



黄曲霉毒素 B1 对黄颡鱼幼鱼生长及肝脏功能的影响

钟 蕾¹, 王子琴¹, 王金龙^{2,3*}, 夏立秋⁴,
陈丽媛⁵, 周建成⁶, 胡 毅^{1*}

(1. 湖南农业大学, 湖南省特色水产资源利用工程技术研究中心, 湖南 长沙 410128;

2. 湖南文理学院生命与环境科学学院, 湖南 常德 415000;

3. 湖南省水产科学研究所, 湖南 长沙 410153;

4. 湖南师范大学生命科学学院, 湖南 长沙 410081;

5. 江苏奥迈生物科技有限公司, 江苏 南京 210000;

6. 武汉大北农水产科技有限公司, 湖北 武汉 430090)

摘要: 为研究黄曲霉毒素 B1(Aflatoxin B1, AFB1) 对黄颡鱼幼鱼生长、肠道消化酶及肝脏功能的影响, 用添加不同梯度黄曲霉毒素 B1(AFB1)(0、50、100 和 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的 4 种等氮等脂配合饲料饲喂初始体质量为 (6.00 ± 0.10) g 的黄颡鱼幼鱼 8 周。结果显示: ① 饲料中添加 AFB1 对黄颡鱼幼鱼的存活率、饲料系数和特定生长率等均无显著影响, 但使胰蛋白酶活性显著提高, 而高含量 AFB1(100 和 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 显著降低肠道淀粉酶和脂肪酶活性; ② 随着 AFB1 添加量的上升, 血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性及葡萄糖、甘油三酯、总胆汁酸和总胆固醇含量显著升高, 肝脏中谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性显著下降; ③ AFB1 添加组的肝脏过氧化氢酶活性和丙二醛含量显著高于对照组, 100 和 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 组超氧化物歧化酶活性显著高于对照组, 其余各组无显著差异; ④ AFB1 添加组肝脏 *sod* 基因及炎症因子 *il-1 β* 基因的相对表达量显著上调, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 组 *cat* 基因及炎症因子 *il-8*、*il-10* 相对表达量显著上调; ⑤ 通过组织学观察, AFB1 会引起部分肝细胞出现轻微萎缩、肝细胞核移位、细胞界限模糊和肝细胞内空泡化的现象。研究表明, 在本实验条件下, 饲料中 AFB1 含量低于 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 不影响黄颡鱼幼鱼生长性能, 但饲料中 AFB1 ≥ 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时会影响黄颡鱼幼鱼肠道的消化吸收功能, 同时引起肝脏氧化应激及炎症反应, 造成肝脏功能损伤。

关键词: 黄颡鱼; 黄曲霉毒素; 生长; 肝脏功能

中图分类号: S 963

文献标志码: A

黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 养殖产量高, 是我国重要的水产养殖品种之一, 其肉质细嫩、少细刺、味道鲜美, 深受人们喜爱^[1], 集约化养殖需大量的配合饲料。在高温潮湿的环境中,

饲料原料或成品会因加工、运输和存储等管理不当等而滋生霉菌, 产生黄曲霉毒素 (Aflatoxin, AFT) 污染^[2], 可能会降低黄颡鱼配合饲料的品质, 进而影响黄颡鱼的健康养殖。AFT 是黄曲霉和

收稿日期: 2020-12-30 修回日期: 2021-02-07

资助项目: 国家特色淡水鱼产业技术体系专项 (CARS-46); 省部共建淡水鱼类发育生物学国家重点实验室开放课题基金 (2020KF006); 2019 大北农科研合作项目

第一作者: 钟蕾 (照片), 从事水产动物营养与免疫研究, E-mail: zhonglei-5@163.com

通信作者: 王金龙, E-mail: 124532076@qq.com; 胡毅, E-mail: huyi740322@163.com



寄生曲霉的次级代谢产物,其衍生物约有20多种^[3],其中黄曲霉毒素B1(Aflatoxin B1, AFB1)毒性最大,致癌性最强。已有研究发现AFB1在降低其生长^[4-6]及繁殖性能^[7]、造成机体抗氧化损伤及组织病变的同时^[4-6,8],还能在水产动物组织中蓄积^[4],进而影响水产动物品质。

