

DOI: 10.12264/JFSC2024-0015

饲料锌与维生素 D₃ 对草鱼生长和抗氧化性能的影响

侯蕴韬^{1,2}, 陈家林², 王春芳¹, 程珂¹, 王文琳², 余勇江², 王济启¹

1. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 广东海大集团股份有限公司, 广东 广州 511400

摘要: 为了研究不同锌源以及锌水平与维生素 D₃ 对草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)生长性能、胴体微量元素含量及抗氧化能力的影响, 选取体重为(25.86±0.13) g 的草鱼 600 尾, 实验分为 8 个处理(每个处理 3 个重复, 每个重复 25 尾), 随机分到 24 个 900 L 的水族箱中。本实验采用双因素设计, 添加了 2 个水平(1000 IU/kg 和 2000 IU/kg)的维生素 D₃, 每个维生素 D₃ 的水平下, 添加 3 个水平的(0、25 和 50 mg/kg)蛋氨酸锌, 另外在 2 个维生素 D₃ 的水平下, 添加了 25 mg/kg 的七水硫酸锌, 配制 8 种等氮、等脂实验饲料, 投喂 8 周。8 个处理组依次命名为 1000D/Zn0 (1000IU/kg VD₃ + 0 mg/kg 锌)、1000D/ZnS25 (1000 IU/kg VD₃ + 25 mg/kg 七水硫酸锌)、1000D/ZnM25 (1000 IU/kg VD₃ + 25 mg/kg 蛋氨酸锌)、1000D/ZnM50 (1000 IU/kg VD₃ + 50 mg/kg 蛋氨酸锌)、2000D/Zn0 (2000 IU/kg VD₃ + 0 mg/kg 锌)、2000D/ZnS25 (2000 IU/kg VD₃ + 25 mg/kg 七水硫酸锌)、2000D/ZnM25 (2000 IU/kg VD₃ + 25 mg/kg 蛋氨酸锌) 和 2000D/ZnM50 (2000 IU/kg VD₃ + 50 mg/kg 蛋氨酸锌)。结果显示: (1) 饲料锌水平与维生素 D₃ 的交互作用显著影响草鱼增重率(WG)、饲料系数(FCR)和蛋白质效率(PER)($P<0.05$)。1000D/ZnM50 组 FCR 最低, PER 最高, 1000D/ZnM25 组相比于 1000D/ZnS25 组, FCR 显著降低, PER 显著提高($P<0.05$)。2000D/ZnM25 组的 WG 显著提高($P<0.05$), 2000D/ZnM25 组 PER 显著高于 2000D/ZnS25 组, FCR 显著低于 2000D/ZnS25 组($P<0.05$); (2) 饲料锌与维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素铜、铁、锰、锌和钙均无交互作用($P>0.05$)。2000 IU/kg 维生素 D₃ 组草鱼胴体铁和钙的含量显著高于 1000 IU/kg 维生素 D₃ 组, ZnM25 和 ZnM50 组草鱼胴体铁含量显著高于 Zn0 组, 锌的含量随着蛋氨酸锌的水平增加而增加, ZnM50 组草鱼胴体锰含量显著低于 Zn0 和 ZnM25 组($P<0.05$); (3) 饲料锌水平与维生素 D₃ 对草鱼肝脏 CAT、SOD、AKP 和 LZM 活性的影响均存在交互作用, 锌源与维生素 D₃ 的交互作用显著影响 LZM ($P<0.05$)。2000D/ZnM25 组草鱼肝脏过氧化氢酶(CAT)、氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)和溶菌酶(LZM)活性显著高于除 2000D/ZnM50 组外的其他组, MDA 含量显著降低, 2000D/ZnM25 组相比于 2000D/ZnS25 组, CAT、AKP 和 LZM 活性显著提高($P<0.05$)。研究表明, 饲料中锌与维生素 D₃ 的交互作用显著改善草鱼的生长性能和抗氧化能力。本研究条件下, 添加 25 mg/kg 的蛋氨酸锌和 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 更有利于草鱼的生长和抗氧化能力, 且蛋氨酸锌在生长、饲料利用、胴体微量元素含量和抗氧化方面要优于硫酸锌。

关键词: 草鱼; 锌; 维生素 D₃; 交互作用; 生长; 抗氧化性能; 饲料添加剂

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2024)05–0588–14

锌是鱼类生命活动中不可或缺的微量元素, 对鱼类生长发育和健康具有重要的调节作用^[1]。锌参与蛋白质、脂类、碳水化合物和核酸合成等生理功能, 通过促进成骨细胞和抑制破骨细胞调

节骨骼结构和矿化^[2]。此外, 锌是鱼体内超氧化物歧化酶、碱性磷酸酶和碳酸酐酶等 200 多种酶的组成部分和辅助因子^[3], 锌缺乏导致细胞成分的氧化损伤和抗氧化状态的改变^[4]。锌的添加形式

收稿日期: 2024-01-13; 修订日期: 2024-04-03.

基金项目: 国家自然科学基金项目(32273147); 农业生物育种重大项目(2023ZD04065).

作者简介: 侯蕴韬(1996–), 男, 硕士研究生, 研究方向为渔业资源与环境, E-mail: 1065239015@qq.com; 共同第一作者, 陈家林(1981–), 男, 博士, 研究方向为鱼类营养生理, E-mail: chenjl@haid.com.cn

通信作者: 王春芳, 教授, 研究方向为鱼类营养与环境. E-mail: cfwang@mail.hzau.edu.cn

对锌的吸收和利用有显著影响^[5], 硫酸锌结构不稳定, 锌离子与六磷酸植酸盐螯合, 而不易被动物吸收^[6]。锌与其他金属离子在肠道中存在拮抗作用, 容易受到铁、铜和镉等金属的影响^[7]。作为无机锌的替代, 蛋氨酸锌通过氨基酸转运系统进行吸收, 不受消化道中其他元素的干扰, 具有较高的利用率^[8-9]。此外, 有机锌具有双重营养效果, 不仅可以补充锌元素, 同时可以补充相应的氨基酸等营养物质, 且毒性低和副作用少^[10]。饲料中添加有机锌显著提高了珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*E. lanceolatus* ♂)的生长和抗氧化能力^[3]。在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)的研究中, 饲料中锌含量 53 mg/kg 显著提高了草鱼的增重率, 以鳞片锌含量为指标, 饲料中的最适锌含量为 55.1 mg/kg^[11]。

维生素 D₃ 是一种脂溶性维生素, 具有促进鱼类生长、提高抗氧化能力、先天免疫和适应性免疫等重要功能^[12]。维生素 D₃ 在鱼类体内经过羟基化, 能够作用于细胞膜并维持其正常功能和降低其流动性, 抵御来自自由基的氧化损伤^[13]。饲料中适量的维生素 D₃ 提高了中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的生长性能^[13]。饲料中添加高达 16600 IU/kg 维生素 D₃ 增强了黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)抗鮭爱德华菌(*Edwardsiella ictaluri*)的能力, 提高了黄颡鱼的免疫保护力^[14]。在草鱼的研究中, 以增重率和饲料效率为指标, 饲料中的最适维生素 D₃ 的含量为 968.33~1005.00 IU/kg^[15]。有研究表明, 锌与维生素 D₃ 存在交互作用, 94.89 mg/kg 锌与 16109 IU/kg 维生素 D₃ 的交互作用显著提高了黄颡鱼的特定生长率、抗氧化酶活、Nrf2 抗氧化信号通路基因表达和锌代谢, 维生素 D₃ 能够缓解高锌诱导的氧化应激和对肠道的负面影响^[16]。

目前的研究主要聚焦于单一锌或维生素 D₃ 对鱼类的影响, 还未见两者联用对草鱼生长和健康影响的报道。草鱼是中国产量最高的淡水养殖鱼类, 2022 年产量达到了 590 万 t^[17]。本研究以草鱼为研究对象, 探讨了饲料中有机锌相比于无机锌的作用效果, 以及锌与维生素 D₃ 联用对草鱼生长、胴体微量元素含量和抗氧化能力的影响, 以

