

## 饲料中添加谷胱甘肽对吉富罗非鱼生长、 组织生化指标和非特异性免疫相关酶的影响

周婷婷<sup>1,2,3,4</sup>, 曹俊明<sup>1,3,4\*</sup>, 黄燕华<sup>1,3,4</sup>, 陈冰<sup>1,3,4</sup>,  
王国霞<sup>1,3,4</sup>, 孙智武<sup>1,2,3,4</sup>, 刘群芳<sup>1,3,4</sup>, 刘晓玲<sup>1,3,4</sup>

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东 广州 510640;

2. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

3. 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东 广州 510640;

4. 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘要:** 为研究饲料中添加谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 对吉富罗非鱼 (GIFT) 生长性能、组织生化指标和非特异性免疫相关酶活性的影响, 实验选用 720 尾体质量为  $(3.27 \pm 0.04)$  g 的罗非鱼, 随机分为 6 组, 分别投喂基础饲料 (对照组) 和 5 种添加 80、160、240、320 和 400 mg/kg GSH 的试验饲料, 养殖期为 7 周。结果显示, 与对照组相比, 320 mg/kg 组罗非鱼的增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR)、蛋白质沉积率 (PDR) 和肝脏 RNA/DNA 比值分别显著升高, 饲料系数显著降低; 各添加组罗非鱼肝体比高于对照组, 但差异不显著。160 ~ 320 mg/kg 组罗非鱼粗蛋白和 240 ~ 300 mg/kg 组粗脂肪含量显著高于对照组, 均在 240 mg/kg 组达到最高值。320 mg/kg 组血清尿素氮 (UN) 含量与对照组相比显著降低。160 ~ 400 mg/kg 组血清和肝脏类胰岛素生长因子 I (IGF-I) 显著高于对照组和 80 mg/kg 组。240 ~ 400 mg/kg 组血清溶菌酶 (LZM)、320 ~ 400 mg/kg 组肝脏 LZM 活性分别显著高于其它各组; 与对照组相比, 320 mg/kg 组血清一氧化氮合成酶 (NOS) 活性显著升高; 各添加组血清碱性磷酸酶 (AKP) 和酚氧化酶 (PO)、肝脏 AKP、酸性磷酸酶 (ACP) 和 NOS 活性均高于对照组, 但差异不显著。结果表明, 饲料中添加一定量的谷胱甘肽能显著提高吉富罗非鱼幼鱼的生长性能, 提高全鱼粗蛋白与粗脂肪含量、血清和肝脏 IGF-I 水平以及非特异性免疫相关酶活性。以增重率为评价指标, 计算出吉富罗非鱼幼鱼饲料中谷胱甘肽的最适添加量为 355.13 mg/kg。

**关键词:** 吉富罗非鱼; 谷胱甘肽; 生长性能; 组织生化指标; 非特异性免疫

**中图分类号:** S 963

**文献标志码:** A

罗非鱼是我国华南地区主要的养殖品种, 也是重要的出口水产品。近年来, 随着集约化养殖程度的提高, 养殖过程中出现了大量的应激因子, 如拥挤、环境恶化 (包括氨氮、亚硝酸盐、溶氧、温度和 pH) 等导致水产动物代谢紊乱, 抗病力下降, 研究和开发提高鱼类抗应激能力和免疫力的添加剂得到了广泛关注<sup>[1]</sup>。

谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 是机体内重要的生物活性物质。研究表明, 谷胱甘肽具有清除自由基<sup>[2]</sup>、解毒<sup>[3]</sup>、促进铁质吸收及维持红细胞膜的完整性、维持 DNA 的生物合成、细胞的正常生长及细胞免疫等多种生理功能<sup>[4]</sup>。作为促生长剂和抗氧化剂, 谷胱甘肽在畜禽如仔猪<sup>[5]</sup> 和黄羽肉鸡<sup>[6]</sup> 上已有研究报道。近年来, 在水产养殖

收稿日期: 2012-05-18 修回日期: 2013-01-28

资助项目: 广东省基金团队项目 (10351064001000000); 应用基础重点项目 (11C14070782); 引进国外技术、管理人才项目 (20114400003)

通信作者: 曹俊明, E-mail: junmcao@163.com

中的应用也逐渐增多。刘晓华等<sup>[7]</sup>报道,饲料中添加谷胱甘肽能显著提高凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长性能和非特异性免疫功能。王琳等<sup>[8]</sup>研究发现,饲料中添加硒和谷胱甘肽对微囊藻毒素胁迫下尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肝脏去毒相关基因诱导表达具有显著影响。朱选等<sup>[9]</sup>在草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、何芬<sup>[10]</sup>在鲢鱼(*Cirrhina molitorella*)、董桂芳等<sup>[11]</sup>在黄颡鱼(*Pseudobagrus fulvidraco*)亦有相关研究报道。本实验在焦彩虹<sup>[12]</sup>对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)研究工作基础上,研究了饲料中添加谷胱甘肽对吉富罗非鱼(*GIFT Oreochromis niloticus*)生长性能、组织生化指标和非特异性免疫相关酶活性的影响,并确定了最适添加量,以便为谷胱甘肽在罗非鱼中的应用提供相关的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验饲料

