

文章编号: 1000-0615(2018)09-1428-10

DOI: 10.11964/jfc.20170910968

实用饲料添加肌醇对草鱼生长、脂质代谢及抗氧化机能的影响

林 肯¹, 冯婧昀¹, 杨慧施², 陈拥军¹, 陈小川¹,
罗 浩³, 黄 旺¹, 汪海涛⁴, 罗 莉^{1*}

(1. 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 400715;
2. 北京师范大学统计学院, 北京 100875;
3. 新希望六和股份有限公司, 四川成都 610041;
4. 汉中市动物疾病预防控制中心, 陕西汉中 723000)

摘要: 为探讨肌醇对草鱼生长、脂质代谢及抗氧化机能的影响, 以实用饲料配方为基础, 分别添加0(对照)、50、100、150、200、300和400 mg/kg肌醇, 配制成7组等氮等脂的饲料, 每组饲料设4个重复, 每个重复饲喂初始体质量为(15.00 ± 0.15) g的草鱼25尾, 养殖56 d。结果显示, 饲料中添加100~150 mg/kg肌醇能显著提高草鱼终末均重(FBW)、增重率(WGR)、特定生长率(SGR)及饲料效率(FE); 随饲料肌醇添加水平的上升, 全鱼脂肪、肝脏脂肪和脂肪沉积率先升后降, 在50~300 mg/kg均与对照组存在显著差异, 且均在100 mg/kg达到最大值。肌肉脂肪则逐渐下降并趋于稳定, 在100 mg/kg达到最小值, 100~400 mg/kg差异不显著; 肠脂肪酶、血浆总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量及高密度/低密度脂蛋白胆固醇(HDL-C/LDL-C)均呈先升后降的趋势, 除LDL-C在各组间差异不显著外, 其余指标均在100~150 mg/kg达到最大值; 添加肌醇能显著增强肝脏和肌肉中肉碱脂酰转移酶(CPT-I)和乙酰辅酶A羧化酶(ACC)的活性。与对照组相比, 100 mg/kg肝脏CPT-I的增幅比例低于ACC的增幅比例, 肌肉则相反; 当肌醇添加水平为100~150 mg/kg时, 肝脏和肌肉中超氧化物歧化酶(SOD)的活性显著升高, 丙二醛(MDA)含量及血浆中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)均显著降低。研究表明, 实用饲料添加适宜的肌醇能改善草鱼的生长、饲料转化和肝脏功能, 促进脂肪消化, 加快脂肪酸的合成与分解代谢, 使全鱼和肝脏增脂、肌肉降脂, 且能够提高肝脏和肌肉的抗氧化机能。以FE和SGR为效应指标, 草鱼实用饲料肌醇适宜添加量为90.3~96.4 mg/kg。

关键词: 草鱼; 肌醇; 生长; 脂质代谢; 抗氧化机能

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

肌醇(Myo-inositol)即环己六醇, 俗名为肌糖, 属于B族维生素类物质, 于1850年Scherer首次从牛的心肌组织中获得^[1]。自然界中, 肌醇通常以植酸磷的形式存在于植物内, 在动物体内则以磷脂酰肌醇的形式作为细胞的构成成分而

广泛分布。与一般水溶性维生素不同, 肌醇在体内不以辅酶的形式参与代谢, 而是作为活性组织的组成成分来发挥功效。国内外对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[2-3]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[4]、大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)^[5]和真鲷

收稿日期: 2017-09-13 修回日期: 2017-11-15

资助项目: 国家自然科学基金(31101909); 重庆市社会民生科技创新专项(cstc2016shmszx80084)

通信作者: 罗莉, E-mail: luoli1972@163.com

(*Pagrosomus major*)^[6]的研究表明, 肌醇作为营养型添加剂, 具有促进鱼类生长、提高饲料效率及改善脂质代谢等重要的生理功能。但以往的研究大多是在纯化或半纯化饲料的基础上来探讨鱼类对于肌醇的需求量, 而有关实用饲料中肌醇的适宜添加量研究则仅见关于斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[7]方面的报道。

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*), 属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、草鱼属(*Ctenopharyngodon*), 是我国淡水养殖的重要品种, 其养殖量、饲料需求量均居世界第一位。迄今, 唯有文华等^[8]研究指出, 草鱼幼鱼对于肌醇的需求量为166~214 mg/kg。然而, 由于该研究中采用半纯化饲料投喂, 加之草鱼对植酸磷中肌醇的吸收尚存在不确定性, 故草鱼实用饲料中肌醇的适宜添加量不得而知。基于此, 本实验采用单因子梯度法, 探讨实用饲料中肌醇对草鱼生长、脂质代谢和抗氧化机能的影响, 为草鱼实用饲料中肌醇的适宜添加量提供技术支持和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

根据草鱼营养需求, 本实验采用豆粕、菜粕和棉粕等全植物蛋白源, 以大豆油作为脂肪源配制基础饲料。实验饲料配方及营养水平见表1。在基础配方中分别添加0、50、100、150、200、300和400 mg/kg肌醇7个水平, 经膨润土调平, 配置成7种等氮(粗蛋白30.78%)等脂(粗脂肪6.04%)的实验饲料, 并分别命名为D0、D50、D100、D150、D200、D300和D400。饲料原料均过40目筛, 用混合机混匀, 挤压制成直径2.0 mm的颗粒饲料, 风干, 双层饲料袋包装封口, -20 °C保存备用。

1.2 实验鱼及饲养管理

实验鱼购自重庆市歇马鱼种场, 先经浓度3%的食盐溶液消毒后, 暂养于室内圆柱形养殖系统中(R=0.42 m, H=0.55 m), 以基础饲料驯化2周。正式实验前, 挑选体格健壮、规格整齐、均重为(15.00±0.15) g的草鱼700尾, 随机分养于7个处理组, 每组4个重复, 每个重复放养25尾鱼, 每日分3次投喂(8:30、12:30和17:00)。日投

