

文章编号: 1000-0615(2016)09-1340-09

DOI: 10.11964/jfc.20160110268

高脂饲料中胆汁酸水平对齐口裂腹鱼肠道组织结构及脂肪代谢酶活性的影响

曾本和, 向泉*, 周兴华, 任胜杰, 陈建,
吕光俊, 朱成科, 李代金

(西南大学荣昌校区水产系, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室,
水产科学重庆市市级重点实验室, 重庆 402460)

摘要: 为探索高脂饲料中添加胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼肠道组织结构及几种脂肪代谢酶活性的影响, 以360尾初始体质量为(12.74 ± 0.14) g的健康齐口裂腹鱼幼鱼为实验对象, 随机分为4组, 每组3个重复, 每个重复30尾实验鱼, 分别投喂添加了0、75、150和300 mg/kg 胆汁酸的4种实验饲料, 养殖时间为70 d。结果显示, 胆汁酸浓度从0增大到75 mg/kg 时, 齐口裂腹鱼前肠和中肠管壁厚度及肠绒毛高度显著升高, 前肠皱襞宽度显著降低。而当胆汁酸浓度再进一步增大时, 实验鱼前肠和中肠管壁厚度及肠绒毛高度则升高不明显, 其皱襞宽度也降低不显著。未添加胆汁酸的实验组中齐口裂腹鱼前肠和中肠纹状缘畸形或脱落现象严重, 随着胆汁酸添加量的增加, 逐渐减少至消失。齐口裂腹鱼肠道中脂肪酶(LPS)及肝胰脏中脂蛋白酯酶(LPL)、肝酯酶(HL)和总酯酶(TL)活性均随胆汁酸添加量的增加而呈先升高后趋于稳定的变化趋势。且LPS、LPL活性均在胆汁酸添加量为300 mg/kg 时最强(分别为2881.17 U/g 和14.43 U/mg prot); HL、TL活性则在胆汁酸添加量为150 mg/kg 时活性最强(分别为43.70和58.03 U/mg prot)。但LPS、LPL、HL和TL活性在150与300 mg/kg 组均无显著差异。研究表明, 在饲料中添加75~150 mg/kg 的外源胆汁酸能提高齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢酶的活性, 促进对饲料脂肪的代谢和利用, 还能改善齐口裂腹鱼幼鱼肠道结构, 保护肠道健康。

关键词: 齐口裂腹鱼; 胆汁酸; 肠道组织结构; 脂肪代谢

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)属鲤科(Cyprinidae)、裂腹鱼亚科(Schizothoracinae), 俗称“雅鱼”, 为川西高原特有的冷水性鱼类。其肉质细嫩, 营养价值丰富, 味道鲜美^[1], 深受消费者喜爱, 是我国重要的经济鱼类。近年来, 国内齐口裂腹鱼养殖业发展迅猛, 养殖产量逐年增加, 但在集约化养殖条件下, 为加快其生长速度, 大量使用高脂饲料, 使养殖鱼类的健康受到一定的影响。Wang等^[2]对军曹鱼(*Rachycentron canadum*)的研究表明, 饲料脂肪超过15%时, 可

增加脂肪在其体内的沉积; Hung等^[3]对高首鲟(*Acipenser transmontanus*)研究表明, 当饲料中脂肪水平过高时, 会导致脂肪在鱼肝细胞内堆积, 引起肝细胞变性、坏死, 导致肝功能下降甚至衰竭, 最后引起鱼发病甚至死亡; 摄食脂肪水平大于15.4%的高脂饲料后瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)其肝脏LPL mRNA表达水平显著升高^[4]; 而吉富罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)肌肉及肝脏中的脂肪含量随着饲料脂肪添加量的增加而显著升高^[5]; 汪开毓等^[6]分别用脂肪含

收稿日期: 2016-01-28 修回日期: 2016-05-27

资助项目: 重庆市基础与前沿研究计划(cstc2013jcyjA80033); 2015年西南大学青年基金

通信作者: 向泉, E-mail: howlet@126.com

量为4.6%和8.1%的饲料养殖草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)发现, 连续投喂高脂饲料可显著提高草鱼血清中TG、CHO及肝胰脏MDA含量, 降低肝胰脏中SOD和CAT活性, 使其肝胰脏ACC mRNA相对表达量显著上调。同时, 长期投喂高脂饲料可使肠道自由基水平显著提高, 打破肠道正常的氧化还原状态而引起肠道功能的损伤^[7]。

