

文章编号: 1000-0615(2018)07-1111-13

DOI: 10.11964/jfc.20170610855

## 四种锌源对珍珠龙胆幼鱼生长性能、抗氧化能力以及 矿物元素沉积的影响

殷彬<sup>1</sup>, 林仪彤<sup>1</sup>, 迟淑艳<sup>1\*</sup>, 谭北平<sup>1,2</sup>, 姚红梅<sup>3</sup>, 姚亚军<sup>3</sup>,  
董晓慧<sup>1,2</sup>, 杨奇慧<sup>1</sup>, 刘泓宇<sup>1</sup>, 章双<sup>1</sup>

(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. 南海生物资源开发与利用协同创新中心, 广东 广州 510006;

3. 长沙兴嘉生物工程股份有限公司, 湖南 长沙 410128)

**摘要:** 为研究硫酸锌( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ )、碱式硫酸锌 $[ZnSO_4 \cdot 3Zn(OH)_2 \cdot 5H_2O]$ 、甘氨酸锌( $C_4H_8N_2O_4Zn$ )和羟基蛋氨酸锌( $C_5H_{11}NO_6S_2Zn$ )对珍珠龙胆生长性能、肝脏抗氧化能力、肠道发育以及脊椎骨矿物元素沉积的影响, 实验选取体质量为 $(11.00 \pm 0.12)$  g珍珠龙胆360尾, 随机分为4组(每组3个重复, 每个重复30尾), 分别添加 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 $ZnSO_4 \cdot 3Zn(OH)_2 \cdot 5H_2O$ 、 $C_4H_8N_2O_4Zn$ 和 $C_5H_{11}NO_6S_2Zn$ , 记作 $ZnSO_4$ 、 $Zn_4(OH)_6SO_4$ 、 $Zn-Gly$ 和 $Zn-MHA$ , 使饲料锌水平分别为118.85、116.92、120.66、119.23 mg/kg, 制成等氮等脂的实验饲料, 饲养8周。结果显示,  $Zn_4(OH)_6SO_4$ 、 $Zn-Gly$ 和 $Zn-MHA$ 组增重率和特定生长率均显著高于 $ZnSO_4$ 组。 $Zn_4(OH)_6SO_4$ 、 $Zn-Gly$ 、 $Zn-MHA$ 组饲料系数均显著低于 $ZnSO_4$ 组。 $Zn-Gly$ 、 $Zn-MHA$ 组肝脏丙二醛含量显著低于 $ZnSO_4$ 和 $Zn_4(OH)_6SO_4$ 组,  $Zn-MHA$ 组CuZn-SOD和T-SOD活性均显著高于其余各组。与 $ZnSO_4$ 相比,  $Zn_4(OH)_6SO_4$ 、 $Zn-Gly$ 和 $Zn-MHA$ 均显著提高了前肠和中肠的皱襞厚度;  $Zn-Gly$ 和 $Zn-MHA$ 组后肠肌层显著厚于 $ZnSO_4$ 和 $Zn_4(OH)_6SO_4$ 组。 $Zn-Gly$ 组珍珠龙胆脊椎骨Fe和Mn含量显著高于 $ZnSO_4$ 组。相对于 $ZnSO_4$ , 以增重率和肝脏CuZn-SOD含量为评价指标时,  $Zn_4(OH)_6SO_4$ 、 $Zn-Gly$ 和 $Zn-MHA$ 的相对生物学效价(RBV)分别为119.15%、110.90%、118.43%、113.58%和122.45%、130.84%。研究表明, 与 $ZnSO_4$ 相比,  $Zn_4(OH)_6SO_4$ 能够显著提高珍珠龙胆幼鱼的生长性能, 提高肝脏SOD活性, 增强脊椎骨中Fe的沉积;  $Zn-Gly$ 和 $Zn-MHA$ 能够显著提高珍珠龙胆幼鱼的生长性能, 促进肠道发育, 调节脊椎骨矿物元素沉积。

**关键词:** 珍珠龙胆; 锌源; 生长性能; 抗氧化能力; 肠道; 矿物元素沉积; 相对生物学效价

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

珍珠龙胆(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)属于近海暖水性底层广盐性鱼类, 是以父本鞍带石斑鱼和母本棕点石斑鱼进行杂交而产生的子一代, 具有肉质细嫩、生长速率快、抗病力强及经济效益高等特点, 是中国南方广泛养殖的一种海水鱼类。

锌是鱼类营养中的一种重要微量元素, 参

与多种代谢<sup>[1]</sup>, 如影响相关酶的形成<sup>[2]</sup>、调节机体免疫力<sup>[3]</sup>和保持细胞膜的完整性<sup>[4]</sup>等。氨基酸螯合锌作为锌源的一种添加形式, 具有稳定的螯合结构, 能够降低锌在鱼类肠道内与饲料中抗营养因子(如植酸)形成不溶性复合物的概率, 促进锌的吸收<sup>[5-6]</sup>。甘氨酸在免疫调节和抗炎机制上起着重要作用<sup>[7-8]</sup>, 而蛋氨酸则是鱼类限制

收稿日期: 2017-06-01 修回日期: 2017-09-18

资助项目: 农业部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)

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

性氨基酸<sup>[9]</sup>,两种氨基酸分别与锌结合而形成的甘氨酸锌(Zn-Gly)和羟基蛋氨酸锌(Zn-MHA)具有无毒害、刺激作用小、吸收效率高等特点<sup>[10-11]</sup>。碱式硫酸锌[Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>]作为一种新型锌源,具有难溶于水、易溶于稀酸等特点,仅在断奶仔猪的生长和免疫上有相关研究<sup>[12]</sup>。目前,有关珍珠龙胆对锌的利用效果的研究还不完善<sup>[13]</sup>,因此,本实验选取ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、ZnSO<sub>4</sub>·3Zn(OH)<sub>2</sub>·5H<sub>2</sub>O、C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Zn与C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>Zn,分别记作ZnSO<sub>4</sub>、Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA,比较不同锌源对珍珠龙胆生长性能、肝脏抗氧化能力、肠道组织形态以及矿物元素沉积的影响,旨在为珍珠龙胆幼鱼饲料中锌元素的合理添加提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验方法

参照斜带石斑鱼(*E. coioides*)<sup>[14]</sup>对锌需要量的研究结果以及生产中的需求,分别添加ZnSO<sub>4</sub>、Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA,配制4种等氮等脂的实验饲料(表1)。实验饲料中锌实际含量分别为118.85、116.92、120.66和119.23 mg/kg。

### 1.2 养殖管理与实验设计

本实验用鱼购于湛江东海岛石斑鱼苗厂,暂养于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。待其稳定后选取体质量为(11.00±0.12)g珍珠龙胆幼鱼360尾,随机分为4组,每组3个重复,每个重复30尾。养殖实验在12个0.5 m<sup>3</sup>的玻璃钢桶中进行,持续8周。每天8:00和17:00进行表观饱食投喂,并根据摄食情况进行调整。实验期间水温(30.00±1.60)℃,盐度30.00±2.00,溶解氧≥7.00 mg/L, pH 7.80~8.10,氨氮≤0.03 mg/L。

