

文章编号: 1000-0615(2019)10-2230-11

DOI: 10.11964/jfc.20190811921

饲料中补充适宜的大豆纤维改善建鲤的生长性能、 生化指标和肠道健康

况文明, 马卉佳, 钟云飞, 周月朗, 陈拥军, 罗莉, 林仕梅*

(西南大学动物科技学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 重庆 400716)

摘要: 为评价饲料纤维素在鱼饲料中的营养生理功能, 在基础饲料中添加大豆纤维配制5个纤维水平(1.8%、5.2%、8.8%、12.2%和15.8%)的等氮等脂实验饲料, 饲喂建鲤(均重: 14.96 ± 0.09 g)8周, 从生长、血浆生化、肠道组织学以及肠道微生物等指标研究不同纤维水平对建鲤的影响。结果显示, 纤维水平8.8%组建鲤的终末体质量(FBW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)和蛋白质效率(PER)显著高于其它水平组, 而饲料系数(FCR)显著低于其它组。同时发现, 纤维水平8.8%组建鲤血浆谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性显著低于其它组。随饲料纤维水平的增加, 脏体比(VSI)、肝体比(HSI)以及血浆甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)和葡萄糖(GLU)含量均显著降低。与对照组(纤维水平1.8%)相比, 纤维水平5.2%、8.8%和12.2%组肝脏AMPK、CPT-1活性和PPAR- α 含量显著升高。此外, 饲料高水平纤维15.8%会损伤建鲤的中肠和后肠组织结构, 破坏肠道的发育, 同时也会显著影响其肠道菌群结构, 促进有益微生物的生长。研究表明, 饲料中添加适宜大豆纤维能够显著提高建鲤的生长性能, 改善机体糖脂代谢。以SGR为指标, 建鲤饲料中适宜的纤维水平为9.19%, 但高水平纤维(15.8%)则具有一定抑制和破坏作用。

关键词: 建鲤; 纤维水平; 生长; 生化; 健康

中图分类号: S 963

文献标志码: A

近年来, 随着对纤维理化特性和营养生理作用研究的深入, 发现纤维素在降低人类慢性病方面有着重要的作用^[1]。目前, 日粮纤维对于养殖动物的营养生理作用的研究已成为一个新的研究热点, 尤其是在增强猪的体质和维持其胃肠道的微生态平衡上的研究更加深入且得到广泛应用^[2]。最近研究证实, 纤维素作为一种化学益生元可以改善水产动物肠道健康而被引起广泛关注^[3-4]。尽管鱼虾因缺乏纤维素分解酶致使其不能直接利用纤维素, 但饲料中含有适量的粗纤维对维持消化道正常功能是必须的^[5]。众所周知, 鱼类对纤维的耐受能力是有限的^[4], 研究表明饲料中补充适宜的纤维有助于改善养殖鱼类生长^[4, 6], 同时提高机体的免疫力^[3, 7]。关于

鱼饲料中纤维的真正生理作用知之甚少, 如今大量植物性原料进入饲料配方, 致使其纤维素含量增高而应用受限, 这些都值得仔细地研究。建鲤(*Cyprinus carpio* var. *jian*)作为我国重要的经济养殖鱼类, 未见其关于纤维素研究报告。为此, 本实验从生长、血浆生化、肠道组织学和肠道微生物方面评价纤维素在建鲤上的营养生理功能, 旨在丰富鱼类营养学研究, 同时为养殖鱼类优质饲料的配制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕、棉籽蛋白、大豆分离蛋白

收稿日期: 2019-08-24 修回日期: 2019-09-28

资助项目: 国家自然科学基金(31672659); 重庆市科委社会民生项目(cstc2017shms.xdny80012); 重庆市生态渔产业技术体系(2018)

通信作者: 林仕梅, E-mail: linsm198@163.com

和小麦蛋白为蛋白源, 以豆油为脂肪源配制基础饲料, 在基础饲料中分别添加0%(对照组)、3.5%、7.0%、10.5%和14%大豆纤维配制成5种纤维水平(1.8%、5.2%、8.8%、12.2%和15.8%)的等

氮等脂(CP 36%, EE 6.0%)实验饲料, 其饲料组成及营养水平见表1, 饲料原料粉碎过80目筛, 采取逐级稀释法混合均匀, 制成粒径为2.0 mm的颗粒饲料, 自然风干后于4 °C冰柜中保存备用。

表 1 饲料组成及营养水平(风干基础)
Tab. 1 Composition and nutrient levels of test diets (air-dry basis)

项目 items	饲料纤维水平/% dietary fiber levels				
	1.8	5.2	8.8	12.2	15.8
原料/% ingredients					
鱼粉 fish meal	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
去皮豆粕 dehulled soybean meal	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
棉籽蛋白 cottonseed protein	14.0	14.0	14.0	14.0	14.0
大豆分离蛋白 isolated soy protein	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
小麦蛋白 wheat gluten	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
高筋面粉 wheat flour	22.3	22.3	22.3	22.3	22.3
豆油 soybean oil	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
大豆纤维 soybean fiber	0.0	3.5	7.0	10.5	14.0
膨润土 bentonite	14.0	10.5	7.0	3.5	0.0
氯化胆碱 choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
复合预混料 composite premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
合计 total	100.0	100.0	100	100.0	100.0
营养成分(实测值) nutritional levels(measured value)					
粗蛋白质/% crude protein	36.8	36.7	36.7	36.8	36.7
粗脂肪/% crude lipid	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
粗灰分/% crude ash	18.8	15.4	12.1	9.5	6.2
粗纤维/% crude fiber	1.8	5.2	8.8	12.2	15.8

1.2 饲养管理

实验用建鲤购自重庆市璧山区养殖场, 用商品饲料驯化10 d, 禁食24 h, 用0.01% MS-222麻醉后称重, 随机分为5个处理, 每个处理3个重复, 每个重复30尾鱼[(14.96±0.09) g], 在室内淡水循环养殖系统(有效容积为200 L)中饲养8周。实验期间, 每日投喂3次(08:30、12:30、18:00), 投饲率为3%~5%, 养殖水源为充分曝气的自来水, 养殖期间水温为24.6~28.9 °C, 溶解氧>6.7 mg/L, 氨氮<0.07 mg/L, 亚硝酸盐<0.01 mg/L, pH为7.0~7.3。