胆汁酸是胆汁的主要成分之一, 在动物脂肪代谢中起着重要作用。其分子结构一端具有亲油的烷基, 一端具有亲水的羟基和羧基, 这种结构使胆汁酸具有较强的表面活力, 可以降低油和水两相间的表面张力, 促进脂肪乳化, 形成可以悬浮在水中的脂肪酸乳糜微粒, 扩大脂肪与脂肪酶的接触面积, 从而加速脂肪的消化吸收, 提高脂肪的消化率。Bauer等^[8]报道, 低浓度的胆汁酸能够提高十二指肠中胰甘油三酯脂酶的活性, 并与辅脂酶相互作用, 将从饲料中吸收的甘油三酯降解形成脂肪酸; 武中会等^[9]证明, 添加一定量的胆汁酸能够显著提高肉鸡的脂肪酶活性, 提高其日增重率, 降低料肉比。在不同脂肪水平的饲料中添加1.5%的胆汁酸可显著提高大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼对脂肪的耐受能力, 提高其体内脂肪代谢酶的活性^[10]; 黄炳山等^[11]认为, 在饲料中添加0.03%~0.12%的胆汁酸可有效降低大菱鲆幼鱼血清中甘油三酯、总胆固醇及高低密度脂蛋白胆固醇的含量。但胆汁酸对鱼类肠道结构影响的研究还鲜见报道。本实验以齐口裂腹鱼为研究对象, 探讨在高脂饲料中添加胆汁酸对其肠道结构及脂肪代谢能力的影响, 旨在为胆汁酸在鱼类饲料中的应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕、菜粕等为蛋白源, 以大豆油为脂肪源, α -淀粉和次粉为糖源, 设计齐口裂腹鱼的高脂饲料配方。在高脂饲料中分别添加0、75、150和300 mg/kg的胆汁酸(实验用胆汁酸由广东信豚水产技术有限公司提供, 主要活性成分为猪去氧胆酸, 其有效成分的质量分数为15%), 配制成4种等氮(蛋白质含量为38.94%)等脂(脂肪含量为14.01%)的实验饲料。各饲料原料均粉碎过60目筛, 按照配方比例称重后混匀, 量少的组分采用逐级扩大法混合, 用实验室小型

绞肉机制成1 mm的颗粒饲料, 自然晾干后于-20 °C保存备用。饲料配方组成及营养成分见表1。

表1 实验饲料配方及营养组成(风干基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)

项目 items	含量 contents %
原料 ingredients	
鱼粉 fish meal	42.00
豆粕 soybean meal	20.00
菜粕 rapeseed meal	10.00
α -淀粉 α -starch	7.00
次粉 wheat middling	4.00
大豆油 soybean oil	12.00
预混料 ¹ premix	1.00
氯化胆碱 choline chloride	1.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.00
DL-蛋氨酸 DL-Met	1.00
L-赖氨酸 L-Lys	1.00
营养成分² nutrient levels	
粗蛋白质 crude protein	38.94
粗脂肪 crude lipid	14.01
粗灰分 crude ash	9.89
水分 moisture	10.62

注: 1. 复合预混料为每千克饲料提供: 维生素A 2000 IU, 维生素C 300 mg, 维生素D₃ 2000 IU, 维生素E 100 mg, 维生素K₃ 10 mg, 维生素B₁ 5 mg, 维生素B₂ 10 mg, 维生素B₆ 10 mg, 维生素B₁₂ 0.02 mg, 尼克酸 100 mg, 泛酸钙 40 mg, 生物素 1 mg, 叶酸 5 mg, 肌醇 100 mg, FeSO₄·7H₂O 600 mg, CuSO₄·5H₂O 15 mg, MnSO₄·H₂O 80 mg, ZnSO₄·7H₂O 300 mg, KI(1%) 60 mg, Na₂SeO₃·5H₂O (1%) 60 mg, CoCl₂·6H₂O (1%) 7 mg; 2. 饲料营养成分为实测值

Notes: 1. the compound premix provides vitamin and mineral for a kilogram of diets: vitamin A 2000 IU, vitamin C 300 mg, vitamin D₃ 2000 IU, vitamin E 100 mg, vitamin K₃ 10 mg, vitamin B₁ 5 mg, vitamin B₂ 10 mg, vitamin B₆ 10 mg, vitamin B₁₂ 0.02 mg, nicotinic acid 100 mg, calcium pantothenate 40 mg, biotin 1 mg, folic acid 5 mg, inositol 100 mg, FeSO₄·7H₂O 600 mg, CuSO₄·5H₂O 15 mg, MnSO₄·H₂O 80 mg, ZnSO₄·7H₂O 300 mg, KI(1%) 60 mg, Na₂SeO₃·5H₂O(1%) 60 mg, CoCl₂·6H₂O(1%) 7 mg. 2. the feed nutrient content were measured values

1.2 实验设计及饲养管理

实验用齐口裂腹鱼购于雅安冷水鱼养殖场, 为同一批繁殖的幼鱼。购回后先用4%的食盐水消毒后放入暂养池, 以基础饲料饱食投喂, 使其逐渐适应实验饲料及养殖环境。暂养7 d后, 选择个体大小均匀, 健康、无伤病, 体质量为(12.74±0.14) g的齐口裂腹鱼360尾。随机分为4个

实验组, 设1个对照组和3个处理组, 每个实验组设3个重复。每个重复投放30尾实验鱼, 以重复为单位随机放入12个实验水族箱($1.06\text{ m}\times 0.41\text{ m}\times 0.38\text{ m}$)中。分别投喂不同胆汁酸水平的实验饲料, 养殖时间70 d。实验期间, 每天按3%~5%的投饲率表观饱食投喂3次(8:00、13:00、16:00), 养殖过程中保持微流水。每日监测实验鱼的摄食行为和死亡数量等。水温维持在15~20 °C, 溶氧高于6.0 mg/L, pH 7.0~7.5。

