

吉富罗非鱼对饲料中维生素 B₁ 的需要量

任 春^{1,2}, 文 华^{2*}, 黄 凤², 蒋 明^{1,2},
吴 凡², 刘 伟², 田 娟², 杨长庚², 吴金平²

(1. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业部淡水生物多样性保护与利用重点开放实验室, 湖北 武汉 430223)

摘要: 采用维生素 B₁ (VB₁) 含量为 0.08 (对照组)、0.57、1.13、2.09、4.11 和 8.09 mg/kg 的 6 种纯化饲料, 分别饲养初始体质量为 (64.4 ± 1.5) g 的吉富罗非鱼 12 周, 研究 VB₁ 对其生长性能、部分血清生化指标、肝脏 VB₁ 蓄积量及转酮醇酶基因表达量的影响, 以确定其对饲料 VB₁ 的需要量。结果显示, 随着饲料中 VB₁ 含量增加, 吉富罗非鱼增重率先呈线性增加后趋于稳定, 当饲料中 VB₁ 含量为 1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg 时增重率达最大。吉富罗非鱼肝脏 VB₁ 含量随着饲料 VB₁ 含量增加不断增大, 当增加到 2.09 mg/kg 后趋于稳定。饲料中缺乏 VB₁ 显著提高血清丙酮酸含量 ($P < 0.05$), 但对全鱼水分、粗脂肪、粗蛋白、灰分无显著性影响 ($P > 0.05$)。饲料中添加 VB₁ 显著提高血清高密度脂蛋白胆固醇和肝脏转酮醇酶基因表达量 ($P < 0.05$)。饲料中 VB₁ 含量大于 1.13 mg/kg 各组的肝脏转酮醇酶活性显著高于 VB₁ 含量小于 0.57 mg/kg 组 ($P < 0.05$)。折线回归分析表明, 吉富罗非鱼 (64 ~ 325 g) 获得最佳生长时对饲料 VB₁ 需要量为 1.16 mg/kg; 肝脏 VB₁ 蓄积量达到最大时, 对 VB₁ 的需要量为 2.06 mg/kg。

关键词: 吉富罗非鱼; 维生素 B₁; 需要量; 生长

中图分类号: S 963

文献标志码: A

维生素 B₁ (vitamin B₁, VB₁) 又名硫胺素, 在体内主要以硫胺素焦磷酸 (TPP) 的辅酶形式存在, 在 α -酮酸 (如丙酮酸和 α -酮戊二酸) 的氧化脱羧和磷酸戊糖途径的转酮醇基中起着十分重要的作用^[1], 大量的研究表明其亦是维持鱼类正常生长、生理功能所必需的水溶性 B 族维生素之一。饲料中缺乏 VB₁ 会导致虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[2-3]、斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*)^[4] 厌食、生长缓慢、神经紊乱、运动失调、过度应激。鲤 (*Cyprinus carpio*)^[5] 和黄尾鲷 (*Seriola quinqueradiata*)^[6] 缺乏 VB₁ 会出现鳍充血、神经过敏、色素减退和皮下出血。

到目前为止, 国内外学者对鱼类 VB₁ 需要量开展了一些研究工作, 如斑点叉尾鲷^[4] 需要量为

1.0 mg/kg, 鲈 (*Lateolabrax japonicus*)^[7] 为 25 mg/kg, 虹鳟^[8] 为 1.0 mg/kg, 鲤^[5] 为 0.5 mg/kg, 草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[9] 为 1.16 ~ 4.49 mg/kg。目前关于罗非鱼 VB₁ 需要量也有一些报道, Lim 等^[10] 研究表明, 饲料中添加 3.5 mg/kg VB₁ 可以满足奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 正常生长, 饲料中添加 2.5 mg/kg VB₁ 可以满足红罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*) 营养需求^[11]。吉富品系罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 是一种具有较高营养价值和经济价值的鱼类^[12], 现成为中国一个重要养殖品种, 生长速度较其他罗非鱼品系提高 5% ~ 30%, 其对 VB₁ 的需要量可能与其他品系的罗非鱼有一定的差别。另外, 当前对罗非鱼

收稿日期: 2014-09-18 修回日期: 2014-11-22

资助项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-49); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201003020)

通信作者: 文 华, E-mail: wenhua_hb@163.com

成鱼鱼种的营养需要研究较少,目前也未见关于吉富罗非鱼成鱼鱼种阶段对 VB₁ 需求量的研究。因此,本实验通过考察不同含量水平 VB₁ 对吉富罗非鱼生长性能、鱼体成分、部分血清生化指标、肝脏 VB₁ 积累量及肝脏转酮醇酶基因表达量等影响,确定吉富罗非鱼对饲料中 VB₁ 的需要量,为吉富罗非鱼全价配合饲料的开发和利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以酪蛋白、明胶为蛋白源,玉米油和豆油为脂肪源,糊精为糖源的纯化饲料为基础饲料,在基础饲料中分别添加 VB₁ (惠兴生化试剂有限公司,质量百分数 98%) 0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/kg,共配制 6 种实验饲料(表 1)。高效液相色谱法测得 6 种饲料 VB₁ 含量分别为 0.08、0.57、1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg。原料经粉碎后过 60 目筛,准确称质量后逐级混匀,加适量水用绞肉机加工成直径 2.0 mm 条状,电风扇吹干后,破碎成长约 4.0 mm 圆柱形颗粒料, -20 °C 保存备用。