表1 基础饲料配方及主要营养成分(风干基础)

Tab. 1 Formulation and nutrient composition of the experimental basal diets (air-dry basis) %

	项目 items	含量 content
原料 ingredients		
豆粕 soybean meal	30	
棉粕 cottonseed meal	12	
菜粕 rapeseed meal	21.5	
面粉 wheat flour	13.5	
米糠 rice bran	15	
豆油 soybean oil	3.5	
赖氨酸 lysine	0.2	
蛋氨酸 methionine	0.05	
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.5	
预混料 premix	1	
防霉剂 mold inhibitor	0.05	
抗氧化剂 antioxidant	0.05	
合计 total	100	
营养组成 nutrient composition		
粗蛋白 crude protein	30.78	
粗脂肪 crude lipid	6.04	
粗灰分 crude ash	9.11	
植酸磷(实测) phytic acid (actual measurement)	0.54	

注: 预混料为每千克全价日粮提供: 铁120.0 mg; 铜5.0 mg; 锌50.0 mg; 锰20.0 mg; 碘1.2 mg; 硒0.6 mg; 钴2.0 mg; 维生素A 3 000.0 IU; 维生素D 2 000.0 IU; 维生素E 100.0 mg; 维生素K₃ 10.0 mg; 维生素B₁ 10.0 mg; 维生素B₂ 15.0 mg; 烟酸100.0 mg; 维生素B₆ 15.0 mg; 泛酸钙50.0 mg; 叶酸6.0 mg; 维生素B₁₂ 0.03 mg; 生物素1.0 mg; 维生素C 200.0 mg

Notes: Premix provided per kg of diet: Fe 120.0 mg; Cu 5.0 mg; Zn 50.0 mg; Mn 20.0 mg; I 1.2 mg; Se 0.6 mg; Co 2.0 mg; vitamin A 3 000.0 IU; vitamin D 2 000.0 IU; vitamin E 100.0 mg; vitamin K₃ 10.0 mg; vitamin B₁ 10.0 mg; vitamin B₂ 15.0 mg; niacin 100.0 mg; vitamin B₆ 15.0 mg; calcium pantothenate 50.0 mg; folic acid 6.0 mg; vitamin B₁₂ 0.03 mg; biotin 1.0 mg; vitamin C 200.0 mg

喂量为体质量的3%~5%, 每隔14天根据实验鱼的增重情况调整一次投喂量, 养殖周期为8周。饲养期间, 日换水1次, 水源为曝气自来水, 水温22~28 °C, 溶解氧>6.0 mg/L, pH 6.5~7.0, 氨氮含量<0.10 mg/L, 亚硝酸氮<0.10 mg/L。

1.3 样品采集、制备

养殖实验结束后, 实验鱼饥饿24 h, 每组选取16尾体质量均匀的草鱼, 经MS-222麻醉后,

测定体质量、体长和体高。其中,4尾用于全鱼营养组成测定,6尾经尾静脉抽血,血液样本注入含EDTA的离心管中,之后4500 r/min离心10 min制备血浆并转入-80 °C冰箱待用。余下6尾置于冰盘解剖,剥离肝脏和肠道,滤纸沥干并称重,同时取侧线以上背部肌肉,将所有组织迅速转入液氮,随后分别置于-80 °C冰箱保存。指标测定前,取部分肝脏、肠道和肌肉,按1:9(g/mL)加入生理盐水,迅速转入高速分散器匀浆(匀浆过程在冰水浴中进行),后将匀浆液离心(4 °C, 4 000 r/min, 10 min),取上清液制得粗酶液,分装存于-80 °C冰箱待用。

1.4 指标测定

生长及形体指标的测定 养殖实验结束后,停食24 h,准确称量鱼重,并根据饲料投喂量计算出增重率(WGR)、特定生长率(SGR)、饲料效率(FE),计算公式如下:

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

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

饲料效率(feed efficiency, FE, g/g)=($W_t - W_0$)/
式中, W_0 为初始体质量(g); W_t 为终末体质量(g); t 为养殖天数(d); F 为尾均饲料摄食量(g)。

饲料营养成分沉积率测定 脂肪沉积率(fat deposition rate, FDR, %)= $100 \times (W_t \times CN_t - W_0 \times CO_i) / (F \times CF_i)$

式中, CN_t 为终末鱼体脂肪含量(%); CO_i 为初始鱼体脂肪含量(%); CF_i 为饲料脂肪含量(%)。

全鱼和组织粗脂肪含量测定 粗脂肪含量测定均采用索氏抽提测定法。

血浆和组织生化指标的测定 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)等均采用四川新健康成生物股份有限公司试剂盒,于日立7020型全自动生化分析仪上测定。高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量测定采用双试剂直接法,试剂均购于南京建成生物工程研究所。肠脂肪酶(Lipase)、肉碱脂酰转移酶(CPT-I)、乙酰辅酶A羧化酶(ACC)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和过氧化氢酶(CAT)等均采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA)测定,试剂盒均购自上海优选生物有限公司。

1.5 数据处理

实验数据均采用SPSS 22.0软件进行方差性检验和单因素方差分析(One-Way ANOVA),同时用Duncan氏多重比较分析组间差异显著程度,显著水平为0.05。实验结果以平均值±标准差(mean±SD)表示,采用折线模型回归分析来评估饲料中肌醇适宜添加水平。

2 结果

2.1 添加肌醇对草鱼生长性能和饲料转化的影响

随着饲料肌醇添加水平的增加,FBW、WGR、SGR和FE均呈先升高后降低的变化趋势,在D100和D150组时较D0组存在显著差异($P<0.05$),其中,FBW、WGR、SGR和FE均在D100组达到最大值,分别较D0组提高了28.03%、36.87%、20.30%和15.63%,而其余各组间则差异不显著($P>0.05$)**(表2)**。

