

Wang L X, Cai Q X, Feng X, *et al.* Dietary isoleucine levels on growth, feeding, and lipid metabolism of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(8): 082602. [王礼行, 蔡亲晓, 冯霞, 等. 饲料异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈生长、摄食及脂代谢的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(8): 082602.]

饲料异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈生长、摄食及脂代谢的影响

王礼行^{1,2,3} 蔡亲晓^{1,2,3} 冯霞⁴ 吴小易^{1,2,3*} 周智愚^{1,2,3*}

(1. 海南大学海洋生物与水产学院, 海口 570228; 2. 海南省热带水生生物技术研究重点实验室, 海口 570228; 3. 海南大学南海海洋国家资源与利用国家重点实验室, 海口 570228; 4. 海南大学网络空间安全学院, 海口 570228)

摘要: 本研究旨在探究饲料异亮氨酸(Isoleucine, Ile)水平对豹纹鳃棘鲈(*Plectropomus leopardus*)生长、摄食及脂代谢的影响。实验设计了1.96%、2.11%、2.29%、2.40%、2.53%、2.68%和2.84% (占饲料干重)七种异亮氨酸水平饲料, 分别缩写为Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53、Ile2.68和Ile2.84, 每个异亮氨酸水平组含3个重复。实验鱼初始体重为(34.93±0.27) g, 15尾/重复, 养殖9周。结果显示, Ile2.84组增重率(WGR)、每日摄食量(DFI)、特定生长率(SGR)和蛋白质效率(PER)显著低于其他组($P<0.05$), 而饲料系数(FCR)显著高于其他组($P<0.05$)。以WGR为评价指标, 经双斜率折线模型分析表明, 当饲料异亮氨酸水平超过2.68%时, 豹纹鳃棘鲈的生长出现下降。Ile2.84组肝体比(HSI)、肥满度(CF)及全鱼、肌肉、肝脏脂肪含量显著低于其他组($P<0.05$), 血浆甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量表现出类似变化趋势($P<0.05$), 而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量表现出相反变化趋势($P<0.05$)。Ile2.84组脑组织促食欲基因 npv 及肠道组织抑食欲相关基因($t1r1$ 、 $t1r3$ 、 cck)的表达水平显著高于其他组($P<0.05$); 与其他组相比, Ile2.84组肝脏中脂肪分解相关基因($ampka$ 、 $ppara$ 、 $cpt-1$ 和 hsl)的表达水平显著增加($P<0.05$), 但脂肪合成相关基因($acc1a$ 和 fas)的表达水平显著降低($P<0.05$)。总之, 配合饲料中1.96%—2.68%的异亮氨酸水平(占饲料蛋白的3.80%—5.17%)能够满足豹纹鳃棘鲈生长的需求。

关键词: 异亮氨酸; 生长; 摄食; 脂代谢; 豹纹鳃棘鲈

中图分类号: S965.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2026)08-082602-11

doi: 10.3724/1000-3207.2026.2026.0029 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2026.0029



蛋白质是水产饲料中最昂贵的关键营养成分^[1], 鱼类对蛋白质营养的需求本质上是对各种氨基酸的特定需求^[2]。因此, 仅依据粗蛋白含量配制的饲料, 可能无法实现氨基酸的均衡供给, 尤其是必需氨基酸^[3]。异亮氨酸是鱼类生长发育的必需氨基酸之一^[4], 其在饲料中的适宜添加水平能够促进养殖鱼类快速生长, 但添加水平不足或过量均会导致鱼类生长缓慢, 以及损伤其生理功能^[5,6]。当前, 饲料中异亮氨酸的最适水平(占饲料干重)已在多种鱼类中报道, 例如大黄鱼 *Pseudosciaena crocea* (1.71%)^[7]、卵形鲳鲹 *Trachinotus ovatus* (1.74%)^[8]、

虎龙杂交斑 *Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂ (1.98%)^[9]、美国红鱼 *Sciaenops ocellatus* (1.11%)^[10]、草鱼 *Ctenopharyngodon idellus* (1.46%)^[11]、印度鲷 *Cirrhinus mrigala* (1.32%)^[12]、尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* (1.37%)^[13] 和翠鲳 *Channa punctatus* (1.81%)^[14], 上述研究结果表明, 鱼类对异亮氨酸的需求量存在种间差异。

异亮氨酸是支链氨基酸中唯一的生糖兼生酮氨基酸^[5], 具有促进鱼体蛋白质沉积^[13], 改善肉质^[15], 增强抗氧化^[14] 及免疫能力^[16] 等多种生理功能。另有研究表明, 饲料中适宜的异亮氨酸水平能

收稿日期: 2026-01-25; 修订日期: 2026-03-02

基金项目: 海南省重点研发项目(ZDYF2025SXLH009)资助 [Supported by the Hainan Key Research and Development Projects (ZDYF2025SXLH009)]

作者简介: 王礼行(2000—), 硕士研究生; 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: 1900279360@qq.com

通信作者: 吴小易, 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: wjurk@163.com 周智愚, 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: hndxzhouzy@163.com *共同通信作者

显著提高草鱼^[15]和杂交江鲢(*Pelteobagrus vachelli* × *Leiocassis longirostris*)^[17]的摄食量。在仔猪体外研究中表明,高剂量异亮氨酸能显著提高空肠组织氨基酸感知受体T1R1/T1R3 (Taste receptor type 1/ Taste receptor type 3)的基因及蛋白表达水平,且饱腹激素-胆囊收缩素(Cholecystokinin, CCK)的基因表达水平上调,该研究同样证实,长期饲喂含过量支链氨基酸的日粮能够显著提高脑组织中刺鼠基因相关蛋白(Proopiomelanocortin, AGRP)和神经肽Y (Neuropeptide Y, NPY)的表达水平,进而抑制仔猪的采食量^[18]。然而,关于异亮氨酸调节鱼类摄食的分子机制尚不清楚,有待深入探究。

异亮氨酸对鱼类脂肪代谢也发挥重要的调控作用。有研究报道,饲料中过量的异亮氨酸能够显著增加鱼体脂肪含量^[12, 14]。另有研究表明,饲料异亮氨酸达到一定水平后鱼体脂肪含量显著降低^[8, 19, 20]。由此可见,异亮氨酸对鱼类脂代谢的调控可能具有物种特异性。然而,目前关于异亮氨酸调控鱼类脂代谢的分子机制研究仍较有限,相关研究仅见于杂交江鲢的报道。该研究发现,饲料中适宜的异亮氨酸水平可使肌肉中脂肪酸合成酶(Fatty Acid Synthase, FAS)和乙酰辅酶A羧化酶(Acetyl-coa carboxylase, ACC)的表达增加,腺苷酸活化蛋白激酶(Adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)、过氧化物酶体增殖物激活受体 α (Peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR α)、激素敏感性脂肪酶(Hormone-Sensitive Lipase, HSL)和肉碱棕榈酰转移酶-1 (Carnitine palmitoyl-transferase 1, CPT-1)的表达降低,进而降低肌肉脂肪含量^[21]。综上所述,在不同鱼类上关于异亮氨酸如何调控脂代谢的研究,还需进一步探讨。

豹纹鳃棘鲈(*Plectropomus leopardus*)俗称东星斑,具有肉质鲜美和体色艳丽的特点,现已成为我国南方尤其是海南的主养品种之一^[22]。异亮氨酸作为一种必需氨基酸,在豹纹鳃棘鲈中的适宜需求量及生理功能尚未明确。因此,本实验以豹纹鳃棘鲈为实验对象,探究饲料中不同异亮氨酸水平对其生长、摄食及脂代谢的影响,进而确定其对饲料异亮氨酸的需求量,以期完善其氨基酸营养需求数据库,并为其精准营养调控和高效环保饲料的开发及利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计与饲料配方