1.3 样品采集及指标测定方法

实验结束后对实验鱼饥饿24 h。各实验组中随机取5尾实验齐口裂腹鱼用50 mg/L的MS-222溶液麻醉, 解剖取出肝胰脏, 加入相当于其质量10倍体积(W/V)的pH 7.4的磷酸缓冲液, 迅速用冰冻匀浆器匀浆后, 4 °C离心(3500 r/min, 15 min), 取上清液用液氮速冻后置于-80 °C中保存待测; 解剖分离出肠道, 并将其分为前肠、中肠、后肠, 分别保存于Bouin试液中, 用于石蜡切片。

脂肪代谢酶活性的测定: 肠道脂肪酶测定参照聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法^[12], 其活力单位定义为在pH 7.4、(28±1) °C条件下, 1 g组织每分钟分解脂肪产生1 μmol的游离脂肪酸为1个活性单位(U/g); 肝酯酶(HL)、脂蛋白酯酶(LPL)采用试剂盒(购自南京建成生物工程研究所)测定, 脂蛋白酯酶和肝酯酶活性单位定义: 每1 mg组织蛋白每小时在本反应体系中产生1 μmol的游离脂肪酸为1个酶活性单位。总酯酶活性为脂蛋白酯酶和肝酯酶活性之和。

石蜡切片的制备: 取Bouin氏液固定的肠组织样品, 经递增梯度酒精(70%、80%、90%、95%和100%)逐级脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片机切片, 切片厚度为5 μm, H.E染色, 中性树脂封片, 奥林巴斯Primo Star中型光学显微镜观察、拍照。

1.4 数据统计

实验结果采用“平均值±标准差”(means±SD)表示。采用SPSS 19.0统计软件中进行单因子方差分析(One-Way ANOVA), 若差异显著, 则采用Duncan氏进行多重比较, 差异显著水平为P<0.05。

2 结果

2.1 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼肠道组织结构的影响

高脂饲料中添加胆汁酸对齐口裂腹鱼肠道

组织结构有显著的影响(图1)。随着胆汁酸添加量的升高, 实验鱼前肠和中肠管壁厚度和皱襞高度均呈先升高后趋于稳定的变化趋势。前肠、中肠管壁厚度和中肠肠绒毛高度均在150 mg/kg胆汁酸组达到最大, 分别为378.55、305.35和935.35 μm, 且显著高于对照组(P<0.05); 前肠皱襞宽度呈先降低后趋于稳定的变化趋势(P<0.05), 且在300 mg/kg胆汁酸组达到最大, 为1575.19 μm,

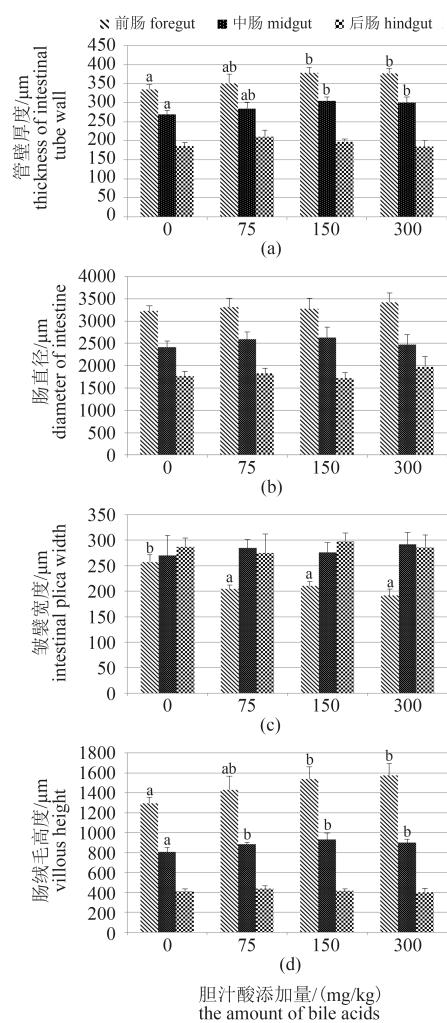


图1 高脂饲料中胆汁酸与齐口裂腹鱼幼鱼肠道管壁厚度、肠直径、皱襞宽度和肠道绒毛高度的关系
图中显著性在同一系列中进行比较; 同系列柱状图上不同的上标表示差异显著($P<0.05$)

Fig. 1 Relationship between bile acid level in high lipid diet and intestinal tube wall thickness, intestinal diameter, intestinal plica width, intestinal villous height of juvenile *S. prenanti*

compare the significantly of above figure in the same series. On the same series of histograms with different superscripts have significant differences ($P<0.05$)

显著高于对照组($P<0.05$)。胆汁酸对实验鱼各段肠道直径、后肠管壁厚、后肠肠绒毛高度及中肠和后肠皱襞宽度影响不显著($P>0.05$)。对照组肠道上皮为单层柱状细胞, 细胞排列不规则, 游离端纹状缘结构不完整, 个别地方上皮脱落, 前肠和中肠绒毛呈畸形; 随着胆汁酸添加量的增加, 上皮脱落和肠绒毛畸形现象逐渐减小至消失(表2); 胆汁酸添加量高于150 mg/kg后, 实验鱼肠道单层柱状上皮细胞排列规则, 游离端纹状缘排列整齐, 细胞间可见数量较多的杯状细胞。各实验组鱼肠结构变化见图版。

