



VD₃ 对高糖日粮饲养黄鳝存活率及糖代谢能力的影响

罗天伦¹, 吴杉杉¹, 李加敏¹, 沈凯凯², 方鹏¹, 蒋家威¹, 彭墨^{1*}

(1. 江西农业大学动物科学技术学院, 江西 南昌 330045;

2. 南昌大学生命科学学院, 江西 南昌 330031)

摘要: 为研究 VD₃ 对高糖饲料喂养下黄鳝存活率及糖代谢的影响, 实验选取健康的黄鳝幼鱼 [初始体重 (17.13±0.08) g] 为实验对象, 随机分为 3 组, 每组 4 个重复, 每个重复 60 尾鱼, 分别投喂正常糖水平、高糖水平和高糖水平添加 2 000 IU/kg 维生素 D₃ (分别命名 CON 组、HC 组和 HCVD₃ 组) 的 3 种等氮等脂饲料, 进行为期 8 周的养殖实验。结果显示, 各实验组生长性能及体成分均无显著影响; HC 组存活率 (82.22%) 显著下降, 添加 VD₃ 后, 存活率 (88.89%) 显著提高, 且与 CON 组 (90.42%) 无显著差异。HCVD₃ 组脏器指数和肥满度较 HC 组均显著上升。血清谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 含量在 HC 组达到最大值; 血清甘油三酯 (TG) 含量在 HCVD₃ 组达到最大值。肠道淀粉酶和胰蛋白酶的活性 HC 组显著低于其他各组, 而胰蛋白酶活性显著高于其他各组。HC 组黄鳝肝脏中糖原含量 (124.45 mg/g) 较 CON 组 (99.55 mg/g) 显著升高, 己糖激酶 (HK) 和磷酸果糖激酶 (PFK) 活性也显著升高; HCVD₃ 组肝糖原含量 (89.44 mg/g) 较 HC 组显著下降, 且 PFK 活性显著高于 HC 组。肌肉 PFK 活性在 HCVD₃ 组达到最高值。HC 组黄鳝肝脏和肠道过氧化氢酶 (CAT) 活性均显著低于 CON 组, 添加 VD₃ 后, 总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 均显著升高, 丙二醛 (MDA) 活性均显著降低。HCVD₃ 组黄鳝肠道促炎细胞因子 (*IL-1β*、*MyD88*)、抗炎细胞因子 (*IL-10*) 和肠道紧密连接蛋白基因 (*ZO-1*、*ZO-2*、*Claudin-12*) 相对表达量显著优于 HC 组。研究表明, 在本实验条件下, 高糖 (35%) 日粮会显著降低实验鱼的存活率、增加肝糖原积累、降低其抗氧化能力并破坏肠道健康; 而高糖饲料中添加 2 000 IU/kg VD₃ 后, 可通过增强鱼体抗氧化能力和免疫力改善肠道屏障功能, 进而提高鱼体存活率; 此外, 高糖饲料中添加 VD₃ 会增强鱼体对糖的利用能力。本研究可为黄鳝的糖代谢调控和人工饲料的配制提供基础理论依据和指导。

关键词: 黄鳝; VD₃; 糖代谢; 抗氧化能力; 肠道健康

中图分类号: S 963.73⁺¹

文献标志码: A

鱼粉是肉食性鱼类的优质蛋白源, 但因其资源短缺和需求攀升等导致其价格居高不下, 限制了水产养殖业的可持续发展。糖类是最廉价的饲料原料, 在水产饲料中提高糖水平能起到降低成本和节约蛋白的作用^[1]。因此, 高糖饲料在水产行业得以广泛应用。但饲料中过高的糖水平会严

重影响鱼类的生长和生理代谢, 如抑制鱼体生长^[2]、增高血糖^[3]和肝糖原^[4]含量、损害肝脏健康^[5-6]等。

维生素 D₃ 是一种重要的脂溶性维生素。近年来研究发现, 维生素 D₃ 除了具有传统的调节钙磷代谢的作用外, 其对糖尿病也具有积极的影响,

收稿日期: 2024-02-28 修回日期: 2024-05-15

资助项目: 国家自然科学基金 (31960732); 江西省“双千计划”科技创新高端人才 (青年) 项目 (jxsq2019201081)

第一作者: 罗天伦 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 2499054254@qq.com

通信作者: 彭墨, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: pengmowell@jxau.edu.cn



主要表现在调控胰岛素敏感性、增强机体免疫能力及降低氧化应激等方面^[7-8]。此外, 在鱼类中也有一些相关的研究报道, 当饲料中维生素含量缺乏时, 异育银鲫^[9](*Carassius auratus gibelio*)和吉富罗非鱼^[10](GIFT *Oreochromis niloticus*)生长效率下降。对西伯利亚鲟^[11](*Acipenser baerii*)、大口黑鲈^[12](*Micropterus salmoides*)和青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)^[13]的研究表明, 适宜含量的维生素 D₃ 可显著改善鱼体的生长性能。在金头鲷(*Sparus aurata*)幼鱼的饲料中添加维生素 D₃, 可对鱼体的骨骼正常生长产生积极影响^[14]。此外, 适量的维生素 D₃ 可提高黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)的免疫能力^[15]。然而, 在高糖日粮中补充一定的维生素 D₃ 能否起到缓解鱼体因高糖带来的不良反应还未可知, 相关研究还需进一步开展。

黄鳝(*Monopterus albus*)是我国重要的淡水名优鱼类之一, 因含肉率高、味道鲜美、营养价值丰富而备受人们青睐^[16]。肉食性鱼类的糖利用能力较弱^[17], 且团队前期研究结果发现, 黄鳝摄食高糖水平的饲料会导致存活率下降及肝脏糖原异常沉积^[18]。而已有研究表明, 维生素 D₃ 有系统调节糖代谢的积极作用^[19]。但目前有关高糖饲料中添加维生素 D₃ 后, 对鱼体生长和生理代谢的影响的研究还未见报道。因此, 本实验以黄鳝为研究对象, 探究在高糖日粮中添加维生素 D₃ 对黄鳝的生长、糖代谢、抗氧化活性及肠道健康的影响, 以期为黄鳝的糖代谢调控和人工饲料的配制提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

本实验以 α 淀粉为糖源, 秘鲁蒸汽鱼粉、鸡肉粉和谷朊粉为复合蛋白源, 豆油和鱼油(1:1, 重量比)为脂肪源, 配制3种等氮(41%粗蛋白)等脂(7%粗脂肪)饲料, 基于团队前期关于淀粉水平的研究^[20], 分别设置含15% α 淀粉的正常糖(CON)饲料、含35% α 淀粉的高糖(HC)饲料、含35% α 淀粉并添加2 000 IU/kg 维生素 D₃(上海麦克林生化科技股份有限公司, 纯度 \geq 98%)的高糖+VD₃(HCVD₃)饲料, 维生素 D₃添加量参考于肉食性鱼类对其最适需求量的研究^[21-23]。饲料原料粉碎后过80目筛, 按配方要求准确称量, 逐级混合均匀; 再加入所需油源进行混合, HCVD₃组

维生素 D₃ 溶于油源混合添加进饲料中, 揉搓均匀后置于-20℃冰柜中保存备用, 实验饲料中维生素 D₃ 含量由南昌大学分析测试中心按照国家标准《饲料中维生素 D₃ 测定标准方案——高效液相色谱法(GBT5009.296—2023)》进行测定。实验饲料原料组成及营养成分见表1。

