

饲料中添加木聚糖酶对尼罗罗非鱼生长及血清激素水平的影响

聂国兴^{1,2}, 王俊丽¹, 周洪琪²

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007; 2. 上海水产大学 生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要:以尼罗罗非鱼 (*Tilapia nilotica*) 为实验对象, 初始体质量为 $(106.16 \pm 16.77) \text{g}$, 以小麦基础饲料为对照, 小麦基础饲料中分别添加不同质量百分比水平的木聚糖酶 (0.05%、0.10%、0.15%) 作为实验饲料。每个处理设 5 个重复, 每个重复放养 40 尾雄性罗非鱼。采用饱食方式饲喂 75 d 后测定罗非鱼体质量、血清胃泌素 (Gas)、三碘甲腺原氨酸 (T_3)、甲状腺素 (T_4)、胰岛素 (Ins)、胰高血糖素 (Glu) 和类胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 的含量。结果表明: 0.05% 和 0.10% 木聚糖酶添加组的增重率较对照组分别提高 8.29%、17.45% ($P < 0.01$), 0.15% 组的增重率与对照组相比没有统计学差异 ($P > 0.05$)。0.05% 组、0.10% 组、0.15% 组的血清 Gas 水平分别比对照组提高 22.55% ($P > 0.05$)、88.46% ($P < 0.01$) 和 167.84% ($P < 0.01$); 0.10% 组和 0.15% 组血清中 T_3 水平极显著高于对照组 ($P < 0.01$), 0.05% 组 T_3 水平与对照组无显著差异; 0.05% 组、0.10% 组和 0.15% 组的血清 T_4 水平分别比对照组提高 42.36%、65.66% 和 68.58% ($P < 0.01$); 0.05% 组、0.10% 组和 0.15% 组的血清 Ins 水平有极显著差异 ($P < 0.01$), 并分别比对照组提高 54.95%、73.42% 和 36.04% ($P < 0.01$), 其 Ins 水平从大到小依次为: 0.10% 组、0.05% 组、0.15% 组; 0.05% 组、0.10% 组、0.15% 组的血清 Glu 含量分别比对照组降低 11.59%、17.15% 和 13.31% ($P < 0.01$), 0.10% 组的血清 Glu 水平极显著低于 0.05% 组和 0.15% 组 ($P < 0.01$); 0.05% 组、0.10% 组、0.15% 组的血清 IGF-I 水平分别比对照组提高 75.57%、102.46%、39.96% ($P < 0.01$)。因此, 本研究认为, 在小麦基础饲料中适量添加木聚糖酶可以调控尼罗罗非鱼内分泌系统, 调节血清激素水平, 促进尼罗罗非鱼生长。[中国水产科学, 2007, 14 (2): 249–256]

关键词: 木聚糖酶; 尼罗罗非鱼; 生长; 血清; 激素

中图分类号: S963

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2007)02–0249–08

近年来, 由于小麦大幅度增产, 与此同时, 水产养殖业和水产饲料工业的蓬勃发展受到了饲料粮不足的严重制约, 因此将小麦用作饲料原料, 通过水产养殖业进行转化消费, 已具备资源层面的可行性。但由于小麦中存在木聚糖, 限制了其作为主体能量饲料在水产饲料工业中的应用。在饲喂小麦基础饲料的同时, 饲用木聚糖酶可以有效消除木聚糖在体内外形成的多重营养屏障, 显著提高水产动物的生长性能^[1–2], 但是木聚糖酶促进水产动物生长的作用机理在国内外尚未见研究报道。本实验在小麦基础饲料中添加不同水平的木聚糖酶饲喂尼罗罗非鱼, 通过观测其血清激素水平的变化, 从内分泌水平揭示木聚糖酶促进生长的机理。

调节生长发育的内分泌激素主要有生长激素 (growth hormone, GH)、类胰岛素样生长因子

(IGF)、甲状腺素 (T_4)、胰岛素 (Ins)、胰高血糖素 (Glu)、胃泌素 (Gas)、类固醇、糖皮质激素等^[3–4]。鱼类内分泌系统对营养摄入的变化非常敏感, 营养水平在调控鱼类激素的合成与分泌中发挥着重要作用。饲料蛋白水平对鱼类血清激素水平有显著影响^[5–7], 随着饲料蛋白水平的提高, 金头鲷 (*Sparus aurata*) 血浆 IGF-I 显著升高^[7]。在畜禽小麦基础饲料中添加木聚糖酶, 改善机体营养状况, 可使雏鸡血清中的 T_4 水平^[8]、仔猪血清 Gas 和 T_4 水平^[9]、肉仔鸡血清 Ins 水平^[10]显著提高。在动物神经内分泌生长轴中, 甲状腺轴、生长激素–类胰岛素样生长因子 (GH–IGF–I) 轴是调控机体生长的中心环节, 营养条件对这些调控机制有明显的影响, 如 GH–IGF–I 轴对饲料蛋白水平^[7]、C/P 比^[11]的变化反应非常灵敏。

收稿日期: 2006–03–24; 修订日期: 2006–08–07.

基金项目: 河南省重点科技攻关项目 (0423014000); 河南省动物学重点学科资助项目.