Nguyen等^[23]的研究表明,采用多种水产蛋白原料和少量晶体氨基酸为主的实用饲料,能使评估

结果更贴近实际生产。因此,本研究以鱼粉、大豆浓缩蛋白及棉籽蛋白作为主要蛋白源,面粉及 α 木薯淀粉作为主要糖源,鱼油作为脂肪源,配制了7组不同异亮氨酸水平的配合饲料。实验饲料配方及营养成分见表1。饲料异亮氨酸实测水平分别为1.96%、2.11%、2.29%、2.40%、2.53%、2.68%和2.84% (占饲料干重,表2),相应实验组依次缩写为Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53、Ile2.68和Ile2.84。

饲料制作前,将所有原料粉碎并通过80目筛网,再根据配方准确称取原料。称取的复合维生素、复合矿物质、晶体氨基酸和海藻粉,充分混合均匀后,按1:2质量比加水进行包被,形成预混团。随后,依次加入其余原料,并按2:5质量比加水搅拌至均匀。混合物料放入双螺旋杆压条机(型号: F-75, 中国),挤压成直径为2.5 mm的条状饲料,再经造粒机(型号: G-500, 中国)制粒。制得的颗粒饲料在16℃条件下风干36h,过筛后装袋并储存于-20℃。

1.2 实验鱼饲养管理

本实验所用的豹纹鳃棘鲈幼鱼购自海南省儋州市排浦镇育苗厂。在正式养殖实验开始前,将所有豹纹鳃棘鲈幼鱼置于玻璃缸(50 cm×60 cm×60 cm)循环水养殖系统中暂养2周。在此期间,每天采用商业饲料(粗蛋白50%,粗脂肪10%,以干物质计)投喂豹纹鳃棘鲈幼鱼2次(8:00和16:30)进行驯化。在驯化结束后,选取315尾规格接近且健壮的实验鱼(34.93±0.27) g,随机平均分入21个玻璃缸,每个缸15尾。每日投喂实验饲料2次(8:00和16:30),直至实验鱼表观饱食。在投喂30min后,清除养殖水体中的残饵和粪便。同时,每日通过水质测定盒(货号: Ammonia N Kit, 桑普生化, 中国)和便携式多参数水质仪(型号: ProQuatro, YSI, 美国)监测水质(pH 7.2—7.8、温度28—30℃、盐度30‰—32‰、溶解氧质量浓度6.0—6.4 mg/L和氨氮质量浓度小于0.20 mg/L)以维持水质稳定。光周期设定为12h光照与12h黑暗交替,养殖实验持续9周。

1.3 样品采集

在养殖实验开始前,随机选取10尾鱼作为初始样本保存于-20℃,用于后续的体组成成分分析。在养殖实验结束后,实验鱼禁食过夜(约16h),记录每个玻璃缸实验鱼的数量与重量。每个玻璃缸随机选取6尾实验鱼,使用100 mg/L的3-乙氧酰基苯胺甲磺酸盐溶液(MS-222, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 中国)进行麻醉。其中,3尾实验鱼称重记录后保存于-20℃,用于后续全鱼组成成分分析;另外3尾实验鱼分别称重和测量体长后,用肝素钠

(常州干红生化制药股份有限公司, 中国)处理的2 mL 一次性无菌注射器(武汉王冠医疗器械有限责任公司, 中国)采集血样, 随后放入冷冻离心机(FC5515R, Hamburg, Germany)离心(3500 r/min, 4℃, 15min), 吸取上清液得到血浆保存于冻存管内, 并置于-80℃储存。在血样采集完毕后, 解剖取得每尾鱼的内脏和肝脏进行称重, 并收集脑、肠道和肝脏等组织样品储存于-80℃; 同时收集每尾剩余的肝脏及白肌, 称重记录后封装于密封袋(11 cm × 16 cm)至-20℃保存, 用于肝脏和肌肉组成成分分析。

1.4 分析方法

饲料、全鱼、肌肉、肝脏营养成分的测定

粗蛋白和粗脂肪含量分别采用杜马斯燃烧定氮法(RAP-ID MAXN EXCEED SYSTEM, Germany)和索氏提取法(ANKOM XT15i Extractor, USA)测定; 水分含量均采用减重法测定, 肝脏使用真空冷

冻干燥机(LGJ-18, 北京松源华兴科技发展有限公司, 中国)冷冻干燥, 饲料、全鱼及肌肉使用电热鼓风干燥箱(BGZ-140, 上海右一, 中国)烘干。

血浆生化指标测定 血浆生化指标的测定均使用南京建成商用试剂盒测定, 测定的指标包括谷草转氨酶(AST; 货号: C010-2-1)、谷丙转氨酶(ALT; 货号: C009-2-1)、总胆固醇(T-CHO; 货号: A111-1-1)、甘油三酯(TG; 货号: A110-1-1)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C; 货号: A113-1-1)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C; 货号: A112-1-1), 测定操作步骤参照说明书进行。

RNA的提取和反转录 使用TRIzol™试剂(货号: 15596026, Invitrogen, 美国)提取脑、肠道和肝脏组织的总RNA。使用1%琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性。采用超微量紫外可见分光光度计(NanoDrop® ND-1000, Thermo Fisher Scientific,

表 1 饲料配方及成分分析(% , 干重)

Tab. 1 Formulation and analyzed compositions of the experimental diets (% , dry matter)

原料Ingredient	饲料异亮氨酸水平Dietary isoleucine level						
	1.96	2.11	2.29	2.40	2.53	2.68	2.84
鱼粉Fish meal	43.50	43.50	43.50	43.50	43.50	43.50	43.50
大豆浓缩蛋白Soy protein concentrate	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00
棉籽蛋白Cottonseed protein	15.20	15.20	15.20	15.20	15.20	15.20	15.20
面粉Flour	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30	6.30
α木薯淀粉Alpha cassava starch	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
鱼油Fish oil	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
海藻粉Seaweed powder	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70	4.70
甜菜碱Betaine	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
脱胶骨粉Degelatinized bone meal	1.74	1.59	1.44	1.29	1.14	0.99	0.84
虾青素Astaxanthin	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
精氨酸Arginine	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67
异亮氨酸Isoleucine	0	0.15	0.30	0.45	0.60	0.75	0.90
蛋氨酸Methionine	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
复合维生素Vitamin mixture ¹	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
复合矿物质Mineral mixture ²	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
饲料成分分析Analyzed compositions of diets							
干重Dry matter	90.12	86.43	88.92	90.69	90.38	90.79	89.67
粗蛋白Crude protein	51.62	51.55	51.50	51.16	51.54	51.83	51.69
粗脂肪Crude lipid	11.29	11.45	11.43	11.54	11.76	11.63	11.75

注: ¹复合维生素(mg/kg饲料): 375 mg 烟酸, 25 mg 维生素B₁, 250 mg 泛酸钙, 0.5 mg 维生素B₁₂, 100 mg 维生素B₂, 25 mg 维生素B₆, 7.5 mg 叶酸, 63 mg 维生素E, 148.4 mg 维生素C, 0.03 mg 维生素D₃, 267.9 mg 肌醇, 20 mg 维生素K, 2.5 mg 生物素, 10 mg 维生素A, 8705.17 mg 纤维素; ²复合矿物质(mg/kg饲料): 15 mg ZnSO₄·7H₂O, 1635 mg 乳酸钙, 437.9 mg CaCl₂, 1026.4 mg KCl, 660 mg MgSO₄·7H₂O, 148.5 mg 柠檬酸铁, 503.16 mg NaCl, 5 mg CoCl₂·6H₂O, 0.75 mg KI, 4 mg MnSO₄·H₂O, 0.5 mg CuCl₂, 0.75 mg AlCl₃·6H₂O, 563.03 mg 纤维素