1.2 实验鱼和实验方法

实验鱼由广西罗非鱼国家级育种实验场提供,用基础饲料在长江水产研究所室内循环水养殖系统养殖桶(500 L)中驯养,2 周后挑选体质健壮、规格均匀的吉富罗非鱼[初始平均体质量(64.4 ± 1.5)g]随机分配于 18 个桶中,每桶 15 尾,随机分成 6 个组,每组 3 个重复,分别投喂 6 组实验饲料,每天分两次投喂(9:00、16:00),表观饱食投喂,每 2 周称重 1 次,养殖实验持续 12 周。每日 11:00 换水一次(换水量占总体积约 1/3)、观察记录水温、实验鱼摄食及死亡情况。饲养期间的水温(27 ~ 33 °C)、pH(7.2 ~ 7.5)、溶解氧高于 5.0 mg/L、总氨氮低于 0.5 mg/L。

1.3 样品采集、测定与计算

养殖 12 周,实验鱼饥饿 24 h 后测定每个桶的实验鱼总重量并记录尾数。从每个桶随机取 6 尾鱼,3 尾用于全鱼粗蛋白、粗脂肪、水分和灰分测定;3 尾测量其体长、体质量,从尾静脉采血后进行解剖,迅速分离内脏和肝脏,并称其重量,计算脏体比和肝体比;并保留肝脏样品,用于肝脏

VB₁ 含量和转酮醇酶活性测定。血液在 4 °C 静置 2 h 后,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,用于部分生化指标的检测。肝脏、肌肉、全鱼置 -40 °C 冰箱中保存待测。另随机取 3 尾鱼,在无菌条件下采取肝脏,先放入液氮冷冻过夜,然后置于 -80 °C 保存,用于肝脏转酮醇酶基因表达量的检测。

表 1 基础饲料配方及其基础营养成分组成
Tab.1 Formulation and proximate analysis of the basal diet

原料 ingredient	含量/% content
酪蛋白 casein	30
明胶 gelatin	7.5
糊精 dextrin	38
玉米油 corn oil	4
豆油 soy oil	4
矿物质预混料 mineral premix	4
维生素预混料 vitamin premix	1
氯化胆碱 choline chloride	0.25
纤维素 cellulose	11.25
总计 total	100
营养成分 nutrients composition	
水分 moisture	9.41
粗蛋白 crude protein	32.23
粗脂肪 crude fat	6.78
灰分 ash	2.66

注:1. 维生素预混料由下列成分组成(mg/g 预混料):核黄素,10;泛酸钙,10 mg;D-生物素,0.6;盐酸吡哆醇,4;叶酸,1.5;肌醇,200;L-维生素 C-2-磷酸镁,60;烟酸,6.05;α-维生素 E 醋酸酯,50;维生素 K₄;视黄醇醋酸酯,2 000 IU 和维生素 D₃,400 IU;再用微晶纤维素添加至 1 g。2. 矿物质预混料由下列成分组成(mg/g 预混料):磷酸二氢钙,135.8;乳酸钙,327;硫酸亚铁,2.125;硫酸镁,137;磷酸二氢钠,87.2;氯化钠,43.5;氯化铝,0.15;碘酸钾,0.125;氯化钾,75;氯化铜,0.1;硫酸锰,0.80;氯化钴,1和硫酸锌,3;再用微晶纤维素添加至 1 g

Notes: 1. the vitamin mixture supplied the following (mg/g mixture): riboflavin, 10; calcium Pantothenate, 10 mg; D-biotin, 0.6; Pyridoxine hydrochloride, 4; folic acid, 1.5; inositol, 200; L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg, 60; nicotinic acid, 6.05; α-tocopherol acetate, 50; menadione, 4; retinol acetate, 2 000 IU and cholecalciferol, 400 IU. All ingredients were diluted with Micro-cellulose to 1 g. 2. the mineral mixture supplied the following (mg/g diet): Ca (H₂PO₄)₂ · H₂O, 135.8; Ca (CH₃CHOHCOO)₂ · 5H₂O, 327; FeSO₄ · 6H₂O, 2.125; MgSO₄ · 7H₂O, 137; NaH₂PO₄, 87.2; NaCl, 43.5; AlCl₃ · 6H₂O, 0.15; KIO₃, 0.125; KCl, 75; CuCl₂ · 2H₂O, 0.1; MnSO₄ · H₂O, 0.80; CoCl₂ · 6H₂O, 1 and ZnSO₄ · 7H₂O, 3. All ingredients were diluted with Micro-cellulose to 1 g

