

饲料糖水平对吉富罗非鱼幼鱼生长和肝代谢功能的影响

蒋利和¹, 吴宏玉¹, 黄 凯^{1*}, 麻艳群^{1*}, 杨淇龄¹, 余德光², 钟灵香¹

(1. 广西大学动物科学技术学院, 广西 南宁 530004;

2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380)

摘要: 为研究饲料糖水平对吉富罗非鱼幼鱼生长性能和肝代谢功能的影响, 实验配制等蛋白、等脂肪含量的 8 种不同糖水平(10%、15%、20%、25%、30%、35%、40% 和 45%) 饲料, 每个糖水平设 3 个重复, 饲养周期 49 d, 结果显示: (1) 饲料糖水平对吉富罗非鱼幼鱼的增重率、成活率、饲料系数和肝体比均有显著影响($P < 0.05$)。饲料糖水平为 35% 时, 罗非鱼增重最快; 饲料糖水平为 40% 时饲料系数最低。(2) 随着饲料糖水平的升高, 鱼体肌糖原、粗脂肪含量逐渐升高, 鱼体肝糖原含量先增加后下降。(3) 饲料糖水平对各组鱼血清谷草转氨酶、谷丙转氨酶、血清磷酸果糖激酶活性、总蛋白和总胆汁酸浓度均有显著影响($P < 0.05$), 且随着糖水平的升高, 呈上升趋势; 而鱼体肝酯酶和脂蛋白脂酶活性则是先上升后下降。(4) 饲料糖水平 35% 时, 肝脏组织出现少量细胞脂滴空泡状现象; 饲料糖水平 40% 和 45% 时, 肝脏组织切片有明显的细胞脂滴空泡状、核偏移和细胞质消失现象。肝脏脂滴空泡状面积率与组织脂肪含量具有显著的正相关, 与肝脏组织的脂肪肝病程度成正比。结果表明, 吉富罗非鱼苗种饲料以 29.10%~35.00% 的糖水平较利于吉富罗非鱼幼鱼生长及后期的脂肪肝病预防。

关键词: 吉富罗非鱼; 饲料糖水平; 生长性能; 肝代谢功能

中图分类号: Q 493.4; S 963

文献标志码: A

糖作为一种营养素对鱼类生长具有重要作用^[1-4], 糖既是鱼体热能的主要来源, 也是构成体组织的重要物质。饲料糖类除提供鱼体活动所需热能外, 多余部分可用于合成糖原(肝糖原和肌糖原), 或转化为脂肪存于体内。糖能够节约蛋白质用于供能的量, 所以糖作为饲料中最廉价的能源, 饲料中适宜的糖水平可以缓解目前饲料行业中鱼粉大量使用的压力, 还可以降低饲料成本, 减少氮氮的排泄, 减轻水体污染, 实现饲料工业的可持续性发展^[5-6]。但是, 如果鱼类摄入高糖饲料后肝糖原含量增高, 容易损害鱼类肝脏的正常功能, 使其解毒能力下降^[7-8]。因此确定特定物种鱼的饲料糖最适水平对养殖具有重要的意义。

吉富罗非鱼具有生长速度快、出肉率较高的特点, 其必需氨基酸种类较齐全且含量丰富, 同时必需的微量元素也比较丰富, 因此吉富罗非鱼具有较

高的营养价值和经济价值, 是目前我国罗非鱼养殖中的一个重要的养殖品系^[9-10]。目前, 有关罗非鱼饲料中适宜糖添加量的研究已有报道, 如 Teshima 等^[11] 建议尼罗罗非鱼饲料中糖添加量为 30%~40%。吴凡等^[12] 研究认为奥尼罗非鱼幼鱼饲料中糖适宜添加量为 34%~41%。强俊等^[13] 研究了不同糖水平对奥尼罗非鱼仔稚鱼生长和消化酶活力的影响, 结果发现增重率随饲料糖水平的增加呈先上升后下降的变化, 而胃蛋白酶和淀粉酶活力随饲料糖水平的升高而显著上升, 而胰蛋白酶活力则显著下降。Gaye 等^[14] 就饲料糖水平与蛋白水平对罗非鱼肝脏代谢酶和氨基酸代谢的影响进行了研究, 并指出蛋白水平的提高可以增加肝的代谢酶的活性。Ali 等^[15] 研究表明糖水平和脂类的水平比率对罗非鱼的生长和身体组成有显著影响, 理想的糖脂比率是 2.06~4.95。Tran-Duy 等^[16] 研

收稿日期: 2012-09-10 修回日期: 2012-11-27

资助项目: 国家自然科学基金项目(31260640); 国家“十二五”科技支撑计划(2012BAD25B04); 广西“十二五”重大科技专项(1123010); 广西科技攻关项目(0992014-2)

通信作者: 黄 凯, E-mail: hkail10@163.com; 麻艳群, E-mail: mayanqun@163.com

<http://www.scxuebao.cn>

究认为罗非鱼的氧气摄入量对饲料糖代谢有明显的影响。

目前,尼罗罗非鱼和奥尼罗非鱼的适宜饲料糖水平均有研究,但是其研究都是立足于罗非鱼的生长速度为出发点,而饲料糖水平对吉富罗非鱼幼鱼的研究报道却很少,特别是有关于饲料糖水平对肝功能及脂肪肝病影响的研究,迄今还未见报道。本实验通过研究饲料糖水平对吉富罗非鱼幼鱼生长、鱼体组成、肝功能和脂肪肝形成的影响,探讨吉富罗非鱼对糖的利用能力及糖的生理功效,旨在寻求符合其最佳生长的饲料配方和避免营养性疾病的发生,为吉富罗非鱼饲料的开发生产提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验鱼 吉富罗非鱼由广西水产研究所提

供,选择健康、活力较强、规格均匀的罗非鱼幼鱼,其平均体长(1.93±0.15)cm,平均体质量(0.36±0.01)g。

实验饲料 实验以玉米淀粉作为糖源,鱼粉、大豆油分别作为蛋白质、脂肪源,配制成等蛋白、等脂肪含量的不同糖水平实验饲料。玉米淀粉差额部分用微晶纤维素补足,具体配方见表1。实验饲料制作时,将玉米淀粉加少量水100℃下预煮5min,与其他饲料原料均匀混合后,加适量水揉成面团,通过绞肉机制成2mm条状饲料,60℃恒温箱中5h烘干,密封冷藏保存。使用前将条状饲料破碎,经10目和2目筛网二级过筛后分成3种不同规格的小颗粒饲料待用。并对饲料的蛋白、脂肪等常规营养指标进行测定,其中总饲料能采用氧弹式热量计(GR-3500型)测定,粗灰分用550℃马弗炉高温灼烧法测定。