Note: ¹Vitamin mixture (mg/kg diet): 375 mg nicotinic acid, 25 mg thiamin hydrochloride, 250 mg calcium pantothenate, 0.5 mg vitamin B₁₂, 100 mg riboflavin, 25 mg pyridoxine hydrochloride, 7.5 mg folic acid, 63 mg alpha-tocopherol acetate, 148.4 mg ascorbic acid, 0.03 mg cholecalciferol, 267.9 mg inositol, 20 mg menadione, 2.5 mg biotin, 10 mg retinol acetate, 8705.17 mg Cellulose; ²Mineral mixture (mg/kg diet): 15 mg ZnSO₄·7H₂O, 1635 mg calcium lactate, 437.9 mg CaCl₂, 1026.4 mg KCl, 660 mg MgSO₄·7H₂O, 148.5 mg ferric citrate, 503.16 mg NaCl, 5 mg CoCl₂·6H₂O, 0.75 mg KI, 4 mg MnSO₄·H₂O, 0.5 mg CuCl₂, 0.75 mg AlCl₃·6H₂O, 563.03 mg Cellulose

美国)检测RNA的质量和浓度。使用PrimeScript™ RT Reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒(货号: RR047A, TaKaRa, 日本)反转录合成cDNA, 具体操作参照说明书进行。根据NCBI中的mRNA序列, 使用Prime 6.0软件(PREMIER Biosoft, 美国)设计基因的引物序列(表 3)。

荧光定量PCR (RT-qPCR)测定 RT-qPCR 反应体系包含cDNA模板1 μL、上下游引物各0.4 μL、TB Green™ Premix Ex Taq™ II(货号: RR420A, TaKaRa, 日本) 5 μL和RNase free dH₂O 3.2 μL。使用LightCycler 480 System (Roche, 瑞士)进行实时定量聚合酶链反应分析基因表达, 运行程序参照TaKaRa 公司用户手册设定。每个样本3个重复。引物的扩增效率使用5个不同稀释梯度的同一cDNA样本构建标准曲线, 通过 $E=10^{(-1/\text{slope})}-1$ 计算, 基因的表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。

1.5 生长性能检测指标与方法

增重率(WGR, %)= $100 \times (W_{\text{末}}/n_2 - W_{\text{初}}/n_1) / (W_{\text{初}}/n_1)$

饲料系数(FCR)= $W_f / (W_{\text{末}} - W_{\text{初}})$

特定生长率(SGR, %/d)= $[\ln(W_{\text{末}}/n_2) - \ln(W_{\text{初}}/n_1)] / T \times 100$

每日摄食量[DFI, g/(fish·d)]= $W_f / (n_2 \cdot T)$

蛋白质效率(PER, %)= $(W_{\text{末}} - W_{\text{初}}) / W_{\text{fp}}$

蛋白质利用效率(PPV, %)= $100 \times W_p / W_{\text{fp}}$

存活率(SR, %)= $100 \times n_2 / n_1$

脏体比(VSI)= $100 \times V / m_{\text{终}}$

肝体比(HSI)= $100 \times H / m_{\text{终}}$

肥满度(CF, g/cm³)= $100 \times m_{\text{终}} / L^3$

式中, $W_{\text{初}}$ 为实验鱼初始总重, $W_{\text{末}}$ 为实验鱼终末总重, T 为养殖天数, W_f 为摄入干物质饲料总量, W_{fp} 为摄入饲料蛋白总量, W_p 为鱼体蛋白增重, $m_{\text{终}}$ 为实验鱼末期体重, V 为内脏重量, H 为肝脏重量, L 为实验鱼体长, n_1 为实验鱼初始总数, n_2 为实验鱼终末总数。

1.6 数据分析

所有研究数据采用“平均值±标准误”表示, 在进行正态性分布和方差齐性检验后, 再运用SPSS25 软件的单因素方差(One-way ANOVA)和Duncan's

表 2 实验饲料氨基酸组成(%, 干重)

Tab. 2 Amino acid compositions of experimental diets (%, dry matter)

氨基酸Amino acid	饲料异亮氨酸水平Dietary isoleucine level						
	1.96	2.11	2.29	2.40	2.53	2.68	2.84
必需氨基酸Essential amino acid							
异亮氨酸Ile	1.96	2.11	2.29	2.40	2.53	2.68	2.84
缬氨酸Val	2.34	2.34	2.39	2.36	2.36	2.32	2.38
蛋氨酸Met	1.53	1.56	1.58	1.54	1.56	1.55	1.56
苯丙氨酸Phe	2.24	2.26	2.26	2.26	2.26	2.26	2.25
组氨酸His	1.46	1.47	1.47	1.47	1.46	1.46	1.46
苏氨酸Thr	1.93	1.98	1.97	1.95	1.94	1.94	1.94
赖氨酸Lys	3.36	3.38	3.41	3.39	3.38	3.34	3.35
亮氨酸Leu	3.43	3.46	3.47	3.45	3.44	3.43	3.43
精氨酸Arg	4.07	4.11	4.10	4.11	4.09	4.09	4.11
必需氨基酸总量ΣEAA	22.32	22.67	22.94	22.93	23.02	23.07	23.32
非必需氨基酸Non-essential amino acid							
脯氨酸Pro	2.10	2.20	2.12	2.11	2.13	2.11	2.12
谷氨酸Glu	7.74	7.85	7.85	7.84	7.79	7.75	7.75
酪氨酸Tyr	1.50	1.52	1.52	1.52	1.50	1.48	1.51
丙氨酸Ala	2.71	2.76	2.74	2.73	2.72	2.71	2.71
甘氨酸Gly	2.65	2.69	2.69	2.68	2.66	2.65	2.66
天冬氨酸Asp	4.68	4.77	4.76	4.73	4.71	4.70	4.70
胱氨酸Cys	0.54	0.54	0.54	0.55	0.56	0.55	0.56
丝氨酸Ser	2.07	2.12	2.10	2.08	2.06	2.08	2.06
非必需氨基酸总量ΣNEAA	23.99	24.45	24.32	24.24	24.13	24.03	24.07
氨基酸总量ΣAA	46.31	47.12	47.26	47.17	47.15	47.10	47.39

注: ΣEAA. 总必需氨基酸; ΣNEAA. 总非必需氨基酸; ΣAA. 总氨基酸

Note: ΣEAA. total essential amino acids; ΣNEAA. total non-essential amino acids; ΣAA. total amino acids

表 3 用于RT-qPCR基因的登录号及引物序列

Tab. 3 The GeneBank accession and primer sequences of genes used for RT-qPCR

基因 Gene	引物序列Primer sequence (5'—3')	登录号GenBank accession
<i>pomc</i>	ATCCTCTCTCTCTCTCTCTCT CGCTTTCGCCCCACAGGTTT	XM_042514722.1
<i>agrp</i>	GGTCGAGCCATGCGTTCATCA AGCGGCAGTAGCAGGTGTCA	XM_033631076.1
<i>npy</i>	AGCCCTGAGACACTACATCAAC CTGTGCTTTCTTTAACAACAG	XM_042506476
<i>tlr1</i>	AGCATCCTCTGTTTCTGTGGTT GCAGGAGCAGGCAGAAGGTTAT	XM_033647337.1
<i>tlr3</i>	GGTGTGTGTGCTGGGCGTTGA TCTGGCTGAGGTTGCTGGTGAG	XM_033626021.1
<i>cck</i>	GCTGCTGGCAAGACTCATCTCC GCTATCCGATGGTTGGCACTCA	XM_042506870.1
<i>ampka</i>	CCTCGCCACACACTGGATGAAT GGCACGGCACACTTCTGACAT	XM_033647071.1
<i>accl1a</i>	AAGAGGTGGTGGCGTGGCTA CGAGGCTGCGTATCTGCTTGAG	XM_042499292.1
<i>fas</i>	TGAGAAACACTCTGACACGAATG TCAAAGCGTAGCCTCGGTAG	XM_042483315.1
<i>cpt-1</i>	AGCACCTGACTGACCGTAAGC GCATCTCAAGTTCCTGCGGTAAG	XM_042495908.1
<i>ppara</i>	AATCCATCCGCTTTTGGTTCG TTGGGGTCTTCCATCCCTGT	XM_042495547.1
<i>hsl</i>	TGTGTGGACCTCCCGATTTG GCTCGACTGTGCTCCTGAAT	XM_042507190.1
β - <i>actin</i>	CCCATCTATGAAGGCTACGC CACGCACAATCTCACGCT	XM_042484599.1