1.3 样品制备与分析

饲养实验结束时, 禁食24 h, 用0.01% MS-222麻醉后称重, 每个重复随机取3尾鱼用于测定

全鱼常规成分; 每个重复随机取5尾鱼, 测体质量、体长, 在冰盘上解剖并分离出内脏团、肝脏和肠道后称重, 用于形体指标的测定, 随后将肝脏和肠道迅速收集, 液氮速冻后于-80 °C冰箱中保存备用; 每个重复随机取5尾鱼, 用加入抗凝剂的一次性注射器于尾静脉取血, 迅速置于3 500 r/min、4 °C条件下离心10 min, 收集血浆, -80 °C冰箱中保存备用。

每个重复取2尾鱼, 分离肠道, 去除表面脂肪, 分别取长度约1 cm的前肠、中肠和后肠, 用3%多聚甲醛固定液固定, 用于石蜡组织切片。同时, 分离出肠道置于无菌离心管中(每个重复2尾鱼合并), 并转入-80 °C超低温冰箱中保存, 用于测定肠道菌群结构。肠道菌群通过变性梯度凝胶电泳(DGGE)进行分离及后续克隆测

序, 肠道总菌DNA提取及检测均由北京百迈客生物科技有限公司完成。

饲料及全鱼样品均在105 °C烘干至恒重, 然后采用凯式定氮法测定粗蛋白含量, 索式抽提法测定粗脂肪含量, 高温(550 °C)灼烧法测定粗灰分含量, 采用半自动纤维分析仪(Fibertec M6)测定粗纤维含量。

采用全自动生化分析仪(日立7100)测定血浆中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(ALP)活性以及总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、葡萄糖(GLU)、钙(Ca)和磷(P)含量, 试剂盒购自四川迈克生物科技股份有限公司。肝脏磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、肉毒碱棕榈酰转移酶-1(CPT-1)活性和过氧化物酶体增殖物激活受体- α (PPAR- α)含量采用试剂盒测定(购自上海优选生物科技有限公司)。

1.4 计算公式

增重率(weight gain rate, WGR, %)=100% $\times$
($W_t - W_0$)/ W_0 ;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=
100% $\times$ [ln W_t -ln W_0]/ t ;

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER, %)=
($W_t - W_0$)/($F \times F_p$) $\times$ 100%;

饲料系数(feed conversion ratio, FCR)= $F/(W_t - W_0)$;

成活率(survival, SR, %)=100% $\times$ N_t/N_0 ;

脏体比(viscera somatic index, VSI, %)=
100% $\times$ W_v/W_t ;

肝体比(hepatic somatic index, HSI, %)=100% $\times$
 W_h/W_t ;

式中, W_t 和 W_0 分别为终末体质量和初始体质量(g); t 为养殖实验天数(d); F 为尾均摄食量(g); F_p 为饲料蛋白质含量(%); N_t 和 N_0 分别为终末尾数和初始尾数(尾); W_v 为内脏重(g); W_h 为肝脏重(g)。

1.5 数据处理

实验数据均以平均值 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SE)表示。采用SPSS 22.0软件进行方差性检验和单因素分析(One-Way ANOVA), 若达到显著水平, 则进行Tukey氏多重比较, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料纤维水平对建鲤生长性能的影响

随饲料纤维水平的增加, 建鲤的FBW、

WGR、SGR和PER呈现先升高后降低的趋势, 在8.8%纤维水平达到最高($P < 0.05$), 而对照组(纤维水平1.8%)和15.8%水平间无显著差异, 但均显著低于其他各实验水平($P < 0.05$)。以SGR为指标, 折线模型回归得出建鲤饲料中适宜的纤维水平为9.19% (图1)。FCR随饲料纤维水平的增加则表现出先下降后升高的趋势, 且纤维水平8.8%显著低于其他各实验水平($P < 0.05$)。各实验组成活率均为100%。VSI和HSI随饲料纤维水平的增加而显著降低($P < 0.05$) (表2)。

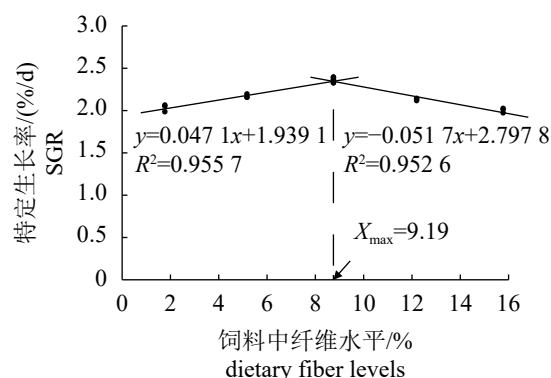


图1 饲料中纤维水平对建鲤特定生长率的影响

Fig. 1 Relationship of specific growth rate with dietary fiber levels of *C. carpio* var. *jian* fed the experiment diets

2.2 饲料纤维水平对建鲤血浆生化指标的影响

饲料纤维水平会显著影响建鲤血浆的生化组成。随饲料纤维水平的增加, 建鲤血浆ALT和AST活性呈现先降低后升高的趋势, 在8.8%纤维水平达到最低($P < 0.05$) (表3)。血浆ALP活性以及TG、TC和GLU含量随饲料纤维水平的增加而显著降低($P < 0.05$)。各实验组血浆Ca和P含量以及Ca/P比值无显著变化($P > 0.05$)。

2.3 饲料纤维水平对建鲤肝脏脂代谢的影响

随饲料纤维水平的增加, 建鲤肝脏AMPK活性呈先上升后降低的变化趋势, 且8.8%纤维水平显著高于其他实验组, 以对照组(纤维水平1.8%)和纤维水平15.8%最低($P < 0.05$)。肝脏CPT-1活性和PPAR- α 含量以纤维水平5.2%、8.8%和12.2%最高, 其次是15.8%水平, 对照组(纤维水平1.8%)最低($P < 0.05$) (表4)。