以酪蛋白和明胶为蛋白源、玉米淀粉为糖源、豆油和磷脂为脂肪源配制基础饲料,其配方和营养组成如表1所示。在基础饲料中添加谷胱甘肽(购自美国AMRESCO公司,纯度>98.0%)配制5种实验饲料,其添加量分别为80、160、240、320和400 mg/kg饲料。饲料原料粉碎后过60目筛,微量成分采取逐级扩大法添加,谷胱甘肽先溶于水,然后混入各组饲料中。全部混合均匀后用SLX-80型双螺杆挤压机制成直径为2.5 mm颗粒饲料,在55℃下烘干,冷却后放入密封袋中,于-20℃冰箱中保存待用。

### 1.2 实验鱼与饲养管理

吉富罗非鱼苗购自广州番禺罗非鱼良种场。实验鱼先在室外水泥池中暂养至3 g左右。饲养实验在广东省农业科学院动物科学研究所水产研究中心室内循环水养殖系统中进行。养殖玻璃纤维桶容积为350 L(直径80 cm,高70 cm,水体容积300 L),养殖水为经过活性炭、珊瑚石过滤的自来水。实验开始时选取平均体质量(3.27 ± 0.04) g罗非鱼720尾,随机分成6组,每组4个重复,每个重复30尾鱼,分别投喂基础饲料和5种实验饲料,记作G0、G80、G160、G240、G320和G400。每天分别在9:00和17:

00投喂,投喂率为体质量的6%,每2周称重一次,并相应调整投喂量。每天排污一次,每2天换一次水,换水量为30%左右。饲养期为7周。试验期间,循环水进水速率为5 L/min,水温28~32℃,自然光照,养殖过程中不断充氧曝气。

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Tab.1 Ingredient and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)

原料 ingredient	含量/% content
酪蛋白 casein	28.00
明胶 gelatin	7.00
玉米淀粉 corn starch	34.00
豆油 soyabean oil	4.00
磷脂 lecithin	2.00
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2.00
矿物质预混料 mineral premix <sup>a</sup>	0.50
纤维素 cellulose	16.57
甜菜碱 betaine	0.50
沸石粉 zeolite	0.20
维C酯 vatimin C	0.03
氯化胆碱 choline chloride	0.20
羧甲基纤维素 carboxymethylcellulose	2.00
维生素预混料 vitamin premix <sup>b</sup>	3.00
营养成分分析 proximate analysis	
粗蛋白 crude protein	30.41
粗脂肪 crude lipid	5.45
灰分 ash	6.44
水分 moisture	4.92

注:a.每千克矿物质预混料中含Ca 230 g;K 36 g;Mg 9 g;Fe 10 g;Zn 8 g;Mn 1.9 g;Cu 1.5 g;Co 0.25 g;I 0.032 g;Se 0.05 g。

b.每千克维生素预混料中含有:维生素A 3 200 000 IU;维生素D<sub>3</sub> 1 600 000 IU;维生素E 16 g;维生素K 4 g;维生素B<sub>1</sub> 4 g;维生素B<sub>2</sub> 8 g;维生素B<sub>6</sub> 4.8 g;烟酸 28 g;泛酸钙 16 g;叶酸 1.28 g;肌醇 40 g;维生素B<sub>12</sub> 0.016 g;生物素 0.064 g。

Notes: a. One kilogram of mineral premix contained Ca 230 g; K 36 g; Mg 9 g; Fe 10 g; Zn 8 g; Mn 1.9 g; Cu 1.5 g; Co 0.25 g; I 0.032 g; Se 0.05 g. b. One kilogram of vitamin premix contained VA 3 200 000 IU; VD<sub>3</sub> 1 600 000 IU; VE 16 g; VK 4 g; VB<sub>1</sub> 4 g; VB<sub>2</sub> 8 g; VB<sub>6</sub> 4.8 g; nicotinic acid 28 g; calcium pantothenate 16 g; folic acid 1.28 g; inositol 40 g; VB<sub>12</sub> 0.016 g; biotin 0.064 g.

### 1.3 样品采集与分析

样品采集 试验结束时,禁食24 h,称重。每个重复随机选取5尾鱼用于全鱼体成分分析。

随机从每个重复中取 5 尾鱼测定肝体比和肥满度,用 1 mL 无菌注射器尾静脉取血,合并置于无菌 Eppendorf 管中,4 ℃ 冰箱静置 1 h 后离心并分装,置 -80 ℃ 冰箱中保存备用。剥离肝脏,置于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。

生长性能指标计算 增重率 (weight gain rate, WGR, %) = 100 × (终末体质量 - 初始体质量) / 初始体质量

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) = 100 × [Ln(终末均质量) - Ln(初始均质量)] / 饲养天数

摄食量 (feed intake, FI, g) = 投饵总量 / [(试验开始时鱼尾数 + 试验结束时鱼尾数) / 2]

饲料系数 (feed coefficient, FC) = 摄食量 / (终末体质量 + 死亡鱼质量 - 初始体质量)

蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER, %) = 100 × (终末体质量 + 死亡鱼体质量 - 初始体质量) / 摄入蛋白量

肝体比 (hepatosomatic index, his, %) = (肝脏重 / 体质量) × 100

肥满度 (condition factor, CF, g/cm<sup>3</sup>) = 100 × 鱼体质量 / 鱼体长<sup>3</sup>

肝脏 RNA/DNA 测定 采用 Trizol 试剂盒提取肝脏中总 RNA,采用 QIAGEN 公司的试剂盒进行提取 DNA,紫外吸收法(岛津 UVmini-1240 型紫外可见分光光度计)测定 RNA 和 DNA 溶液浓度和纯度。RNA/DNA = RNA OD<sub>260</sub> / DNA OD<sub>260</sub>。