肝脏是水产动物重要的解毒器官,其结构的完整是机体行使正常生理功能的关键。AFB1被水产动物摄入后,能很快被胃肠道吸收并进入循环系统,在动物各组织中蓄积,还会被转化为AFB1-8,9-环氧化物(AFBO),以共价键形式与DNA、RNA及蛋白质结合形成加合物,进而损伤肝细胞^[2,9]。有研究表明AFB1被水产动物摄食后,不仅会沉积到肝脏组织中,还会损伤水产动物的肝脏结构,造成肝细胞空泡、坏死及细胞核萎缩^[4]。黄莹等^[10]在异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)及花鳗鲡(*Anguilla marmorata*)^[11]的研究中发现,水产动物肝脏中AFB1的积累量随AFB1水平的升高而升高。Raghavan等^[12]研究发现在杂交鲟(*Acipenser ruthenus* ♂×*A. baeri* ♀)饲料中添加40 μg/kg的AFB1会造成局部性肝细胞坏死,产生炎症细胞。Zeng等^[13]研究发现AFB1会影响凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)肝脏储存细胞及分泌细胞的数量,造成肝胰腺细胞萎缩等。此外,AFB1还能造成水产动物肝功能损伤,影响机体抗氧化能力及免疫能力,并降低水产动物的抗病能力,研究发现杂交罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)在摄食AFB1饲料后机体免疫能力降低^[5];凡纳滨对虾在摄食AFB1饲料后会引发肝脏氧化应激,造成肝功能受损^[14];越南巴沙鱼(*Pangasius hypophthalmus*)^[15]在摄食AFB1后不仅会使机体肝功能受损,还会降低其抗病能力。但也有研究发现,饲料中添加2 000 μg/kg的AFB1对水产动物肝功能及肝脏组织结构均无显著影响^[7,16]。

目前,国内外在AFB1对水产动物毒性机理的研究甚少,已有的研究表明不同水产动物对AFB1敏感程度存在差异^[8,15,17-18],温水性鱼类对AFB1的耐受性较冷水性鱼类更强^[2,8,10,12],且关于AFB1对黄颡鱼影响的研究未见详细报道。因此本实验以黄颡鱼幼鱼为研究对象,研究黄颡鱼配合饲料中添加AFB1对其生长、肠道消化酶及肝脏功能的影响,旨在探明AFB1引发黄颡鱼幼鱼肝脏功能受损的浓度,为黄颡鱼健康养殖提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料

参照黄颡鱼商品饲料配方,配制一种以鱼粉和豆粕为主要蛋白源,鱼油为脂肪源的基础饲料,在基础饲料中分别添加0、50、100、200 μg/kg的AFB1,配制成含不同AFB1梯度的4种等氮等脂(40.17%蛋白质,6.95%脂肪)实验饲料(表1)。毒素浓度设计梯度参考已有AFB1报道^[5,10,18],添加的AFB1购自美国Sigma公司。饲料原料粉碎后过80目筛,按照配方要求准确称

表1 实验基础饲料配方及化学组成

Tab. 1 Diet formulation and chemical composition

of experiment diets		g/kg
项目 item		含量 content
饲料原料 ingredients		
秘鲁蒸汽鱼粉	Peru steam fish meal	360
豆粕	soybean meal	284
面粉	wheat flour	279.6
鱼油	fish oil	34
预混料	premix	25
氯化胆碱	choline chloride	2
磷酸二氢钙	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	15
防霉剂	anti-mildew agent	0.3
抗氧化剂	antioxidant	0.1
合计	total	1 000
营养成分 nutritional composition		
粗蛋白质	crude protein	401.7
粗脂肪	crude lipid	69.5
粗灰分	crude ash	77.1