### 1.3 样品采集与测定

实验结束前,禁饲24 h,分别对每个重复的实验鱼计数和称重。每个重复随机抽取3尾鱼,分离肝脏并称重后立即置于液氮中,然后置于-80℃冰箱中保存,用于肝脏酶活性分析;另取2尾鱼,取其前、中、后肠,保存于4%甲醛溶液中,备做肠道H.E切片;另取3尾鱼,经微波炉煮熟后取脊椎骨,用蒸馏水反复冲洗,小型粉碎机粉碎后用于脊椎骨矿物元素测定。

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)的活性以及丙二醛(MDA)含量均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定(全波长酶标仪-1510);肠道H.E切片由武汉谷歌生物科技有限公司制作,利用Leica DM 6000光学显微镜进行观察,分别利用cellSens Standard 1.8和LAS 3.8软件进行测量和拍照,每张切片随机选取10处皱襞、肌层进行测量;利用电感耦合等离子体原子发射光谱仪(Thermo ICAP-6000 series)测定脊椎骨和饲料中Fe、Cu、Mn和Zn的含量,利用EDTA滴定法<sup>[15]</sup>测定Zn-MHA组饲料中Zn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, %)= $(W_t - W_0 + W_1)/W_0 \times 100$ ;

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)= $(\ln W_t - \ln W_0)/t \times 100$ ;

相对生物学效价(relative bioavailability value, RBV, %)= $X_n/X_1 \times 100$ 。

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(g); $X_n$ 为Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组、Zn-Gly组和Zn-MHA组增重率、肝脏T-SOD和脊椎骨Zn含量, $X_1$ 为ZnSO<sub>4</sub>组增重率、肝脏T-SOD和脊椎骨Zn含量。

### 1.5 数据处理

实验结果均以平均值±标准差(mean±SD)来表示,利用SPSS 18.0软件对数据进行单因素方差分析,用最小显著极差法(LSD)进行统计分析,显著性水平设为0.05, $P < 0.05$ 为差异显著。

## 2 结果

### 2.1 四种锌源对珍珠龙胆生长性能的影响

Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组、Zn-Gly组和Zn-MHA组之间WGR和SGR未见显著性差异( $P > 0.05$ ),但均显著高于ZnSO<sub>4</sub>组( $P < 0.05$ )(表2);Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly组和Zn-MHA组FCR无显著性差异( $P > 0.05$ ),且均显著低于ZnSO<sub>4</sub>组( $P < 0.05$ );各组之间SR无显著性差异( $P > 0.05$ )。

表1 基础饲料组成及营养水平  
Tab.1 Composition and nutrition levels of basal diets

成分 component	ZnSO <sub>4</sub>	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	Zn-Gly	Zn-MHA
<b>原料组分 ingredient</b>				
红鱼粉 brown fishmeal <sup>1</sup>	40	40	40	40
去皮豆粕 dehulled soybean meal	16.13	16.13	16.13	16.13
玉米蛋白粉 corn gluten meal	5	5	5	5
小麦谷朊粉 wheat gluten meal	9	9	9	9
面粉 wheat flour	19	19	19	19
鱼油 fish oil	4.49	4.49	4.49	4.49
大豆卵磷脂 soy lecithin	3	3	3	3
磷酸二氢钙 calcium monophosphate	1.5	1.5	1.5	1.5
多维 vitamin premix <sup>2</sup>	0.5	0.5	0.5	0.5
多矿 mineral premix <sup>3</sup>	0.5	0.5	0.5	0.5
抗氧化剂 antioxidants	0.05	0.05	0.05	0.05
V <sub>C</sub> vitamin-C	0.03	0.03	0.03	0.03
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
DL-蛋氨酸 DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
合计 total	100	100	100	100
<b>营养水平 nutrition levels</b>				
粗蛋白 crude protein	52.52	51.86	51.87	52.28
粗脂肪 crude lipid	10.21	10.96	10.88	11.21
水分 moisture	10.05	10.32	10.56	9.56
粗灰分 crude ash	11.24	11.52	10.97	10.42
饲料锌水平/(mg/kg DM) dietary zinc level	118.85	116.92	120.66	119.23

注: 1. 秘鲁蒸汽红鱼粉: 粗蛋白含量为673.00 g/kg, 粗脂肪含量为87.0 g/kg; 2. 维生素预混料为每千克饲料提供: 维生素B<sub>1</sub> 25.00 mg, 核黄素B<sub>2</sub> 45.00 mg, 泛酸B<sub>3</sub> 60.00 mg, 烟酸B<sub>5</sub> 200.00 mg, 吡哆醇B<sub>6</sub> 20.00 mg, 生物素B<sub>7</sub> 1.20 mg, 维生素B<sub>12</sub> 0.1 mg, 肌醇 800.00 mg, 叶酸 20.00 mg, 维生素A 32.00 mg, 维生素E 120.00 mg, 维生素D<sub>3</sub> 5.00 mg, 维生素K<sub>3</sub> 10.00 mg; 3. 矿物质预混料为每千克饲料提供: 硫酸锰 46.61 mg, 硫酸铜 11.91 mg, 柠檬酸铁 496.52 mg, 亚硒酸钠 0.73 mg, 碘酸钾 6.78 mg, 氯化钴 42.00 mg

Notes: 1. peruvian brown fishmeal: crude protein 673.00 g/kg, crude lipid 87.0 g/kg. 2. the vitamin premix provided the following for per kg of diet: vitamin B<sub>1</sub> 25.00 mg, vitamin B<sub>2</sub> 45.00 mg, vitamin B<sub>3</sub> 60.00 mg, vitamin B<sub>5</sub> 200.00 mg, vitamin B<sub>6</sub> 20.00 mg, vitamin B<sub>7</sub> 1.20 mg, vitamin B<sub>12</sub> 0.1 mg, inositol 800.00 mg, folic acid 20.00 mg, vitamin A 32.00 mg, vitamin E 120.00 mg, vitamin D<sub>3</sub> 5.00 mg, vitamin K<sub>3</sub> 10.00 mg; 3. the mineral premix provided the following for per kg of diet: manganese sulfate 46.61 mg, cupric sulfate 11.91 mg, ferric citrate 496.52 mg, sodium selenite 0.73 mg, potassium iodate 6.78 mg, cobalt dichloride, 42.00 mg

## 2.2 四种锌源对珍珠龙胆肝脏MDA含量和酶活性的影响

Zn-Gly组和Zn-MHA组肝脏MDA含量与ZnSO<sub>4</sub>和Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ ), T-SOD和CuZn-SOD活性均在Zn-MHA组达到最大值, 且与其余各组相比差异显著( $P<0.05$ )(表3)。Zn-Gly组和Zn-MHA组MDA含量显著低于ZnSO<sub>4</sub>组和Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组和Zn-

Gly组中的Mn-SOD、CuZn-SOD和T-SOD均显著高于ZnSO<sub>4</sub>组( $P<0.05$ ), Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组和Zn-Gly组中的T-SOD和CuZn-SOD均无显著性差异( $P>0.05$ )。

## 2.3 四种锌源对珍珠龙胆前肠发育的影响

Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA组前肠皱襞高度与ZnSO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ )(图1)。Zn-Gly和Zn-MHA组皱襞宽度大于ZnSO<sub>4</sub>和Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>

表 2 饲料中四种锌源对珍珠龙胆生长性能的影响

**Tab. 2 Effect of four dietary forms of zinc on growth performance in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂**