常规成分测定 粗蛋白含量采用凯氏定氮法(GB/T 6432 - 1994)、粗脂肪含量采用乙醚抽提法(GB/T 6433 - 1994)、灰分含量采用 550 ℃ 灼烧法(GB/T 6438 - 1992)、水分含量采用 105 ℃ 烘箱干燥法(GB/T 6435 - 1986)进行测定。

生长激素测定 生长激素 (growth hormone, GH)、类胰岛素生长因子 I (insulin-like growth factor, IGF-I)、三碘甲腺原氨酸 (3'-triiodothyromine, T<sub>3</sub>) 含量采用放射免疫法。试剂盒购自天津九鼎医学生物工程公司,测定方法参照试剂盒的说明书进行。

生理生化指标和非特异性免疫相关酶测定

血清胆固醇 (cholesterol, CH)、甘油三脂 (triglyceride, TG)、尿素氮 (urea nitrogen, UN)、血

糖 (glucose, GLU) 的含量采用日立 7600 全自动生化分析仪检测,测定试剂采购自罗氏公司。血清胆固醇的测定采用邻苯二甲醛法;甘油三酯的测定采用 GPO-PAP 法;尿素氮的测定采用尿酸酶过氧化物酶偶联—终点法;血糖的测定采用邻甲苯胺法。溶菌酶 (lysozyme, LZM)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP)、酸性磷酸酶 (acid phosphatase, ACP) 和一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOS) 活性的测定采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定,测定方法按照试剂盒的说明进行。酚氧化酶 (phenoloxidase, PO) 活性的测定,以 L-多巴为底物,把 10 μL 血清加入 96 孔酶标板中,然后向各孔中加入 200 μL 浓度为 0.1 mol/L、pH 为 6.0 的磷酸盐缓冲液,最后向各样品孔中加入 10 μL 浓度为 0.01 mol/L 的 L-多巴液,振荡 4 次,在酶标仪 (550, Bio-Rad) 中每隔 4 min 读取 490nm 处的吸光值。酶活力以试验条件下,OD<sub>490</sub> 值每分钟增加 0.001 为 1 个酶活力单位。

#### 1.4 数据统计与分析

试验数据用平均值 ± 标准差 (means ± SD) 表示。采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析和统计,先对数据作单因子方差分析 (One-Way ANOVA),若处理间有显著差异,再作 Duncan 多重比较。显著性水平为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 饲料中添加谷胱甘肽对吉富罗非鱼生长性能的影响

随着饲料中 GSH 添加量的增加,罗非鱼的增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR)、蛋白质效率 (PER) 和肝脏 RNA/DNA 比值均呈现先升高后降低的趋势,当添加量为 320 mg/kg 时,与对照组相比,这 4 个指标显著升高,饲料系数显著降低 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。添加谷胱甘肽各组的肝体比高于对照组,但差异不显著 ( $P > 0.05$ )。各添加组的肥满度与对照组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。以增重率为评价指标,得出罗非鱼增重率和谷胱甘肽添加量之间的一元二次回归方程为  $y = -0.0004x^2 + 0.2841x + 786.77$ ,  $R^2 = 0.7943$  (图 1)。经计算,吉富罗非鱼幼鱼饲料中谷胱甘肽的最适添加量为 355.13 mg/kg。

表 2 谷胱甘肽对吉富罗非鱼生长性能的影响  
Tab.2 Effect of GSH on growth performance of GIFT *O. niloticus*

指标 index	G0	G80	G160	G240	G320	G400
初均重/g IBW	3.28 ± 0.04	3.27 ± 0.04	3.28 ± 0.05	3.27 ± 0.06	3.27 ± 0.03	3.27 ± 0.05
末均重/g FBW	28.98 ± 0.60 <sup>a</sup>	30.45 ± 0.65 <sup>ab</sup>	29.66 ± 0.41 <sup>ab</sup>	29.91 ± 1.34 <sup>ab</sup>	30.78 ± 1.13 <sup>b</sup>	30.22 ± 1.09 <sup>ab</sup>
增重率/% WGR	785.38 ± 23.34 <sup>a</sup>	815.72 ± 44.01 <sup>ab</sup>	806.45 ± 10.04 <sup>ab</sup>	831.31 ± 10.11 <sup>ab</sup>	840.88 ± 36.58 <sup>b</sup>	824.03 ± 36.19 <sup>ab</sup>
特定增长率/(%/d) SGR	4.45 ± 0.05 <sup>a</sup>	4.56 ± 0.02 <sup>ab</sup>	4.50 ± 0.02 <sup>ab</sup>	4.51 ± 0.09 <sup>ab</sup>	4.58 ± 0.08 <sup>b</sup>	4.54 ± 0.08 <sup>ab</sup>
摄食量/g FI	25.50 ± 0.27	25.50 ± 0.49	25.54 ± 0.38	25.53 ± 0.27	25.53 ± 0.23	25.54 ± 0.40
饲料系数 FC	1.00 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.96 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.97 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.94 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.93 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.95 ± 0.04 <sup>ab</sup>
蛋白质效率/% PER	330.97 ± 9.7 <sup>a</sup>	343.66 ± 17.97 <sup>ab</sup>	339.86 ± 4.06 <sup>ab</sup>	350.14 ± 4.88 <sup>ab</sup>	354.38 ± 15.29 <sup>b</sup>	347.02 ± 14.96 <sup>ab</sup>
肝脏 RNA/DNA	0.50 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.68 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.66 ± 0.07 <sup>ab</sup>	0.75 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.52 ± 0.18 <sup>ab</sup>
肝体比/% HSI	2.15 ± 0.24	2.22 ± 0.22	2.30 ± 0.18	2.20 ± 0.19	2.37 ± 0.36	2.15 ± 0.07
肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF	3.23 ± 0.40	3.33 ± 0.22	3.24 ± 0.39	3.27 ± 0.21	3.16 ± 0.19	3.14 ± 0.10

注:同行(列)上标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下表同。

Notes: Values in the same row (line) with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same is as follows.

