

核苷酸对大黄鱼生长性能、肠道形态和抗氧化能力的影响

苗 新, 曹娟娟, 徐 玮, 张文兵*, 麦康森

(中国海洋大学水产学院, 水产动物营养与饲料农业部重点实验室,
海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 为探究饲料中添加核苷酸对大黄鱼生长性能、肠道形态和抗氧化能力的影响, 实验选取初始体质量为 (7.71 ± 0.02) g 的大黄鱼幼鱼为研究对象, 设置 2 个对照组, 即高鱼粉对照组 FM(鱼粉含量为 45.0%) 和低鱼粉对照组 N0(鱼粉含量为 31.5%), 在低鱼粉对照组基础上分别添加 0、75、150、300、600 和 1 000 mg/kg 的核苷酸, 共配制出 7 种等氮等脂饲料, 在海水浮式网箱中进行为期 63 d 的养殖实验。结果表明: 饲料中添加核苷酸对大黄鱼的存活率、饲料效率、摄食率、鱼体组成和形体指标没有显著影响 ($P > 0.05$); 但增重率随着核苷酸添加量的增加呈先升高后下降趋势, 在添加量为 300 ~ 600 mg/kg 时显著高于其他处理组 ($P < 0.05$)。随着核苷酸添加量的增加, 血清中超氧化物歧化酶 (SOD) 和总抗氧化力 (T-AOC) 的活力呈先升高后下降的趋势, 并在 300 mg/kg 时显著高于低鱼粉对照组 ($P < 0.05$)。核苷酸对大黄鱼肠道肌肉层厚度和微绒毛高度有显著影响 ($P < 0.05$), 分别在添加量为 150 和 300 mg/kg 时出现最大值; 而对肠道褶皱高度无显著影响 ($P > 0.05$)。结果表明, 饲料中添加核苷酸能促进大黄鱼生长, 改善肠道形态结构和增强机体的抗氧化能力。以增重率为指标, 利用折线模型计算得到大黄鱼幼鱼饲料中核苷酸的适宜添加量为 194.91 mg/kg。

关键词: 大黄鱼; 核苷酸; 生长; 抗氧化; 肠道形态

中图分类号: S 963

文献标志码: A

核苷酸是体内遗传物质的基本单位, 广泛分布于各器官、组织和细胞中, 参与生物的遗传、发育和生长等基本生命活动, 在遗传信息的转录、翻译、能量代谢调控和细胞信号转导等方面具有重要作用^[1]。核苷酸可以在动物体内利用前体物质合成, 一直被认为是一种非必需营养素。但是, Gil^[2]认为动物处于快速生长、应激、饥饿、肝损伤等情况时, 体内合成的核苷酸不能满足需要, 补充外源核苷酸能保证机体的正常生命活动。

外源核苷酸能够促进体内淋巴细胞的成熟、活化和增殖^[3-4], 并在鱼类应激条件下缓解由皮质醇引起的淋巴细胞数目减少、细胞吞噬功能降低等免疫抑制^[5-6]。Burrells 等^[7-8]证实在饲料中添加一定量的核苷酸能够促进大西洋鲑 (*Salmo salar*) 生长, 提高非特异性免疫力和抗病能力。在罗非鱼

(*Oreochromis niloticus*)^[9]、杂交条纹鲈 (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*)^[10]、凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)^[11]、石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*)^[12] 和虹 鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[13-14] 的研究中得到相似的结果。其中, 凡纳滨对虾^[15] 和石斑鱼^[12] 的饲料中核苷酸的适宜添加量分别为 354 和 1 500 mg/kg。

大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 俗称黄花鱼, 属石首鱼科, 黄鱼属, 是我国特有的海水养殖鱼类, 主要分布在福建和浙江沿海地区。其肉质鲜美, 深受人们的喜爱。近年来, 随着网箱养殖规模不断扩大, 疾病时有发生。抗生素及化学药物的过度使用导致抗药菌株的增加、水体污染、残留药饵的积累等一系列环境问题^[16-18]。通过营养调控提高或激活鱼类自身抗氧化和免疫能力, 成为解

收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-05-22

资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201003020, 200903029)

通信作者: 张文兵, E-mail: wzhang@ouc.edu.cn

决上述问题的一条有效途径^[19]。本研究探讨外源核苷酸对大黄鱼生长性能、肠道形态和抗氧化能力的影响,为完善大黄鱼环境友好型高效配合饲料的配方提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料的制作

以鱼粉和豆粕为主要蛋白源,鱼油和卵磷脂为主要脂肪源,小麦粉为主要糖源,配制 7 种等氮等脂饲料(表 1)。设置 2 个对照组,其中 FM 组为高鱼粉对照组(核苷酸含量约为 38 mg/kg),饲料中鱼粉和豆粕的添加量分别为 45% 和 11.5%。N0 组为低鱼粉对照组(核苷酸含量约为 32 mg/kg),饲料中鱼粉和豆粕的添加量分别为 31.5% 和 30.63%^[20]。在 N0 的基础上分别添加 187.5、375、750、1 500 和 2 500 mg/kg 的核苷酸产品(RovimaxTM NX,帝斯曼),该产品由腺苷酸、尿苷酸、胞苷酸和鸟苷酸等游离核苷酸组成,有效含量