组别 groups	增重率/% WGR	特定生长率/(%/d) SGR	饲料系数 FCR	存活率/% SR
ZnSO <sub>4</sub>	361.86 ± 40.21 <sup>a</sup>	2.89 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.27 ± 0.31 <sup>b</sup>	93.33 ± 0.00
Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	453.83 ± 23.12 <sup>b</sup>	3.17 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.90 ± 0.04 <sup>a</sup>	90.00 ± 0.00
Zn-Gly	440.51 ± 11.02 <sup>b</sup>	3.13 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.07 <sup>a</sup>	90.00 ± 0.00
Zn-MHA	474.87 ± 32.95 <sup>b</sup>	3.20 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.87 ± 0.03 <sup>a</sup>	96.67 ± 3.36

注：表格中同列肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著( $P>0.05$ )，不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )；下同

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

表 3 四种锌源对珍珠龙胆肝脏MDA含量和酶活性的影响

**Tab. 3 Effect of four dietary forms of zinc on the content of MDA and enzymatic activity in the liver in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂**

组别 groups	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
ZnSO <sub>4</sub>	24.51 ± 2.95 <sup>b</sup>	68.83 ± 5.49 <sup>a</sup>	149.69 ± 7.27 <sup>a</sup>	217.53 ± 4.79 <sup>a</sup>
Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	22.84 ± 3.97 <sup>b</sup>	83.48 ± 5.58 <sup>b</sup>	179.47 ± 2.49 <sup>b</sup>	255.31 ± 13.71 <sup>b</sup>
Zn-Gly	13.64 ± 2.00 <sup>a</sup>	86.67 ± 17.33 <sup>b</sup>	167.51 ± 16.25 <sup>b</sup>	247.09 ± 3.12 <sup>b</sup>
Zn-MHA	11.23 ± 1.84 <sup>a</sup>	67.61 ± 8.11 <sup>a</sup>	195.85 ± 11.21 <sup>c</sup>	260.83 ± 3.06 <sup>c</sup>

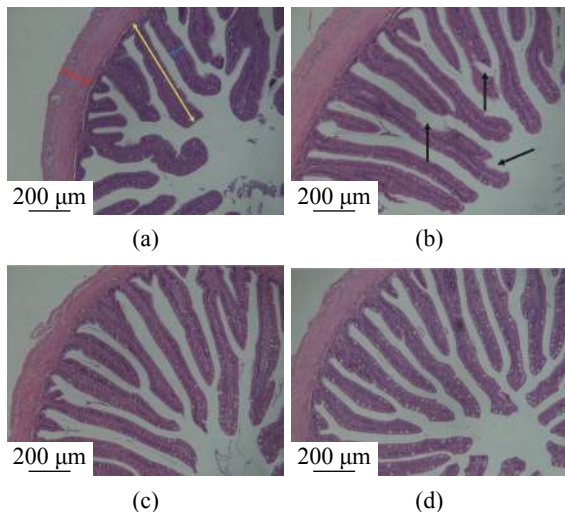


图 1 四种锌源对珍珠龙胆幼鱼前肠发育的影响 (H.E染色, 10×)

红色双向箭头表示肌层厚度, 蓝色双向箭头表示皱襞宽, 黄色双向箭头表示皱襞高, 黑色箭头表示肠皱襞部分受损; (a) ZnSO<sub>4</sub>组; (b) Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组; (c) Zn-Gly组; (d) Zn-MHA组, 下同

**Fig. 1 Effect of four dietary forms of zinc on histomorphology appearance of the foregut in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂ (H.E stain, 10×)**

The red double-headed arrow indicates muscle thickness; blue double-headed arrow indicates plica width; yellow double-headed arrow indicates plica height; the black arrows indicate intestinal plica partially damaged; (a) group ZnSO<sub>4</sub>; (b) group Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>; (c) group Zn-Gly; (d) group Zn-MHA, the same below

组, 但并不显著( $P>0.05$ ) (表4)。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组肌层厚度相对其余3组来说较厚, 且皱襞发生了一定的破损(图1-b)。与ZnSO<sub>4</sub>组相比, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA组前肠的皱襞高度显著提高( $P<0.05$ ), Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组在提高皱襞高度的同时, 对皱襞造成了一定的破损, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组肌层厚度显著高于其余各组( $P<0.05$ )。

#### 2.4 四种锌源对珍珠龙胆中肠发育的影响

Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA组皱襞高度与ZnSO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ ) (图2)。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组肌层厚度与其余各组相比差异显著( $P<0.05$ ) (表5)。与ZnSO<sub>4</sub>组相比, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA组均显著提高了肠皱襞高度( $P<0.05$ ), Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组的肌层厚度显著高于其余各组( $P<0.05$ ), 各组之间皱襞宽度无显著差异( $P>0.05$ )。

#### 2.5 四种锌源对珍珠龙胆后肠发育的影响

Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA组皱襞高度与ZnSO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ ) (图3)。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组肠皱襞发生了一定程度的破损, Zn-Gly、Zn-MHA组肌层厚度与ZnSO<sub>4</sub>、Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ )。ZnSO<sub>4</sub>、



表4 四种锌源对珍珠龙胆前肠发育的影响  
 Tab. 4 Effect of four dietary forms of zinc on histomorphology appearance of the foregut in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂

指标 index	ZnSO <sub>4</sub>	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	Zn-Gly	Zn-MHA	μm
皱襞高度 plica height	365.00±1.43 <sup>a</sup>	603.17±71.73 <sup>b</sup>	545.90±16.57 <sup>b</sup>	557.99±40.88 <sup>b</sup>	
皱襞宽度 plica width	61.44±5.75	59.88±4.40	64.20±2.26	64.19±4.26	
肌层厚度 muscle thickness	113.17±4.80 <sup>a</sup>	148.97±8.76 <sup>b</sup>	113.45±15.13 <sup>a</sup>	124.88±2.75 <sup>a</sup>	

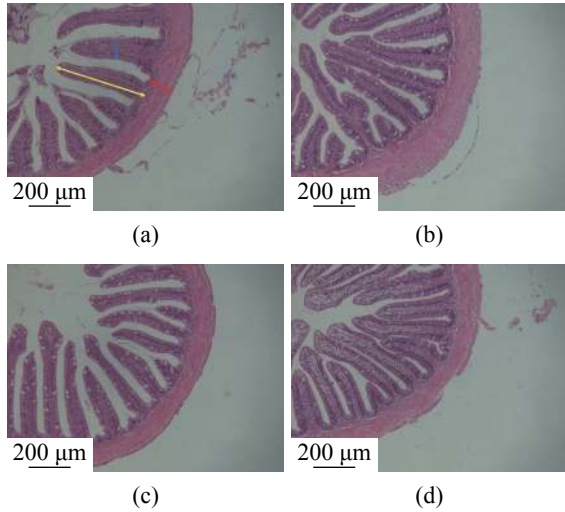


图2 四种锌源对珍珠龙胆幼鱼中肠发育的影响  
 (H.E染色, 10×)

Fig. 2 Effect of four dietary forms of zinc on histomorphology appearance of the midgut in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂ (H.E stain, 10×)

Zn-Gly、Zn-MHA组皱襞高度与ZnSO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ )(表6), Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组皱襞有一定破损(图3-b)。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组、Zn-Gly组和Zn-MHA组皱襞高度均显著高于ZnSO<sub>4</sub>组( $P<0.05$ ), Zn-Gly组和Zn-MHA组皱襞宽度显著大于ZnSO<sub>4</sub>组和Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组, 各组之间皱襞宽度无显著差异( $P>0.05$ )。