期为饲料领域有效利用维生素 D₃ 和锌提供科学依据, 为草鱼饲料中合理添加锌与维生素 D₃ 提供相关资料。

1 材料与方法

1.1 实验设计

本研究采用 2×3 (2 个 VD₃ 水平和 3 个锌水平) 和 2×2 (2 个 VD₃ 水平和 2 种锌源) 双因素设计, 以豆粕、菜粕、玉米 DDGS、玉米胚芽粕和小麦为蛋白质源, 以豆油为脂肪源, 配制 8 种粗蛋白含量为 33.43%, 粗脂肪含量为 4.50% 的等氮、等脂实验饲料(表 1)。饲料中维生素 D₃ 添加水平分别为 1000 IU/kg 和 2000 IU/kg, 不同维生素 D₃ 水平下, 分别添加 0、25 和 50 mg/kg 蛋氨酸锌(Zn 含量 18.2%)与 25 mg/kg 七水硫酸锌(Zn 含量 22.3%), 锌和维生素 D₃ 的实际含量见表 1。维生素 D₃ 由广东海因特生物技术集团有限公司提供, 七水硫酸锌和蛋氨酸锌由长沙嘉兴生物工程股份有限公司提供。维生素和矿物质等原料经 80 目筛粉碎后, 精确称重后, 利用 HL-10 混合机逐级混匀, 由广州容川饲料有限公司制作成直径 3.5 mm 的颗粒饲料, 干燥后保存于低温、干燥和通风的仓库中待用。

1.2 实验鱼和饲养管理

实验在广东省海大集团水产研发总部室内循环水系统开展, 实验用水来自附近河水, 经过系统紫外线、蛋白质分离器和生物过滤器等装置处理, 并进行充分曝气。草鱼由海大集团水产研发总部提供, 正式实验前, 所有的养殖缸经过高锰酸钾刷洗后浸泡 24 h 后用水清洗干净。使用基础饲料饲喂实验鱼 2 周, 适应实验环境, 并清除鱼体内积累的维生素 D₃ 和锌。正式实验开始时, 禁食 24 h, 挑选健康和规格均匀, 初始体重为(25.86±0.13) g 的草鱼 600 尾, 随机放入 24 个 0.9 m³ 养殖缸中。实验分为 8 个处理组, 每组 3 个重复, 每个重复 25 尾鱼。实验鱼每日投喂 2 次, 投喂时间在 8:00 和 16:00, 养殖 8 周。养殖期间, 每两周第一天喂食至饱食, 直到鱼不再摄食为止, 确定其饱食量, 然后这两周内按照饱食量的 80% 投喂^[18]。实验期间, 每天观察和记录鱼的摄食和活动情况,

表 1 实验饲料成分及营养水平(饲料干重)
Tab. 1 Composition and nutrients levels of the experimental diets (dry matter)

组成/(g/kg)ingredients	饲料 1 diet1	饲料 2 diet2	饲料 3 diet3	饲料 4 diet4	饲料 5 diet5	饲料 6 diet6	饲料 7 diet7	饲料 8 diet8
豆粕 soybean meal	250	250	250	250	250	250	250	250
菜粕 rapeseed meal	400	400	400	400	400	400	400	400
玉米干酒精糟及其可溶物 corn ddgs	50	50	50	50	50	50	50	50
玉米胚芽粕 corn germ meal	30	30	30	30	30	30	30	30
小麦 wheat	200	200	200	200	200	200	200	200
豆油 soybean oil	30	30	30	30	30	30	30	30
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	20	20	20	20	20	20	20	20
抗氧化剂 antioxidant	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
氯化胆碱(50%) choline chloride	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
无 VD ₃ 维生素预混料 VD ₃ -free vitamin premix ¹⁾	5	5	5	5	5	5	5	5
无锌矿物质预混料 zinc-free mineral premix ²⁾	10	10	10	10	10	10	10	10
氯化钠 NaCl	2	2	2	2	2	2	2	2
丙酸钙 calcium propionate	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
维生素 D ₃ (IU/kg) vitamin D ₃	1000	1000	1000	1000	2000	2000	2000	2000
硫酸锌/(mg/kg) ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0	112.1	0	0	0	112.1	0	0
蛋氨酸 Zn-/(mg/kg) methionine	0	0	137.4	274.7	0	0	137.4	274.7
合计 total	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
营养水平 nutrient levels								
粗蛋白质 crude protein	332.0	332.8	334.0	337.2	331.3	336.9	335.2	335.3
粗脂肪 crude lipid	43	41	44	46	46	47	47	46
粗灰分 ash	69	73	70	70	69	70	69	69
水分 moisture	83	84	87	79	81	89	88	87
锌/(mg/kg) zinc	59	80	81	110	59	83	79	109
维生素 D ₃ (IU/kg) ³⁾ vitamin D ₃	1090	1054	1102	1063	1987	2031	1922	2098

注: 1. 无 VD₃ 维生素预混料(mg or IU/kg 饲料): 维生素 A 2000 IU, 维生素 B₁ 20 mg, 维生素 B₂ 20 mg, 维生素 B₆ 10 mg, 维生素 B₁₂ 0.01 mg, 维生素 C 150 mg, 维生素 K₃ 2 mg, 维生素 E 100 mg, 烟酸 100 mg, 叶酸 5 mg, 泛酸钙 50 mg, 肌醇 200 mg, 生物素 1 mg.
2. 无 Zn 矿物质预混料(mg/kg 饲料): 镁 680 mg, 铁 300 mg, 锰 15 mg, 硒 0.6 mg, 钴 0.2 mg, 碘 5 mg, 铜 3 mg.
3. 实验中所用 VD₃ 初始浓度为 500000 IU/g.
Notes: 1. VD₃-free vitamin premix (mg or IU/kg diets): Vitamin A 2000 IU, Vitamin B₁ 20 mg, Vitamin B₂ 20 mg, Vitamin B₆ 10 mg, Vitamin B₁₂ 0.01 mg, Vitamin C 150 mg, Vitamin K₃ 2 mg, Vitamin E 100 mg, niacin 100 mg, folic acid 5 mg, calcium pantothenate 50 mg, inositol 200 mg, biotin 1 mg. 2. Zinc-free mineral premix (mg/kg diets): Mg 680 mg, Fe 300 mg, Mn 15 mg, Se 0.6 mg, Co 0.2 mg, I 5 mg, Cu 3 mg. 3. The original concentration of VD₃ was 500000 IU/g.

每天换水量为养殖缸体积的 1/3, 水温保持在 (27.6±2.3) °C, pH 保持在 7.0±0.4, 溶解氧不低于 6 mg/L, 氨氮< 0.05 mg/L, 养殖水中的锌<5 µg/L, 光照 12 h, 黑暗 12 h。

1.3 样品采集

8 周养殖实验结束后, 禁食 24 h, 对每缸鱼进行计数和称重, 称重时用干毛巾吸取鱼体表面多

余的水分。经 75 mg/L 的 MS-222 (福建晋江盛源水产用品有限公司)麻醉, 每缸随机抽取 3 条鱼, 测定其体重、体长、内脏重量和肝脏重量, 用于测定 HSI、VSI 和 CF。每个实验处理组随机取 18 条鱼(每缸 6 条), 用 1 mL 一次性注射器于尾静脉采血, 每尾鱼的血样单独放置于 2 mL 的无菌离心管中, 置于室温 2 h, 4 °C 冰箱静置 24 h, 4 °C 下

4000 r/min 离心 10 min, 收集血清放置于-80 ℃冰箱用于酶活分析。每个实验处理组随机取 18 条鱼(每缸 6 条)于冰上迅速解剖肝脏样品, 置于 2 mL 无菌无酶管中, 液氮速冻后放置于-80 ℃冰箱保存, 以待后续分析。另取 3 尾解剖去除内脏, 去掉其头部和鳍后即为胴体, 保存于-20 ℃冰箱, 用于测定胴体微量元素含量。

1.4 指标测定

1.4.1 饲料营养成分测定 饲料中的粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和水分含量测定分别参照 GB/T 6432-2018、GB/T 6433-2006、GB/T 6438-2007 和 GB/T 6435-2014, 锌含量测定参照 GB/T 13885-2017 的原子吸收光谱法, 维生素 D₃ 含量测定参照 GB/T 17818-2010 的高效液相色谱法, 以上营养成分均委托广州华莱科检测技术有限公司检测。