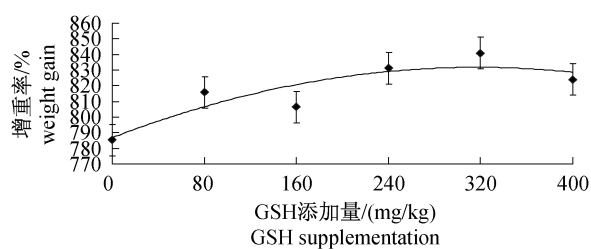


图 1 饲料中添加谷胱甘肽对吉富罗非鱼增重率的影响  
Fig.1 Effect of GSH supplementation on weight gain rate of GIFT *O. niloticus*

## 2.2 谷胱甘肽对吉富罗非鱼体组成的影响

各添加组的粗蛋白和粗脂肪含量均高于对照组,其中G160~G320组粗蛋白含量、G240~

G300组粗脂肪含量显著升高( $P < 0.05$ ),其最高值均出现在G240组。各添加组灰分和干物质含量均高于对照组,但差异未达到显著水平( $P > 0.05$ )(表3)。

## 2.3 谷胱甘肽对罗非鱼血清生化指标的影响

各添加组胆固醇(CH)和甘油三酯(TG)均高于对照组,但没有显著性差异( $P > 0.05$ )(表4)。其中G400组CH含量最高,比对照组升高15.5%;G240组TG含量最高,比对照组升高12.5%。各添加组尿素氮(UN)含量均低于对照组,其中G320组显著降低( $P < 0.05$ )。血糖(GLU)含量随GSH添加量的升高呈先升高后降低的趋势,各组之间差异不显著( $P > 0.05$ )。

表 3 谷胱甘肽对吉富罗非鱼体组成的影响(干重)  
Tab.3 Effect of GSH on whole-body composition of GIFT *O. niloticus* (dry matter) %

指标 index	G0	G80	G160	G240	G320	G400
粗蛋白 crude protein	54.03 ± 0.77 <sup>a</sup>	55.39 ± 1.04 <sup>ab</sup>	56.60 ± 0.57 <sup>b</sup>	56.64 ± 0.52 <sup>b</sup>	56.07 ± 1.36 <sup>b</sup>	55.30 ± 0.81 <sup>ab</sup>
粗脂肪 crude lipid	26.13 ± 0.01 <sup>a</sup>	27.66 ± 0.98 <sup>a</sup>	27.50 ± 0.18 <sup>a</sup>	30.77 ± 0.78 <sup>b</sup>	29.64 ± 0.93 <sup>b</sup>	29.59 ± 0.74 <sup>b</sup>
灰分 ash	11.79 ± 1.68	12.61 ± 0.52	12.67 ± 1.66	12.63 ± 1.66	12.30 ± 0.35	12.08 ± 1.01
干物质 dry matter	26.76 ± 2.10	27.11 ± 1.61	27.19 ± 1.45	27.53 ± 1.53	28.10 ± 0.11	26.80 ± 0.57

表 4 谷胱甘肽对吉富罗非鱼血清生化指标的影响  
Tab.4 Effect of GSH on blood biochemical indices of GIFT *O. niloticus*

指标 index	G0	G80	G160	G240	G320	G400
胆固醇/(mmol/L) CH	2.51 ± 0.22	2.66 ± 0.3	2.65 ± 0.55	2.87 ± 0.27	2.86 ± 0.64	2.97 ± 0.21
甘油三酯/(mmol/L) TG	1.33 ± 0.25	1.46 ± 0.11	1.47 ± 0.40	1.52 ± 0.14	1.42 ± 0.57	1.34 ± 0.20
尿素氮/(mmol/L) UN	0.93 ± 0.38 <sup>a</sup>	0.70 ± 0.17 <sup>ab</sup>	0.65 ± 0.13 <sup>ab</sup>	0.60 ± 0.08 <sup>ab</sup>	0.52 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.24 <sup>ab</sup>
血糖/(g/L) GLU	6.10 ± 0.82	6.65 ± 0.88	7.19 ± 1.56	6.93 ± 0.88	6.31 ± 0.47	6.07 ± 1.06

## 2.4 谷胱甘肽对罗非鱼血清和肝脏生长激素水平的影响

血清和肝脏中生长激素(GH)随谷胱甘肽添加量的增加呈先升高后降低的趋势,其中G240组水平最高,比对照组分别升高16.8%和2.1%。血清和肝脏中类胰岛素生长因子I(IGF-I)水

平变化一致,各添加组均高于对照组,其中G160~G400显著高于G0和G80组( $P < 0.05$ )(表5)。血清和肝脏三碘甲腺原氨酸( $T_3$ )水平均高于对照组,且随着谷胱甘肽添加量的增加呈先升高再降低的趋势,但差异不显著( $P > 0.05$ )。

表5 谷胱甘肽对吉富罗非鱼血清和肝脏生长激素水平的影响  
Tab.5 Effect of GSH on serum and liver growth hormones of GIFT *O. niloticus*

