

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2019.18161

三种锰源对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、抗氧化能力和肠道形态的影响

殷彬¹, 迟淑艳^{1,2}, 谭北平^{1,2}, 姚红梅³, 姚亚军³, 董晓慧^{1,2}, 杨奇慧^{1,2},
刘泓宇^{1,2}, 章双^{1,2}

1. 广东海洋大学水产动物营养与饲料实验室, 广东 湛江 524088;
2. 农业农村部华南水产与畜禽饲料重点实验室, 广东 湛江 524088;
3. 长沙兴嘉生物工程股份有限公司, 湖南 长沙 410128

摘要: 为研究硫酸锰($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、甘氨酸锰 $[\text{MnC}_4\text{H}_8\text{O}_4\text{N}_2]$ 和羟基蛋氨酸锰($\text{MnC}_5\text{H}_{11}\text{NO}_6\text{S}_2$)对珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂)生长性能、抗氧化能力、血清生化指标以及肠道形态的影响。实验选取体重为 (11.00 ± 0.12) g 的珍珠龙胆石斑鱼幼鱼 270 尾, 随机分为 3 组(每组 3 个重复, 每个重复 30 尾), 分别添加 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnC}_4\text{H}_8\text{O}_4\text{N}_2$ 和 $\text{MnC}_5\text{H}_{11}\text{NO}_6\text{S}_2$ (分别记作 MnSO_4 、 Mn-Gly 和 Mn-MHA), 使饲料中 Mn 元素水平分别为 37.74 mg/kg、40.66 mg/kg 和 38.15 mg/kg, 投喂等氮等脂的试验饲料, 饲养 8 周。结果表明, Mn-Gly 和 Mn-MHA 组的增重率(WGR)均显著高于 MnSO_4 组($P < 0.05$), Mn-MHA 组饲料系数(FCR)显著低于 MnSO_4 组($P < 0.05$), 存活率(SR)和特定生长率(SGR)方面, 各组之间无显著性差异($P > 0.05$)。肝脏丙二醛(MDA)含量方面, Mn-Gly 和 Mn-MHA 组均显著低于 MnSO_4 组($P < 0.05$), Mn-MHA 组锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)活力显著高于 MnSO_4 和 Mn-Gly 组($P < 0.05$), Mn-Gly 和 Mn-MHA 组铜锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)活力均显著低于 MnSO_4 组($P < 0.05$)。Mn-Gly 和 Mn-MHA 组血清葡萄糖(GLU)含量显著高于 MnSO_4 组($P < 0.05$), 总胆固醇(CHOL)方面, MnSO_4 组和 Mn-Gly 组均显著高于 Mn-MHA 组($P < 0.05$)。与 MnSO_4 组相比, Mn-MHA 组显著提高了前肠和中肠皱襞高度($P < 0.05$), 增大了后肠肌层厚度($P < 0.05$); Mn-Gly 组中肠皱襞宽显著高于 MnSO_4 组($P < 0.05$), 后肠皱襞高度显著高于 MnSO_4 和 Mn-MHA 组($P < 0.05$)。由此可见, 与 MnSO_4 相比, Mn-Gly 和 Mn-MHA 能够显著提高珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的生长性能, 增强肝脏的抗氧化能力, 调节相关代谢反应, 保护肝脏, 促进前、中、后肠的发育。

关键词: 锰源; 珍珠龙胆石斑鱼; 生长性能; 抗氧化能力; 血清生化指标; 肠道

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2019)03-0484-09

锰(Mn)作为水产动物的一种必需微量元素, 在参与体内精氨酸酶(arginase)、丙酮酸脱羧酶(pyruvate decarboxylase)、锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)^[1]等酶的合成, 维持线粒体正常的糖代谢和脂肪代谢^[2], 调节机体抗氧化防御系统等方面发挥着重要作用^[3]。不同鱼类对 Mn 的利用能力和方式差异较大, 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[4]、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)^[5]、草

鱼(*Ctenopharyngodon idella* Val.)^[6]以及军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[7]对饲料硫酸锰(MnSO_4)的需要量分别为 5.50 mg/kg、7.00 mg/kg、20.60 mg/kg 和 22.38 mg/kg。若 Mn 缺乏则会降低机体新陈代谢速率, 从而导致生长缓慢和肠道发育不良^[8]。

对于同一种鱼, 若饲料中 Mn 的添加形式不同, 机体对 Mn 的需要量也存在差异。以甘氨酸锰(Mn-Gly)和羟基蛋氨酸锰(Mn-MHA)为 Mn 源

收稿日期: 2018-05-09; 修订日期: 2018-10-07.

基金项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-47); 广东省科技计划项目公益研究与能力建设专项(2016A020206006).

