.2组较CON组显著升高了27.01% ($P<0.05$),

Gln-0.2组较CON组显著升高了21.08% ($P<0.05$), MSG-0.4组较CON组显著升高了23.53% ($P<0.05$), Glu-0.4、Gln-0.4、MSG-0.2较CON组差异不显著 ($P>0.05$);尾均摄食量(FI)指标各实验组较CON组,分别升高了7.27%、16.53%、11.35%、8.71%、19.98%和24.41% ($P<0.05$);饲料转化率(FER)指标, Glu-0.2和Gln-0.2组较CON组差异显著,分别升高了11.54%和9.62% ($P<0.05$),其他组较CON组均无显著差异 ($P>0.05$;表2)。

2.2 Glu、Gln和MSG对鳊胃、肠消化吸收能力的影响

在饲料中添加Glu、Gln和MSG后,各实验组鳊胃蛋白酶活性较CON组均显著上升 ($P<0.05$);Glu组和Gln-0.2组的胃 H^+-K^+-ATP 酶活性较CON组显著提高,分别提高了46.88%、50.08%和24.48% ($P<0.05$)。肠道胰蛋白酶指标, Glu-0.2组较CON组显著上升了39.35% ($P<0.05$)。肠道淀粉酶活性,各实验组均显著高于CON组 ($P<0.05$); Na^+-K^+-ATP 酶活性, Glu组、Gln-0.2、MSG组较CON组显著提高了24.77%、12.84%、10.09%、11.92%和20.18% ($P<0.05$;表3)。

2.3 Glu、Gln和MSG对鳊肠屏障功能的影响

在饲料中添加Glu、Gln和MSG后,各实验组鳊血浆ET、D-LA含量较CON组均显著下降 ($P<0.05$);Glu组、Gln-0.2组、MSG组血浆DAO活性显著低于对照组 ($P<0.05$;表4)。

2.4 Glu、Gln和MSG对鳊肠道微生物组成的影响

CON到MSG-0.4组共21个肠道微生物样本,测序覆盖率均在95%以上,测序结果可信度高。各组间的Chao1、Shannon和Simpson指数无显著性差异 ($P>0.05$),但Gln组的Chao1、Shannon指数与CON组相比均有下降趋势(表5)。物种组成方面,门水平上优势菌群均为厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌

表2 Glu、Gln和MSG对鳊生长性能及饲料利用的影响

Tab. 2 Effects of Glutamate family on growth performance and feed utilization of mandarin fish

项目Item	组别 Group						
	CON	Glu-0.2	Glu-0.4	Gln-0.2	Gln-0.4	MSG-0.2	MSG-0.4
初始尾均重IBW (g)	17.62 $\pm$ 0.36	17.66 $\pm$ 0.31	17.69 $\pm$ 0.39	17.68 $\pm$ 0.28	17.66 $\pm$ 0.13	17.67 $\pm$ 0.25	17.60 $\pm$ 0.31
终末尾均重FBW (g)	59.91 $\pm$ 0.41 ^a	68.29 $\pm$ 4.87 ^{cd}	66.46 $\pm$ 1.06 ^{bc}	69.06 $\pm$ 1.03 ^{cd}	63.17 $\pm$ 1.39 ^{ab}	67.88 $\pm$ 4.43 ^{bcd}	71.33 $\pm$ 0.63 ^d
尾均摄食量FI (g)	40.60 $\pm$ 1.21 ^a	43.55 $\pm$ 0.52 ^b	47.31 $\pm$ 1.90 ^{cd}	45.21 $\pm$ 1.01 ^{bc}	44.14 $\pm$ 0.42 ^b	48.71 $\pm$ 1.41 ^{de}	50.51 $\pm$ 0.79 ^c
摄食率FR (%/d)	1.84 $\pm$ 0.01	1.87 $\pm$ 0.01	2.00 $\pm$ 0.12	1.86 $\pm$ 0.01	1.95 $\pm$ 0.07	2.03 $\pm$ 0.06	2.02 $\pm$ 0.03
增重率WGR (%)	240.01 $\pm$ 11.02 ^a	305.45 $\pm$ 13.18 ^b	275.69 $\pm$ 6.29 ^{ab}	290.61 $\pm$ 11.07 ^b	263.71 $\pm$ 5.28 ^{ab}	284.15 $\pm$ 2.75 ^{ab}	303.66 $\pm$ 19.6 ^b
饲料转化率FCR	1.04 $\pm$ 0.03 ^a	1.16 $\pm$ 0.02 ^b	1.03 $\pm$ 0.02 ^a	1.14 $\pm$ 0.01 ^b	0.97 $\pm$ 0.03 ^a	1.03 $\pm$ 0.01 ^a	1.06 $\pm$ 0.02 ^a