表5 四种锌源对珍珠龙胆中肠发育的影响  
 Tab. 5 Effect of four dietary forms of zinc on histomorphology appearance of the midgut in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂

指标 index	ZnSO <sub>4</sub>	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	Zn-Gly	Zn-MHA	μm
皱襞高度 plica height	322.76±13.12 <sup>a</sup>	429.98±45.91 <sup>c</sup>	361.18±22.38 <sup>b</sup>	410.09±39.10 <sup>bc</sup>	
皱襞宽度 plica width	63.01±4.41	62.71±5.10	62.28±7.19	63.81±5.55	
肌层厚度 muscle thickness	114.43±8.13 <sup>a</sup>	136.09±4.97 <sup>b</sup>	111.50±8.06 <sup>a</sup>	117.79±12.56 <sup>a</sup>	

## 2.6 四种锌源对珍珠龙胆矿物元素沉积的影响

Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组和Zn-Gly组Fe含量与ZnSO<sub>4</sub>和Zn-MHA组相比差异显著( $P<0.05$ )。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组、Zn-Gly组和Zn-MHA组Mn含量无显著性差异( $P>0.05$ ), 但在Zn-Gly组达到最大值, 且与ZnSO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ ), Zn含量在ZnSO<sub>4</sub>组达到最大值, 且显著高于Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA组( $P<0.05$ ), Zn-Gly和Zn-MHA组与Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组相比差异显著( $P<0.05$ )(表7)。Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组和Zn-Gly组Fe含量显著高于其余各组( $P<0.05$ )。Zn-Gly组Mn含量与Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组和Zn-MHA组相比无显著差异( $P>0.05$ ), 但显著高于ZnSO<sub>4</sub>组( $P<0.05$ )。ZnSO<sub>4</sub>组、Zn-Gly组和Zn-MHA组Zn含量无显著差异( $P>0.05$ ), 但均显著高于Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组( $P<0.05$ )。各组之间脊椎骨Cu含量无显著差异( $P>0.05$ )。

## 2.7 相对生物学效价评定

以ZnSO<sub>4</sub>为对照, 以WGR为判据时, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA的相对生物学效价分别为119.15%、118.43%和122.45%; 以CuZn-SOD为判据时, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA的相对生物学效价分别为110.90%、113.58%和130.84%; 以脊椎骨Zn为判据时, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA的相对生物学效价均小于100%, 分别为80.07%、96.19%和91.73%(表8)。

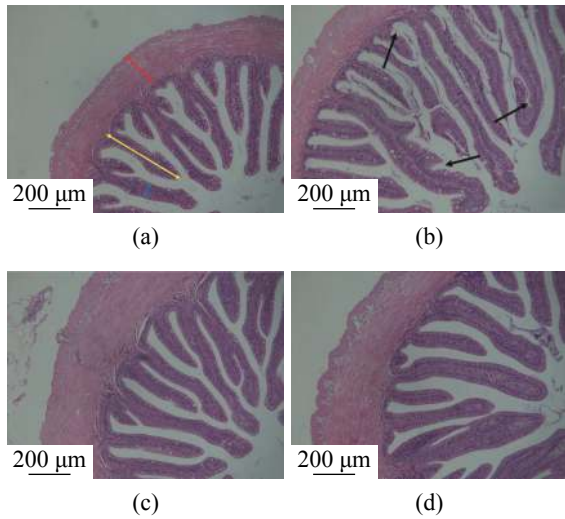


图3 四种锌源对珍珠龙胆幼鱼后肠发育的影响 (H.E染色, 10×)

Fig. 3 Effect of four dietary forms of zinc on histomorphology appearance of the hindgut in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂ (H.E stain, 10×)

### 3 讨论

#### 3.1 四种锌源对珍珠龙胆生长性能的影响

鱼类对不同形式的锌利用效率不同<sup>[16]</sup>, 一般来说, 有机锌的生物利用度要高于无机锌<sup>[17]</sup>。饲料中添加羟基蛋氨酸钙或Zn-MHA能显著提高鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[18]</sup>、杂交条纹鲈(*Morone*

*chrysops*×*M. saxatilis*)<sup>[19-20]</sup>增重率和饲料利用率。从本实验结果分析, 与ZnSO<sub>4</sub>组相比, Zn-Gly和Zn-MHA组显著提高了珍珠龙胆的WGR和SGR, 降低了FCR, 显著改善了珍珠龙胆的生长性能, 这与在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[21]</sup>和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[22]</sup>上的研究结果相似。在生物体内, 锌的吸收效率与锌跟配体的螯合程度有关, 螯合程度越强, 越有利于锌的吸收<sup>[23]</sup>。锌与氨基酸等形成螯合物之后, 具有缓释作用, 能够延长在肠道中停留的时间, 有利于锌的吸收<sup>[24]</sup>。与ZnSO<sub>4</sub>相比, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组能促进石斑鱼的生长, 这与在仔猪<sup>[12]</sup>上的实验结果一致。在本实验条件下, 各组之间SR无显著性差异, 但与ZnSO<sub>4</sub>组相比, 其余各组FCR均显著降低, 说明四种锌源对珍珠龙胆存活率并无显著影响, 但Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA能够显著降低FCR, 同样在斑点叉尾鲟(*Ictalurus punctatus*)<sup>[25]</sup>上的研究也有类似报道。

#### 3.2 四种锌源对珍珠龙胆肝脏MDA含量和SOD活性的影响

在生物体内, 氧自由基作用于脂质发生过氧化反应, 最终产物为MDA, 具有细胞毒性。MDA含量是细胞膜脂质过氧化程度的体现, MDA越高, 脂质过氧化程度就越高, 细胞膜受损也就越严重<sup>[26]</sup>。本实验中, 相对于ZnSO<sub>4</sub>和

表6 四种锌源对珍珠龙胆后肠发育的影响  
Tab. 6 Effect of four dietary forms of zinc on histomorphology appearance of the hindgut in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂

指标 index	ZnSO <sub>4</sub>	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	Zn-Gly	Zn-MHA
皱襞高度 plica height	316.1±10.87 <sup>a</sup>	433.37±47.42 <sup>c</sup>	373.91±15.24 <sup>b</sup>	405.75±10.73 <sup>bc</sup>
皱襞宽度 plica width	62.79±1.73	61.30±2.67	64.93±3.31	61.96±7.56
肌层厚度 muscle thickness	160.37±3.24 <sup>a</sup>	157.32±6.44 <sup>a</sup>	250.77±5.52 <sup>b</sup>	254.32±23.17 <sup>b</sup>

表7 四种锌源对珍珠龙胆脊椎骨矿物元素沉积的影响  
Tab. 7 Effect of four dietary forms of zinc on mineral accumulation in vertebrae in *E. fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatu*♂

组别 groups	Cu	Fe	Mn	Zn
ZnSO <sub>4</sub>	4.31±0.85	62.63±1.99 <sup>a</sup>	38.21±1.75 <sup>a</sup>	116.99±6.24 <sup>c</sup>
Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	4.43±0.92	79.60±7.62 <sup>b</sup>	40.12±3.77 <sup>ab</sup>	96.18±4.42 <sup>a</sup>
Zn-Gly	5.73±1.32	90.92±0.62 <sup>c</sup>	41.51±2.08 <sup>b</sup>	112.53±7.98 <sup>bc</sup>
Zn-MHA	5.48±1.48	70.96±8.14 <sup>a</sup>	40.31±0.99 <sup>ab</sup>	105.18±8.41 <sup>b</sup>