作者简介: 殷彬(1994–), 男, 硕士研究生, 从事水产动物营养与饲料研究. E-mail: 1209747651@qq.com

通信作者: 迟淑艳, 教授. E-mail: chishuyan77@163.com

时,斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[9]饲料中 Mn 元素的最适需要量分别为 9.04 mg/kg 和 12.87 mg/kg。另外有研究发现,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[10]对 MnSO₄、玻璃包埋形式的 Mn(glass-embedded Mn)和混合氨基酸螯合 Mn 具有不同的生物利用率。与 MnSO₄ 相比, Mn-Gly 和 Mn-MHA 具有稳定性好、吸收快、环境污染小等特点^[11], 具有广阔的市场前景。珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂)作为一种新型的杂交品种,具有肉质鲜美、经济价值高等特点。目前,国内外对其营养需求的研究主要集中在蛋白质和脂肪酸^[12-13],较少涉及矿物元素特别是其添加形式方面。因此,本实验通过在珍珠龙胆石斑鱼幼鱼饲料中分别添加 MnSO₄、Mn-Gly 和 Mn-MHA,比较不同锰源对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、肝脏抗氧化能力、血清生化指标以及肠道发育的影响,旨在为珍珠龙胆石斑鱼幼鱼饲料中 Mn 元素的合理添加提供理论依据和参考,减少环境污染,提高生产效率。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

参照珍珠龙胆石斑鱼^[9]对 Mn 需要量的研究结果,本实验在珍珠龙胆石斑鱼幼鱼基础饲料中分别添加 MnSO₄、Mn-Gly 和 Mn-MHA,制成 3 种等氮等脂的实验饲料(表 1),使其 Mn 元素实际含量分别为 37.74 mg/kg、40.66 mg/kg、38.15 mg/kg。

1.2 养殖管理和实验设计

本实验用鱼购于湛江市东海岛石斑鱼苗厂,暂养于湛江市东海岛广东海洋大学生物研究基地水泥池中,投喂商业饲料驯养 10 d。待其稳定后挑选 270 尾体格健壮、规格一致的实验鱼,随机分配到 9 个玻璃钢桶中,每桶 30 尾鱼,养殖 8 周。实验分 3 个处理组,每个处理 3 个重复,每天 8:00 和 17:00 进行饱食投喂,每天换水 1 次,实验期间水温(30±1.6)℃,盐度 30±2,溶解氧≥7 mg/L, pH7.8~8.1,氨氮≤0.03 mg/L。

1.3 样品采集和测定

实验结束前,禁饲 24 h,分别对每个重复的实验鱼进行计数,称重。每个重复随机抽取 10 尾

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of basal diets (dry-matter basis)

项目 item	含量 content			%
	MnSO ₄	Mn-Gly	Mn-MHA	
原料组分 ingredient				
低温蒸汽红鱼 brown fish meal	42	42	42	
去皮豆粕 dehulled soybean meal	20.13	20.13	20.13	
玉米蛋白粉 corn gluten meal	9	9	9	
小麦谷朊粉 wheat gluten meal	0	0	0	
面粉 wheat flour	18	18	18	
鱼油 fish oil	4.49	4.49	4.49	
大豆卵磷脂 soy lecithin	3	3	3	
磷酸二氢钙 calcium monophosphate	1.5	1.5	1.5	
多维 vitamin premix ¹	0.5	0.5	0.5	
多矿 mineral premix ²	0.5	0.5	0.5	
抗氧化剂 antioxidants	0.05	0.05	0.05	
维生素 C vitamin C	0.03	0.03	0.03	
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.3	0.3	0.3	
合计 total	100	100	100	
营养水平 nutrient level				
水分 moisture ³	10.72	11.39	11.41	
粗蛋白 crude protein ³	50.13	50.63	50.80	
粗脂肪 crude lipid ³	10.97	10.58	11.03	
粗灰分 crude ash ³	10.92	10.79	11.03	
饲料锰水平/(mg/kg DM) dietary manganese level	37.74	40.66	38.15	

注: ¹ 多维为每千克饲料提供硫胺素 25 mg, 核黄素 45 mg, 泛酸 60 mg, 烟酸 200 mg, 吡哆醇 20 mg, 生物素 1.20 mg, 维生素 B₁₂ 0.1 mg, 肌醇 800 mg, 叶酸 20 mg, 维生素 A 32 mg, 维生素 E 120 mg, 维生素 D₃ 5 mg, 维生素 K₃ 10 mg。

² 多矿为每千克饲料提供 CuSO₄·5H₂O 11.91 mg, FeC₆H₅O₇ 496.52 mg, ZnSO₄·7H₂O 145.85 mg, Na₂SeO₃ 0.73 mg, KIO₃ 6.78 mg, CoCl₂·6H₂O 42.00 mg。

³ 水分、粗蛋白质、粗脂肪和灰分均为实测值。

Note: ¹The vitamin premix provided the following per kg of diets: thiamine 25 mg, lactochrome 45 mg, pantothenic 60 mg, nicotinic acid 200 mg, pyridoxol 20 mg, biotin 1.20 mg, vitamin B₁₂ 0.1 mg, inositol 800 mg, folic acid 20 mg, vitamin A 32 mg, vitamin E 120 mg, vitamin D₃ 5 mg, vitamin K₃ 10 mg。

²The mineral premix provided the following per kg of diets: CuSO₄·5H₂O 11.91 mg, FeC₆H₅O₇ 496.52 mg, ZnSO₄·7H₂O 145.85 mg, Na₂SeO₃ 0.73 mg, KIO₃ 6.78 mg, CoCl₂·6H₂O 42.00 mg。

³ Crude protein, crude lipid, moisture and crude ash were measured values.