作者简介: 聂国兴 (1971–), 男, 博士, 副教授, 主要从事水产动物营养与饲料科学研究. Tel: 0373–3326441; E-mail: niegx@henannu.edu.cn

通讯作者: 周洪琪, 教授, 博士生导师, 主要从事水产动物营养与饲料科学研究. Tel: 021–65710017; E-mail: hqzhou@shfu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验设计

采用单因子浓度梯度法,在基础饲料中分别添加质量百分比为 0.05%、0.10%、0.15% 的木聚糖酶。木聚糖酶由河南师范大学小麦抗营养因子研究课题

组提供,活力为 18 000 U/g。以不添加木聚糖酶的基础饲料组为对照,实验组和对照组各设 5 个平行。

1.2 实验饲料

基础饲料含有 50% 小麦,实验饲料用 HKJ-218 型环模制粒机制成 $\phi=2\text{ mm}$ 的硬颗粒,自然晾干,备用。饲料成分及营养成分见表 1。

表 1 实验饲料原料及营养成分

Tab.1 Ingredients and nutrient composition of the experimental diets

组 成	对照组	实验组 Test groups			%
Composition	Control group	0.05%	0.10%	0.15%	
饲料原料 Ingredients					
小麦(豫麦 34) Wheat (Yumai 34)	50.00	50.00	50.00	50.00	
大豆粕 Soybean meal-solvent	23.00	23.00	23.00	23.00	
棉籽粕 Cottonseed meal-solvent	2.00	2.00	2.00	2.00	
菜籽粕 Rapessed meal-solvent	2.00	2.00	2.00	2.00	
鱼粉 Fish meal	18.70	18.65	18.60	18.55	
氯化胆碱 Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15	
预混料 Premix	1.25	1.25	1.25	1.25	
鱼油 Fish oil	1.40	1.40	1.40	1.40	
磷酸二氢钙 CaH_2PO_4	1.50	1.50	1.50	1.50	
木聚糖酶 Xylanase	0.00	0.05	0.10	0.15	
营养成分 Nutrient composition					
水分 Moisture	8.59	8.36	8.62	8.86	
粗蛋白 Crude protein	30.32	30.29	30.24	30.21	
粗脂肪 Crude fat	3.46	3.46	3.46	3.45	
粗纤维 Crude fiber	2.65	2.65	2.66	2.66	
粗灰分 Crude ash	4.94	4.93	4.92	4.92	
有效磷 Aavailable phosphorus	0.97	0.97	0.96	0.96	
总木聚糖 Total xylan	4.23	4.23	4.23	4.23	
水溶性木聚糖 Water-soluble xylan	1.05	1.06	1.05	1.05	

注:每 kg 预混料含: $\text{V}_A 75 \times 10^4\text{ IU}$, $\text{VD}_3 15 \times 10^4\text{ IU}$, $\text{V}_E 14\text{ g}$, $\text{VK}_3 325\text{ mg}$, $\text{VB}_1 1\ 500\text{ mg}$, $\text{VB}_2 1\ 250\text{ mg}$, $\text{VB}_6 1\ 100\text{ mg}$, $\text{VB}_{12} 4\text{ mg}$, $\text{VC} 2.5\text{ g}$, 肌酸 5.5 g, 烟酸 4 g, 泛酸 4.5 g, 叶酸 70 mg, 生物素 125 mg, 胆碱 150 g, 镁 45 g, 铁 15 g, 铜 0.35 g, 锌 3 g, 锰 1.5 g, 碘 50 mg, 硒 9 mg, 钴 11 mg, 磷 105 g, 钙 330 g。

Note: premix includes (per kg): $\text{V}_A 75 \times 10^4\text{ IU}$, $\text{VD}_3 15 \times 10^4\text{ IU}$, $\text{V}_E 14\text{ g}$, $\text{VK}_3 325\text{ mg}$, $\text{VB}_1 1\ 500\text{ mg}$, $\text{VB}_2 1\ 250\text{ mg}$, $\text{VB}_6 1\ 100\text{ mg}$, $\text{VB}_{12} 4\text{ mg}$, $\text{VC} 2.5\text{ g}$, creatine 5.5 g, niacin 4 g, pantothenic acid 4.5 g, folic acid 70 mg, biotin 125 mg, choline chloride 150 g, Mg 45 g, Fe 15 g, Cu 0.35 g, Zn 3 g, Mn 1.5 g, I 50 mg, Se 9 mg, Co 11 mg, P 105 g, Ca 330 g。

1.3 饲养管理

实验尼罗罗非鱼来自位于河北沧州的农业部中捷罗非鱼良种场。浮式网箱规格为 $1.0\text{ m} \times 1.0\text{ m} \times 1.3\text{ m}$, 随机投放 40 尾雄性尼罗罗非鱼, 初始平均体质量为 $(106.16 \pm 16.77)\text{ g}$ 。实验采用饱食方式, 每天投喂 4 次 (8:30、11:30、14:30、17:30)。实验期间水温为 $(28.98 \pm 2.86)^\circ\text{C}$, 各组水质完全一致。每周刷洗网箱 1 次, 防止藻类附着生长。实验时间为 2005 年 7 月 1 日~9 月 13 日, 共计 75 d。

1.4 增重率测定

实验结束后, 各网箱中的实验鱼采用 Ohaus Corporation ARA520 型电子天平逐条称量体质量, 精确到 0.01 g。根据实验鱼初始体质量和终末体质量

量计算实验鱼的增重率 (CtR):

$$\text{CtR} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$$

式中, W_t 为实验鱼终末体质量, g; W_0 为实验鱼初始体质量, g。

1.5 血清制备

每个网箱随机取 2 尾鱼, 每个处理共 10 尾, 用注射器从尾静脉取血约 3 mL, 4°C 条件下放置 4 h, $6\ 000\text{ r/min}$ 、 4°C 离心 15 min, 取血清, 按照测定不同激素时所需要的样品量进行分装, -20°C 保存, 待测。

1.6 血清激素含量的测定

1.6.1 血清胃泌素 (Gas) 的测定 采用放射免疫分析法 (RIA) 测定血清胃泌素的含量, 检测试剂盒

购自北方生物技术研究所以(中国,北京)。配制人 Gas (G17) 标准液 (0、12.5 pg/mL、25 pg/mL、50 pg/mL、75 pg/mL、100 pg/mL、150 pg/mL), 抗体为兔抗人 Gas 血清, 免疫分离剂为驴抗兔血清。用 PACKARD-5002 γ 计数器进行放射性测定, 下同。