超过 80%。配制成核苷酸添加量分别为 75、150、300、600 和 1 000 mg/kg 的饲料,分别命名为 N75、N150、N300、N600 和 N1000。

在饲料制作过程中,所有原料经粉碎过 60 目筛后,按配比准确称量,充分混匀。然后加入适量的水揉匀,经 F(II)-26 型双螺杆挤条机(华南理工大学,广州)加工成(3 mm×5 mm)颗粒状饲料,于 55 ℃ 条件下烘干,用塑料袋包装,-20 ℃ 保存备用。

1.2 养殖过程及管理

养殖实验在福建省宁德市大湾海区进行。正式实验前将大黄鱼放于(4 m×8 m×4 m)海水网箱中投喂 FM 组饲料暂养 2 周。暂养结束后,挑选体格健壮,规格一致的大黄鱼(7.71±0.02)g,随机分组,放养于 21 个网箱(1.5 m×1.5 m×1.5 m)中,每个饲料处理组对应 3 个网箱(重复),每个网箱 70 尾。每天饱食投喂 2 次(05:00 和 17:00),养殖周期为 9 周。实验期间水温为 27.5~32.0 ℃,盐度为 27~29,溶氧含量在 7 mg/L 以上。

表 1 实验饲料配方及营养组成(干重)

Tab.1 Ingredients and proximate composition of the experimental diets(dry matter)

成分 ingredients	组别 group						
	FM	N0	N75	N150	N300	N600	N1000
鱼粉 fish meal	45.00	31.50	31.50	31.50	31.50	31.50	31.50
豆粕 soybean meal	11.50	30.63	30.63	30.63	30.63	30.63	30.63
小麦粉 wheat meal	24.00	24.00	24.00	24.00	24.00	24.00	24.00
鱼油 fish oil	2.70	3.70	3.70	3.70	3.70	3.70	3.70
卵磷脂 lecithin	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
多维预混料 mineral premix ¹	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
多矿预混料 vitamin premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
诱食剂 attractant ³	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
防霉剂 mold inhibitor	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Rovimax TM NX(mg/kg)	0.00	0.00	187.50	375.00	750.00	1 500.00	2 500.00
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	9.85	3.22	3.20	3.18	3.15	3.07	2.97
营养组成 nutrition composition							
粗蛋白 crude protein	47.52	47.92	47.59	47.69	47.62	47.7	47.74
粗脂肪 crude lipid	8.75	8.54	8.98	8.91	8.77	8.88	8.73
灰分 ash	9.10	8.16	8.01	8.27	8.23	8.56	8.44

注:1. 维生素混合物(mg or g/kg diet):维生素 B₁,25 mg;核黄素,45 mg;维生素 B₆,20 mg;维生素 B₁₂,0.1 mg;维生素 K₃,10 mg;肌醇,800 mg;维生素 B₃,60 mg;烟酸,200 mg;叶酸,20 mg;生物素,1.2 mg;维生素 A,32 mg;维生素 D₃,5 mg;维生素 E,120 mg;维生素 C,2 000 mg;氯化胆碱,2 000 mg。2. 无机盐混合物(mg or g/kg diet):氟化钠,2 mg;碘化钾,0.8 mg;氯化钴(1%),50 mg;硫酸铜,10 mg;硫酸铁,80 mg;硫酸锌,50 mg;硫酸锰,60 mg;硫酸镁,1 200 mg;磷酸二氢钙,3 000 mg;氯化钠,100 mg;沸石粉,15.45 g。3. 诱食剂:甘氨酸:甜菜碱=1:1

Notes:1. vitamin premix(mg or g/kg diet):thiamin,25 mg; riboflavin,45 mg; pyridoxine-HCl,20 mg; vitaminB₁₂,0.1 mg; vitaminK₃,10 mg; inositol,800 mg; pantothenic acid,60 mg; niacin acid,200 mg; folic acid,20 mg; biotin,1.20 mg; retinolacetate,32 mg; cholecalciferol,5 mg; alpha-tocopherol,120 mg; ascorbic acid,2 000 mg; choline chloride,2 000 mg。2. Mineral premix(mg or g/kg diet):NaF,2 mg; KI,0.8 mg; CoCl₂(1%),50 mg;CuSO₄·5H₂O,10 mg; FeSO₄·H₂O,80 mg;ZnSO₄·H₂O,50 mg; MnSO₄·H₂O,60 mg; MgSO₄·7H₂O,1 200 mg; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O,3 000 mg;NaCl,100 mg; Zoelite,15.45 g。3. Attractant:glycine:betaine=1:1

1.3 样品收集和分析

养殖实验结束后,饥饿大黄鱼 24 h,以丁香酚(1:1 000)麻醉,然后计数、称重。分别从每个网箱中随机抽取 8 尾鱼,用一次性无菌注射器自尾静脉取血,用于血清指标分析。解剖得到肝脏和内脏分别称量其湿重,用于计算肝脏指数和内脏指数。在清理完肠道表面的脂肪和结缔组织后,将其放入波恩氏液固定保存。另从每个网箱中随机抽取 5 尾鱼置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存,用于常规成分的分析。