鱼,其中 3 尾取肝脏称重后立即置于液氮中,后置于-80℃冰箱中保存,用于肝脏酶活分析;取 5 尾鱼,静脉取血后置于-80℃冰箱中保存,12 h 后利用离心机(Sigma 3Y30)离心,取上层清液,置于

-80℃冰箱中保存;另取 2 尾鱼,取其前、中、后肠,保存于 4%甲醛溶液中,备做肠道 HE 切片。

肝脏锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)、铜-锌超氧化物歧化酶(CuZn-SOD)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)的活力以及丙二醛(MDA)含量均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒,利用全波长酶标仪进行测定(Thermo-1510);血清生化指标均采用威特曼生物科技有限公司的试剂盒利用全自动生化分析仪(HITACHI-7020)进行测定;肠道 HE 切片由武汉谷歌生物科技有限公司制作;利用电感耦合等离子体原子发射光谱仪(Thermo ICAP-6300 Duo)测定 MnSO₄ 组和 Mn-Gly 组饲料中 Mn 的含量,利用 EDTA 滴定法^[14]测定 Mn-MHA 组饲料中 Mn 的含量。

1.4 计算公式

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

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

饲料系数(feed coefficient rate, FCR)= $F/(W_t - W_0 + W_1)$;

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

式中, N_t 、 N_0 分别为实验结束和实验开始时实验鱼的数量; W_t 、 W_0 分别为实验结束时和实验开始时实验鱼的质量(g); W_1 为实验过程中死亡鱼的质量(g); t 为实验时间(d); F 为摄食饲料干重量(g)。

1.5 数据处理

利用 SPSS 18.0 对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 氏多重比较,显著性水平设为 0.05,数据均以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)来表示, $P < 0.05$ 认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼生长性能的影响

由表 2 可知, Mn-MHA 组 WGR 显著高于 Mn-Gly 组和 MnSO₄ 组($P < 0.05$),同时 Mn-Gly 组显著高于 MnSO₄ 组($P < 0.05$)。各组之间 SGR 无显著性差异($P > 0.05$),在 Mn-MHA 组达到最大值。Mn-MHA 组 FCR 显著低于 MnSO₄ 组($P < 0.05$),各组之间存活率无显著性差异($P > 0.05$)。

表 2 饲料中 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effect of three forms of manganese in diet on growth performance of *Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂

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

处理 treatment	初重/g initial weight	末重/g final weight	增重率/% WGR	特定生长率/(%/d) SGR	饲料系数 FCR	存活率/% SR
MnSO ₄	10.95±0.10	55.71±3.84 ^a	406.27±13.91 ^a	3.08±0.04	0.96±0.06 ^b	97.78±3.85
Mn-Gly	11.01±0.08	60.34±5.23 ^{ab}	447.92±8.84 ^b	3.19±0.06	0.91±0.07 ^{ab}	92.22±1.92
Mn-MHA	11.00±0.13	64.86±3.64 ^b	489.59±6.31 ^c	3.21±0.08	0.82±0.2 ^a	93.33±0.00

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2.2 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼肝脏抗氧化酶和丙二醛含量的影响

由表 3 可知, Mn-MHA 组 MDA 含量显著低于 MnSO₄ 组和 Mn-Gly 组($P < 0.05$), MnSO₄ 组含量最高($P < 0.05$); Mn-SOD 活性在 Mn-MHA 组达到最大值且显著高于 Mn-Gly 组和 MnSO₄ 组($P < 0.05$); MnSO₄ 组 CuZn-SOD 活力最高且显著高于 Mn-Gly 组和 Mn-MHA 组($P < 0.05$); MnSO₄ 组和 Mn-Gly 组 T-SOD 含量均显著高于 Mn-MHA 组($P < 0.05$)。

2.3 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼血清生化指标的影响

由表 4 可知, 各组之间碱性磷酸酶(ALP)、天

冬氨酸氨基转移酶(AST)和甘油三酯(TG)均无显著性差异($P > 0.05$); Mn-MHA 组血清葡萄糖(GLU)显著高于 Mn-Gly 组和 MnSO₄ 组($P < 0.05$); Mn-MHA 组总胆固醇(CHOL)水平显著低于 MnSO₄ 组和 Mn-Gly 组($P < 0.05$), MnSO₄ 组和 Mn-Gly 组之间无显著性差异($P > 0.05$)。

2.4 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼肠道形态的影响

由表 5 可知, 前肠 Mn-MHA 组皱襞高度显著高于 MnSO₄ 和 Mn-Gly 组($P < 0.05$), 各组之间皱襞高度和肌层厚度均无显著性差异($P > 0.05$); 中肠皱襞高度在 Mn-MHA 组达到最大值且显著高于 MnSO₄ 组($P < 0.05$), Mn-Gly 组和 Mn-MHA 组皱襞

表 3 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼肝脏相关酶活和 MDA 含量的影响

Tab. 3 Effect of three forms of manganese in diet on enzymatic activity and MDA content in the liver of *Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatu*♂

<i>Epinephelus fuscoguttatus</i> ♀ × <i>E. lanceolatu</i> ♂ <i>n</i> =3; $\bar{x}$ ±SD				
处理 treatment	丙二醛 /[nmol/mg(prot)] MDA	锰超氧化物歧化酶 /[U/mg (prot)] Mn-SOD	铜锌超氧化物歧化酶 /[U/mg (prot)] CuZn-SOD	总超氧化物歧化酶 /[U/mg (prot)] T-SOD
MnSO ₄	26.56±1.98 ^c	91.23±16.82 ^a	183.48±11.43 ^b	284.04±13.35 ^b
Mn-Gly	14.96±1.58 ^b	109.89±12.12 ^a	157.33±10.18 ^a	294.42±8.97 ^b
Mn-MHA	11.00±1.21 ^a	142.28±8.85 ^b	150.41±15.59 ^a	245.83±6.76 ^a