1.6.2 血清三碘甲腺原氨酸 (T_3) 和甲状腺素 (T_4) 的测定 采用放射免疫分析法测定血清 T_3 和 T_4 的含量, 检测试剂盒购自北方生物技术研究所以。配制 T_3 标准液 (0、0.5、1.0、2.0、4.0 和 8.0 ng/mL), 测定时血清稀释 2 倍, 抗体为羊抗- T_3 抗体, 免疫分离剂为驴抗羊血清; T_4 标准液 (0、5.0、10.0、15.0、20.0、30.0 ng/mL), 抗体为羊抗- T_4 抗体, 免疫分离剂为驴抗羊血清。

1.6.3 血清胰岛素 (Ins) 和胰高血糖素 (Glu) 的测定 采用放射免疫分析法测定血清胰岛素和胰高血糖素的含量, 检测试剂盒购自北方生物技术研究所以。配制人 Ins 标准液 (0、2.5、5.0、10.0、15.0 和 20.0 μ IU/mL), 抗体为豚鼠抗人 Ins 血清, 免疫分离剂为驴抗豚鼠血清; 人 Glu 标准液 (0、50.0、100.0、200.0、400.0 和 800.0 pg/mL), 测定时血清稀释 50 倍, 抗体为豚鼠抗人 Glu 血清, 免疫分离剂为驴抗豚鼠血清。

1.6.4 血清类胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 的测定 尼罗罗非鱼血清用酸醇处理, 去除结合蛋白。取

40 μ L 血清, 加入 360 μ L 酸醇液, 混匀, 25 $^{\circ}$ C 放置 30 min, 4 000 r/min、4 $^{\circ}$ C 离心 20 min, 取上清 0.2 mL, 加入 0.1 mL Tris Base (0.855 mol/L, pH 11.0) 混匀、离心, 取上清液待测。采用放射免疫分析法测定血清 IGF-I 含量, 检测试剂盒购自中国九鼎医学生物工程有限公司 (中国, 天津)。配制人 IGF-I 标准液, 浓度梯度为 0、2.5 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、15.0 ng/mL 和 20.0 ng/mL。抗体为兔抗人血清, 免疫分离剂为驴抗兔血清。

1.7 数据处理

采用 SPSS 11.5 for windows 和 Excel 进行 one-way ANOVA 分析、LSD 多重比较和相关分析。结果以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm SD$) 表示。当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 尼罗罗非鱼的增重率

在小麦基础饲料中添加木聚糖酶, 可以显著提高尼罗罗非鱼的增重率 (表 2), 0.05% 组和 0.10% 组的增重率较对照组分别提高 8.29%、17.45% ($P < 0.01$), 0.15% 组尼罗罗非鱼的增重率虽然比对照组高, 但是两组间没有统计学差异 ($P > 0.05$)。3 个实验组相比, 0.10% 组的增重率极显著高于 0.05% 组和 0.15% 组 ($P < 0.01$), 0.05% 组和 0.15% 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 尼罗罗非鱼的增重率

Tab.2 Weight gain rate of *Tilapia nilotica*

项目 Items	对照组 Control group	实验组 Test group		
		0.05%	0.10%	0.15%
初始体质量/g Initial weight	107.89 $\pm$ 18.48	106.95 $\pm$ 17.23	104.63 $\pm$ 15.37	105.17 $\pm$ 15.74
终末体质量/g Final weight	387.31 $\pm$ 64.30 ^{Bc}	405.59 $\pm$ 80.98 ^{ABb}	422.08 $\pm$ 69.35 ^{Aa}	388.42 $\pm$ 72.57 ^{Bc}
增重率/% Weight gain rate	258.24 $\pm$ 36.88 ^C	279.64 $\pm$ 40.54 ^B	303.31 $\pm$ 43.32 ^A	269.33 $\pm$ 39.10 ^{BC}

注: 同一行大写字母不同表示差异极显著 ($P < 0.01$), 小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Notes: Different capital letters in the same line indicate difference at $P < 0.01$, different small letters indicate difference at $P < 0.05$.

2.2 尼罗罗非鱼的血清激素水平

2.2.1 Gas 尼罗罗非鱼血清 Gas 水平随着木聚糖酶添加量的升高而升高 (表 3), 0.05% 组、0.10% 组、0.15% 组的血清 Gas 水平分别比对照组提高 22.55% ($P > 0.05$)、88.46% ($P < 0.01$) 和 167.84% ($P < 0.01$)。3 个实验组之间血清 Gas 水平均达到了极显著差异 ($P < 0.01$), 其值由高到低依次为 0.15% 组、0.10% 组、0.05% 组。

2.2.2 T_3 和 T_4 尼罗罗非鱼小麦基础饲料中添加木聚糖酶能提高血清 T_3 水平 (表 3)。0.05% 组血清

T_3 水平与对照组无显著差异 ($P > 0.05$), 当木聚糖酶添加量达到 0.10% 和 0.15% 时, 血清中 T_3 水平极显著高于对照组 ($P < 0.01$), 3 个实验组之间血清 T_3 水平无显著差异 ($P > 0.05$)。

尼罗罗非鱼血清 T_4 水平较 T_3 高 (表 3)。木聚糖酶水平对尼罗罗非鱼血清 T_4 水平具有极显著的影响。0.05% 组、0.10% 组、0.15% 组的血清 T_4 水平分别比对照组提高 42.36%、65.66%、68.58% ($P < 0.01$)。3 个实验组之间, 0.10% 组和 0.15% 组的血清 T_4 水平显著高于 0.05% 组 ($P < 0.05$), 但 0.10%