注:表中数据为3个重复的平均值;同行数据肩标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同

Note: Data are means of triplicates. Values in the same row with different letter superscripts are significantly different ($P<0.05$). The same applies below

门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes), Glu-0.2组的软壁菌门(Tenericutes)丰度显著高于CON组, 且为所有组中最高($P<0.05$); Glu和Gln组的梭杆菌门(Fusobacteria)丰度较CON组有降低趋势, 而MSG组相反($P>0.05$; 图 1)。属水平Glu-0.2组的索氏鲸杆菌属(*Cetobacterium*)丰度显著高于CON组($P<0.05$; 图 2)。

2.5 Glu、Gln和MSG对鳊肝脏功能和组织结构的影响

血浆AST活性, Glu组与CON组差异不显著($P>0.05$), Gln组和MSG组较CON组显著升高($P<0.05$); 血浆ALT活性, Glu组与CON组差异不显著($P>0.05$), Gln组和MSG组较CON组显著升高($P<0.05$; 图 3)。

对鳊肝脏组织的石蜡切片进行显微观察后发现, 与CON组相比, Glu、MSG组鳊肝细胞变化不显著, 排列相对更加紧密; Gln-0.2、Gln-0.4组鳊肝细胞肿胀、空泡化现象明显增多(图 4)。

2.6 Glu、Gln和MSG对鳊抗氧化能力的影响

血浆T-AOC, Glu组与CON组相比无显著差异($P>0.05$), Gln组较CON组显著下降($P<0.05$), MSG-0.4组较CON组显著升高($P<0.05$); Glu组、MSG组的血浆MDA较CON组均显著降低, Gln组较CON组均显著升高($P<0.05$; 图 5)。

3 讨论

3.1 Glu、Gln和MSG对鳊摄食和生长性能的调控

Glu和Gln是鱼类肠、肝、肌肉和肾脏的主要能量来源, 也是合成谷胱甘肽和 6-磷酸氨基葡萄糖的底物, 可以保护细胞免受氧化损伤, 改善肠道对营养物质的吸收能力, 有助于提高饲料转化率^[14]。前人研究表明, 建鲤饲料中Glu含量8.34%时显著提高其摄食量及增重率, 而较低含量(基础饲料5.34%)则无显著影响^[8]。本实验对照组饲料中Glu含量为7.47%, 其主要存在于蛋白质, 鲜味不明显。本实验

表 3 Glu、Gln和MSG对鳊胃、肠消化吸收能力的影响

Tab. 3 Effects of Glu, Gln and MSG on gastrointestinal digestion and absorption of mandarin fish (U/mgprot)

项目Item	组别 Group						
	CON	Glu-0.2	Glu-0.4	Gln-0.2	Gln-0.4	MSG-0.2	MSG-0.4
胃Stomach							
胃蛋白酶Pepsin	9.11±0.13 ^a	12.23±0.99 ^b	11.04±0.09 ^b	14.71±0.99 ^{bc}	15.74±3.08 ^c	13.63±0.83 ^{bc}	14.53±1.42 ^{bc}
H ⁺ -K ⁺ -ATPase	6.25±0.24 ^a	9.18±2.71 ^c	9.38±0.39 ^c	7.78±0.18 ^b	6.99±0.47 ^{ab}	5.71±0.11 ^a	6.19±0.22 ^a
肠道Gut							
胰蛋白酶Trypsin	191.81±2.58 ^a	267.29±11.28 ^b	227.82±5.55 ^{ab}	264.48±2.89 ^{ab}	212.15±30.8 ^a	212.48±31.52 ^a	226.83±5.73 ^{ab}
淀粉酶Amylase	0.16±0.01 ^a	0.19±0.01 ^b	0.19±0.01 ^b	0.21±0.01 ^d	0.20±0.01 ^{cd}	0.20±0.01 ^{bcd}	0.19±0.01 ^{bc}
Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	1.09±0.01 ^a	1.36±0.01 ^d	1.23±0.01 ^c	1.20±0.01 ^b	1.11±0.01 ^a	1.22±0.01 ^{bc}	1.31±0.01 ^c

