

文章编号: 1674 - 5566(2016)01 - 0061 - 10

饲料中不同淀粉源及水平对大口黑鲈肝脏组织学的影响

徐祥泰, 陈乃松, 刘子科, 苟仕潘, 尹 佳

(上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘 要: 为了评估饲料中不同淀粉源及水平对大口黑鲈肝脏组织学的影响, 采用 4 种淀粉(蜡质玉米淀粉、高直链玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉)各按两水平(5% 和 10%)配制成 8 种等氮和等能的饲料, 投喂初始体质量为(23.45 ± 0.08)g 的大口黑鲈, 经 45 d 的饲养后, 采集肝脏样本进行肝脏组织的生化测定和切片观察。结果显示, 摄食全部 5% 淀粉饲料和 10% 高直链玉米淀粉饲料的实验鱼的肝脏颜色呈正常的鲜红色; 而摄食其他 10% 淀粉饲料的实验鱼肝脏均显现出发白现象, 同时, 肝细胞体积、肝体指数和肝糖原含量均显著高于 5% 淀粉饲料组和 10% 高直链玉米淀粉饲料组, 肝细胞的细胞核移至细胞边位, 出现空泡化现象。在 5% 和 10% 的淀粉水平上, 高直链玉米淀粉饲料组的肝体指数、肝糖原含量和肝细胞体积均显著小于其他淀粉源的饲料组, 肝细胞也没有出现细胞肿胀现象。本研究得出, 饲料的碳水化合物来源与水平均对大口黑鲈肝脏组织的肝糖原含量和组织结构产生显著的影响; 高直链玉米淀粉优于小麦淀粉、蜡质玉米淀粉和木薯淀粉, 5% 的饲料淀粉水平优于 10% 的水平。

关键词: 大口黑鲈; 饲料; 淀粉源与水平; 肝糖原; 肝脏组织学

中图分类号: S 963.72

文献标志码: A

鱼类, 尤其是肉食性鱼类, 不能有效地利用饲料中的碳水化合物, 但碳水化合物如淀粉作为一种廉价的能量物质, 在水产饲料中可以起到节约蛋白质的作用, 不仅能够降低饲料成本, 还能减少氮的排放^[1]。另外, 饲料中一定水平的淀粉有助于饲料加工过程中的颗粒成形。然而, 鱼类对淀粉的利用能力受多种因素的影响, 如鱼的种类、饲料中淀粉水平和淀粉的复杂性等^[1-3]。已有研究表明, 淀粉中直链淀粉和支链淀粉的比例会显著影响鱼类的消化吸收^[3-5]。虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)对支链淀粉的利用能力高于直链淀粉^[6]。然而舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)对直链淀粉和支链淀粉的利用没有差异^[7]。对杂交条纹鲈(*Morone chrysops female* × *M. saxatilis male*)研究发现, 其对直链淀粉的利用能力高于支链淀粉^[4]。另外, 饲料中过量的碳水化合物会引起一些鱼类的代谢紊乱、持续高血

糖^[3, 8]、肝脏组织糖原累积和肝脏组织损伤等不良后果^[9-11]。条纹狼鲈(*M. saxatilis*)和硬头鲈(*Salmo gairdneri*)在摄食含过量碳水化合物的饲料后呈现出肝体指数上升或肝糖原累积的现象^[9, 12]。由此可见, 研究鱼类对饲料中淀粉种类和水平的適切性在营养与饲料学上均有重要意义。

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)又名加州鲈, 属于典型的肉食性鱼类, 在我国已形成了较大的养殖规模。已有研究表明, 大口黑鲈摄食超过 19% 无氮浸出物的饲料后, 其肝细胞出现肿胀和空泡化现象^[13]。关于大口黑鲈饲料中碳水化合物的研究只见于水平方面的探究, 对不同种类淀粉的利用能力的研究尚未见报道。肝脏是鱼类糖代谢的主要器官, 饲料中碳水化合物经鱼类的消化吸收与代谢后势必对其肝脏组织的生化组成与组织学产生影响。因此, 本研究设计了

收稿日期: 2015-04-15 修回日期: 2015-06-04

基金项目: 上海市科学技术委员会项目(10320503100); 上海高校知识服务平台上海海洋大学水产动物遗传育种中心项目(ZF1206)

作者简介: 徐祥泰(1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养学。E-mail: xuxiangtaifendou@163.com

通信作者: 陈乃松, E-mail: nschen@shou.edu.cn

4种淀粉源及2水平的8种实验饲料,对大口黑鲈摄食这些饲料后的肝糖原含量进行了测定,并对其肝脏组织作切片观察,以评定饲料中适宜的淀粉种类与水平,为研制大口黑鲈专用配合饲料提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 实验饲料

实验饲料以红鱼粉、白鱼粉和去皮豆粕为主要蛋白源,采用4种淀粉(蜡质玉米淀粉、高直链玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉)各按两水平

(5%和10%)配制成8种等氮和等能的饲料。4种淀粉源中,蜡质玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉中支链淀粉的含量占70%~80%,而高直链玉米淀粉中直链淀粉的含量占70%~80%。实验饲料制作方法如下:将固态饲料原料经粉碎,80目过筛,将各组分充分混合均匀,再加入磷脂油和大豆油并充分混匀,另加入30%的水混合均匀以便制粒成形。用膨化机制成直径2mm,长5~10mm的颗粒,置于110℃烘箱中熟化15min,60℃烘干,烘干后的饲料密封保存于-20℃冰箱中待用。实验饲料的配方及概略组分分析如表1。

表1 实验饲料的配方及概略组分分析(%干饲料)
Tab. 1 Formulation and proximate analysis of trial diets (% dry diet)