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 4 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼血清生化指标的影响

Tab. 4 Effect of three forms of manganese on serum biochemical indices of *Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatu*♂

<i>n</i> =3; $\bar{x}$ ±SD			
指标 index	MnSO ₄	Mn-Gly	Mn-MHA
碱性磷酸酶/(U/mL) ALP	80.49±10.79	77.13±6.71	79.04±12.16
谷草转氨酶/(U/L) AST	55.34±8.36	55.64±11.95	54.83±18.21
葡萄糖/(mmol/L) GLU	1.35±0.17 ^a	2.33±0.18 ^b	3.89±0.70 ^c
胆固醇/(mmol/L) CHOL	2.13±0.24 ^b	1.88±0.11 ^b	1.58±0.06 ^a
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.71±0.11	0.82±0.07	0.75±0.09

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 5 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼肠道发育的影响

Tab.5 Effect of three forms of manganese on intestinal performance of *Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatu*♂

<i>n</i> =30; $\bar{x}$ ±SD; μ m				
部位 segment	指标 index	MnSO ₄	Mn-Gly	Mn-MHA
前肠 proximal intestine	皱襞高 plica height	485.36±23.14 ^a	531.07±17.51 ^a	622.93±55.23 ^b
	皱襞宽 plica width	62.03±4.81	60.88±1.35	60.20±2.62
	肌层厚度 muscle thickness	114.04±6.51	121.82±5.00	124.77±1.19
中肠 mid intestine	皱襞高 plica height	350.83±14.05 ^a	377.38±25.27 ^{ab}	407.69±27.35 ^b
	皱襞宽 plica width	61.86±1.85 ^a	72.36±0.73 ^b	71.10±4.88 ^b
	肌层厚度 muscle thickness	145.85±4.87 ^b	128.39±3.28 ^a	118.36±10.16 ^a
后肠 distal intestine	皱襞高 plica height	334.58±21.38 ^a	414.89±6.60 ^b	352.76±41.67 ^a
	皱襞宽 plica width	64.29±3.81	63.18±3.98	67.36±5.29
	肌层厚度 muscle thickness	169.27±16.99 ^a	193.39±7.48 ^a	243.50±37.66 ^b

注: 同列数据上标不同表示组间差异显著 ($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

宽度无显著性差异($P>0.05$), 但均显著高于 MnSO₄ 组($P<0.05$), MnSO₄ 组肌层厚度显著高于 Mn-Gly 组和 Mn-MHA 组($P<0.05$); 后肠 Mn-Gly 组皱襞高度显著高于其余两组($P<0.05$), 各组之间皱襞宽度无显著性差异($P>0.05$), 肌层厚度在 Mn-MHA 组达到最大值, 且显著高于 MnSO₄ 组和 Mn-Gly 组($P<0.05$).

3 讨论

3.1 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼生长性能的影响

鱼类对于不同形式的 Mn 利用效率不同。与无机 Mn 相比, 具有一定螯合强度的有机 Mn 能够在消化道中保持结构的完整性^[15], 降低 Mn 与饲料中抗营养因子结合的几率, 提高肠道对 Mn 的

吸收效率^[16]。本实验结果表明,与 MnSO_4 相比,饲料中添加 Mn-Gly 或 Mn-MHA 显著提高了珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的 WGR,降低了 FCR,这与在军曹鱼^[17]上所得出的结论一致。而 Mn-Gly 和 Mn-MHA 在促进生长方面仍存在显著性差异,推测可能是由于 Mn-MHA 在肠道内存留的时间长于 Mn-Gly ^[18],提高了肠道对 Mn-MHA 的吸收效率,进而对生长起促进作用。然而, Ma 等^[19]在大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)上的研究表明,饲料中分别添加 MnSO_4 和 Mn-Met ,并未对 SGR 和 FCR 产生显著差异,这种结果的差异可能与鱼的种类不同有关^[20]。