1.2 饲养与管理

选择规格整齐的野生黄鳝, 在江西省上饶市余干黄鳝养殖场进行池塘网箱(2.0 m \times 1.5 m \times 1.5 m)进行养殖。黄鳝先放入网箱内暂养, 48 h内不投饵料。随之开始驯化, 采用蚯蚓、鱼糜和饲料适量搭配的投喂方式进行饲养。待驯化结束后, 停止投饵料, 对黄鳝进行24 h饥饿处理。然后挑选健康且大小均匀的黄鳝共720尾进行分组, 平均初始体重为(17.13 \pm 0.08) g。实验共3个处理组, 每个处理组设置4个平行组, 共12个网箱, 每网箱放养60尾黄鳝。每天17:00左右投喂1次, 饱食投喂, 投喂量先以黄鳝体重的3%~5%且在0.5 h内摄食完为宜, 再根据黄鳝摄食情况进行添加或收集残饵。养殖实验周期为8周。实验期间, 水温保持在(28 \pm 2)℃, 溶解氧大于6.0 mg/L, 氨氮低于0.5 mg/L。本实验已获得江西农业大学实验动物管理和使用伦理委员会的批准, 严格按照江西农业大学伦理委员会制定的规章制度执行, 实验过程中, 严格遵守江西农业大学伦理规范。

1.3 样品采集和指标测定

养殖实验结束后停饲24 h, 用100 mg/L浓度的MS-222麻醉黄鳝, 然后计数, 称重和采样。每网任意取3尾放入-20℃保存, 用于体营养成分测定; 每网再取4尾进行尾静脉采血, 用2 mL 无菌离心管收集, 置于4℃冰箱中静止过夜, 2 500 r/min离心15 min, 取上层血清置于-80℃冰箱冷冻保存备用。分别称单尾鱼重, 测量体长、内脏团重和肝脏重量。取肝脏、背肌分别收集于1.8 mL冻存管, 液氮速冻, -80℃保存。取(5 mm \times 5 mm)肝脏组织用4%多聚甲醛固定, 24 h后更换固定液, 然后用乙醇脱水, 二甲苯清洗, 然后包埋在石蜡中, 5 μ m厚切片后肝脏用糖原(PAS)染色, 最后用双目生物显微镜BM2000D对肝脏的组织学结果进行观察和拍摄。取肝脏、背肌和前肠分别收集于1.8 mL冻存管, 液氮速冻, -80℃保存。

表 1 实验饲料原料组成及营养成分表

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets

项目 items	组别 groups		
	CON	HC	HCVD ₃
饲料组成/% ingredient			
蒸汽鱼粉 ¹⁾ peruvian steam fishmeal	35.00	35.00	35.00
鸡肉粉 ¹⁾ chicken meal	5.00	5.00	5.00
谷朊粉 ¹⁾ wheat gluten	18.31	18.31	18.31
α淀粉 ¹⁾ α starch	15.00	35.00	35.00
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	20.50	0.50	0.50
鱼油 fish oil	1.50	1.50	1.50
豆油 soybean oil	1.50	1.50	1.50
磷酸二氢钙 calcium dihydrigen	1.50	1.50	1.50
氯化胆碱 choline chloride	0.50	0.50	0.50
维生素预混料 ²⁾ vitamin premix	0.15	0.15	0.15
矿物质预混料 ³⁾ mineral premix	1.00	1.00	1.00
乙氧基喹啉 ethoxyquin	0.01	0.01	0.01
丙酸钙 calcium propanoate	0.03	0.03	0.03
总计 total	100.00	100.00	100.00
营养成分 nutrient composition			
粗蛋白/% crude protein	41.61	41.57	41.80
粗脂肪/% rcude lipid	6.90	7.26	6.82
灰分/% ash	9.15	8.91	9.19
维生素D ₃ /(IU/kg) vitamin D ₃	508	512	2 510

注: 1) 干物质(%)为蒸汽鱼粉含粗蛋白 67, 粗脂肪 8.4; 鸡肉粉含粗蛋白 65, 粗脂肪 10; 谷朊粉含粗蛋白 79.66, 粗脂肪 2; α淀粉含粗蛋白 0.74, 粗脂肪 0.19。2) 维生素预混料(mg/kg或IU/kg饲料)含维生素B₁ 12; 核黄素 12; 维生素B₆ (盐酸吡哆醇) 8; 维生素B₁₂ 0.05; 维生素K₃ 8; 肌醇 100; 泛酸钙(维生素B₃) 40; 烟酸 50; 叶酸 5; 生物素 0.8; 维生素A 25; 维生素D₃ 5; 维生素E 50; 维生素C 100; 乙氧基喹啉 150; 小麦粉 2 434.15; 3) 矿物质预混料(mg/kg饲料)含氯化钾 200; 碘化钾(1%) 60; 六水氯化钴(1%) 50; 五水硫酸铜 30; 一水硫酸亚铁 400; 一水硫酸锌 400; 一水硫酸锰 150; 五水亚硒酸钠(1%) 65; 一水硫酸镁 2 000; 沸石粉 3 645.85。

Notes: 1) Composition of dry matter (%) was Peruvian steam fish mea, contain crude protein 67, crude lipid 8.4; chicken meal contain crude protein 65, crude lipid 10; wheat gluten contain crude protein 79.66, crude lipid 2; α starch contain crude protein 0.74, crude lipid 0.19. 2) Vitamin premix(mg/kg or IU/kg diet) contain VB₁ 12; riboflavin 12; VB₆ 8; VB₁₂ 0.05; VK₃ 8; inositol 100; pantothenic acid 40; nicotinic acid 50; folic acid 5; biotin 0.8; VA 25; VD₃ 5; VE 50; VC 100; ethoxyquin 150; wheat meal 2 434.15. 3) Mineral premix (mg/kg diet) contain KCl 200; KI (1%) 60; CoCl₂ 6H₂O (1%) 50; CuSO₄ 5H₂O 30; FeSO₄ H₂O 400; ZnSO₄ H₂O 400; MnSO₄ H₂O 150; Na₂SeO₃ 5H₂O (1%) 65; MgSO₄ H₂O 2 000; zeolite power 3 645.85.

水分含量测定采用 105 °C 恒温烘干法 (GB/T 6435—2014); 粗蛋白测定采用凯氏定氮法 (GB/T

6432—1 994); 粗脂肪测定采用索氏抽提法 (GB/T 6433—206); 灰分测定采用马弗炉高温灼烧法 (GB/T 6438—227)。

血清葡萄糖 (GLU)、总胆固醇 (CHOL)、甘油三酯 (TG)、总蛋白 (TP)、谷草转氨酶 (AST) 和谷丙转氨酶 (ALT) 的测定使用贝克曼 AU480 生化分析仪以及配套的试剂盒。

准确称量肝脏、背肌和前肠组织样品, 加入 9 倍体积的生理盐水, 在冰浴条件下机械匀浆 5 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进行酶活性测定。葡萄糖-6-磷酸酶 (G6Pase)、果糖-1,6-二磷酸酶 (FBPase)、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 使用江苏酶标生物技术公司 ELISA 试剂盒。己糖激酶 (HK)(A077-3-1, 分光光度法)、磷酸果糖激酶 (PFK)(A129-1-1, 紫外比色法)、丙酮酸激酶 (PK)(A076-1-1, 紫外比色法)、糖原 (A043-1-1, 比色法)、α 淀粉酶 (C016-1-1, 淀粉-碘比色法)、脂肪酶 (A054-2-1, 微板法) 和胰蛋白酶 (A080-2-2, 紫外比色法) 的测定均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。

总超氧化物歧化酶 (T-SOD)(A001-1, 羟胺法)、过氧化氢酶 (CAT)(A007-1-1, 钼酸铵法) 和丙二醛 (MDA)(A003-1, TBA 法) 的测定均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。以上组织酶活性均用比活性表示。