饲料 diets	5%蜡质 玉米淀粉 5% waxy corn starch	5%蜡质 玉米淀粉 5% waxy corn starch	5%高直链 玉米淀粉 5% high-amylose corn starch	10%高直链 玉米淀粉 10% high-amylose corn starch	5% 小麦淀粉 5% wheat starch	10% 小麦淀粉 10% wheat starch	5% 木薯淀粉 5% cassava starch	10% 木薯淀粉 10% cassava starch
固定成分 basal ingredient	78.50	78.50	78.50	78.50	78.50	78.50	78.50	78.50
大豆油 soybean oil	7.50	5.32	7.50	5.32	7.50	5.32	7.50	5.32
淀粉 raw starch	5.72	11.44	5.62	11.25	5.73	11.47	5.70	11.40
沸石粉 zeolite powder	8.28	4.74	8.38	4.93	8.27	4.71	8.3	4.78
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
组分分析(%干饲料) proximate analysis (% dry diet)								
粗蛋白质/% crude protein	47.65	48.32	48.23	47.91	48.24	48.65	48.48	48.83
粗脂肪/% crude lipid	12.98	10.19	12.82	9.78	12.87	10.06	12.33	9.81
粗纤维/% crude fiber	0.70	0.71	0.56	0.69	0.79	0.83	1.13	1.18
可消化淀粉% digestible starch	5.40	9.84	4.77	7.83	5.22	9.43	5.31	10.28
总能/(MJ/kg) gross energy	18.48	18.41	18.50	18.27	18.51	18.41	18.38	18.34

注:固定成分为鱼粉(%干重),48.00;谷朊粉,4.00;去皮豆粕,10.00;玉米蛋白粉,5.00;喷干血球粉,4.00;鱿鱼内脏粉,2.00;大豆磷脂油,2.50;酵母提取物,0.50;磷酸二氢钙,0.80;多维,1.00;多矿,0.70。

Note: constant ingredient(% dry diet). Fish meal, 48.00; Wheat gluten meal, 4.00; Soybean meal, 10.00; Corn gluten meal, 5.00; Spray-dried blood meal, 4.00; Phospholipid oil, 2.50; Squid viscera meal, 2.00; Brewer's yeast extract, 0.50; Calcium dihydrogen phosphate, 0.80; Vitamin premix 1.00; Mineral premix, 0.70.

1.1.2 实验试剂

蒽酮、苏木精、伊红、高碘酸和品红购自上海高信化玻仪器有限公司。

1.1.3 实验仪器

实验所用仪器主要有:紫外分光光度计(T6,北京普析通用仪器有限公司)、石蜡切片机(RM2255, Leica, 德国)、生物显微镜(E200-F, NIKON, 日本)、照相机(D5100, NIKON, 日本)、凯氏定氮仪(Kjeltec 2200, FOSS, 丹麦)、索氏脂肪测定仪(SOX416, Gerhardt, 德国)、纤维测定仪(FT12, Gerhardt, 德国)和氧弹仪(6200, Parr, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 养殖实验设计与饲养管理

实验所用大口黑鲈幼鱼(购自上海市青浦区某养殖户)在实验室循环水养殖系统中进行2周室内实验条件下的驯化,期间投喂上海农好饲料有限公司生产的鲈鱼饲料。经24h饥饿处理,挑选体质量相近、体格健壮的实验用鱼进行分组与称重。实验鱼按8种饲料处理,每处理3个重复,随机分配到24个800L的玻璃钢水槽中,每水槽放养初始体质量为(23.45 ± 0.08)g的实验鱼30尾。养殖实验采取表观饱食投喂,每天投喂两次(8:00和16:00)。养殖系统的循环水经海绵

和珊瑚砂过滤并进行紫外线灭菌处理。实验期间采取自然光照,水温控制于 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$,氨氮为 $(0.25 \pm 0.05)\text{mg/L}$,pH 为 7.2 ± 0.2 ,溶氧量大于 6mg/L 。养殖实验共持续 45 d。

1.2.2 样品采集

养殖实验结束后,实验鱼经过 24 h 的饥饿,从每个水槽中取出 5 尾鱼用于解剖与肝脏取样。取出肝脏,编号、称重并进行拍照记录;取一部肝脏组织置于 Bouin's 固定液中固定 24 h,作为组织切片用;另一部分迅速置于 -80°C 中保存,用于肝糖原的测定。

1.2.3 饲料成分和样品的测定

饲料中的粗蛋白质采用凯氏定氮仪测定;饲料粗脂肪测定采用索氏脂肪测定仪测定;饲料粗纤维采用纤维测定仪测定;饲料总能采用氧弹仪测定;饲料中可消化淀粉的测定方法参照 AOAC 法^[14]。肝糖原测定参照 CARROLL^[15]的方法。

1.2.4 染液的配制

苏木精原液:将 2 g 苏木精溶于 95% 乙醇中,并加入冰醋酸加速溶解,再加入 100 mL 的甘油和 95 mL 的 95% 乙醇后混合均匀;将 5 g 明矾研碎后,溶于 100 mL 水中并加热;把加热后的明矾溶液逐滴地加入到染色剂中,不断搅动使其混合均匀,配置好的苏木精染液置于广口瓶中,用双层纱布扎口,直到染液颜色变为紫红时方可使用。

伊红染液:称取 1 g 伊红彻底溶于 100 mL 75% 的乙醇中,加入几滴冰醋酸使染液呈鲜红色时即可使用。

0.5% 高碘酸溶液:取 0.5 g 高碘酸溶于 100 mL 70% 乙醇溶液中溶解混匀备用。

希夫试剂:在烧瓶中加入 100 mL 蒸馏水煮沸,微沸的情况下加入碱性品红 0.5 g,搅拌溶解,冷却至 50°C 加入 1 mol/L 盐酸 50 mL 并搅拌均匀,冷却至 25°C 时加入偏重亚硫酸钠 0.5 g,塞住瓶口摇动容器以充分混匀。避光放置 24 h,溶液为淡黄色或淡红色,再加入活性炭 1 g 震荡数分钟,静置 1 h 后用双层滤纸过滤,此时溶液为无色品红溶液,封口后贮存于 4°C 备用。