表 4 Glu、Gln和MSG对鳊肠道屏障功能的影响

Tab. 4 Effects of Glutamate family on intestinal barrier function of mandarin fish

项目Item	组别Group						
	CON	Glu-0.2	Glu-0.4	Gln-0.2	Gln-0.4	MSG-0.2	MSG-0.4
二胺氧化酶 Diamine oxidase (U/mL)	21.43±0.69 ^d	13.79±0.36 ^a	17.81±0.31 ^c	15.09±0.31 ^b	20.42±0.88 ^d	15.06±0.88 ^b	15.73±0.56 ^b
内毒素 Endotoxin (U/L)	644.42±34.86 ^c	454.68±20.47 ^a	451.56±25.53 ^a	437.92±18.25 ^a	533.38±22.32 ^b	576.23±25.19 ^b	565.52±31.24 ^b
D-乳酸 D-Lactic acid (μmol/L)	357.73±8.50 ^c	228.80±11.75 ^a	287.20±5.90 ^b	297.76±7.38 ^b	233.10±2.07 ^a	233.90±10.58 ^a	296.56±8.50 ^b

表 5 Glu、Gln和MSG对鳊肠道微生物组成的影响

Tab. 5 Effects of Glutamate family on Microbiome of mandarin fish

项目Item	组别 Group						
	CON	Glu-0.2	Glu-0.4	Gln-0.2	Gln-0.4	MSG-0.2	MSG-0.4
chao1	6720.78±328.68	7253.81±580.59	6855.16±23.14	6061.71±197.91	6192.33±900.35	6681.67±480.82	6393.36±97.96
Shannon	9.19±0.05	9.36±0.05	9.25±0.05	8.61±0.55	8.41±0.75	9.07±0.02	9.04±0.01
Simpson	0.98±0.00	0.98±0.00	0.98±0.00	0.96±0.00	0.96±0.01	0.98±0.00	0.98±0.00
Goods_coverage	0.95±0.01	0.96±0.02	0.96±0.01	0.96±0.01	0.96±0.01	0.97±0.02	0.96±0.01
Observed_species	5183.55±172.04	5398.25±500.99	5122.15±28.35	4509.50±65.95	4521.90±698.00	4939.55±247.28	4711.90±146.80

添加的Glu为游离态,具有鲜味,可以增加鱼饲料的风味和吸引力,促进鱼类摄食。

Gln虽无鲜味,但可促进肠道黏膜细胞的生长和修复,增强肠道消化酶活力,提高鱼类对饲料的消化吸收效率,从而增加摄食量。在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)饲料中添加0.3%—1.2%的Gln显著提高其增重率和特定增长率,显著降低饲料系

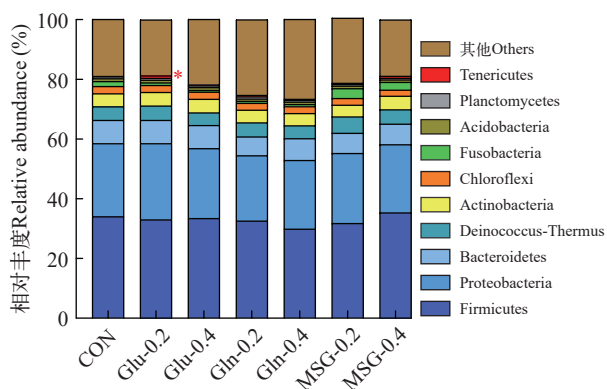


图1 鳊肠道菌群物种组成分布图(门水平)

Fig. 1 Species distribution map of mandarin fish intestinalis (phylum level)