组和0.15%组的血清 T_4 水平无显著差异 ($P>0.05$)。

2.2.3 Ins 尼罗罗非鱼小麦基础饲料中添加木聚糖酶极显著提高了血清 Ins 水平 ($P<0.01$)，见表3。3个实验组中，0.10%组的血清 Ins 水平最高，达到 $11.55 \mu\text{IU/mL}$ ，极显著高于对照组、0.05%组和0.15%组 ($P<0.01$)。0.05%组的血清 Ins 含量极显著高于0.15%组 ($P<0.01$)。

2.2.4 Glu 尼罗罗非鱼小麦基础饲料中添加木聚糖酶极显著地降低了血清 Glu 水平 (表3)。0.05%组、0.10%组、0.15%组的血清 Glu 含量分别比对照

组降低 11.59%、17.15% 和 13.31% ($P<0.01$)，0.10%组的血清 Glu 水平最低，为 8.65 ng/mL ，极显著低于0.05%组和0.15%组 ($P<0.01$)。0.05%组和0.15%组的血清 Glu 含量无显著差异 ($P>0.05$)。

2.2.5 IGF-I 木聚糖酶极显著提高了尼罗罗非鱼血清中 IGF-I 的水平 (表3)。0.05%组、0.10%组、0.15%组的血清 IGF-I 水平分别比对照组提高 75.57%、102.46%、39.96% ($P<0.01$)，3个实验组的血清 IGF-I 含量也有极显著差异 ($P<0.01$)。0.10%组的血清 IGF-I 水平最高，0.15%组次之。

表3 尼罗罗非鱼血清激素测定结果

Tab.3 Hormone concentration in serum of *Tilapia nilotica*

血清激素 Serum hormon	对照组	实验组 Test group		
	Control group	0.05%	0.10%	0.15%
胃泌素 Gastrin ($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	26.52 ± 6.28^C	32.50 ± 6.96^C	49.98 ± 6.30^B	71.03 ± 8.67^A
三碘甲腺原氨酸 T_3 ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	6.26 ± 1.07^B	7.01 ± 0.81^{AB}	7.79 ± 0.92^A	7.48 ± 0.86^A
甲状腺素 T_4 ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	9.23 ± 1.10^{Bc}	13.14 ± 2.59^{Ab}	15.29 ± 2.84^{Aa}	15.56 ± 1.45^{Aa}
胰岛素 Insulin ($\mu\text{IU}\cdot\text{mL}^{-1}$)	6.66 ± 0.71^D	10.32 ± 0.94^B	11.55 ± 1.52^A	9.06 ± 0.58^C
胰高血糖素 Glucagon ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	10.44 ± 0.43^A	9.23 ± 0.13^B	8.65 ± 0.23^C	9.05 ± 0.29^B
胰岛素/胰高血糖素 Ins/Glu	0.64	1.12	1.34	1.00
胰岛素样生长因子-I IGF-I ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	5.28 ± 0.75^D	9.27 ± 0.85^B	10.69 ± 1.36^A	7.39 ± 0.89^C

注：同一行大写字母不同表示差异极显著 ($P<0.01$)，小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different capital letters in the same line indicate difference at $P<0.01$, different small letters indicate difference at $P<0.05$.

2.3 尼罗罗非鱼血清激素水平与增重率的相关分析

尼罗罗非鱼增重率与血清中 Glu 水平呈极显著负相关 ($P<0.01$)，见表4；与血清 T_3 、 T_4 、Ins、IGF-I 水平呈极显著正相关 ($P<0.01$)。对尼罗罗非鱼血

清 Glu、 T_3 、 T_4 、Ins、IGF-I 和 Gas 进行相关分析表明， T_4 、Gas、 T_3 之间，Ins、 T_3 、 T_4 之间，IGF-I、 T_3 、 T_4 、Ins 之间呈极显著相关 ($P<0.01$)； T_3 与 Gas 呈显著正相关 ($P<0.05$)；Glu 与 Ins、Gas、 T_4 、IGF-I 之间均为极显著负相关 ($P<0.01$)。

表4 尼罗罗非鱼血清激素之间与血清激素水平与增重率的相关分析

Tab.4 Correlation analysis among serum hormones and between weight gain rate and serum hormones of *Tilapia nilotica*

	Gas	T_3	T_4	Ins	Glu	IGF-I
T_3	0.399 *					
T_4	0.642 **	0.839 **				
Ins	0.277	0.745 **	0.814 **			
Glu	-0.568 **	-0.206	-0.533 **	-0.639 **		
IGF-I	0.184	0.450 **	0.544 **	0.816 **	-0.720 **	
增重率	0.080	0.550 **	0.524 **	0.845 **	-0.584 **	0.808 **

注：表格中数字表示相关系数，* 表示相关关系达到显著水平 ($P<0.05$)；** 表示相关关系达到极显著水平 ($P<0.01$)。

Note: Values in the table show correlation coefficients. * Correlation is significant at 0.05 level; ** Correlation is significant at 0.01 level.