肠道总 RNA 使用 TRIzol 试剂 (TaKaRa, 日本) 提取, 使用 NanoDrop2 000 超微量分光光度计 (Thermo Fisher, 美国) 测定总 RNA 浓度。随后使用 PrimeScript™ 反转录试剂盒 (TaKaRa, 日本) 合成 cDNA, 并用 DEPC 水进行稀释后置于 -20 °C 保存备用。实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 反应体系为 20 μL, 其中上下游引物各 0.4 μL、cDNA 1 μL、10 μL 2×SYBR qPCR Mix(TaKaRa, 日本) 和无酶水 8.2 μL。定量仪器为实时定量 PCR 仪 (Bio-rad-CFX96)。RT-PCR 的程序为 94 °C 预变性 30 s; 94 °C 变性 5 s; 55~60 °C 退火 72 min, 72 °C 延伸 10 s, 40 个循环, 之后形成熔解曲线。引物序列于 NCBI 设计 (表 2)。通过定量 PCR 得出每对引物每个浓度 cDNA 的 C_t 值, 目的基因的相对 mRNA 表达归一化到 β-actin(内参基因), 并使用 2^{-ΔΔC_t} 法测定。

1.4 计算公式和统计分析

增重率 (WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初

表 2 黄鳝实时定量 PCR 引物

Tab. 2 quantitative primer of *M. albus*

目的基因 target gene	上游引物(5'-3') forward(5'-3')	下游引物(5'-3') reverse(5'-3')	登录号 accession no.
<i>IL-1β</i>	AGAGTTTGGTGAAGAAGAGG	TTATTGTGGTTACGCTGGA	XM_020585780.1
<i>IL-10</i>	AATCCCTTTGATTTTGCC	GTGCCCTTATCCTACAGTATGTG	XM_020593114.1
<i>MyD88</i>	GTAAGAGGATGGTGGTGGTGA	CAAGATGCTGGGAAATGGC	XM_020602285.1
<i>ZO-1</i>	GGCATCATCCCAACAAA	GCGAAGACCACGGAACCT	XM_020606626.1
<i>ZO-2</i>	AGCCGAGGTCGCACTTTA	GCTTTGCTTCTGTGGTTGAT	XM_020621520.1
<i>Claudin-12</i>	TCACCTTCAATCGCAACG	ATGTCTGGCTCAGGCTTATCT	XM_020607277.1
<i>β-actin</i>	GCGTGACATCAAGGAGAAGC	CTCTGGCAACGGAACCTCT	AY345056

始体重×100%;

特定生长率 (SGR, %/d)=(ln 终末体重-ln 初始体重)/投喂天数×100%;

饲料转化率 (FCR, %)= [饲料投喂量/(终末体重-初始体重)]×100%;

存活率 (%)=(终末尾数/初始尾数)×100%;

肝体指数 (HSI, %)=(肝重/体重)×100%;

脏体指数 (VSI, %)=(内脏重/体重)×100%;

肥满度 (CF, g/cm³)=(体重/体长³)×100。

结果采用平均值±标准误 (mean±SE, n=4) 表示, 用 SPSS 23.0(SPSS, IL, 美国) 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 的基础上, 再作 Duncan 氏多重比较分析。当 P<0.05 时表示差异显著。

2 结果

2.1 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝生长性能和全鱼体组成的影响

黄鳝的生长性能结果显示, 相较于 CON组

(90.42%), HC 组 (82.22%) 黄鳝成活率显著下降 (P<0.05), 在高糖日粮中添加 VD₃ 后, HCVD₃ 组黄鳝成活率 (88.89%) 显著上升 (P<0.05) 表 3。各组间末均重、增重率、特定生长率和饲料转化率均无显著变化 (P>0.05)。与 CON 组相比, HC 组的肝体指数、脏体指数和肥满度均无显著差异 (P>0.05)。而相比于 HC 组, HCVD₃ 组脏体指数和肥满度均显著性上升 (P<0.05), 但肝体指数无显著差异 (P>0.05)。各组间黄鳝的全鱼体成分无显著差异 (P>0.05) (表 4)。

2.2 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝血清生化指标的影响

血清生化指标结果显示, 各组间血清总胆固醇含量无显著性变化 (P>0.05); HC 组总蛋白含量 (58.20 g/L) 显著高于 CON 组 (50.55 g/L) (P<0.05), 在添加 VD₃ 后, HCVD₃ 组总蛋白含量 (41.85 g/L) 显著下降 (P<0.05); HC 组谷丙转氨酶含量 (4.58 U/L) 显著高于 CON 组 (2.03 U/L)(P<0.05), 与 HCVD₃ 组 (3.20 U/L) 无显著差异 (P>0.05), HCVD₃ 组谷草转氨酶含量 (21.90 U/L) 显著低于 HC 组 (35.93 U/L)

表 3 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝生长性能的影响

Tab. 3 Effects of high carbohydrate diet supplemented with VD₃ on growth performance of *M. albus*

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
初均重/g IBW	17.09±0.06	17.14±0.04	17.12±0.03
末均重/g FBW	51.40±1.19	53.36±2.39	53.60±2.24
增重率/% WGR	200.83±7.15	211.69±13.91	213.17±13.15
特定生长率(/%d) SGR	1.97±0.04	2.03±0.08	2.03±0.08
成活率/% SR	90.42±0.80 ^b	82.22±1.47 ^a	88.89±2.00 ^b
饲料转化率/% FCR	1.41±0.05	1.48±0.05	1.32±0.07
肝体指数/% HSI	3.56±0.07 ^a	3.64±0.09 ^{ab}	3.93±0.08 ^b
脏体指数/% VSI	7.84±0.29 ^a	7.74±0.06 ^a	9.48±0.30 ^b
肥满度/(10 ⁻³ g/cm ³) CF	21.17±0.46 ^a	21.26±0.30 ^a	22.95±0.51 ^b

注: 每一行不同字母表示组间差异显著(P>0.05), 下同。

Notes: The same line with the different letters indicate significant differences between groups (P<0.05), the same below.

表 4 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝体营养成分的影响

Tab. 4 Effects of VD₃ in high carbohydrate diet on body nutrients of *M. albus* %

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
水分 moisture	75.29±0.34	74.61±0.31	74.38±0.45
粗蛋白 crude protein	17.49±0.34	17.47±0.13	16.81±0.71
粗脂肪 crude lipid	4.35±0.24	4.43±0.39	5.10±0.26
灰分 ash	2.34±0.14	2.72±0.24	2.32±0.06

($P<0.05$); HCVD₃ 组甘油三酯含量 (4.05 mmol/L) 显著高于 CON 组 (0.80 mmol/L) 和 HC 组 (1.53 mmol/L) ($P<0.05$); HC 组葡萄糖含量显著高于 CON 组 ($P<0.05$), 与 HCVD₃ 组无显著差异 ($P>0.05$) (表 5)。

表 5 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝血清生化指标的影响

Tab. 5 Effects of VD₃ in high carbohydrate diet on serum physiological and biochemical indices of *M. albus*

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
总蛋白/(g/L) TP	50.55±3.08 ^b	58.20±2.67 ^c	41.85±0.30 ^a
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	2.03±0.34 ^a	4.58±0.58 ^b	3.20±0.20 ^{ab}
谷草转氨酶/(U/L) AST	28.38±1.41 ^{ab}	35.93±4.67 ^b	21.90±1.90 ^a
总胆固醇/(mmol/L) CHOL	3.43±0.22	3.66±0.15	3.68±0.10
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.80±0.13 ^a	1.53±0.08 ^b	4.05±0.10 ^c
葡萄糖/(mmol/L) GLU	1.96±0.24 ^a	3.94±0.46 ^b	2.93±0.27 ^{ab}