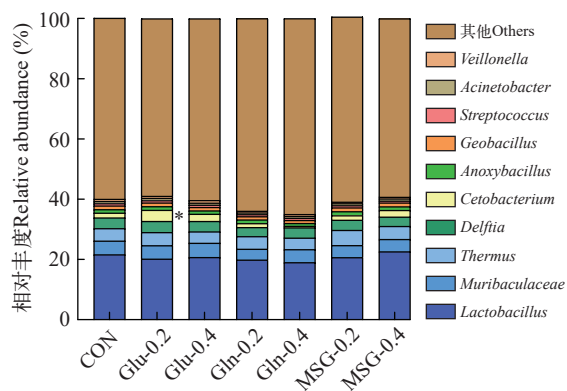


图2 鳊肠道菌群物种组成分布图(属水平)

Fig. 2 Species distribution map of mandarin fish intestinalis (genus level)

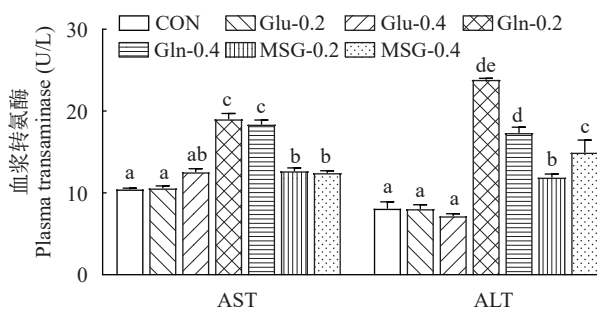


图3 Glu、Gln和MSG对鳊血浆转氨酶的影响

Fig. 3 Effects of Glu, Gln and MSG on mandarin fish plasma aminotransferase

数^[15]。在本研究中Gln添加组中仅0.2组饲料转化率提高,其原因可能是因为饲料加工过程中的高温导致Gln分解产生毒性。

MSG是Glu的钠盐形式,因含有 Na^+ ,具有较强的鲜味和诱食效果,能够直接刺激鱼类的味觉增强鱼类的摄食欲。MSG在水产动物饲料中的研究鲜见,虹鳟饲料中的适宜添加量为0.5%^[10]。本研究中MSG0.2%和0.4%两个添加水平均促进摄食并提高

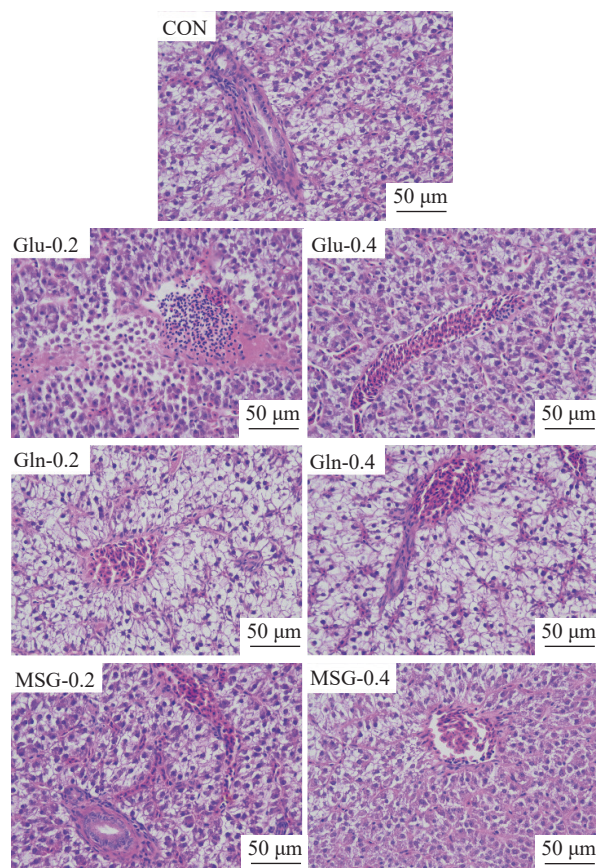


图4 Glu、Gln和MSG对鳊肝脏组织结构的影响

Fig. 4 Effects of Glu, Gln and MSG on the liver tissue structure of mandarin fish