1.4.2 生长性能和计算公式 根据初始体重、终末体重、摄食量和养殖天数等记录, 计算 WG、FCR、PER 和 SR, 计算形态指标 HSI、VSI 和 CF^[19]。

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

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

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

存活率(survival rate, SR, %)= $N_t/N_0 \times 100$

肝体比(hepatosomatic index, HSI, %)= $W_h/W \times 100$

脏体比(viscerosomatic index, VSI, %)= $W_v/W \times 100$

肥满度(condition factor, CF, g/cm³)= $W/L^3 \times 100$

式中, N_t 和 N_0 分别为实验终末尾数和实验初始尾数; W_t 和 W_0 分别为实验终末和初始草鱼的总重(g); W 为鱼体重(g); L 为鱼体长(cm); W_h 为肝脏重(g); W_v 为内脏团重(g); F 为草鱼的摄食量(g); P 为饲料粗蛋白含量(%)。

1.4.3 胴体微量元素含量 草鱼胴体微量元素含量参考 GB 5009.268-2016 的方法, 采用电感耦合等离子体发射光谱法测定。将草鱼胴体自然解冻后, 用去离子水清洗后粉碎匀浆, 寄往广州华莱科检测技术有限公司检测, 测定胴体 Cu、Fe、Mn、Zn 和 Ca 的含量。

1.4.4 抗氧化和免疫指标 血清和肝脏放在 4 ℃冰箱解冻后, 进行酶活分析。肝脏组织经 0.9%的

冰冻无菌生理盐水漂洗后, 经滤纸吸干水分, 精确称取肝脏组织 0.2 g, 加入 9 倍体积的 0.9%冰冻无菌生理盐水, 加入钢珠进行匀浆, 在 4 ℃下 2500 r/min 离心 15 min, 取上清进行酶活分析。测定血清和肝脏中抗氧化酶和非特异性免疫酶活性: 包括过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、碱性磷酸酶(AKP)和溶菌酶(LZM)。通过 BCA 法测定肝脏样品中蛋白质含量, 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 严格按照试剂盒标准测定以上指标。

1.5 数据处理

实验数据使用 SPSS 27.0 软件进行统计分析, 经过方差齐性和正态分布检验后, 对 2 个水平的维生素 D₃ 和 3 个水平的蛋氨酸锌(0、25 和 50 mg/kg 的蛋氨酸锌)进行双因素方差分析(two-way ANOVA), 用于评价维生素 D₃ 和锌水平对草鱼的影响, 同时, 对 2 个水平的维生素 D₃ 和 2 种锌源(25 mg/kg 的硫酸锌和蛋氨酸锌)进行双因素方差分析(two-way ANOVA), 用于评价维生素 D₃ 和锌源对草鱼的影响, 使用 Duncan 氏多重比较分析, 当 $P < 0.05$ 认为组间存在显著差异。本研究所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼生长性能的影响

由表 2 可知, 饲料锌水平与维生素 D₃ 对草鱼的 WG、FCR 和 PER 具有显著交互作用($P < 0.05$), 其中维生素 D₃ 显著影响 WG ($P < 0.05$), 但对 FCR 和 PER 影响不显著($P > 0.05$); 锌水平显著影响 FCR 和 PER ($P < 0.05$), 但对 WG 影响不显著($P > 0.05$)。锌源与维生素 D₃ 对 WG、FCR 和 PER 交互作用不显著($P > 0.05$), 其中维生素 D₃ 显著影响 WG、FCR 和 PER ($P < 0.05$), 锌源显著影响 FCR 和 PER ($P < 0.05$), 但对 WG 影响不显著($P > 0.05$)。饲料中添加 1000 IU/kg 的维生素 D₃、饲料蛋氨酸锌含量为 50 mg/kg 的处理组获得最高增重率($P > 0.05$), 最低饲料系数, 以及最高的蛋白质效率($P < 0.05$), 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组和硫酸锌组之间, 在生长表现上差异不显著($P > 0.05$), 但蛋氨酸

表 2 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effects of dietary zinc and vitamin D₃ supplementation on growth performance of *Ctenopharyngodon idella*

n=3; $\bar{x} \pm \text{SD}$

维生素 D ₃ /(IU/kg) vitamin D ₃	锌/(mg/kg) Zn	锌源 zinc source	增重率/% WG	饲料系数 FCR	蛋白质效率/% PER	存活率/% SR
1000	0		518.92±6.32 ^a	1.07±0.01 ^a	279.49±1.43 ^c	100%
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	511.52±3.85 ^b	1.05±0.00 ^b	284.68±1.04 ^b	100%
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	524.90±3.71 ^a	1.03±0.01 ^c	290.56±3.47 ^a	100%
2000	0		511.63±2.17 ^b	1.04±0.01 ^{bc}	286.11±2.13 ^b	100%
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	521.13±2.45 ^a	1.03±0.00 ^{bc}	288.13±1.16 ^{ab}	100%
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	498.62±2.47 ^c	1.08±0.00 ^a	276.96±0.57 ^c	100%
1000	25	硫酸锌 zinc sulfate	511.14±1.31	1.07±0.00 ^a	277.74±0.67 ^c	100%
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	511.52±3.85 ^b	1.05±0.00 ^b	284.68±1.04 ^b	100%
2000	25	硫酸锌 zinc sulfate	513.84±3.56	1.05±0.01 ^b	283.60±2.03 ^b	100%
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	521.13±2.45 ^a	1.03±0.00 ^c	288.13±1.16 ^a	100%
VD ₃ 和蛋氨酸锌水平的主效应 the main effect of VD ₃ and Zn-methionine levels						
1000			518.45	1.05	284.91	100.00
2000			510.46	1.05	283.73	100.00
	0		515.28	1.05	282.80	100.00
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	516.33	1.04	286.41	100.00
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	511.76	1.05	283.76	100.00
VD ₃ 和锌源的主效应 the main effect of VD ₃ and zinc source						
1000			511.33 ^b	1.06 ^a	281.21 ^b	100.00
2000			517.49 ^a	1.04 ^b	285.87 ^a	100.00
	25	硫酸锌 zinc sulfate	512.49	1.06 ^a	280.67 ^b	100.00
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	516.33	1.04 ^b	286.41 ^a	100.00
双因素分析 P 值 P-value of two-way ANOVA						
维生素 D ₃ vitamin D ₃			<0.001	0.438	0.210	NS
蛋氨酸锌水平 Zn-methionine level			0.131	0.045	0.017	NS
维生素 D ₃ ×蛋氨酸锌水平 vitamin D ₃ ×Zn-methionine level			<0.001	<0.001	<0.001	NS
双因素分析 P 值 P-value of two-way ANOVA						
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.007	0.002	<0.001	NS
锌源 zinc source			0.055	<0.001	<0.001	NS
维生素 D ₃ ×锌源 vitamin D ₃ ×zinc source			0.079	0.256	0.154	NS

注：同一列数据无上标字母或字母相同表示差异不显著($P>0.05$)，不同字母表示有显著差异($P<0.05$)。

Note: The same column of data without superscripts or with the same letters indicates no significant difference ($P>0.05$), while different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

锌组的饲料系数显著低于硫酸锌组，蛋白质效率显著高于硫酸锌组($P<0.05$)。而当饲料中维生素 D₃ 的添加量增加为 2000 IU/kg 时，饲料蛋氨酸锌水平为 25 mg/kg 的处理组获得最大生长($P<0.05$)，最低饲料系数，以及最高的蛋白质效率($P>0.05$)，蛋氨酸锌含量为 50 mg/kg 的处理组，则生长表现最差，饲料系数最高，蛋白质效率最低($P<0.05$)。饲料中 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组相比于同一水平的

硫酸锌组，饲料系数更低，蛋白质效率更高($P<0.05$)。

2.2 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼形态指标的影响

根据表 3 结果，饲料锌水平和维生素 D₃ 对草鱼 CF 具有显著交互作用($P<0.05$)，但对 HSI 和 VSI 的交互作用不显著($P>0.05$)。饲料锌源和维生素 D₃ 对各指标不具有交互作用($P>0.05$)。维生素