饲料原料、饲料和鱼体常规成分测定采用 AOAC^[21]。水分测定在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘至恒重,粗蛋白采用凯氏定氮法(总氮 $\times 6.25$),粗脂肪采用索氏抽提法,灰分在马弗炉中($550\text{ }^{\circ}\text{C}$)灼烧 12 h 后测定。

血清超氧化物歧化酶(SOD)活性和总抗氧化力(T-AOC)采用南京建成公司试剂盒测定。

肠道组织切片观察采用苏木精-伊红(HE)染色,中性树胶封片。使用光学显微镜观察并测量肠道的褶皱高度、肌肉层的厚度和微绒毛高度。

1.4 计算及统计方法

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

$$\text{增重率}(\text{weight gain rate, WGR, \%}) = 100 \times (W_t - W_0) / W_0 \quad \text{式(2)}$$

$$\text{饲料效率}(\text{feed efficiency, FE}) = (W_t - W_0) / D_d$$

$$\text{摄食率}(\text{feed intake, FI, \% / d}) = 100 \times D_d / [(W_t + W_0) / 2] / t \quad \text{式(3)}$$

$$\text{肝脏指数}(\text{hepatosomatic index, HSI, \%}) = 100 \times W_L / W_t \quad \text{式(4)}$$

$$\text{内脏指数}(\text{viscerosomatic index, VSI, \%}) = 100 \times W_v / W_t \quad \text{式(5)}$$

$$\text{肥满度}(\text{condition factor, CF, \%}) = 100 \times W_t / L^3 \quad \text{式(6)}$$

式中, W_t 和 W_0 分别为实验大黄鱼的终末体质量和初始体质量; W_L 和 W_v 分别为肝脏湿重和内脏湿重; t 为实验天数(63 d); N_0 和 N_t 分别为实验开始和结束时网箱中鱼的尾数; D_d 是摄食饲料干重(g); L 是鱼的体长(cm)。

结果用平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)表示。采用 SPSS 16.0 软件对所得数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),当差异显著时($P < 0.05$),采用 Tukey's 进行多重比较。通过折线模型对数据进行拟合,计算大黄鱼饲料中核苷酸的适宜添加量。

2 结果与分析

2.1 核苷酸对大黄鱼生长性能的影响

饲料中添加不同剂量的核苷酸对大黄鱼存活率、饲料效率和摄食率均无显著影响($P > 0.05$),并分别在 81.91%~84.29%、0.97~1.09 和 1.85%~2.28% 的范围内变动(表 2)。饲料中核苷酸添加量为 0~75 mg/kg 时,对鱼体增重率(WGR)和终末体质量(FW)没有显著影响。随着核苷酸添加量的增加(150~1 000 mg/kg),各饲料组 WGR 和 FW 显著高于低鱼粉对照组($P < 0.05$)。在添加量为 300 mg/kg 时,增重率和终末体质量达到最大值,分别为 265.06% 和 28.15 g。利用折线模型对增重率进行分析,得出饲料中核苷酸的适宜添加量为 194.91 mg/kg(图 1)。大黄鱼的增重率在高鱼粉对照组和低鱼粉对照组之间出现显著差异($P < 0.05$),而在高鱼粉对照组和各核苷酸添加组(75~1 000 mg/kg)之间没有显著差异($P > 0.05$)。

表 2 饲料中添加核苷酸对大黄鱼存活率、增重率、饲料效率和摄食率的影响

Tab. 2 Effects of dietary nucleotides on survival rate, weight gain rate, feed efficiency and feed intake of large yellow croaker

饲料组 diets	初始体质量/g initial weight	终末体质量/g final weight	存活率/% survival rate	增重率/% weight gain rate	饲料效率 feed efficiency	摄食率/(%/d) feed intake
FM	7.71 \pm 0.01	27.51 \pm 0.28 ^{bc}	84.29 \pm 0.82	256.78 \pm 3.67 ^{bc}	1.05 \pm 0.04	1.86 \pm 0.06
N0	7.72 \pm 0.02	25.49 \pm 0.10 ^a	82.86 \pm 1.65	230.66 \pm 1.23 ^a	0.97 \pm 0.03	2.04 \pm 0.08
N75	7.71 \pm 0.01	25.91 \pm 0.16 ^{ab}	81.91 \pm 1.72	236.02 \pm 2.02 ^{ab}	1.02 \pm 0.08	1.89 \pm 0.18
N150	7.72 \pm 0.02	27.45 \pm 0.51 ^{bc}	82.86 \pm 0.83	256.02 \pm 6.62 ^{bc}	1.01 \pm 0.05	2.28 \pm 0.10
N300	7.72 \pm 0.01	28.15 \pm 0.24 ^c	84.29 \pm 1.65	265.06 \pm 3.11 ^c	1.09 \pm 0.08	1.85 \pm 0.16
N600	7.71 \pm 0.01	27.93 \pm 0.57 ^c	83.81 \pm 2.90	262.25 \pm 7.37 ^c	0.99 \pm 0.07	1.96 \pm 0.12
N1000	7.70 \pm 0.02	27.33 \pm 0.45 ^{bc}	82.38 \pm 2.08	254.50 \pm 5.83 ^{bc}	0.98 \pm 0.03	2.10 \pm 0.09

注:表中所列数据为平均数和 3 个重复的标准误,同一列中上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$),下同