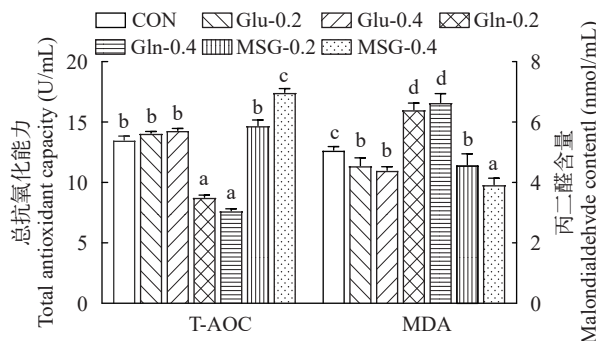


图5 Glu、Gln和MSG对鳊抗氧化能力的影响

Fig. 5 Effects of Glu, Gln and MSG on antioxidant capacity of mandarin fish

增重, 但FER无显著变化。

综上, 饲料中添加Glu、Gln和MSG对鳊生长均具有促进作用, Glu和Gln适量添加(0.2%)可提高饲料利用率, 0.4%属于过量添加; MSG主要起到诱食作用, 对饲料利用率影响不明显, 最佳添加水平有待进一步研究。

3.2 Glu、Gln和MSG对鳊胃肠功能的改善

肠道是鱼类消化吸收的主要场所, 也与鱼体内各种免疫、应激和新陈代谢息息相关, 因此保护肠道屏障对鱼体的生长和健康极为重要^[16]。动物胃肠上皮黏膜中具有特定的Glu识别系统^[17], 据报道摄入Glu可通过刺激迷走神经增强胃酸分泌^[18, 19]。已有研究证明Glu和Gln均可提高草鱼肠道消化酶活性^[15, 20], 而MSG对鱼类消化酶是否有影响还未见研究。本实验结果表明Glu、Gln可提高鳊胃的泌酸能力, Glu、Gln和MSG均可以提升鳊胃肠消化吸收酶活力。D-LA和ET由肠道细菌产生, DAO是肠黏膜绒毛上皮层内的高活性酶, 当肠黏膜屏障功能受损时, D-LA、ET和DAO会进入血液, 导致血内浓度升高。本实验添加Glu、Gln和MSG后, 鳊血浆ET、D-LA含量和DAO活性均有所降低, 说明3种添加剂均可提高鳊肠道的屏障功能, 对肠道健康均有促进作用。综合来看, Glu的胃肠促进作用最好。

已有研究表明, 在断奶仔猪饲料中添加Glu, 可以改善肠道菌群结构, 有利于将肠道中不可消化的多糖发酵成短链脂肪酸, 从而减少仔猪腹泻的风险^[21]。本实验中Glu-0.2组属水平上显著增多的索氏鲸杆菌(*Cetobacterium*), 可产生多种氨基酸、合成B族维生素、通过代谢产物乙酸激活副交感神经系统, 从而促进鱼类胰岛素表达和糖利用能力, 在鱼类营养中起着重要作用^[22]。Glu-0.2组能够增加肠道菌群的丰富度(Chao1), 提升潜在有益菌(*Cetobacterium*)丰度, 说明添加一定浓度的Glu可促进肠道内有益菌增殖, 优化鳊肠道菌群结构。Gln组*Cetobacterium*丰度下降且肠道菌群的Chao1、Shannon指数下降可能是因为饲料制作过程中高温膨化导致的毒性作用影响了菌群的物种数量和分布均匀度。

3.3 Glu、Gln和MSG对鳊抗氧化能力的影响

Glu是合成谷胱甘肽(GSH)的底物, 谷胱甘肽有抗氧化性, 属于机体抗氧化系统, 与T-AOC等指标密切相关, 其活性的高低直接反映着机体对于应代偿能力和清除自由基(ROS)能力的强弱^[23]。脂质过氧化反应的最终产物为MDA, 其浓度反映氧化应激诱导的机体细胞损伤程度^[24]。Jiang等^[25]对体外培养鱼肠道细胞的研究表明, 细胞中的GSH浓度和抗氧化能力会随着细胞外Glu水平的增加而增

加, 而MDA含量和细胞蛋白羰基含量则相反, 其原因是适量的体外Glu补充显著提高了肠细胞中Nrf2的表达水平, Glu通过调节抗氧化相关信号分子的表达, 起到增强鱼体抗氧化能力的作用。本实验结果说明Glu、MSG具有提高鳊机体抗氧化能力的作用, 这与Jiang等^[26]在草鱼饲料中添加Gln以及王一冰等^[27]在清远麻鸡饲料中添加MSG的研究一致; 而Gln则使鳊的抗氧化能力下降, 这可能与高温导致的Gln产生毒性作用有关。