表8 Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA的  
相对生物学效价

Tab. 8 Relative bioavailability value of Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>,  
Zn-Gly and Zn-MHA

判据指标 item	锌源 zinc source	相对生物学效价/% relative bioavailability
增重率/% WGR	ZnSO <sub>4</sub>	100.00
	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	119.15
	Zn-Gly	118.43
	Zn-MHA	122.45
铜锌超氧化物歧化酶 (U/mg prot) CuZn-SOD	ZnSO <sub>4</sub>	100.00
	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	110.90
	Zn-Gly	113.58
	Zn-MHA	130.84
脊椎骨锌/(mg/kg) vertebral Zn	ZnSO <sub>4</sub>	100.00
	Zn <sub>4</sub> (OH) <sub>6</sub> SO <sub>4</sub>	80.07
	Zn-Gly	96.19
	Zn-MHA	91.73

Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组而言, 饲料中添加Zn-Gly或Zn-MHA能够显著降低珍珠龙胆肝脏中MDA的含量, 表明添加有机锌可以高效地清除活性氧, 减少毒害物质的生成。在肉鸡<sup>[27-28]</sup>上的研究结果显示, 与无机锌相比, 饲料中添加Zn-Gly能够显著增强其免疫应答能力和抗氧化能力, 降低肝脏中MDA的含量, 均与本实验结果相符合。

SOD的活性通常是评价机体对活性氧清除能力的主要指标之一<sup>[29]</sup>。在一定范围内, 机体SOD活性越高, 对活性氧的清除能力越强, 能更好地避免机体受到氧化损伤<sup>[30]</sup>。活性氧不仅会使SOD的β折叠含量减少, 影响其结构, 还可以通过破坏肽键和氧化氨基酸残基, 使其活性下降<sup>[31-32]</sup>。饲料中分别添加不同形式的锌对草鱼<sup>[33]</sup>肝脏中T-SOD活性均有一定程度的提高。本实验结果显示, 与ZnSO<sub>4</sub>组相比, 珍珠龙胆饲料中添加Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly或Zn-MHA均能够显著提高其肝脏中T-SOD和CuZn-SOD的活性, 其中以Zn-MHA组效果最为显著, 表明Zn-Gly或Zn-MHA能够有效地清除珍珠龙胆肝脏中的活性氧, 从而提高其抗氧化能力, 这与吴红岩<sup>[34]</sup>和赵红霞等<sup>[35]</sup>在奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)上的实验结果相似。在肠道上皮细胞吸收过程中, 由于Met、Lys和Gly具有共用的转运系统<sup>[36]</sup>,

饲料中添加蛋氨酸羟基类似物在提高肠外组织中Met含量的同时, 不会影响机体吸收Lys, 而添加Met却会在一定程度上影响到Lys的吸收<sup>[37]</sup>。Lys作为限制性氨基酸, 能显著提高青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)幼鱼抗氧化酶活性<sup>[38]</sup>, 而机体对Lys的吸收又受到Met的影响, 所以Zn-Met是否通过影响鱼类吸收Lys而影响鱼类的生理性能, 还有待探究。本实验结果显示, Zn-MHA组的T-SOD和CuZn-SOD均显著高于其余3组, 可能是Zn-Gly组中的Gly影响了机体对于Lys的吸收, 进而影响机体的抗氧化能力。

### 3.3 四种锌源对珍珠龙胆肠道发育的影响

肠道是消化食物、吸收营养物质的主要器官, 研究表明, 肠皱襞的高度决定肠道吸收面积, 皱襞越高, 吸收面积越大; 而肌层越厚, 肠道蠕动越强, 吸收效率越高<sup>[39]</sup>。因此, 肠道中皱襞高度和肌层厚度通常用来评判肠道的发育情况<sup>[40]</sup>。本实验结果显示, 饲料中添加Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly或者Zn-MHA均能够显著提高前、中、后肠的皱襞高度, 从而提高吸收效率, 而Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组促进了肠道的发育, 却不能很好地保护肠道皱襞。研究发现, 组织中高浓度的锌会对肠道细胞产生毒害作用<sup>[41-42]</sup>, 与ZnSO<sub>4</sub>和Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>相比, Zn-Gly和Zn-MHA水溶性较差, 因此能够避免瞬时的高浓度锌对细胞的损伤。在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)<sup>[43]</sup>中的研究表明, 肠皱襞不仅与营养物质吸收直接相关, 而且与抗病力也有一定联系, 完整、健康的皱襞具有较强的摆动力, 能够有效地防止有害菌的定殖, 从而阻止肠炎发生。但也有研究者在草鱼<sup>[44]</sup>上得出不同结果, 表明草鱼前肠中细菌含量很少, 具有较弱的炎症反应, 这可能是由于不同鱼类食性的差异所导致。鱼类中, 不同肠段的功能差异显著<sup>[45]</sup>, 研究表明, 前肠由于皱襞厚度大、肌层发达, 消化酶相关基因表达强烈, 因此是消化吸收的主要场所, 而后肠上皮游离面下方有大量的杯状细胞, 则推测后肠是免疫应答的主要部位<sup>[46]</sup>, 有胃鱼类的中肠和后肠不需要承担更多消化吸收的压力<sup>[47]</sup>, 后肠肌层厚度越大, 固有层能容纳的淋巴细胞越多, 免疫应答能力越强<sup>[48]</sup>。肠道免疫与肝脏抗氧化密切相关, 肠道淋巴细胞会作用于肝脏, 抑制炎症趋化因子CCL5 mRNA表达<sup>[49]</sup>, 并且肝脏CuZn-



SOD会同时抑制CCL5 mRNA表达<sup>[50]</sup>，二者相互作用保护肝脏。本实验中，Zn-Gly组和Zn-MHA组肌层厚度显著高于ZnSO<sub>4</sub>组和Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>，结合肝脏抗氧化相关指标，说明Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA均能提高肝脏SOD活性进而保护后肠，但Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组肝脏MDA含量显著高于Zn-Gly组和Zn-MHA组，可能是由于在提高肝脏抗氧化能力的两条途径中，肠道淋巴细胞起主要作用<sup>[51]</sup>，而Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组后肠肌层厚度显著低于Zn-Gly组和Zn-MHA组，使杯状细胞和淋巴细胞减少，免疫能力减弱，进而导致Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组肝脏MDA含量显著上升。