表2 添加肌醇对草鱼生长性能和饲料转化的影响

Tab. 2 Effect of inositol on growth performance and feed conversion of *C. idella*

项目 items	饲料 diets						
	D0	D50	D100	D150	D200	D300	D400
初始均重/g IBW	14.86±0.14	15.19±0.28	15.00±0.44	14.97±0.22	15.18±0.25	15.02±0.55	14.87±0.11
终末均重/g FBW	46.24±3.47 ^a	51.12±1.24 ^{ab}	59.20±1.57 ^c	57.00±1.57 ^{bc}	53.27±5.90 ^{abc}	49.2±1.73 ^a	47.83±2.78 ^a
增重率/% WGR	212.09±25.4 ^a	240.3±7.64 ^{ab}	290.29±1.09 ^c	277.53±1.27 ^{bc}	247.02±34.6 ^{abc}	225.7±13.5 ^a	222.77±20.0 ^a
特定生长率/(%/d) SGR	2.02±0.14 ^a	2.19±0.04 ^{ab}	2.43±0.01 ^b	2.37±0.01 ^b	2.22±0.18 ^{ab}	2.11±0.08 ^a	2.09±0.11 ^a
饲料效率 FE	0.64±0.02 ^a	0.69±0.01 ^{ab}	0.74±0.01 ^b	0.72±0.03 ^b	0.69±0.01 ^{ab}	0.68±0.01 ^{ab}	0.67±0.07 ^{ab}

注: 同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Notes: in the same row, values with no or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same below

采用折线模型拟合 $FE(Y_1)$ 、 $SGR(Y_2)$ 和肌醇添加水平(X)之间的关系, 在D0~D100组和D100~D400组之间分别建立以下4个回归方程: $Y_1=0.0009X+0.6428(R^2=0.9892)$ 、 $Y_1=-0.0002X+0.7421(R^2=0.8252)$ 和 $Y_2=0.004X+2.0167(R^2=0.9868)$ 、 $Y_2=-0.0012X+2.518(R^2=0.8879)$, 经统计分析得到实用饲料中肌醇添加水平为90.3~96.4 mg/kg时, 草鱼能够获得最佳的生长性能(图1、图2)。

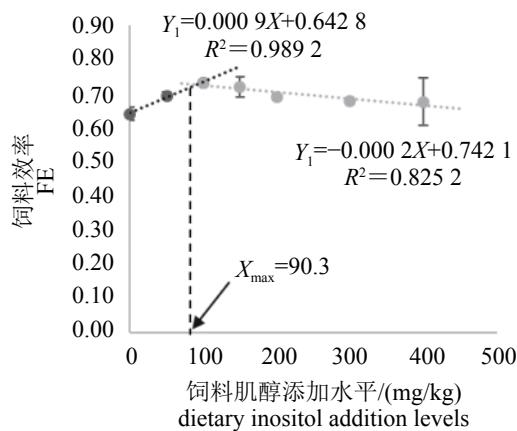


图1 添加肌醇对草鱼饲料效率的影响

Fig. 1 Effect of inositol on feed efficiency of *C. idella*

2.2 添加肌醇对草鱼脂肪含量和脂肪沉积率的影响

随着饲料肌醇添加水平的增加, 全鱼脂肪、肝脏脂肪及脂肪沉积率均呈先升后降的趋势, 在D100组达到最大值, 分别较D0组增加了17.05%、28.02%和32.62%, 且各指标在D50~D300组均与D0组存在显著差异($P<0.05$)。肌肉脂肪则逐渐下降后趋于稳定, 在D150组达到最小值($P<0.05$), 较D0组降低了30.92%, 而D100~D400组差异不显著($P>0.05$)(表3)。

表3 添加肌醇对草鱼脂肪含量和脂肪沉积率的影响(鲜重)
Tab. 3 Effect of inositol on lipid content and whole-body deposition rate of *C. idella* (fresh weight) %

项目 items	饲料 diets						
	D0	D50	D100	D150	D200	D300	D400
全鱼脂肪 CL	6.51±0.17 ^a	7.42±0.14 ^{bc}	7.62±0.17 ^c	7.50±0.07 ^{bc}	7.47±0.17 ^{bc}	7.62±0.19 ^c	7.32±0.19 ^{bc}
肝脏脂肪 LCL	6.96±0.23 ^a	8.52±0.38 ^{cd}	8.91±0.60 ^d	8.57±2.28 ^{cd}	8.36±0.21 ^c	7.67±0.71 ^b	6.87±1.08 ^a
肌肉脂肪 MCL	1.52±0.09 ^b	1.37±0.08 ^b	1.05±0.06 ^a	1.05±0.03 ^a	1.14±0.05 ^a	1.10±0.16 ^a	1.07±0.10 ^a
脂肪沉积率 LRR	81.98±2.73 ^a	100.62±2.28 ^b	108.72±1.37 ^c	108.39±0.78 ^c	102.05±2.72 ^b	103.16±0.93 ^b	101.05±3.16 ^b