2.3 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝前肠消化酶的影响

消化酶指标结果显示, 相较于 CON 组淀粉酶活性 (0.16 U/mg prot) 和胰蛋白酶活性 (0.52 U/g prot), HC 组淀粉酶活性 (0.08 U/mg prot) 和胰蛋白酶活性 (0.26 U/g prot) 显著降低 ($P<0.05$), 而在

高糖日粮中添加 VD₃ 后, HCVD₃ 组淀粉酶活性 (0.18 U/mg prot) 和胰蛋白酶活性 (0.90 U/g prot) 相较于 HC 组显著升高 ($P<0.05$); HC 组脂肪酶活性显著高于 CON 组 ($P<0.05$), 添加 VD₃ 后, HCVD₃ 组脂肪酶活 (1.25 U/g prot) 性较 HC 组显著降低 ($P<0.05$) (表 6)。

表 6 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝前肠消化酶的影响

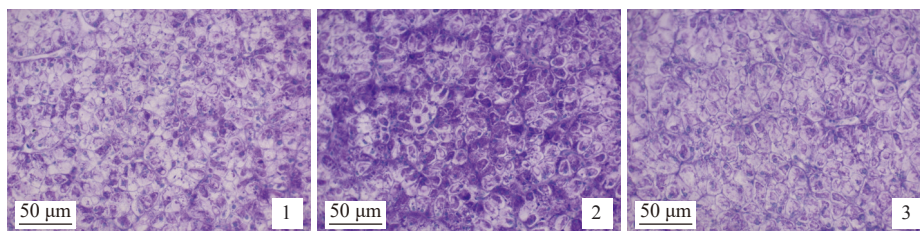
Tab. 6 Effects of VD₃ in high carbohydrate diet on foregut digestive enzymes of *M. albus*

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
淀粉酶/[U/(mg prot)] amylase	0.16±0.01 ^b	0.08±0.01 ^a	0.18±0.02 ^b
脂肪酶/[U/(g prot)] lipase	1.43±0.04 ^a	1.79±0.09 ^b	1.25±0.11 ^a
胰蛋白酶/[U/(g prot)] trypsin	0.52±0.03 ^b	0.26±0.02 ^a	0.90±0.10 ^c

2.4 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝糖代谢的影响

高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝肝脏糖原含量的影响对肝脏组织进行 PAS 染色和糖原含量测定之后, 结果显示, HC 组肝脏呈深紫色, 颜色较 CON 组更深, 且 HC 组的肝脏糖原含量显著高于 CON 组 ($P<0.05$); HCVD₃ 组肝脏组织颜色相较于 HC 组变浅, 颜色与 HCVD₃ 组相近, 且 HCVD₃ 组肝脏糖原含量相较于 HC 组显著降低 ($P<0.05$), 与 CON 组无显著差异 ($P>0.05$) (图版和图 1)。

高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳝肝脏糖代谢的影响结果显示, 在肝脏糖酵解酶活性指标中, 相较于 CON 组, HC 组己糖激酶 (HK)、磷酸果糖激酶 (PFK) 活性显著升高 ($P<0.05$)。在高糖日粮中添加 VD₃ 后, HCVD₃ 组黄鳝 HK 活性相较于 HC 组无显著变化 ($P>0.05$), 但 PFK 活性 (233.59 U/mg prot) 显著高于 HC 组 ($P<0.05$) (表 7)。丙酮酸激酶 (PK) 在各组间均无显著变化 ($P>0.05$)。而在糖异生酶活性指标中, 葡萄糖-6-磷酸酶 (G6Pase)、果糖-1,6-



图版 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝肝脏糖原积累的影响

1. CON 组, 2. HC 组, 3. HCVD₃ 组; PAS 染色 (紫色), 物镜倍数×40。

Plate Effect of VD_3 in high carbohydrate diet on liver glycogen accumulation of *M. albus*

1. CON group, 2. HC group, 3. HCVD₃ group; PAS staining (purple), multiple of objective ×40.

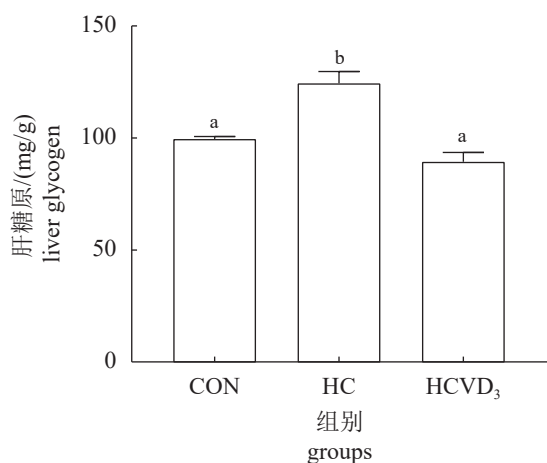


图 1 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝肝脏糖原含量的影响
不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Fig. 1 Effects of high carbohydrate diet supplemented with VD_3 on liver glycogen content of *M. albus*

Different letters indicate significantly difference ($P < 0.05$), the same below.

二磷酸酶 (FBPase) 和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 在 3 个处理组中均无显著改变 ($P > 0.05$)。

高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝肌肉糖代谢的影响结果显示, 在肌肉糖酵解酶活性指标中, 己糖激酶 (HK) 和丙酮酸激酶 (PK) 活性在各组间均无

显著变化 ($P > 0.05$); 磷酸果糖激酶 (PFK) 在 CON 组和 HC 组间无显著改变 ($P > 0.05$), 但 HCVD₃ 组 PFK 活性 (9.80 U/mg prot) 比 HC 组显著提高 ($P < 0.05$) (表 8)。肌肉糖异生相关酶活指标与肝脏表现出一致的结果, 即 3 组间黄鳝肌肉中 3 种酶的活性均无显著变化 ($P > 0.05$)。

2.5 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝肝脏和肠道抗氧化指标的影响

相较于 CON 组, HC 组黄鳝肝脏和肠道总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性显著下降 ($P < 0.05$), 丙二醛 (MDA) 活性显著上升 ($P < 0.05$); 在高糖日粮中添加 VD_3 后, HCVD₃ 组黄鳝肝脏和肠道总超氧化物歧化酶活性 (T-SOD) (28.65、151.73 U/mg prot) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性 (2.02、4.64 U/mg prot) 显著上升 ($P < 0.05$), 丙二醛 (MDA) 活性 (0.09、0.98 nmol/mg prot) 显著下降 ($P < 0.05$) (表 9)。

2.6 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝肠道免疫相关基因表达量的影响

相较于 CON 组, HC 组促炎细胞因子 *IL-1 β* 和 *MyD88* 的表达量均显著上升 ($P < 0.05$), 抗炎细胞因子 *IL-10* 表达量显著下降 ($P < 0.05$); 而在高糖

表 7 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝肝脏糖代谢酶活性的影响

Tab. 7 Effects of VD_3 addition to high-carbohydrates diet on enzyme activity of liver glucose metabolism in *M. albus*

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
糖酵解 glycolysis			
己糖激酶/(U/g prot) HK	93.89±21.20 ^a	338.81±31.35 ^b	384.19±18.78 ^b
磷酸果糖激酶/(U/mg prot) PFK	14.39±2.49 ^a	67.22±5.36 ^b	233.59±12.75 ^c
丙酮酸激酶/(U/g prot) PK	10.55±0.86	7.14±1.43	12.56±1.82
糖异生 gluconeogenesis			
葡萄糖-6-磷酸酶/(IU/g prot) G6Pase	4.66±0.58	4.01±0.53	4.90±0.25
果糖-1,6-二磷酸酶/(IU/g prot) FBPase	1.94±0.21	2.07±0.23	1.86±0.13
磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶/(IU/g prot) PEPCK	7.83±1.26	10.11±1.47	8.26±0.77