2.2 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢酶活性的影响

随着胆汁酸添加水平的升高, 齐口裂腹鱼肠道脂肪酶(LPS)和脂蛋白酯酶(LPL)活性均呈先升高后趋于稳定的变化趋势, 且在胆汁酸添加量为300 mg/kg时活性最强(分别为2881.17 U/g和14.43 U/mg prot), 除与150 mg/kg胆汁酸组差异不显著外($P>0.05$), 显著高于其余各实验组($P<0.05$) (表3)。肝酯酶(HL)和总酯酶(TL)活性随胆汁酸添加量的增加而呈先升高后降低的变化趋势, 且均在150 mg/kg组活性最强(分别为43.70和58.03 U/mg prot), 除与300 mg/kg组差异不显著外($P>0.05$), 显著高于其余各实验组($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼肠道组织结构的影响

肠道是动物消化吸收营养物质的重要场所, 由黏膜层、黏膜下层、肌肉层和浆膜层构成, 而黏膜层又是消化吸收营养物质的关键部位,

表2 高脂饲料中胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼肠道绒毛畸形及脱落比例的影响

Tab. 2 Effect of bile acid level in high lipid diet on the proportion of intestine villi malformation and falled of juvenile *S. prenanti*

胆汁酸添加量/ (mg/kg) the amount of bile acids	畸形/% malformation			脱落/% drop		
	前肠 foregut	中肠 midgut	后肠 hindgut	前肠 foregut	中肠 midgut	后肠 hindgut
				foregut	midgut	hindgut
0	20.00	26.67	0	13.33	6.67	13.33
75	0	6.67	0	6.67	13.33	6.60
150	0	0	0	0	0	0
300	0	0	0	0	0	6.67

肠上皮细胞是吸收营养素的主要细胞。肠道结构完整性对动物消化能力有重要的影响^[13]。肠道绒毛高度和密度的提高有利于增大水产动物肠道的吸收面积, 提高其对饲料营养物质的消化利用率。王纪亭等^[14]研究表明, 胆汁酸可影响肠道菌群, 通过肠道微生物的作用, 影响上皮细胞和免疫细胞可变效应, 对人体和动物肠粘膜内环境稳定有重要作用, 且胆汁酸代谢异常可导致溃疡性肠炎, 使动物肠道上皮细胞脱落、黏膜皱襞固有层变宽, 导致养殖动物对营养物质消化吸收能力下降^[13]。本实验中, 高脂饲料中未添加胆汁酸时, 46.67%的实验鱼前肠皱襞上部分纹状缘呈畸形, 73.33%的实验鱼前肠鱼纹状缘有脱落现象, 说明高脂饲料会影响齐口裂腹鱼肠道健康与完整性; 添加75 mg/kg胆汁酸后, 肠道组织结构有所改善, 仅有极少量纹状缘脱落; 添加150及300 mg/kg胆汁酸后肠道组织结构完全正常, 说明在高脂饲料中外源胆汁酸对齐口裂腹鱼肠道结构与健康有显著改善作用。纪

表3 高脂饲料中胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢酶活性的影响

Tab. 3 Effect of bile acid level in high lipid diet on the lipid metabolic enzymes activities s of juvenile *S. prenanti*

胆汁酸添加量/(mg/kg) the amount of bile acids	肠道 gut		肝脏 hepatopancreas		
	脂肪酶/(U/g) LPS	肝酯酶/(U/mg prot) HL	脂蛋白酯酶/(U/mg prot) LPL	总酯酶/(U/mg prot) TL	
0	2209.28±24.63 ^a	25.75±0.77 ^a	8.59±0.52 ^a	34.33±1.21 ^a	
75	2464.00±52.11 ^b	32.48±2.63 ^b	11.28±0.95 ^b	43.77±1.78 ^b	
150	2864.78±69.63 ^c	43.70±3.15 ^c	14.33±0.80 ^c	58.03±3.31 ^c	
300	2881.17±153.14 ^c	40.57±2.84 ^c	14.43±1.01 ^c	55.00±2.35 ^c	

注: 表格中所给数据为平均数及3个重复标准差; 同列平均数后不同的上标表示差异显著($P<0.05$)

Notes: values are means and standard deviation of three replicates; Mean with different superscripts have significant differences ($P<0.05$)

晨光^[15]认为胆汁酸能增大与肠上皮细胞增殖有关的TGR5的表达，从而促进梗阻性黄疸患者肠黏膜上皮细胞增殖，降低其通透性。说明适量的胆汁酸有利于肠道的健康。其可能原因是，胆汁酸具有改善肠腔菌群的作用^[16]，保护肠道内环境稳定，改善肠道健康；同时，胆汁酸能促进脂肪乳化，不同程度地改善鱼类对脂溶性维生素、类胡萝卜素及其他微量元素的吸收利用^[17]，满足鱼类对营养物质的需求，增强鱼类免疫机能，达到保护肠道健康的作用。Milovic等^[18]则发现，当肠肝循环改变后，疏水性的胆汁酸在肠道的聚集可导致肠上皮的损伤；习德娥等^[19]认为，胆汁酸代谢异常会对胃肠道产生毒性作用，造成粘膜损伤、灶性增生等症状。但有研究表明，虽然1500 mg/kg的胆汁酸有促进大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)蛋白质代谢的功能，但也引起了其抗氧化指标的异常上升^[20]。本实验未出现胆汁酸对实验鱼肠道的损伤作用可能是因为其添加水平未达到胆汁酸影响肠肝循环的极限值。