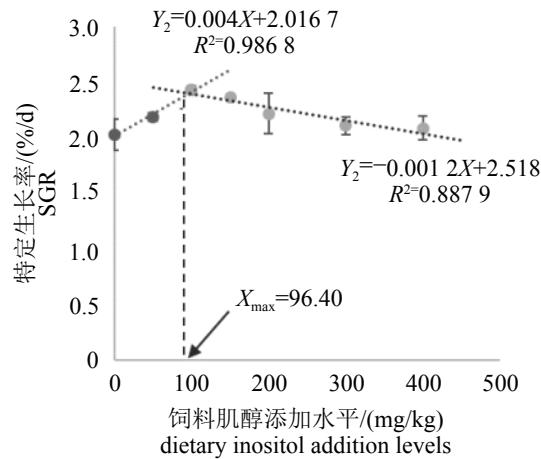


图2 添加肌醇对草鱼特定生长率的影响

Fig. 2 Effect of inositol on SGR of *C. idella*

2.3 添加肌醇对草鱼肠道脂肪酶和血浆脂质代谢指标的影响

随着饲料肌醇添加水平的增加, 肠道脂肪酶和血浆中TG、TC、LDL-C、HDL-C、HDL-C/LDL-C均呈先升后降的趋势, 其中脂肪酶活性、HDL-C含量和HDL-C/LDL-C在D100组达到最大值($P<0.05$), 而TG和TC含量则在D150组达到最大值($P<0.05$), LDL-C含量在各组间差异不显著($P>0.05$)。在D100组, 肠脂肪酶活性较D0组和D400组分别增加了134.55%和122.15%; HDL-C含量较D0组和D400组分别增加了70.59%和61.93%; HDL-C/LDL-C则较D0组和D400组均增加了49.02%。D150组TG含量较D0组和D400组分别增加了17.09%和20.60%; TC含量较D0组和D400组分别增加了17.14%和13.65%(表4)。

2.4 添加肌醇对草鱼脂肪酸合成和分解的影响

随着饲料肌醇添加水平的增加, 肝脏和肌肉中CPT-I、ACC活性均呈先升后降趋势, 且两

表4 添加肌醇对草鱼肠道脂肪酶和血浆脂质代谢指标的影响

Tab. 4 Effect of inositol on intestinal lipase and plasma lipid metabolism function indexes of *C. idella*

项目 items	饲料 diets						
	D0	D50	D100	D150	D200	D300	D400
脂肪酶/(U/mg prot) lipase	4.66±0.42 ^a	6.05±1.69 ^a	10.93±1.15 ^b	6.44±1.16 ^a	4.80±0.17 ^a	4.66±0.77 ^a	4.92±0.23 ^a
甘油三酯/(mmol/L) TG	2.75±0.02 ^b	2.92±0.05 ^c	2.98±0.04 ^d	3.22±0.02 ^e	3.02±0.04 ^d	2.69±0.02 ^a	2.67±0.03 ^a
总胆固醇/(mmol/L) TC	4.55±0.08 ^a	4.83±0.08 ^c	5.06±0.07 ^d	5.33±0.08 ^e	5.12±0.05 ^d	5.05±0.09 ^d	4.69±0.05 ^b
低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) LDL-C	1.87±0.09	1.90±0.12	2.01±0.19	2.19±0.16	1.93±0.12	2.06±0.26	1.98±0.30
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) HDL-C	1.87±0.02 ^a	2.43±0.40 ^a	3.19±0.67 ^b	2.47±0.36 ^a	2.28±0.12 ^a	2.22±0.08 ^a	1.97±0.18 ^a
高密度/低密度脂蛋白胆固醇 HDL-C/LDL-C	1.02±0.03 ^a	1.06±0.03 ^a	1.52±0.35 ^b	1.12±0.12 ^a	1.17±0.01 ^a	1.06±0.13 ^a	1.02±0.17 ^a

种酶活性在肌醇添加组均显著高于D0组($P<0.05$) (表5)。肝脏中, D50~D300组的ACC较D0组的增幅高于CPT-I的增幅, 且在D100~D200组的增幅差值均较大, 其中生长性能最佳的D100组, CPT-I活性较D0组增加了36.02%, 而ACC活性增加了69.05%(图3), 表明D100组的肝脏脂肪酸合成速率的增强幅度高于分解速率的增强幅度。而肌肉中, D50~D400组的ACC较D0组的增幅低于CPT-I的增幅, 且在D100~D400组的增幅差值均较大, 其中生长性能最佳的D100组, CPT-I活性较D0组增加了91.00%, 而ACC活性仅增加了45.72%(图4), 表明D100组的肌肉中脂肪酸分解速率的增强幅度高于合成速率的增强幅度。

2.5 添加肌醇对草鱼肝功能指标和组织抗氧化机能的影响

随着饲料肌醇添加水平的增加, 血浆中ALT和AST活性呈先降后升趋势, 分别在D150组和D100组降到最小值($P<0.05$), 较D0组分别降低了54.05%和40.34%。在肝脏和肌肉中, MDA含量

均呈先降后升的趋势, 分别在D150组和D100组达到最低值($P<0.05$), 较D0组分别降低了55.77%和23.31%; SOD活性则均呈先升后降的趋势, 分别在D100组和D150组达到最高值($P<0.05$), 较D0组增加了34.03%和29.52%; 肝脏中CAT活性呈线性上升的趋势($P<0.05$), 但在肌肉中则无显著差异($P>0.05$)(表6)。

3 讨论

3.1 肌醇对草鱼生长性能和饲料转化的改善

迄今, 国内外关于肌醇对鱼类的影响已开展了较多研究, 但大多数研究都是基于纯化饲料来探讨鱼类对肌醇的需求量, 而对实用饲料中肌醇适宜添加量的探讨则鲜见报道。在奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*♂×*O. aureus*♀)^[9]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[10]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[11]和条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)^[12]上的研究证明, 适宜添加肌醇对鱼类的生长和饲料的转化具有显著的促进作用, 其肌醇需求水平分

表5 添加肌醇对草鱼脂肪酸合成和分解的影响

Tab. 5 Effect of inositol on synthesis and decomposition of fatty acid of *C. idella*