表 3 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼形态指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary zinc and vitamin D₃ supplementation on morphological indicators of *Ctenopharyngodon idella*

n=3; $\bar{x} \pm \text{SD}$

维生素 D ₃ /(IU/kg) vitamin D ₃	锌/(mg/kg) Zn	锌源 zinc source	肝体比/% HSI	脏体比/% VSI	肥满度/(g/cm ³) CF
1000	0		1.47±0.17	7.80±0.66	1.65±0.13
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.47±0.30	7.79±0.65	1.74±0.10
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.56±0.36	7.93±0.77	1.70±0.09
2000	0		1.60±0.26	7.74±0.79	1.77±0.08
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.37±0.21	8.17±0.81	1.66±0.08
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.47±0.23	8.19±0.83	1.74±0.12
1000	25	硫酸锌 zinc sulfate	1.52±0.24	8.31±0.92	1.74±0.08
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.47±0.30	7.79±0.65	1.74±0.10
2000	25	硫酸锌 zinc sulfate	1.46±0.20	7.58±1.01	1.74±0.10
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.37±0.21	8.17±0.81	1.66±0.08
VD ₃ 和蛋氨酸锌水平的主效应 the main effect of VD ₃ and Zn-methionine levels					
1000			1.50	7.84	1.70
2000			1.48	8.03	1.72
	0		1.53	7.77	1.71
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.42	7.98	1.70
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.52	8.06	1.72
VD ₃ 和锌源的主效应 the main effect of VD ₃ and Zinc source					
1000			1.49	8.05	1.74
2000			1.42	7.88	1.70
	25	硫酸锌 zinc sulfate	1.49	7.95	1.74
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.42	7.98	1.70
双因素分析 p 值 p-value of two-way ANOVA					
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.781	0.347	0.313
蛋氨酸锌水平 Zn-methionine level			0.396	0.496	0.821
维生素 D ₃ ×蛋氨酸锌水平 vitamin D ₃ ×Zn-methionine level			0.336	0.674	0.016
双因素分析 p 值 p-value of two-way ANOVA					
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.334	0.552	0.198
锌源 zinc source			0.406	0.902	0.154
维生素 D ₃ ×锌源 vitamin D ₃ ×zinc source			0.777	0.061	0.211

D₃、蛋氨酸锌水平和锌源对 HSI、VSI 和 CF 均无显著影响($P>0.05$)。

2.3 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素含量的影响

如表 4 所示, 饲料锌水平和锌源与维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素铜、铁、锰、锌和钙均无交互作用($P>0.05$), 其中维生素 D₃ 显著影响胴体铁和钙的含量, 锌水平显著影响铁、锰和锌含量, 锌源显著影响铁的含量($P<0.05$)。在饲料中维生素 D₃ 含量分别为 1000 IU/kg 和 2000 IU/kg 时, 草鱼胴体铁和锌含量随着饲料蛋氨酸锌的含量增加而

增加($P<0.05$)。1000 IU/kg 的维生素 D₃ 水平下, 蛋氨酸锌组胴体铁含量显著高于同水平的硫酸锌组($P<0.05$), 在 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 水平下, 蛋氨酸锌组胴体铁含量相较于同水平的硫酸锌组更高($P>0.05$)。相较于同水平的硫酸锌组, 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组有更高的组织锌沉积量($P>0.05$)。而蛋氨酸锌增加到 50 mg/kg 时锰的含量显著降低($P<0.05$)。维生素 D₃ 含量为 2000 IU/kg 的处理组草鱼胴体铁和钙的含量显著高于 1000 IU/kg 处理组($P<0.05$)。各处理组铜含量无显著差异($P>0.05$)。

表 4 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素含量的影响

Tab. 4 Effects of dietary zinc and vitamin D₃ supplementation on the contents of trace elements in carcass of grass carp

n=3; $\bar{x} \pm SD$

维生素 D ₃ / (IU/kg) vitamin D ₃	锌/(mg/kg) Zn	锌源 zinc source	铜/(mg/kg) Cu	铁/(mg/kg) Fe	锰/(mg/kg) Mn	锌/(mg/kg) Zn	钙/% Ca
1000	0		0.45±0.03	3.39±0.35 ^d	0.25±0.03 ^a	6.53±0.24 ^b	0.12±0.01
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.46±0.03	3.91±0.08 ^{bc}	0.23±0.05 ^a	8.74±1.61 ^{ab}	0.13±0.02 ^b
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.49±0.03	4.06±0.10 ^{abc}	0.15±0.03 ^b	9.36±1.04 ^a	0.14±0.02
2000	0		0.47±0.02	3.88±0.16 ^c	0.25±0.02 ^a	5.69±0.14 ^c	0.15±0.01
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.48±0.02	4.28±0.12 ^{ab}	0.27±0.02 ^a	8.51±1.19 ^b	0.17±0.01 ^a
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.45±0.03	4.35±0.29 ^a	0.19±0.01 ^b	10.57±0.72 ^a	0.16±0.01
1000	25	硫酸锌 Zinc sulfate	0.43±0.03	3.21±0.45 ^b	0.24±0.01	7.96±0.22	0.14±0.03
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.46±0.03	3.91±0.08 ^a	0.23±0.05	8.74±1.61	0.13±0.02 ^b
2000	25	硫酸锌 zinc sulfate	0.43±0.05	4.05±0.10 ^a	0.24±0.02	8.01±0.67	0.16±0.01
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.48±0.02	4.28±0.12 ^a	0.27±0.02	8.51±1.19	0.17±0.01 ^a
VD ₃ 和蛋氨酸锌水平的主效应 the main effect of VD ₃ and Zn-methionine levels							
1000			0.47	3.79 ^b	0.21	8.21	0.13 ^b
2000			0.47	4.17 ^a	0.24	8.26	0.16 ^a
	0		0.46	3.63 ^b	0.25 ^a	6.11 ^b	0.14
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.47	4.09 ^a	0.25 ^a	8.63 ^a	0.15
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.47	4.21 ^a	0.17 ^b	9.96 ^a	0.15
VD ₃ 和锌源的主效应 the main effect of VD ₃ and zinc source							
1000			0.44	3.56 ^b	0.24	8.35	0.13 ^b
2000			0.46	4.16 ^a	0.26	8.26	0.17 ^a
	25	硫酸锌 zinc sulfate	0.43	3.63	0.24	7.98	0.15
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	0.47	4.09	0.25	8.63	0.15
双因素分析 P 值 P-value of two-way ANOVA							
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.959	0.002	0.106	0.921	0.002
蛋氨酸锌水平 Zn-methionine level			0.654	0.001	<0.001	<0.001	0.245
维生素 D ₃ ×蛋氨酸锌水平 vitamin D ₃ ×Zn-methionine level			0.204	0.722	0.340	0.217	0.780
双因素分析 P 值 P-value of two-way ANOVA							
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.561	0.003	0.267	0.887	0.016
锌源 zinc source			0.082	0.011	0.486	0.324	0.786
维生素 D ₃ ×锌源 vitamin D ₃ ×zinc source			0.754	0.139	0.303	0.825	0.652

注：同一列数据无上标字母或字母相同表示差异不显著($P>0.05$)，不同字母表示有显著差异($P<0.05$)。

Note: The same column of data without superscripts or with the same letters indicates no significant difference ($P>0.05$), while different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.4 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼血清生化指标的影响

由表 5 可知，饲料锌水平与维生素 D₃ 对草鱼血清 CAT、SOD、AKP、MDA 和 LZM 不存在交互作用($P>0.05$)，其中 CAT 和 MDA 受到锌水平的显著影响($P<0.05$)。饲料锌源与维生素 D₃ 对各指标同样无交互作用($P>0.05$)，其中维生素 D₃ 显著影响 CAT 活性($P<0.05$)。1000 IU/kg 的维生素 D₃

水平下，各组之间酶活性差异不显著($P>0.05$)，添加 50 mg/kg 的蛋氨酸锌显著降低了 MDA 含量($P<0.05$)。而当饲料中维生素 D₃ 的添加量增加为 2000 IU/kg 时，饲料中添加 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组显著提高了 CAT 活性，显著降低 MDA 含量($P<0.05$)，且 CAT 和 SOD 活性具有最高值，MDA 含量有最低值，与同水平的硫酸锌组相比各指标差异不显著($P>0.05$)。