3.2 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼肝脏抗氧化酶和丙二醛含量的影响

鱼类可通过抗氧化系统应对氧化应激^[21],SOD 作为该系统的重要组成部分^[22],能够将机体代谢产生的有害超氧自由基转化为过氧化氢,经过氧化氢酶(CAT)分解为水,在一定程度上反映机体的抗氧化能力^[23]。本实验中, Mn-MHA 组的 CuZn-SOD 和 T-SOD 活力均显著低于 MnSO_4 组, Mn-SOD 活力显著低于其余两组。研究发现, Mn 缺乏会导致 Mn-SOD 活性受到抑制^[24-25],在机体吸收过程中, Mn 和 Zn 、 Cu 之间均存在明显的拮抗作用^[26-27],而 Cu 和 Zn 是 CuZn-SOD 的主要组成成分,进而导致了 CuZn-SOD 活力的降低^[28]。因此,这可能是导致 Mn-Gly 和 Mn-MHA 组 CuZn-SOD 活力显著低于 MnSO_4 组的原因。 Mn-SOD 主要存在于真核细胞线粒体内,线粒体是真核生物进行脂质过氧化代谢的主要部位,而 CuZn-SOD 主要存在于机体细胞浆中^[29]。与 CuZn-SOD 相比, Mn-SOD 对于脂质过氧化的抑制作用明显,在机体抗氧化防御系统中作用更大^[30]。脂质过氧化过程中产生一系列的活性氧簇(ROS)会氧化生物膜,形成脂质过氧化产物,从而使细胞膜流动性和通透性发生改变,最终导致细胞结构和功能的改变^[31],MDA 是最具有代表性的产物之一,本实验中, Mn-Gly 组和 Mn-MHA 组 MDA 含量显著低于 MnSO_4 组。推测在珍珠龙胆石斑鱼肝细胞中, Mn-SOD 在机体抗氧化防御系

统中作用也大于 CuZn-SOD ,从而降低过氧化代谢对细胞膜的损伤。结合上述结果,与 MnSO_4 相比,饲料中添加 Mn-Gly 和 Mn-MHA 能够通过提高 Mn-SOD 活力增强机体对脂质过氧化产物的清除能力。

3.3 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼血清生化指标的影响

血清生化相关指标通常受机体糖、脂和蛋白质代谢的影响^[32]。血糖可以反映机体的抗应激能力^[33-34],应激反应会使鱼类血糖升高,从而为机体提供更多能量。鱼类对饲料中糖类利用效率的提高通常表现为血清 GLU 的升高^[35]。本实验结果表明,饲料中添加 Mn-Gly 或 Mn-MHA 能显著提高血清中 GLU 含量,这与在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[34]和大菱鲆^[20]中的研究结果相似。表明饲料中添加 Mn-Gly 或 Mn-MHA 能够显著提高珍珠龙胆石斑鱼对饲料中糖类物质的利用效率,同时也显著提高了抗应激能力。 CHOL 参与细胞膜的形成, TG 则与机体的能量代谢密切相关,血清中 CHOL 和 TG 统称为血脂,能够反映出鱼类脂质代谢的程度^[36]。机体脂质代谢紊乱会导致血清 CHOL 含量上升^[37]。 Mn-MHA 组血清 CHOL 显著低于其余两组, TG 却未发生显著性变化。在鱼类中, TG 主要以脂肪的形式存在,为机体供能,当机体代谢发生变化时, CHOL 的含量能够更准确地反映出脂质代谢状态^[38]。本实验结果表明饲料中添加 Mn-MHA 能够更好地保护肝脏进行正常的脂质代谢。综合血清其他生化指标来看, Mn-Gly 和 Mn-MHA 均能够很好地调节珍珠龙胆石斑鱼肝脏的相关代谢,保护肝脏,不会产生负面影响。

3.4 3 种锰源对珍珠龙胆石斑鱼肠道形态的影响

肠道作为鱼类消化道中功能最重要的一部分,在消化食物和吸收营养方面起着重要作用。肠道发育与吸收效率密切相关,一般来说,肠皱襞越高,则肠道对营养物质的吸收效率越高;肌层厚度越大,则肠道蠕动能力越强。已有研究表明,传统型无机 Mn 在肠道内易与某些抗营养因子(如植

酸)形成不可被机体吸收的盐,导致生物利用率降低^[39],而有机 Mn 具有稳定的螯合结构,在肠道内通常以分子的形式存在,不会与其他物质形成不溶性复合物,因此具有较高的生物利用度^[40]。

Mn-Gly 组显著提高了中肠皱襞宽和后肠的皱襞高度,Mn-MHA 组显著提高了前肠、中肠的皱襞高度以及后肠的肌层厚度。可能是由于 Mn-Gly 和 Mn-MHA 具有稳定的螯合结构,在肠道内以氨基酸和小肽的吸收模式转运^[41],提高了 Mn-Gly 和 Mn-MHA 的利用率,Mn 能够促进肠道消化酶的合成,如胃蛋白酶和胰蛋白酶^[42],提高蛋白质的分解效率,进而间接地提高了珍珠龙胆石斑鱼所需蛋白质的合成效率。

此外,在仔猪肠道中,Gly 能够通过激活 Akt/mTOR 信号通路来提高 IPEC-1 的细胞活性,从而维持皱襞正常的形态和发育^[43]。病原菌能够通过加强肠道炎症反应,进而破坏肠道形态,羟基蛋氨酸能够有效抑制肠道有害病原菌活性^[44],同时具有较强的抗氧化活性,并维持内环境氧化还原稳态,对保持肠道结构形态完整具有重要作用^[45]。与 Mn-Gly 相比,Mn-MHA 显著提高了前肠的皱襞高度,说明 Mn-MHA 对于珍珠龙胆石斑鱼肠道的保护和形态发育的促进作用较 Mn-Gly 好。健康、完整的肠皱襞能够防止有害菌在肠道定植,降低肠炎发生的几率,增强鱼体的抗病力^[46]。结合本实验结果,饲料中添加 Mn-Gly 能够有效地提高珍珠龙胆石斑鱼中肠和后肠的形态发育,而添加 Mn-MHA 在提高中肠和后肠形态发育的同时,对前肠也起到了一定的保护作用,进而提高了珍珠龙胆石斑鱼的生长性能。