1.2.5 石蜡切片与染色

石蜡切片的 H&E 染色:组织块经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋后做连续切片(厚度为 $5\ \mu\text{m}$),参照 ROBERTS^[16]方法进行 H&E 染

色,封片,最后显微镜下观察并拍摄照片。

石蜡切片的 PAS 染色(显示肝糖原):石蜡切片脱蜡至水,然后将切片放入 0.5% 的高碘酸溶液中 5 min,将肝糖原的羟基氧化为醛基;入双蒸水洗 1 min \times 3 次,以洗掉多余的高碘酸溶液;将切片置于希夫反应试剂中 10 min,使醛基与希夫试剂结合产生红紫色;然后将切片放入亚硫酸水中洗 2 min \times 3 次;流水冲洗 5~10 min;脱水并透明封片,最后显微镜下观察并拍摄照片。

1.3 数据处理与图像分析

H&E 染色后的切片各取 5 张,每张随机取 5 个视野通过图像统计软件 Image-pro plus 6.0 进行细胞密度和细胞面积的统计;肝体指数(Hepatosomatic index, HSI)采用下列公式计算:

$$I = W_c/W \times 100\% \quad (1)$$

式中: I 为肝体指数; W_c 为肝脏重; W 为鱼体重。数据导入 Excel 2007 并处理。有关数据以平均值 \pm 标准误表示。采用 SPSS 17.0 对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),用 Duncan's 法进行多重差异显著性比较,显著水平 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 淀粉源及水平对大口黑鲈肝脏组织表现和肝体指数的影响

图版 I 所示,大口黑鲈摄食含不同淀粉源及水平的饲料后,5% 淀粉饲料组和 10% 高直链玉米淀粉饲料组的实验鱼肝脏颜色呈鲜红色,其他 10% 淀粉饲料组实验鱼肝脏颜色均显现发白现象。表 2 所示,除了 10% 高直链玉米淀粉组的 HSI 与 5% 蜡质玉米淀粉组无显著差异外($P > 0.05$),其他 10% 淀粉组实验鱼的 HSI 均显著高于 5% 淀粉源组($P < 0.05$),5% 高直链玉米淀粉组的 HSI 除与 5% 木薯淀粉组差异不显著外($P > 0.05$),均显著低于其他各组($P < 0.05$),10% 高直链玉米淀粉组实验鱼的 HSI 显著低于其他 10% 淀粉饲料组($P < 0.05$)。

2.2 淀粉源及水平对大口黑鲈肝脏组织学参数的影响

表 2 所示,摄食不同淀粉源及水平的饲料后,不同实验组的实验鱼肝细胞面积呈现出与 HSI 相似的变化规律,而肝细胞密度(单位面积内的细胞数)则相反。摄食 5% 蜡质玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉饲料组实验鱼的肝细胞密度无

显著性差异 ($P > 0.05$), 但均显著高于各自的 10% 淀粉饲料组 ($P < 0.05$)。而摄食 5% 和 10% 高直链玉米淀粉饲料组的实验鱼肝细胞密度均显著高于其他各组 ($P < 0.05$), 且 5% 高直链玉米淀粉组也显著高于其 10% 组。肝脏组织切片 H&E 染色结果显示, 摄食含 10% 蜡质玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉饲料组的肝细胞出现肝细胞肿胀 (图版 II “→”), 部分肝细胞空泡化 (图版 II, “▲”) 或肝细胞核偏移至细胞边缘 (图版 II, “➔”) 的现象, 显示出病理学的变化。而 5% 淀粉组和 10% 高直链玉米淀粉饲料组的实验鱼肝细胞均未出现上述现象。

2.3 淀粉源及水平对大口黑鲈肝糖原含量的影响

表 2 显示, 在不同淀粉水平的饲料组之间, 除摄食 5% 和 10% 蜡质玉米淀粉饲料组的实验鱼

肝糖原含量没有显著差异外, 其他 5% 淀粉饲料组的肝糖原含量均显著低于 10% 组 ($P < 0.05$)。在同一淀粉水平下, 5% 的高直链玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉饲料组的肝糖原含量之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 但均显著低于 5% 蜡质玉米淀粉饲料组 ($P < 0.05$); 10% 高直链玉米淀粉饲料组的肝糖原含量显著低于 10% 蜡质玉米淀粉、10% 小麦淀粉饲料组和 10% 木薯淀粉饲料组 ($P < 0.05$)。饲料的淀粉源及水平对大口黑鲈肝细胞内的糖原沉积的影响如图版 III 所示, 由图版中紫红色 (肝糖原着色) 面积的分布可见 (图版 III “⇒”), 4 种淀粉中, 10% 淀粉饲料组大口黑鲈肝糖原的沉积量明显高于 5% 淀粉组; 在同一淀粉水平下, 高直链玉米淀粉饲料组的肝糖原分布少于其他淀粉组, 这与肝糖原含量的测定结果相吻合 (表 2)。

表 2 饲料中不同的淀粉源及其水平对大口黑鲈肝糖原、肝体指数、肝细胞密度和肝细胞面积的影响

Tab. 2 Effects of dietary different starch sources and levels on glycogen, hepatosomatic index, hepatocyte density and hepatocyte area in largemouth bass