表 8 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳍肌肉糖代谢酶活性的影响

Tab. 8 Effects of VD₃ addition to high-carbohydrates diet on enzyme activity of muscle glucose metabolism in *M. albus*

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
糖酵解 glycolysis			
己糖激酶/(U/g prot) HK	306.99±4.99	279.41±17.46	260.17±17.3
磷酸果糖激酶/(U/mg prot) PFK	5.37±0.36 ^a	4.80±0.73 ^a	9.80±0.34 ^b
丙酮酸激酶/(U/g prot) PK	29.80±2.93	30.68±1.86	23.91±2.73
糖异生 gluconeogenesis			
葡萄糖-6-磷酸酶/(IU/g prot) G6Pase	4.07±0.24	4.23±0.29	3.90±0.44
果糖-1,6-二磷酸酶/(IU/g prot) FBPase	1.75±0.14	1.58±0.14	1.89±0.02
磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶/(IU/g prot) PEPCK	6.02±0.44	5.71±0.51	5.48±0.51

表 9 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳍肝脏和肠道抗氧化酶活性的影响

Tab. 9 Effects of VD₃ addition to high-carbohydrates diet on the activity of antioxidant enzymes in liver and intestine of *M. albus*

指标 parameters	CON	HC	HCVD ₃
肝脏 liver			
总超氧化物歧化酶/(U/mg prot) T-SOD	32.58±1.56 ^b	18.22±0.48 ^a	28.65±4.29 ^b
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	2.94±0.36 ^b	1.38±0.27 ^a	2.02±0.03 ^{ab}
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	0.19±0.02 ^{ab}	0.24±0.06 ^b	0.09±0.01 ^a
肠道 intestine			
总超氧化物歧化酶/(U/mg prot) T-SOD	117.73±7.02 ^{ab}	100.67±5.86 ^a	151.73±17.35 ^b
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	4.62±0.31 ^b	2.95±0.56 ^a	4.64±0.59 ^b
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	0.98±0.04 ^a	1.41±0.20 ^b	0.98±0.06 ^a

日粮的基础上添加 VD₃ 后, HCVD₃ 组 *IL-1β* 和 *MyD88* 的表达量均显著下降 ($P<0.05$), *IL-10* 表达量显著上升 ($P<0.05$)(图 2)。

2.7 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳍肠道物理屏障的影响

结果显示, HC 组肠道紧密连接蛋白基因 *ZO-1*、*ZO-2* 和 *Claudin-12* 的 mRNA 表达水平显著低

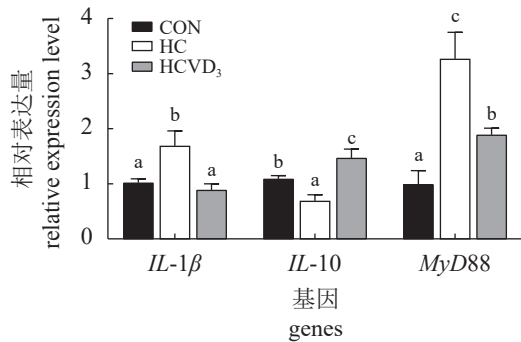


图 2 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳍肠道免疫相关基因表达量的影响

Fig. 2 Effects of VD₃ addition to high-carbohydrates diet on intestinal immune-related gene expression of *M. albus*

于 CON 组 ($P<0.05$); 而在高糖日粮的基础上添加 VD₃ 后, 肠道紧密连接蛋白基因 *ZO-1*、*ZO-2* 和 *Claudin-12* 的 mRNA 表达水平均显著提高 ($P<0.05$)(图 3)。

3 讨论

3.1 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳍生长性能的影响

碳水化合物作为鱼类生长发育过程中重要的能量物质, 其来源丰富, 能显著降低饲料成本。

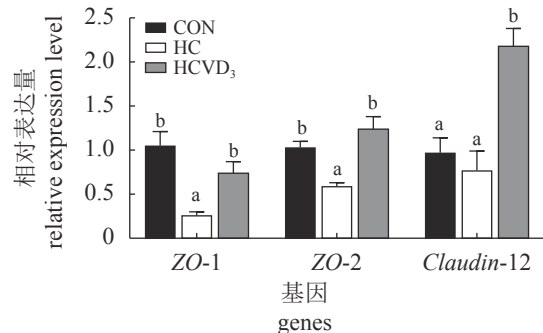


图 3 高糖日粮中添加 VD₃ 对黄鳍肠道物理屏障的影响

Fig. 3 Effects of VD₃ addition to high-carbohydrates diet on intestinal physical barrier of *M. albus*

但是, 摄入过高的碳水化合物通常会导致鱼体出现生长性能下降、肝肿大、肝糖原累积增加和饲料利用下降等问题^[24]。本研究表明, 高 α 淀粉水平并未能显著影响黄鳝的生长性能, 这与尖齿胡鲶 (*Clarias gariepinus*)^[25] 和欧洲鲈 (*Dicentrarchus labrax*)^[26] 上的研究结果类似, α 淀粉相较于糊精等糖源来说拥有更多的葡萄糖单元, 会导致鱼类的消化时间增加, 缓解了鱼类短期内对高碳水化合物的不耐受。同时, 相较于淀粉来说, 作为淀粉不完全水解的产物 α 淀粉更容易被鱼类消化吸收。另一方面, 黄鳝可能通过体内的代谢调节来增强对高碳水化合物的耐受能力。另有研究表明, 较高水平的 α 淀粉水平会抑制金头鲷的总蛋白水解活性和淀粉酶活性^[27]。因此, 饲料中过量的 α 淀粉有可能会降低蛋白质的消化率, 进而降低饲料的营养价值。但本研究还发现, 黄鳝全鱼营养成分不受 α 淀粉水平和 VD_3 的影响, 这与赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 的结果一致^[28], 推测鱼类有可能会将摄入的过量碳水化合物排出体外^[29]。

3.2 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝血清生化指标的影响

血清相关指标能够反映出鱼体不同的健康状况^[30], 而血糖含量的稳定是其中的重要指标之一^[31]。在丝足鲈 (*Osphronemus goramy*) 和翘嘴红鲌 (*Erythroculter ilishaeformis*) 的研究中发现^[32-33], 随着饲料中碳水化合物含量的升高, 其血糖水平也随之升高, 本实验中也表现出一致的结果, 即HC组血糖含量显著高于CON组。饲料的营养成分的影响会在血清甘油三酯以及胆固醇上得到反应^[34-35]。在本实验中, HC组甘油三酯含量显著高于CON组, 表明高糖饲料促进了脂肪的合成, 增加了血脂含量, 而HC组总胆固醇含量与CON组无显著差异, 可能是由于肝脏脂肪蓄积过多, 抑制了胆固醇的转运。

血清ALT与AST的数值可以反映肝脏的健康状态^[36]。在本实验中, 高糖饲料会增加黄鳝血清甘油三酯、谷草转氨酶和谷丙转氨酶的含量, 这与大口黑鲈^[37]的研究结果一致, 表明摄入过量的碳水化合物会造成肝脏新陈代谢负担, 引发肝脏损伤, 而HC VD_3 组血清AST和ALT活性降低表明添加 VD_3 具有保护黄鳝肝脏健康的作用。