表 5 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼血清抗氧化能力的影响
Tab. 5 Effects of dietary zinc and vitamin D₃ supplementation on serum antioxidant capacity of grass carp

<i>n</i> =3; $\bar{x} \pm SD$							
维生素 D ₃ / (IU/kg) vitamin D ₃	锌/(mg/kg) Zn	锌源 Zinc source	过氧化氢酶/ (U/mL) CAT	超氧化物 歧化酶/(U/mL) SOD	碱性磷酸酶(金 氏单位/100mL) AKP	丙二醛/ (nmol/mL) MDA	溶菌酶 (U/mL) LZM
1000	0		0.96±0.28	24.20±0.74	22.15±5.44	10.08±1.02 ^a	17.90±1.07
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.11±0.40	25.66±2.83	22.20±2.18	9.43±0.92 ^{ab}	18.52±4.90
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.26±0.43	26.59±0.50	23.74±6.77	7.89±0.75 ^b	20.99±6.50
2000	0		0.72±0.16 ^b	23.34±2.96	22.98±0.98	10.98±0.98 ^a	17.28±2.14
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.96±0.39 ^a	27.34±2.09	22.53±3.25	7.24±1.15 ^b	22.22±3.70
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.52±0.43 ^a	25.94±2.85	22.93±2.21	8.78±1.71 ^{ab}	22.84±4.66
1000	25	硫酸锌 Zinc sulfate	1.09±0.15	24.53±3.68	20.56±1.47	8.54±0.73	16.67±3.21
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.11±0.40 ^b	25.66±2.83	22.20±2.18	9.43±0.92	18.52±4.90
2000	25	硫酸锌 Zinc sulfate	1.34±0.52	24.80±1.56	22.12±1.97	8.62±1.49	19.14±2.83
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.96±0.39 ^a	27.34±2.09	22.53±3.25	7.24±1.15	22.22±3.70
VD ₃ 和蛋氨酸锌水平的主效应 the main effect of VD ₃ and Zn-methionine levels							
1000			1.11	25.48	22.70	9.13	19.14
2000			1.40	25.54	22.81	9.00	20.78
	0		0.84 ^b	23.77	22.57	10.53 ^a	17.59
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.54 ^a	26.51	22.37	8.33 ^b	20.37
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.39 ^{ab}	26.26	23.33	8.33 ^b	21.91
VD ₃ 和锌源的主效应 the main effect of VD ₃ and Zinc source							
1000			1.10 ^b	25.10	21.38	8.98	17.59
2000			1.65 ^a	26.07	22.33	7.93	20.68
	25	硫酸锌 Zinc sulfate	1.21	24.67	21.34	8.58	17.90
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	1.54	26.51	22.37	8.33	20.37
双因素分析 <i>P</i> 值 <i>P</i> -value of two-way ANOVA							
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.114	0.960	0.952	0.803	0.425
蛋氨酸锌水平 Zn-methionine level			0.014	0.105	0.908	0.007	0.241
维生素 D ₃ ×蛋氨酸锌水平 vitamin D ₃ ×Zn-methionine level			0.069	0.565	0.937	0.054	0.683
双因素分析 <i>P</i> 值 <i>P</i> -value of two-way ANOVA							
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.040	0.543	0.500	0.138	0.191
锌源 zinc source			0.181	0.265	0.465	0.714	0.286
维生素 D ₃ ×锌源 vitamin D ₃ ×zinc source			0.215	0.658	0.655	0.114	0.782

注: 同一列数据无上标字母或字母相同表示差异不显著($P>0.05$), 不同字母表示有显著差异($P<0.05$).
Note: The same column of data without superscripts or with the same letters indicates no significant difference ($P>0.05$), while different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.5 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼肝脏健康指标的影响

如表 6 所示, 饲料锌水平与维生素 D₃ 对草鱼肝脏 CAT、SOD、AKP 和 LZM 活性的影响均存在交互作用($P<0.05$), 但对 MDA 交互作用不显著($P>0.05$)。饲料锌源与维生素 D₃ 对 LZM 活性具有显著交互作用($P<0.05$)。锌水平显著影响各酶活指标, 锌源显著影响 CAT、AKP 和 LZM 的活性,

维生素 D₃ 水平显著影响草鱼的 CAT、SOD、AKP 和 LZM 的活性, 高水平的维生素 D₃ 显著提高了 SOD 和 AKP 的活性($P<0.05$)。1000 IU/kg 的维生素 D₃ 水平下, 各组对 MDA 含量影响不显著($P>0.05$), 饲料中添加 50 mg/kg 的蛋氨酸锌组 CAT、SOD、AKP 和 LZM 活性显著高于不添加锌组($P<0.05$), 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组和硫酸锌组差异不显著($P>0.05$)。而当 2000 IU/kg 的维生素

表 6 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼肝脏抗氧化能力的影响

Tab. 6 Effects of dietary zinc and vitamin D₃ supplementation on liver antioxidant capacity of grass carp

n=3; $\bar{x} \pm SD$								
维生素 D ₃ /(IU/kg) vitamin D ₃	锌/(mg/kg) Zn	锌源 Zinc source	过氧化氢酶/ (U/mgprot) CAT	超氧化物歧化 酶/(U/mgprot) SOD	碱性磷酸酶(金 氏单位/gprot) AKP	丙二醛/ (nmol/mgprot) MDA	溶菌酶/ (U/mgprot) LZM	
1000	0		18.80±1.10 ^{de}	46.80±1.59 ^{de}	17.47±0.72 ^c	0.95±0.09	0.82±0.06 ^d	
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	20.44±1.82 ^{cd}	49.45±2.99 ^{cd}	19.77±1.32 ^{bc}	0.85±0.13	1.09±0.14 ^c	
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	22.23±1.76 ^{bc}	51.05±1.85 ^{bc}	22.23±2.43 ^b	0.70±0.14	1.20±0.16 ^{bc}	
2000	0		17.64±1.30 ^e	45.31±1.51 ^e	17.94±2.02 ^c	1.08±0.11 ^a	0.81±0.14 ^d	
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	26.39±1.16 ^a	55.02±0.89 ^a	26.61±1.53 ^a	0.65±0.09 ^b	1.52±0.13 ^a	
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	24.36±1.47 ^{ab}	52.97±1.09 ^{ab}	26.83±1.65 ^a	0.79±0.19 ^b	1.41±0.15 ^{ab}	
1000	25	硫酸锌 Zinc sulfate	19.09±1.22	48.95±0.60	17.23±0.43 ^c	0.89±0.16	1.11±0.10	
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	20.44±1.82	49.45±2.99 ^b	19.77±1.32 ^{bc}	0.85±0.13	1.09±0.14	
2000	25	硫酸锌 Zinc sulfate	19.08±3.82 ^b	51.07±1.71	22.42±2.76 ^b	1.00±0.21	0.93±0.12 ^b	
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	26.39±1.16 ^a	55.02±0.89 ^a	26.61±1.53 ^a	0.65±0.09	1.52±0.13 ^a	
VD ₃ 和蛋氨酸锌水平的主效应 the main effect of VD ₃ and Zn-methionine levels								
1000			20.49	49.10	19.82 ^b	0.83	1.04	
2000			22.80	51.10	23.79 ^a	0.84	1.25	
	0		18.22 ^b	46.05 ^b	17.71 ^b	1.02 ^a	0.82 ^b	
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	23.42 ^a	52.24 ^a	23.19 ^a	0.75 ^b	1.31 ^a	
	50	蛋氨酸锌 Zn-methionine	23.29 ^a	52.01 ^a	24.53 ^a	0.75 ^b	1.31 ^a	
VD ₃ 和锌源的主效应 the main effect of VD ₃ and Zinc source								
1000			19.77	49.20 ^b	18.50 ^b	0.87	1.10	
2000			22.73	53.05 ^a	24.51 ^a	0.83	1.23	
	25	硫酸锌 Zinc sulfate	19.09 ^b	50.01	19.82	0.94	1.02 ^b	
	25	蛋氨酸锌 Zn-methionine	23.42 ^a	52.24	23.19	0.75	1.31 ^a	
双因素分析 P 值 P-value of two-way ANOVA								
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.006	0.035	<0.001	0.903	0.006	
蛋氨酸锌水平 Zn-methionine level			<0.001	<0.001	<0.001	0.005	<0.001	
维生素 D ₃ ×蛋氨酸锌水平 vitamin D ₃ ×Zn-methionine level			0.004	0.017	0.021	0.094	0.044	
双因素分析 P 值 P-value of two-way ANOVA								
维生素 D ₃ vitamin D ₃			0.054	0.006	<0.001	0.631	0.104	
锌源 Zinc source			0.011	0.065	0.010	0.061	0.004	
维生素 D ₃ ×锌源 vitamin D ₃ ×Zinc source			0.053	0.136	0.432	0.119	0.003	

注: 同一列数据无上标字母或字母相同表示差异不显著($P>0.05$), 不同字母表示有显著差异($P<0.05$).