注: *pomc*. 原阿黑皮素; *agrp*. 刺鼠基因相关蛋白; *npy*. 神经肽Y; *tlr1*. 鲜味味觉受体1; *tlr3*. 鲜味味觉受体3; *cck*. 胆囊收缩素; *ampka*. 腺苷酸活化蛋白激酶; *accl1a*. 乙酰辅酶A羧化酶; *fas*. 脂肪酸合成酶; *cpt-1*. 肉碱棕榈酰转移酶; *ppara*. 过氧化物酶体增殖物激活受体 α ; *hsl*. 激素敏感脂肪酶; β -*actin*. β -肌动蛋白

Note: *pomc*. proopiomelanocortin; *agrp*. agouti-related peptide; *npy*. neuropeptide Y; *tlr1*. taste receptor tyep1; *tlr3*. taste receptor type 3; *cck*. cholecystokinin; *ampka*. adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase alpha; *accl1a*. acetyl-coa carboxylase; *fas*. fatty acid synthase; *cpt-1*. carnitine palmitoyl-transferase1; *ppara*. peroxisome proliferator-activated receptor α ; *hsl*. hormone-sensitive lipase; β -*actin*. β -actin

检验方法, 分析不同组之间的差异是否显著。 $P < 0.05$ 表示不同处理组间差异性显著。

2 结果

2.1 生长性能和饲料利用

如表 4 所示, 不同异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈 SR 和 PPV 无显著影响 ($P > 0.05$), 但 Ile2.84 组的 PPV

低于其他组。豹纹鳃棘鲈 WGR、SGR、FCR、DFI 和 PER 在不同异亮氨酸水平组之间具有显著差异 ($P < 0.05$)。Ile2.84 组 WGR、SGR、DFI 和 PER 显著低于其他组 ($P < 0.05$), 而 FCR 显著高于其他组 ($P < 0.05$), Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53 和 Ile2.68 组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。如图 1 所示, 以 WGR 为评价指标, 经双斜率折线模型分析得出, 饲料异亮氨酸水平超过 2.68% 时, 豹纹鳃棘鲈的生长性能下降。

2.2 体形态学和全鱼、肌肉、肝脏组成

如表 5 所示, 不同异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈 VSI、肝脏水分含量、全鱼和肌肉的水分及粗蛋白含量均无显著影响 ($P > 0.05$), 而 HSI、CF、全鱼、肌肉和肝脏粗脂肪含量在不同异亮氨酸水平组之间具有显著差异 ($P < 0.05$)。Ile2.84 组豹纹鳃棘鲈 HSI、CF、全鱼、肌肉和肝脏粗脂肪含量显著低于其他组 ($P < 0.05$), 而 Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53 和 Ile2.68 组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 血浆生化指标

如表 6 所示, 各实验组间豹纹鳃棘鲈血浆中 TG、T-CHO、HDL-C 和 LDL-C 的水平均受到不同异亮氨酸水平的显著影响 ($P < 0.05$), 但豹纹鳃棘鲈血浆 AST 和 ALT 活性在不同异亮氨酸水平组之间无显著影响 ($P > 0.05$)。与其他组相比, Ile2.84 组豹纹鳃棘鲈血浆 TG、T-CHO 和 LDL-C 的水平显著低于其他组 ($P < 0.05$), 而 HDL-C 的水平显著高于其他组 ($P < 0.05$), Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53 和 Ile2.68 组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.4 肠道和脑组织摄食相关基因的表达

如图 2 所示, 不同异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈脑组织 *npv* 及肠道 *tlr1*、*tlr3*、*cck* 的表达水平具有显著影响 ($P < 0.05$)。Ile2.84 组与其他组相比, 豹纹鳃棘鲈肠道 *tlr1*、*tlr3* 和 *cck* 及脑 *npv* 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$), Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53 和 Ile2.68 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。脑组织 *agrp* 和 *pomc* 的表达水平在各实验组间无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.5 肝脏脂代谢相关基因的表达

如图 3 所示, 不同异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈肝脏中 *ampka*、*ppara*、*hsl*、*cpt-1*、*fas* 和 *accl1a* 的表达水平均具有显著影响 ($P < 0.05$)。与其他组相比, Ile2.84 组豹纹鳃棘鲈肝脏 *fas* 和 *accl1a* 的表达水平显著下降 ($P < 0.05$), 肝脏 *ampka*、*ppara*、*hsl* 和 *cpt-1* 的表达水平显著上升 ($P < 0.05$), Ile1.96、Ile2.11、Ile2.29、Ile2.40、Ile2.53 和 Ile2.68 组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

表4 豹纹鳃棘鲈摄食不同异亮氨酸水平饲料9周后的生长性能与饲料利用

Tab. 4 Growth performance and feed utilization of *P. leopardus* fed diets with different isoleucine levels for 9 weeks

项目Item	饲料异亮氨酸水平Dietary isoleucine level (%)						
	1.96	2.11	2.29	2.40	2.53	2.68	2.84
增重率WGR (%)	112.37±4.39 ^a	116.05±5.12 ^a	113.35±8.28 ^a	109.79±6.21 ^a	115.63±6.68 ^a	114.61±7.41 ^a	75.25±3.89 ^b
特定生长率SGR (%/d)	1.19±0.03 ^a	1.22±0.04 ^a	1.20±0.06 ^a	1.14±0.06 ^a	1.22±0.05 ^a	1.21±0.05 ^a	0.89±0.04 ^b
饲料系数FCR	1.14±0.02 ^b	1.11±0.05 ^b	1.12±0.04 ^b	1.19±0.02 ^b	1.10±0.01 ^b	1.14±0.01 ^b	1.33±0.01 ^a
每日摄食量DFI [g/(fish·d)]	0.71±0.02 ^a	0.71±0.01 ^a	0.70±0.04 ^a	0.71±0.03 ^a	0.71±0.05 ^a	0.72±0.04 ^a	0.55±0.03 ^b
蛋白质效率PER (%)	1.70±0.03 ^a	1.76±0.08 ^a	1.74±0.05 ^a	1.64±0.03 ^a	1.76±0.02 ^a	1.69±0.01 ^a	1.45±0.01 ^b
蛋白质利用效率PPV (%)	28.80±1.46	30.69±2.14	29.19±0.58	29.85±1.43	30.28±0.95	29.80±1.10	24.30±1.28
存活率SR (%)	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	97.78±2.22	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00

注: 表中数据为3个重复的平均值; 同行不同上标字母表示各组间差异($P<0.05$); 下同

Note: Data are means of triplicates; Different superscript letters in the same row indicate significantly differences ($P<0.05$); The same applies below

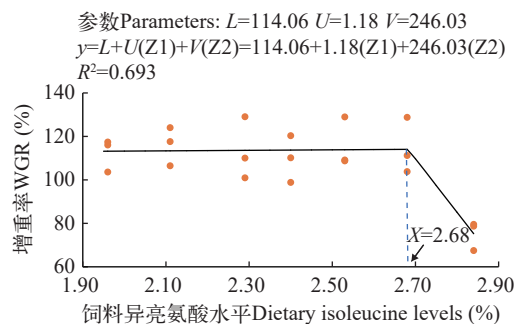


图1 基于双斜率折线模型分析的豹纹鳃棘鲈幼鱼增重率与饲料异亮氨酸水平关系

Fig. 1 Relationship between WGR of *P. leopardus* juveniles and dietary isoleucine levels analyzed by two-slope broken-line model
 L 是两个方程的交点的 Y 值; U 是第一个方程的斜率; V 是第二个方程的斜率; X 是两个方程的交点的 X 值; R^2 为决定系数; $Z1$ 、 $Z2$ 为自变量的分段函数; y 为响应指标(增重率 WGR)