相关计算公式如下:

$$\text{成活率 (survival rate, SR, \%)} = 100 \times N_t / N_0 \quad (1)$$

$$\text{增重率 (weight gain rate, WGR, \%)} = 100 \times (FBW - IBW) / IBW \quad (2)$$

$$\text{饲料效率 (feed efficiency, FE)} = (FTBW - ITBW) / FG \quad (3)$$

$$\text{肥满度 (condition factor, CF, g/cm}^3) = 100 \times W / L^3 \quad (4)$$

$$\text{肝体比 (hepatosomatic, HSI, \%)} = 100 \times HW / W \quad (5)$$

$$\text{脏体比 (viscerosomatic index, VSI, \%)} = 100 \times VW / W \quad (6)$$

式中, N_t 为终末尾数, N_0 为初始尾数, IBW 为初始体质量(g), FBW 为终末体质量(g), W 为鱼体质量(g), L 为鱼体长(cm), HW 为肝脏质量(g), VW 为内脏质量(g), FG 为饲料总消耗量, $ITBW$ 为初始总体质量(g), $FTBW$ 为终末总体质量(g)。

全鱼和饲料的水分含量采用 105 °C 恒温干燥失重法测定;粗蛋白采用凯氏定氮法;粗脂肪采用索氏抽提法;灰分采用马福炉灰分法测定。饲料 (GBT 147002002) 和肝脏 (GBT 9695.27 - 2008) 的 VB₁ 含量采用高效液相色谱法检测。血清中高密度脂蛋白胆固醇含量和碱性磷酸酶活性采用 Sysmex 全自动生化分析仪 (Chemix-800) 测定;血清丙酮酸含量测定采用南京建成生物技术有限公司测试盒测定;肝脏转酮醇酶活性测定采用上海蓝源生物科技有限公司测试盒测定。

肝脏转酮醇酶基因 (TK XM-005477993) 表达检测采用荧光定量法, 荧光染料采用的是

TaKaRa 公司的 SYBR® Premix EX Taq™ (Tli RNaseH Plus)。扩增条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 20 s 共 40 个循环。EF1^[13] 为内参。引物序列: TK 上游, 5'-GTGGTTCGCCAGTCTGATAATG-3', 下游, 5'-CGGATGTTCTTTCCTGAG-CAG-3'; EF1A 上游, 5'-GCACGCTCTGCTGGCCTTT-3', EF1A 下游: 5'-GCGCTCAATCTT-CCATCCC-3'。RG-6000 (QIAGEN, 德国) 荧光定量 PCR 仪测 C_t 值 (每个反应管的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数。C_t 值越大, 拷贝数越少, 根据 2^{-ΔΔC_t} 相对定量法^[14] 计算其相对表达量。

1.4 统计分析

采用 SPSS 19.0 统计软件中 One-Way ANOVA 方差分析和 Duncan 氏多重比较法, 实验结果用平均值 ± 标准差表示, 差异水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料 VB₁ 含量对吉富罗非鱼生长性能、饲料效率及形体指标的影响

经过 12 周饲养, 吉富罗非鱼增重率随着饲料中 VB₁ 含量增加呈现先增加后稳定的趋势; 其中 1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg VB₁ 组鱼体增重率显著高于 0.08、0.57 mg/kg VB₁ 组 ($P < 0.05$), 0.57 mg/kg VB₁ 组鱼体增重率显著高于对照组 ($P < 0.05$) (表 2)。饲料效率随着饲料 VB₁ 含量不断提高, 其中 2.09、4.11、8.09 mg/kg VB₁ 组的饲料效率显著高于对照组 ($P < 0.05$)。脏体比随着饲料中 VB₁ 含量呈先增大后稳定的趋势, 其中 1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg VB₁ 组的脏体比显

表 2 饲料 VB₁ 含量对吉富罗非鱼生长性能、饲料效率及形体指标的影响
Tab. 2 Effect of dietary thiamin supplement on the growth performance, feed efficiency and body indices of GIFT tilapia