4 结论

饲料中添加 Mn-Gly 和 Mn-MHA 能够显著提高珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的生长性能。三种锰源对于肝脏抗氧化能力均有一定的提高,而 Mn-Gly 和 Mn-MHA 能够很好地调节肝脏相关代谢,并保护肝脏,避免氧化损伤。Mn-Gly 和 Mn-MHA 均能够显著促进珍珠龙胆石斑鱼中、后肠的发育,同时 Mn-MHA 也能够显著促进前肠的发育,MnSO₄ 虽然也有一定的促进作用,但效果不明显。

参考文献:

- [1] Andreini C, Bertini I, Cavallaro G, et al. Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles[J]. Journal of Biological Inorganic Chemistry, 2008, 13(8): 1205-1218.
- [2] Zhang H L, Sun R J, Xu W, et al. Dietary manganese requirement of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* (Richardson, 1846)[J]. Aquaculture, 2016, 450: 74-79.
- [3] Gerber G B, Lonard A, Hantson P. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds[J]. Critical Reviews in Oncology Hematology, 2002, 42(1): 25-34.
- [4] Tan X Y, Xie P, Luo Z, et al. Dietary manganese requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and effects on whole body mineral composition and hepatic intermediary metabolism[J]. Aquaculture, 2012, 326-329: 68-73.
- [5] Lin Y H, Lin S M, Shiau S Y. Dietary manganese requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*[J]. Aquaculture, 2008, 284(1-4): 207-210.
- [6] Liang J J, Wang S, Han B, et al. Dietary manganese requirement of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) based on growth and tissue manganese concentration[J]. Aquaculture Research, 2015, 46(12): 2991-2998.
- [7] Liu K. Studies on nutritional physiology of selenium and manganese for cobia (*Rachycentron canadum*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010. [刘康. 军曹鱼幼鱼 (*Rachycentron canadum*)微量元素硒、锰的营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.]
- [8] Additives E P O. Safety and efficacy of manganese hydroxychloride as feed additive for all animal species[J]. EFSA Journal, 2016, 14(5): e04474.
- [9] Liu Y, Wang J Y, Li B S, et al. Dietary manganese requirement of juvenile hybrid grouper, *Epinephelus lanceolatus* × *E. fuscoguttatus*[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(1): 215-223.
- [10] Satoh S, Apines M J, Tsukioka T, et al. Bioavailability of amino acid-chelated and glass-embedded manganese to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), fingerlings[J]. Aquaculture Research, 2015, 32(s1): 18-25.
- [11] Yang B, Cai H Y, Liu G H, et al. Evaluation of relative bioavailability of amino acid chelate manganese with slope ratio method for broilers[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(8): 2110-2117. [杨斌, 蔡辉益, 刘国华, 等. 斜率比法评定肉仔鸡对氨基酸螯合锰的相对生物学利用率[J]. 动物营养学报, 2014, 26(8): 2110-2117.]
- [12] Jiang S T, Wu X Y, Luo Y, et al. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for hybrid grouper (*Epi-*