3.4 Gln对鳊肝功能的负面影响

鱼类肝脏是鱼体内代谢和解毒的中心, 它具有多种生理和生化功能, 其对鱼类生长代谢和健康非常重要。在正常状态下鱼类血中氨基转移酶活性很低, 当肝脏组织受损或者功能减弱时, AST和ALT易进入血液中^[28]。本实验中Gln组鳊血浆AST和ALT指标显著高于CON组, 说明添加Gln对肝脏造成了一定程度的损伤。从本实验结果来看, Gln使肝功能变差, 可能是因为饲料制作过程中的高温环境使Gln分解产生焦谷氨酸和氨^[29]。焦谷氨酸被认为是一种具有潜在毒性的代谢产物, 过量堆积易导致氨基酸和蛋白质的氧化损伤, 其毒性受到暴露时间和浓度、生物体的种类和生理状态等多种因素的影响^[30]; 在一些硬骨鱼体内, 部分氨在肝脏通过尿素循环排除, 而氨的积累会对鱼体的肝脏和神经系统产生毒性影响, 影响肝脏功能和健康^[31]。因此, 鳊饲料不建议添加Gln, 后续研究可以选择使用Gln的最佳二肽替代物Ala-Gln^[32], 其较Gln更为稳定, 不易降解产生氨, 机体内的肽键剪切二肽即可释放Gln, 生物利用度更高。

4 结论

在本实验条件下, Glu、Gln和MSG促进鳊摄食、生长、胃肠消化吸收功能和肠道物理屏障。Glu-0.2%、Gln-0.2%的促生长作用是摄食量和饲料转化率共同增加的结果, MSG则主要表现为促进摄食效果显著。Glu、MSG对鳊肝脏健康无明显影响, Gln则会使鳊肝功能下降、抗氧化能力降低、肠道微生物失调。三种添加剂相比较, Glu-0.2%对鳊的营养效应最佳, 能增强肠道物理屏障, 提高胃酸分泌和胃肠消化吸收能力, 改善肠道菌群, 促进鳊生长和饲料转化。

参考文献:

- [1] Li X Y, Zheng S X, Han T, *et al.* Effects of dietary protein intake on the oxidation of glutamate, glutamine, glucose and palmitate in tissues of largemouth bass