3.2 胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼脂肪代谢酶活性的影响

脂肪酶是脂肪消化吸收的关键酶，目前还没有找到可替代胆汁酸对脂肪酶的桥梁和联结作用的其他物质^[21]。胆汁酸能够将小肠内脂肪酶原激活为有活性的脂肪酶，并能增强其活性，促进脂肪消化^[13]。胡田恩等^[22]对牛蛙(*Rana catesbeiana*)的研究发现，添加100 mg/kg胆汁酸可使其肠道脂肪酶活性较对照组提高32.62%；Alam等^[23]报道胆汁酸可以显著提高牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)脂肪酶活性，促进脂肪代谢。本实验中，齐口裂腹鱼肠道LPS活性随着胆汁酸添加水平的升高呈先升高后趋于稳定的变化趋势，与上述研究结果基本一致。LPL、HL是动物肝脏中参与脂肪代谢的关键酶。LPL可将血液中的乳糜颗粒和极低密度脂蛋白携带的TG水解成甘油和脂肪酸^[24-25]，控制其在各组织的含量，决定摄入脂类的代谢途径^[26-27]。HL则在肝细胞中合成，可作为配体促进LDL和乳糜颗粒残粒进入肝细胞，并直接参与HDL-C的逆转和HDL残粒的分解^[28]。在本实验中，齐口裂腹鱼肝胰脏中LPL、HL和TL活性随胆汁酸水平升高而呈先升高后趋于稳定的变化趋势。张露露^[20]发现用脂肪水平为12.60%

的饲料养殖大口黑鲈时，其肝脏发生局部纤维化及肝脏细胞脂肪浸润病灶，而在其中添加300~1500 mg/kg胆汁酸后，实验鱼的肝脏组织均正常。马俊霞^[29]发现，添加胆汁酸可使罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)肝小管细胞中脂肪滴减少，肝小管排列整齐而紧凑，且其细胞膜接线清晰，明显降低了血液中转氨酶、LDH、GGT的活性，防治了肝脏的损伤；孙建珍等^[10]认为，在不同脂肪含量的饲料中加入1.5%的胆汁酸可显著提高大菱鲆幼鱼LPL、HL和TL的活性。Sirvent等^[30]研究表明，胆汁酸能增加载脂蛋白A-V和C-II的表达，激活LPL，并通过将脂肪乳化成乳糜颗粒，促进肝细胞HL分泌，调节TG的代谢；同时胆汁酸能够激活FXR-α，通过诱导SHP表达来调节与HDL代谢密切相关的转运载体^[31]，降低血浆HDL浓度。因此，胆汁酸能够提高脂肪代谢酶的活性，促进鱼类对饲料脂肪的代谢和利用。

4 小结

本实验条件下，在高脂饲料中添加一定量的外源胆汁酸能有效增加齐口裂腹鱼幼鱼肠道管壁厚度及肠绒毛高度及密度，纹状缘畸形或脱落现象明显减少。显著提高其肝胰脏脂肪代谢相关酶的活性，促进对饲料脂肪的代谢，减少脂肪在肝脏中的沉积，保护肠道及肝脏健康。

参考文献：

- [1] 温安祥, 曾静康, 何涛. 齐口裂腹鱼肌肉的营养成分分析[J]. 水利渔业, 2003, 23(1): 13-15.
Wen A X, Zeng J K, He T. Analysis on nutritive composition in muscle of *Schizothorax prenanti*[J]. Reservoir Fisheries, 2003, 23(1): 13-15(in Chinese).
- [2] Wang J T, Liu Y J, Tian L X, et al. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Aquaculture, 2005, 249(1-4): 439-447.
- [3] Hung S S O. Choline requirement of hatchery produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*)[J]. Aquaculture, 1989, 78(2): 183-194.
- [4] 郑珂珂, 朱晓鸣, 韩冬, 等. 饲料脂肪水平对瓦氏黄颡鱼生长及脂蛋白酯酶基因表达的影响[J]. 水生生物学报, 2010, 34(4): 815-821.
Zheng K K, Zhu X M, Han D, et al. Effects of dietary