	饲料 VB ₁ 含量/(mg/kg) dietary thiamin levels					
	0.08	0.57	1.13	2.09	4.11	8.09
初始质重/g IBW	64.3 ± 2.2 ^a	64.2 ± 1.7 ^a	63.9 ± 1.7 ^a	64.5 ± 2.6 ^a	64.8 ± 1.4 ^a	64.7 ± 1.4 ^a
末体质量/g FBW	282.4 ± 7.9 ^a	302.2 ± 8.9 ^b	318.1 ± 11.4 ^{bc}	325.0 ± 12.3 ^c	321.8 ± 3.3 ^c	325.8 ± 8.4 ^c
增重率/% WGR	339.6 ± 3.8 ^a	370.9 ± 6.9 ^b	397.8 ± 5.1 ^c	403.5 ± 6.4 ^c	396.8 ± 6.9 ^c	402.3 ± 5.6 ^c
饲料效率 FE	0.74 ± 0.07 ^a	0.72 ± 0.05 ^a	0.84 ± 0.05 ^{ab}	0.91 ± 0.06 ^b	0.90 ± 0.03 ^b	0.92 ± 0.07 ^b
脏体比/% VSI	8.38 ± 0.4 ^a	8.60 ± 0.3 ^a	9.29 ± 0.4 ^b	9.21 ± 0.3 ^b	9.26 ± 0.5 ^b	9.17 ± 0.2 ^b
肝体比/% HSI	2.36 ± 0.2 ^a	2.36 ± 0.2 ^a	3.03 ± 0.2 ^b	2.57 ± 0.3 ^a	2.59 ± 0.2 ^a	2.52 ± 0.2 ^a
肥满度/(g/cm ³) CF	3.52 ± 0.2 ^a	3.68 ± 0.3 ^{ab}	3.90 ± 0.2 ^{bc}	4.14 ± 0.2 ^c	3.68 ± 0.1 ^{ab}	3.60 ± 0.2 ^{ab}
成活率/% SR	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

注: 同行数据后凡有一个相同小写字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$)。下同

Notes: means in the same line sharing a same superscript letter are not significantly different determined by Duncan's test ($P > 0.05$). The same as below

显著高于其他组 ($P < 0.05$)。肝体比随着饲料中 VB_1 含量增加呈先增大后减小的趋势,其中 1.13 mg/kg VB_1 组肝体比达到最大且显著高于其他实验组 ($P < 0.05$),而其他实验组之间肝体比没有显著差异 ($P > 0.05$)。实验鱼肥满度随着饲料中 VB_1 含量增加呈先增大后减少的趋势;其中 2.09 mg/kg VB_1 组肥满度达到最大且显著高于其他组 ($P < 0.05$),1.13 mg/kg VB_1 组鱼体肥满度显著高于对照组 ($P < 0.05$)。各个组吉富罗非鱼成活率均为 100%。应用折线模型分析得到,吉富罗非鱼达到最大生长时,对饲料 VB_1 的需要量为 1.16 mg/kg(图 1)。

2.2 饲料 VB_1 含量对吉富罗非鱼体成分的影响

饲料中添加 VB_1 对吉富罗非鱼全鱼水分、粗脂肪、粗蛋白、灰分含量无显著性影响 ($P > 0.05$) (表 3)。吉富罗非鱼全鱼水分含量为 69.0 ~ 70.5%,全鱼粗蛋白含量为 15.0% ~ 15.9%,全鱼

粗脂肪含量为 10.6% ~ 11.4%,全鱼灰分含量为 2.5% ~ 2.6%。

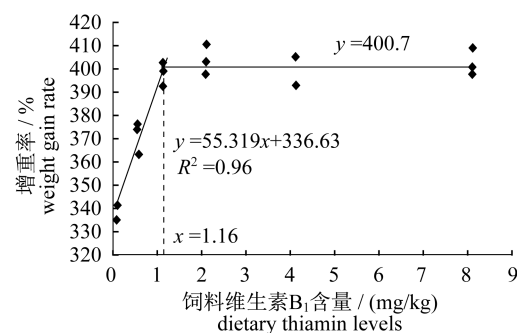


图 1 吉富罗非鱼增重率与饲料中 VB_1 含量的折线回归关系

Fig.1 Broken-line analysis of the relationship between dietary thiamin level and weight gain rate of GIFT tilapia

表 3 饲料 VB_1 含量对吉富罗非鱼体成分的影响

Tab.3 Effect of dietary thiamin levels on body composition of GIFT tilapia

	饲料 VB_1 含量/(mg/kg) dietary thiamin levels					
	0.08	0.57	1.13	2.09	4.11	8.09
水分/% moisture	69.6 ± 0.6 ^a	69.9 ± 0.5 ^a	69.0 ± 0.6 ^a	69.1 ± 0.8 ^a	69.9 ± 0.8 ^a	70.5 ± 0.5 ^a
粗蛋白/% crude protein	15.1 ± 0.6 ^a	15.0 ± 0.5 ^a	15.6 ± 0.3 ^a	15.9 ± 0.4 ^a	15.1 ± 0.2 ^a	15.3 ± 0.3 ^a
粗脂肪/% crude fat	11.4 ± 0.5 ^a	10.6 ± 0.6 ^a	11.6 ± 0.5 ^a	11.5 ± 0.6 ^a	10.9 ± 0.5 ^a	11.0 ± 0.4 ^a
灰分/% ash	2.62 ± 0.09 ^a	2.50 ± 0.08 ^a	2.49 ± 0.09 ^a	2.62 ± 0.08 ^a	2.49 ± 0.07 ^a	2.64 ± 0.09 ^a