Notes: Values are means and standard errors of three replicates. Means in each column with different superscripts have significant differences ($P < 0.05$), the same as the following

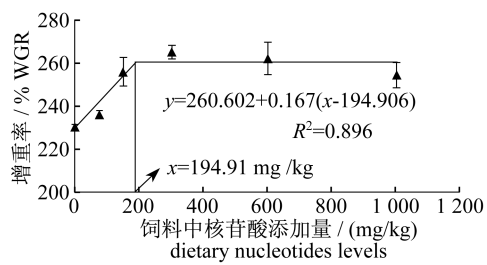


图 1 饲料中核苷酸添加量与鱼体增重率之间的关系

Fig. 1 Relationship between weight gain rate and dietary nucleotides levels

2.2 核苷酸对大黄鱼鱼体组成的影响

经 9 周饲养后,大黄鱼全鱼的水分(75.50% ~ 76.43%)、粗蛋白(16.00% ~ 16.34%)、粗脂肪(4.28% ~ 5.08%)和灰分(3.60% ~ 3.94%)含量在各组间无显著性影响($P > 0.05$)(表 3)。

表 3 饲料中添加核苷酸对大黄鱼鱼体组成的影响(湿重)

Tab. 3 Effects of dietary nucleotides on the body composition of large yellow croaker

饲料组 diets	组成成分 (%)			
	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	灰分 ash
FM	76.43 ± 0.08	16.15 ± 0.05	4.45 ± 0.16	3.60 ± 0.06
N0	75.77 ± 0.54	16.00 ± 0.09	4.29 ± 0.11	3.76 ± 0.04
N75	76.25 ± 0.39	16.34 ± 0.15	4.28 ± 0.19	3.94 ± 0.01
N150	76.29 ± 0.25	16.33 ± 0.18	4.30 ± 0.32	3.87 ± 0.10
N300	76.12 ± 0.29	16.23 ± 0.06	4.59 ± 0.37	3.88 ± 0.09
N600	75.50 ± 0.48	16.25 ± 0.13	5.08 ± 0.40	3.78 ± 0.10
N1000	75.73 ± 0.23	16.30 ± 0.26	5.03 ± 0.28	3.71 ± 0.07

2.3 核苷酸对大黄鱼肝脏指数、内脏指数和肥满度的影响

饲料中添加不同含量核苷酸对大黄鱼的肝脏指数(0.80% ~ 1.07%)、内脏指数(3.25% ~ 3.51%)和肥满度(1.13% ~ 1.17%)的影响均不显著($P > 0.05$)(表 4)。

2.4 核苷酸对大黄鱼抗氧化能力的影响

血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性随着核苷酸添加量的升高呈先升高后下降的趋势,在添加量为 300 mg/kg 时显著最高($P < 0.05$),达到最大值 121.03 U/mL(表 5)。高鱼粉组与低鱼粉组没有显著差异($P > 0.05$)。

随着核苷酸添加量的增高,血清总抗氧化力(T-AOC)也呈先增高后下降趋势,在核苷酸添加

量为 300 mg/kg 时,总抗氧化力达到最大值为 10.06 U/mL,显著高于低鱼粉对照组($P < 0.05$)。高鱼粉组与其余各组之间没有显著差异($P > 0.05$)。

表 4 饲料中添加核苷酸对大黄鱼肝脏指数、内脏指数和肥满度的影响

Tab. 4 Effects of dietary nucleotides on HSI, VSI and CF of large yellow croaker

饲料组 diets	肝脏指数 HSI	内脏指数 VSI	肥满度 CF
FM	0.91 ± 0.06	3.31 ± 0.08	1.16 ± 0.03
N0	0.80 ± 0.11	3.25 ± 0.18	1.16 ± 0.02
N75	1.04 ± 0.11	3.51 ± 0.10	1.15 ± 0.01
N150	1.03 ± 0.08	3.49 ± 0.16	1.13 ± 0.02
N300	1.00 ± 0.05	3.30 ± 0.15	1.15 ± 0.01
N600	1.00 ± 0.04	3.34 ± 0.10	1.17 ± 0.01
N1000	1.07 ± 0.05	3.42 ± 0.06	1.16 ± 0.02

表 5 饲料中添加核苷酸对大黄鱼血清超氧化物歧化酶(SOD)和总抗氧化力(T-AOC)的影响

Tab. 5 Effects of dietary nucleotides on activity of SOD and T-AOC in serum of large yellow croaker

饲料组 diets	血清超氧化物歧化酶/ (U/mL) serum SOD	血清总抗氧化力/ (U/mL) serum T-AOC
FM	99.74 ± 0.83 ^{ab}	7.06 ± 0.92 ^{ab}
N0	97.00 ± 1.53 ^a	6.37 ± 0.65 ^a
N75	109.11 ± 1.79 ^b	7.71 ± 0.75 ^{ab}
N150	101.30 ± 2.16 ^{ab}	7.41 ± 0.74 ^{ab}
N300	121.03 ± 1.71 ^c	10.06 ± 0.96 ^b
N600	107.54 ± 2.39 ^b	6.80 ± 0.29 ^{ab}
N1000	108.71 ± 2.94 ^b	6.76 ± 0.47 ^{ab}