表1 实验饲料的组成及营养水平
Tab.1 Experimental diet composition and nutrient level

原料和营养水平 material content	饲料组(糖水平) diet group(carbohydrate)							
	1 (10%)	2 (15%)	3 (20%)	4 (25%)	5 (30%)	6 (35%)	7 (40%)	8 (45%)
成分/% ingredients								
鱼粉 fish meal	49.4	49.4	49.4	49.4	49.4	49.4	49.4	49.4
玉米淀粉 corn starch	10	15	20	25	30	35	40	45
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	35	30	25	20	15	10	5	0
豆油 soybean oil	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
食盐 NaCl	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
复合维生素 vitamins premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
无机盐矿物质 mineral premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
防霉剂 antiseptic	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
抗氧化剂 antioxidants	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
氯化胆碱 choline chloride(50%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
复合酶 enzyme premix	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
合计 total	100	100	100	100	100	100	100	100
组分分析(% dry weight) proximate analysis								
粗蛋白 crude protein	36.65	36.01	37.80	37.74	36.24	35.66	36.53	36.50
粗脂肪 crude fat	7.63	7.87	7.75	7.72	7.51	7.65	7.46	7.61
粗灰分 ash	10.34	11.37	9.98	9.18	8.33	8.97	8.04	7.67
水分 moisture	7.85	7.79	7.08	6.82	7.12	7.76	7.15	7.17
总能(MJ/kg) gross energy	18.38	18.22	18.42	18.29	18.26	18.35	18.28	18.36

注:1)复合维生素(mg或IU/g):维生素A 2 500 IU;维生素D₃ 1 200 IU;维生素K₃ 60 IU;维生素E 50 IU;维生素B₁ 10;维生素B₂ 10;维生素B₆ 20;维生素B₁₂ 0.15;烟酸40;叶酸5;泛酸钙20;肌醇150;生物素0.2;维生素C 150。2)无机盐混合物(g/100g):硫酸镁3.0;氯化钾0.7;碘化钾0.015;硫酸锌0.14;硫酸锰0.03;氯化铜0.05;氯化钴0.005;硫酸亚铁0.15;磷酸二氢钾45.0;氯化钙28.0。

Notes:1) vitamin premix (mg or IU/g): Vitamin A 2 500 IU; Vitamin D₃ 1 200 IU; Vitamin K₃ 60 IU; Vitamin E 50 IU; Thiamin 10; Riboflavin 10; Pyridoxine 20; Vitamin B₁₂ 0.15; Nicotinic acids 40; Folic acids 5; Ca-Pantothenate 20; Inositol 150; Biotin 0.2; Ascorbic acids 150. 2) mineral premix (g/100 g): MgSO₄·7H₂O 3.0; KCl 0.7; KI 0.015; ZnSO₄·7H₂O 0.14; MnSO₄·4H₂O 0.03; CuCl₂ 0.05; CoCl₂·6H₂O 0.005; FeSO₄·7H₂O 0.15; KH₂PO₄·H₂O 45.0; CaCl₂ 28.0.

1.2 实验方法

实验设计 实验按照糖水平共设定 8 个组,饲料糖水平分别为 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40% 和 45%,分别记作 1、2、3、4、5、6、7 和 8 组,每组设 3 个重复。实验前将吉富罗非鱼进行适应性驯养 1 周,然后随机分配到 24 个 1.6 m×1 m×0.9 m 的水泥池中进行饲养实验,每池放养 50 尾。实验期间每天 9:00 和 17:00 各投喂一次,投食在 1 h 内吃完为准。实验用水为曝晒去氯后的自来水,实验进行 49 d,平均水温(26.8 ± 2.3) °C, pH 6.9 ± 0.1 , DO 6.0~8.0 mg/L, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ (0.03 ± 0.01) mg/L。

生长指标及鱼体营养成分的测定 实验结束后,对每尾鱼进行称重,计算增重率、肥满度和饲料系数。每个池随机取 10 尾鱼,用 MS-222 麻醉后逐尾测体长和称体质量,然后取肌肉和肝脏称重,烘干后采用索氏抽提法测定脂肪量;鱼体粗蛋白用半微量凯氏定氮法测定;肝糖原和肌糖原用蒽酮比色法测定。

血清生化指标、肝脏糖代谢酶的测定 每个平行组随机挑选 10 尾鱼,用 MS-222 麻醉后,进行尾静脉抽血,加入肝素钠抗凝,离心机离心 5 min (4 000 r/min),取上清液用日立 7600-120 型全自动生化分析仪测定血清相关生化指标;采用紫外-苹果酸脱氢酶法测定谷丙转氨酶和谷草转氨酶;循环酶速率法测定总胆汁酸;双缩脲法测定总蛋白。代谢酶测定的方法:提取新鲜肝脏,在低温生理盐水中漂洗,滤纸拭干,称重,加入 9 倍体积低温生理盐水,匀浆,充分匀浆液低温离心 2 000 r/min,离心 10 min,提取上清液为测试用肝脏粗酶液,肝脂酶(HL)和脂蛋白脂酶(LPL)均用南京建成生产的试剂盒测定;磷酸果糖激酶用酶联免疫检测试剂盒测试。

肝脏组织切片制作与分析 每个平行组随机选 5 尾鱼,用 MS-222 麻醉后,解剖取肝脏组织固定于 Bouin 氏液,石蜡包埋,切片厚度为 5 μm ,H. E 染色,10×10 倍光学显微镜观察并照相。肝细胞脂滴空泡状面积定量计算通过 Photoshop

CS5.5 图片软件将彩色肝脏切片图像转化成黑白图像,设定阈值(Threshold Level-128),采用像素法进行脂滴空泡状面积率分析。

1.3 相关指标计算与统计分析

存活率(survival rate, SR, %) = $100 \times \text{存活鱼数量} / \text{初始鱼尾数量}$ 。

增重率(weight gain rate, WGR, %) = $100 \times [\text{鱼体末重(g)} - \text{鱼体初始重(g)}] / \text{鱼体初始重(g)}$ 。