注:预混料为每千克饲料提供碘化钾(1%)60 mg、氯化钾200 mg、六水氯化钴(1%)50 mg、一水硫酸亚铁400 mg、五水亚硒酸钠(1%)65 mg、一水硫酸锌400 mg、五水硫酸铜30 mg、一水硫酸锰150 mg、一水硫酸镁2 000 mg、维生素B₁12 mg、沸石粉3 645.85 mg、核黄素12 mg、维生素B₆8 mg、维生素K₃8 mg、维生素B₁₂0.05 mg、肌醇100 mg、烟酸50 mg、泛酸40 mg、叶酸5 mg、维生素A25 mg、生物素0.8 mg、维生素D35 mg、维生素C100 mg、维生素E50 mg、乙氧基喹啉150 mg、小麦粉2 434.15 mg

Notes: The premix provided the following per kg diets: KI(1%)60 mg, KCl 200 mg, CoCl₂·6H₂O(1%)50 mg, FeSO₄·H₂O 400 mg, Na₂SeO₃·5H₂O(1%)65 mg, ZnSO₄·H₂O 400 mg, CuSO₄·5H₂O 30 mg, MnSO₄·H₂O 150 mg, MgSO₄·H₂O 2 000 mg, VB₁12 mg, zeolite power 3 645.85 mg, riboflavin 12 mg, VB₆8 mg, VK₃8 mg, VB₁₂0.05 mg, inositol 100 mg, niacin acid 50 mg, pantothenic acid 40 mg, folic acid 5 mg, VA 25 mg, biotin 0.8 mg, VD 35 mg, VC 100 mg, VE 50 mg, ethoxyquin 150 mg, wheat flour 2 434.15 mg

量各种原料, 混匀后用饲料制粒机挤压出 2.0 mm 粒径的颗粒饲料, 在阴凉处风干后置于 -20°C 冷存储备用。其中, AFB1 的添加方法按照等比例扩大法, 首先将 AFB1 与少量面粉等比例混合稀释, 再按照设计浓度添加到相应饲料中。饲料制作完成后, 利用高效液相色谱法检测各组饲料中 AFB1 的实际值分别为 2.13、65.93、102.93、193.98 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

1.2 饲养管理

实验用鱼购自湖南某省级良种场, 养殖实验在湖南省水产科学研究所进行。实验前期, 挑选规格一致的黄颡鱼, 通过养殖池 (3.0 m \times 1.5 m \times 1.0 m) 暂养驯化, 用对照组饲料驯化 2 周, 饥饿 24 h 后, 挑选初始体质量为 (6.00 \pm 0.10) g 的黄颡鱼 600 尾, 随机分成 4 组, 每组 3 个重复, 共 12 个养殖池 (3.0 m \times 1.5 m \times 1.0 m), 每个养殖池放养黄颡鱼 50 尾。投喂量以黄颡鱼体质量的 3%~5% 为标准, 日投喂 3 次 (8:00、12:00、18:00), 每 3 天调整投喂量。整个养殖实验持续 8 周, 养殖期间 24 h 不间断充氧, 保持微流水, 水温 26.0~32.0 $^{\circ}\text{C}$, 溶解氧含量 \geq 6.0 mg/L, 氨氮含量 \leq 0.20 mg/L。

1.3 生长指标的测定

实验开始及结束时记录养殖池黄颡鱼数量和重量, 投喂饲料总量等用以计算黄颡鱼的各项生长指标。养殖实验结束后, 从每个网箱中随机取 5 尾黄颡鱼, 测定体长、体质量以及内脏、肝脏重量, 用以计算黄颡鱼肝体比、脏体比、肥满度。

$$\text{成活率 (survival rate, SR, \%)} = N_t / N_0 \times 100\%$$

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

$$\text{饲料系数 (feed conversion ratio, FCR)} = W_t / (W_t - W_0)$$

$$\text{特定生长率 (specific growth rate, SGR, \% / d)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$$