2.3 饲料 VB_1 含量对吉富罗非鱼部分血清生化指标的影响

饲料 VB_1 含量对吉富罗非鱼血清中丙酮酸、高密度脂蛋白胆固醇、总胆固醇的含量及碱性磷酸酶活性有显著影响 ($P < 0.05$) (表 4)。饲料中添加 VB_1 显著降低血清丙酮酸含量和提高血清高密度脂蛋白胆固醇含量 ($P < 0.05$),但血清丙酮酸和血清高密度脂蛋白胆固醇含量在各 VB_1

添加组间无显著性差异 ($P > 0.05$)。随着饲料中 VB_1 含量增加,血清碱性磷酸酶活性呈先增大后减小趋势,其中 2.09、4.11、8.09 mg/kg 组血清碱性磷酸酶活性显著高于 0.08、0.57、1.13 mg/kg VB_1 组 ($P < 0.05$);血清总胆固醇含量呈先上升后稳定趋势;其中 1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg VB_1 组血清总胆固醇含量显著高于 0.08、0.57 mg/kg VB_1 组 ($P < 0.05$)。

表 4 饲料 VB_1 含量对吉富罗非鱼部分血清生化指标的影响

Tab.4 Effect of dietary thiamin level on some serum biochemical indices of GIFT tilapia

	饲料 VB_1 含量/(mg/kg) dietary thiamin levels					
	0.08	0.57	1.13	2.09	4.11	8.09
丙酮酸/(mg/dL) pyruvate	1.09 ± 0.02 ^b	0.55 ± 0.03 ^a	0.52 ± 0.02 ^a	0.50 ± 0.02 ^a	0.52 ± 0.02 ^a	0.50 ± 0.01 ^a
碱性磷酸酶/(U/L) ALP	18.8 ± 1.8 ^a	21.3 ± 1.6 ^{ab}	20.8 ± 1.3 ^{ab}	24.7 ± 1.4 ^c	22.0 ± 1.4 ^{bc}	22.4 ± 1.5 ^{bc}
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) HDLC	0.62 ± 0.06 ^a	1.04 ± 0.06 ^b	0.93 ± 0.08 ^b	0.93 ± 0.07 ^b	0.91 ± 0.06 ^b	1.02 ± 0.09 ^b
总胆固醇/(mmol/L) T-CHO	3.60 ± 0.60 ^a	3.68 ± 0.40 ^a	5.01 ± 0.52 ^b	4.84 ± 0.43 ^b	4.66 ± 0.23 ^b	4.93 ± 0.34 ^b

2.4 饲料 VB₁ 含量对吉富罗非鱼肝脏 VB₁ 含量、肝脏转酮醇酶活性及肝脏转酮醇酶基因表达的影响

饲料中 VB₁ 对吉富罗非鱼肝脏 VB₁ 含量、肝脏转酮醇酶活性、肝脏转酮醇酶基因表达量有显著影响 ($P < 0.05$) (表 5)。随着饲料 VB₁ 含量增加,肝脏 VB₁ 含量、肝脏转酮醇酶活性呈先增加后稳定的趋势,其中 1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg VB₁ 组显著高于 0.08、0.57 mg/kg VB₁ 组

($P < 0.05$); 肝脏转酮醇酶基因表达量先增大后稳定的趋势,其中 0.57、1.13、2.09、4.11、8.09 mg/kg VB₁ 肝脏转酮醇酶基因表达量显著高于对照组 ($P < 0.05$), 但各添加组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。根据饲料 VB₁ 含量与实验鱼肝脏 VB₁ 含量的关系,经折线回归分析,发现实验鱼肝脏蓄积量达最大时,吉富罗非鱼对饲料中 VB₁ 的需要量为 2.06 mg/kg (图 2)。

表 5 饲料 VB₁ 含量对吉富罗非鱼肝脏 VB₁ 含量、转酮醇酶活性及转酮醇酶基因表达量的影响
Tab.5 Effect of dietary thiamin levels on hepatic thiamin, transketolase activity, transketolase expression of GIFT tilapia

	饲料 VB ₁ 含量/(mg/kg) dietary thiamin levels					
	0.08	0.57	1.13	2.09	4.11	8.09
肝脏 VB ₁ 含量/(μg/g) hepatic thiamin content	0.34 ± 0.02 ^a	0.45 ± 0.01 ^b	0.59 ± 0.02 ^c	0.75 ± 0.03 ^d	0.76 ± 0.03 ^d	0.76 ± 0.03 ^d
转酮醇酶活性/(U/kg) transketolase activity	45.0 ± 2.0 ^a	45.7 ± 3.9 ^a	61.4 ± 3.9 ^b	63.9 ± 2.0 ^b	68.2 ± 2.0 ^b	65.6 ± 2.4 ^b
转酮醇酶基因表达量 transketolase expression	1.00 ± 0.23 ^a	1.60 ± 0.13 ^b	1.78 ± 0.13 ^b	1.79 ± 0.12 ^b	1.81 ± 0.13 ^b	1.89 ± 0.21 ^b