项目 items	饲料 diets						
	D0	D50	D100	D150	D200	D300	D400
肝脏 liver							
乙酰辅酶A羧化酶/(U/mL) ACC	42.45±2.05 ^a	57.11±1.63 ^c	71.76±0.73 ^d	71.24±1.43 ^d	69.77±1.93 ^d	53.16±0.73 ^c	50.35±0.62 ^b
肉碱脂酰转移酶/(U/mL) CPT-I	357.82±9.08 ^a	404.23±6.68 ^b	486.70±20.17 ^c	455.82±16.48 ^d	435.01±14.14 ^{cd}	430.38±14.60 ^{cd}	427.63±14.10 ^{bc}
肌肉 muscle							
乙酰辅酶A羧化酶/(U/mL) ACC	35.19±0.93 ^a	46.31±2.29 ^b	51.28±1.51 ^c	57.66±1.52 ^d	58.07±1.49 ^d	55.79±1.25 ^d	46.31±2.29 ^b
肉碱脂酰转移酶/(U/mL) CPT-I	269.22±12.30 ^a	372.59±28.29 ^b	514.22±8.78 ^d	516.57±4.99 ^d	518.92±18.05 ^d	514.22±6.04 ^d	439.71±18.46 ^c

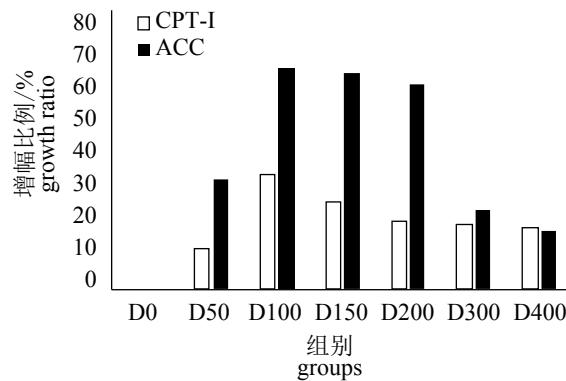


图3 肝脏CPT-I和ACC活力的增幅比较

增幅比例=(处理组-对照组)/对照组×100, 下同

Fig. 3 Comparison of growth rate of CPT-I and ACC activities in liver

growth ratio=(treatment group-control group)/control group×100, the same below

别为400、300、800~1 200和100 mg/kg。然而, 少数鱼类如亚洲黑鲈(*Dicentrarchus labrax*)^[13]、斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)^[14]及太阳鱼(*Morone chrysops* × *M. saxatilis*)^[15]等能够通过自身合成肌醇来满足其生理需求, 因而不需要在饲料中添加。可见, 随着鱼种类的不同, 其自身合成肌醇的能力存在差异, 对于肌醇的需求量也就随之不同^[16]。

文华等^[8]在草鱼上的研究表明, 草鱼幼鱼自身可能合成一定量的肌醇, 而对其生长适宜的

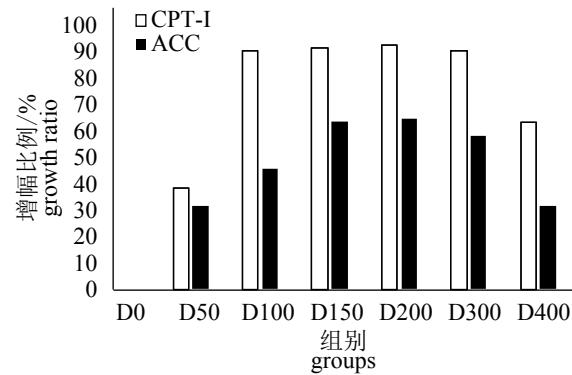


图4 肌肉CPT-I和ACC活力的增幅比较

Fig. 4 Comparison of growth rate of CPT-I and ACC activities in muscle

肌醇需求水平为166~214 mg/kg(半纯化饲料)。本研究中, 当实用饲料中肌醇添加量为100~150 mg/kg时, 能够显著改善草鱼的生长性能。以FE和SGR为效应指标, 通过折线模型回归分析, 得出草鱼实用饲料中肌醇的最适添加量为90.3~96.4 mg/kg, 低于文华等^[8]的研究结果。这可能是因为基础配方中采用了豆粕、棉粕、菜粕及米糠等植物性原料, 使得配方中植酸磷水平达到了0.54%, 而鱼类对于植酸磷中的肌醇可能存在部分利用, 故本实验结果较前人研究结果偏低。此外, 对照组草鱼在饲养过程中并未出现如体表出血、鳍条糜烂等明显的肌醇缺乏症状, 其原因除了草鱼自身的合成能力外, 还可能由于基

表6 添加肌醇对草鱼肝功能指标和组织抗氧化机能的影响

Tab. 6 Effect of inositol on liver function indexes and tissue antioxidant activity of *C. idella*

项目 items	饲料 diets						
	D0	D50	D100	D150	D200	D300	D400
血浆 plasma							
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	3.70±0.42 ^d	2.40±0.28 ^{bce}	1.90±0.21 ^{ab}	1.70±0.26 ^a	2.20±0.21 ^{abc}	2.30±0.29 ^{abc}	2.80±0.30 ^c
谷草转氨酶/(U/L) AST	17.6±0.65 ^c	14.2±0.94 ^b	10.5±0.12 ^a	13.5±1.19 ^b	13.1±1.85 ^b	20.1±0.86 ^d	27.4±1.00 ^e
肝脏 liver							
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	15.87±2.81 ^c	11.70±1.30 ^b	9.68±1.51 ^{ab}	7.02±0.45 ^a	7.96±1.53 ^a	8.36±1.74 ^{ab}	9.18±2.58 ^{ab}
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	253.11±22.9 ^b	307.32±41.8 ^{bc}	339.24±44.8 ^c	291.77±37.4 ^{bc}	272.89±48.5 ^{bc}	265.09±39.7 ^{bc}	153.30±17.1 ^a
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	12.21±0.54 ^a	12.90±1.19 ^a	13.51±0.88 ^a	13.91±1.08 ^{ab}	15.44±1.06 ^b	17.70±1.14 ^c	20.81±1.69 ^d
肌肉 muscle							
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	3.26±0.19 ^c	3.31±0.21 ^c	2.50±0.08 ^a	2.93±0.05 ^b	2.87±0.26 ^b	2.73±0.20 ^{ab}	2.90±0.19 ^b
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	237.73±15.0 ^a	275.6±32.1 ^{ab}	305.8±11.4 ^b	307.9±6.61 ^b	263.1±10.3 ^a	254.5±5.12 ^a	279.4±25.3 ^{ab}
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	0.52±0.04	0.54±0.02	0.53±0.03	0.53±0.03	0.56±0.02	0.55±0.03	0.51±0.02