3 讨论

3.1 木聚糖酶能消除木聚糖的抗营养作用，提高尼罗罗非鱼机体营养水平

小麦基础饲料中添加木聚糖酶使木聚糖降解，

细胞及肠道内被束缚的营养素和内源性、外源性消化酶充分接触，消化率提高。肠道吸收条件得到改善，消化完毕的营养素向肠壁扩散速度加快，扩散量增加，吸收率显著提高，总体效应表现为机体营养水平提高。在木聚糖酶添加量过高 (0.15%组) 的情况

下,肠道黏度过低,食糜排空速度过快,营养素的吸收率相对 0.05% 组和 0.10% 组低,因此,0.15% 组实验鱼的营养水平低于 0.05% 组和 0.10% 组,增重率较低。此结果提示在使用木聚糖酶制剂时,控制适宜的添加量才能获得最佳的养殖效益。

3.2 木聚糖酶调控尼罗罗非鱼血清激素水平

在尼罗罗非鱼小麦基础饲料中添加不同水平的木聚糖酶,不同程度地提高了鱼体营养水平。尼罗罗非鱼的内分泌系统受不同营养水平的调控,血清激素水平表现出相应的差异。

3.2.1 木聚糖酶提高尼罗罗非鱼血清 Gas 水平

Gas 是人类最早发现的激素之一。在漫长的进化过程中,Gas 基因得以保留,并在哺乳动物、软骨鱼类、硬骨鱼类、两栖类、爬行类和鸟类胃肠道内表达,主要由胃窦及小肠黏膜 G 细胞释放。迄今发现的 Gas 分子有 5 种结构形式:小 Gas (Litter gastrin, G-17)、大 Gas (Big gastrin, G-34)、微 Gas (Minigastrin, G-13)、大大 Gas (Big big gastrin) 和 Gas 成分 I (Component I, CI), G-17 是 Gas 主要的结构形式。作为细胞间信使,Gas 在脊椎动物和无脊椎动物大多数生理功能的协调和调控方面起着重要作用^[12]。大西洋鳕 (*Gadus morhua*)、银大麻哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*) 等硬骨鱼类的胃中均发现有 Gas 活性^[13]。因为 Gas 结构无种属差异性^[14],所以本实验使用测定人 Gas 的试剂盒测定尼罗罗非鱼血清 Gas 是可行的。

本研究在尼罗罗非鱼饲料中添加木聚糖酶,可显著提高血清 Gas 水平,与陈清华等^[9]对断奶仔猪的研究结果一致。木聚糖酶提高尼罗罗非鱼血清 Gas 水平的机理主要有以下 3 个方面: (1) 木聚糖酶进入尼罗罗非鱼消化道后,通过解除木聚糖对外源性消化酶的束缚和增加消化道酶作用底物,显著提高胃蛋白酶和肠蛋白酶的活力,促进饲料中蛋白质的分解,由此产生的蛋白质初级消化产物和芳香族氨基酸可以提高 Gas 的分泌水平^[15]。 (2) 外源木聚糖酶的添加,显著降低了尼罗罗非鱼消化道食糜黏度。推测这种变化促进了胃黏膜及小肠上部黏膜 G 细胞增生,G 细胞为开放型胃肠内分泌细胞,顶端有微绒毛样突起伸入胃肠腔,可以直接感受胃肠内化学物质的作用并释放 Gas。陈少夫的研究也得到类似结果^[15]。 (3) 在小麦基础饲料中添加木聚糖酶,尼罗罗非鱼肠道中的低聚木糖含量增加,低聚木糖通过自身代谢和肠道菌群代谢,降低了肠道 pH 值,

提高了钙盐的溶解性,促进钙的吸收。尼罗罗非鱼血钙升高可能是促进 Gas 分泌的另一重要原因。高建松等对山羊的研究结果得到相似结论^[17]。

3.2.2 木聚糖酶提高尼罗罗非鱼血清 T₃ 和 T₄ 水平

甲状腺激素主要包括 T₃ 和 T₄, 它们是调控鱼类生长、发育和繁殖的重要激素。本实验在尼罗罗非鱼饲料中适量添加木聚糖酶,提高了血清中 T₃ 和 T₄ 的含量,高峰等^[8]对雏鸡、陈清华等^[9]对断奶仔猪的研究得到相似的结果。由于木聚糖酶解除饲料中木聚糖的抗营养作用,饲料中的营养成分被鱼体消化吸收增加。一方面,部分营养成分能刺激下丘脑(促甲状腺素释放激素, TRH) - 脑垂体(促甲状腺素, TSH) - 甲状腺 (T₃ 和 T₄) 轴,促进 T₃、T₄ 的合成与分泌;另一方面,由于碘和酪氨酸的吸收量增加,提高了 T₃ 和 T₄ 的合成强度^[14]; 再则,氨基酸和小肽吸收量增加,既能使 T₃、T₄ 载体蛋白合成增多,又能刺激鱼类甲状腺激素的分泌^[18]。T₃ 和 T₄ 水平反映了鱼体营养水平的高低。蛋白营养不足,虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[19] 和黑鲷 (*Sparus macrocephalus*)^[20] 血浆中的 T₃ 和 T₄ 水平降低,当蛋白摄取量增加时, T₃ 和 T₄ 水平又会随之提高; 黄鲟 (*Acipenser fulvescens*)^[5]、虹鳟^[18] 和鲑鱼 (*Oncorhynchus keta*)^[21] 血浆 T₃ 水平随饲料蛋白水平的提高而提高。

3.2.3 木聚糖酶提高尼罗罗非鱼血清 Ins 水平、降低血清 Glu 水平 现已阐明了近 20 种动物的 Ins 基因的 cDNA 序列,种属间 Ins 基因的主要差别在于内含子的长度,而外显子的种属间差异较小、位置较固定,说明 Ins 基因是一种高度保守的古老基因^[14]。鳕鱼、金枪鱼 (*Thunnus alalunga*) 和鲈鱼 (*Lophius piscatorius*) Ins 的氨基酸序列与人有 70% 以上相同^[22]。Glu 的结构也具有很强的保守性,不同动物之间差异甚小^[23]。所以本实验采用人的 Ins、Glu 试剂盒测定尼罗罗非鱼血清的 Ins 和 Glu 含量是可行的。