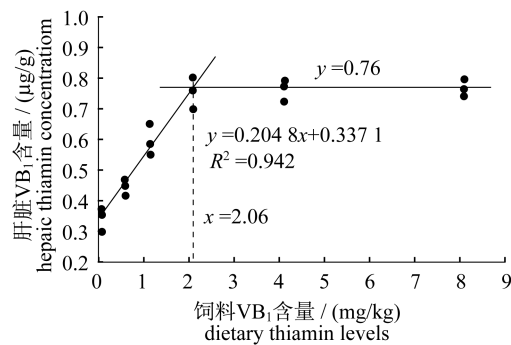


图 2 吉富罗非鱼肝脏 VB₁ 含量与饲料中 VB₁ 含量的折线回归关系

Fig.2 Broken-line analysis of the relationship between dietary thiamin and hepatic thiamin concentration of GIFT tilapia

3 讨论

本实验中,未添加 VB₁ 组吉富罗非鱼除生长缓慢外,未发现明显的缺乏症,这一结果与对草鱼^[9]、大菱鲂 (*Scopthalmus maximus*)^[15]、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[16] 和幼建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*)^[17] 研究结果相似。但有研究表明,当饲料中缺乏 VB₁, 大鳞大麻哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*)^[18]、鲤^[5]、奥尼罗非

鱼^[10]、黄尾鲷^[6] 和虹鳟^[8] 会出现厌食、生长缓慢、神经过敏、不正常抽搐、肌肉萎缩、运动失调等症状。本实验未出现以上 VB₁ 缺乏症的原因可能是吉富罗非鱼初始体质量 (64 g) 相对较大,其组织对 VB₁ 蓄积能力相对较强,并且生长相对缓慢,因而体内贮存的 VB₁ 和基础饲料中的 VB₁ 在本养殖周期内足以维持其正常生理功能。如果延长养殖周期,实验鱼可能出现缺乏症。Lim 等^[10] 用未添加 VB₁ 饲料对 2 种不同大小的奥尼罗非鱼连续投喂实验,初始体质量为 5.30 g 在 6 周出现神经缺乏症,而初始体质量为 3.62 g 在第 4 周就出现神经缺乏症。Morito 等^[8] 报道虹鳟随着体质量的增大,VB₁ 缺乏症的出现时间推迟。

已有研究表明,饲料中添加 VB₁ 能提高幼建鲤^[17]、斑点叉尾鲷^[4]、虹鳟^[8]、红罗非鱼^[11] 特定生长率、存活率,改善饲料和蛋白利用效率。在本实验中,饲料中添加 VB₁ 能改善吉富罗非鱼饲料效率,提高其脏体比、增重率,本结果与以上研究结果一致。本实验以增重率为评价指标,经过折线回归分析,吉富罗非鱼 VB₁ 的需要量为 1.16 mg/kg, 低于奥尼罗非鱼^[10] (3.5 mg/kg)、红罗非鱼^[11] (2.5 mg/kg), 其主要原因可能是本实验采用的实验鱼的初始体质量相对较大;另外不同品

系的罗非鱼,其对饲料 VB₁ 需要量也可能存在一定差异。不同品系的罗非鱼对 VB₁ 的需要量是否存在差异,需要在同一实验条件进行比较研究。在本实验条件下吉富罗非鱼 VB₁ 需要量与其他鱼类比较,低于鲈^[7] (25 mg/kg)、太平洋鲑^[19] (*Oncorhynchus spp.*) (10~15 mg/kg)、黄尾鲷^[6] (11.2 mg/kg),与草鱼^[9] (1.16 mg/kg)、幼建鲤^[17] (1.02 mg/kg)、虹鳟^[8] (1.0 mg/kg)、斑点叉尾鲷^[4] (1.0 mg/kg) 需要量相一致,但高于鲤^[5] (0.5 mg/kg) 需要量。

组织中 VB₁ 蓄积量常作为确定水产动物需要量的评价指标^[1],本实验结果显示,随着饲料 VB₁ 含量的增加,肝脏 VB₁ 含量呈上升趋势,达到最适需要量后趋向稳定,这一结果与赵智勇等^[9] 研究结果相一致。Toshiro 等^[20] 研究也发现,随着饲料 VB₁ 含量增加,虹鳟肝脏 VB₁ 含量也出现了相似的变化趋势;并发现虹鳟肝脏 VB₁ 含量对饲料 VB₁ 添加水平比其他指标更敏感,可以作为虹鳟 VB₁ 需要量的评价指标。本实验以肝脏 VB₁ 含量为评价指标,通过折线回归分析获得吉富罗非鱼对饲料 VB₁ 需要量为 2.06 mg/kg。