础配方已满足了草鱼对肌醇的基本生理需求。研究表明,当营养素超过需求时,动物的生长往往会出现一个平台期或下降状况^[17]。本实验条件下,D400组的SGR和FE较适宜添加组均有一定程度的下降,但与对照组相比并无显著差异,说明400 mg/kg的肌醇添加水平不会破坏鱼体机能的平衡和抑制鱼类的生长。

3.2 肌醇对草鱼脂质代谢的调控

肌醇作为亲脂性环己烷类衍生物,能够参与磷脂酰肌醇的生成,通过三磷酸肌醇(IP3)信号通路对胞内Ca²⁺浓度的调节进而调控机体内组织的脂质代谢。关于肥胖小鼠的研究认为,当IP3通路激活时,胞内Ca²⁺浓度升高,激素敏感酯酶(HSL,是甘油三酯和甘油二酯水解的特异性调节因子)mRNA的表达受到抑制,脂肪就会蓄积,反之则减少^[18]。综合在花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[19]、哲罗鲑(*Hucho taimen*)^[20]、胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)^[21]、条石鲷^[12]、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[22]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[19]、卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)^[23]团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)^[24]、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[25]、奥尼罗非鱼^[26]、点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)^[27]及尼罗罗非鱼(*O.niloticus*)^[28]上的大量研究发现,肌醇的添加对于全鱼、肝脏和肌肉脂肪的影响分别是无显著差异、增加和降低3种结果,这表明肌醇对于鱼类体脂的沉积和代谢调节具有鱼种的特异性、剂量效应依赖性和组织表达差异化。本实验中,肌醇的添加(0~400 mg/kg)能够同时升高草鱼全鱼和肝脏脂肪含量、降低肌肉脂肪含量,这也进一步证实了上述观点。

本研究发现,肌醇添加后增强了草鱼肠道脂肪酶活性,促进了脂肪的消化,使得血浆中TC、TG、HDL-C、HDL-C/LDL-C均显著升高,从而导致肝脏组织和肌肉组织中CPT-I(脂肪酸分解关键限速酶)和ACC(脂肪酸合成关键限速酶)的活性同时增强,但2种组织对于肌醇的生理响应有所不同,其原因可能与肌醇在不同组织中的蓄积量有关。在肝脏中,肌醇添加50~300 mg/kg后ACC活性较未添加组的增幅比例高于CPT-I活性的增幅比例,反映出脂肪酸合成代谢能力大于分解代谢能力,肝脏粗脂肪因此高于对照组。而在肌肉中,肌醇添加50~400 mg/kg后其

CPT-I活性较未添加组的增幅比例均高于ACC的增幅比例,表明脂肪酸分解代谢能力强于合成代谢能力,肌肉粗脂肪因而低于对照组。此外,本研究中肌醇的添加还提高了草鱼全鱼的脂肪沉积率。综上,肌醇的适宜添加(100~150 mg/kg),提高了草鱼消化脂肪的能力、加快了肝脏和肌肉脂肪酸的合成与分解代谢、增强了饲料脂肪的沉积能力,使全鱼和肝脏增脂,而肌肉降脂。

3.3 肌醇对草鱼肝功能和抗氧化机能的影响

SOD、CAT作为机体抗氧化系统损伤防御体系中重要的抗氧化酶,能够清除生物体内过多的氧化自由基。MDA是脂质过氧化反应的最终代谢产物,其含量的高低可以间接反映机体脂质过氧化水平。Santoro等^[29]研究认为,肌醇的多元醇结构能够将H⁺传递给自由基,清除如Fenton反应体系产生的OH⁻,同时螯合高价铬化合物,从而起到抗氧化的作用。本研究发现,饲料中适宜的肌醇水平能够提高组织SOD和CAT的活性,减少其MDA产量。而当肌醇水平过高时,过度的脂肪代谢又会给机体造成一定的负担,致使体内代谢紊乱和抗氧化水平的降低,类似的结果在哲罗鲑^[30]的研究中也有所发现。Jiang等^[31]研究表明,肌醇通过促进信号分子Nrf2的核转位,使得Nrf2与抗氧化元件ARE的结合,从而提高鲤肠道CuZnSOD基因的表达,增强了肠道的抗氧化机能。本实验中肌醇对于肝脏和肌肉抗氧化机能的促进是否通过相同的调控机制,这仍有待进一步的研究。本研究结果还指出,尽管D100组肝脂含量最高,但其MDA含量却较D0组显著降低,说明脂质的适度增加并未使肝脏处于过氧化胁迫的状态。同时,D100组中血浆ALT和AST活性显著降低,HDL-C含量显著升高(胞浆酶ALT和AST能作为肝细胞受损的特征性酶谱^[32],而HDL含量的高低则可精确反映肝功能的好坏^[33]),表明该肌醇水平下还有利于草鱼肝脏的健康。可见,脂质含量的高低与氧化应激的稳态并不存在绝对的相关性,二者之间的关系尚需后续深入的探讨。

4 结论

本实验条件下,实用饲料中添加适宜的肌醇能改善草鱼的生长、饲料转化和肝脏功能,促进脂肪消化,加快脂肪酸的合成与分解代

谢, 使全鱼和肝脏增脂、肌肉降脂, 且同时提高肝脏和肌肉抗氧化机能。以FE和SGR为效应指标, 草鱼实用饲料肌醇适宜添加量为90.3~96.4 mg/kg。

林肯和冯婧昀为共同第一作者。

参考文献:

- [1] Mai K S, Wu G, Zhu W. Abalone, *Haliotis discus han-nai* Ino, can synthesize myo-inositol de novo to meet physiological needs[J]. *The Journal of Nutrition*, 2001, 131(11): 2898-2903.
- [2] McLaren B A, Keller E. The nutrition of rainbow trout; studies of vitamin requirements[J]. *Archives of Biochemistry*, 1947, 15(2): 169-178.
- [3] Kitamura S, Suwa T, Ohara S, et al. Studies on vitamin requirements of rainbow trout-II: The deficiency symptoms of fourteen kinds of vitamin[J]. *The Japanese Society of Fisheries Science*, 1967, 33(12): 1120-1125.
- [4] Aoe H, Masuda I. Water-soluble vitamin requirements of Carp-II: Requirements for *p*-aminobenzoic acid and inositol[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1967, 33(7): 674-680.
- [5] Halver J E. Fish diseases and nutrition[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1954, 83(1): 254-261.
- [6] Yone Y, Furuichi M, Shitanda K. Vitamin requirements of red sea bream-1: Relationship between inositol requirements and glucose levels in the diet[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1971, 37(2): 149-155.
- [7] 侯鑫. 斜带石斑鱼和罗非鱼对维生素A和肌醇的需求研究[D]. 广州: 中山大学, 2009.
- Hou X. Vitamin a and inositol requirement for grouper (*Epinephelus coioides*) and gift tilapia (*Oreochromis niloticus*)[D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2009 (in Chinese).
- [8] 文华, 赵智勇, 蒋明, 等. 草鱼幼鱼肌醇营养需要量的研究[J]. 中国水产科学, 2007, 14(5): 794-800.
- Wen H, Zhao Z Y, Jiang M, et al. Dietary myo-inositol requirement for grass carp, *Ctenopharyngodon idella* fingerling[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, 14(5): 794-800(in Chinese).
- [9] Shiau S Y, Su S L. Juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*) requires dietary myo-inositol for maximal growth[J]. *Aquaculture*, 2005, 243(1-4): 273-277.
- [10] Waagbø R, Sandnes K, Lie Ø, et al. Effects of inositol supplementation on growth, chemical composition and blood chemistry in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fry[J]. *Aquaculture Nutrition*, 1998, 4(1): 53-59.
- [11] Lee B J, Lee K J, Lim S J, et al. Dietary myo-inositol requirement for Olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminch et Schlegel)[J]. *Aquaculture Research*, 2008, 40(1): 83-90.
- [12] Khosravi S, Lim S J, Rahimnejad S, et al. Dietary myo-inositol requirement of parrot fish, *Oplegnathus fasciatus*[J]. *Aquaculture*, 2015, 436: 1-7.
- [13] Boonyaratpalin M, Wanakowat J. Effect of thiamin, riboflavin, pantothenic acid and inositol on growth, feed efficiency and mortality of juvenile seabass[M]//Kaushik S J, Luquet P. Fish Nutrition in Practice. Versailles, France: LES Colloques, 1993, 61: 819-828.
- [14] Burtle G J, Lovell R T. Lack of response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to dietary M yo-inositol[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1989, 46(2): 218-222.
- [15] Deng D F, Hemre G I, Wilson R P. Juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* ♀×*Morone saxatilis* ♂) do not require dietary myo-inositol[J]. *Aquaculture*, 2002, 213(1-4): 387-393.
- [16] 张美彦, 杨星, 王常安, 等. 水产动物对肌醇需要量的研究[J]. 水产学杂志, 2015, 28(1): 59-63.
- Zhang M Y, Yang X, Wang C A, et al. Studies on dietary requirement of inositol in aquatic animals[J].
- Chinese Journal of Fisheries*
- , 2015, 28(1): 59-63(in Chinese).
- [17] El-Sayed A F M, Teshima S I. Protein and energy requirements of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry[J]. *Aquaculture*, 1992, 103(1): 55-63.
- [18] 吕彬, 王勇, 解芸菲, 等. 钙信号通过IP3通路对肥胖小鼠脂肪合成代谢的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(9): 41-47.
- Lü B, Wang Y, Xie Y F, et al. Effect of calcium signaling by IP3 pathway on the fat deposition of obese mice[J].
- Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*
- , 2011, 39(9): 41-47(in Chinese).
- [19] 程镇燕. 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)和鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)对几种水溶性维生素营养需求及糖类营养生理的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.