2.4 饲料纤维水平对建鲤肠道组织学的影响

将1.8%纤维对照组(低水平)、8.8%纤维(中

表 2 饲料纤维水平对建鲤生长性能的影响

Tab. 2 Effects of dietary fiber levels on growth performance of *C. carpio* var. *jian*

项目 items	饲料纤维水平/% dietary fiber levels				
	1.8	5.2	8.8	12.2	15.8
初始体质量/g IBW	14.94±0.08	14.88±0.01	14.95±0.16	15.04±0.05	14.92±0.00
终末体质量/g FBW	50.60±1.04 ^a	54.66±0.80 ^b	61.68±1.28 ^c	53.98±0.47 ^b	49.50±0.83 ^a
增重率/% WGR	238.59±8.50 ^a	267.28±5.58 ^b	312.58±6.93 ^c	258.75±2.19 ^b	231.80±5.67 ^a
特定生长率/(%/d) SGR	2.03±0.04 ^a	2.17±0.02 ^b	2.36±0.03 ^c	2.13±0.01 ^b	2.00±0.03 ^a
饲料系数 FCR	1.38±0.04 ^c	1.27±0.04 ^b	1.14±0.05 ^a	1.28±0.02 ^b	1.43±0.02 ^c
蛋白质效率/% PER	2.01±0.06 ^a	2.19±0.07 ^b	2.45±0.11 ^c	2.17±0.03 ^b	1.94±0.02 ^a
成活率/% SR	100	100	100	100	100
脏体比/% VSI	9.53±0.71 ^b	8.97±0.78 ^{ab}	8.42±1.12 ^{ab}	8.32±0.52 ^{ab}	7.78±0.97 ^a
肝体比/% HSI	2.87±0.38 ^c	2.82±0.26 ^c	2.68±0.26 ^{bc}	2.58±0.15 ^{ab}	2.48±0.33 ^a

注：同行中上标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)，下同
Notes: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same below

表 3 饲料纤维水平对建鲤血浆生化指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary fiber levels on plasma biochemical indexes of *C. carpio* var. *jian*

项目 items	饲料纤维水平/% dietary fiber levels				
	1.8	5.2	8.8	12.2	15.8
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	26.50±2.75 ^d	22.14±3.47 ^c	8.27±0.77 ^a	16.46±0.83 ^b	18.98±1.30 ^{bc}
谷草转氨酶/(U/L) AST	222.01±0.89 ^c	145.63±20.62 ^d	62.38±4.19 ^a	90.25±1.33 ^b	114.01±3.67 ^c
碱性磷酸酶/(U/L) ALP	124.96±1.75 ^c	59.67±5.97 ^{ab}	60.12±2.29 ^{ab}	66.28±3.59 ^b	55.55±1.12 ^a
总胆固醇/(mmol/L) TC	5.22±0.28 ^b	5.10±0.37 ^b	4.27±0.25 ^a	4.27±0.28 ^a	4.41±0.10 ^a
甘油三酯/(mmol/L) TG	2.90±0.23 ^b	2.50±0.24 ^a	2.31±0.07 ^a	2.35±0.20 ^a	2.37±0.05 ^a
葡萄糖/(mmol/L) GLU	5.84±0.77 ^c	5.41±1.33 ^c	4.48±0.09 ^b	4.27±0.04 ^{ab}	3.56±0.28 ^a
钙/(mmol/L) Ca	2.47±0.08	2.53±0.06	2.43±0.08	2.43±0.05	2.43±0.07
磷/(mmol/L) P	2.52±0.22	2.45±0.15	2.55±0.02	2.40±0.88	2.43±0.06
Ca/P	0.99±0.09	1.04±0.07	0.95±0.03	1.02±0.09	1.00±0.02

表 4 饲料纤维水平对建鲤肝脏脂代谢的影响

Tab. 4 Effects of dietary fiber levels on hepatic lipid metabolism of *C. carpio* var. *jian*

项目 items	饲料纤维水平/% dietary fiber levels				
	1.8	5.2	8.8	12.2	15.8
磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶/(U/mL) AMPK	330.41±20.31 ^a	475.69±49.21 ^b	543.60±13.85 ^c	465.07±27.98 ^b	375.68±24.73 ^a
肉毒碱棕榈酰转移酶-1/(U/L) CPT-1	137.71±5.50 ^a	284.05±35.78 ^c	270.85±28.67 ^c	263.83±49.86 ^c	182.33±4.34 ^b
过氧化物酶体增殖物激活受体- α /(pg/mL) PPAR- α	561.73±49.16 ^a	948.67±64.22 ^c	969.84±94.48 ^c	939.09±83.60 ^c	736.00±81.98 ^b

水平)和15.8%纤维(高水平)实验鱼前肠、中肠和后肠同一位置的肠段做成组织切片，进行显微镜观察(图2)。饲料中添加不同水平大豆纤维对建鲤幼鱼肠道组织结构完整性产生明显的影响。各处理组建鲤前肠肠绒毛形态完整，整齐伸入肠腔内，无破损，脱落现象，杯状细胞正