- lipid level on growth and lipoprotein lipase gene expression in *Pelteobagrus vachelli*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(4): 815-821(in Chinese).
- [5] 韩光明, 王爱民, 徐跑, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼体脂沉积及脂肪酸组成的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 338-349.
- Han G M, Wang A M, Xu P, et al. Effects of dietary lipid levels on fat deposition and fatty acid profiles of GIFT, *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(2): 338-349(in Chinese).
- [6] 汪开毓, 苗常鸿, 黄锦炉, 等. 投喂高脂饲料后草鱼主要生化指标和乙酰辅酶A羧化酶1 mRNA表达的变化[J]. 动物营养学报. 2012, 24(12): 2375-2383.
- Wang K Y, Miao C H, Huang J L, et al. Changes in main biochemical indices and Acetyl-CoA carboxylase 1 mRNA expression of grass carp fed a high-fat diet[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(12): 2375-2383(in Chinese).
- [7] 杨瑞丽, 施用晖, 李武, 等. 高脂日粮对小鼠肠道基因表达谱的影响[J]. 营养学报. 2008, 30(5): 447-451.
- Yang R L, Shi Y H, Li W, et al. Effects of high fat diet on gene expression profile of intestine in C57BL/6 Mice[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2008, 30(5): 447-451(in Chinese).
- [8] Bauer E, Jakob S, Mosenthin R. Principles of physiology of lipid digestion[J]. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 2005, 18(2): 282-295.
- [9] 武中会, 韩向敏. 胆汁酸复合乳化剂对肉鸡生产性能及肠道消化酶活性的影响[J]. 畜牧兽医杂志. 2008, 27(5): 1-4.
- Wu Z H, Han X M. Effects of bile acid compound emulsifier on performance and digestive enzymatic activities of broilers[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2008, 27(5): 1-4(in Chinese).
- [10] 孙建珍, 王际英, 马晶晶, 等. 不同脂肪水平下添加胆汁酸对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼生长、体组成和脂肪代谢的影响[J]. 海洋与湖沼. 2014, 45(3): 617-625.
- Sun J Z, Wang J Y, Ma J J, et al. Effects of dietary bile acids on growth, body composition and lipid metabolism of juvenile turbot(*Scophthalmus Maximus*) at different lipid levels[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2014, 45(3): 617-625(in Chinese).
- [11] 黄炳山, 李宝山, 张利民, 等. 胆汁酸对大菱鲆幼鱼生长、脂肪代谢酶及血清生化的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(5): 737-744.
- Huang B S, Li B S, Zhang L M, et al. Effects of dietary bile acid on growth performance, fatty enzymatic activities and biochemical indices of turbot *Scophthalmus maximus* L. juveniles[J]. *Jounal of Shanghai Ocean University*, 2015, 24(5): 737-744(in Chinese).
- [12] 中山大学生物系. 生化技术导论[M]. 北京: 人民教育出版社, 1978: 26-29.
- Biology Department of Zhongshan University. Introduction to the biochemical technology[M]. BeiJing: People's Education Press, 1978: 26-29(in Chinese).
- [13] 刘敬盛, 杨玉芝, 王君荣, 等. 胆汁酸营养功能及作用机制的研究进展[J]. 中国饲料, 2010(6): 35-37, 43.
- Liu J S, Yang Y Z, Wang J R, et al. Research advance on the nutritional functions and mechanism of bile acid[J]. *China Feed*, 2010 (6): 35-37, 43(in Chinese).
- [14] 王纪亭, 宋憬愚, 李海涛, 等. 乳化剂对建鲤生长及血液生化指标的影响[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(3): 257-260.
- Wang J T, Song J Y, Li H T, et al. Effect of emulsifier on growth performance and blood biochemical index in common carp *Cyprinus carpio* var. Jian[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(3): 257-260(in Chinese).
- [15] 纪晨光. 胆汁酸对梗阻性黄疸肠黏膜屏障的保护作用及其机制的研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
- Ji C G. Mechanism of the protective effect of Bile acid on intestinal mucosal barrier in obstructive jaundice[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2015(in Chinese).
- [16] 马俊霞, 张盛鹏, 黎卓健, 等. 含胆汁酸制剂对罗氏沼虾脂肪代谢的影响[C]. 全国动物生理生化第十次学术交流会. 北京: 中国畜牧兽医学会, 2008.
- Ma J X, Zhang S P, Li Z J, et al. Effect of bile acid formulation on lipid metabolism of *Macrobrachium rosenbergii*[C]. *The Tenth National Symposium of Animal Physiology and Biochemistry*. Beijing: Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, 2008(in Chinese).
- [17] Pieters M N, Schouten D, Bakkeren H F et al. Selective uptake of cholestereryl esters from apolipoprotein- E-free