本实验表明,饲料中添加 VB₁ 能显著降低血清丙酮酸含量,与 Lim 等^[10] 和 Morito 等^[8] 得出的结果一致。这是因为丙酮酸脱氢酶是 VB₁ 依赖性酶,可促进丙酮酸脱羧成乙酰辅酶 A,降低丙酮酸的含量^[21-23]。鱼体内丙酮酸过多会影响机体的有氧氧化作用,而饲料中添加 VB₁ 在一定程度上可以防止丙酮酸的过度堆积。饲料中添加 VB₁ 能提高高密度脂蛋白胆固醇和总胆固醇的含量,这可能是因为 VB₁ 参与磷酸戊糖途径为脂肪酸的合成提供烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH)^[24],饲料中添加 VB₁ 利于脂肪酸的合成,进而促进脂类物质的合成。

VB₁ 除了在三羧酸循环中促进 α -酮酸(如丙酮酸和 α -酮戊二酸)的氧化脱羧外,还作为转酮醇酶辅酶参与磷酸戊糖途径。研究表明,饲料中添加一定量 VB₁ 能显著提高大菱鲆^[15] 血淋巴的转酮醇酶活性。Masumoto 等^[20] 对虹鳟的研究也发现,饲料中添加 VB₁ 能显著提高虹鳟红细胞的转酮醇酶活性,而对肝脏的转酮醇酶活性无显著变化。Huang 等^[16] 研究表明,随着饲料 VB₁ 含量增加,斜带石斑鱼肝脏转酮醇酶活性不断提高。本实验研究发现,饲料中添加 VB₁ 可以提高吉富

罗非鱼肝脏转酮醇酶活性和肝脏转酮醇酶基因的表达量。随着饲料 VB₁ 含量的增加,肝脏转酮醇酶基因表达量与肝脏转酮醇酶活性呈先增大后稳定的趋势。Sheu 等^[25] 研究发现,转酮醇酶蛋白合成速率及 mRNA 含量减少导致转酮醇酶蛋白含量减少,进而导致转酮醇酶活性降低。以上报道表明,饲料中 VB₁ 在肝脏中磷酸化后,一定程度上通过影响肝脏转酮醇酶基因的表达来影响肝脏转酮醇酶活性,进而影响磷酸戊糖途径。

4 小结

随着饲料 VB₁ 含量增加,吉富罗非鱼增重率、特定生长率、肝脏 VB₁ 含量先增加后稳定,而饲料效率、肝脏转酮醇酶活性及肝脏转酮醇酶基因表达量显著增加,血清丙酮酸显著降低。以增重率和肝脏 VB₁ 蓄积量为评价指标,吉富罗非鱼 (64~325 g) 对饲料 VB₁ 需要量分别为 1.16 和 2.06 mg/kg。

参考文献:

- [1] NRC(National Research Council). Vitamins[M]// Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, DC, USA: National Academy Press,2011.
- [2] Kitamura S, Suwa T, Ohaara S, et al. Studies on vitamin requirements of rainbow, *Salmo gairdnerii*. 2. The deficiency symptoms of fourth kinds of vitamin B[J]. Japanese Society of Fisheries Science, 1967,33(12):1120-1125.
- [3] Lehmitz R, Spannhof L. Transketolase activity and thiamin deficiency of the kidney in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) following continuous feeding with raw feeding[J]. Arch Tierernahr,1977,27(4):287-295.
- [4] Takeshi M, James W A. Thiamin requirement of channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus* [J]. Journal of Nutrition,1978,108(1):176-180.
- [5] Aoe H, Masuda I, Mimura T, et al. Water-soluble vitamin requirements of carp-VI. Requirement for thiamine and effects of antithiamines [J]. The Japanese Society of Fisheries Science,1969,35(5):459-465.
- [6] Hosokawa H. The vitamin requirements of fingerling yellowtail, *Seriola quinqueradiata* [D]. Japan: Kochi University,1989.
- [7] Zhong W R, Zhang Sh H. Studies on the