Note: The same column of data without superscripts or with the same letters indicates no significant difference ($P>0.05$), while different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

D₃ 水平下, 饲料中添加 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组 CAT、SOD、AKP 和 LZM 活性显著提高, MDA 含量显著降低($P<0.05$), 进一步提高蛋氨酸锌水平到 50 mg/kg, 对各个酶活性和 MDA 含量并无显著影响($P>0.05$), 25 mg/kg 的蛋氨酸锌组 CAT、AKP 和 LZM 活性显著高于 25 mg/kg 的硫酸锌组($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼生长性能的影响

本研究结果显示, 饲料中在 1000 和 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 下分别补充 50 和 25 mg/kg 的蛋氨酸锌, 提高了草鱼的增重率和蛋白质效率, 降低饲

料系数,且两者联用促进了草鱼的生长性能。相关文献显示,饲料中添加有机锌至锌含量为 120.72 mg/kg 时,珍珠龙胆石斑鱼的生长性能显著高于同水平下的硫酸锌和纳米锌处理组^[3]。同样,在欧洲鳊(*Huso huso*)的研究中,添加 15 mg/kg 的蛋氨酸锌增重率和特定生长率显著提高^[20]。适量的维生素 D₃ 提高了中华绒螯蟹、草鱼和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)的生长性能^[13,15,21],而缺乏或过量的维生素 D₃ 降低了青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)的增重率^[22]。

在本研究中,不添加锌或者添加无机锌的处理组,出现高饲料系数和低蛋白质效率,这是因为和无机锌相比,蛋氨酸锌通过提高生长激素和胰岛素样生长因子,刺激 DNA 和 RNA 的合成以及细胞分裂,达到促进生长的效果^[2],这在本研究中得到证实,在 1000 和 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 水平下,添加 50 和 25 mg/kg 的蛋氨酸锌草鱼有更高的生长性能。有报道认为,维生素 D₃ 能够促进蛋氨酸在肠道的吸收,通过影响氨基酸转运蛋白的合成与表达,调节对氨基酸的吸收^[15],表明适量的维生素 D₃ 可能有利于蛋氨酸锌的吸收。本研究发现,添加 2000 IU/kg 的维生素 D₃,蛋氨酸锌处理组的生长表现呈先升高后降低的趋势,反映了该剂量下的维生素 D₃ 和高浓度的蛋氨酸锌反而抑制了草鱼的生长,由于维生素 D₃ 通过锌转运蛋白调节机体锌的稳态^[23],该结果可能是因为草鱼中,2000 IU/kg 维生素 D₃ 上调了锌转运蛋白的表达,导致锌在体内过度累积,反而产生负面作用。因此,饲料添加适量的蛋氨酸锌和维生素 D₃ 有利于提高草鱼生长性能。

3.2 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素含量的影响

微量元素之间存在一定的相互作用,一种微量元素的变化会导致其他微量元素的改变^[24]。锌集中分布在胴体的皮肤和骨骼中,胴体锌含量占总体的 84%~90%^[25],表明鱼类胴体能够反映微量元素的营养状况。以往的研究中,饲料添加蛋氨酸锌至锌含量 78.28 mg/kg 显著提高了凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)全身和肌肉的锌含量

^[26]。有机锌提高了珍珠龙胆石斑鱼肌肉和肝脏中铁和铜的含量^[3]。锌的添加降低了小鼠胰腺锰的含量^[27]。此外,适量的维生素 D₃ 提高了仿刺参(*Apostichopus japonicus*)体壁中铁含量^[28]。然而,Read 等^[29]的研究表明,虹鳟全身和肝脏铜含量不受饲料中锌的影响。这与本研究的草鱼结果相似,饲料中锌和维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素的交互作用均不显著。蛋氨酸锌添加组中组织铁和锌沉积量更高,这可能是蛋氨酸锌结构稳定,并通过氨基酸转运系统吸收,肠道中铁的吸收没有受到蛋氨酸锌的影响,避免了两者在肠道的竞争关系。此外,有机锌相比于无机锌利用率更高,导致较高的组织锌沉积量,锌在鱼体内的积累可能受到金属硫蛋白的调控,金属硫蛋白能够结合金属离子,具有储存和转运锌的功能,可作为缓冲液,调节组织中锌的含量保护细胞免受过量锌离子的损害^[30]。在 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 处理组中,50 mg/kg 的蛋氨酸锌组降低了草鱼胴体锰含量。锰是一种限制性微量元素,锰在体内受到矿物质代谢的调控,锰和锌同为二价金属离子,可能在体内的金属运输系统中有相似的运输和代谢途径,导致高水平的锌抑制了锰在体内的沉积^[31]。本实验饲料中 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 显著提高了草鱼胴体钙和铁含量。1,25-(OH)₂D₃ 作用于 VDR 受体促进肠道对钙的吸收,并通过甲状旁腺素和降钙素维持体内钙稳态^[32-33],表明较高水平的维生素 D₃ 有利于草鱼对钙的吸收。有趣的是,组织铁含量也受到维生素 D₃ 的影响,较高水平的维生素 D₃ 促进了铁的吸收,细胞中的铁受到铁调节蛋白的调控^[34],表明维生素 D₃ 可能参与了细胞铁浓度的调节。然而,本研究中锌和维生素 D₃ 对草鱼胴体铜的含量影响均不显著,可能是草鱼胴体铜含量对饲料中的锌和维生素 D₃ 并不敏感。综上所述,饲料中添加适量的蛋氨酸锌和维生素 D₃ 有利于铁、锌和钙的沉积。

3.3 饲料中添加锌和维生素 D₃ 对草鱼抗氧化能力的影响

锌和维生素 D₃ 对鱼类抗氧化防御系统至关重要。以往的研究中,饲料中 44.2 mg/kg 的锌显

著提高了草鱼肌肉中的抗氧化酶活性^[35]。添加 60 mg/kg 的有机锌对凡纳滨对虾的碱性磷酸酶活性有显著促进作用^[36]。维生素 D₃ 的添加使中华绒螯蟹和青鱼的抗氧化能力得到增强^[13,22]。本研究中, 饲料锌与维生素 D₃ 的交互作用对草鱼血清抗氧化酶活影响不显著, 但锌水平和维生素 D₃ 的交互作用显著影响肝脏 CAT、SOD、AKP 和 LZM 活性, 这可能是不同组织中抗氧化系统以及免疫系统对饲料营养素作用的效应时间不一致导致。1000 IU/kg 的维生素 D₃ 水平下, 添加 50 mg/kg 的蛋氨酸锌组肝脏 CAT、SOD、AKP 和 LZM 显著高于 Zn0 组, 但各组对血清酶活与肝脏 MDA 影响不显著, 表明此水平的维生素 D₃ 下添加锌对抗氧化能力提升并不明显。但在 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 下, 添加 25 mg/kg 的蛋氨酸锌显著提高了肝脏 CAT、SOD、AKP 和 LZM 的活性, 血清 CAT 和 SOD 具有最高值, 血清和肝脏 MDA 有最低值, 进一步添加蛋氨酸锌没有显著影响, 表明可能达到了锌的需求量, 这与之前的研究结果相似。相比于硫酸锌, 蛋氨酸锌表现出更强的抗氧化性, 这是由于有机锌通过氨基酸转运系统吸收, 较高的利用率提高了抗氧化酶的合成与表达, 这与 Liu 等^[37]的研究相似。锌与维生素 D₃ 都能通过 Nrf2 核转位激活抗氧化信号通路, 1,25(OH)₂D₃ 作用于 VDR 受体, 含有锌离子的锌指能够与 VDR 相互作用, 调节维生素 D₃ 反应元件(VDRE)的 DNA 结合域的结构, 影响 VDR 的结构构象, 可能共同诱导了抗氧化酶的表达并参与机体氧化防御^[3,23,38-39], 表明锌与维生素 D₃ 在抗氧化方面可能存在协同作用, 共同提高机体抗氧化酶活性。丙二醛是一个衡量氧化应激的生物标志物, 较低的丙二醛含量能够反映锌的最适添加水平^[40-41], 表明锌能够降低脂质过氧化产物对鱼类的危害。此外, 维生素 D₃ 作用于 VDR 受体使 SLC30A10 基因表达增强, 提高了对 ZnT10 锌转运蛋白的翻译, 进而影响锌稳态^[23], 可能是锌与维生素 D₃ 对细胞内锌稳态的积极调节增强了非特异性免疫酶的活性。因此, 饲料中适量的蛋氨酸锌和维生素 D₃ 有利于草鱼抗氧化能力和非特异性免疫, 且蛋氨酸锌比硫酸锌的效果更强。