- high-density lipoproteins by rat parenchymal cells in vivo is efficiently coupled to bile acid synthesis[J]. Biochemical Journal, 1991, 280(2): 359-365.
- [18] Milovic V, Teller I C, Faust D, et al. Effects of deoxycholate on human colon cancer cells: apoptosis or proliferation[J]. European Journal of Clinical Investigation, 2002, 32(1): 29-34.
- [19] 习德娥, 丁敏. 胆汁酸与胃肠道疾病关系的研究进展 [J]. 国际检验医学杂志. 2010, 31(9): 969-971.
- Xi D E, Ding M. Research Progress on the relationship between bile acids and gastrointestinal diseases[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2010, 31(9): 969-971(in Chinese).
- [20] 张露露. 胆汁酸在大口黑鲈饲料中有效性及耐受性评价[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015.
- Zhang L L. Efficacy and tolerance assessment of bile acid in *Micropterus salmoides*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015(in Chinese).
- [21] Romański K W. The role and mechanism of action of bile acids within the digestive system-bile acids in the liver and bile[J]. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 2007, 16(6): 793-799.
- [22] 胡田恩, 王玲, 张春晓, 等. 饲料中添加胆汁酸对牛蛙生长性能、体组成和营养物质表观消化率的影响[J]. 水生生物学报, 2015, 39(4): 677-685.
- Hu T E, Wang L, Zhang C X, et al. Effects of dietary bile acid supplementation on the growth, whole-body composition and apparent nutrient digestibility of bullfrog (*Rana Catesbeiana*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(4): 677-685(in Chinese).
- [23] Alam M S, Teshima S, Ishikawa M, et al. Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by the oxidation of radioactive methionine[J]. Aquaculture Nutrition, 2001, 7(3): 201-209.
- [24] Auwerx J, Leroy P, Schoonjans K. Lipoprotein lipase: recent contributions from molecular biology[J]. Critical Reviews Clinical Laboratory Sciences, 1992, 29(3-4): 243-268.
- [25] Zechner R. The tissue specific expression of lipoprotein lipase: implications for energy and lipoprotein metabolism[J]. Current Opinion in Lipidology, 1997, 8(2): 77-88.
- [26] 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]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(32): 20456-20462.
- [27] 向枭, 周兴华, 陈建, 等. 饲料中脂肪含量对翘嘴红鲌幼鱼消化酶活性的影响[J]. 北京水产, 2008(5): 35-38.
- Xiang X, Zhou X H, Chen J, et al. Effects of dietary lipid levels on digestive enzyme activities of juvenile *Erythrocultur ilishaeformis*[J]. Journal of Beijing Fisheries, 2008(5): 35-38(in Chinese).
- [28] 倪燕君, 刘厚钰, 张顺财, 等. 肝脂酶、脂蛋白脂肪酶在脂肪肝发病中的作用[J]. 中华消化杂志. 1999, 19(5): 324-327.
- Ni Y J, Liu H Y, Zhang S C, et al. The role of hepatic lipase and lipoprotein lipase in the pathogenesis of fatty liver[J]. Chinese Journal of Digestion, 1999, 19(5): 324-327(in Chinese).
- [29] 马俊霞. 胆汁酸对罗氏沼虾生长和脂肪代谢影响的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2008.
- Ma J X. Effect of bile acid on growth and lipometabolism of *Macrobrachium rosenbergii*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2008(in Chinese).
- [30] Sirvent A, Claudel T, Martin G, et al. The farnesoid X receptor induces very low density lipoprotein receptor gene expression[J]. Febs Letters, 2004, 566(1-3): 173-177.
- [31] Boulias K, Katrakili N, Bamberg K, et al. Regulation of hepatic metabolic pathways by the orphan nuclear receptor SHP[J]. The Embo Journal, 2005, 24(14): 2624-2633.

Effect of bile acid level in high lipid diet on the intestinal structure and lipid metabolic enzymes activities of juvenile *Schizothorax prenanti*

ZENG Benhe, XIANG Xiao*, ZHOU Xinghua, REN Shengjie, CHEN Jian,
LÜ Guangjun, ZHU Chengke, LI Daijin

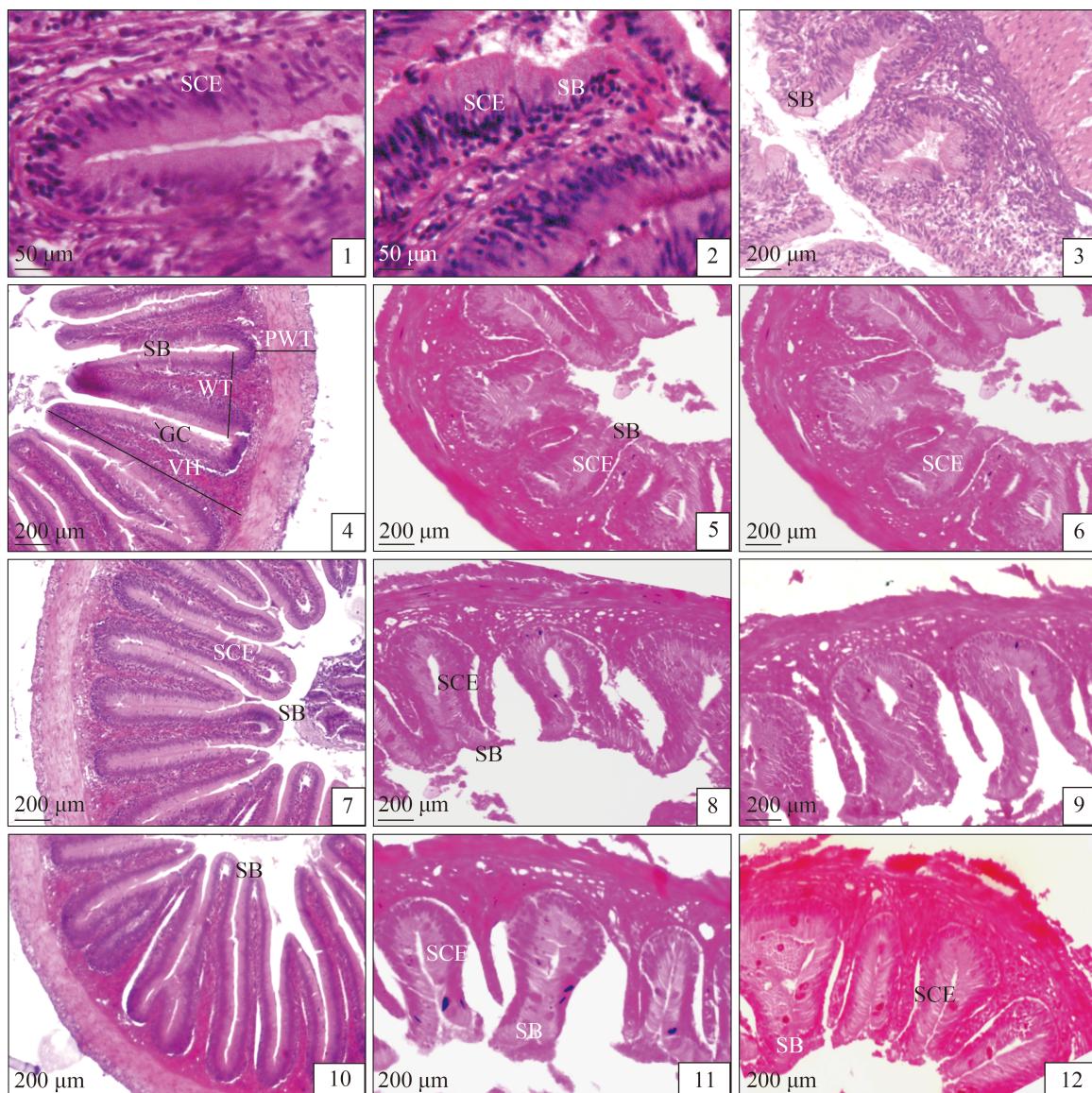
(Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, Department of Fisheries, Rongchang Campus, Southwest University, Chongqing 402460, China)