- nepheus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) juveniles[J]. Aquaculture, 2016, 465: 28-36.
- [13] Wang M H, Wang J Y, Song Z D, et al. Effects of dietary conjugated linoleic acid on growth, body composition and metabolism-related hepatic enzyme activities in juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(6): 1300-1310. [王明辉, 王际英, 宋志东, 等. 共轭亚油酸对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长、体组成及肝代谢相关酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(6): 1300-1310.]
- [14] Gong Y, Hu X B, Peng L X, et al. Antibacterial activities of four zinc-amino acid chelates[J]. Food Science, 2009, 30(17): 84-87. [龚毅, 胡晓波, 彭丽霞, 等. 锌氨基酸螯合物的抑菌活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(17): 84-87.]
- [15] Li S F, Luo X G, Lu L, et al. Bioavailability of organic manganese sources in broilers fed high dietary calcium[J]. Animal Feed Science and Technology, 2005, 123-124(Pt2): 703-715.
- [16] Liu Y. Studies on the cobalt and manganese requirements in juvenile pearl gentian grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016. [刘云. 珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对钴和锰营养需求的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.]
- [17] Nie J Q, Dong X H, Tan B P, et al. Effects of dietary manganese sources and levels on growth performance, relative manganese bioavailability, antioxidant activities and tissue mineral content of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* L.)(J). Aquaculture Research, 2016, 47(5): 1402-1412.
- [18] Chi S Y, Tan B P, Dong X H, et al. Effects of supplemental coated or crystalline methionine in low-fishmeal diet on the growth performance and body composition of juvenile cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus)[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2014, 32(6): 1297-1306.
- [19] Ma R, Hou H, Mai K, et al. Comparative study on the effects of chelated or inorganic manganese in diets containing tricalcium phosphate and phytate on the growth performance and physiological responses of turbot *Scophthalmus maximus*[J]. Aquaculture Nutrition, 2015, 21(6): 780-787.
- [20] Hou H P. Comparative study on nutritional physiology of dietary methionine sources and manganese sources for turbot (*Scophthalmus maximus* L.)(D). Qingdao: Ocean University of China, 2012. [侯华鹏. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus* L.)对不同形式的蛋氨酸源和锰源的营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.]
- [21] Ahmed M, Abdullah N, Yusof H M, et al. Improvement of growth and antioxidant status in nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets supplemented with mushroom stalk waste hot water extract[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(3): 1146-1157.
- [22] Wang Y H, Wang Y Y, Mai K S, et al. Effects of dietary curcumin on growth performance, body composition and serum antioxidant enzyme activity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(9): 1299-1308. [王雅慧, 王裕玉, 麦康森, 等. 饲料中添加姜黄素对大菱鲆幼鱼生长、体组成及抗氧化酶活力的影响[J]. 水产学报, 2016, 40(9): 1299-1308.]
- [23] Ferreira D, Rocha H C, Kreutz L C, et al. Bee products prevent agrichemical-induced oxidative damage in fish[J]. PLoS ONE, 2013, 8(10): e74499.
- [24] Liu K, Ai Q H, Mai K S, et al. Dietary manganese requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L.[J]. Aquaculture Nutrition, 2013, 19(4): 461-467.
- [25] Tan X Y, Xie P, Luo Z, et al. Dietary manganese requirement of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, and effects on whole body mineral composition and hepatic intermediary metabolism[J]. Aquaculture, 2012, 326-329: 68-73.
- [26] Ye C X, Liu Y J, Tian L X, et al. Effect of dietary zinc on growth, feed efficiency, mineral content and body composition of juvenile grouper *Epinephelus coioides*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(1): 83-89. [叶超霞, 刘永坚, 田丽霞, 等. 饲料中锌含量对斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 生长、饲料效率、矿物质含量和体组成的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(1): 83-89.]
- [27] Bai L R, Zhao Z Y. Effects of copper and manganese on hemocyte apoptosis and antagonism of iron and zinc in *Oreochromis niloticus*[J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(3): 684-689.
- [28] Xu M Z, Zhang Q, Tong T, et al. Effects of dietary manganese content on growth performance, body composition, coelomic fluid manganese-superoxide dismutase activity and tissue manganese content of juvenile peanut worm, *Sipunculus nudus* Linnaeus[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(10): 3077-3083. [许明珠, 张琴, 童潼, 等. 饲料中锰含量对方格星虫稚虫生长性能、体成分、体腔液中锰超氧化物歧化酶活性及组织锰含量的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(10): 3077-3083.]
- [29] Araújo T G, Oliveira A G, Vecina J F, et al. Treatment with Parkinsonia aculeata combats insulin resistance-induced oxidative stress through the increase in PPARγ/CuZn-SOD axis expression in diet-induced obesity mice[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2016, 419(1-2): 93-101.
- [30] Perera N C, Godahewa G I, Lee J. Copper-zinc-superoxide dismutase (CuZnSOD), an antioxidant gene from seahorse

- (*Hippocampus abdominalis*); molecular cloning, sequence characterization, antioxidant activity and potential peroxidation function of its recombinant protein[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 57: 386-399.
- [31] Ghosh K, De S, Das S, et al. Withaferin A induces ROS-mediated paraptosis in human breast cancer cell-lines MCF-7 and MDA-MB-231[J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(12): e0168488.
- [32] Andersen D E, Reid S D, Moon T W, et al. Metabolic Effects associated with chronically elevated cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1991, 48(9): 1811-1817.
- [33] Millán-Cubillo A F, Martos-Sitcha J A, Ruiz-Jarabo I, et al. Low stocking density negatively affects growth, metabolism and stress pathways in juvenile specimens of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801)[J]. *Aquaculture*, 2016, 451: 87-92.
- [34] Pan X Y, Zhang Q, Li J, et al. Dietary glycine improved the capacity of anti-oxidation and anti-stress of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(2): 91-98. [潘孝毅, 张琴, 李俊, 等. 饲料中添加甘氨酸可提高大黄鱼(*Larimichthys crocea*)的抗氧化和抗应激能力[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(2): 91-98.]
- [35] Deng D F, Refstie S and Sso H. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates[J]. *Aquaculture*, 2001, 199(1-2): 107-117.
- [36] Xiang X, Zhou X H, Chen J, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, body composition and serum biochemical indices of juvenile *Onychostoma sima*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(8): 1805-1816. [向泉, 周兴华, 陈建, 等. 饲料脂肪水平对白甲鱼幼鱼生长性能、体组成和血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(8): 1805-1816.]
- [37] Zhu T T, Li Q, Zhu H Y, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, blood biochemical index and antioxidant status of juvenile *Acipenser gueldenstaedtii*[J]. *Marine Fisheries*, 2017, 39(1): 58-67. [朱婷婷, 李琦, 朱浩拥, 等. 饲料脂肪水平对俄罗斯鲟幼鱼生长、血液生化指标及抗氧化性能的影响[J]. *海洋渔业*, 2017, 39(1): 58-67.]
- [38] Song J, Jiang H B, Jiang Z Q, et al. Effects of dietary carbohydrate sources on growth, feed utilization and haematological parameters of juvenile hybrid sturgeon *Acipenser baeri* ♀ × *A. schrenckii* ♂[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2016, 31(1): 58-64. [宋娇, 姜海波, 姜志强, 等. 饲料中不同糖源对杂交鲟幼鱼生长性能、血清生化指标和肌肉营养成分的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2016, 31(1): 58-64.]
- [39] El Ashry G M, Hassan A A M, Soliman S M. Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper methionine chelates of early lactation high producing dairy cow[J]. *Food and Nutrition Sciences*, 2012, 3(8): 1084-1091.
- [40] Liu Y, Wang J Y, Li B S, et al. Dietary manganese requirement of juvenile hybrid grouper, *Epinephelus lanceolatus* × *E. fuscoguttatus*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(1): 215-223.
- [41] Zhao J. The application study on complex amino acid chelated iron, copper, manganese, zinc in broiler production[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2003. [赵军. 复合氨基酸螯合铁、铜、锰、锌在肉鸡生产中的应用研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2003.]
- [42] Wang F. Effects of phytase on apparent digestibility of nutrient and digestive enzyme activities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2008. [王枫. 植酸酶对金鲢营养物质表观消化率与消化酶活性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008.]
- [43] Wang W W. Important roles for glycine in piglet growth and intestinal function[D]. Beijing: China Agricultural University, 2014. [王薇薇. 甘氨酸对仔猪生长及肠道功能影响的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2014.]
- [44] Ma X, Ma Q G, Ji C, et al. Inhibition efficacy of HMTBA against major enteric pathogens compared with other organic acids *in vitro*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2008, 20(2): 238-241. [马鑫, 马秋刚, 计成, 等. 蛋氨酸羟基类似物和有机酸化剂对主要肠道病原菌体外抑菌效果的比较[J]. *动物营养学报*, 2008, 20(2): 238-241.]
- [45] Zhao Y. Effects of methionine hydroxy analogue on intestinal redox status and bone development of broilers[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013. [赵琰. 蛋氨酸羟基类似物对肉鸡肠道氧化还原状态和骨骼发育的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2013.]
- [46] Huang Y Z, Lin X, Wang Q X, et al. Effects of astragalus polysaccharide on structure of intestinal villus and intestinal immunocyte of tilapia[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, 22(1): 108-116. [黄玉章, 林旋, 王全溪, 等. 黄芪多糖对罗非鱼肠绒毛形态结构及肠道免疫细胞的影响[J]. *动物营养学报*, 2010, 22(1): 108-116.]