### 3.4 四种锌源对珍珠龙胆脊椎骨矿物元素沉积的影响

各种矿物元素在机体骨骼内的沉积过程并不是相互独立的，多种矿物元素之间存在着交互作用<sup>[52]</sup>。本实验除Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>组之外，其余各组脊椎骨Zn的含量均有显著性提高，其中以ZnSO<sub>4</sub>组最为显著，而ZnSO<sub>4</sub>组的Fe和Mn的含量却显著低于其余3组。Zn和Mn之间存在明显的拮抗关系，Zn和Fe会竞争转运蛋白质的结合位点，并且Zn会抑制Fe的吸收<sup>[53]</sup>。与Zn-MHA相比，Zn-Gly的吸收更依赖于锌转运载体4(ZIP4)<sup>[41]</sup>，而ZIP4同时受到Zn和Fe的影响<sup>[54]</sup>。本实验中，Zn-Gly组脊椎骨Fe含量显著高于Zn-MHA组，推测可能是Fe提高了ZIP4转运载体mRNA的表达，从而促进了脊椎骨Zn的沉积。ZnSO<sub>4</sub>的吸收主要依赖于二价金属离子转运蛋白1(DMT1)<sup>[41]</sup>，而DMT1并不会受到Fe的影响<sup>[55]</sup>。本实验中，珍珠龙胆石斑鱼脊椎骨Cu含量为4.31~5.73 mg/kg，明显高于斜带石斑鱼<sup>[56]</sup>脊椎骨中Cu的正常含量(1.17 mg/kg)，不同锌源之间虽然没有对脊椎骨Cu的沉积产生显著性影响，但Cu含量均显著高于1.17 mg/kg。在小鼠肠道中，Zn能够促进金属硫蛋白的合成，而金属硫蛋白与Cu具有较强的亲和能力，会与Cu结合，减少肠上皮细胞对Cu的吸收，进而避免产生氧化自由基，保护细胞膜<sup>[57]</sup>，与本实验结果不符。Reeves<sup>[58]</sup>在Caco-II细胞上的研究发现，Zn的转运速率会随着Zn浓度的上升而加快，同时，Cu的转运速率也会相应加快。在本实验Zn浓度的条件下，珍珠龙胆石斑鱼体内Cu的转运速率是否比Zn大，脊椎骨中Cu的沉积是否会上升，并且不同形式的Zn对

Cu的转运速率是否会产生影响，有待进一步探究。

### 3.5 相对生物学效价评定

生物学效价也称为“生物利用度(bioavailability)”，指一种营养素被动物摄食后，被小肠吸收并能参与代谢过程，贮存在动物体内的部分占食入总量的比值<sup>[59]</sup>。然而，直接测定Zn的吸收是十分困难的，因此，通常利用ZnSO<sub>4</sub>为参照物来反映其他形式Zn的生物学效价，称之为相对生物学效价<sup>[60]</sup>。从本实验结果分析，不同锌源对珍珠龙胆石斑鱼WGR影响显著，以WGR为判据时，Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA的相对生物学效价均高于ZnSO<sub>4</sub>。而CuZn-SOD作为一种以Zn为底物的金属酶，在一定程度上能够真实地反映出水生动物对锌的利用情况<sup>[61]</sup>。在鲤<sup>[62]</sup>上的研究表明，以ZnSO<sub>4</sub>为参照物，以SOD为评价指标时，Zn-MHA的相对生物学效价为312%，高于ZnSO<sub>4</sub>，与本实验结果一致。当以WGR和CuZn-SOD为判据时，3种锌源的相对生物学效价均高于ZnSO<sub>4</sub>，并均在Zn-MHA组达到最大值，说明与ZnSO<sub>4</sub>相比，珍珠龙胆饲料中添加Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly或Zn-MHA效果较好，其中以Zn-MHA为最佳。当以脊椎骨Zn含量为评价指标时，Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>、Zn-Gly和Zn-MHA的相对生物学效价均低于ZnSO<sub>4</sub>，这与Wedekind等<sup>[63]</sup>和Do Carmo等<sup>[60]</sup>在尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)上的研究结果一致。

综上所述，在生长、肝脏抗氧化能力、肠道发育以及脊椎骨矿物元素沉积方面，饲料中添加Zn-Gly和Zn-MHA能更好地调节机体，促进珍珠龙胆的健康生长，添加Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>能够提高珍珠龙胆的生长性能和肝脏SOD活性，增强脊椎骨中Fe的沉积，但在肠道和脊椎骨矿物元素沉积调节方面，并不能够达到Zn-Gly或Zn-MHA的效果，仅与ZnSO<sub>4</sub>效果相似。

### 参考文献:

- [1] Kumar N, Krishnani K K, Kumar P, *et al.* Dietary zinc promotes immuno-biochemical plasticity and protects fish against multiple stresses[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 62: 184-194.
- [2] Li M R, Huang C H. Effect of dietary zinc level on growth, enzyme activity and body trace elements of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed soya



- bean meal-based diets[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(6): 1320-1327.
- [ 3 ] Muralisankar T, Bhavan P S, Radhakrishnan S, *et al.* Effects of dietary zinc on the growth, digestive enzyme activities, muscle biochemical compositions, and antioxidant status of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 98-104.
- [ 4 ] Cai C X, Lin P H, Zhu H, *et al.* Zinc binding to MG53 facilitates repair of injury to cell membrane[J]. *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 290(22): 13830-13839.
- [ 5 ] 曹春燕, 王嘉, 薛敏, 等. 锌源和水平对异育银鲫生长性能、组织锌沉积和抗氧化功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(5): 968-976.
- Cao C Y, Wang J, Xue M, *et al.* Dietary zinc source and level affect growth performance, tissue zinc accumulation and Antioxidative function of Gibel carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(5): 968-976(in Chinese).
- [ 6 ] 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.
- [ 7 ] 杜瑞平, 张兴夫, 高民, 等. 甘氨酸的免疫调节作用及其分子机制[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(3): 663-670.
- Du R P, Zhang X F, Gao M, *et al.* Immunomodulatory effects of glycine and its molecular mechanism[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(3): 663-670(in Chinese).
- [ 8 ] Froh M, Thurman R G, Wheeler M D. Molecular evidence for a glycine-gated chloride channel in macrophages and leukocytes[J]. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2002, 283(4): G856-G863.
- [ 9 ] Lovell T. *Nutrition and Feeding of Fish*[M]. New York: Springer, 1998.
- [ 10 ] 孙蓬. 点带石斑鱼对甘氨酸锌的营养需求[D]. 天津: 天津农学院, 2014.
- Sun P. Nutritional requirement of zinc-glycine in *Epinephelus malabaricus*[D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2014 (in Chinese).
- [ 11 ] Yang Z W, Aygul N, Liu X R, *et al.* Structure of copper chelate of 2-Hydroxy-4-methylthiobutanoic acid as trace mineral additive in animal feeding[J]. *Chinese Journal of Structural Chemistry*, 2015, 34(1): 147-153.
- [ 12 ] 沈凯. 碱式硫酸锌对仔猪饲喂效果的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013.
- Shen K. Study on the feeding effects of basic zinc sulfate on piglet[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [ 13 ] 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.
- [ 14 ] 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.
- 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(in Chinese).
- [ 15 ] 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.
- 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(in Chinese).
- [ 16 ] Yuan L X, Li M, Zhang Y X, *et al.* The protective effects of dietary zinc on dietary copper toxicity in large yellow croaker *Larimichthys croceus*[J]. *Aquaculture*, 2016, 462: 30-34.
- [ 17 ] Maage A, Julshamn K, Berge G E. Zinc gluconate and zinc sulphate as dietary zinc sources for Atlantic salmon[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, 7(3): 183-187.
- [ 18 ] 沈晓芝, 周洪琪, 华雪铭, 等. 羟基蛋氨酸钙对鲤生长性能和白肌营养组成的影响[J]. *上海水产大学学报*, 2007, 16(2): 118-123.
- Shen X Z, Zhou H Q, Hua X M, *et al.* Effect of calcium salt of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid (MHA-Ca) on growth performance and white muscle composition of common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2007, 16(2): 118-123(in Chinese).
- [ 19 ] Savolainen L C, Gatlin III D M. Evaluation of sulfur amino acid and zinc supplements to soybean-meal-based diets for hybrid striped bass[J]. *Aquaculture*, 2010,