常。而高水平纤维组建鲤中肠和后肠肠绒毛部分出现脱落或破损,皱襞高度变短,且皱襞密

度降低,皱襞个数减少。

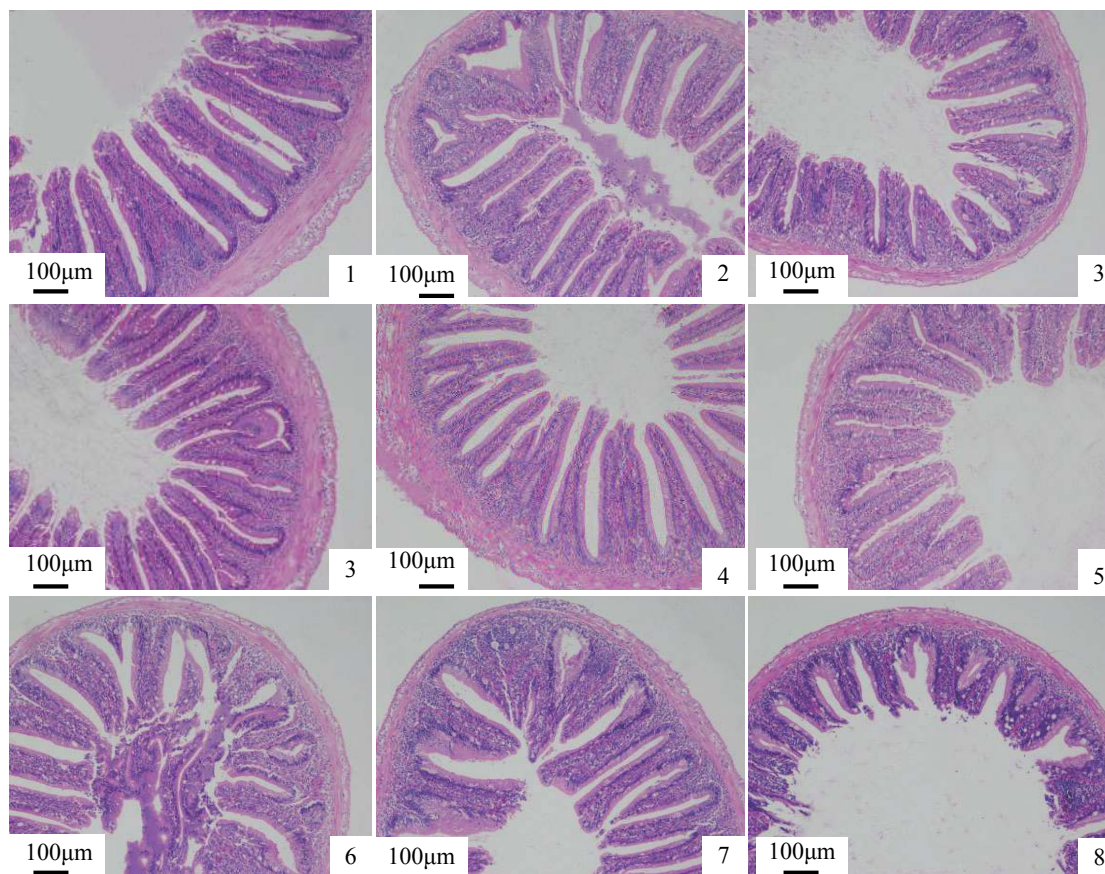


图2 饲料纤维水平对建鲤肠道组织结构的影响(H.E 100×)

前肠: 1. 1.8%水平, 2. 8.8%水平, 3. 15.8%水平; 中肠: 4. 1.8%水平, 5. 8.8%水平, 6. 15.8%水平; 后肠: 7. 1.8%水平, 8. 8.8%水平, 9. 15.8%水平

Fig. 2 Effects of dietary fiber levels on intestinal morphology of *C. carpio* var. *jian* (H.E 100 ×)

Foregut: 1. 1.8% level, 2. 8.8% level, 3. 15.8% level; Midgut: 4. 1.8% level, 5. 8.8% level, 6. 15.8% level; Hindgut: 7. 1.8% level, 8. 8.8% level, 9. 15.8% level

与1.8%水平纤维对照组相比, 8.8%和15.8%水平纤维均显著降低前肠肌层厚度($P<0.05$)。而15.8%水平纤维显著降低建鲤中肠肠绒毛高度和杯状细胞数量, 增加肠绒毛宽度和肌层厚度($P<0.05$), 但不影响肠绒毛数量。此外, 15.8%水平纤维还显著降低建鲤后肠肠绒毛高度、肌层厚度、杯状细胞和肠绒毛数量($P<0.05$), 但不影响肠绒毛宽度(表5)。

2.5 饲料纤维水平对建鲤肠道菌群结构的影响

为了观察纤维水平对建鲤肠道菌群的影响, 实验进行了对照组(低水平纤维1.8%)和15.8%纤维(高水平)组肠道微生物检查。纤维水平会显著影响肠道细菌的多样性(Shannon指数和

Simpson指数, $p<0.05$), 但不改变其相对丰度(ACE指数和Chao 1指数)(表6)。对建鲤肠道微生物菌群组成造成了显著影响。建鲤肠道菌群主要由10个门和一些未知类群构成, 其中的优势类群是变形菌门(Proteobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria)。与对照组相比(低水平纤维1.8%), 投喂高水平纤维饲料后, 丰度上调的门有梭杆菌门(从26%升到78.8%), 丰度显著下调的门有变形菌门(从66.8%降到19.4%)、厚壁菌门(从4.0%降到0.9%)和放线菌门(从1.8%降到0.7%)($P<0.05$)(图3-a)。在属的水平上, 建鲤肠道中优势菌属为鲸杆菌属(*Cetobacterium*)、链球菌

表 5 饲料纤维水平对建鲤肠道结构的影响

Tab. 5 Effect of dietary fiber levels on the intestinal histological structure of <i>C. carpio</i> var. <i>jian</i>									
项目 items	前肠 foregut			中肠 midgut			后肠 hindgut		
	1.8	8.8	15.8	1.8	8.8	15.8	1.8	8.8	15.8
肠绒毛数量/个 intestinal villus number	28.30±2.06	26.33±0.58	27.33±1.52	24.25±2.21	25.00±1.06	24.67±0.58	20.12±2.14 ^b	20.67±2.52 ^b	12.67±2.53 ^a
肠绒毛高度/μm intestinal villus height	529.37±51.49	445.01±14.07	458.56±35.18	375.37±8.93 ^b	389.89±34.81 ^b	323.34±25.10 ^a	369.46±8.75 ^b	366.71±42.24 ^b	248.31±29.88 ^a
肠绒毛宽度/μm intestinal villus width	119.28±6.06	111.82±6.52	97.09±18.61	101.48±0.95 ^a	134.79±6.52 ^b	130.64±1.71 ^b	100.13±5.48	111.71±10.24	113.64±13.43
肌层厚度/μm muscular thickness	139.81±17.23 ^b	101.08±11.24 ^a	114.37±10.48 ^a	90.80±1.51 ^a	89.13±3.47 ^a	99.29±2.04 ^b	81.61±0.62 ^c	70.10±3.56 ^b	53.11±2.82 ^a
杯状细胞数量/个 goblet cell quantity	13.65±0.68	12.86±1.79	13.76±1.01	9.84±1.51 ^b	9.63±1.50 ^b	6.75±1.01 ^a	8.20±0.23 ^c	4.85±0.17 ^b	3.15±0.33 ^a