2.5 核苷酸对大黄鱼肠道形态的影响

石蜡切片结果显示,饲料中核苷酸添加量对大黄鱼肠道肌肉层厚度有显著影响($P < 0.05$)(表 6)。核苷酸添加量为 150 mg/kg 时,肠道肌肉层厚度达到最大值 51.36 μm ,显著高于高鱼粉对照组和其他添加组($P < 0.05$)。饲料中核苷酸添加量为 0 ~ 150 mg/kg 时,对肠道微绒毛高度没有显著影响($P > 0.05$),在 300 mg/kg 时达到最大值 2.25 μm ,显著高于低鱼粉对照组($P < 0.05$)。但随着核苷酸添加量继续增大,对各饲料组肠道微绒毛高度不再有显著影响($P > 0.05$)。高鱼粉对照组和其他核苷酸添加组对鱼体肠道微绒毛的高度无显著影响($P > 0.05$)。饲料中核苷酸添加量对大黄鱼肠道褶皱高度没有显著影响($P > 0.05$)。

表6 饲料中添加核苷酸对大黄鱼肠道形态的影响
Tab.6 Effects of dietary nucleotides on micro-morphology of the intestine of large yellow croaker

饲料组 diets	肌肉层厚度/ μm muscular layer thickness	微绒毛高度/ μm microvillus height	褶皱高度/ μm fold height
FM	30.48 \pm 0.60 ^a	2.04 \pm 0.02 ^{abc}	287.40 \pm 6.76
N0	25.31 \pm 1.22 ^a	1.78 \pm 0.05 ^a	271.41 \pm 6.56
N75	27.67 \pm 0.22 ^a	2.05 \pm 0.07 ^{abc}	340.63 \pm 22.43
N150	51.36 \pm 1.98 ^b	1.95 \pm 0.05 ^{abc}	336.69 \pm 19.54
N300	28.82 \pm 3.07 ^a	2.25 \pm 0.12 ^c	323.44 \pm 27.02
N600	34.08 \pm 2.36 ^a	1.90 \pm 0.04 ^{ab}	340.17 \pm 15.63
N1000	26.41 \pm 1.88 ^a	2.12 \pm 0.05 ^{bc}	271.46 \pm 3.67

3 讨论

3.1 核苷酸对大黄鱼生长性能的影响

本研究发现,与低鱼粉对照组相比,饲料中添加150~1 000 mg/kg 核苷酸,显著提高了大黄鱼的增重率。Burrells 等^[8]研究发现在饲料中添加300 mg/kg 核苷酸 (optimun, chemoforma, augst, Switzerland; 该产品包括腺苷酸、胞苷酸、鸟苷酸、尿苷酸、肌苷酸和核糖核酸),可以促进大西洋鲑的生长。在石斑鱼^[12](其核苷酸由腺苷酸、胞苷酸、鸟苷酸、尿苷酸和肌苷酸等量混匀而成)和虹鳟^[22](其核苷酸为 Optimun)研究中发现,核苷酸添加量分别为1 500和1 500~2 000 mg/kg 时,显著提高增重率和饲料转化率。Li 等^[23]以红鼓鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 幼鱼 (10 \pm 0.2) g 为研究对象,在饲料中添加300~3 000 mg/kg 不同梯度的5种等量混匀的核苷酸(腺苷酸、胞苷酸、鸟苷酸、尿苷酸和肌苷酸),养殖1周后发现核苷酸添加量为1 000 mg/kg 处理组的鱼体增重率显著高于对照组。外源性核苷酸促进动物生长的可能作用机理是:核苷酸可作为蛋白质激酶使代谢酶活性增强,诱导激素或酶的合成,促进体内蛋白质的合成^[24-25];提供鱼体快速生长时细胞复制所需的核苷酸^[26];增加肠道褶皱高度,扩大吸收面积,促进营养物质的吸收^[27]。本研究根据大黄鱼的增重率,利用折线模型分析得到饲料中核苷酸的适宜添加量为194.91 mg/kg,与在大西洋鲑^[8](300 mg/kg)、凡纳滨对虾^[27](200 mg/kg)和团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*)^[28](200 mg/kg)上的研究结果相似。低于石斑鱼^[12](1 500 mg/kg)

和虹鳟^[22](1 500~2 000 mg/kg)饲料中核苷酸的适宜添加量。但也有研究发现在饲料中添加一定量的核苷酸,可以促进杂交条纹鲈^[10]和红鼓鱼幼鱼(7.1 g)^[29]的生长,但没有产生显著影响。出现上述研究结果差异的原因可能有多方面,包括核苷酸产品与核苷酸单体混合物中的各成分的比例,鱼的种类、大小和所处生理状态,以及养殖时间长短和核苷酸添加方式等^[30]。

3.2 核苷酸对大黄鱼抗氧化能力的影响

在集约化养殖条件下,鱼类面临着多种应激,从而诱导机体产生大量的活性氧、羟基和过氧化氢等,不仅破坏了细胞膜的完整性,同时自由基攻击大分子引起DNA和蛋白质等的损伤^[31-32]。机体正常代谢中会保持氧自由基的动态平衡,一旦平衡被打破,产生过多的自由基会造成体细胞的氧化损伤。超氧化物歧化酶(SOD)是机体抗氧化防御系统的重要组成部分,能够清除超氧阴离子自由基 O_2^- ,从而保护细胞膜及细胞内的核酸免受自由基的攻击。除此作用外,SOD还与水产动物的免疫水平密切相关,能提高吞噬细胞的吞噬能力和促进免疫蛋白的产生,可作为水产动物的免疫评价指标^[33]。总抗氧化能力(T-AOC)是用于衡量机体抗氧化系统功能的综合性指标,其大小可以反映机体对外来刺激的代偿能力和机体自由基代谢的状态^[34]。