- 307(3-4): 260-265.
- [20] Kelly M, Grisdale-Helland B, Helland S J, *et al.* Refined understanding of sulphur amino acid nutrition in hybrid striped bass, *Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂[J]. *Aquaculture Research*, 2006, 37(15): 1546-1555.
- [21] 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.
- [22] Bahabadi M N, Banaee M, Taghiyan M, *et al.* Effects of dietary administration of yarrow extract on growth performance and blood biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *International Journal of Aquatic Biology*, 2014, 2(5): 275-285.
- [23] 肖俊峰. 日粮锰源和水平对产蛋鸡蛋壳品质的影响及其机理[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.  
Xiao J F. Effect of dietary manganese sources and supplemental levels on eggshell quality of laying hens[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014 (in Chinese).
- [24] 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.
- [25] Li M H, Robinson E H. Comparison of chelated zinc and zinc sulfate as zinc sources for growth and bone mineralization of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed practical diets[J]. *Aquaculture*, 1996, 146(3-4): 237-243.
- [26] Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges[J]. *Analytical Biochemistry*, 2017, 524: 13-30.
- [27] Ma W Q, Niu H H, Feng J, *et al.* Effects of zinc glycine chelate on oxidative stress, contents of trace elements, and intestinal morphology in broilers[J]. *Biological Trace Element Research*, 2011, 142(3): 546-556.
- [28] 田丽娜. 不同锌源对肉鸡生长及抗氧化性能的影响[D]. 青岛: 青岛农业大学, 2009.  
Tian L N. Effect of different zinc sources on the growth performance and antioxidant abilities of broiler chickens[D]. Qingdao: Qingdao Agricultural University, 2009 (in Chinese).
- [29] Lin Y F, Lin H T, Zhang S, *et al.* The role of active oxygen metabolism in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested Longan fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2014, 96: 42-48.
- [30] Lu X, Wang C, Liu B Z. The role of Cu/Zn-SOD and Mn-SOD in the immune response to oxidative stress and pathogen challenge in the clam *Meretrix meretrix*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 42(1): 58-65.
- [31] 周文菲, 白娟, 龚春梅. 活性氧介导的植物蛋白质氧化修饰研究进展[J]. *生物技术通报*, 2017, 33(4): 8-18.  
Zhou W F, Bai J, Gong C M. Research progress on the oxidative modification of plant proteins mediated by reactive oxygen species[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(4): 8-18(in Chinese).
- [32] 吕良涛. 羧基化对刀额新对虾原肌球蛋白结构的影响及修饰位点的鉴定[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.  
Lv L T. Structural effect and identification of modification sites of shrimp (*Metapenaeus ensis*) tropomyosin by carbonylation[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015 (in Chinese).
- [33] 任洪涛. 不同质量浓度Zn<sup>2+</sup>对草鱼脑、肝胰脏组织结构及肝胰脏中超氧化物歧化酶活性的影响[J]. *水产科学*, 2016, 35(4): 415-419.  
Ren H T. Effects of different concentrations of zinc ion on histological structure of brain and hepatopancreas and hepatopancreatic SOD activity in Grass Carp *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Fisheries Science*, 2016, 35(4): 415-419(in Chinese).
- [34] 吴红岩. 饲料中添加不同锌源和锌水平对奥尼罗非鱼的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.  
Wu H Y. Effects of Different zinc sources and different zinc supplemental levels on juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* × *Oreochromis niloticus*)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007 (in Chinese).
- [35] 赵红霞, 曹俊明, 朱选, 等. 锌源和锌水平对奥尼罗非鱼生长性能、抗氧化指标和体组成的影响[J]. *动物营养学报*, 2009, 21(5): 680-687.  
Zhao H X, Cao J M, Zhu X, *et al.* Effects of zinc sources and levels on growth performance, antioxidant indices and body composition in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2009, 21(5): 680-687(in Chinese).
- [36] Bröer S. Amino acid transport across mammalian intest-

- inal and renal epithelia[J]. *Physiological Reviews*, 2008, 88(1): 249-286.
- [37] Zhang X L, Li H, Liu G M, *et al.* Differences in plasma metabolomics between sows fed DL-methionine and its hydroxy analogue reveal a strong association of milk composition and neonatal growth with maternal methionine nutrition[J]. *The British Journal of Nutrition*, 2015, 113(4): 585-595.
- [38] 胡毅, 张俊智, 黄云, 等. 高棉籽粕饲料中补充赖氨酸和铁对青鱼幼鱼生长、免疫力及组织中游离棉酚含量的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(11): 3443-3451.  
Hu Y, Zhang J Z, Huang Y, *et al.* Effects of high cottonseed meal diet supplemented with lysine and iron on growth, immunity and tissue free gossypol content of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(11): 3443-3451(in Chinese).
- [39] Caspary W F. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1992, 55(S1): 299S-308S.
- [40] Geda F, Rekecki A, Decostere A, *et al.* Changes in intestinal morphology and amino acid catabolism in common carp at mildly elevated temperature as affected by dietary mannanoligosaccharides[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2012, 178(1-2): 95-102.
- [41] Huang D P, Zhuo Z, Fang S L, *et al.* Different zinc sources have diverse impacts on gene expression of zinc absorption related transporters in intestinal porcine epithelial cells[J]. *Biological Trace Element Research*, 2016, 173(2): 325-332.
- [42] Zemann N, Zemann A, Klein P, *et al.* Differentiation- and polarization-dependent zinc tolerance in Caco-2 cells[J]. *European Journal of Nutrition*, 2011, 50(5): 379-386.
- [43] Meng Y, Ma R, Ma J, *et al.* Dietary nucleotides improve the growth performance, antioxidative capacity and intestinal morphology of turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(3): 585-593.
- [44] Zhang L, Feng L, Jiang W D, *et al.* Vitamin A deficiency suppresses fish immune function with differences in different intestinal segments: the role of transcriptional factor *NF- $\kappa$ B* and *p38 mitogen-activated protein kinase* signalling pathways[J]. *British Journal of Nutrition*, 2017, 117(1): 67-82.
- [45] 赵杰, 卜云璇, 柳昭君, 等. TNBS诱导的草鱼肠炎模型[J]. *水产学报*, 2014, 38(4): 560-569.  
Zhao J, Bu Y X, Liu Z J, *et al.* A TNBS-induced enteritis model in grass carp[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(4): 560-569(in Chinese).
- [46] Press C M, Evensen  $\emptyset$ . The morphology of the immune system in teleost fishes[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1999, 9(4): 309-318.
- [47] Holmberg A, Schwerte T, Fritsche R, *et al.* Ontogeny of intestinal motility in correlation to neuronal development in zebrafish embryos and larvae[J]. *Journal of Fish Biology*, 2003, 63(2): 318-331.
- [48] Firdaus-Nawi M, Zamri-Saad M, Nik-Haiha N Y, *et al.* Histological assessments of intestinal immuno-morphology of tiger grouper juvenile, *Epinephelus fuscoguttatus*[J]. *Springerplus*, 2013, 2: 611.
- [49] Hu Y, Zhang H H, Li J, *et al.* Gut-derived lymphocyte recruitment to liver and induce liver injury in non-alcoholic fatty liver disease mouse model[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2016, 31(3): 676-684.
- [50] Lei Q, Ding L, Huang J, *et al.* Induction of copper/zinc-superoxide dismutase by CCL5/CCR5 activation causes tumour necrosis factor- $\alpha$  and reactive oxygen species production in macrophages[J]. *Immunology*, 2009, 128(1pt2): e325-e334.
- [51] 于艳美. 生长抑素和生长激素联合应用对重症急性胰腺炎兔肠黏膜屏障损伤的保护作用[D]. 济南: 山东大学, 2011.  
Yu Y M. Protective effect of somatostatin combined with growth hormone on intestinal mucosal barrier injury in severe acute pancreatitis rabbits[D]. Jinan: Shandong University, 2011 (in Chinese).
- [52] Saeed A A, Sandhu M A, Khilji M S, *et al.* Effects of dietary chromium supplementation on muscle and bone mineral interaction in broiler chicken[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2017, 42: 25-29.
- [53] 白丽蓉, 赵志英. 铜、锰诱导吉富罗非鱼血细胞凋亡及铁、锌的干预作用[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(35): 58-65.  
Bai L R, Zhao Z Y. Effects of copper and manganese on hemocyte apoptosis and the antagonism of iron and zinc in *Oreochromis niloticus*[J]. *Chinese Agricultural Science*