3.3 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝糖代谢的影响

糖原主要包括肝糖原和肌糖原, 是动物体内

糖的储存形式之一, 是机体能够迅速动用能量的保障^[38]。本实验中高糖日粮的糖水平为35%, 高于黄鳝的糖耐受程度^[39], 摄入的糖主要储存在黄鳝的肝脏中, 增加了肝脏的负担, 可对黄鳝的健康生长产生不利影响。在高糖日粮中添加 VD_3 能够有效提高黄鳝肝脏的糖酵解水平, 促进糖原分解和利用, 缓解高糖压力, 促进糖代谢达到新的平衡。 VD_3 作为一种功能性添加剂, 被证实对黄鳝的生长起到积极的作用^[40], 但对糖代谢酶活性的影响尚无研究。本研究发现, 高糖日粮能够提高肝脏糖酵解相关酶的活性, 黄鳝摄食高碳水化合物日粮后, 其肝脏的磷酸果糖激酶 (PFK) 和己糖激酶 (HK) 的活性皆有显著提高, 肝脏中PFK活性可随饲料中的碳水化合物水平的提高而升高, 这与黑棘鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 的研究相似^[41]。在本实验中, 高糖饲料对黄鳝肝脏糖异生的酶活性无显著的影响, 这与草鱼^[42]研究中的高糖影响果糖-1,6-二磷酸酶 (FBPase) 和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 (PEPCK) 的研究存在差异。因黄鳝和草鱼分别是肉食性和草食性, 食性不同可能导致其肝脏糖异生酶活性不同。高糖饲喂条件下易造成肝脏糖原累积, 这可能是肉食性鱼类对高碳水化合物的适应不畅所导致^[43]。在高糖日粮中添加 VD_3 后, 肝脏PFK和丙酮酸激酶 (PK) 的活性随之持续增强, 肝糖原的含量随之降低。 VD_3 具有缓解高糖引起黄鳝肝脏代谢负担的功能, 有利于黄鳝的健康生长。本实验中, 高糖日粮对黄鳝肌糖原并无显著性变化, 这与在凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)^[44] 中的研究结果一致。而 VD_3 对鱼类肌肉糖代谢的影响还需进一步研究。

3.4 高糖日粮中添加 VD_3 对黄鳝抗氧化及肠道健康的影响

细胞内的氧化防御系统是维持鱼体氧化动态平衡的保证^[45-46]。这种防御系统的重要组成部分包括T-SOD、CAT、MDA等。在本实验条件下, 高碳水化合物饲料显著降低了肝脏与肠道的T-SOD和CAT活性, MDA的含量显著上升, 说明高碳水化合物会降低机体的抗氧化能力, 这与杂交鳢 [*Channa maculata* (♀) × *C. argus* (♂)]^[47] 的研究结果一致, Lin等^[48]研究也表明, 高碳水化合物饲料在一定程度上抑制了鱼体的先天免疫。本实验也得出了一致的结果, 同时在本实验中观察到在高碳水化合物饲料中添加 VD_3 后, 显著改善了

黄鳝肝脏和肠道的抗氧化能力, 降低氧化应激。

肠道是鱼体最大的免疫器官, 其稳定性是肠道生理过程正常发挥的基础^[49], 同时抗炎和促炎细胞因子共同调节肠道内的炎症反应^[50]。大口黑鲈^[51]的研究发现, 高碳水化合物饲料提高促炎因子 *IL-1 β* 和 *MyD88* 基因的表达, 导致炎症反应发生, 本实验也表现出一致的结果。当屏障功能受到损伤时, 具有保护和调节肠道物理屏障功能的紧密连接蛋白 (*ZO-1*、*ZO-2*、*Claudin-12*) 的基因表达也随之下调。添加 *VD₃* 后显著缓和了黄鳝的肠道炎症反应, 同时提高了黄鳝肠道紧密连接蛋白基因的表达水平。因此, 高糖饲料中添加 *VD₃* 可增强黄鳝的肠道免疫, 减少促炎介质, 保持肠道完整性, 从而增强肠道屏障功能。已有研究报道, 饲料中添加 *VA* 可改善草鱼的肠道屏障^[52], 其原因与本研究推断一致。而关于脂溶性维生素添加剂 (如维生素 *D₃*) 对水产动物肠道屏障改善的研究报道较少, 养殖鱼类肠道相关指标的评价也为今后脂溶性维生素功能的评价提供了新的思路。

4 结论

综上所述, 高糖 (35%) 日粮会显著降低实验鱼的存活率、增加肝糖原积累、降低其抗氧化能力、并破坏肠道健康; 而高糖饲料中添加 2 000 IU/kg *VD₃* 后, 可通过增强鱼体抗氧化能力和免疫力, 改善肠道屏障功能, 进而提高鱼体存活率; 此外, 高糖饲料中添加 *VD₃* 会增强鱼体对糖的利用能力。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Hemre G, Sandnes K, Lie Ø, *et al.* Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: growth and feed utilization[J]. *Aquaculture Research*, 1995, 26(3): 149-154.
- [2] 张丽, 许国焕, 成艳波, 等. 高糖饲料对黄颡鱼生长、糖脂代谢及肠道代谢物的影响 [J]. *中国饲料*, 2021(05): 67-71.
- Zhang L, Xu G H, Cheng Y B, *et al.* Effect of high carbohydrate diet on growth, glucose and lipid metabolism and intestinal metabolites of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *China Feed*, 2021(05): 67-71 (in Chinese).
- [3] Wang K W, Chen J X, Liu Q Q, *et al.* A comparison between high carbohydrate and high lipid diets reception on the growth, feed utilization and glucose homeostasis of genetically improved farmed tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture Reports*, 2022(24): 101119.
- [4] Yu C Q, Wang L, Cai W H, *et al.* Dietary macroalgae saccharina japonica ameliorates liver injury induced by a high-carbohydrate diet in swamp eel (*Monopterus albus*)[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, 869369.
- [5] Ma H J, Mu M M, Pu D C, *et al.* Effect of dietary starch level on growth, metabolism enzyme and oxidative status of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture*, 2018, 498: 482-487.
- [6] 许霄霄. 高糖饲料对吉富罗非鱼生长性能、糖脂代谢、肠道健康以及免疫性能的影响 [D]. 上海海洋大学, 2017.
- Xu X X. Effects of high carbohydrate levels in the dietary on growth properties, glucose and lipid metabolisms, intestinal health and immune performance of GIFT, *Oreochromis niloticus*[D]. Shanghai Ocean University, 2017 (in Chinese).
- [7] 余敦敏. 血清 25 羟维生素 *D₃* 与 2 型糖尿病周围神经病变的相关性 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2014, 7(03): 240-243.
- She D M. Correlation between serum level of 25-hydroxy vitamin *D₃* and peripheral neuropathy in patients with type 2 diabetes[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research*, 2014, 7(03): 240-243 (in Chinese).
- [8] 邹静雯. 维生素 *D* 改善胰岛素抵抗的研究进展 [J]. *中国药业*, 2023, 32(03): 127-132.
- Zhou J W. Research progress of vitamin *D* in improving insulin resistance[J]. *China Pharmaceuticals*, 2023, 32(03): 127-132 (in Chinese).
- [9] 王锦林. 异育银鲫对维生素 *B₂*, 维生素 *B₆* 和烟酸的需求量的研究 [D]. 湖北: 中国科学院研究生院 (水生生物研究所), 2008.
- Wang J L. Studies on riboflavin, pyridoxine and niacin requirements of *Carassius auratus gibelio*[D]. Hubei: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2008 (in Chinese).
- [10] 吴金平. 吉富罗非鱼对饲料叶酸、生物素和胆碱需要量研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.