- (*Micropterus salmoides*) [J]. *Amino Acids*, 2020, **52**(11/12): 1491-1503.
- [2] Li X Y, Zheng S X, Wu G Y. Nutrition and metabolism of glutamate and glutamine in fish [J]. *Amino Acids*, 2020, **52**(5): 671-691.
 - [3] Brosnan J T, Brosnan M E. Glutamate: a truly functional amino acid [J]. *Amino Acids*, 2013, **45**(3): 413-418.
 - [4] Alalwani A D. Monosodium glutamate induced testicular lesions in rats (histological study) [J]. *Middle East Fertility Society Journal*, 2014, **19**(4): 274-280.
 - [5] Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction, and health [J]. *Advances in Nutrition*, 2010, **1**(1): 31-37.
 - [6] Luise D, Correa F, Chalvon-Demersay T, et al. Supplementation of mixed doses of glutamate and glutamine can improve the growth and gut health of piglets during the first 2 weeks post-weaning [J]. *Scientific Reports*, 2022(12): 14533.
 - [7] Rezaei R, Knabe D A, Tekwe C D, et al. Dietary supplementation with monosodium glutamate is safe and improves growth performance in postweaning pigs [J]. *Amino Acids*, 2013, **44**(3): 911-923.
 - [8] Zhao Y, Zhang T R, Li Q, et al. Effect of dietary L-glutamate levels on growth, digestive and absorptive capability, and intestinal physical barrier function in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. *Animal Nutrition*, 2020, **6**(2): 198-209.
 - [9] Liu J, Mai K, Xu W, et al. Effects of dietary glutamine on survival, growth performance, activities of digestive enzyme, antioxidant status and hypoxia stress resistance of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther) post larvae [J]. *Aquaculture*, 2015(446): 48-56.
 - [10] Zhelyazkov G, Stratev D. Effect of monosodium glutamate on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) [J]. *Veterinary World*, 2019, **12**(7): 1008-1012.
 - [11] National characteristic freshwater fish industry technology system. Report on the development of *Siniperca chuatsi* industry in China [J]. *China Fisheries*, 2021(4): 23-32. [国家特色淡水鱼产业技术体系. 中国鳊鱼产业发展报告 [J]. 中国水产, 2021(4): 23-32.]
 - [12] Shen Y, Li H, Zhao J, et al. The digestive system of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) can adapt to domestication by feeding with artificial diet [J]. *Aquaculture*, 2021(538): 736546.
 - [13] Xu H Z, Zhang H D, Wang G L, et al. Comparison of physiological status of short-term starvation and feeding of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) at low temperature in winter [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2022, **46**(9): 1572-1581. [徐杭忠, 张皓迪, 王贵龙, 等. 冬季低水温鳊短期饥饿和摄食的生理状态比较 [J]. 水产学报, 2022, **46**(9): 1572-1581.]
 - [14] Caballero-Solares A, Viegas I, Salgado M C, et al. Diets supplemented with glutamate or glutamine improve protein retention and modulate gene expression of key enzymes of hepatic metabolism in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles [J]. *Aquaculture*, 2015(444): 79-87.
 - [15] Qu F, Liu Z, Hu Y, et al. Effects of dietary glutamine supplementation on growth performance, antioxidant status and intestinal function in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, **25**(3): 609-621.
 - [16] Lin S M, Zhou X M, Zhou Y L, et al. Intestinal morphology, immunity and microbiota response to dietary fibers in largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020(103): 135-142.
 - [17] San G A, Uneyama H. Amino acid sensing in the gastrointestinal tract [J]. *Amino Acids*, 2013, **45**(3): 451-461.
 - [18] Yamamoto S, Tomoe M, Toyama K, et al. Can dietary supplementation of monosodium glutamate improve the health of the elderly [J]? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2009, **90**(3): 844S-849S.
 - [19] Tsurugizawa T, Uematsu A, Nakamura E, et al. Mechanisms of neural response to gastrointestinal nutritive stimuli: the gut-brain axis [J]. *Gastroenterology*, 2009, **137**(1): 262-273.
 - [20] Zhao Y, Hu Y, Zhou X Q, et al. Effects of dietary glutamate supplementation on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant capacity in intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, **21**(6): 935-941.
 - [21] Kyoung H, Lee J J, Cho J H, et al. Dietary glutamic acid modulates immune responses and gut health of weaned pigs [J]. *Animals*, 2021, **11**(2): 504.
 - [22] Zhang Z, Fan Z, Yi M, et al. Characterization of the core gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): indication of a putative novel *Cetobacterium* species and analysis of its potential function on nutrition [J]. *Archives of Microbiology*, 2022, **204**(12): 690.
 - [23] Wu G. *Amino Acids: Biochemistry and Nutrition* [M]. CRC Press, 2021.
 - [24] Huang Y W, Ye Y T, Cai C F, et al. The damage of intestinal mucosa barrier structure and the effect of cholesterol and bile acid synthesis pathway in the liver and intestine under MDA in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, **40**(4): 869-878. [黄雨薇, 叶元土, 蔡春芳, 等. MDA对草鱼肠道黏膜结构屏障损伤和肝胰脏、肠道胆固醇、胆汁酸合成影响 [J]. 水生生物学报, 2016, **40**(4): 869-878.]
 - [25] Jiang J, Shi D, Zhou X Q, et al. Effects of glutamate on growth, antioxidant capacity, and antioxidant-related signaling molecule expression in primary cultures of fish enterocytes [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, **41**(5): 1143-1153.
 - [26] Jiang J, Wu X Y, Zhou X Q, et al. Glutamate ameliorates