表 6 饲料纤维水平对建鲤肠道菌群多样性和丰度的影响

Tab. 6 Effects of dietary cellulose levels on microbial diversity and richness of <i>C. carpio</i> var. <i>jian</i>			
项目 items		饲料纤维水平/% dietary fiber levels	
		1.8	15.8
ACE指数 ACE index		115.50±1.50	103.40±6.20
Chao1指数 Chao1 index		116.20±2.21	111.92±6.35
辛普森指数 Simpson index		0.17±0.02 ^a	0.68±0.01 ^b
香农指数 Shannon index		2.56±0.06 ^b	1.05±0.08 ^a

属(*Stenotrophomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)和芽殖杆菌属(*Gemmobacter*)。同对照组相比(低水平纤维1.8%),高水平纤维组鲸杆菌属丰度升高(从26%升到78.8%),而链球菌属(从23.1%降到6.2%)、不动杆菌属(从13.7%%降到2.4%)和芽殖杆菌属(从11.1%%降到2.2%)丰度降低(图3-b)。

进一步的MetaStat分析表明，部分细菌群落在属级水平上差异显著。同1.8%低水平纤维对照组相比，增加饲料纤维水平显著降低建鲤肠道链球菌属(*Stenotrophomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、*Leucobacter*、*Rubellimicrobium*、*Brevibacterium*和*Actinotalea*的相对丰度($p<0.05$)，增加鲸杆菌属(*Cetobacterium*)和*Pelomonas*的相对丰度($P<0.05$)(图4)。

3 讨论

3.1 饲料纤维水平对建鲤生长性能的影响

本实验结果显示，饲料中不同纤维水平会

显著影响建鲤的生长性能，这与在南亚野鲮(*Labeo rohita*)^[8]、罗非鱼^[9]和克林雷氏鲃(*Rhamdia quelen*)^[10]上的研究结果一致。本实验中以纤维水平8.8%组鲤的生长效果最好，而饲料中适宜的纤维水平因鱼种不同而差异较大^[5]。折线回归得出建鲤饲料中适宜的纤维水平为9.19%，NRC推荐鱼饲料中纤维水平不超过10%^[5]，过高的纤维水平会对动物生长产生抑制作用，而抑制程度又与纤维来源有关。本研究也进一步证实建鲤对饲料纤维水平的耐受能力是有限的，当饲料中纤维水平超过8.8%时会显著降低建鲤的生长，在罗非鱼^[9]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[11]上也观察到类似的结果。研究证实，增加饲料中纤维水平一方面会降低饲料消化率，进而影响鱼类生长^[12-13]，而适宜的纤维水平才能使消化率达到最佳。同时，本研究还发现高水平纤维组建鲤的FCR升高而PER降低，这进一步揭示高水平纤维组建鲤生长性能降低可能是因其影响养分利用率所致。另一方面，日粮中粗纤维加速营养物质在胃肠道中移动并显著降低营养物质的吸收，从而降低其生物有效性^[14]。相反，也有研究指出饲料纤维水平不会影响鱼类的生长^[4, 15]。这些结果的差异与实验鱼、实验饲料以及纤维来源有关。因此，饲料中纤维素究竟通过什么途径影响鱼类的生长值得深入探讨。

3.2 饲料纤维水平对建鲤血浆生化指标的影响

通常血液生化指标可以反映机体的营养水平、健康状况和生长性能^[16]，其中ALT和AST是评价肝功能的主要指标，这些指标的升高往往预示着肝功能受损^[17]。本实验中，建鲤血浆中

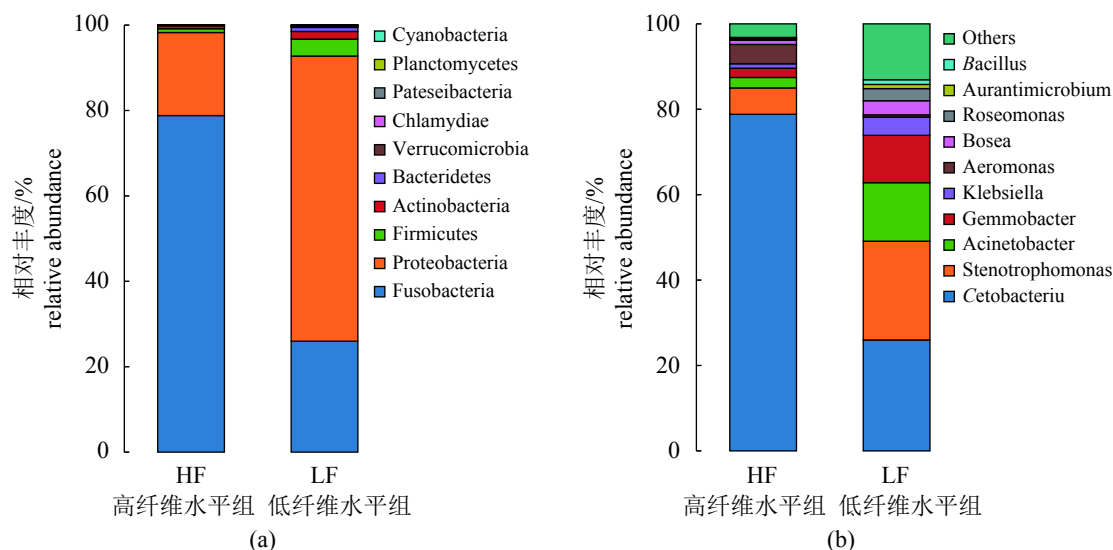


图3 饲料中纤维水平对建鲤肠道菌群门(a)和属水平(b)的相对丰度的影响

Fig. 3 Effect of dietary fiber levels on the relative abundance of microbes at phylum level (a) and at genus level(b) in *C. carpio* var. *jian*