Abstract: This experiment was conducted to examine the effect of high lipid diet on the intestinal structure and lipid metabolism enzymes in juvenile *Schizothorax prenanti* treated with bile acid. In our study, a total of 360 juvenile *S. prenanti*, with average body weight of (12.74±0.14) g, were randomly distributed into four groups with three replicates each. The high lipid diet diets with different bile acid levels (0, 75, 150 and 300 mg/kg) were fed to juvenile *S. prenanti* for 70 days. The results showed that the foregut and midgut intestinal tube wall thickness, as well as villi length significantly increased with increasing dietary bile acid levels up to 75 mg/kg diet, and remained nearly constant thereafter. Meanwhile, the foregut plica width was significantly reduced with increasing dietary bile acid levels up to 75 mg/kg diet, where the response reached a plateau. In addition, we found that the intestinal lipase (LPS), lipoprotein lipase (LPL), hepatic lipase (HL) and total lipase (TL) increased firstly and then tended to stabilize. Interestingly, the activities of LPS and LPL of juvenile *S. prenanti* were the highest for fish fed with diet containing 300 mg/kg bile acid diet, which were 2881.17 U/g and 14.43 U/mg prot, respectively. While the activities of HL and TL were highest for fish fed 150 mg bile acid /kg diet, which were 43.70 and 58.03 U/mg prot, respectively. Collectively, the results indicated that 75–150 mg bile acid /kg diet can improve the fat metabolism enzyme activity, promote the utilization of diet lipid and improve intestinal structure, and protect the intestinal health in juvenile *S. prenanti*.

Key words: *Schizothorax prenanti*; bile acids; intestinal structure; fat metabolism

Corresponding author: XIANG Xiao. E-mail: howlet@126.com

Funding projects: Basic and Advanced Research Projects in Chongqing (cstc2013jcyjA80033); Youth Fund Project of Southwestern University in 2015



图版 高脂饲料中胆汁酸对齐口裂腹鱼幼鱼肠道组织结构的影响

1.0 mg/kg 组前肠; 2.0 mg/kg 组中肠; 3.0 mg/kg 组后肠; 4.75 mg/kg 组前肠; 5.75 mg/kg 组中肠; 6.75 mg/kg 组后肠; 7.150 mg/kg 组前肠; 8.150 mg/kg 组中肠; 9.1500 mg/kg 组后肠; 10.300 mg/kg 组前肠; 11.300 mg/kg 组中肠; 12.300 mg/kg 组后肠; WT.皱襞宽度; VH.肠绒毛高度; PWT.管壁厚度; SCE.单层柱状上皮; SB.纹状缘

Plate Effect of bile acid level in high lipid diet on the intestinal structure of juvenile *S. prenanti*

1. foregut of control group; 2. midgut of control group; 3. hindgut of control group; 4. foregut of group 75 mg/kg; 5. midgut of group 75 mg/kg; 6. hindgut of group 75 mg/kg; 7. foregut of group 150 mg/kg; 8. midgut of group 150 mg/kg; 9. hindgut of group 150 mg/kg; 10. foregut of group 300 mg/kg; 11. midgut of group 300 mg/kg; 12. hindgut of group 300 mg/kg. WT wall thickness; VH villous height; PWT pipe wall thickness; SCE simple columnar epithelium; SB striated border