本研究显示饲料中核苷酸添加量为300 mg/kg 时,可显著提高大黄鱼血清SOD和T-AOC的活力,这与在凡纳滨对虾幼虾^[27]上的研究结果一致。外源核苷酸影响机体非特异性免疫功能的机理还不清楚,究其原因可能是参加免疫的大部分细胞合成的核苷酸不能满足其所需,从而影响了吞噬细胞和白细胞等的增殖、分化和活力以及红细胞的数目^[30],而核苷酸的添加补充了免疫细胞所需,从而增强了机体的免疫力。当饲料中核苷酸的添加量在600~1 000 mg/kg 时,大黄鱼血清中SOD和T-AOC活力呈下降趋势,这与对鲤 (*Cyprinus carpio*)^[35]的研究结果一致,说明过量的核苷酸不能强化已处于正常状态下的免疫系统,具体反应机理有待进一步研究。

3.3 核苷酸对大黄鱼肠道形态的影响

肠道是动物营养物质消化吸收的主要场所,其中含有多种营养素和消化酶类。在动物生长快速发育的时期,肠细胞周转较快,对核苷酸的需求

较多,而小肠利用氨基酸从头合成核苷酸的能力有限^[36-37]。外源核苷酸的补充促进了肠道的发育和成熟,减少了动物从头合成核苷酸时的耗能,加快其生长速度,促进其消化器官的健康生长^[38]。本研究发现饲料中核苷酸添加量为 150 mg/kg 时,显著增加大黄鱼的肠道肌肉层厚度,并不同程度地提高肠道褶皱高度。这与大西洋鲑^[7]的研究结果一致。Bueno 等^[39]研究大鼠肠道修复作用时发现核苷酸增大肠壁厚度和绒毛细胞数量,使受损的肠道在补充外源核苷酸后恢复到健康状态。饲料中核苷酸添加量为 300 mg/kg 时,显著提高大黄鱼肠道微绒毛的高度,这与 Cheng 等^[29]在红鼓鱼上的研究结果一致。究其原因,可能是外源核酸的补充使肠细胞核苷酸池中的核苷酸含量增多,提高了肠道蛋白质的合成与肠道黏膜 DNA 和 RNA 的合成率^[40-41]。具体机制还需进一步研究确认。

参考文献:

- [1] Carver J D, Walker W A. The role of nucleotides in human nutrition [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 1995, 6 (2) : 58 - 72.
- [2] Gil A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2002, 56 (3) : 1 - 4.
- [3] Riera J, Pons V, Martinez-Puig D, et al. Dietary nucleotide improves markers of immune response to strenuous exercise under a cold environment [J]. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 2013, 10 (1) : 20.
- [4] Kulkarni A, Fanslow W, Higley H, et al. Expression of immune cell surface markers in vivo and immune competence in mice by dietary nucleotides [J]. Transplantation Proceedings, 1989, 21 (1) : 121 - 124.
- [5] Liu X L. Effects of stress on non-specific immune cells in *Pelteobagrus fulvidraco* [D]. Wuhan: Fisheries College, Huazhong Agricultural University, 2006. [刘小玲. 应激对黄颡鱼非特异性免疫细胞的影响. 武汉:华中农业大学水产学院, 2006.]
- [6] Tahmasebi-Kohyani A, Keyvanshokoh S, Nematollahi A, et al. Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2012, 38 (2) : 431 - 440.
- [7] Burrells C, Williams P D, Forno P F. Dietary nucleotides: A novel supplement in fish feeds 1: Effects on resistance to disease in salmonids [J]. Aquaculture, 2001, 199 (1 - 2) : 159 - 169.
- [8] Burrells C, Williams P D, Southage P J, et al. Dietary nucleotides: A novel supplement in fish feeds 2: Effects on vaccination, salt water transfer, growth rate and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture, 2001, 199 (1 - 2) : 171 - 184.
- [9] Ramadan A, Afifi N A, Moustafa M M, et al. The effect of ascogen on the immune response of tilapiafish to *Aeromonas hydrophila* vaccine [J]. Fish and Shellfish Immunology, 1994, 4 (3) : 159 - 165.
- [10] Li P, Lewis D H, Gatlin D M III, et al. Dietary oligonucleotide from yeast RNA influences immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2004, 16 (5) : 561 - 569.
- [11] Murthy H S, Li P, Lawrence A L, et al. Dietary β-glucan and nucleotide effects on growth, survival and immune responses of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Applied Aquaculture, 2009, 21 (3) : 160 - 168.
- [12] Lin Y H, Wang H, Shiao S Y. Dietary nucleotide supplementation enhances growth and immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus* [J]. Aquaculture Nutrition, 2009, 15 (2) : 117 - 122.
- [13] Tahmasebi-Kohyani A, Keyvanshokoh S, Nematollahi A, et al. Dietary administration of nucleotides to enhance growth, humoral immune responses, and disease resistance of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2011, 30 (1) : 189 - 193.
- [14] Leonardi M, Sandino AM, Klempau A. Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 2003, 23 (2) : 52 - 59.
- [15] Li P, Lawrence A L, Castille F L, et al. Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) [J]. Aquaculture Research, 2007, 38 (8) : 887 - 890.
- [16] Lin K B, Zhou C, Liu J F, et al. Studies on the pathogenic bacteria of *Pseudosciaena crocea* in