饲料 diets	肝脏组织学参数 liver histology parameters			
	肝糖原含量/% glycogen content	肝体指数/% hepatosomatic index	肝细胞密度/ (个 $\times 10^3$ / mm^2) hepatocyte density	肝细胞面积 (μm^2 / 个) hepatocyte area
5% 蜡质玉米淀粉 5% waxy corn starch	7.91 \pm 0.27 ^{ab}	2.42 \pm 0.07 ^c	7.99 \pm 0.15 ^c	125.95 \pm 2.35 ^b
10% 蜡质玉米淀粉 10% waxy corn starch	8.45 \pm 0.12 ^a	4.78 \pm 0.21 ^a	4.79 \pm 0.09 ^d	209.81 \pm 3.83 ^a
5% 高直链玉米淀粉 5% high-amylose corn starch	6.63 \pm 0.23 ^d	1.84 \pm 0.04 ^e	10.56 \pm 0.14 ^a	95.09 \pm 1.31 ^c
10% 高直链玉米淀粉 10% high-amylose corn starch	7.07 \pm 0.16 ^c	2.48 \pm 0.07 ^c	9.43 \pm 0.09 ^b	106.19 \pm 1.00 ^c
5% 小麦淀粉 5% wheat starch	6.42 \pm 0.16 ^d	2.35 \pm 0.06 ^{cd}	8.12 \pm 0.11 ^c	123.73 \pm 1.72 ^b
10% 小麦淀粉 10% wheat starch	7.53 \pm 0.15 ^b	4.68 \pm 0.21 ^a	4.77 \pm 0.19 ^d	214.96 \pm 8.76 ^a
5% 木薯淀粉 5% cassava starch	6.12 \pm 0.32 ^d	2.04 \pm 0.04 ^{de}	8.05 \pm 0.13 ^c	124.76 \pm 2.13 ^b
10% 木薯淀粉 10% cassava starch	8.37 \pm 0.19 ^a	3.85 \pm 0.13 ^b	5.05 \pm 0.22 ^d	207.63 \pm 10.56 ^a

注: 同列数值带有不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Means with the different superscripts within the same column are significantly different at $P < 0.05$.

3 讨论

总的来说, 肉食性鱼类对饲料中碳水化合物的有效利用率和耐受能力低于杂食性和草食性鱼类。这体现于肉食性鱼类将饲料中碳水化合物 (如淀粉) 作为能量用于生长的能力有限, 同时

还因摄食过量的碳水化合物而引起生理性或病理性的变化, 如持续的高血糖^[17], 肝体指数增大^[18-19], 肝细胞空泡化^[11, 13], 抗应激能力降低^[20]。与此同时, 饲料中碳水化合物的种类 (或来源) 以及水平也会影响肉食性鱼对碳水化合物的有效利用和耐受能力。本研究所采用的 4 种

天然淀粉(蜡质玉米淀粉、高直链玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉)中,除高直链玉米淀粉因价格高不常被用于饲料中,其它3种淀粉均为在水产饲料中常用的淀粉原料。蜡质玉米淀粉、小麦淀粉和木薯淀粉中支链淀粉的含量占70%~80%,而高直链玉米淀粉中直链淀粉的含量占70%~80%,通过饲料的分析可以看出高直链淀粉由于其含有大量的直链淀粉,所以其可消化淀粉的水平较其他淀粉源低(表1)。多角度的研究表明,大口黑鲈对上述4种淀粉的有效利用和耐受能力在它们的种类和水平上均呈现出不尽相同的差异。本文着重4因素2水平下的8种饲料对于实验鱼肝脏的糖原含量和组织学的影响进行探讨,而对于生长、体组成、饲料效率、营养物质的消化吸收力和免疫力的影响将另外发表。

肝脏是鱼类进行糖代谢的重要器官,履行糖原的合成与分解功能,从而维持血糖的稳定。本研究得出,饲料的淀粉源和水平对大口黑鲈肝脏的外观色泽和肝体指数产生了不同程度的影响。其中在5%的饲料淀粉水平时,实验鱼肝脏的外观色泽均呈现正常状态下应有的鲜红色,同时肝体指数以高直链玉米淀粉饲料组最低,其他组之间无显著的差异。但淀粉水平在10%时,唯高直链玉米淀粉饲料组的肝脏外观色泽和肝体指数类同于5%淀粉的饲料组,这可能是由于高直链淀粉的可消化淀粉水平低造成的,其他各组肝脏变白,肝体指数显著增大,表明这些实验鱼可能因糖代谢的负担过重而已处于应激或胁迫状态。但AMOAH等^[13]的研究则未发现3种无氮浸出物水平(13%,19%和25%)的饲料对大口黑鲈的肝体指数产生显著的影响。产生这一差别的原因可能是实验饲料的糖源与本研究所使用的糖源不同所致,也可能与实验饲料的其他营养物质水平和投喂量有关。另外,其他学者对杂交太阳鲈^[4,21]、金头鲷(*Sparus aurata*)^[22]、虹鳟^[23]和军曹鱼(*Rachycentron canadus*)^[24]的研究显示,肝体指数与饲料中的可利用碳水化合物的水平密切相关。

尽管因饲料中淀粉源和水平的不同引起了肝脏外观色泽的改变及肝体指数的升高,但尚难以据此对实验鱼肝脏的损伤程度进行明确断定。通过测定实验鱼肝糖原含量和观察肝脏的组织切片发现,造成肝脏外观色泽泛白和肝体指数上

升的原因为:肝糖原含量的增高,肝细胞的肿胀,部分细胞出现空泡化和细胞核被糖原的占位而迁移至细胞的边缘(图版Ⅲ)。这说明,大口黑鲈因摄食了过量的可消化淀粉而造成了肝脏病理性的糖原堆积。从这样的肝脏组织受损情况可以做出推断,肝脏正常的物质代谢功能已受到了严重的干扰,从而鱼体的生长和健康也将受到进一步的严重影响。但值得注意的是,除了糖源的种类和定量方法不同外,由于实验饲料其他营养素的水平、加工方式、饲养方式、实验鱼的大小和取样及测定方法的不同,即使对同一种鱼类的研究结论也会有较大的差异。AMOAH等^[13]对初始体质量为128.5g的大口黑鲈的研究发现,3种无氮浸出物水平(13%,19%和25%)的饲料对大口黑鲈的肝体指数和肝糖原的水平均未产生显著影响,但对实验鱼肝脏细胞形态产生了显著影响,他认为肝糖原的积累并不是产生肝细胞损害的直接原因。然而,GOODWIN等^[25]的研究表明,大口黑鲈饲料中的无氮浸出物水平与肝脏外观形态和肝体指数密切相关,肝糖原的积累是产生肝细胞损害的直接原因。该结论与本研究是一致的,但该研究在特定研究条件下得出的大口黑鲈饲料合适的无氮浸出物水平为小于20.5%的结论与本研究的结论不一致。有关其他鱼类因摄取过量的可利用碳水化合物而引起肝糖原的过量积累而损害其正常肝脏功能、生长和健康的研究报道并不少见。虹鳟对碳水化合物的利用与耐受能力也有限。当饲料中的可利用碳水化合物水平超过14%时,肝糖原水平显著上升,生长下降^[9]。同时,肝糖原的升高导致虹鳟的肝功能受损^[26],对水中铜离子的耐受性降低^[27]。在对其他鱼类的研究中也发现类似的情况^[11,28-32]。对杂交条纹鲈的研究得出,饲料中高直链玉米淀粉的使用能较其他糖源减少肝糖原的沉积,从而提高杂交条纹鲈对碳水化合物的有效利用率和耐受性^[4],该结论与本研究相似。这也可能与高直链玉米淀粉中含有较高的直链淀粉,而杂交条纹鲈对其消化利用能力有限有关。