- Bulletin, 2015, 31(35): 58-65(in Chinese).
- [54] 陈启光. 锌铁调控蛋白ZIP4在前列腺癌中的表达意义及作用机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2012.  
Chen Q G. Expression of zinc transporter ZIP4 and correlation study of ZIP4 in prostate carcinoma[D]. Shenyang: China Medical University, 2012 (in Chinese).
- [55] Frazer D M, Wilkins S J, Becker E M, *et al.* A rapid decrease in the expression of DMT1 and Dcytb but not Ireg1 or hephaestin explains the mucosal block phenomenon of iron absorption[J]. *Gut*, 2003, 52(3): 340-346.
- [56] 聂家全, 董晓慧, 谭北平, 等. 锰源和锰水平对斜带石斑鱼幼鱼生长、抗氧化功能和矿物元素沉积的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(2): 196-202.  
Nie J Q, Dong X H, Tan B P, *et al.* Effects of manganese sources and dietary manganese level on growth performance, antioxidative function and tissue mineral accumulation in grouper *Epinephelus coioides*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2015, 30(2): 196-202(in Chinese).
- [57] 仲晓丽. 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)微量元素锌及其与铜的交互作用的营养生理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.  
Zhong X L. Studies on nutritional physiology of zinc and the interaction between zinc and copper Abalone, *Haliotis discus hannai* Ino[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009 (in Chinese).
- [58] Reeves P G. Adaptation responses in rats to long-term feeding of high-zinc diets: emphasis on intestinal metallothionein[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 1995, 6(1): 48-54.
- [59] Fadaei H, Watson A, Place A, *et al.* The effect of PCB bioavailability changes in sediments on bioaccumulation in fish[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(20): 12405-12413.
- [60] Do Carmo E Sá M V, Pezzato L E, Barros M M, *et al.* Relative bioavailability of zinc in supplemental inorganic and organic sources for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, 11(4): 273-281.
- [61] Sun Q, Guo Y, Li J, *et al.* Effects of methionine hydroxy analog chelated Cu/Mn/Zn on laying performance, egg quality, enzyme activity and mineral retention of laying hens[J]. *The Journal of Poultry Science*, 2012, 49(1): 20-25.
- [62] 曹春燕. 羟基蛋氨酸螯合锌对异育银鲫和鲤鱼生长性能、生理功能以及组织锌沉积的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.  
Cao C Y. Effects of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic zinc on growth performance, physiological function and tissue retention in Gibel Carp (*Carassius auratus gibelio*) and common carp (*Cyprinus carpio* L.)[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012 (in Chinese).
- [63] Wedekind K J, Hortin A E, Baker D H. Methodology for assessing zinc-bioavailability: efficacy estimates for zinc-methionine, zinc sulfate, and zinc oxide[J]. *Journal of Animal Science*, 1992, 70(1): 178-187.



## Effects of four forms of zinc on growth performance, antioxidant capacity and vertebrae mineral accumulation of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*)♂

YIN Bin<sup>1</sup>, LIN Yitong<sup>1</sup>, CHI Shuyan<sup>1\*</sup>, TAN Beiping<sup>1,2</sup>, YAO Hongmei<sup>3</sup>, YAO Yajun<sup>3</sup>,  
DONG Xiaohui<sup>1,2</sup>, YANG Qihui<sup>1</sup>, LIU Hongyu<sup>1</sup>, ZHANG Shuang<sup>1</sup>

(1. Laboratory of Aquatic Animal Nutrition and Feed, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;  
2. South China Sea Bio-Resource Exploitation and Utilization Collaborative Innovation Center, Guangzhou 510006, China;  
3. Changsha Xingjia Biotechnology Engineering Co.Ltd.Changsha 410128, China)

**Abstract:** This study was to investigate the effects of four forms of zinc on growth performance, antioxidant capacity, intestinal performance and vertebrae mineral accumulation of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂). The experimental diets were isonitrogenous and isolipidic diets by adding zinc sulfate (ZnSO<sub>4</sub>), basic zinc sulfate [Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>], zinc glycine (Zn-Gly) and zinc hydroxymethionine (Zn-MHA), respectively. The zinc content of the four diets was 118.85, 116.92, 120.66 and 119.23 mg/kg, respectively. Three hundred and sixty individuals of grouper [initial average weight (11±0.12) g] were randomly divided into four groups with three replicates at a stock density of thirty, and fed with test diets for 8 weeks. The results showed that the weight gain rate and specific growth rate in Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>, Zn-Gly and Zn-MHA groups were significantly higher than those in ZnSO<sub>4</sub> group. The feed coefficient rate of fish fed Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>, Zn-Gly and Zn-MHA groups were significantly lower than that fed ZnSO<sub>4</sub> group. The survival rate was no different among the four groups. Hepatic malonaldehyde contents in Zn-Gly and Zn-MHA groups were significantly decreased compared with ZnSO<sub>4</sub> and Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub> groups. The activity of copper-zinc superoxide dismutase in the liver of fish fed with Zn-MHA was significantly higher than that in other groups. Compared to ZnSO<sub>4</sub> group, plica heights of foregut and midgut of fish fed with Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>, Zn-Gly and Zn-MHA were significantly increased. The muscle thickness of hindgut in the Zn-Gly and Zn-MHA groups was significantly higher than that in ZnSO<sub>4</sub> and Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub> groups. Vertebrae iron and manganese contents in fish fed with Zn-Gly were significantly higher than those in ZnSO<sub>4</sub> group. According to weight gain rate and hepatic copper-zinc superoxide dismutase contents, the relative bioavailability values of Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub>, Zn-Gly and Zn-MHA, compared to ZnSO<sub>4</sub>, were 119.15% and 110.90%, 118.43% and 113.58%, 122.45% and 130.84%, respectively. In conclusion, in the aspects of growth performance, activity of hepatic SOD and the iron accumulation in the vertebrae, Zn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>SO<sub>4</sub> is better than ZnSO<sub>4</sub>. However, Zn-Gly or Zn-MHA as organic form of zinc can improve growth performance, oxidation resistance, and intestine development compared to ZnSO<sub>4</sub>.

**Key words:** *Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂; zinc sources; growth performance; antioxidant capacity; intestine; mineral accumulation; relative bioavailability values

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

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-47); Public Welfare Research and Capacity Building of Guangdong Province (2016A020206006)