- Cheng Z Y. Requirement of several water-soluble vitamins and nutritional physiology of carbohydrate in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010 (in Chinese).
- [20] 张美彦, 王常安, 徐奇友. 肌醇对哲罗鲑生长性能、体成分及消化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(3): 560-566.
- Zhang M Y, Wang C A, Xu Q Y. Effects of myo-inositol on growth performance, body composition, and digestive enzyme activity in *Hucho taimen*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(3): 560-566(in Chinese).
- [21] 张志强. 脂肪鱼幼鱼对饲料维生素E、胆碱和肌醇需要量的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- Zhang Z Q. Studies on the requirements of vitamin E, choline and myo-inositol in the diet to Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [22] Gong W, Lei W, Zhu X, et al. Dietary myo-inositol requirement for juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2015, 20(5): 514-519.
- [23] 黄忠, 林黑着, 牛津, 等. 肌醇对卵形鲳鲹生长、饲料利用和血液指标的影响[J]. 南方水产科学, 2011, 7(3): 39-44.
- Huang Z, Lin H Z, Niu J, et al. Effects of dietary inositol on growth, feed utilization and blood biochemical index of juvenile pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(3): 39-44(in Chinese).
- [24] 崔红红, 刘波, 戈贤平, 等. 肌醇对团头鲂幼鱼生长、血清生化及组织成分含量的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2013, 22(6): 868-875.
- Cui H H, Liu B, Ge X P, et al. Effects of dietary inositol on growth performance, physiological and biochemical indexes of serum and fat content in liver and muscle of juvenile Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2013, 22(6): 868-875(in Chinese).
- [25] 刘凯. 军曹鱼(*Rachycentron canadum*)吡哆醇、肌醇和泛酸营养生理的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- Liu K. Studies on nutritional physiology of pyridoxine, myo-inositol and pantothenic acid for cobia *Rachycentron canadum*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008 (in Chinese).
- [26] 吴宏玉, 唐瞻杨, 杨鸿昆, 等. 肌醇对奥尼罗非鱼生长、肝脏和肌肉脂肪含量及血清生化指标的影响[J]. 南方农业学报, 2011, 42(11): 1415-1419.
- Wu H Y, Tang Z Y, Yang H K, et al. Effects of dietary inositol on growth, liver and muscle fat content and biochemical indices of blood serum in tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*)[J]. Journal of Southern Agriculture, 2011, 42(11): 1415-1419(in Chinese).
- [27] Su S L, Shiao S Y. Requirements of dietary myo-inositol of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. Journal of the Fisheries Society of Taiwan, 2004, 31(4): 311-317.
- [28] Peres H, Lim C, Klesius P H. Growth, chemical composition and resistance to *Streptococcus iniae* challenge of juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of dietary inositol[J]. Aquaculture, 2004, 235(1-4): 423-432.
- [29] Santoro M, Caffaratti E, Salas-Peregrin J M, et al. Kinetics and mechanism of the chromic oxidation of myo-inositol[J]. Polyhedron, 2007, 26(1): 169-177.
- [30] 张美彦, 王常安, 徐奇友, 等. 肌醇对哲罗鲑抗氧化能力的影响及组织病理学观察[J]. 动物营养学报, 2015, 27(2): 631-637.
- Zhang M Y, Wang C A, Xu Q Y, et al. Effects of Myo-Inositol on antioxidant capacity and histopathological observation of *Hucho taimen*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(2): 631-637(in Chinese).
- [31] Jiang W D, Feng L, Liu Y, et al. Growth, digestive capacity and intestinal microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary inositol[J]. Aquaculture Research, 2009, 40(8): 955-962.
- [32] Ross T. Duncan & prasse's veterinary laboratory medicine: Clinical pathology[J]. Australian Veterinary Journal, 2012, 90(5): 166.
- [33] 郭荣军, 肖芳, 段芳龄. 血清高密度脂蛋白及其亚型胆固醇与肝功能关系的探讨[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 1995, 4(4): 289-292.
- Guo R J, Xiao F, Duan F L. Relationship between hepatic function and serum high density lipoprotein and its subtypes' cholesterol[J]. Chinese Journal of Gastroenterology and Hepatology, 1995, 4(4): 289-292(in Chinese).

Effects of inositol supplementation to practical dietary on growth performance, lipid metabolism and antioxidant activity of *Ctenopharyngodon idella*

LIN Ken¹, FENG Jingyun¹, YANG Huishi², CHEN Yongjun¹, CHEN Xiaochuan¹, LUO Hao³, HUANG Wang¹, WANG Haitao⁴, LUO Li^{1*}

(1. Key Laboratory of Freshwater Reproduction and Development, Ministry of Education; College of Animal and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. School of Statistics, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;

3. New Hope Liuhe Limited Liability Company, Chengdu 610041, China;

4. Hanzhong Animal Disease Prevention and Control Center, Hanzhong 723000, China)

Abstract: A study was conducted to evaluate the effect of the dietary inositol levels on growth, lipid metabolism and antioxidant activity of grass carp. Seven isonitrogenous (30.78 % protein) and isolipidic (6.04% lipid) practical diets with graded levels of inositol (0, 50, 100, 150, 200, 300, 400 mg/kg) were fed to 25 juvenile fish averaging (15.00 ± 0.15) g (mean \pm SE) in quadruplicate aquaria for 56 d. The results showed that the final body weight (FBW), weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR) and feed efficiency (FE) at dietary inositol levels of 100–150 mg/kg were significantly higher than those of other groups. With the increasing of inositol dietary level, the crude lipid contents of whole-body and liver and lipid deposition rate significantly increased when dietary inositol was 50–300 mg/kg, but the muscle lipid content of fish fed the 100 mg/kg inositol diet or higher was significantly lower than the control group and the group fed diet containing 50 mg/kg inositol. Intestinal lipase, plasma total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) contents and high density/low density lipoprotein cholesterol (HDL-C/LDL-C) rose in first and then declined, and all reached the maximum at dietary inositol levels of 100–150 mg/kg, except the LDL-C content. Dietary inositol supplementation resulted in marked increase of carnitine palmitoyl transferase-I (CPT-I) and acetyl-CoAcarboxylase (ACC) activities in liver and muscle. Compared with the control group, the growth rate of CPT-I in liver was lower than that of ACC, while the growth rate of CPT-I in muscle was higher than that of ACC. Significantly higher superoxide dismutase (SOD) activities in liver and muscle were obtained in fish fed 100–150 mg/kg than those fed the control, and lowest malondildehyde (MDA) concentration, transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) activities were also found in that. In conclusion, the appropriate dietary inositol supplementation to grass carp has an improving effect on growth performance and feed conversion efficiency, promotes the capacity on lipid digestion and the synthesis and degradation of tissue fatty acid, increases the crude lipid contents of whole-body and liver and decreases that in muscle, but improves antioxidant activity of liver and muscle. FE and SGR analyzed by broken-line regression indicated that the suitable inositol supplementation to practical dietary of grass carp is 90.3–96.4 mg/kg.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; inositol; growth performance; lipid metabolism; antioxidant activity

Corresponding author: LUO Li. E-mail: luoli1972@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31101909); Chongqing Special Research Fund for Social and Science & Technology Innovation (cstc2016shmszx80084)