组织 tissue	指标 index	G0	G80	G160	G240	G320	G400
血清 serum	GH/(ng/mL)	2.14 ± 0.23	2.18 ± 0.15	2.26 ± 0.19	2.35 ± 0.15	2.30 ± 0.37	2.26 ± 0.15
	IGF-I/(ng/mL)	249.69 ± 10.18 <sup>a</sup>	259.03 ± 17.36 <sup>a</sup>	305.74 ± 13.30 <sup>b</sup>	310.82 ± 15.45 <sup>b</sup>	304.80 ± 11.05 <sup>b</sup>	302.68 ± 12.16 <sup>b</sup>
	$T_3$ /(ng/mL)	1.53 ± 0.31	1.74 ± 0.44	1.92 ± 0.30	1.87 ± 0.19	1.71 ± 0.52	1.64 ± 0.08
肝脏 liver	GH/(ng/mL)	70.04 ± 0.77	70.71 ± 1.78	71.11 ± 1.10	71.56 ± 2.04	71.24 ± 0.46	71.10 ± 0.66
	IGF-I/(ng/mL)	813.41 ± 2.14 <sup>a</sup>	815.03 ± 1.98 <sup>a</sup>	823.85 ± 6.88 <sup>b</sup>	828.50 ± 2.07 <sup>b</sup>	828.71 ± 1.08 <sup>b</sup>	824.94 ± 2.15 <sup>b</sup>
	$T_3$ /(ng/mL)	0.65 ± 0.27	0.80 ± 0.35	0.87 ± 0.19	0.87 ± 0.31	0.74 ± 0.06	0.71 ± 0.22

## 2.5 谷胱甘肽对吉富罗非鱼血清和肝脏非特异性免疫相关酶活性的影响

除G80外,其他添加组血清溶菌酶(LZM)活性均高于对照组,当添加量为240 mg/kg及其以上时,显著升高( $P < 0.05$ );各添加组肝脏LZM活性随谷胱甘肽添加量的增加逐渐升高,其中G320组和G400组显著高于其他各组( $P < 0.05$ )(表6)。各添加组血清碱性磷酸酶(AKP)、肝脏AKP和酸性磷酸酶(ACP)活性均高于对照组,但

未达到显著性水平( $P > 0.05$ )。当谷胱甘肽添加量为320 mg/kg时,血清一氧化氮合成酶(NOS)活性显著高于对照组( $P < 0.05$ ),肝脏中NOS活性随着谷胱甘肽添加量的增加呈先升高再降低的趋势,但组间差异不显著( $P > 0.05$ )。血清酚氧化酶(PO)活性随GSH添加量的增加呈先升高再降低的趋势,最高值出现在G320组,比对照组升高15.3%。

表6 谷胱甘肽对罗非鱼血清和肝脏非特异性免疫功能的影响  
Tab.6 Effect of GSH on serum and liver non-specific immune related enzymes of GIFT *O. niloticus*

组织 tissue	指标 index	G0	G80	G160	G240	G320	G400
血清 serum	LZM/(U/mL)	0.25 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.45 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.01 <sup>b</sup>
	AKP/(U/mL)	5.74 ± 0.18	5.84 ± 0.15	6.04 ± 0.13	6.24 ± 0.34	6.07 ± 0.17	5.89 ± 0.29
	NOS/( $\mu$ mol/g prot)	15.28 ± 1.5 <sup>a</sup>	15.48 ± 1.31 <sup>b</sup>	18.07 ± 0.49 <sup>ab</sup>	17.76 ± 0.78 <sup>ab</sup>	18.54 ± 1.11 <sup>b</sup>	15.94 ± 2.37 <sup>ab</sup>
	PO/U	23.61 ± 0.92	24.38 ± 0.89	24.72 ± 0.58	25.64 ± 2.18	27.22 ± 4.81	25.67 ± 1.37
肝脏 liver	LZM/(U/mL)	2.13 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.37 ± 0.14 <sup>a</sup>	2.50 ± 0.46 <sup>a</sup>	2.81 ± 0.55 <sup>a</sup>	3.75 ± 0.46 <sup>b</sup>	4.31 ± 0.72 <sup>b</sup>
	AKP/(U/g prot)	27.55 ± 3.57	29.00 ± 5.66	28.12 ± 6.28	30.72 ± 0.99	28.26 ± 3.07	28.62 ± 6.10
	ACP/(U/g prot)	6.26 ± 1.33	6.82 ± 0.57	6.68 ± 1.25	7.09 ± 0.91	7.21 ± 0.45	7.01 ± 0.98
	NOS/( $\mu$ mol/g prot)	2.88 ± 0.38	2.96 ± 0.51	3.13 ± 0.65	3.51 ± 0.22	3.01 ± 0.68	2.58 ± 0.15

## 3 讨论

### 3.1 谷胱甘肽对罗非鱼生长性能的影响

饲料中添加一定量的谷胱甘肽能显著提高吉富罗非鱼幼鱼的增重率、特定生长率和蛋白质效率,显著降低饲料系数,表明谷胱甘肽对罗非鱼有促生长作用,这一结果与焦彩虹<sup>[12]</sup>在奥尼罗非鱼、赵红霞等<sup>[13]</sup>在草鱼和Zmbohino等<sup>[14]</sup>在鲈

(*Dicentrarchus labrax*)的研究结果相似。在虾类,刘晓华等<sup>[7]</sup>报道,饲料中添加适量的谷胱甘肽能提高凡纳滨对虾的成活率、增重率和饲料转化率。本试验以增重率为评价指标,计算出吉富罗非鱼幼鱼饲料中谷胱甘肽的最适添加量为355.13 mg/kg,这与赵红霞等<sup>[13]</sup>在草鱼得到的结果(350 mg/kg)很接近。