本研究在尼罗罗非鱼饲料中添加适量的木聚糖酶,能显著提高血清中 Ins 水平,降低 Glu 水平。首先,由于在尼罗罗非鱼饲料中添加木聚糖酶,能提高消化道中可吸收葡萄糖的浓度,显著上调十二指肠 SGLT1 (钠葡萄糖共转运载体 1) mRNA 表达 (另文发表),所以尼罗罗非鱼血糖水平有相应的提高,而高血糖水平诱导了胰岛 B 细胞的分泌,导致血清 Ins 水平提高, Glu 水平降低。与王金全^[10]对肉仔鸡、艾晓杰等^[24]等对雏鹅的研究结果一致; 其次,添

加木聚糖酶后,鱼消化道可利用氨基酸和 Ca^{2+} 增加,氨基酸能够刺激 *Ins* 分泌,葡萄糖促使胰岛 B 细胞摄取 Ca^{2+} 可触发 *Ins* 分泌^[25]。另外,*Ins* 可直接作用于胰岛 A 细胞抑制 *Glu* 分泌^[26]。

3.2.4 木聚糖酶提高尼罗罗非鱼血清 IGF-I 水平

研究表明,鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 等鱼类 IGF-I 的氨基酸序列与人的 IGF-I 有 80% 左右的同源性^[27]。所以本实验使用人的 IGF-I 试剂盒测定尼罗罗非鱼血清中 IGF-I 的含量是可行的。

IGF-I 及其受体蛋白的分泌与表达受营养、生长激素、局部细胞因子和发育阶段的调控^[7,28],其中营养水平和生长激素^[29]对 IGF-I 分泌的影响较为重要。在众多的营养物质中,蛋白质是动物 IGF-I 合成的一个重要调节因子。血清 IGF-I 的水平与饲料蛋白水平密切相关。大西洋鲑 (*Salmo salar*)、尖吻鲈 (*Lates calcarifer*)^[30]和金头鲷^[31]血清 IGF-I 浓度变化与饲料蛋白质水平正相关。本研究对照组尼罗罗非鱼处于“消化吸收限制性饥饿”状态,可能导致 IGF-I mRNA 丰度下降,分泌量减少,添加木聚糖酶后,IGF-I 基因转录速率加快,促进了 IGF-I 的分泌,血清 IGF-I 含量显著提高。Thissen 等^[32]、华益民等^[33]、高峰等^[8]的研究结果支持上述推测。

3.3 内分泌激素与鱼类生长

Gas 能够营养胃泌酸区黏膜和肠黏膜,使相应黏膜细胞的 DNA、RNA 及蛋白质合成增加,促进黏膜增生,刺激胃酸、胃蛋白酶原和胰液分泌^[25],通过提高消化道中消化酶活力促进鱼类生长。*Gas* 还可以调节葡萄糖引起的 *Ins* 的释放作用^[14],通过促进 *Ins* 分泌间接促进鱼类生长。

本研究血清 T_3 、 T_4 水平与尼罗罗非鱼的生长成正相关关系,与对虹鳟^[34]、大西洋鲑^[35]的研究结果相同。外源甲状腺激素的引入也可促进动物生长^[36],其中 T_3 的促生长作用要明显大于 T_4 。甲状腺激素通过促进蛋白代谢而影响生长。Jepson 等^[37]研究表明,血浆 T_3 含量间接提高 RNA 的含量,提高蛋白质的代谢水平,促进肌肉生长。Brown 等^[38]认为 T_3 水平的适度提高,可增加细胞内 mRNA 和 RNA 聚合酶含量,促进氨基酸的吸收,从而促进鱼体蛋白质的合成。甲状腺激素在体内和体外都能提高尼罗罗非鱼肝脏 IGF-I mRNA 的表达,从而促进其生长^[39]。

鱼类 *Ins* 由肝胰脏中的胰岛 B 细胞分泌,*Ins* 的主要作用是通过刺激糖元生成和脂肪形成增加能量

贮存,促进 RNA 形成以影响蛋白质合成,和生长激素协同,促进氨基酸吸收并结合到蛋白质中,增加细胞膜对葡萄糖的可渗透性。*Glu* 由 A 细胞分泌,主要功能是通过激活肝糖元磷酸化酶而促进糖元分解,还可刺激糖元异生和肝脏释放葡萄糖^[36]。*Ins* 和 *Glu* 是调节三大物质代谢最重要的两种激素。机体糖、脂肪和氨基酸的代谢变化主要取决于这两种激素的比值 (*Ins/Glu*)。*Ins/Glu* 升高能促进糖原、脂类及蛋白质的合成,本实验 *Ins/Glu* 升高,促进了合成代谢,有利于鱼的生长。

IGF-I 是一种广谱性促细胞分裂素,具有调节细胞代谢,促进细胞生长、分化和分裂,抑制细胞死亡,调节多种细胞功能的作用,它能提高鸟氨酸脱氢酶的活力,促进细胞内 DNA、RNA 和蛋白质的生物合成,最终引起细胞的增殖与分化,促进蛋白质的合成和结缔组织及骨髓的产生^[40]。对大西洋鲑、尖吻鲈^[30]、银大马哈鱼^[41]、金头鲷^[31]的研究都表明,IGF-I 水平与其生长率正相关,可反映动物生长发育状况。本研究也证实尼罗罗非鱼血清 IGF-I 的水平与其生长正相关。血清 IGF-I 是表示生长的稳定指标,可作为反映鱼生长速度的重要参数之一。

鱼类内分泌激素对生长的调控往往是各激素作用的综合效应。激素之间存在复杂的相互关系,*Gas* 促进 *Ins* 分泌^[12],*Ins* 抑制 *Glu* 分泌^[26],*Glu* 抑制 *Gas* 分泌^[15], T_4 通过 5'-D 单脱碘酶脱碘可转化为 T_3 ^[13], T_3 和 T_4 促进 IGF-I 基因表达^[39]。这和本研究对所测定的尼罗罗非鱼血清激素的相关分析结果是一致的。