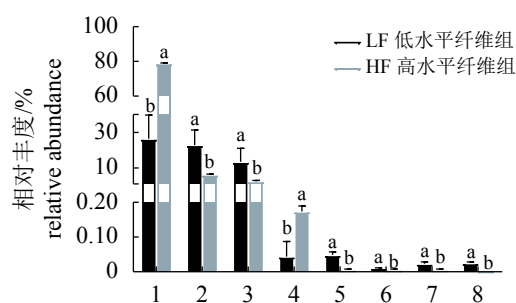


图4 建鲤肠道微生物群落的MetaStat分析

Fig. 4 MetaStat analysis of microbial community in *Jian* carp

1. *Stenotrophomonas*; 2. *Cetobacterium*; 3. *Acinetobacter*; 4. *Pelomonas*; 5. *Rubellimicrobium*; 6. *Actinotalea*; 7. *Brevibacterium*; 8. *Leucobacter*

ALT和AST活性明显受到饲料纤维水平的影响, 这表明纤维水平会影响鱼的肝脏功能。摄食8.8%水平纤维的饲料后, 建鲤血浆中ALT和AST活性明显降低, 说明适宜的饲料纤维能够在一定程度上改善肝脏健康。同时, 本实验发现饲料补充大豆纤维可以降低建鲤血脂(TG、TC)含量, 表明动物饲料中粗纤维水平超过耐受程度后, 可以改善血脂代谢, 这可能是刺激了肝脏CPT1和PPAR- α 表达, 促进了脂肪酸的氧化分解所致。在建鲤^[18]、黄河鲤^[19]和生长猪^[20]上的研究同样发现饲料纤维能够降低动物的血脂含量, 相反纤维水平不会影响欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)血清TG含量^[4]。也有研究认为日粮纤维降

低血清胆固醇和甘油三酯, 是因为日粮纤维能够吸附胆汁酸、胆固醇等有机分子, 阻止脂肪和胆固醇的再吸收, 从而影响了脂类的代谢^[21]。已有研究证明纤维素还具有降低血糖的作用^[22]。本实验也同样发现血浆GLU含量也随饲料纤维水平的增加而降低, 可能是纤维水平增加致使动物机体的GLU利用受阻, 这与在生长猪^[20]上的研究结果一致。本研究结果中建鲤血浆GLU含量高于蒋余等^[18]的研究结果, 可能与饲料组成、纤维水平有关。饲料高水平纤维(15.8%)降低建鲤血浆GLU含量, 一定程度上说明添加过量的大豆纤维能够减弱肠道对GLU的消化吸收作用, 建鲤生长性能降低也正好印证了这一观点。然而, Bonvini等^[4]的研究发现饲料纤维水平对欧洲鲈的血糖不产生任何影响。究竟粗纤维是如何影响鱼类糖脂代谢, 目前还不很清楚。

3.3 饲料纤维水平对建鲤肠道健康的影响

肠道是鱼类重要的消化吸收器官, 鱼类肠道微生态系统中肠道结构是否完整及肠道微生物是否维持稳态, 直接影响着鱼体的消化吸收、防御及生长发育^[23]。肠道的结构形态和机能的强弱与鱼类对饲料的利用效率以及能否充分发挥生长潜能息息相关。建鲤摄食不同水平纤维饲料后, 肠道形态结构受到明显的影响, 尤其是饲料中高水平纤维(15.8%)会严重损伤中肠、后肠绒毛数量、高度和杯状细胞, 进一步

证实了纤维水平会影响建鲤对营养物质的吸收能力, 从而阻碍建鲤的正常生长。这与在金头鲷(*Sparus aurata*)^[24]、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[25]和斑马鱼(*Danio rerio*)^[26]上的研究结果一致, 同样在猪^[27]、鸡^[28]和小鼠^[29]上也有类似的报道。肠道黏膜形态的变化实际上是对纤维素刺激的一种适应性反应。这些研究表明, 饲料纤维水平抑制动物生长的原因可能是降低养分消化吸收功能所致。然而, Bonvini等^[4]研究指出纤维水平不会破坏欧洲鲈的肠道结构, 即使饲料中纤维素水平达到15.5%, 纤维含量同样不会损伤斑马鱼肠道功能^[26]。因此, 日粮纤维的特性、来源与肠道黏膜结构和功能的改善密切相关。

肠道微生物的稳态对维持宿主的生长或生产、营养和健康具有重要作用。鱼类的肠道菌群在其生长发育过程中参与重要的生理活动, 与鱼类的健康生长密切相关。大量研究证实, 饲料组成会影响鱼类肠道菌群的结构和肠道的健康状况^[30-34], 这些结果表明鱼类肠道菌群结构的形成和相似性与饵料成分紧密相关。最近研究指出, 饲料中纤维素含量也能够影响猪^[35]、鹅^[36]、兔^[37]和大鼠^[38]肠道微生物组成, 本实验结果同样发现, 饲料纤维素含量可以调节建鲤肠道菌群结构, 这表明肠道微生物对饲料结构(纤维素含量)的改变极为敏感, 细菌群落结构在短期内即做出响应。也提示我们, 饲粮纤维素对动物肠道细菌多样性的影响不仅与纤维类型^[35]有关, 还与其剂量^[36]相关。摄食不同纤维水平饲料, 建鲤肠道菌群中优势菌群种类相同, 其门水平上的优势菌门为梭杆菌门和变形菌门, 与Wu等^[31]研究脊椎动物肠道菌群的优势菌门相似。可以推测梭杆菌门和变形菌门为建鲤幼鱼肠道内的固有菌群; 其属水平上鲸杆菌属、链球菌属、不动杆菌属和芽殖杆菌属为优势菌属, 其中鲸杆菌属占据绝对优势。研究结果表明, 高纤维水平可以降低建鲤肠道不动杆菌属的相对丰度, 增加鲸杆菌属的相对丰度。鲸杆菌属是在淡水鱼肠道中常见的革兰氏阴性菌^[39-41], 可产生维生素B₁₂^[40], 也可以产生醋酸^[41], 进而促进蛋白质及碳水化合物和脂肪的代谢。而不动杆菌属多为病原菌^[42]。研究结果进一步证实, 投喂大豆纤维饲料后, 建鲤肠道中许多跟致病相关的潜在病原菌的丰度降低, 而潜在有益菌