- Wu J P. Studies on the requirement of folic acid, biotin and choline in the diet to GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [11] Wang L S, Xu H, Wang Y, *et al.* Effects of the supplementation of vitamin D₃ on the growth and vitamin D metabolites in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(3): 901-909.
- [12] 李向, 华雪铭, 魏翔, 等. 饲料中维生素 D₃ 含量对大口黑鲈生长和抗氧化能力的影响 [J]. *上海海洋大学学报*, 2021, 30(01): 94-102.
- Li X, Hua X M, Wei X, *et al.* Effects of dietary vitamin D₃ on the growth and antioxidant capacity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2021, 30(01): 94-102 (in Chinese).
- [13] 吴成龙, 叶金云. 维生素 D 对青鱼幼鱼生长、抗氧化和非特异性免疫力的影响 [C]. 2015 年中国水产学会学术年会, 2015, 11: 367.
- Wu C L, Ye J Y. The effects of dietary vitamin D on the growth, antioxidant capacities and innate immune responses in juvenile black carp *Mylopharyngodon piceus*[C]. China Academic Journal Electronic Publishing House, 2015, 11: 367 (in Chinese).
- [14] Dominguez David, Montero Daniel, Zamorano Maria Jesus, *et al.* Effects of vitamin D₃ supplementation in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles fed diets high in plant-based feedstuffs[J]. *Aquaculture*, 2021, 543: 736991.
- [15] 郭勋, 程珂, 马春松等. 饲料中维生素 D₃ 的添加水平对黄颡鱼幼鱼生长和 Toll 样受体 TLR18、TLR19 和 TLR21 的影响 [J]. *水生生物学报*, 2020, 44(03): 461-469.
- Guo X, Chen k, Ma C S, *et al.* Effects of dietary vitamin D₃ on the growth and expression of TLR18, TLR19 and TLR21 in the juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, 44(03): 461-469 (in Chinese).
- [16] 周秋白, 李有根, 陈云香, 等. 黄颡鱼含肉率及肌肉营养成分分析 [J]. *淡水渔业*, 2000(11): 41-43.
- Zhou Q B, Li Y G, Chen Y X, *et al.* Analysis of meat content and muscle nutrient composition of *Monopterus albus*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2000(11): 41-43 (in Chinese).
- Chinese).
- [17] Li S L, Sang C Y, Turchini G T, *et al.* Starch in aquafeeds: the benefits of a high amylose to amylopectin ratio and resistant starch content in diets for the carnivorous fish, largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2020, 124(11): 1-11.
- [18] 吴杉杉. AMPK α 通路介导黄颡鱼应对高糖饲料的分子机制及调控策略的研究 [D]. 江西: 江西农业大学, 2023.
- Wu S S. Molecular mechanism and regulation strategy of AMPK α pathway mediated response to high starch levels diet of *Monopterus albus*[D]. Jiangxi: Jiangxi Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [19] Rui S, Xinmeng L, Yawen L, *et al.* Vitamin D regulates insulin pathway and glucose metabolism in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *FASEB journal*, 2022, 36(5): e22330-e22330.
- [20] Deng Y, Wu H D, Zhou J J, *et al.* Effects of dietary gelatinized starch on growth performance, glucose metabolism, oxidative status and fillet texture of rice field eel (*Monopterus albus*)[J]. *Aquaculture Research*, 2021, 52(11): 5527-5536.
- [21] 张璐, 李静, 麦康森, 等. 饲料中不同维生素 D 含量对鲈鱼幼鱼生长性能和钙磷代谢的影响 [J]. *动物营养学报*, 2016, 28(05): 1402-1411.
- Zhang L, Li J, Mai K S, *et al.* Effects of different dietary vitamin D contents on growth performance, calcium and phosphorus metabolism of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(05): 1402-1411 (in Chinese).
- [22] 谢诗玮, 田丽霞, 刘永坚, 等. 斜带石斑鱼对实用饲料中维生素 D₃ 的需求量 [J]. *南方水产科学*, 2019, 15(04): 61-67.
- Xie S W, Tian L X, Liu Y J, *et al.* Vitamin D₃ requirement of grouper (*Epinephelus coioides*) in practical diet[J]. *South China Fisheries Science*, 2019, 15(04): 61-67 (in Chinese).
- [23] 孙海悦, 王际英, 李宝山, 等. 许氏平鲉幼鱼对饲料中维生素 D₃ 需求量的研究 [J]. *渔业科学进展*, 2023, 44(01): 103-114.
- Sun H Y, Wang J Y, Li B S, *et al.* Dietary vitamin D₃ requirement of juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*) [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2023, 44(01): 103-114

- (in Chinese).
- [24] 罗毅平, 谢小军. 鱼类利用碳水化合物研究进展 [J]. 中国水产科学, 2010, 17(02): 381-390.
Luo Y P, Xie X J. Progress of carbohydrate utilization in fish[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(02): 381-390 (in Chinese).
- [25] Leenhouders J I, ter Veld M, Verreth J A J, *et al.* Digesta characteristics and performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed cereal grains that differ in viscosity[J]. *Aquaculture*, 2007, 264(1-4): 330-341.
- [26] Gatesoupe F J, Huelvan C, Le Bayon N, *et al.* The effects of dietary carbohydrate sources and forms on metabolic response and intestinal microbiota in sea bass juveniles, *Dicentrarchus labrax*[J]. *Aquaculture*, 2014, 422: 47-53.
- [27] Couto, A., Enes, P., Peres, H., *et al.* Temperature and dietary starch level affected protein but not starch digestibility in gilthead sea bream juveniles[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(3): 595-601.
- [28] Wang J, Li X, Han T, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile grouper *Epinephelus akaara*[J]. *Aquaculture*, 2016, 459: 143-147.
- [29] Hilton J W, Atkinson J L. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets[J]. *British Journal of Nutrition*, 1982, 47(3): 597-607.
- [30] Tian L X, Liu Y J, Yang H J, *et al.* Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture International*, 2012, 20(2): 283-293.
- [31] 胡毅, 陈云飞, 张德洪, 等. 不同碳水化合物和蛋白质水平膨化饲料对大规模草鱼生长、肠道消化酶及血清指标的影响 [J]. 水产学报, 2018, 42(5): 777-786.
Hu Y, Chen Y F, Zhang D H, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate and protein levels on growth, intestinal digestive enzymes and serum indexes in large size grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(5): 777-786 (in Chinese).
- [32] Sari N D, Ekasari Julie, Nasrullah E H, *et al.* High carbohydrate increases amylase, plasma glucose, and gene expression related to glycolysis in giant gourami *Osphronemus goramy*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2022, 48(6): 1495-1505.
- [33] 刘波, 谢骏, 苏永腾, 等. 高碳水化合物日粮对翘嘴红鲌生长、GK 及 GK mRNA 表达的影响 [J]. *水生生物学报*, 2008, 32(1): 47-53.
Liu B, Xie J, Su Y T, *et al.* Effect of high carbohydrate levels of dietary on growth, GK activities and GK mRNA levels in topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis Bleeker*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(1): 47-53 (in Chinese).
- [34] Gao W, Liu Y J, Tian L X, *et al.* Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth performance, body composition, nutrient utilization and hepatic enzymes activities of herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 16: 327-333.
- [35] Trigatti B L, Krieger M, Rigotti A. Influence of the HDL receptor SR-BI on lipoprotein metabolism and atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(10): 1732-1738.
- [36] Bell M V, Batty R S, Dick J R, *et al.* Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus L.*)[J]. *Lipids*, 1995, 30(5): 443-449.
- [37] 高彬. 饲料中 α -淀粉水平对大口黑鲈生长、抗氧化能力、糖代谢及代谢组的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2022.
Gao B. Effects of dietary α -starch level on growth, antioxidant capacity, glycometabolism and metabolome of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2022 (in Chinese).
- [38] 程镇燕, 范泽, 张植元, 等. 注射葡萄糖对鲤鱼糖代谢关键酶和相激素的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(04): 163-167.
Chen Z Y, Fan Z, Zhang Z Y, *et al.* Effects of injection of glucose on key enzymes and phase hormones of glucose metabolism in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2018, 46(04): 163-167 (in Chinese).
- [39] 刘泓宇, 毛义波, 谭北平, 等. 饲料糖水平对不同食性鱼类生长及葡萄糖耐受能力的影响 [J]. *水产学报*, 2015, 39(12): 1852-1862.
Liu H Y, Mao Y B, Tian B P, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate levels on growth and glucose tolerance ability in fishes of different feeding habits[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(12): 1852-1862