L is the Y -value at the intersection point of the two equations; U is the slope of the first equation; V is the slope of the second equation; X is the X -value at the intersection point of the two equations; R^2 is the coefficient of determination; $Z1$ and $Z2$ are piecewise functions of the independent variable; y is the response indicator (weight gain rate, WGR)

3 讨论

3.1 饲料异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈生长性能的影响

在鱼类营养学中,通常采用剂量效应试验,并结合回归模型分析生长指标(如增重率, WGR)与饲料氨基酸水平的响应关系来评估鱼类必需氨基酸的需求量^[4, 24, 25]。本研究以WGR为评价指标,经双斜率折线模型分析证实了配合饲料中1.96%—2.68%异亮氨酸(占饲料干重)能够满足豹纹鳃棘鲈最大生长的需求。本研究首次报道了豹纹鳃棘鲈的异亮氨酸营养需求,并进一步完善了该鱼种的必需氨基酸需求数据库。与前期对不同鱼类的研究

相比,豹纹鳃棘鲈异亮氨酸需求范围高于大黄鱼^[7](1.71%,占饲料干重)、卵形鲳鲹^[8](1.74%,占饲料干重),与虎龙杂交斑^[9](1.98%,占饲料干重)接近。此外,有学者在对草鱼的研究中,幼鱼(8.25 ± 0.37) g和成鱼(615.69 ± 0.03) g的异亮氨酸需求量分别占饲料干重的1.46%和1.08%^[11, 15]。因此,异亮氨酸需求量存在差异可能归因于鱼类的品种和大小。

在本研究中,高异亮氨酸水平组(Ile2.84组)实验鱼生长性能及饲料利用显著下降,同时其每日摄食量也显著降低,表明过量的异亮氨酸可能通过降低豹纹鳃棘鲈的摄食进而抑制其生长。有学者在对团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[20]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[26]的研究中发现,饲料中过量的异亮氨酸会抑制其生长,这与本研究结果相似。但这两个研究均未探究饲料异亮氨酸水平和鱼类摄食量之间的关系。

3.2 饲料异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈摄食的影响

摄食量是影响鱼类生长性能的关键因素之一^[4, 27, 28]。鱼类的摄食受到中枢神经系统与外周调节系统的双重调控^[29]。肠道是外周氨基酸信号传导的关键器官^[30],肠道内分泌细胞可通过鲜味味觉受体T1R1和T1R3以异源二聚体的形式识别L-氨基酸,刺激肠胃肽分泌饱腹激素CCK,参与摄食调节^[31, 32]。中枢神经系统则通过神经肽Y(NPY)等食欲因子参与摄食调节^[33]。本研究中异亮氨酸水平过高的Ile2.84组,其肠道饱腹激素cck基因及其受体基因*t1r1*、*t1r3*的表达水平均显著上调,这一结果与仔猪^[18]的研究结果相似;但是,脑组织中促食欲基因*npv*的表达水平与每日摄食量的变化趋势相反,类似结果在对鳊(*Siniperca chuatsi*)^[34]的研究中亦有报道。综上所述,过量异亮氨酸的摄入可能通过激活肠道CCK/T1R受体通路进而抑制豹纹鳃棘鲈

的摄食。

3.3 饲料异亮氨酸水平对豹纹鳃棘鲈脂代谢的影响

鱼体的生长体现为蛋白和脂肪等物质的净沉积^[4]。在本研究中, 摄食高水平(2.68%)异亮氨酸饲料的实验鱼肝体比、肥满度及全鱼、肌肉、肝脏的脂肪含量均显著下降, 说明过量异亮氨酸可能通过降低豹纹鳃棘鲈体脂沉积来减缓其生长, 在小鼠的研究中也有类似的报道^[35]。本研究血浆相关生化指标的变化进一步证实了这一结论。血液是运输鱼类营养物质的载体, 血浆的生化指标可反映机体的代谢状态和营养状况^[36]。通常, 血浆甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平异常被视为脂类蓄积和脂质代谢障碍的风险指标^[37]。本研究发现, 高异亮氨酸水平组(Ile2.84组)血浆TG、T-CHO和LDL-C水平显著降低, HDL-C水平

显著上升, 表明过量异亮氨酸的摄入可能导致了豹纹鳃棘鲈脂肪合成代谢的减弱, 同时促进了脂肪的分解。

为探究异亮氨酸调节鱼类脂肪代谢的分子机制, 本研究检测分析了肝脏中脂肪合成代谢和分解代谢关键基因的表达。脂肪酸合酶(FAS)与乙酰辅酶A羧化酶(ACC)是脂肪合成途径的限速酶, 而过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)、激素敏感脂肪酶(HSL)及肉碱棕榈酰转移酶-1 (CPT-1)则是调控脂肪氧化分解的关键因子^[38, 39]。在本研究中, 高异亮氨酸水平组(Ile2.84组)实验鱼肝脏脂肪合成代谢相关基因(*fas*和*acc1a*)的表达水平显著下降, 脂肪分解相关基因(*ppara*、*hsl*和*cpt-1*)的表达水平显著升高, 这表明过量的异亮氨酸可能通过抑制脂肪合成代谢相关基因和促进脂肪分解代谢相关基因的表达, 来降低豹纹鳃棘鲈的脂肪沉积。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)是调节脂质代谢

表 5 豹纹鳃棘鲈摄食不同异亮氨酸水平饲料9周后的全鱼、白肌、肝脏组成和体形态学

Tab. 5 Whole body, white muscle, liver compositions, and body condition indices of *P. leopardus* fed diets with different isoleucine levels for 9 weeks

项目Item	饲料异亮氨酸水平Dietary isoleucine level (%)						
	1.96	2.11	2.29	2.40	2.53	2.68	2.84
体形态学指标Body condition indices							
脏体比VSI	5.81±0.30	5.50±0.25	5.85±0.38	5.96±0.15	5.86±0.38	6.37±0.38	4.95±0.21
肝体比HSI	1.54±0.11 ^a	1.57±0.10 ^a	1.63±0.19 ^a	1.64±0.05 ^a	1.72±0.01 ^a	1.74±0.07 ^a	1.05±0.15 ^b
肥满度CF (g/cm ³)	2.46±0.03 ^a	2.45±0.09 ^a	2.40±0.09 ^a	2.47±0.04 ^a	2.58±0.12 ^a	2.62±0.04 ^a	2.16±0.05 ^b
全鱼Whole body							
水分Moisture (%)	72.10±0.28	72.12±0.36	71.91±0.19	72.36±0.04	72.36±0.31	71.78±0.37	72.12±0.47
粗蛋白Crude protein (%)	17.66±0.44	17.89±0.23	17.57±0.11	17.83±0.18	17.80±0.36	18.00±0.30	17.70±0.30
粗脂肪Crude lipid (%)	4.77±0.25 ^a	4.66±0.26 ^a	4.55±0.18 ^a	4.39±0.26 ^a	4.51±0.22 ^a	4.40±0.21 ^a	3.65±0.12 ^b
肌肉Muscle							
水分Moisture (%)	77.10±0.13	77.06±0.07	77.11±0.12	77.17±0.09	76.95±0.18	77.34±0.05	77.24±0.06
粗蛋白Crude protein (%)	20.05±0.01	20.07±0.04	20.00±0.10	19.95±0.02	19.91±0.03	19.93±0.04	19.90±0.08
粗脂肪Crude lipid (%)	1.04±0.00 ^a	1.06±0.02 ^a	1.07±0.09 ^a	1.11±0.05 ^a	1.09±0.03 ^a	1.09±0.04 ^a	0.78±0.05 ^b
肝脏Liver							
水分Moisture (%)	59.49±0.13	59.45±0.21	59.02±0.21	59.85±0.22	59.16±0.31	59.53±0.26	59.69±0.51
粗脂肪Crude lipid (%)	14.59±0.08 ^a	14.68±0.05 ^a	14.79±0.07 ^a	14.70±0.10 ^a	14.65±0.16 ^a	15.33±0.12 ^a	13.43±0.14 ^b