有研究指出,鱼体肌肉中核糖核酸(RNA)与

脱氧核糖核酸(DNA)比值可以用来判别鱼类生长发育的优劣,是一个良好的生长评价指标<sup>[15-16]</sup>。梁萌青等<sup>[17]</sup>指出,红鳍东方纯(*Fugu rubripes*)肌肉 RNA/DNA 比值与增重率呈线性关系,能非常灵敏的反应鱼类生长状况。本试验中,添加谷胱甘肽各组肝脏 RNA/DNA 比值均高于对照组,其中 320 mg/kg 组显著升高,这与增重率、特定生长率和蛋白质效率的变化相吻合,可能原因是谷胱甘肽有助于罗非鱼肝脏细胞 RNA 表达,进而促进蛋白质的合成,其具体作用机理有待于进一步研究。

鱼类的肝体比是对长期和短期营养方式均较敏感的指标之一<sup>[18]</sup>。Olivateles 等<sup>[19]</sup>在对鲑(*Oncorhynchus tshawytscha*)、Alarcon 等<sup>[20]</sup>在笛鲷(*Lutjanus argentimaculatus*)的研究表明,大豆蛋白可引起鱼肝体比增大。本试验中,摄食添加 GSH 饲料的各组罗非鱼肝体比均有所升高,部分原因可能是 GSH 促进了罗非鱼肝脏细胞生长<sup>[12]</sup>。

本实验结果表明,饲料中添加适量谷胱甘肽可显著影响罗非鱼的粗蛋白和粗脂肪含量。赵红霞等<sup>[13]</sup>在草鱼亦有相似的报告,但梁春梅<sup>[21]</sup>在奥尼罗非鱼的饲料中添加谷胱甘肽发现,鱼体成分并没有显著性差异。关于谷胱甘肽对罗非鱼体成分的影响有待进一步深入研究。

### 3.2 谷胱甘肽对罗非鱼血清生化指标的影响

本实验中,添加谷胱甘肽各组血清胆固醇和甘油三酯含量均高于对照组,其中 400 mg/kg 组胆固醇含量最高,比对照组升高 15.5%,240 mg/kg 组甘油三酯含量最高,比对照组高 12.5%。这与赵红霞<sup>[13]</sup>等在草鱼体内的研究结果相似。部分原因可能是谷胱甘肽促进生长激素分泌,增强脂肪酸的氧化作用,从而增加动物体内胆固醇和甘油三酯含量。Kaushik 等<sup>[22]</sup>研究指出,用植物蛋白全部替代鱼粉时,动物出现低胆固醇血。Go'mez-Requeni<sup>[23]</sup>研究表明,使用不同蛋白源时出现低胆固醇血。结合本研究结果,在植物蛋白源代替鱼粉时添加谷胱甘肽有可能维持罗非鱼的胆固醇水平,有关谷胱甘肽在植物蛋白源替代鱼粉中的作用值得关注。

本实验结果显示,添加谷胱甘肽时,血清尿素氮均低于对照组,其中 320 mg/kg 组显著降低。这与李清等<sup>[24]</sup>在鲤(*Cyprinus carpio*)饲料中添加

活性肽后血液尿素氮显著降低的结果相似。由本实验的蛋白质效率、肝脏 RNA/DNA 比值数据综合分析,当添加量为 320 mg/kg 时,罗非鱼的蛋白质效率、肝脏 RNA/DNA 比均显著高于对照组。这表明,饲料中添加该剂量谷胱甘肽能促进吉富罗非鱼的蛋白质合成,血清中尿素氮含量显著降低。另外,本实验中,尿素氮在该剂量组含量最低,之后随着谷胱甘肽添加量的增加呈现上升趋势,可能表明高剂量谷胱甘肽不利于蛋白质的吸收和合成。

### 3.3 谷胱甘肽对罗非鱼生长激素水平的影响

生长激素(GH)、类胰岛素生长因子 I (IGF-I)和三碘甲腺原氨酸(T<sub>3</sub>)等对鱼类的生长起着重要的调控作用<sup>[25]</sup>。GH 发挥对生长的调控作用,主要是通过介导 IGF 实现的<sup>[26]</sup>。Meister 等<sup>[27]</sup>报道,外源谷胱甘肽可促进小鼠葡萄糖介导的胰岛素分泌。本实验中,饲料中添加谷胱甘肽能提高血清和肝脏中 GH、IGF-I 含量,其中 GH 最高值出现在 240 mg/kg 添加水平,当添加量在 160 mg/kg 及其以上时,血清和肝脏中 IGF-I 水平显著高于对照组。这一结果与刘平祥<sup>[5]</sup>在蓝塘仔猪中的研究结果相似,该实验还指出谷胱甘肽可促进离体垂体细胞分泌 GH,从而推测外源谷胱甘肽促进了罗非鱼血清和肝脏 GH 的分泌,提高 IGF-I 的分泌。有研究表明,在攀鲈(*Anabas testudineus*)<sup>[28]</sup>体内注射 T<sub>3</sub> 后可提高鱼体内的谷胱甘肽含量,表明谷胱甘肽与 T<sub>3</sub> 的分泌之间存在内在联系。另外有研究指出,T<sub>3</sub> 水平与北极红点鲑(*Salvelinus alpinus*)的特定生长率具有很强的相关性<sup>[29]</sup>。本实验中,饲料中添加谷胱甘肽一定程度上提高了罗非鱼血清和肝脏中 T<sub>3</sub> 含量,且随着谷胱甘肽添加量的增加呈先升高后降低的趋势,这表明适量谷胱甘肽能促进罗非鱼 T<sub>3</sub> 分泌。生长激素的变化与生长性能的变化趋势一致,这表明生长激素的含量与生长性能有较好的相关性,其具体机制有待深入研究。