饲料系数(feed conversion ratio, FCR) = $\text{摄食饲料总量(g)} / [\text{鱼体末重(g)} - \text{鱼体初始重(g)}]$ 。

肝体比(hepatopancreas somatic indices, HSI, %) = $100 \times \text{鱼肝重(g)} / \text{鱼体质量(g)}$ 。

肝脏脂滴空泡状面积率(liver cell lipid drops cavity area ratio, %) = $100 \times \text{脂滴空泡状面积} / \text{图片总面积}$ 。

实验数据通过 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,多重比较采用最小显著极差法(LSD)进行。实验结果用平均数±标准差(mean±SD)表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 饲料糖水平对吉富罗非鱼生长性能的影响

实验期间,各组实验鱼的活动、摄食和排便均正常。由表 2 可知,第 6 组增重最多,与 1、2、3、8 组差异显著($P < 0.05$);成活率第 2 组最高为 100%,显著高于 1、3、4、8 组($P < 0.05$),但与 5、6、7 组差异不显著($P > 0.05$);饲料系数值随糖水平的升高呈下降趋势,第 7 组饲料的饲料系数最低;第 7 组与第 8 组的肝体比(HSI)差异不显著($P > 0.05$),但是与其它各组差异显著($P < 0.05$)。由图 1 可知,罗非鱼增重率随饲料糖水平的上升呈先上升后下降的趋势,两者的关系可用二次方程来拟合, $Y = -3.4038X^2 + 220.06X + 9785.1$ ($R^2 = 0.8038$),当饲料糖水平为 32.33% 时,增重率达最高峰值,峰值糖水平 90% 置信范围为 29.10%~35.56%。

表 2 饲料糖水平对吉富罗非鱼生长的影响
Tab. 2 The effect of dietary carbohydrate levels on growth performance of tilapia

生长指标 growth index	饲料组(糖水平) diet group(carbohydrate)							
	1(10%)	2(15%)	3(20%)	4(25%)	5(30%)	6(35%)	7(40%)	8(45%)
初均重/g	0.36 ±	0.36 ±	0.36 ±	0.37 ±	0.36 ±	0.37 ±	0.36 ±	0.36 ±
IBW	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00
末均重/g	42.57 ±	44.53 ±	44.41 ±	48.75 ±	47.82 ±	50.65 ±	48.02 ±	45.04 ±
FBW	0.30 ^a	0.13 ^{abc}	0.37 ^{ab}	0.24 ^{cd}	0.41 ^{bcd}	0.36 ^d	0.26 ^{bcd}	0.51 ^{abc}
存活率/%	94.00 ±	100.00 ±	92.00 ±	91.33 ±	94.67 ±	97.33 ±	97.33 ±	92.00 ±
SR	5.29 ^a	0.00 ^b	3.46 ^a	3.06 ^a	1.16 ^{ab}	2.31 ^{ab}	4.62 ^{ab}	0.00 ^a
增重率/%	11 826.04 ±	12 367.11 ±	12 338.36 ±	13 175.40 ±	13 284.08 ±	13 683.41 ±	13 339.23 ±	12 511.01 ±
WGR	132.62 ^a	36.98 ^{abc}	102.93 ^{ab}	64.76 ^{bcd}	113.51 ^{bcd}	93.15 ^d	74 ^{cd}	140.83 ^{abc}
饲料系数	1.32 ±	1.18 ±	1.17 ±	1.12 ±	1.08 ±	1.14 ±	1.07 ±	1.11 ±
FCR	0.03 ^e	0.01 ^{cd}	0.04 ^{bcd}	0.03 ^{bc}	0.06 ^{ab}	0.02 ^{bcd}	0.11 ^a	0.03 ^{abc}
肝体比	1.30 ±	1.45 ±	1.30 ±	1.42 ±	1.38 ±	1.56 ±	1.99 ±	1.86 ±
HSI	0.26 ^a	0.26 ^a	0.25 ^a	0.10 ^a	0.14 ^a	0.13 ^{ab}	0.34 ^c	0.13 ^{bc}

注:同行数据不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。下表相同。
Notes: Different lower-case alphabets in the same row represent significant different level($P < 0.05$). As following is the same.

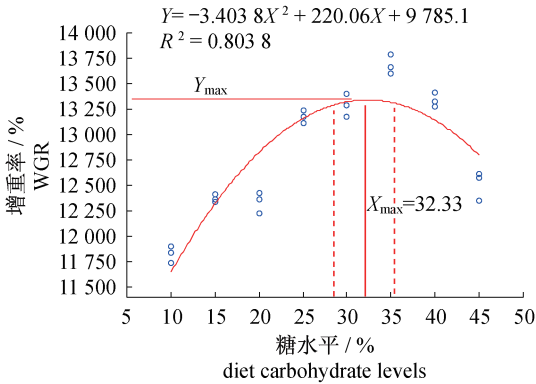


图 1 饲料糖水平对吉富罗非鱼生长的影响
Fig. 1 The effect of dietary carbohydrate levels on growth of tilapia

2.2 饲料糖水平对吉富罗非鱼机体营养成分的影响

表 3 显示,饲料糖水平对吉富罗非鱼体粗蛋白、水分、粗灰分的影响不显著($P > 0.05$);鱼体粗脂肪的含量以第 8 组含量为最高,显著高于第 1 组($P < 0.05$),但与其它各组差异不显著($P > 0.05$)。鱼体肝糖原含量最高的为第 6 组,显著高于第 1 和 2 组($P < 0.05$),但是与其它各组差异不显著($P > 0.05$);第 7 组的肌糖原含量最高,显著高于第 1 组($P < 0.05$),而与其它各组差异不显著($P > 0.05$)。为了便于肝脏组织形态学分析,故将机体营养成分中的肝脏脂肪含量列入表 5。

表 3 饲料糖水平对吉富罗非鱼机体营养成分的影响
Tab. 3 The effect of dietary carbohydrate levels on fish nutrition composition of tilapia