- requirements of *Lateclabrax japonicus* for vitamins at various growth stages[J]. Journal of Zhejiang Ocean University; Natural Science, 2001, 9 (suppl. 1): 98 - 102. [仲维仁, 张淑华. 鲈鱼不同生长阶段对维生素需求的研究. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2001, 9(增 1): 98 - 102.]
- [8] Morito C L H, Conrad K H, Hilton J W. The thiamin deficiency signs and requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1986, 1(2): 93 - 104.
- [9] Zhao Z Y. Dietary myo-inositol, folic acid and thiamine requirement for grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* fingerling [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007. [赵智勇. 草鱼鱼种对肌醇、叶酸和维生素 B₁ 营养需要量的研究. 武汉: 华中农业大学, 2007.]
- [10] Lim C, Yildirim-Aksoy M, Barros M M, et al. Thiamin requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2011, 42(6): 824 - 833.
- [11] Lim C, Leamaster B, Brock J A. Thiamin requirement of red hybrid tilapia grown in seawater [J]. World Aquaculture Society Annual Conference and Exposition, 1991, 22(3): 36A.
- [12] Tendencia E A, Fermin A C, Dela Peña M R, et al. Effect of *Epinephelus coioides*, *Chanos chanos*, and GIFT tilapia in polyculture with *Penaeus monodon* on the growth of the luminous bacteria *Vibrio harveyi* [J]. Aquaculture, 2006, 253(1-4): 48 - 56.
- [13] Yang C G, Wang X L, Tian J, et al. Evaluation of reference genes expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Gene, 2013, 527(1): 183 - 192.
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔC_t} method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402 - 408.
- [15] Cowey C B, Adron J W, Knox D, et al. Studies on the nutrition of marine flatfish: The thiamin requirement of turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Journal of Nutrition, 1975, 34(3): 383 - 397.
- [16] Huang J W, Tian L X, Du Z Y, et al. Effects of dietary thiamin on the physiological status of the grouper *Epinephelus coioides* [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2007, 33(2): 167 - 172.
- [17] Huang H H. Effect of thiamin on growth performance, functions of digestion absorption and immune of juvenile Jian carp, *Cyprinus carpio* var. Jian [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2009. [黄慧华. 硫胺素对幼建鲤生长性能、消化吸收功能和免疫功能的影响. 雅安: 四川农业大学, 2009.]
- [18] Halver J E. Nutrition of salmonoid fishes. III. Water-soluble vitamin requirements of *Chinook salmon* [J]. Journal of Nutrition, 1957, 62: 225 - 243.
- [19] Halver J E. The vitamins [M] // Halver J E. Fish nutrition. New York: Academy Press, 1972: 29 - 103.
- [20] Masumoto T, Hardy R W, Casillas E. Comparison of transketolase activity and thiamin pyrophosphate levels in Erythrocytes and liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as indicators of thiamin status [J]. Journal of Nutrition, 1987, 117: 1422 - 1426.
- [21] McCourt J A, Nixon P F, Duggleby R G. Thiamin nutrition and catalysis-induced instability of thiamin diphosphate [J]. British Journal of Nutrition, 2006, 96(4): 636 - 638.
- [22] Ma K, Hutchins A, Sung S J, et al. Pyruvate ferredoxin oxidoreductase from the hyperthermophilic archaeon, *Pyrococcus furiosus*, functions as a CoA-dependent pyruvate decarboxylase [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(18): 9608 - 9613.
- [23] Zhang J, Xiong Z Y. The effect of the exercise performance with the lack of vitamin B₁ [J]. Journal of Ankang Teachers College, 2003, 15(2): 76 - 78. [张婧, 熊正英. 维生素 B₁ 缺乏对运动能力的影响. 安康师专学报, 2003, 15(2): 76 - 78.]
- [24] Rindi G. Thiamin [C] // Ziegler E E, Filer L J. Present Knowledge in Nutrition. Washington, DC: International Life Sciences Institute Press, 1996: 146 - 166.
- [25] Sheu K F, Calingasan N Y, Diemel G A, et al. Regional reductions of transketolase in thiamine-deficient rat brain [J]. Journal of Neurochemistry, 1996, 67(2): 684 - 691.

Dietary thiamin requirement of GIFT *Oreochromis niloticus*

REN Chun¹, WEN Hua^{2*}, HUANG Feng², JIANG Ming^{1,2},
WU Fan², LIU Wei², TIAN Juan², YANG Changgeng², WU Jinping²

(1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Key laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation and Utilization of Ministry of Agriculture,
Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China)

Abstract: GIFT tilapia [initial weight (64.4 ± 1.5) g] were fed purified diets containing six levels (0.08, 0.57, 1.13, 2.09, 4.11 and 8.09 mg/kg diet, respectively) of thiamin for 12 weeks. The experiment was used to determine the dietary thiamin requirement of GIFT tilapia on the basis of growth parameters, hepatic thiamin saturation and a thiamin-dependent biochemical function. The results showed that, with the increasing dietary thiamin level, weight gain rate of tilapia first increased linearly then remained nearly unchanged. Hepatic thiamin contents presented the same tendency with weight gain rate. Fish fed diets supplemented with VB₁ showed significantly higher hepatic transketolase expression, serum high density lipoprotein cholesterol and lower serum pyruvate than fish fed diets without supplementation of VB₁ ($P < 0.05$). Fish fed the control diet without supplementation of thiamin showed significantly higher serum pyruvate content than fish fed diets supplemented with thiamin ($P < 0.05$), while protein, moisture, ash, lipid content in whole body had no significant differences among various treatments ($P > 0.05$). Based on broken method of the relationships between weight gain rate, hepatic thiamin contents and dietary VB₁ concentrations, it can be concluded that the dietary VB₁ requirement for GIFT tilapia was considered to be 1.16 and 2.06 mg/kg diet respectively.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; thiamin B₁; requirement; growth

Corresponding author: WEN Hua. E-mail: wenhua_hb@163.com