### 3.4 谷胱甘肽对罗非鱼非特异性免疫相关酶活性的影响

本实验结果表明,饲料中添加一定量的谷胱甘肽可显著提高罗非鱼血清和肝脏中溶菌酶活性,各添加组的碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性也高于对照组。这与曹俊明等<sup>[4]</sup>在凡纳滨对虾的研究结果相似。外源谷胱甘肽提高罗非鱼血清和

肝脏溶菌酶和磷酸酶的具体机制尚不清楚,是否谷胱甘肽作为抗氧化剂提高机体的抗氧化水平从而激发罗非鱼的非特异性免疫能力还需要深入研究。

本实验中,各添加组血清 NOS 活性均高于对照组,当添加量为 320 mg/kg 时显著升高,肝脏中 NOS 活性随谷胱甘肽添加量的增加呈先升高再降低的趋势,这表明适量的谷胱甘肽可诱导机体 NOS 表达,产生适量的 NO,增加机体的非特异性免疫能力。朱春华等<sup>[30]</sup>运用精氨酸在凡纳滨对虾的研究结果亦表明,适量 L-精氨酸能显著提高血淋巴中 NO 含量,且变化趋势与 NOS、AKP 活性升高趋势相一致。

本实验中,血清酚氧化物酶(PO)活性随着谷胱甘肽添加量的增加先升高后降低。由于鱼类不能特异性地产生抗体,对异物的刺激主要表现为吞噬反应和产生一系列抗菌物质,这些酶类活性的提高意味着谷胱甘肽可提高罗非鱼的非特异性免疫能力。

#### 4 结论

饲料中添加一定量的谷胱甘肽能显著促进吉富罗非鱼的生长性能,提高全鱼粗蛋白与粗脂肪含量、血清和肝脏 IGF- I 水平以及非特异性免疫相关酶活性。以增重率为评价指标,计算出吉富罗非鱼幼鱼饲料中谷胱甘肽的最适添加量为 355.13 mg/kg。

#### 参考文献:

- [1] Vine N G, Leukes W D, Kaiser H. Probiotics in marine larviculture [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30(3): 404 - 427.
- [2] Ceriello E A. Hyperglycaemia; the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications[J]. Diabetes Nutrition Metabolism, 1999, 12(1): 42 - 46.
- [3] 张甬元,徐立红,周炳升,等. 鱼体中谷胱甘肽对微囊藻毒素的解毒作用的初步研究[J]. 水生生物学报, 1996, 20(3): 284 - 286.
- [4] 曹俊明,刘晓华,周萌,等. 饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾非特异性免疫因子和相关酶活性的影响[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(4): 528 - 532.
- [5] 刘平祥. 谷胱甘肽对断奶仔猪的促生长作用及其机制[D]. 广州:华南农业大学, 2002.
- [6] 吴觉文. 谷胱甘肽对黄羽肉鸡的促生长作用及其机制[D]. 广州:华南农业大学, 2003.
- [7] 刘晓华,曹俊明,吴建开,等. 饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾生长及组织生化组成的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(3): 440 - 444.
- [8] 王琳,梁旭方,陈晓艳,等. 饲料添加剂硒和谷胱甘肽对微囊藻毒素胁迫下罗非鱼肝脏去毒相关基因诱导表达的影响[J]. 暨南大学学报:自然科学与医学版, 2010, 31(1): 95 - 99.
- [9] 朱选,曹俊明,赵红霞,等. 饲料中添加谷胱甘肽对草鱼组织中谷胱甘肽沉积和抗氧化能力的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(1): 160 - 166.
- [10] 何芬. 谷胱甘肽和蛋白酶解物对仔稚鱼生长及营养生理的影响[D]. 广州:华南农业大学, 2006.
- [11] 董桂芳,朱晓鸣,杨云霞,等. 黄颡鱼饲料中添加谷胱甘肽降低藻毒素毒性作用的研究[J]. 水生生物学报, 2010, 34(4): 722 - 729.
- [12] 焦彩虹. 谷胱甘肽对罗非鱼促生长作用及其作用机制[D]. 广州:华南农业大学图书馆, 2003.
- [13] 赵红霞,曹俊明,朱选,等. 日粮添加谷胱甘肽对草鱼生长性能、血清生化指标和体组成的影响[J]. 动物营养学报, 2008, 20(5): 540 - 546.
- [14] Zambohino Infante J L, Cahu C L, Peres A. Partial substitution of di- and tripeptides for native proteins in sea bass diets improve *Dicentrarchus labrax* larval development[J]. Nutrition, 1997, 127: 608 - 614.
- [15] Bulow L J. RNA/DNA ratio; an index of larval fish growth in the sea[J]. Marine Biology, 1984, 80(3): 291 - 298.
- [16] Haines T A. An evaluation of RNA/DNA ratio as a measure of a long-term growth in fish population [J]. Fishries Research, 1973, 30(2): 195 - 199.
- [17] 梁萌青,王成刚,陈超,等. 几种添加剂对红鳍东方鲀的促生长效果与 RNA/DNA 关系[J]. 海洋水产研究, 2001, 22(2): 38 - 41.
- [18] 洪瑞川,李思光. 万安玻璃红鲤的肌肉营养成分分析[J]. 水生生物学报, 1997, 21(2): 109 - 113.
- [19] Olivanteles A, Gouveia A J, Games E. The effect of different processing treatments on soybean meal utilization by rainbow trout *Oncorhynchus myleiss* [J]. Aquaculture, 1994, 124: 343 - 349.
- [20] Alarcon F I, Garcia Carreno, Navarrete Del Toro M A. Effect of plant protease inhibitors on digestive proteases in two fish species, *Lutjanus argentiventris* and *L. novemfasciatus* [J]. Fish Physiology Biochemistry, 2001, 24: 179 - 189.
- [21] 梁春梅. 还原型谷胱甘肽对奥尼罗非鱼幼鱼生长、免疫功能的影响及机理研究[D]. 广州:华南农业