内分泌激素在鱼类的营养素利用和生长调节方面扮演着重要的角色。鱼类的内分泌系统可以捕捉到营养素摄取的细微变化,并及时调整激素的分泌种类和分泌量,最大限度地调控鱼体生长。

4 小结

在尼罗罗非鱼小麦基础饲料中适量添加木聚糖酶,可以消除木聚糖的抗营养作用,改善尼罗罗非鱼的消化吸收条件,提高鱼体营养水平,进而调控鱼体内分泌系统,调节血清激素水平,促进尼罗罗非鱼生长。内分泌激素对鱼体生长的调控是各激素作用的综合效应,激素之间存在复杂的相互关系。综合本实验结果,木聚糖酶在尼罗罗非鱼小麦基础饲料中的最适添加量是 0.10%。

参考文献:

- [1] 钟国防,周洪琪.木聚糖酶和复合酶制剂PS对尼罗罗非鱼生长性能、非特异性免疫能力的影响[J].海洋渔业,2005,27(4):286-291.
- [2] 宁桂玲.纤维素酶和木聚糖酶解饲料及其在罗非鱼上应用效果的研究[D].北京:中国农业大学,2000.
- [3] 林浩然.鱼类生长和生长激素分泌活动的调节[J].动物学报,1996,42(1):69-79.
- [4] Duncan S M, Cinnamon M V, Kevin A L. Nutrient regulation of endocrine function in fish[J]. Aquaculture, 1998, 161:3-25.
- [5] Cameron C, Gurure R R. Correlation between dietary lipid: protein ratios and plasma growth and thyroid hormone levels in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (Linneus) [J]. Aquac Res, 2002, 33(6):383-394.
- [6] James C P, Terry A D. Thyroid of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens* II. deiodination properties, distribution, and effects of diet, growth, and T₃ challenge [J]. Gen Comp Endocrinol, 2002, 125:56-66.
- [7] Perez-Sanchez J. Ration size and protein intake affect circulating growth hormone concentration, hepatic growth hormone binding and plasma insulin like growth factor-I immunoreactivity in a marine teleost, the gilthead sea bream [J]. J Nutr, 1995, 125:546-552.
- [8] 高峰,江芸,周光宏,等.小麦日粮中添加非淀粉多糖酶制剂对雏鸡生长及血液中血糖、尿酸和某些激素水平的影响[J].养殖与饲料,2004,(8):4-7.
- [9] 陈清华,曹满湖,陈西曼,等.木聚糖酶对断奶仔猪生长与代谢及血液中某些生理生化指标的影响[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2005,31(5):535-538.
- [10] 王金全.小麦非淀粉多糖的抗营养原理及木聚糖酶在肉仔鸡小麦日粮中的应用研究[D].中国农业科学院博士学位论文,2004.
- [11] Marti-Palanca H, Martinez-Barbera J P, Pendon C, et al. Growth hormone as a function of age and dietary protein: energy ratio in a marine teleost, the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [J]. Growth Regul, 1996, 6:253-259.
- [12] 张源淑,侯宁玉,尤桂荣.胃泌素的研究进展[J].兽药与饲料添加剂,2003,8(1):39-41.
- [13] 林浩然.鱼类生理学[M].广州:广东高等教育出版社,1999.
- [14] Yamada H, Kimura K, Chen D. Effects of daily fat or ethanol ingestion on the cholecystokinin-pancreas and the gastrin-enterochrom affin-like cell axes in rats [J]. Digestion, 1998, 59(4):331-334.
- [15] 陈少夫,李岩,周卓,等.石斛对胃酸及血清胃泌素、血浆生长抑素浓度的影响[J].中医药研究,1994,5:51-52.
- [16] 迟素敏,裴建明,刘亚莉,等.内分泌生理学[M].西安:第四军医大学出版社,2006.
- [17] 高建松,王星所.日粮钙对山羊胃泌素分泌的影响[J].河南职业技术学院学报,1999,27(3):61-64.
- [18] Eales J G, MacLarty D L, Higgs D A. The influence of dietary protein and caloric content on thyroid function and hepatic thyroxine 5-monodeiodinase activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Can J Zool, 1992, 70:1526-1535.
- [19] Leatherland J F, Farbridge K J. Chronic fasting reduces the response of the thyroid to growth hormone and TSH, and alters the growth hormone related changes in hepatic 5-monodeiodinase activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1992, 87(3):342-352.
- [20] 邓利,张为民.饥饿对黑鲟血清生长激素、甲状腺激素以及白肌和肝脏脂肪、蛋白质含量的影响[J].动物学研究,2003,24(2):94-98.
- [21] Eales J G, MacLarty D L, Sweeting R M. Thyroid hormone deiodinase systems in salmonids, and their involvement in the regulation of thyroidal status [J]. Fish Physiol Biochem, 1993, 11:313-321.
- [22] Ward N E. Intestinal viscosity, broiler performance [J]. Poultry Digest, 1996, 55(4):12-16.
- [23] 本特利 P J 著,方永强等译.脊椎动物比较内分泌学[M].北京:科学出版社,1984:94-98.
- [24] 艾晓杰,韩正康.米糠日粮添加酶制剂对雏鹅代谢激素和生化指标的影响[J].中国兽医学报,2002,22(5):520-522.
- [25] 成令中,种翠平,蔡文琴,等.现代组织学[M].上海:上海科学技术文献出版社,2003.
- [26] 李振甲,王仁芝.激素的放射免疫分析[M].北京:科学技术文献出版社,1985:486.
- [27] Liang Y H, Cheng C H, Chan K M. Insulin-like growth factor lea 2 is the predominantly expressed form of IGF-I in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1996, 5:145-152.
- [28] Duan C, Plisetskaya E M, Dickho W. Expression of insulin like growth factor I in normal and abnormally developing coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. Endocrinology, 1994, 136:446-456.
- [29] Moriyama S. Increased plasma insulin-like growth factor-I (IGF-I) following oral and intraperitoneal administration of growth hormone to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Growth Regul, 1995, 5:164-167.
- [30] Anthony R D, Christopher G B, Matthew P, et al. Correlation of plasma IGF-I concentrations and growth rate in aquacultured finfish: a tool for assessing the potential of new diets [J]. Aquaculture, 2004, 236:583-592.
- [31] 徐斌,张培军,李德尚.鱼类生长激素的体内代谢、分泌调控和作用机制研究的进展[J].海洋与湖沼,1997,28(3):328-333.
- [32] Thissen J P, Ketelslegers J M, Underwood L E. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors [J]. Endocrine Rev, 1994, 15(1):80-101.
- [33] 华益民,林浩然.营养状况对幼年鲤鱼 IGF-I mRNA 表达的影响[J].动物学报,2001,47(1):94-100.
- [34] Gomez J M, Boujard B G, Solari A, et al. Individual nycthemeral plasma profiles of thyroid hormones in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Gen Comp Endocrinol, 1992, 87(3):342-352.