综上所述,本研究采用肝脏外表的色泽观察、肝体指数及肝糖原测定和组织切片观察的方法,评估了大口黑鲈饲料中淀粉源及水平的利用能力和耐受性。综合分析可以得出,饲料的碳水

化合物来源与水平均对大口黑鲈肝脏的外观色泽和肝体指数产生显著的影响;此外,肝糖原的堆积是产生肝细胞形态异常的直接原因。大口黑鲈可能因高直链淀粉含有较高的抗性淀粉而对其消化利用能力有限。本研究结论为:在大口黑鲈饲料中使用高直链玉米淀粉优于小麦淀粉、蜡质玉米淀粉和木薯淀粉,5%的饲料淀粉水平优于10%水平。本研究可为评定鱼类对饲料中淀粉的利用能力和耐受性提供方法学的参考。

参考文献:

- [1] STONE D A J. Dietary carbohydrate utilization by fish[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2003, 11(4): 337-369.
- [2] WILSON R P. Utilization of dietary carbohydrate by fish[J]. *Aquaculture*, 1994, 124(1/4): 67-80.
- [3] HEMRE G I, MOMMSEN T P, KROGDAHL Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(3): 175-194.
- [4] RAWLES S, LOCHMANN R. Effects of amylopectin/amylose starch ratio on growth, body composition and glycemic response of sunshine bass *Morone chrysops* × *M. saxatilis*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2003, 34(3): 278-288.
- [5] SVIHUS B, UHLEN A K, HARSTAD O M. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2005, 122(3/4): 303-320.
- [6] PFEFFER E, BECKMANN-TOUSSAINT J, HENRICHFREISE B, et al. Effect of extrusion on efficiency of utilization of maize starch by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1991, 96(3/4): 293-303.
- [7] ENES P, PANSERAT S, KAUSHIK S, et al. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 143(1): 89-96.
- [8] BERGOT F. Effects of dietary carbohydrates and of their mode of distribution on glycaemia in rainbow trout (*Salmo gairdneri richardsoni*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1979, 64(4): 543-547.
- [9] HILTON J W, ATKINSON J L. Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets[J]. *British Journal of Nutrition*, 1982, 47(3): 597-607.
- [10] 王道尊, 宋天复, 杜汉斌, 等. 饲料中蛋白质和糖的含量对青鱼鱼种生长的影响[J]. *水产学报*, 1984, 8(1): 9-17.
- [11] WANG D Z, SONG T F, DU H B, et al. The effects of protein and carbohydrate contents in feeds on the growth of black carp fingerlings [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1984, 8(1): 9-17.
- [12] KUMAR S, SAHU N P, PAL A K, et al. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2005, 19(4): 331-344.
- [13] BERGER A, HALVER J E. Effect of dietary protein, lipid and carbohydrate content on the growth, feed efficiency and carcass composition of striped bass, *Morone saxatilis* (Walbaum), fingerlings [J]. *Aquaculture Research*, 1987, 18(4): 345-356.
- [14] AMOAH A, COYLE S D, WEBSTER C D, et al. Effects of graded levels of carbohydrate on growth and survival of largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2008, 39(3): 397-405.
- [15] MCCLEARY B V, MCNALLY M, ROSSITER P. Measurement of resistant starch by enzymatic digestion in starch and selected plant materials: Collaborative study [J]. *Journal of AOAC International*, 2002, 85(5): 1103-1111.
- [16] CARROLL N V, LONGLEY R W, ROE J H. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1956, 220(2): 583-593.
- [17] ROBERTS R J, HARDY R W. The nutritional pathology of teleosts [M]// ROBERTS R J. *Fish Pathology*. 3rd ed. London: WB Saunders, 2001: 347-366.
- [18] MOON T W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 129(2/3): 243-249.
- [19] RAWLES S D, GATLIN D M. Carbohydrate utilization in striped bass (*Morone saxatilis*) and sunshine bass (*M. chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂) [J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1): 201-212.
- [20] DANIELS W H, ROBINSON E H. Protein and energy requirements of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) [J]. *Aquaculture*, 1986, 53(3/4): 243-252.
- [21] HEMRE G I, LAMBERTSEN G, LIE Ø. The effect of dietary carbohydrate on the stress response in cod (*Gadus morhua*) [J]. *Aquaculture*, 1991, 95(3/4): 319-328.
- [22] HUTCHINS C G, RAWLES S D, GATLIN III D M. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂) [J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1/4): 187-199.
- [23] VENOU B, ALEXIS M, FOUNTOULAKI E, et al. Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzyme activities [J]. *Aquaculture*, 2003, 225(1/4): 207-223.
- [24] BRAUGE C F, MEDALE F, CORRAZE G. Effect of dietary

- carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in seawater[J]. *Aquaculture*, 1994, 123(1/2): 109 – 120.
- [24] 任鸣春. 军曹鱼和虹鳟糖类营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012: 31 – 37.
- REN M C. Studies on nutritional physiology of carbohydrate for cobia and rainbow trout[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012: 31 – 37.
- [25] GOODWIN A E, LOCHMANN R T, TIEMAN D M, et al. Massive hepatic necrosis and nodular regeneration in largemouth bass fed diets high in available carbohydrate[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2002, 33(4): 466 – 477.
- [26] HILTON J W, DIXON D G. Effect of increased liver glycogen and liver weight on liver function in rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson*: recovery from anaesthesia and plasma 35S-sulphobromophthalein clearance [J]. *Journal of Fish Diseases*, 1982, 5(3): 185 – 195.
- [27] DIXON D G, HILTON J W. Effects of available dietary carbohydrate and water temperature on the chronic toxicity of waterborne copper to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1985, 42(5): 1007 – 1013.
- [28] VIELMA J, KOSKELA J, RUOHONEN K, et al. Optimal diet composition for European whitefish (*Coregonus lavaretus*): Carbohydrate stress and immune parameter responses [J]. *Aquaculture*, 2003, 225(1/4): 3 – 16.
- [29] BOOTH M A, MOSES M D, ALLAN G L. Utilisation of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi* [J]. *Aquaculture*, 2013, 376 – 379: 151 – 161.
- [30] SHIMENO S. Effects of carbohydrate in feed on carbohydrate metabolism in yellowtail [J]. *Studies on Carbohydrate Metabolism in Fish*, 1982, 91 – 108.
- [31] HILLESTAD M, JOHNSEN F, ÅSGÅRD T. Protein to carbohydrate ratio in high-energy diets for Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) [J]. *Aquaculture Research*, 2001, 32(7): 517 – 529.
- [32] SA R, POUSSAO-FERREIRA P, OLIVA-TELES A. Effect of dietary starch source (normal versus waxy) and protein levels on the performance of white sea bream *Diplodus sargus* (Linnaeus) juveniles [J]. *Aquaculture Research*, 2008, 39(10): 1069 – 1076.

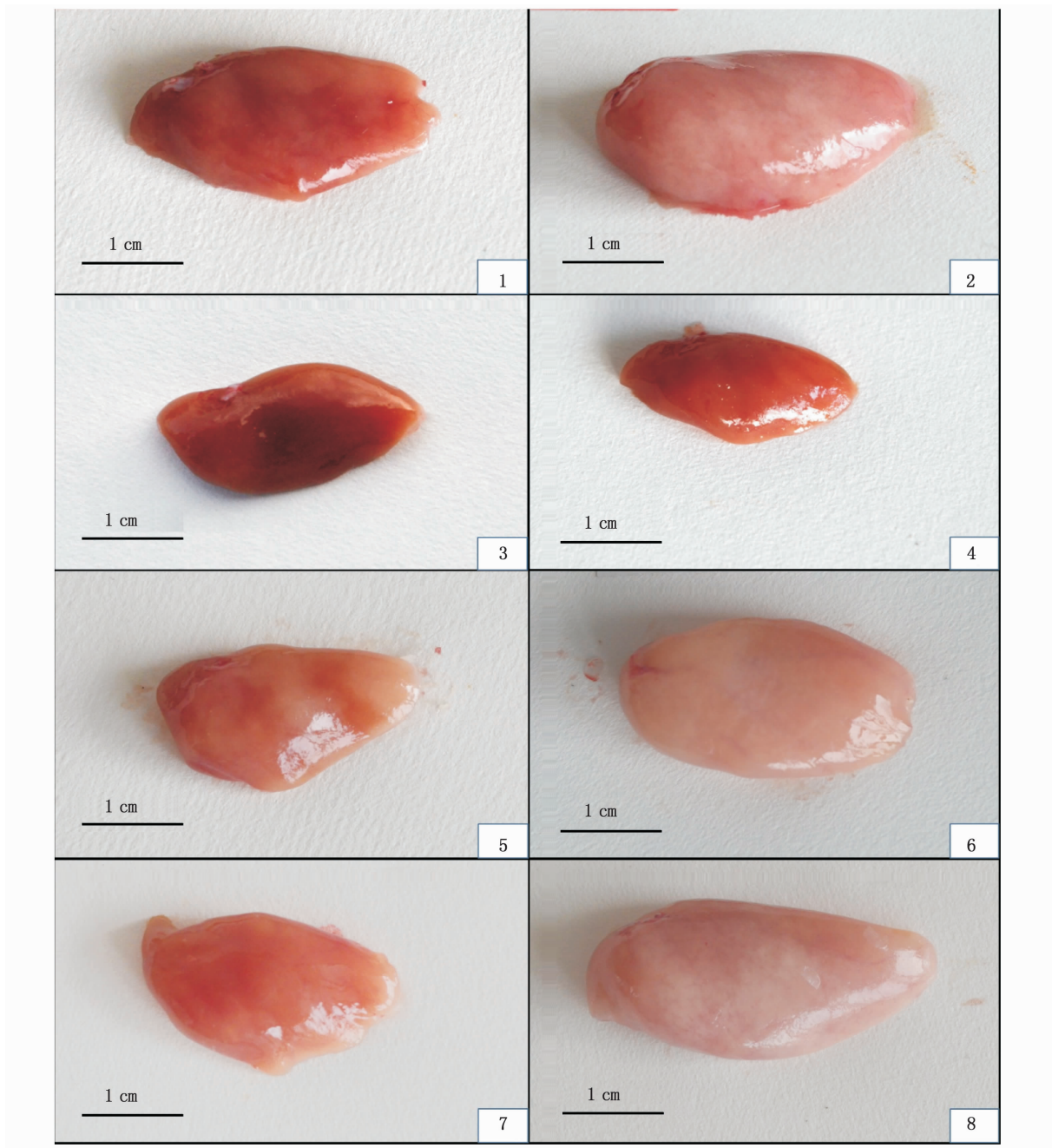
Effects of dietary starch sources and levels on liver histology in largemouth bass, *Micropterus salmoides*