- marine cage culture [J]. *Marine Sciences*, 1999, 4: 58 - 62. [林克冰, 周宸, 刘家富, 等. 海水网箱养殖大黄鱼病原菌研究. *海洋科学*, 1999, 4: 58 - 62.]
- [17] Quan H F, Liu Q L. Disease prevention and control of *Cryptocaryon irritans* in Large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *China Fisheries*, 1997, 4: 30 - 31. [全汉锋, 刘巧灵. 大黄鱼育苗常见的白点病及其防治. *中国水产*, 1997, 4: 30 - 31.]
- [18] Zhang C L, Liu J F. Analysing the present condition and countermeasure of cultured large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* in Fujian Province [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2002, 11 (1): 77 - 83. [张彩兰, 刘家富. 福建省大黄鱼养殖现状分析与对策. *上海水产大学学报*, 2002, 11 (1): 77 - 83.]
- [19] Chao J M, Xu D D, Huang Y H, *et al.* Effects of dietary nucleotides on growth performance, tissue biochemical composition and non-specific immunity of juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35 (4): 594 - 603. [曹俊明, 许丹丹, 黄燕华, 等. 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾生长、组织生化组成及非特异性免疫功能的影响. *水产学报*, 2011, 35 (4): 594 - 603.]
- [20] Xu D, Wang C W. Function of nucleotide in animal nutrition and its application [J]. *Feed Industry*, 2008, 29 (22): 38 - 41. [徐栋, 王春维. 外源核苷酸对动物的营养生理作用及应用. *饲料工业*, 2008, 29 (22): 38 - 41.]
- [21] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists [M]. 16th ed. Arlington, VA: AOAC International, 1995.
- [22] Mohebbi A, Nematollahi A, Gholamhoseini A, *et al.* Effects of dietary nucleotides on the antioxidant status and serum lipids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2013, 19 (4): 506 - 514
- [23] Li P, Gatlin D M III, Neill W H. Dietary supplementation of a purified nucleotide mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2007, 38 (2): 281 - 286.
- [24] Xu Q, Wang A L. Effects of nucleotides on the feed intake, growth and immunity function of animals [J]. *Acta Zoo Nutrimenta Sinica*, 2004, 16 (4): 13 - 17. [许群, 王安利. 核苷酸对动物摄食, 生长与免疫功能的影响. *动物营养学报*, 2004, 16 (4): 13 - 17.]
- [25] Zhou X H, Shi Y, Luo M C, *et al.* Effects of yeast nucleotide on growth performance, body composition and feed utilization of crucian carp [J]. *Cereal and Feed Industry*, 2009 (2): 36 - 37. [周兴华, 石芸, 罗孟川, 等. 酵母核苷酸对锦鲤幼鱼生长, 体组成及饲料利用影响. *粮食与饲料工业*, 2009 (2): 36 - 37.]
- [26] Meng X C, Shao Q J. Application of nucleotide in fish feeds [J]. *China Feed*, 2007, 2 (1): 39 - 42. [孟现成, 邵庆均. 外源核苷酸在鱼类饲料中的应用. *中国饲料*, 2007, 2 (1): 39 - 42.]
- [27] Xu D D, Cao J M, Huang Y H, *et al.* Effects of dietary nucleotides on growth performance, intestinal morphology and anti-oxidative activities of juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18 (5): 1115 - 1124. [许丹丹, 曹俊明, 黄燕华, 等. 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾生长、肠道形态及抗氧化酶活力的影响. *中国水产科学*, 2011, 18 (5): 1115 - 1124.]
- [28] Zhang Y P, Liu B, Hua X L. Effects of yeast nucleotide on growth performance, antioxidant function and disease resistance of Bluntnose black bream [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24 (3): 583 - 590. [张一平, 刘波, 华洵璐. 酵母核苷酸对团头鲂生长性能、抗氧化功能和抗病力的影响. *动物营养学报*, 2012, 24 (3): 583 - 590.]
- [29] Cheng Z, Buentello A, Gatlin III D M III. Dietary nucleotides influence immune responses and intestinal morphology of red drum *Sciaenops ocellatus* [J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2011, 30 (1): 143 - 147.
- [30] Li P, Gatlin D M III. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications [J]. *Aquaculture*, 2006, 251 (2 - 4): 141 - 152.
- [31] Sun H Q, Zhang Q, Han Y. Effects of mercuric chloride on the activities of SOD and CAT in the brain of *Carassius auratus* [J]. *Journal of Environment and Health*, 2010, 27 (10): 904 - 905. [孙慧群, 张群, 韩毅. 氯化汞对金鱼脑组织超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活力的影响. *环境与健康杂志*, 2010, 27 (10): 904 - 905.]
- [32] Anderson D P. Environmental factors in fish health: Immunological aspects [J]. *The Fish Immune System*, 1996, 15: 289 - 310.
- [33] Xiang X, Chen J, Zhou X H, *et al.* Effect of astragalus polysaccharides on growth, body composition and