指标 index	饲料组(糖水平) diet group(carbohydrate)							
	1(10%)	2(15%)	3(20%)	4(25%)	5(30%)	6(35%)	7(40%)	8(45%)
粗蛋白/%	18.31 ±	18.89 ±	16.80 ±	19.87 ±	19.47 ±	18.5 ±	18.64 ±	19.14 ±
crude protein(dry weight)	0.98	1.14	0.98	1.60	1.20	1.25	1.00	0.25
粗脂肪/%	6.62 ±	8.14 ±	9.50 ±	9.49 ±	11.14 ±	10.01 ±	10.50 ±	11.77 ±
crude lipid(dry weight)	0.75 ^a	0.76 ^{ab}	1.10 ^{ab}	1.19 ^{ab}	0.52 ^b	0.82 ^{ab}	1.13 ^{ab}	0.80 ^b
水分/%	68.90 ±	67.72 ±	68.98 ±	64.69 ±	64.35 ±	65.48 ±	65.44 ±	64.28 ±
moisture	0.25	1.10	0.53	0.67	0.88	0.76	0.54	0.25
粗灰分/%	5.95 ±	5.88 ±	5.67 ±	6.42 ±	6.42 ±	6.71 ±	6.13 ±	6.67 ±
ash(dry weight)	0.34	0.32	0.47	0.34	0.24	0.50	0.32	0.34
肝糖原/%	3.08 ±	3.24 ±	4.29 ±	5.91 ±	5.42 ±	8.17 ±	7.23 ±	6.21 ±
liver glycogen(dry weight)	0.17 ^a	0.32 ^{ab}	0.36 ^{abc}	0.53 ^{abc}	0.79 ^{abc}	1.21 ^c	0.77 ^{abc}	0.68 ^{abc}
肌糖原/%	2.38 ±	2.73 ±	3.05 ±	2.76 ±	3.52 ±	2.96 ±	4.03 ±	3.85 ±
muscle glycogen(dry weight)	0.28 ^a	0.88 ^{ab}	0.58 ^{ab}	0.30 ^{ab}	0.68 ^{ab}	0.34 ^{ab}	1.23 ^b	0.45 ^b

2.3 饲料糖水平对吉富罗非鱼肝代谢功能的影响

由表 4 可知,第 5、7、8 组谷丙转氨酶含量相对较高,显著高于 1、3 组 ($P < 0.05$),而与其它各组差异不显著 ($P > 0.05$);第 7 和 8 组谷草转氨酶含量显著高于其它各组 ($P < 0.05$),第 6 组次之,显著高于 1、2、4 组 ($P < 0.05$);第 4 和 8 组总胆汁酸含量显著高于第 1 组 ($P < 0.05$),但与其它各组差异不显著 ($P > 0.05$);血清总蛋白的含量最高为第 8 组,显著高于第 3 组 ($P < 0.05$),而

与其它各组差异不显著 ($P > 0.05$)。第 5 组肝脂酶活性最高,与其它各组差异显著 ($P < 0.05$),第 1、8 组比较低,与 2、3、4、5 组差异显著 ($P < 0.05$);第 3 组脂蛋白酯酶活性最高,显著高于其它各组 ($P < 0.05$),第 6、5 组含量比较低,与 2、3、4 组差异显著 ($P < 0.05$);第 8 组磷酸果糖激酶活性最高,与 1、2、3、4 组差异显著 ($P < 0.05$),第 1 和 2 组含量比较低,与 5、6、7、8 组差异显著 ($P < 0.05$)。

表 4 饲料糖水平对吉富罗非鱼肝代谢的影响
Tab.4 The effect of dietary carbohydrate levels on liver metabolism function of tilapia

指标 index	饲料组(糖水平) diet group(carbohydrate)							
	1(10%)	2(15%)	3(20%)	4(25%)	5(30%)	6(35%)	7(40%)	8(45%)
血清谷丙转氨酶/(U/L) ALT	26.67 ± 6.66 ^a	37.33 ± 5.57 ^{bc}	31.40 ± 0.53 ^{ab}	37.67 ± 6.66 ^{bc}	41.67 ± 5.86 ^c	41.00 ± 4.58 ^{bc}	43.67 ± 4.16 ^c	44.67 ± 3.06 ^c
血清谷草转氨酶/(U/L) AST	101.00 ± 6.10 ^a	107.67 ± 1.15 ^{ab}	112.67 ± 7.77 ^{bcd}	108.67 ± 10.09 ^{abc}	119.00 ± 8.54 ^{cd}	121.33 ± 5.86 ^d	136.33 ± 5.02 ^e	144.89 ± 2.71 ^e
血清总胆汁酸/(μmol/L) TBA	21.77 ± 0.64 ^a	22.77 ± 0.68 ^{ab}	22.90 ± 0.44 ^{ab}	24.20 ± 0.92 ^b	23.13 ± 0.92 ^{ab}	23.57 ± 0.29 ^{ab}	23.63 ± 0.62 ^{ab}	24.13 ± 1.20 ^b
血清总蛋白/(g/L) TP	29.13 ± 1.26 ^{ab}	30.23 ± 0.58 ^{ab}	28.90 ± 0.89 ^a	29.77 ± 0.53 ^{ab}	30.47 ± 0.25 ^{ab}	30.63 ± 0.55 ^{ab}	30.93 ± 1.34 ^{ab}	31.83 ± 1.03 ^b
肝脂酶/(U/L) HL	101.51 ± 6.07 ^a	307.28 ± 33.08 ^{cd}	349.49 ± 59.64 ^{de}	434.16 ± 20.97 ^e	683.15 ± 14.70 ^f	244.90 ± 2.13 ^{bcd}	214.78 ± 10.91 ^{bc}	166.79 ± 33.44 ^{ab}
血清脂蛋白酯酶/(U/L) LPL	262.01 ± 8.56 ^c	473.68 ± 2.95 ^d	481.81 ± 15.30 ^d	476.67 ± 15.57 ^d	240.12 ± 5.24 ^c	147.60 ± 26.70 ^b	121.37 ± 26.70 ^{ab}	95.13 ± 6.35 ^a
血清磷酸果糖激酶/(U/mL) PFK	1.15 ± 0.02 ^a	1.15 ± 0.12	1.16 ± 0.13 ^b	1.16 ± 0.05 ^{ab}	1.16 ± 0.13 ^{bc}	1.16 ± 0.01 ^{bc}	1.16 ± 0.01 ^{bc}	1.17 ± 0.01 ^c