表 6 豹纹鳃棘鲈摄食不同异亮氨酸水平饲料9周后的血浆生理生化指标

Tab. 6 Plasma biochemical indexes of *P. leopardus* fed diets with different isoleucine levels for 9 weeks

项目Item	饲料异亮氨酸水平Dietary isoleucine level (%)						
	1.96	2.11	2.29	2.40	2.53	2.68	2.84
谷草转氨酶AST (U/g prot)	14.52±0.37	14.52±0.24	14.71±0.28	14.79±0.09	14.80±0.33	14.63±0.65	14.90±0.56
谷丙转氨酶ALT (U/g prot)	27.17±0.88	27.40±1.32	27.51±1.38	27.60±0.98	28.36±1.04	28.28±1.53	28.25±1.14
甘油三酯TG (mmol/L)	2.67±0.04 ^a	2.71±0.03 ^a	2.65±0.08 ^a	2.65±0.07 ^a	2.74±0.04 ^a	2.74±0.05 ^a	2.05±0.06 ^b
总胆固醇T-CHO (mmol/L)	1.70±0.04 ^a	1.72±0.06 ^a	1.77±0.04 ^a	1.81±0.02 ^a	1.76±0.06 ^a	1.73±0.04 ^a	1.28±0.07 ^b
低密度脂蛋白胆固醇LDL-C (mmol/L)	0.28±0.01 ^a	0.29±0.02 ^a	0.29±0.01 ^a	0.28±0.01 ^a	0.29±0.01 ^a	0.29±0.01 ^a	0.21±0.01 ^b
高密度脂蛋白胆固醇HDL-C (mmol/L)	0.93±0.07 ^b	0.91±0.06 ^b	0.93±0.03 ^b	0.96±0.06 ^b	1.01±0.02 ^b	0.97±0.10 ^b	1.18±0.11 ^a

和能量平衡的调节器,可调控上述脂肪合成与分解通路,其激活后可通过磷酸化ACC抑制其活性,减少丙二酰-CoA生成,从而解除对CPT-1的抑制,促进脂肪酸氧化,同时其还可通过抑制固醇调节元件结合蛋白1 (Sterol regulatory element binding transcription factor 1, SREBP-1)的活性下调FAS表

达^[40]。在本研究中, Ile2.84组实验鱼肝脏 $ampka$ 的基因表达水平显著增加,表明过量的异亮氨酸可能通过上调 $ampka$ 基因表达,进而抑制下游脂肪合成代谢相关基因和激活下游脂肪分解代谢相关基因的表达,最终导致脂肪沉积下降,在对杂交江鲢^[17]的研究中也有类似的报道。值得注意的是, AMPK

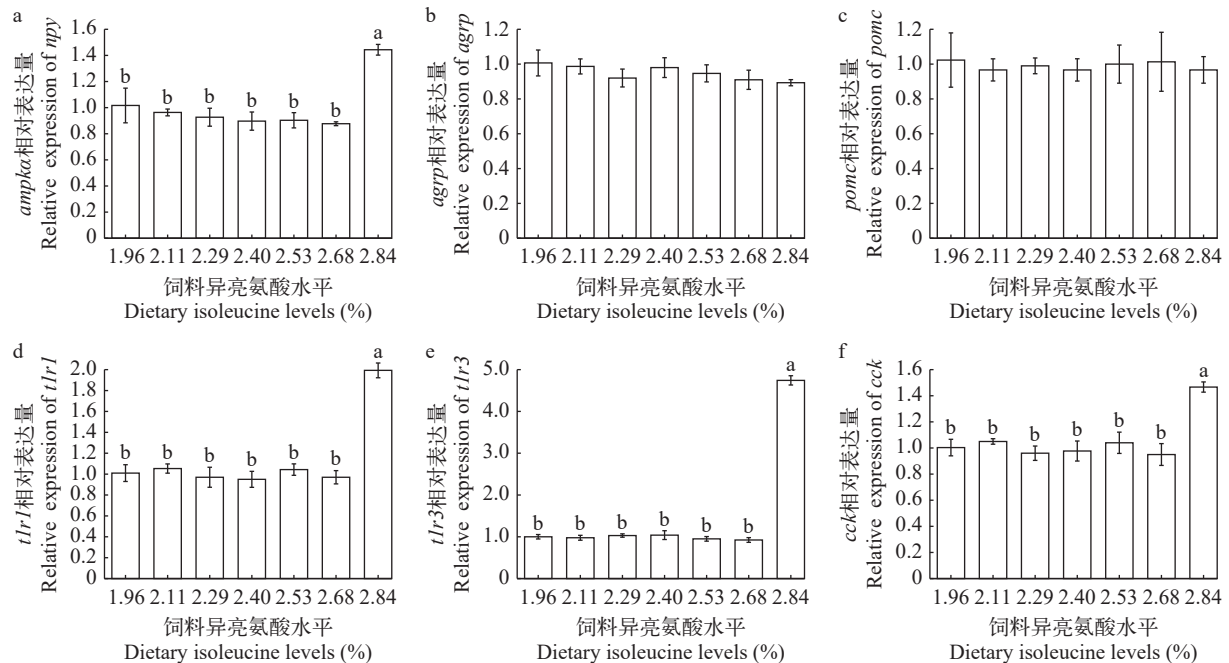


图2 豹纹鳃棘鲈摄食不同异亮氨酸水平饲料9周后脑 npy 、 $agrp$ 、 $pomc$ 和肠道 $tlr1$ 、 $tlr3$ 、 cck 基因相对表达量

Fig. 2 Relative mRNA expression of brain npy , $agrp$, and $pomc$ and intestine $tlr1$, $tlr3$, and cck genes of *P. leopardus* fed diets with different isoleucine levels for 9 weeks