- hynchus mykiss*) in relation with cortisol, growth hormone and growth rate[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1997, 107: 74–83.
- [35] Boeuf G, Gaignon J J. Effects of rearing conditions on growth and thyroid hormones during smolting of Atlantic salmon *Salmo salar* [J]. *Aquaculture*, 1989, 82: 29–38.
- [36] 王渊源. 鱼虾营养概论 [M]. 科学出版社, 1993: 153–156.
- [37] Jepson M M, Bates P C, Millward D J. The role of insulin and thyroid hormones in the regulation of muscle growth and protein turnover in response to dietary protein [J]. *Br J Nutr*, 1988, 59: 397–415.
- [38] Brown J G, Bates P C, Holliday M A, et al. Thyroid hormones and muscle protein turnover: the effect of thyroid hormone deficiency and replacement in thyroidectomised and hypophysectomised rats [J]. *Biochem J*, 1981, 194: 771–782.
- [39] Annette C, Schmid I L, Werner K, et al. Thyroid hormone stimulates hepatic IGF-ImRNA expression in a bony fish, the tilapia *Oreochromis mossambicus*, in vitro and in vivo [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2003, 130: 129–134.
- [40] Tsai O, Madsen S S, McCormick S D, et al. Endocrine control of cartilage in coho salmon: GH influence in vivo on the response to IGF-I in vitro [J]. *Zool Sci*, 1995, 11: 299–303.
- [41] McCormick S D, Kelley K M, Young G, et al. Stimulation of coho salmon growth by insulin-like growth factor-I [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1992, 86 (3): 398–406.

Effects of xylanase on growth and levels of serum hormones of *Tilapia nilotica*

NIE Guo-xing^{1,2}, WANG Jun-li¹, ZHOU Hong-qi²

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: *Tilapia nilotica* were used as experiment objects in this study and their initial body weight was (106.16 ± 16.77) g. Wheat basal diet was set as control. Tested diets were wheat basal diet mixed with different levels of xylanase (0.05%, 0.10%, and 0.15%). Each treatment contained five repeats and each repeat contained 40 male *Tilapia nilotica*. All the fish were reared in floating cages and were fed four times a day, each time being fed to satiation. The experiment period was 75 d. At the end of the experiment levels of gastrin (Gas), T_3 , T_4 , insulin (Ins), glucagons (Glu) and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in serum were determined. The results showed that serum Gas level was promoted by xylanase. Compared with control, levels of serum Gas in groups with dietary xylanase levels at 0.05%, 0.10% and 0.15% were increased by 22.55% ($P > 0.05$), 88.46% ($P < 0.01$) and 167.84% respectively ($P < 0.01$). Serum T_3 levels in groups of dietary xylanase levels at 0.10% and 0.15% were higher significantly than that of control ($P < 0.01$). There was no difference in T_3 level between 0.05% group and control. Serum T_4 levels in 0.05%, 0.10% and 0.15% xylanase groups were 42.36%, 65.66% and 68.68% higher than that of control respectively ($P < 0.01$). The xylanase could increase serum Ins levels of the test groups by 54.95%, 73.42%, and 36.04% ($P < 0.01$) compared with control. Furthermore, there were significant differences in serum Ins levels among the three test groups, which followed the order from high to low as 0.10% xylanase group, 0.05% xylanase group and 0.15% xylanase group. On the other hand, xylanase could reduce serum Glu level. Serum Glu levels in 0.05%, 0.10% and 0.15% xylanase groups decreased by 11.59%, 17.15% and 13.31% compared with that of control respectively ($P < 0.01$). Serum Glu level in 0.10% xylanase group was lower than those in 0.05% and 0.15% xylanase groups ($P < 0.01$). Serum IGF-I levels in 0.05%, 0.10% and 0.15% xylanase groups were increased by 75.57%, 102.46% and 39.96% over the control respectively which showed that xylanase could increase serum IGF-I level. So the conclusion is that adding appropriate amount of xylanase to wheat basal diet can regulate the endocrine system and serum hormone levels, and promote the growth of *Tilapia nilotica*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 249–256]

Key words: xylanase; *Tilapia nilotica*; growth; serum; hormone

Corresponding author: ZHOU Hong-qi. E-mail: hqzhou@shfu.edu.cn