2.4 饲料糖水平对吉富罗非鱼肝脏组织形态学的影响

各组鱼的肝脏在 100 倍光学显微镜下的切片照片显示,1 组、2 组有少许肝细胞出现核偏移和脂滴空泡状变性现象;第 3、4 和 5 组肝细胞排列均匀规则、核位于肝细胞中央;第 6 组肝细胞出现一定数量核偏移和空泡变性现象;第 7 组出现较多肝细胞脂滴空泡状变性、细胞质消失、核发生偏移且偏移较明显,8 组更为严重,脂滴空泡变大(图版)。

由表 5 可知,第 4、5 组肝脏脂肪含量处最低

水平,除与第 3 组无显著差异外,显著低于其它组 ($P < 0.05$),第 8 组肝脏脂肪含量最高,显著高于其它组 ($P < 0.05$)。第 4 和 5 组的肝脏脂滴空泡状面积率处于最低水平,明显低于其它组 ($P < 0.05$),第 8 组肝脏脂滴空泡状面积率最大,显著高于其他组 ($P < 0.05$)。脂滴空泡状面积率与肝脏组织脂肪含量相具有显著的正相关, $Y = -13.353\ 9 + 2.211\ 1X$ ($R^2 = 0.982\ 3, P < 0.01$)。从鲜肝脏颜色看第 4、5 组肝脏鲜红,第 7 和 8 组出现肝脏颜色发白现象;脂滴空泡状面积率、肝脏组织脂肪含量越大,肝脏颜色也越浅,发白。

表 5 罗非鱼肝脏组织细胞病理变化特征
Tab.5 Pathological changes in liver cells of juvenile tilapia

指标 index	饲料组(糖水平) diet group(carbohydrate)							
	1(10%)	2(15%)	3(20%)	4(25%)	5(30%)	6(35%)	7(40%)	8(45%)
肝细胞脂滴空泡状面积率/% liver cell lipid drops cavity area ratio	13.57 ± 1.54 c	11.03 ± 1.29 ^b	8.51 ± 0.65 ^b	6.16 ± 0.21 ^a	5.75 ± 0.67 ^a	14.61 ± 1.25 ^c	18.26 ± 1.26 ^d	27.69 ± 1.69 ^e
肝脏脂肪含量/% liver fat content(wet weight)	12.25 ± 1.12 ^{bc}	11.26 ± 0.62 ^b	9.65 ± 0.48 ^{ab}	8.63 ± 0.69 ^a	8.38 ± 0.45 ^a	13.23 ± 0.73 ^c	14.81 ± 1.01 ^c	17.85 ± 1.21 ^d
鲜肝脏颜色 liver colour	浅红	浅红	浅红	鲜红	鲜红	浅红	红白色	红白色

3 讨论

3.1 饲料糖水平对吉富罗非鱼生长性能的影响

Teshima 等^[11]指出尼罗罗非鱼饲料中添加糖适宜水平为 30%~40%。强俊等^[13]研究了不同糖水平(0、6%、12%、18%、24%和30%)对奥尼罗非鱼仔稚鱼生长、体成分和消化酶活力的影响,认为奥尼罗非鱼饲料糖最适水平为9.7%。本实验饲料中添加的糖为熟化玉米淀粉(100℃预煮5 min),其差额部分用微晶纤维素补足,目前,国内外研究饲料糖水平时,通常采用微晶纤维素填补饲料配方中糖水平的差额部分^[1,14-17],实验期间,各组鱼的活动、摄食和排粪均无异常。结果显示,成活率、增重率、饲料系数和肝体比等随饲料糖的增加呈显著变化。随着饲料糖水平的升高,鱼体成活率有一定的差异性,第2组(15%)成活率显著大于第8组(45%)($P<0.05$);表明饲料中过高糖含量对鱼体成活率有一定的影响。鱼体的增重率随饲料淀粉水平的上升呈先上升后下降的趋势,根据增重率与饲料糖水平的回归关系计算,当饲料糖水平为32.33%时,增重率达最高峰值(90%置信范围为29.10%~35.56%),吉富罗非鱼幼鱼生长最快。有报道认为,当饲料中的糖类物质不足时,其它营养物质如脂肪或蛋白质等将被分解作为能量,因此饲料中适量的糖水平能使更多的蛋白质用于鱼类生长^[11-12]。在本研究中饲料系数随饲料糖水平升高而表现出下降的趋势,说明了在罗非鱼饲料中添加合理范围的糖,能有效促进罗非鱼的生长,从而进一步提高饲料的利用率。HSI 经常被用来评价鱼类的营养状态。在本实验中,随着饲料糖水平的升高,HSI 值表现出增加的趋势;第7组和第8组 HSI 值显著高于其它各组。鱼类由糖类物质合成脂肪的场所

主要位于肝脏^[18],因此当高糖饲料在鱼体内转化为中性脂肪后,会堆积在肝脏处,导致肝脏脂肪蓄积量升高^[19],肝脏肿大,HSI 也随之增加^[3]。

3.2 饲料糖水平对吉富罗非鱼机体营养成分的影响

Ali 等^[20]研究发现饲料糖水平对鱼体粗蛋白、水分、粗灰分含量无明显影响,而对粗脂肪的含量影响显著($P<0.05$)。本实验结果与之类似,随着摄入糖水平的升高,鱼体粗蛋白、水分和粗灰分含量在组间差异不显著($P>0.05$);而粗脂肪含量则逐渐升高。蔡春芳等^[21]研究发现异育银鲫肝脂肪酶的活性随饲料糖水平的提高而增强,摄入的高糖转化为脂肪形式存在于鱼体内。有学者认为,通过磷酸戊糖途径提供脂肪合成原料是鱼体内消解糖的重要途径^[22]。随着饲料糖水平的升高,鱼肝脏内酶的活性增强,增强了磷酸戊糖途径的功能,进一步催化6-磷酸葡萄糖产生还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸,促进脂肪酸的合成作用^[23],进而促使鱼体脂含量升高。