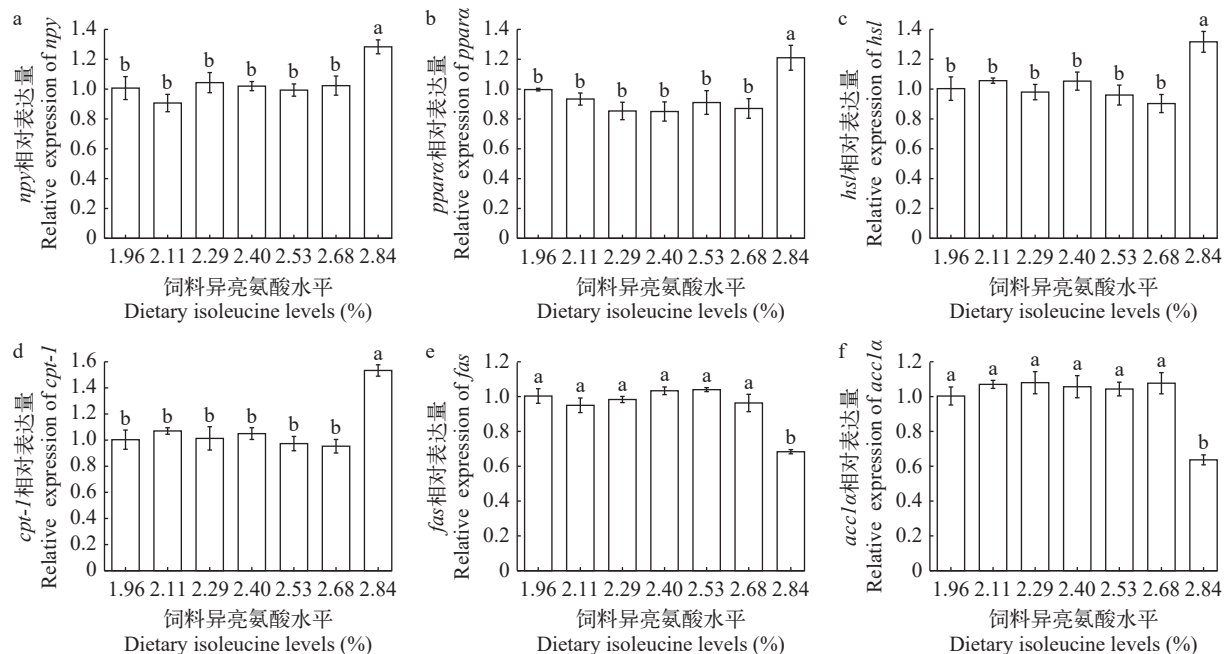


图3 豹纹鳃棘鲈摄食不同异亮氨酸水平饲料9周后肝脏脂代谢相关基因相对表达量

Fig. 3 Relative mRNA expression of hepatic lipid metabolism related genes expression of *P. leopardus* fed diets with different isoleucine levels for 9 weeks

的激活通常与能量匮乏状态相关^[41]。本研究中过量异亮氨酸组每日摄食量显著降低, 可能导致能量摄入不足, 从而上调*ampka*基因表达以动员脂肪供能。在草鱼的相关研究则发现, 摄食水平降低可激活AMPK, 但该研究并未进一步探讨AMPK激活后对脂代谢的影响^[42]。另有报道, 对小鼠进行饥饿处理或限制能量摄入会激活*ampk*, 促进其体脂分解供能^[43, 44]。因此, 过量异亮氨酸本身是否直接激活AMPK, 亦或者完全通过降低摄食量间接起作用, 尚需进一步研究。

4 结论

在本实验条件下, 配合饲料中1.96%—2.68%的异亮氨酸水平(占饲料蛋白的3.80%—5.17%)能够满足豹纹鳃棘鲈生长的需求。当饲料异亮氨酸水平超过2.68%时, 豹纹鳃棘鲈生长受到抑制, 并降低摄食量和体内脂肪沉积。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Han D, Shan X, Zhang W, *et al.* A revisit to fishmeal usage and associated consequences in Chinese aquaculture [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, **10**(2): 493-507.
- [2] Teles A O, Couto A, Enes P, *et al.* Dietary protein requirements of fish—a meta-analysis [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, **12**(3): 1445-1477.
- [3] Silva J V, Ribeiro F B, Siqueira J C, *et al.* Dietary valine requirement of tambaqui (*Colossoma macropomum*) with different body weights [J]. *Ciência e Agrotecnologia*, 2022(46): e002122.
- [4] Jobling M. National Research Council (NRC): Nutrient Requirements of Fish and Shrimp [M]. USA: The National Academies Press, 2011: 7-104.
- [5] Ahmad I, Ahmed I, Fatma S, *et al.* Role of branched-chain amino acids on growth, physiology and metabolism of different fish species: a review [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, **27**(5): 1270-1289.
- [6] Feng L, Gan L, Jiang W D, *et al.* Gill structural integrity changes in fish deficient or excessive in dietary isoleucine: Towards the modulation of tight junction protein, inflammation, apoptosis and antioxidant defense via *NF-κB*, *TOR* and *Nrf2* signaling pathways [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017(63): 127-138.
- [7] Li Y. Optimal requirements of branch chain amino acids and histidine in diets of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* and large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* R. [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010: 41-57. [李燕. 鲈鱼和大黄鱼支链氨基酸与组氨酸营养生理的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 41-57.]
- [8] Huang Z, Lin H Z, Peng J S, *et al.* Effects of dietary isoleucine levels on the growth performance, feed utilization, and serum biochemical indices of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus* [J]. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgah*, 2015(67): 1226.
- [9] Zhou Z, Wu X, Li X, *et al.* The optimum dietary isoleucine requirement of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, **26**(4): 1295-1310.
- [10] Castillo S, Gatlin III D M. Dietary requirements for leucine, isoleucine and valine (branched-chain amino acids) by juvenile red drum *Sciaenops ocellatus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, **24**(3): 1056-1065.
- [11] Shang X D, Luo L, Wen H, *et al.* Study on isoleucine requirement grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2009, **33**(5): 813-822. [尚晓迪, 罗莉, 文华, 等. 草鱼幼鱼对异亮氨酸的需要量 [J]. 水产学报, 2009, **33**(5): 813-822.]
- [12] Ahmed I, Khan M A. Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2006, **96**(3): 450-460.
- [13] Araújo F, Michelato M, Schemberger M O, *et al.* Assessment of isoleucine requirement of fast-growing Nile tilapia fingerlings based on growth performance, amino acid retention, and expression of muscle growth-related and mTOR genes [J]. *Aquaculture*, 2021(539): 736645.
- [14] Sharf Y, Khan M A. Effect of dietary isoleucine level on growth, protein retention efficiency, haematological parameter, lysozyme activity and serum antioxidant status of fingerling *Channa punctatus* (Bloch) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, **26**(3): 908-920.
- [15] Ren K, Feng L, Wu P, *et al.* Dietary isoleucine requirement of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on growth performance, muscle nutritional value, and extracellular matrix gene expression [J]. *Aquaculture*, 2025(608): 742726.
- [16] Rahimnejad S, Lee K J. Dietary isoleucine influences non-specific immune response in juvenile Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2014, **14**(4): 853-862.
- [17] Zhao Y, Yan M Y, Jiang Q, *et al.* Isoleucine improved growth performance, and intestinal immunological and physical barrier function of hybrid catfish *Pelteobagrus vachelli* × *Leiocassis longirostris* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2021(109): 20-33.
- [18] Tian M. Mechanism of branched chain amino acids regulating feed intake of piglets through intestinal amino acid sensing receptors [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2019: 13-25. [田敏. 支链氨基酸通过肠道氨基酸感知受体调控仔猪采食量的机制研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2019: 13-25.]
- [19] Khan M A, Abidi S F. Dietary isoleucine requirement of

- fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, **13**(6): 424-430.
- [20] Ren M, Habte-Tsion H M, Liu B, *et al.* Dietary isoleucine requirement of juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, **23**(2): 322-330.
- [21] Zhao Y, Dong X, Guo C R, *et al.* Dietary isoleucine affects muscle fatty acid and amino acid profiles through regulating lipid metabolism and autophagy in hybrid catfish (*Pelteobagrus vachelli* ♀ × *Leiocassis longirostris* ♂) [J]. *Animal Nutrition*, 2022(11): 369-380.
- [22] Wu H Y, Chen K S, Huang Y S, *et al.* Comparative transcriptome analysis of skin color-associated genes in leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*) [J]. *BMC Genomics*, 2023(24): 5.
- [23] Nguyen T N, Allen Davis D. Methionine requirement in practical diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2009, **40**(3): 410-416.
- [24] Ogunji J O, Wirth M, Rennert B. Assessing the dietary amino acid requirements of tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings [J]. *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 2005, **20**(4): 241-252.
- [25] Xing S, Liang X, Zhang X, *et al.* Essential amino acid requirements of fish and crustaceans, a meta-analysis [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2024, **16**(3): 1069-1086.
- [26] Ahmad I, Ahmed I, Dar N A. Effects of dietary isoleucine on growth performance, enzymatic activities, antioxidant properties and expression of TOR related genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fingerlings [J]. *Aquaculture Research*, 2022, **53**(6): 2366-2382.
- [27] Sun L H, Chen H R, Huang H H, *et al.* Effects of ration on growth and nitrogen budgets of several important marine-cultured fishes [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2009, **33**(3): 470-478. [孙丽华, 陈浩如, 黄洪辉, 等. 摄食水平对几种重要海水养殖鱼类生长和氮收支的影响 [J]. *水产学报*, 2009, **33**(3): 470-478.]
- [28] Wang Q, Liang X F, Liu Y H, *et al.* Effect of ration level on body composition, growth, faecal production, nitrogenous excretion and nitrogen budget of juvenile mandarin fish *Siniperca chuatsi* (Basilewsky) [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2013, **32**(5): 89-94. [王乾, 梁旭方, 刘奕鸿, 等. 摄食水平对翘嘴鲈幼鱼体组成、生长、排粪、排泄及氮收支的影响 [J]. *华中农业大学学报*, 2013, **32**(5): 89-94.]
- [29] Volkoff H. The neuroendocrine regulation of food intake in fish: A review of current knowledge [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2016(10): 540.
- [30] Liu J, Yu K, Zhu W. Amino acid sensing in the gut and its mediation in gut-brain signal transduction [J]. *Animal Nutrition*, 2016, **2**(2): 69-73.
- [31] Daly K, Al-Rammahi M, Moran A, *et al.* Sensing of amino acids by the gut-expressed taste receptor T1R1-T1R3 stimulates CCK secretion [J]. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2013, **304**(3): G271-G282.
- [32] Wang J, Zhang Y, Huang T J. Umami receptors: research progress and gene expression regulation [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, **28**(9): 2702-2708. [王晶, 张勇, 黄铁军. 动物鲜味受体的研究进展及其基因表达调控 [J]. *动物营养学报*, 2016, **28**(9): 2702-2708.]
- [33] Lin X, Volkoff H, Narnaware Y, *et al.* Brain regulation of feeding behavior and food intake in fish [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2000, **126**(4): 415-434.
- [34] Chen K, Zhang Z, Li J, *et al.* Different regulation of branched-chain amino acid on food intake by TOR signaling in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. *Aquaculture*, 2021(530): 735792.
- [35] Ma Q, Zhou X, Hu L, *et al.* Leucine and isoleucine have similar effects on reducing lipid accumulation, improving insulin sensitivity and increasing the browning of WAT in high-fat diet-induced obese mice [J]. *Food & Function*, 2020, **11**(3): 2279-2290.
- [36] Yu W, Wen G, Lin H, *et al.* Effects of dietary *Spirulina platensis* on growth performance, hematological and serum biochemical parameters, hepatic antioxidant status, immune responses and disease resistance of Coral trout *Plectropomus leopardus* (Lacepede, 1802) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(74): 649-655.
- [37] Wang Y T, Meng S T, Zou R X, *et al.* Effects of chlorogenic acid levels in diets on growth performance, lipid metabolism, immune function and antioxidant capacity of Amur Ide (*Leuciscus waleckii*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2025, **37**(9): 6136-6152. [王吟涛, 孟思彤, 邹瑞兴, 等. 饲料中不同水平绿原酸对瓦氏雅罗鱼生长性能、脂代谢、免疫功能及抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2025, **37**(9): 6136-6152.]
- [38] Cai W, Huang W, Fu G, *et al.* Effects of dietary protein levels on lipid metabolism and intestinal health of hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*) fed high-lipid diets [J]. *Aquaculture Reports*, 2025(45): 103233.
- [39] Xu L, Li J, Luo A, *et al.* Effects of dietary l-carnitine on growth performance, lipid metabolism, oxidative stress, mitochondrial function and endoplasmic reticulum stress of rice field eel (*Monopterus albus*) fed high-carbohydrate-diets [J]. *Aquaculture*, 2026(610): 742864.
- [40] Fang K, Wu F, Chen G, *et al.* Diosgenin ameliorates palmitic acid-induced lipid accumulation via AMPK/ACC/CPT-1A and SREBP-1c/FAS signaling pathways in LO2 cells [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2019, **19**(1): 255.
- [41] Sharma A, Anand S K, Singh N, *et al.* AMP-activated protein kinase: an energy sensor and survival mechanism in the reinstatement of metabolic homeostasis [J]. *Experi-*

- mental Cell Research*, 2023, **428**(1): 113614.
- [42] Xu C, Liu W B, Remø S C, *et al.* Feeding restriction alleviates high carbohydrate diet-induced oxidative stress and inflammation of *Megalobrama amblycephala* by activating the AMPK-SIRT1 pathway [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019(92): 637-648.
- [43] Zhang X Y, Su H D, Mao S Y, *et al.* AMPK mediates energy metabolism transformation and lipid autophagy in mouse liver cells under starvation conditions [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2024, **39**(6): 48-58. [张晓银, 苏宏鼎, 卯升义, 等. AMPK介导的饥饿条件下小鼠肝细胞能量代谢转换及脂肪自噬 [J]. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2024, **39**(6): 48-58.]
- [44] Liu G F, Li C F, Chen F F, *et al.* Improvement of insulin resistance and inflammation by calorie restriction in mice and possible mechanisms [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2022, **44**(5): 473-478. [刘冠甫, 李春风, 陈芳芳, 等. 能量限制对小鼠胰岛素抵抗与炎症的作用及其机制 [J]. *营养学报*, 2022, **44**(5): 473-478.]

DIETARY ISOLEUCINE LEVELS ON GROWTH, FEEDING, AND LIPID METABOLISM OF LEOPARD CORAL GROUPER (*PLECTROPOMUS LEOPARDUS*)

WANG Li-Xing^{1,2,3}, CAI Qin-Xiao^{1,2,3}, FENG Xia⁴, WU Xiao-Yi^{1,2,3} and ZHOU Zhi-Yu^{1,2,3}

(1. School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Hainan Provincial Key Laboratory for Tropical Hydrobiology and Biotechnology, Haikou 570228, China; 3. State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, Hainan University, Haikou 570228, China; 4. School of Cyberspace Security, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: This study investigated the effects of dietary isoleucine (Ile) levels on growth, feeding, and lipid metabolism of leopard coral grouper (*Plectropomus leopardus*). Seven experimental diets, each with three replicates, were formulated with graded Ile levels of 1.96%, 2.11%, 2.29%, 2.40%, 2.53%, 2.68%, and 2.84% of dry matter, designated as Ile1.96, Ile2.11, Ile2.29, Ile2.40, Ile2.53, Ile2.68, and Ile2.84, respectively. Juvenile fish (initial body weight of 34.93±0.27 g) were stocked at 15 fish per replicate, with three replicates per diet, and fed for 9 weeks. Results showed that the Ile2.84 group exhibited significantly lower weight gain rate (WGR), daily feed intake (DFI), specific growth rate (SGR), and protein efficiency ratio (PER) compared with all other groups ($P<0.05$), while its feed conversion rate (FCR) was significantly higher ($P<0.05$). The analysis of two-slope broken-line model on WGR indicated that growth declined when dietary isoleucine levels exceeded 2.68%. The Ile2.84 group exhibited significantly lower hepatosomatic index (HSI), condition factor (CF), and crude lipid content in whole body, muscle, and liver compared to other groups ($P<0.05$). Consistently, plasma levels of triglycerides (TG), total cholesterol (T-CHO), and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were significantly decreased ($P<0.05$), while high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels exhibited the opposite trend ($P<0.05$). Ile2.84 group showed significantly higher expression of brain orexigenic genes (*npv*) and intestinal anorexigenic genes (*t1r1*, *t1r3*, and *cck*) compared to other groups ($P<0.05$). The Ile2.84 group exhibited significantly reduced expression levels of hepatic lipid synthesis-related genes (*acc1a* and *fas*), but significantly increased expression levels of lipid catabolism-related genes (*ampka*, *ppara*, *cpt-1*, and *hsl*) ($P<0.05$). In conclusion, dietary isoleucine level ranging from 1.96% to 2.68% (3.80%—5.17% of dietary protein) are sufficient to support optimal growth in *P. leopardus*.

Key words: Isoleucine; Growth; Feeding; Lipid metabolism; *Plectropomus leopardus*