4 总结

本研究探讨了饲料添加锌与维生素 D₃ 对草鱼生长性能、胴体微量元素含量和抗氧化能力的影响, 得到的结论如下:

(1) 饲料中添加锌与维生素 D₃ 对草鱼的生长性能方面存在显著的交互作用。在 1000 和 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 水平下, 分别补充 50 和 25 mg/kg 的蛋氨酸锌表现为较高的增重率和蛋白质效率, 较低的饲料系数。蛋氨酸锌在饲料利用和蛋白质效率方面优于同水平的硫酸锌。

(2) 饲料中添加锌与维生素 D₃ 对草鱼胴体微量元素的含量不存在交互作用。但添加 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 有利于铁和钙的沉积, 蛋氨酸锌相比于硫酸锌更有利于铁和锌的沉积, 高水平的蛋氨酸锌阻碍了锰的沉积。

(3) 饲料中锌水平与维生素 D₃ 对草鱼肝脏抗氧化能力存在显著的交互作用, 锌源和维生素 D₃ 的交互作用显著影响溶菌酶。添加 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 和 25 mg/kg 的蛋氨酸锌对草鱼抗氧化能力有较好的改善作用, 且蛋氨酸锌相较于硫酸锌效果较好。

综上所述, 本实验条件下, 饲料中添加 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 和 25 mg/kg 的蛋氨酸锌对草鱼生长性能和抗氧化能力存在积极的协同作用。此外, 添加 2000 IU/kg 的维生素 D₃ 和 25 mg/kg 的蛋氨酸锌有利于铁、锰、锌和钙的沉积, 高水平的蛋氨酸锌阻碍了锰的沉积。未来水产行业应注意饲料中锌和维生素 D₃ 的合理添加, 更好地发挥其协同作用, 蛋氨酸锌是草鱼传统无机锌源的潜在替代品。

参考文献:

- [1] Xu X W, Song C C, Tan X Y, et al. Effects of dietary zinc (Zn) levels on growth performance, nutrient composition, muscle development, antioxidant and inflammatory responses in yellow catfish muscle[J]. Aquaculture Reports, 2023, 31: 101640.
- [2] Kishawy A T Y, Roushdy E M, Hassan F A M, et al. Comparing the effect of diet supplementation with different zinc sources and levels on growth performance, immune response and antioxidant activity of tilapia, *Oreochromis*

- niloticus*[J]. Aquaculture Nutrition, 2020, 26(6): 1926-1942.
- [3] Wang R K, Ren Y L, Javad H U, et al. Effect of different dietary zinc sources on growth, element deposition, antioxidation, lipid metabolism, and related gene expression in hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatus*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2022, 2022: 8371440.
- [4] Zhou C P, Lin H Z, Huang Z, et al. Effects of dietary zinc levels on growth performance, digestive enzyme activities, plasma physiological response, hepatic antioxidant responses and metallothionein gene expression in juvenile spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2021, 27(5): 1421-1432.
- [5] Yuan Y, Luo J X, Zhu T T, et al. Alteration of growth performance, meat quality, antioxidant and immune capacity of juvenile *Litopenaeus vannamei* in response to different dietary dosage forms of zinc: Comparative advantages of zinc amino acid complex[J]. Aquaculture, 2020, 522: 735120.
- [6] Francis G, Makkar H P S, Becker K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish[J]. Aquaculture, 2001, 199(3-4): 197-227.
- [7] Buentello J A, Goff J B, Gatlin III D M. Dietary zinc requirement of hybrid striped bass, *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*, and bioavailability of two chemically different zinc compounds[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2009, 40(5): 687-694.
- [8] Apines-Amar M J S, Satoh S, Caipang C M A, et al. Amino acid-chelate: A better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2004, 240(1-4): 345-358.
- [9] Liang X F, Cao C Y, Chen P, et al. Effects of dietary zinc sources and levels on growth performance, tissue zinc retention and antioxidant response of juvenile common carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*) fed diets containing phytic acid[J]. Aquaculture Nutrition, 2020, 26(2): 410-421.
- [10] Porchia M, Pellei M, Del Bello F, et al. Zinc complexes with nitrogen donor ligands as anticancer agents[J]. Molecules, 2020, 25(24): Article No.5814.
- [11] Liang J J, Yang H J, Liu Y J, et al. Dietary zinc requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) based on growth and mineralization[J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(4): 380-387.
- [12] Liu J Y, Shao R, Lan Y W, et al. Vitamin D₃ protects turbot (*Scophthalmus maximus* L.) from bacterial infection[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2021, 118: 25-33.
- [13] Liu S B, Wang X D, Bu X Y, et al. Influences of dietary vitamin D₃ on growth, antioxidant capacity, immunity and molting of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) larvae[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2021, 210: 105862.
- [14] Cheng K, Ma C S, Guo X, et al. Vitamin D₃ modulates yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) immune function in vivo and in vitro and this involves the vitamin D₃/VDR-type I interferon axis[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2020, 107: 103644.
- [15] Zhang Y, Li C N, Jiang W D, et al. An emerging role of vitamin D₃ in amino acid absorption in different intestinal segments of on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Animal Nutrition, 2022, 10: 305-318.
- [16] Liu S Z, Tan X Y, Liu T, et al. Interactive effect of dietary vitamin D₃ and zinc (Zn) on growth performance, Zn metabolism, and intestinal health of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Aquaculture, 2024, 578: 740096.
- [17] Administrative Department for Fisheries the Ministry for Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook 2023[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023: 15-46. [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴 2023[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023: 15-46.]
- [18] Xu C, Liu W B, Remø S C, et al. Feeding restriction alleviates high carbohydrate diet-induced oxidative stress and inflammation of *Megalobrama amblycephala* by activating the AMPK-SIRT1 pathway[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 92: 637-648.
- [19] He Y, Zhao T, Lv W H, et al. Interactive effects of dietary zinc and water temperature on growth performance, Zn transport, heat shock response and lipid metabolism in the livers of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Aquaculture, 2023, 562: 738795.
- [20] Mohseni M, Hamidoghli A, Bai S. Organic and inorganic dietary zinc in beluga sturgeon (*Huso huso*): Effects on growth, hematology, tissue concentration and oxidative capacity [J]. Aquaculture, 2021, 539: 736672.
- [21] Miao L H, Ge X P, Xie J, et al. Dietary vitamin D₃ requirement of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. Aquaculture, 2015, 436: 104-109.
- [22] Wu C L, Lu B, Wang Y L, et al. Effects of dietary vitamin D₃ on growth performance, antioxidant capacities and innate immune responses in juvenile black carp *Mylopharyngodon piceus*[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2020, 46(6): 2243-2256.
- [23] Amos A, Razzaque M S. Zinc and its role in vitamin D