的丰度上调, 这在一定程度上缓解了肠道黏膜的破损和在营养代谢过程中可能起重要调控作用。这可以推测低水平纤维饲料导致建鲤生长性能下降可能与其降低肠道微生物丰度和多样性有一定的关系(8.8%纤维水平样品损失, 未测定微生物)。相反, 高水平纤维(15.8%)饲料能够促进有益微生物的生长, 但并没有改善建鲤的生长性能(同8.8%纤维水平相比), 这可能是高水平纤维对建鲤肠道结构的破坏影响了其营养物质的吸收利用, 前面的结果也证实了这个推断。由此可见, 饲料纤维与鱼类肠道结构、肠道微生物之间的复杂关系仍然需深入研究。

本实验发现, 饲料纤维水平会影响建鲤的代谢和肠道健康, 进而影响其生长性能。饲料中补充大豆纤维可以促进鱼体糖脂代谢, 改善肝功能, 还可以调节肠道菌群结构, 促进其道健康发育, 维持肠道环境的稳态, 进而提高其生长性能。以SGR为指标, 建鲤饲料中适宜的纤维素水平建议为9.19%。纤维素作为水产饲料的化学益生元, 其适宜补充是必要的, 但关于纤维素对建鲤肠道菌群结构及变化规律的影响有待深入研究。本实验结果可为评估纤维素对鱼类生理代谢的影响及进一步评估纤维素在水产饲料中的应用提供参考。

参考文献:

- [1] Carrera-Bastos P, Fontes-Villalba M, O'Keefe J H, *et al.* The western diet and lifestyle and diseases of civilization[J]. Research Reports in Clinical Cardiology, 2011, 2: 15-35.
- [2] Jha R, Berrocso J F D. Dietary fiber and protein fermentation in the intestine of swine and their interactive effects on gut health and on the environment: A review[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 212: 18-26.
- [3] Yarahmadi P, Kolangi Miandare H, Farahmand H, *et al.* Dietary fermentable fiber upregulated immune related genes expression, increased innate immune response and resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) against *Aeromonas hydrophila*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 41(2): 326-331.
- [4] Bonvini E, Bonaldo A, Parma L, *et al.* Feeding European sea bass with increasing dietary fibre levels: impact on growth, blood biochemistry, gut histology, gut

- evacuation[J]. *Aquaculture*, 2018, 494: 1-9.
- [5] National Research Council (NRC). Committee on the nutrient requirements of fish and shrimp, nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington, D. C., USA, 2011.
- [6] Altan O, Korkut A Y. Apparent digestibility of plant protein based diets by European Sea bass *Dicentrarchus labrax* L., 1758[J]. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2011, 11: 87-92.
- [7] Adorian T J, Goulart F R, Mombach P I, *et al.* Effect of different dietary fiber concentrates on the metabolism and indirect immune response in silver catfish[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 215: 124-132.
- [8] Ashraf M, Abbas S, Hafeez-ur-Rehman M, *et al.* Effect of different levels of A-cellulose on growth and survival of rohu (*Labeo rohita*) fingerlings[J]. *Global Journal Animal Scientific Research*, 2014, 2(4): 321-326.
- [9] Dioundick O B, Stom D I. Effects of dietary α -cellulose levels on the juvenile tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters)[J]. *Aquaculture*, 1990, 91(3-4): 311-315.
- [10] Goulart F R, Da Silva L P, Loureiro B B, *et al.* Effects of dietary fibre concentrates on growth performance and digestive enzyme activities of jundiá (*Rhamdia quelen*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(2): 358-366.
- [11] Hilton J W, Atkinson J L, Slinger S J. Effect of increased dietary fiber on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1983, 40(1): 81-85.
- [12] Glencross B. The influence of soluble and insoluble lupin non-starch polysaccharides on the digestibility of diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2009, 294(3-4): 256-261.
- [13] Lekva A, Hansen A C, Rosenlund G, *et al.* Energy dilution with α -cellulose in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) juveniles: effects on growth, feed intake, liver size and digestibility of nutrients[J]. *Aquaculture*, 2010, 300(1-4): 169-175.
- [14] Ward A T, Reichert R D. Comparison of the effect of cell wall and hull fiber from canola and soybean on the bioavailability for rats of minerals, protein and lipid[J]. *The Journal of Nutrition*, 1986, 116(2): 233-241.
- [15] Bou M, Todorčević M, Fontanillas R, *et al.* Adipose tissue and liver metabolic responses to different levels of dietary carbohydrates in gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2014, 175: 72-81.
- [16] Bonaldo A, Di Marco P, Petochi T, *et al.* Feeding turbot juveniles *Psetta maxima* L. with increasing dietary plant protein levels affects growth performance and fish welfare[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, 21(4): 401-413.
- [17] Sheikhzadeh N, Tayefi-Nasrabadi H, Oushani A K, *et al.* Effects of Haematococcus pluvialis supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(2): 413-419.
- [18] 蒋余, 赵鹏飞, 陈拥军, 等. 发酵豆渣对建鲤生长性能、血浆生化指标和抗氧化能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(4): 1387-1395.
- Jiang Y, Zhao P F, Chen Y J, *et al.* Effects of fermented soybean residue on growth performance, plasma biochemical indexes and antioxidant capacity of Jian Carp[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(4): 1387-1395(in Chinese).
- [19] 王成章, 何云, 史莹华, 等. 饲料中添加苜蓿草粉对黄河鲤鱼抗氧化性能及脂质代谢的影响[J]. *草业学报*, 2008, 17(4): 141-148.
- Wang C Z, He Y, Shi Y H, *et al.* Effect of adding alfalfa meal in diet on antioxidant function and lipid metabolism of *Cyprinus carpio haematopterus*[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2008, 17(4): 141-148(in Chinese).
- [20] 安亚辉, 曹洪战, 苗玉涛, 等. 饲料粗纤维水平对生长育肥期深县猪生长性能、营养物质表观消化率和血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(9): 4371-4377.
- An Y H, Cao H Z, Miao Y T, *et al.* Effects of dietary crude fiber level on growth performance, nutrient apparent digestibility and serum biochemical indexes of growing and finishing *Shenxian* pigs[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(9): 4371-4377(in Chinese).
- [21] Trowell H. Definition of dietary fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1976, 29(4): 417-427.
- [22] Johansen H N, Bach knudsen K E. Effects of reducing the starch content in oat-based diets with cellulose on Jejunal flow and absorption of glucose over an isolated loop of jejunum in pigs[J]. *British Journal of Nutrition*,