3.3 饲料糖水平对吉富罗非鱼肝代谢功能的影响

吴凡等^[12]认为当糖水平继续上升为48%时,奥尼罗非鱼幼鱼的肝功能受到损害,血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性显著上升。而血清总胆汁酸能反映肝脏细胞分泌、合成、肝细胞损伤状态的指标,因此当肝细胞损伤时会导致血清总胆汁酸浓度升高^[24]。本实验研究发现随着鱼体摄入饲料糖水平升高,各组鱼体血清中的谷丙转氨酶和谷草转氨酶显著升高;总蛋白浓度和总胆汁酸也呈现出上升趋势,这表明摄入高水平的糖使罗非鱼幼鱼的肝功能受到了一定损害。

肝酯酶和脂蛋白脂酶是鱼体肝脏中参与脂肪降解的关键酶,此两种酶合称为总脂酶。肝酯酶

在肝细胞中合成,参与高密度脂蛋白转运和分解^[25]。而脂蛋白脂酶存在于多种细胞和组织中,是甘油三酯降解的限速酶,参加各种脂蛋白的代谢并对其进行调控,与肝的功能有关^[26]。饲料糖水平对鱼类肝脂酶和脂蛋白酯酶的影响至今尚未见到相关报道。在本实验中,饲料糖水平由 10% 增至 30% 时,肝酯酶活性呈升高趋势,当饲料糖水平为 30% 时,其活性最高;而糖水平由 30% 继续增至 45% 时,肝酯酶活性则呈下降趋势;肝脏中的脂蛋白脂酶活性同样也表现出了随饲料糖水平升高先上升后下降的趋势,这种变化体现了罗非鱼幼鱼肝脏脂肪代谢对不同糖水平饲料的一种适应性反应,可能与罗非鱼为杂食性鱼类的营养适应特征以及鱼类所处的发育阶段密切相关。有学者认为,肝酯酶和脂蛋白脂酶活性的降低会引发高脂血症^[27]。在本实验中,高糖水平处理组的肝酯酶和脂蛋白脂酶活性降低,有可能导致血脂含量升高,从而促进糖类物质在鱼体内转化为中性脂肪,并堆积在肝脏处,甚而致使脂肪肝的发生^[19]。这一假说与实验中的肝脏组织切片结果相吻合。

糖酵解是体内葡萄糖分解供能的一条重要途径。磷酸果糖激酶在糖酵解中起着催化果糖-6-磷酸进一步转化为果糖-1,6-二磷酸,对维持血糖的稳定和促进机体对糖的利用具有重要的意义。对乌颊鱼和罗非鱼的研究表明,在投喂高糖饲料时,鱼体内的磷酸果糖激酶活性会随之增强^[28-31],本实验结果与前述研究报道一致,饲料中高水平的糖能有效提升肝脏中的磷酸果糖激酶活性。

3.4 饲料糖水平对吉富罗非鱼肝脏组织形态学的影响

成成等^[32]研究指出饲料糖水平为 15% 和 30% 时,肝细胞出现较多肿胀和脂滴,部分肝细胞膜破裂、肝细胞核多移至细胞边位。因此摄食过高水平糖饲料对鱼类组织学上有一定的营养胁迫,在鱼体肝脏组织学上有明显的表现。本实验中,第 1 组鱼摄入糖水平 10% 饲料,肝细胞有一定量的脂滴出现,核偏移和细胞质消失现象较严重,第 2 组有少许肝细胞出现核偏移和脂滴空泡状现象,以上表明投喂低水平糖饲料,在一定程度上对鱼体肝脏造成伤害。因为鱼类在一定范围内,因饲料能量差别,而有自发调节摄食的能力,即等能摄食机制^[20,33]。本实验第 1 组和第 2 组

鱼摄入的是低水平糖饲料,从饲料系数可以看出这两组鱼体消耗的饲料量较多,由于饲料中填补糖差额部分的纤维素不能被利用,饲料中可利用的糖减少,必须相应地增加饲料脂肪和蛋白的摄取量,过多的脂肪的摄取于是造成其肝脏脂滴的出现,因此,饲料糖水平过低也会导致肝脏组织肝细胞出现脂滴空泡状。3、4 和 5 组肝细胞相对排列均匀规则、核位于肝细胞中央;第 6 组肝细胞大体排列均匀规则,少量肝细胞出现核偏移和空泡变性现象,说明饲料糖水平有偏高迹象;第 7 组和第 8 组因高水平的糖摄入,导致肝细胞大量出现空泡变性、细胞质消失、核发生偏移且偏移较明显,这与其肝脏中的肝酯酶、脂蛋白酯酶活性降低有密切的关系。在观察和研究水产动物脂肪肝病变时,目前主要凭借解剖目测、测定血清指标、肝脂含量及对肝脏切片作定性描述^[32,34-36],田娟等^[37]运用 Image-Pro Plus 6.0 图片处理软件定量分析了草鱼脂肪肝油红 O 染色切片中脂滴的面积率,而且脂滴面积率与肝脏粗脂肪含量、肝细胞脂肪变性级别具有显著的正相关。本实验通过采用类似的方法对常规 H. E 染色切片中脂滴空泡状面积率进行定量处理,我们发现脂滴空泡状面积率与肝脏组织脂肪含量相具有显著的正相关,与肝脏组织的脂肪肝病程度成正比。

由组织形态学上看,第 4 组和第 5 组饲料糖水平较合适,而第 6 组试验鱼的糖水平(35.00%)为适宜量的基本上限值;从生长看,吉富罗非鱼苗种适宜糖水平在增重率峰值糖水平 90% 置信上下限(35.56%~29.10%)范围较为理想。将生长性能和预防养殖后期的脂肪肝病结合进行评定,可以认为吉富罗非鱼苗种适宜的饲料糖水平为 29.10%~35.00%。

参考文献:

- [1] 缪凌鸿,刘波,戈贤平,等.高碳水化合物水平日粮对异育银鲫生长、生理、免疫和肝脏超微结构的影响[J].水产学报,2011,35(2):221-230.
- [2] 谭肖英,罗智,刘永坚.鱼类对饲料中糖的利用研究进展[J].中国饲料,2007(6):19-23.
- [3] 蔡春芳,陈立侨,叶元土,等.日粮糖种类和水平对青鱼生长性能和生理指标的影响[J].动物营养学报,2009,21(2):212-218.
- [4] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, et al. Effects of addition of tilapia *Oreochromis*

- niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N-controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems[J]. *Aquaculture*, 2009, 287(3-4): 371-380.
- [5] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, *et al.* Effects of carbohydrate source for maintaining a high C:N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems[J]. *Aquaculture*, 2010, 301(1-4): 37-46.
- [6] Lee S M, Kim K D. Effects of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth and body composition of juvenile and grower rockfish, *Sebastes schlegeli* [J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(16): 1830-1837.
- [7] Hu Y H, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin seabream (*Sparus latus*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13(4): 291-297.
- [8] Moreira I S, Peres H, Couto A, *et al.* Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilisation of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles [J]. *Aquaculture*, 2008, 274(1): 153-160.
- [9] 陈胜军, 李来好, 杨贤庆, 等. 我国罗非鱼产业现状分析及提高罗非鱼出口竞争力的措施[J]. *南方水产*, 2007, 3(1): 75-80.
- [10] 贺艳辉, 张红燕, 龚贇翀, 等. 我国罗非鱼养殖品种及养殖发展分析[J]. *水产养殖*, 2009, (2): 12-14.
- [11] Teshima S, Kanazawa A, Uchiyama Y. Effects of dietary protein, lipid, and digestible carbohydrate levels on the weight gain, feed conversion efficiency and protein efficiency ratio of *Tilapia nilotica* [J]. *Memoirs Kagoshima University, Research Center South Pacific*, 1985, 6(1): 56-71.
- [12] 吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料碳水化合物水平对奥尼罗非鱼幼鱼生长、体成分和血清生化指标的影响[J]. *华南农业大学学报*, 2011, 32(4): 91-95.
- [13] 强俊, 王辉, 彭俊, 等. 饲料碳水化合物水平对奥尼罗非鱼仔稚鱼生长的影响[J]. *饲料工业*, 2009, 30(14): 32-35.
- [14] Gaye S J, Focken U, Becker K. Effect of dietary protein/carbohydrate ratio on activities of hepatic enzymes involved in the amino acid metabolism of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2006, 32(4): 275-282.
- [15] Ali A, Al-Asgah N A. Effect of feeding different carbohydrate to lipid ratios on the growth performance and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings [J]. *Animal Research*, 2001, 50(1): 91-100.
- [16] Tran-Duy A, Smit B, Dam A A V. *et al.* Effects of dietary starch and energy levels on maximum feed intake, growth and metabolism of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture*, 2008, 277(3-4): 213-219.
- [17] 缪凌鸿, 戈贤平, 谢骏, 等. 高碳水化合物日粮对异育银鲫血浆皮质醇含量和 HSP70 基因 mRNA 表达的影响[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(4): 819-827.
- [18] Lin H, Romsos D R, Tack P L, *et al.* Effects of fasting and feeding various diets hepatic lipogenic enzyme activities in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)) [J]. *The Journal of Nutrition*, 1977, 107(8): 1477-1483.
- [19] Stone D A J. Dietary carbohydrate utilization by fish [J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2003, 11(4): 337-369.
- [20] Ali M Z, Jauncey K. Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio in African catfish *Clarias gariepinus* [J]. *Aquaculture International*, 2004, 12(2): 169-180.
- [21] 蔡春芳, 王道尊. 异育银鲫对糖利用性的研究-饲料糖含量对生长、消化吸收率及体成分的影响[J]. *苏州大学学报: 自然科学*, 1999, 15(3): 87-90.
- [22] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(3): 175-194.
- [23] Brauge C, Medale F, Corraze G. Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, reared in seawater [J]. *Aquaculture*, 1994, 123(1-2): 109-120.
- [24] 倪文伟, 顾猛, 曹小秋, 等. 血清总胆汁酸测定在肝胆疾病中的临床意义[J]. *实用全科医学*, 2007, 8(8): 736-737.
- [25] Choi S Y, Goldberg I J, Curtiss L K, *et al.* Interaction between apoB and hepatic lipase mediates the uptake of apoB-containing lipoproteins [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(32): 20456-20462.
- [26] 陈文, 陈代文, 黄艳群. 脂蛋白脂酶(LPL)生理功能及特异表达[J]. *中国畜牧兽医*, 2004, 23(4): 29-30.

- [27] 朱瑞俊,李小勤,谢骏,等. 饲料中添加氯化胆碱对草鱼成鱼生长、脂肪沉积和脂肪代谢酶活性的影响[J]. 中国水产科学,2010,17(3):527-535.
- [28] Meton I, Caseras A, Fernandez F, et al. 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase gene expression is regulated by diet composition and ration size in liver of gilthead sea bream, *Sparus aurata* [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression,2000,1491(1-3):220-228.
- [29] Meton I, Fernandez F, Baanante I V. Short and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis-gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. Aquaculture, 2003, 225(1-4):99-107.
- [30] Panserat S, Plagnes-Juana E, Kaushik S. Nutritional regulation and tissues specificity of gene expression for proteins involved in hepatic glucose metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. The Journal of Experimental Biology,2001,204(Pt13):2351-2360.
- [31] Shiau S Y, Chen M J. Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) as influenced by different chromium sources [J]. The Journal of Nutrition,1993,123(10):1747-1753.
- [32] 成成,谢小军,罗毅平,等. 饲料碳水化合物水平对南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 幼鱼肝脏、胰脏和肾脏的组织学影响[J]. 西南大学学报:自然科学版,2007,29(6):103-108.
- [33] 周华,樊启学,宗克金,等. 饲料糖水平对鳊幼鱼生长和体成分的影响[J]. 水生态学杂志,2011,32(3):108-113.
- [34] Lin D, Mao Y Q, Cai F S. Nutritional lipid liver disease of grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (C. et V.) [J]. Chinese Journal Oceanology and Limnology,1990,8(4):363-374.
- [35] 黄凯,杨鸿昆,甘晖,等. 饲料中添加胆碱预防罗非鱼脂肪肝病作用[J]. 中国水产科学,2007,14(6):257-262.
- [36] 黄凯,陈涛,战歌,等. L-肉碱对奥尼罗非鱼生长、脂肪含量及血浆相关生化指标的影响[J]. 上海海洋大学学报,2010,19(2):201-206.
- [37] 田娟,文华,曾令兵,等. 草鱼食用鱼不同颜色肝脏脂肪肝程度的判断[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2011,37(5):557-564.