- copper-induced oxidative injury by regulating antioxidant defences in fish intestine [J]. *British Journal of Nutrition*, 2016, **116**(1): 70-79.
- [27] Wang Y B, Kuang Z X, Zhang S, *et al.* Effects of three additives on growth performance, antioxidant capacity and meat quality of Qingyuan partridge chickens aged 91 to 115 days [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2021, **48**(8): 2787-2796. [王一冰, 邝智祥, 张盛, 等. 3种添加剂对91~115日龄清远麻鸡生长性能、抗氧化性能和肉品质的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2021, **48**(8): 2787-2796.]
- [28] Hoseini S M, Rajabiesterabadi H, Kordrostami S. Chronic exposure of *Rutilus rutilus caspicus* fingerlings to ambient copper [J]. *Toxicology and Industrial Health*, 2016, **32**(2): 375-383.
- [29] Khan K, Elia M. Factors affecting the stability of L-glutamine in solution [J]. *Clinical Nutrition*, 1991, **10**(4): 186-192.
- [30] Alhourani H M, Kumar A, George L K, *et al.* Recurrent pyroglutamic acidosis related to therapeutic acetaminophen [J]. *The American Journal of the Medical Sciences*, 2018, **355**(4): 387-389.
- [31] Weiner I D, Mitch W E, Sands J M. Urea and ammonia metabolism and the control of renal nitrogen excretion [J]. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2015, **10**(8): 1444-1458.
- [32] Yuan Y, Krisher R. Replacing glutamine with alanyl-glutamine in chemically defined maturation medium can increase porcine oocyte nuclear maturation *in vitro* [J]. *Biology of Reproduction*, 2007, **77**(Suppl_1): 224.

DIETARY GLUTAMIC ACID, GLUTAMINE AND MONOSODIUM GLUTAMATE ON FEEDING, GROWTH, GASTROINTESTINAL AND LIVER FUNCTION OF MANDARIN FISH (*SINIPERCA CHUATSI*)

FANG Lan-Yue¹, XU Yao-Sheng¹, LIU Tian-Ji², LI Hong-Qin², LIU Cong², LI Hong³, ZHAI Xu-Liang³, XUE Yang³, SHEN Zi-Wei⁴, CHEN Yong-Jun¹ and LUO Li¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Resources and Reproductive Development of Ministry of Education, College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 400716, China; 2. Sichuan New Hope Liuhe Technology Innovation Co., LTD., Chengdu 610000, China; 3. Chongqing Fisheries Technology Extension Station, Chongqing 400400, China; 4. Southwest Fishery Research Center, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Chongqing 400400, China)

Abstract: This study aims to investigate the effects of glutamate (Glu), glutamine (Gln), and monosodium glutamate (MSG) on the growth and gastrointestinal function of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*). Six treatment groups were established with varying concentrations of Glu, Gln, and MSG, along with a control group (CON). The fish, with an initial body weight of (17.60±0.53) g, were fed for 56d. Compared to the CON group, the results indicated the following: All three additives significantly increased food intake, with MSG exhibiting the most pronounced effect; Glu-0.2 and Gln-0.2 significantly improved the weight gain rate (WGR) and feed efficiency ratio (FER); Glu-0.2, Glu-0.4, and Gln-0.2 significantly increased the activity of pepsin and gastric H⁺-K⁺-ATPase in each addition group; Glu-0.2 promoted the activity of intestinal trypsin; Na⁺-K⁺-ATPase activity did not promote Gln-0.4, but was significantly increased in other groups; Glu and MSG groups showed significant reductions in plasma D-LA, ET and DAO activity; Gln group exhibited significantly increased plasma AST and ALT levels, accompanied by noticeable hepatocyte swelling and vacuolation; Glu and MSG groups demonstrated significantly enhanced plasma antioxidant capacity, while Gln group experienced a decrease; Glu-0.2 group showed significantly higher abundances of *Tenericutes* and *Cetobacterium* compared to the CON group. In conclusion, Glu has a positive influence on mandarin fish by promoting gastric acid secretion, gastrointestinal digestion, and absorption, fortifying intestinal physical barrier, enhancing intestinal flora, and supporting growth; Gln improves the gastrointestinal function of mandarin fish but leads to a decrease in the antioxidant capacity of body, along with damage to liver function; MSG stands out in promoting feeding and growth but does not significantly improve feed conversion.

Key words: Glutamate; Glutamine; Monosodium glutamate; Stomach; Intestine; Liver; *Siniperca chuatsi*