- immune index in *Schizothorax prenanti* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, 35(2): 291 - 299. [向泉, 陈建, 周兴华, 等. 黄芪多糖对齐口裂腹鱼生长, 体组成和免疫指标的影响. *水生生物学报*, 2011, 35(2): 291 - 299.]
- [34] Zhang C L, Hu J F, Wang P W, *et al.* Effects of B(a)P on T-AOC in Liver of *Carassius auratus* [J]. *Journal of Environment and Health*, 2004, 21(5): 325 - 326. [张春玲, 胡俊峰, 王丕文, 等. 苯并(a)芘对鲫鱼肝脏总抗氧化能力的影响. *环境与健康杂志*, 2004, 21(5): 325 - 326.]
- [35] Xiang X, Zhou X H, Chen J, *et al.* Effects of yeast nucleotide on growth performance, body composition and immune indices of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(1): 171 - 178. [向泉, 周兴华, 陈建, 等. 酵母核苷酸对鲤生长性能, 体组成及血清免疫指标的影响. *动物营养学报*, 2011, 23(1): 171 - 178.]
- [36] Tsujinaka T, Kishibuchi M, Iijima S, *et al.* Nucleotides and intestine [J]. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 1999, 23(5): 74 - 77.
- [37] Zhang Y Q, Wang L S, Chen A G. Effects of exogenous nucleotides on performance and gastrointestinal development in weaned pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2007, 43(21): 19 - 21. [张永青, 王龙生, 陈安国. 外源核苷酸对断奶仔猪生产性能和小肠发育的影响. *中国畜牧杂志*, 2007, 43(21): 19 - 21.]
- [38] Wang R M, Ming W S, Jiang Z Q, *et al.* The effect of append nucleotide of feed on growth of animals [J]. *Livestock and Poultry Industry*, 2009(8): 36 - 39. [汪仁明, 明文森, 蒋紫琼, 等. 饲料中添加外源核苷酸对动物生长的影响. *畜禽业*, 2009(8): 36 - 39.]
- [39] Bueno J, Torres M, Almendros A, *et al.* Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhoea. Histological and ultrastructural changes [J]. *Gut*, 1994, 35(7): 926 - 933.
- [40] Ortega M A, Nunez M C, Gil A, *et al.* Dietary nucleotides accelerate intestinal recovery after food deprivation in old rats [J]. *The Journal of Nutrition*, 1995, 125(6): 1413 - 1418.
- [41] He Y, Chu S H, Walker W A. Nucleotide supplements alter proliferation and differentiation of cultured human (Caco-2) and rat (IEC-6) intestinal epithelial cells [J]. *Nutrition*, 1993, 123(6): 1017 - 1027.

Effects of dietary nucleotides on growth performance, intestinal morphology and anti-oxidative capacities of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)

MIAO Xin, CAO Juanjuan, XU Wei, ZHANG Wenbing*, MAI Kangsen

(Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feeds, Ministry of Agriculture; Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The present study was conducted to analyze the effects of dietary nucleotides on growth performance, intestinal morphology and anti-oxidative capacities of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [initial weight: (7.71 ± 0.02) g]. Two control diets were set, which were high fish meal (FM, 45.0%) supplemented diet and low fish meal (N0, 31.5%) supplemented diet, respectively. Based on the latter, five graded levels of nucleotides were added. They were 75, 150, 300, 600 and 1 000 mg/kg, respectively. After the 9-week growth trial, results showed that survival rate, feed efficiency, feed intake and body composition of the animals were not significantly influenced by dietary nucleotides levels ($P > 0.05$). Weight gain rates (WGR) of fish fed the diets with 300 or 600 mg/kg of nucleotides were significantly higher than those in the other groups ($P < 0.05$). Dietary nucleotides significantly affected the total anti-oxidative capacity (T-AOC) and superoxide dismutase (SOD) activity in serum ($P < 0.05$). Values of T-AOC and SOD increased first, and then declined as the dietary nucleotides levels increased. The highest values of these two parameters were found in the treatment with 300 mg/kg of dietary nucleotides. Dietary nucleotide significantly increased microvillus height (H_{MV}) and the thickness of the muscular layer (T_{ML}) in the proximal intestine ($P < 0.05$). The H_{MV} in intestine of fish fed diet with 300 mg/kg of nucleotides was higher than that in the control group. The T_{ML} in intestine of fish fed diet with 150 mg/kg of nucleotides was higher than that in the control group. There was no significant difference in fold height (HF) of intestines among all groups ($P > 0.05$). In conclusion, dietary nucleotides can improve the growth of the large yellow croaker. Meanwhile, it can also increase the anti-oxidative capacity and improve the intestinal morphology. Based on the data of WGR, the broken-line analysis showed that the optimal level of dietary nucleotides was 194.91 mg/kg.

Key words: *Larimichthys crocea*; nucleotides; growth; anti-oxidative capacity; intestinal morphology

Corresponding author: ZHANG Wenbing. E-mail: wzhang@ouc.edu.cn