Effects of dietary carbohydrate levels on growth performance and liver metabolism functions of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

JIANG Lihe¹, WU Hongyu¹, HUANG Kai^{1*}, MA Yanqun^{1*},

YANG Qiling¹, YU Deguang², ZHONG Lingxiang¹

(1. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China;

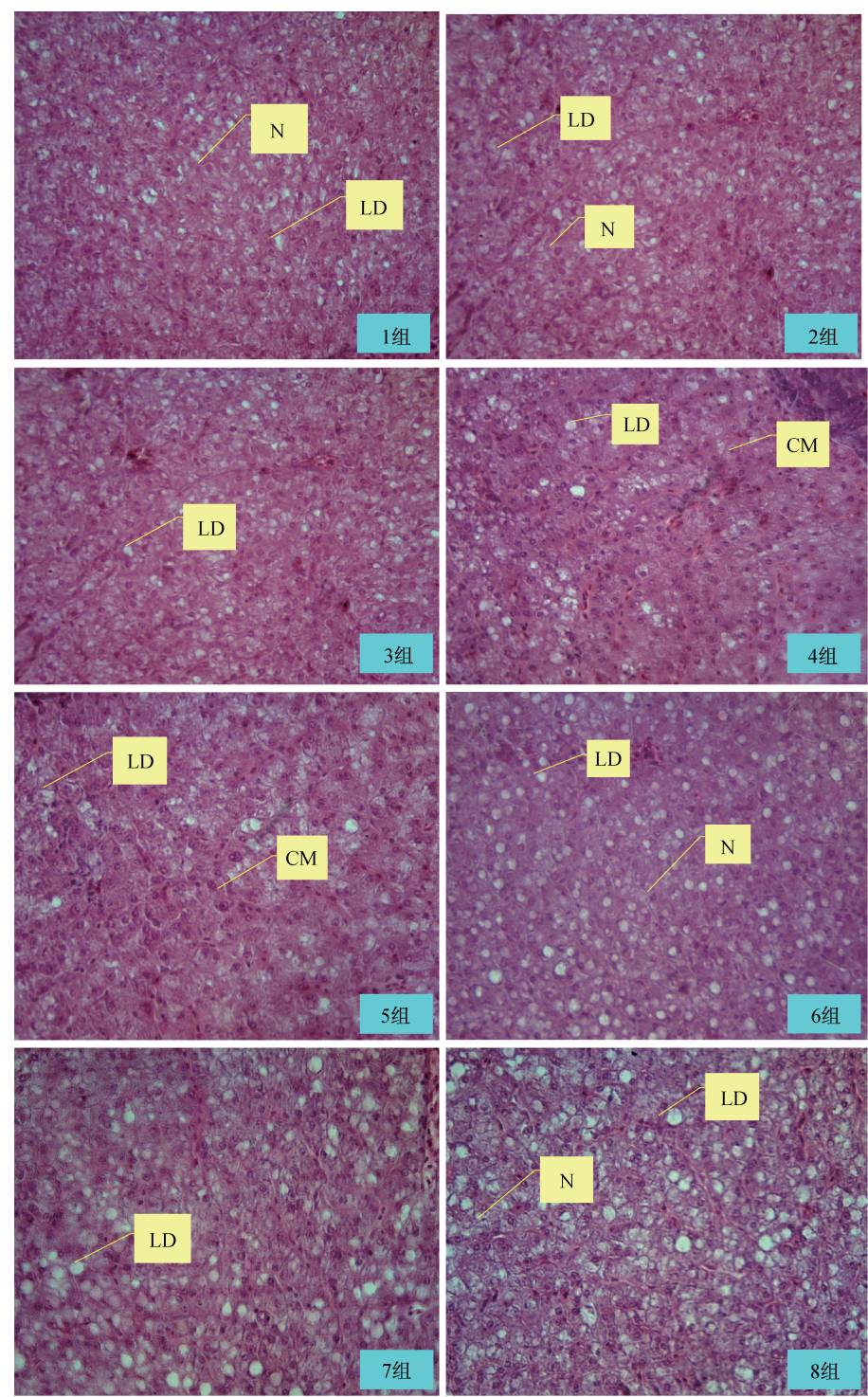
2. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China)

Abstract: This study was to investigate the effect of dietary carbohydrate levels on juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and liver metabolism functions. Eight groups of 1 200 tilapias, in triplicate, with initial body weight of (0.36 ± 0.01) g were fed eight experimental diets (similar protein and lipid contents but carbohydrate levels were 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, respectively). After 7 weeks feeding, the results showed that: (1) dietary carbohydrate level had significant effects on weight gain rate, survival rate, feed conversion ratio and hepato-somatic index (HSI) in tilapia juvenile ($P < 0.05$). The growth rate of the fish fed the diet of 35% carbohydrate level was the highest among the treatments, and the feed conversion ratio of the fish fed the diet of 40% carbohydrate level was the lowest. (2) With increasing of dietary carbohydrate, the muscle glycogen and crude fat content gradually increased. However, the glycogen content rose initially and then declined. (3) The activities of serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, phosphofructokinase, and the concentrations of serum total protein and total bile acid were all significantly increased with the elevated levels of carbohydrate ($P < 0.05$). However, the activities of liver esterase and lipoprotein lipase rose initially and then declined. (4) Liver tissues displayed a few lipid vacuolations in hepatocyte cells at 35%. At the carbohydrate level over 40%, liver histological sections showed a large number of hepatocyte lipid droplets vacuolar degeneration, nuclear migrations and cytoplasm disappearances. The lipid vacuolation areas in liver histological sections basically tallied with the lipid content of the liver, which were consistent with the severity of fatty liver. In conclusion, according to the observation of growth and prevention of late fatty liver disease, the most appropriate proportion of carbohydrate in the fish diet is around 29.10% – 35.00%.

Key words: *Oreochromis niloticus*; dietary carbohydrate levels; growth performance; liver metabolism functions

Corresponding author: HUANG Kai. E-mail: hkai110@163.com;

MA Yanqun. E-mail: mayanqun@163.com



图版 吉富罗非鱼肝脏组织学观察(H.E 染色,10 × 10 倍)

LD. 肝细胞病变的脂滴空泡状; N. 细胞核; CM. 细胞膜。

Plate Histologically observed liver of Tilapia(H. E staining,10 × 10)

LD. Liver cell lipid drops cavity; N. Nucleus; CM. Cell membrane.