- 1994, 72(5): 717-729.
- [23] De Schryver P, Vadstein O. Ecological theory as a foundation to control pathogenic invasion in aquaculture[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(12): 2360-2368.
- [24] Dimitroglou A, Lee Merrifield D, Spring P, *et al.* Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)[J]. *Aquaculture*, 2010, 300(1-4): 182-188.
- [25] Salze G, McLean E, Schwarz M H, *et al.* Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval cobia[J]. *Aquaculture*, 2008, 274(1): 148-152.
- [26] Leigh S C, Nguyen-Phuc B Q, German D P. The effects of protein and fiber content on gut structure and function in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2018, 188(2): 237-253.
- [27] 吴维达, 解竞静, 张宏福. 不同日粮纤维对生长猪养分消化率和肠道结构形态的影响[J]. *畜牧与兽医*, 2016, 48(6): 57-60.
- Wu W D, Xie J J, Zhang H F. Effects of the different dietary fiber on nutrients digestibility and intestinal morphology[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2016, 48(6): 57-60(in Chinese).
- [28] Xu Z R, Hu C H, Xia M S, *et al.* Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers[J]. *Poultry Science*, 2003, 82(6): 1030-1036.
- [29] Kim M. The water-soluble extract of chicory affects rat intestinal morphology similarly to other non-starch polysaccharides[J]. *Nutrition Research*, 2002, 22(11): 1299-1307.
- [30] McIntosh D, Ji B J, Forward B S, *et al.* . Culture-independent characterization of the bacterial populations associated with cod (*Gadus morhua* L.) and live feed at an experimental hatchery facility using denaturing gradient gel electrophoresis[J]. *Aquaculture*, 2008, 275(1-4): 42-50.
- [31] Wu S G, Wang G T, Angert E R, *et al.* Composition, diversity, and origin of the bacterial community in grass carp intestine[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30440.
- [32] Ingerslev H C, von Gersdorff Jørgensen L, Strube M L, *et al.* The development of the gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is affected by first feeding and diet type[J]. *Aquaculture*, 2014, 424-425: 24-34.
- [33] Reveco F E, Øverland M, Romarheim O H, *et al.* Intestinal bacterial community structure differs between healthy and inflamed intestines in atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquaculture*, 2014, 420-421: 262-269.
- [34] Zhang M L, Sun Y H, Chen K, *et al.* Characterization of the intestinal microbiota in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed diets with different lipid sources[J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 449-455.
- [35] Chen H, Mao X B, Chen L Q, *et al.* Impact of fiber types on gut microbiota, gut environment and gut function in fattening pigs[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 195: 101-111.
- [36] 胥蕾, 李彦品, 谢燕娟, 杨海明, 王志跃. 饲料粗纤维水平对1~28日龄仔鹅盲肠微生物区系的影响[J/OL]. *动物营养学报*: 1-10[2019-09-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.5461.S.20190805.1019.046.html>.
- [37] Bellier R, Gidenne T. Consequences of reduced fibre intake on digestion, rate of passage and caecal microbial activity in the young rabbit[J]. *British Journal of Nutrition*, 1996, 75(3): 353-363.
- [38] Snart J, Bibiloni R, Grayson T, *et al.* Supplementation of the diet with high-viscosity beta-glucan results in enrichment for lactobacilli in the rat cecum[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3): 1925-1931.
- [39] Larsen A M, Mohammed H H, Arias C R. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warmwater fish species[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2014, 116(6): 1396-1404.
- [40] Tsuchiya C, Sakata T, Sugita H. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 46(1): 43-48.
- [41] Li T T, Long M, Gatesoupe F J, *et al.* Comparative analysis of the intestinal bacterial communities in different species of carp by pyrosequencing[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(1): 25-36.
- [42] Sahl J W, Del Franco M, Pournaras S, *et al.* Phylogenetic and genomic diversity in isolates from the globally distributed *Acinetobacter baumannii* ST25 lineage[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 15188.

Effects of dietary fiber levels on growth, biochemical indexes and intestinal health of *Cyprinus carpio* var. *jian*

KUANG Wenming, MA Huijia, ZHONG Yunfei, ZHOU Yuelang,
CHEN Yongjun, LUO Li, LIN Shimei *

(Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: An 8-week feeding trial was conducted to evaluate the effects of dietary fiber on growth performance, plasma biochemical indexes, intestinal histology, and structure of intestinal bacteria of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*). Five isonitrogenous and isolipidic diets were formulated to contain 1.8%, 5.2%, 8.8%, 12.2% and 15.8% cellulose, respectively. The results indicated that Jian carp fed the diets containing 8.8% fiber had significantly higher weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) and protein efficiency ratio (PER) than those fed the other fiber diets, while plasma alanine aminotransferase (ALT) and aspartate transaminase (AST) activities significantly decreased. Viscerosomatic index (VSI), hepatosomatic index (HSI), triglyceride (TG), total cholesterol (TC) and glucose (GLU) contents significantly decreased with increasing dietary fiber levels. Compared to the control, the carnitine palmitoyltransferase I (CPT-1), adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK) and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR- α) activities in liver significantly increased in fish fed the diets with 5.2%, 8.8% or 12.2% fiber levels. Moreover, the histological structures of midgut and hindgut were impaired in fish with 15.8% fiber, and the intestinal microbial ecosystem investigation showed a beneficial effect at a higher supplemental level (15.8%), and improvement in liver histology at high fiber levels. These findings indicated that dietary fiber levels could improve liver function and intestinal health of Jian carp; also, higher dietary fiber levels have a positive impact and decrease the potential risk of disease in Jian carp. Based on SGR, a dietary fiber level of 9.19% was optimal for growth performance of juvenile Jian carp.

Key words: *Cyprinus carpio* var. *jian*; fiber levels; growth; biochemical indexes; health

Corresponding author: LIN Shimei. E-mail: linsm198@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31672659); Science and Technology Council of Chongqing, China (cstc2017shmsxdny80012); Chongqing Ecological Fishing Industry Technical System (2018)