XU Xiangtai, CHEN Naisong, LIU Zike, GOU Shipan, YIN Jia

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: A 45-day feeding test was conducted to investigate the effects of different kinds and levels of dietary starch on liver histology of largemouth bass (LMB) with an initial body weight (23.45 ± 0.08) g. Eight iso-nitrogenous and iso-energetic diets were formulated with four kinds of starch (wheat starch, waxy corn starch, high-amylose corn starch, and cassava starch) at 5% and 10% levels, respectively. At the end of the feeding test, liver samples of test fish were collected. Biochemical analysis and histological observation of the liver tissues were performed. The results showed that the liver of fish, fed with all diets containing 5% starch and diet containing 10% high-amylose corn starch, was found bright red as usual, while the liver of fish, fed with the other diets with 10% starch, turned pale. Meanwhile, compared to fish with diets including 5% starch and 10% high-amylose corn starch, the hepatocyte size, hepatosomatic index, hepatic glycogen content and occurrence rates of the hepatocyte vacuolization and nuclei shifting to the cellular periphery were much higher in fish fed other 10% starch diets. It would be concluded that both dietary starch kind and its level can have a significant effect on glycogen content and tissue structure of the liver in LMB, high-amylose corn starch is more suitable than wheat starch, waxy corn starch and cassava starch, and that an inclusion level of 5% dietary starch is more suitable than of 10%.

Key words: largemouth bass; feed; starch source and level; glycogen; liver histology

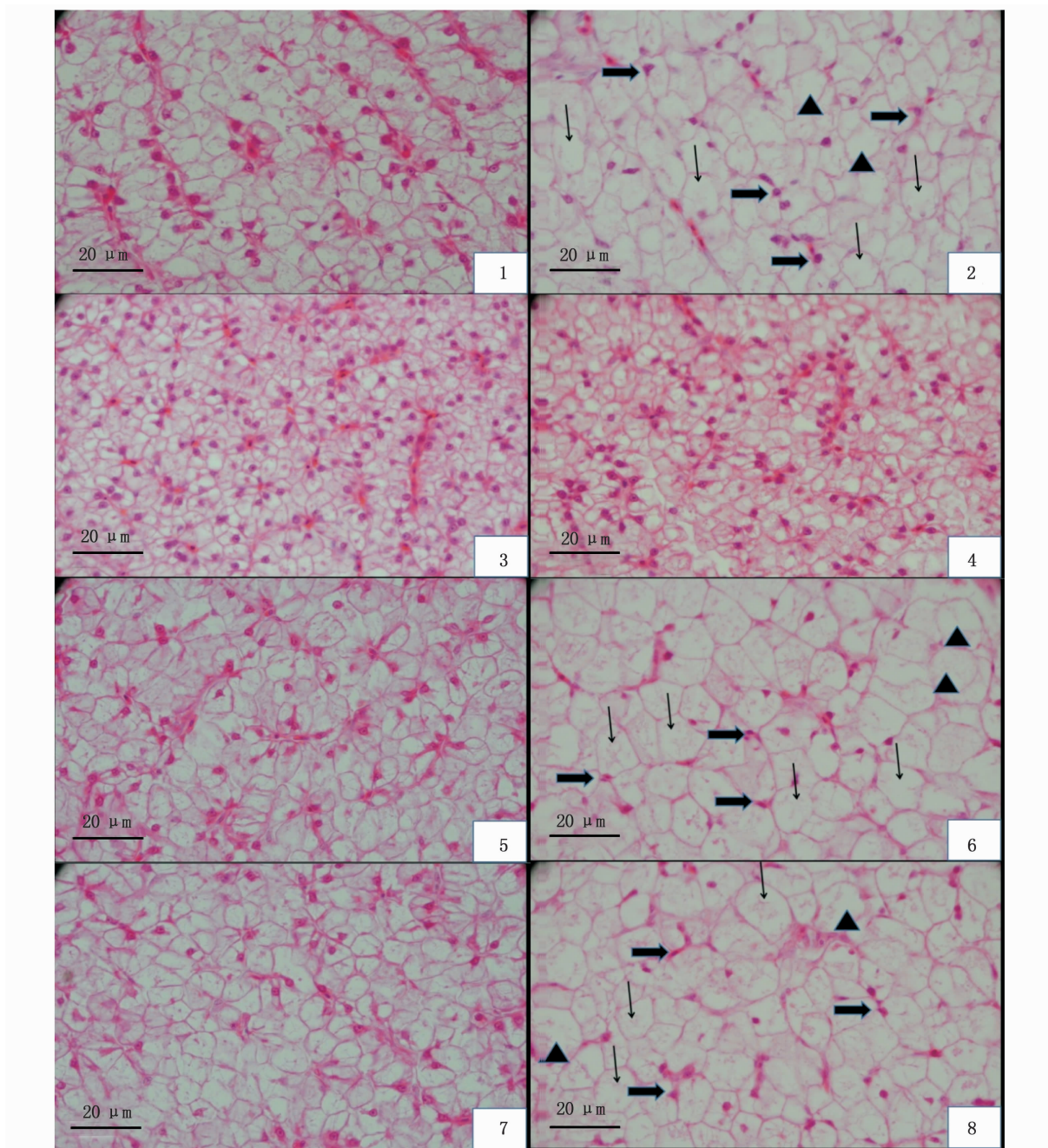


图版 I 摄食不同淀粉源与水平饲料的实验鱼的肝脏外观(示色泽)

Plate I The liver appearance of test fish fed diets with different starch sources and levels (showing colour)

1. 5% 蜡质玉米淀粉组; 2. 10% 蜡质玉米淀粉组; 3. 5% 高直链玉米淀粉组; 4. 10% 高直链玉米淀粉组; 5. 5% 小麦淀粉组;
6. 10% 小麦淀粉组; 7. 5% 木薯淀粉组; 8. 10% 木薯淀粉组。