- 大学,2006.
- [22] Kaushik S J, Coves D, Dutto G, Blanc D. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax* [ J ]. *Aquaculture*, 2004, 230:391 - 404.
- [23] Go' mez-Requeni P, Calduch M M, Giner J A, *et al.* Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [ J ]. *Aquaculture*, 2004, 232: 493 - 510.
- [24] 李清,肖调义,毛华明. 生物活性肽对鲤鱼生理生化指标的影响 [ J ]. *长江大学学报:自然版*, 2004, 2 ( 5 ):27 - 29.
- [25] Perez-sanchez J, Lebail P Y. Growth hormone axis as a marker of nutritional status and growth performance in fish [ J ]. *Aquaculture*, 1999, 177:117 - 128.
- [26] Pierce A L, Beckman B R, Shearer K D, *et al.* Effect of ration on somatotropin hormones and growth in coho salmon [ J ]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2001, 128( 2 ):255 - 264.
- [27] Meister A, Anderson M E. Glutathione [ J ]. *The Annual Review of Biochemistry*, 1983, 52: 711 - 760.
- [28] Varghese S, Shameena B, Oommen O V. Thyroid hormones regulate lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in *Anabas testudineus* [ J ]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2001, 128 ( 1 ):165 - 171.
- [29] Eales J G, Shostak S. Correlations between foodration, somatic growth parameters and thyroid function in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* [ J ]. *Journal of Comparative Physiology*, 1985, 80A: 553 - 558.
- [30] 朱春华,李广丽,吴天少,等. L-精氨酸对凡纳滨对虾体液免疫因子的影响 [ J ]. *海洋科学*, 2009, 33 ( 2 ):55 - 59.



## Effects of dietary glutathione on growth performance, tissue biochemical indexes and non-specific immune related enzymes of GIFT *Oreochromis niloticus*

ZHOU Tingting<sup>1,2,3,4</sup>, CAO Junming<sup>1,3,4\*</sup>, HUANG Yanhua<sup>1,3,4</sup>, CHEN Bing<sup>1,3,4</sup>,  
WANG Guoxia<sup>1,3,4</sup>, SUN Zhiwu<sup>1,2,3,4</sup>, LIU Qunfang<sup>1,3,4</sup>, LIU Xiaoling<sup>1,3,4</sup>

(1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

3. Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China;

4. Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** This study was conducted to investigate the effects of dietary glutathione (GSH) on growth performance, tissue biochemical indexes and non-specific immune related enzymes of GIFT *Oreochromis niloticus*. 720 fish with initial weight of  $(3.27 \pm 0.04)$  g were randomly allocated into 6 groups. The fish in control group were fed the basal diet (G0), while those in the other five groups were fed the basal diet added with 80, 160, 240, 320, 400 mg/kg GSH. After 7 weeks' feeding, weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) and RNA/DNA ratio of liver in 320 mg/kg group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ), and feed coefficient (FC) was significantly lower ( $P < 0.05$ ). Hepatosomatic index (HSI) was higher in GSH added groups than the control, showing no significant difference ( $P > 0.05$ ). Among all groups, no significant difference was found in condition factor (CF) ( $P > 0.05$ ). The whole-body crude protein content and crude lipid content were significantly affected by dietary GSH levels ( $P < 0.05$ ), while the ash and dry matter content showed no significant difference ( $P > 0.05$ ). Serum UN content was significantly lower in 320 mg/kg group compared with the control ( $P < 0.05$ ). The IGF- I level in G160-G400 mg/kg groups was significantly higher than the control and 80 mg/kg groups. The serum lysozyme (LZM) activities increased significantly in 240, 320 and 400 mg/kg groups compared with the others ( $P < 0.05$ ), and liver LZM activities were significantly higher in 320 and 400 mg/kg groups ( $P < 0.05$ ). Dietary GSH increased serum alkaline phosphatase (AKP), phenoloxidase (PO) and liver AKP, acid phosphatase (ACP) activities, but no significant difference was shown ( $P > 0.05$ ). Serum nitric oxide synthase (NOS) activities in 320 mg/kg group were significantly higher than the control ( $P < 0.05$ ), but those in liver showed no significant difference ( $P > 0.05$ ). The result suggested that dietary GSH could significantly improve growth performance, raise whole-body crude protein and crude lipid content, increase serum and liver IGF- I level, and enhance activities of non-specific immune related enzymes in GIFT *Oreochromis niloticus*. The optimum level of dietary GSH was 355.13 mg/kg on the basis of WGR.

**Key words:** GIFT *Oreochromis niloticus*; glutathione; growth performance; tissue biochemical indexes; non-specific immune

**Corresponding author:** CAO Junming. E-mail: junmcao@163.com