- function[J]. *Current Research in Physiology*, 2022, 5: 203-207.
- [24] Kou H Y, Hu J R, Wang A L, et al. Impacts of dietary zinc on growth performance, haematological indicators, transaminase activity and tissue trace mineral contents of soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(6): 2182-2194.
- [25] Sappal R, Burka J, Dawson S, et al. Bioaccumulation and subcellular partitioning of zinc in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Cross-talk between waterborne and dietary uptake [J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 91(4): 281-290.
- [26] Pan S M, Yan X B, Tan B P, et al. Effects of dietary zinc sources and levels on growth performance, serum biochemical and immunological indexes and tissue zinc content of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 25: 101247.
- [27] Wang C, Lu J J, Zhou L, et al. Effects of long-term exposure to zinc oxide nanoparticles on development, zinc metabolism and biodistribution of minerals (Zn, Fe, Cu, Mn) in mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0164434.
- [28] Wang L L, Li B S, Wang J Y, et al. Effects of dietary vitamin D₃ on growth performance, body composition, and antioxidant capacity of the juvenile sea cucumber[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(1): 110-118. [王丽丽, 李宝山, 王际英, 等. 维生素 D₃ 对仿刺参幼参生长、体组成及抗氧化能力的影响[J]. *渔业科学进展*, 2019, 40(1): 110-118.]
- [29] Read E S, Barrows F T, Gaylord T G, et al. Investigation of the effects of dietary protein source on copper and zinc bioavailability in fishmeal and plant-based diets for rainbow trout[J]. *Aquaculture*, 2014, 432: 97-105.
- [30] Coyle P, Philcox J C, Rofe A M. Hepatic zinc in metallothionein-null mice following zinc challenge: In vivo and in vitro studies[J]. *The Biochemical Journal*, 1995, 309(1): 25-31.
- [31] Prabhu P A J, Silva M S, Kröeckel S, et al. Effect of levels and sources of dietary manganese on growth and mineral composition of post-smolt Atlantic salmon fed low fish meal, plant-based ingredient diets[J]. *Aquaculture*, 2019, 512: 734287.
- [32] Jones G, Prosser D E, Kaufmann M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): Its important role in the degradation of vitamin D[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, 523(1): 9-18.
- [33] Dominguez D, Montero D, Zamorano M J, 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.
- [34] Bury N, Grosell M. Iron acquisition by teleost fish[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2003, 135(2): 97-105.
- [35] Wu Y P, Feng L, Jiang W D, et al. Influence of dietary zinc on muscle composition, flesh quality and muscle antioxidant status of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.)[J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(10): 2360-2373.
- [36] Yang J Z, Wang T T, Lin G, et al. The assessment of dietary organic zinc on zinc homeostasis, antioxidant capacity, immune response, glycolysis and intestinal microbiota in white shrimp (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(8): Article No.1492.
- [37] Liu X, Ma Y F, Chen L J, et al. Effects of different zinc sources on growth performance, antioxidant capacity and zinc storage of weaned piglets[J]. *Livestock Science*, 2020, 241: 104181.
- [38] Zhong W J, Gu B H, Gu Y, et al. Activation of vitamin D receptor promotes VEGF and CuZn-SOD expression in endothelial cells[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 140: 56-62.
- [39] Zhang Y, Li C N, Jiang W D, et al. Vitamin D serves as a modulator of immune organs in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) infected with *Aeromonas hydrophila*[J]. *Aquaculture*, 2023, 565: 739144.
- [40] Yu H R, Li L Y, Shan L L, et al. Effect of supplemental dietary zinc on the growth, body composition and antioxidant enzymes of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) alevins[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 20: 100744.
- [41] Kucukbay Z, Yazlak H, Sahin N, et al. Zinc picolinate supplementation decreases oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2006, 257(1-4): 465-469.

Effects of dietary zinc and vitamin D₃ on growth and antioxidant capacity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

HOU Yuntao^{1,2}, CHEN Jialin², WANG Chunfang¹, CHENG Ke¹, WANG Wenlin², YU Yongjiang², WANG Jiqi¹

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

2. Guangdong Haid Group Co., Ltd., Guangzhou 511400, China

Abstract: To study the interactive effects of different zinc sources and levels with vitamin D₃ on the growth performance, carcass trace element content, and antioxidant capacity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), 600 grass carp with a body mass of (25.86±0.13) g were selected. The experiment consisted of eight treatments (three replicates per treatment, 25 fish per tank). Fish were randomly placed in 24 tanks with a volume of 900 L each. In this study, two factors and two levels of dietary vitamin D₃ (1000 and 2000 IU/kg), together with three levels of dietary zinc methionine (0, 25, and 50 mg/kg), were designed. Treatment with 25 mg/kg zinc sulfate heptahydrate at two levels of dietary vitamin D₃. Eight isonitrogenous and isolipidic diets were used in the 8-week growth trial. The eight treatment groups were named 1000D/Zn0 (1000 IU/kgVD₃+0 mg/kg zinc), 1000D/ZnS25 (1000 IU/kgVD₃+25 mg/kg zinc sulfate heptahydrate), 1000D/ZnM25 (1000 IU/kgVD₃+25 mg/kg zinc methionine), 1000D/ZnM50 (1000 IU/kgVD₃+50 mg/kg zinc methionine), 2000D/Zn0 (2000 IU/kgVD₃+0 mg/kg zinc), 2000D/ZnS25 (2000 IU/kgVD₃+25 mg/kg zinc sulfate heptahydrate), 2000D/ZnM25 (2000 IU/kgVD₃+25 mg/kg zinc methionine), and 2000D/ZnM50 (2000 IU/kgVD₃+50 mg/kg zinc methionine), respectively. Results showed that: (1) Dietary zinc levels and vitamin D₃ had significant interaction effects on the weight gain rate (WG), feed conversion ratio (FCR), and protein efficiency ratio (PER) of grass carp ($P<0.05$). The 1000D/ZnM50 group exhibited the lowest FCR and the highest PER. Compared to the 1000D/ZnS25 group, the 1000D/ZnM25 group showed a significant decrease in FCR and a significant increase in PER ($P<0.05$). The WG of the 2000D/ZnM25 group was significantly increased ($P<0.05$). The PER of the 2000D/ZnM25 group was significantly higher than that of the 2000D/ZnS25 group, and the FCR was significantly lower than that of the 2000D/ZnS25 group ($P<0.05$). (2) No interactive effects exist between dietary zinc and vitamin D₃ on copper, iron, manganese, zinc, and calcium in the carcasses of grass carp ($P>0.05$). The iron and calcium contents of grass carp carcasses in the 2000 IU/kg vitamin D₃ group were significantly higher than those in the 1000 IU/kg vitamin D₃ group. The iron content of grass carp carcasses in the ZnM25 and ZnM50 groups was significantly higher than in the Zn0 group. The zinc content increased with the increase in methionine zinc levels. The manganese content of grass carp carcasses in the ZnM50 group was significantly lower than that in the Zn0 and ZnM25 groups ($P<0.05$). (3) Interactive effects exist between dietary zinc levels and vitamin D₃ on the activities of catalase(CAT), superoxide dismutase(SOD), AKP(alkaline phosphatase) and LZM(lysozyme) in the liver of grass carp. The interaction between zinc sources and vitamin D₃ significantly affected LZM ($P<0.05$). The activities of CAT, SOD, AKP, and LZM in the livers of grass carp in the 2000D/ZnM25 group were significantly higher than those in the other groups, except for the 2000D/ZnM50 group, in which the MDA content was significantly reduced. Compared with the 2000D/ZnS25 group, the activities of CAT, AKP and LZM in the 2000D/ZnM25 group were significantly higher ($P<0.05$). These results indicated that the interactive effects of zinc and vitamin D₃ in grass carp feed could significantly improve the growth performance and antioxidant capacity of grass carp. Under the conditions of this experiment, zinc methionine (25 mg/kg) and vitamin D₃ (2000 IU/kg) were more conducive to the growth and antioxidant capacity of grass carp, and zinc methionine was superior to zinc sulfate in terms of growth, feed utilization, carcass trace element content, and antioxidant capacity.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; zinc; vitamin D₃; interaction; growth; antioxidant; feed supplement

Corresponding author: WANG Chunfang. E-mail: cfwang@mail.hzau.edu.cn