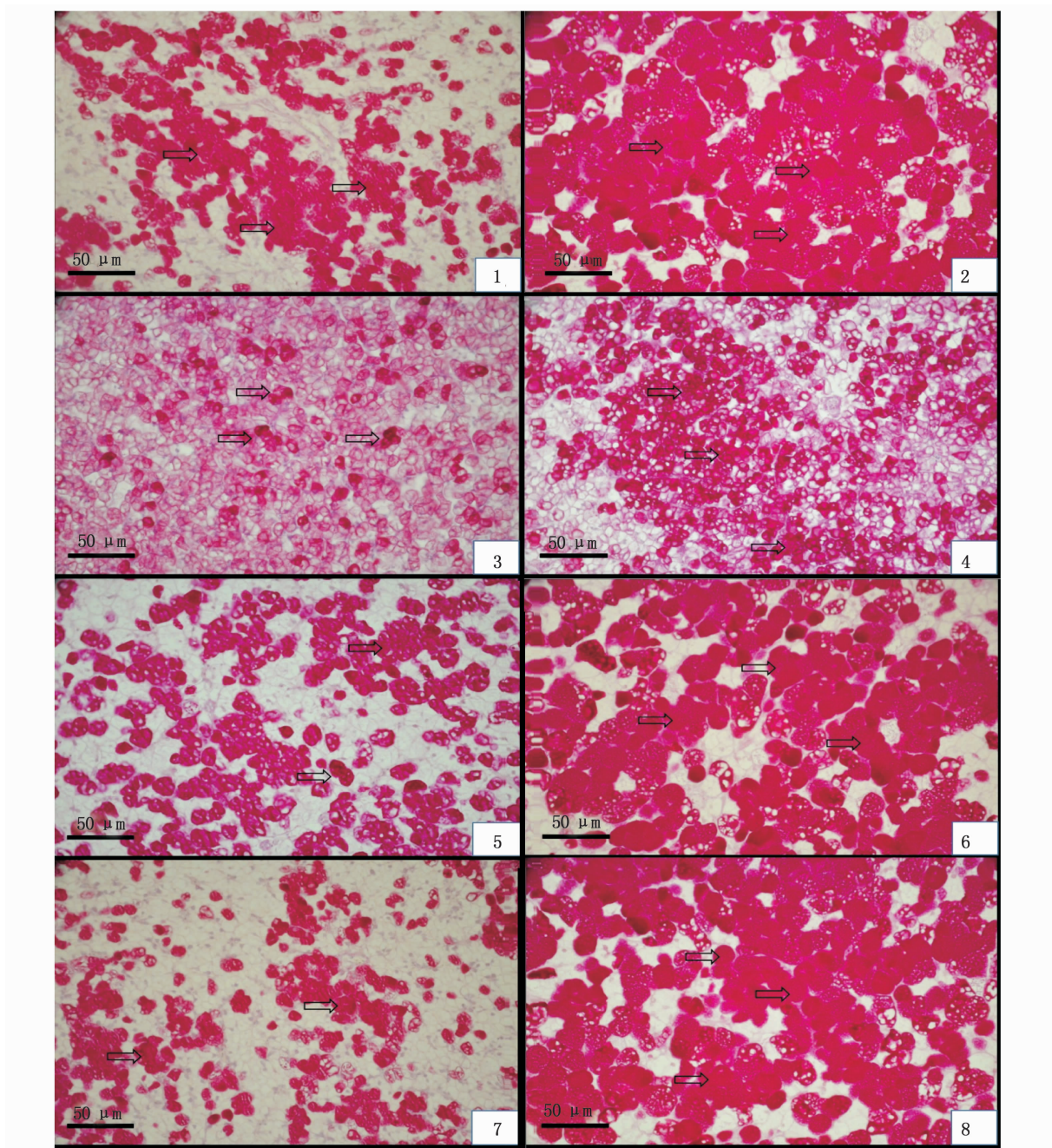
1. 5% waxy corn starch; 2. 10% waxy corn starch; 3. 5% high-amylose corn starch; 4. 10% high-amylose corn starch; 5. 5% wheat starch; 6. 10% wheat starch; 7. 5% cassava starch; 8. 10% cassava starch.



图版 II 摄食不同淀粉源与水平饲料的实验鱼的肝脏组织切片图 (H&E 染色)

Plate II Liver sections of test fish fed diets with different starch sources and levels (H&E staining)

1. 5% 蜡质玉米淀粉组; 2. 10% 蜡质玉米淀粉组; 3. 5% 高直链玉米淀粉组; 4. 10% 高直链玉米淀粉组; 5. 5% 小麦淀粉组;
6. 10% 小麦淀粉组; 7. 5% 木薯淀粉组; 8. 10% 木薯淀粉组。 “→” 示细胞核偏移, “→” 示细胞肿胀, “▲” 示空泡。
1. 5% waxy corn starch; 2. 10% waxy corn starch; 3. 5% high-amylose corn starch; 4. 10% high-amylose corn starch; 5. 5% wheat starch;
6. 10% wheat starch; 7. 5% cassava starch; 8. 10% cassava starch. “→” nuclei shifted to the periphery of the hepatocytes; “→” swelling cells; “▲” vacuolation.



图版 III 摄食不同淀粉源与水平饲料的实验鱼的肝脏组织切片图 (PAS 染色)

Plate III Liver sections of test fish fed diets with different starch sources and levels (PAS staining)

1. 5% 蜡质玉米淀粉组; 2. 10% 蜡质玉米淀粉组; 3. 5% 高直链玉米淀粉组; 4. 10% 高直链玉米淀粉组; 5. 5% 小麦淀粉组; 6. 10% 小麦淀粉组; 7. 5% 木薯淀粉组; 8. 10% 木薯淀粉组。“⇨”示肝糖原。

1. 5% waxy corn starch; 2. 10% waxy corn starch; 3. 5% high-amylose corn starch; 4. 10% high-amylose corn starch; 5. 5% wheat starch; 6. 10% wheat starch; 7. 5% cassava starch; 8. 10% cassava starch. “⇨” glycogen.