Effect of three forms of manganese on growth performance, antioxidant capacity, and intestinal morphology of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂)

YIN Bin¹, CHI Shuyan^{1,2}, TAN Beiping^{1,2}, YAO Hongmei³, YAO Yajun³, DONG Xiaohui^{1,2}, YANG Qihui^{1,2}, LIU Hongyu^{1,2}, ZHANG Shuang^{1,2}

1. Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;
2. Key Laboratory of Aquatic, Livestock and Poultry Feed Science and Technology in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhanjiang 524088, China;
3. Changsha Xingjia Biotechnology Engineering Co, Ltd., Changsha 410128, China

Abstract: This study was conducted to determine the effects of three forms of manganese on growth performance, antioxidant capacity, serum biochemical indexes, and intestinal morphology of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂). The experimental diets were isonitrogenous and isolipidic diets with the addition of manganese sulfate (MnSO₄), manganese glycine (Mn-Gly), and manganese hydroxymethionine (Mn-MHA), respectively. The three groups containing manganese had 37.74 mg/kg, 40.66 mg/kg, and 38.15 mg/kg, respectively. Two hundred and seventy groupers [initial average weight (11.00 ± 0.12) g] were randomly divided into three groups with three replicates at a stock density of 30, and fed with test diets for 8 weeks. The results showed that the weight gain rate in Mn-Gly and Mn-MHA groups were significantly higher than that of the MnSO₄ group. The feed coefficient rate of fish fed Mn-MHA were significantly lower than those fed MnSO₄. The specific growth rate and survival rate were not significantly different among the three groups ($P>0.05$). Liver malonaldehyde contents in the Mn-Gly and Mn-MHA groups were significantly lower than those in the MnSO₄ group. In the Mn-MHA group, the activity of manganese superoxide dismutase in the liver was significantly higher than that in the MnSO₄ and Mn-Gly groups. The activity of copper-zinc superoxide dismutase in the Mn-Gly and Mn-MHA groups were significantly lower than those fed in the MnSO₄ group ($P<0.05$). In serum, the contents of glucose in the Mn-Gly and Mn-MHA groups were significantly higher than that of the MnSO₄ group, the contents of cholesterol in the MnSO₄ and Mn-Gly groups were significantly higher than that of the Mn-MHA group ($P<0.05$). Compared to the MnSO₄ group, the plica height of proximal and mid intestine, and the muscle thickness of distal intestine were significantly increased in the Mn-MHA group ($P<0.05$). In the Mn-Gly group, the plica width of mid intestine was significantly increased comparing to that of MnSO₄ group, the plica height of distal intestine was significantly higher than that of the MnSO₄ and Mn-MHA groups ($P<0.05$). In conclusion, compared with MnSO₄, Mn-Gly and Mn-MHA could significantly improve the growth performance, enhance the antioxidant capacity of liver, regulate the related metabolic response, protect the liver, and promote the development of the proximal, mid, and distal intestines of juvenile hybrid grouper.

Key words: manganese sources; *Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂; growth performance; antioxidant capacity; serum biochemical indexes; intestine

Corresponding author: CHI Shuyan. E-mail: chishuyan77@163.com