- (in Chinese).
- [40] 黎德兵, 邵珊珊, 张龚炜, 等. 饲料中维生素 D₃ 添加水平对黄鳝生长性能及免疫功能的影响 [J]. *动物营养学报*, 2015, 27(04): 1145-1151.
- Li D B, Shao S S, Zhang G B, *et al.* Effects of vitamin D₃ supplemental level on growth performance and immune function of *Monopterus albus*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(04): 1145-1151 (in Chinese).
- [41] 华颖. 黑鲟幼鱼对饲料中碳水化合物利用及其机理研究 [D]. 浙江: 浙江大学, 2017.
- Hua Y. Utilization and mechanism of carbohydrate in diet of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*[D]. Zhejiang: Zhejiang University, 2017 (in Chinese).
- [42] Xie N, Wen H, Xie S Q, *et al.* Adaptations of hepatic lipid and glucose metabolism in response to high - macronutrient diets in juvenile grass carp[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(5): 1738-1749.
- [43] Gong G, Xue M, Wang J, *et al.* The regulation of gluconeogenesis in the Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) affected later in life by a short-term high-glucose programming during early life[J]. *Aquaculture*, 2015, 436: 127-136.
- [44] 许佑琪, 刘群, 张丹, 等. 注射葡萄糖对凡纳滨对虾血清生化指标及糖代谢关键酶活力的影响 [J]. *经济动物学报*, 2022, 26(04): 237-244.
- Xu Y Q, Liu Q, Zhang D, *et al.* Effects of Glucose injection on blood biochemical indexes and key enzymes of glucose metabolism of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Economic Animal*, 2022, 26(04): 237-244 (in Chinese).
- [45] Morteza S H, Mukhtar K A, Morteza Y, *et al.* Roles of arginine in fish nutrition and health: insights for future researches[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(4): 2091-2108.
- [46] Ma J G, Liu Y, Niu D C, *et al.* Effects of chlorpyrifos on the transcription of CYP3A cDNA, activity of acetylcholinesterase, and oxidative stress response of goldfish (*Carassius auratus*)[J]. *Environmental Toxicology*, 2015, 30(4): 422-429.
- [47] 李培佳, 吕旦, 李敏, 等. 高碳水化合物饲料添加牛磺酸对杂交鳢生长性能、肝脏糖代谢相关基因表达、抗氧化活性及免疫应答的影响 [J]. *动物营养学报*, 2023, 35(11): 7320-7334.
- Li P J, Lv D, Li M, *et al.* Effects of taurine supplementation in high carbohydrate diet on growth performance, gene expression related to liver glucose metabolism, and antioxidant activity and immune response of hybrid snakehead [*Channa maculata* (♀) × *C. argus*(♂)] [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(11): 7320-7334 (in Chinese).
- [48] Lin S M, Shi C M, Mu M M, *et al.* Effect of high dietary starch levels on growth, hepatic glucose metabolism, oxidative status and immune response of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2018, 78: 121-126.
- [49] Huang C, Wu P, Jiang W, *et al.* Deoxynivalenol decreased the growth performance and impaired intestinal physical barrier in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2018, 80: 376-391.
- [50] Chen S W, Liu C H, Hu S Y. Dietary administration of probiotic *Paenibacillus ehimensis* NPUST1 with bacteriocin-like activity improves growth performance and immunity against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2019, 84: 695-703.
- [51] Zhao L L, Liang J, Chen F K, *et al.* High carbohydrate diet induced endoplasmic reticulum stress and oxidative stress, promoted inflammation and apoptosis, impaired intestinal barrier of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2021, 119: 308-317.
- [52] Jiang W D, Zhou X Q, Zhang L, *et al.* Vitamin A deficiency impairs intestinal physical barrier function of fish[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2019, 87: 546-558.

Effects of VD₃ on survival rate and glucose metabolism ability in *Monopterus albus* fed a high carbohydrate diet

LUO Tianlun¹, WU Shanshan¹, LI Jiamin¹, SHEN Kaikai²,
FANG Peng¹, JIANG Jiawei¹, PENG Mo^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;

2. School of Life Science, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

Abstract: To investigate the impact of dietary vitamin D₃ (VD₃) on the survival rate and glucose metabolism ability of *Monopterus albus* fed high-carbohydrate diets, healthy *M. albus* juveniles (17.13±0.08) g were randomly assigned into 3 groups, each with 4 replicates of 60 fish. The fish were fed diets with normal, high carbohydrate level, and high carbohydrate level supplementing with 2 000 IU/kg VD₃ (referred to as the CON, HC and HCVD₃ groups, respectively). After 8 weeks, no significant differences in growth performance or body composition were observed among the groups. However, The survival rate of HC group (82.22%) was significantly decreased, but after addition of VD₃, SR (88.89%) was significantly increased, and the difference was not significant compared with CON group (90.42%). The visceral somatic index (VSI) and condition factor (CF) were significantly higher in the HCVD₃ group than in the HC group. The HC group showed the highest levels of serum alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), while the HCVD₃ group had the highest serum triglyceride (TG) content. Intestinal amylase and trypsin activities were lower than in the HC group but higher in lipase. Liver glycogen content in HC group (124.45 mg/g) was significantly higher than CON group (99.55 mg/g), as were the activities of hexokinase (HK) and phosphofructokinase (PFK). In contrast, the HCVD₃ group (89.44 mg/g) had lower liver glycogen but higher PFK activity. Muscle PFK activity peaked in the HCVD₃ group. Additionally, catalase (CAT) activities in the liver and intestinal tract of *M. albus* were lower in the HC group, while total superoxide dismutase (T-SOD) was increased, and malondialdehyde (MDA) activities were decreased with VD₃ supplementation. The HCVD₃ group also showed significantly higher relative expression levels of intestinal proinflammatory cytokines (*IL-1β*, *MyD88*), anti-inflammatory cytokines (*IL-10*) and intestinal compact linking protein genes (*ZO-1*, *ZO-2*, *Claudin-12*) than the HC group. In conclusion, a high carbohydrate diet reduced the survival rate, increased liver glycogen accumulation, reduced antioxidant capacity, and impaired intestinal health in *M. albus*. Supplementation with 2 000 IU/kg VD₃ mitigated these effects, improving survival and enhancing carbohydrate utilization in fish fed a high-carbohydrate diet. This study provides foundational insights and guidance for glucose metabolism regulation and the artificial feed formulation for *M. albus*.

Key words: *Monopterus albus*; vitamin D₃; glucose metabolism; antioxidant capacity; intestinal health

Corresponding author: PENG Mo. E-mail: pengmowell@jxau.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31960732); Double Thousand Program of Jiangxi Province (jxsq2019201081)