$$\text{肥满度 (condition factor, CF, g/cm}^3) = W / L^3 \times 100$$

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

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

式中, N_t 为终末尾数; N_0 为初始尾数; W_t 为终末体质量 (g); W_0 为初始体质量 (g); W_t 为摄入

饲料量 (g); t 为饲喂天数 (d); W_h 为鱼肝脏重 (g); W_v 为鱼内脏重 (g); W 为鱼体质量 (g); L 为鱼体长 (cm)。

1.4 肠道消化酶活性测定

养殖实验结束后, 停食 24 h, 每个养殖池随机取 5 尾黄颡鱼, 解剖取其整个肠道, 去除肠道内容物及其附着物, 用冰双蒸水清洗肠道, 滤纸吸干, 于 -80°C 冰箱内保存。测定前, 取肠道组织捣碎后加生理盐水 1:9 稀释, 并放入匀浆仪内进行冰水浴匀浆。匀浆完毕, 在 4°C 下 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液备用, 于 24 h 内分析完毕。胰蛋白酶 (trypsin)、肠道淀粉酶 (amylase) 和脂肪酶 (lipase) 活性均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。

1.5 血清生化指标及肝脏酶活性测定

养殖实验结束后, 停食 24 h, 从每个养殖池中随机取 5 尾黄颡鱼, 经过丁香酚麻醉后, 采取尾静脉抽血。采血后, 解剖取整个肝脏, 滤纸吸干, 于 -80°C 冰箱内保存。血液在 4°C 下静置过夜后, 3 500 r/min 离心 15 min, 取上清置于 -80°C 冰箱备用。黄颡鱼血清葡萄糖 (glucose, GLU)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆汁酸 (total bile acid, TBA)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 以及肝脏超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、AST、ALT 等均利用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

1.6 肝脏石蜡组织切片制作与观察

养殖实验结束后, 禁食 24 h, 在每个养殖池中随机选取 3 尾黄颡鱼, 解剖进行肝脏采样, 用 4% 多聚甲醛固定肝组织 24 h。常规酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋、切片、H.E 染色后封片观察, 染色剂购自南京建成科技有限公司。观察时每组选取 3 张非连续性切片, 送至武汉赛维尔生物科技有限公司进行切片扫描, 扫描结束后采用 Case Viewer 图像分析系统分析, 每张切片选取同一视野, 分别在 100 倍与 200 倍下观察黄颡鱼肝脏组织结构, 并进行拍照。

1.7 肝脏相关基因表达量分析

肝脏组织中总 RNA 提取 在 1.5 mL 无

酶管中加入 1.0 mL Trizol 试剂, 取 30~50 mg 在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存的肝脏组织于无酶管中, 用低温匀浆仪进行匀浆处理; 匀浆完毕后, 室温放置 5 min, 使肝脏样品充分裂解; 在裂解好的样品中加入 200 μL 氯仿, 充分振荡 15 s, 室温放置 2~3 min; 将样品 12000 r/min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min; 吸取 400 μL 上层水相到新的 1.5 mL 无酶管中, 加入 400 μL 异丙醇, 颠倒混匀, 室温放置 10 min 后, 样品 12000 r/min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min; 弃上清, 加入 1.0 mL 75% 乙醇, 小心振荡, 洗涤沉淀, 然后 12000 r/min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 3 min; 弃 75% 乙醇, 并重复上步骤; 弃 75% 乙醇, 干燥, 使管内酒精充分挥发; 用 30 μL DEPC- H_2O 溶解沉淀, 于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 存备用。

cDNA 的合成 cDNA 的合成应用 PrimeScript[®]RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒。cDNA 的合成分两步: ①基因组 DNA 的除去反应, 反应体系共 10 μL (5 \times gDNA Eraser Buffer 2 μL , gDNA Eraser 1 μL , 模板 RNA 1 μL , RNase Freed H_2O 6 μL), 于 $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 min; ②反转录反应, 反应体系共 20 μL (5 \times PrimeScript[®]Buffer 2 4 μL , PrimeScrip[®]RT Enzyme Mix1 1 μL , RT Primer Mix 1 μL , 反应液 10 μL , RNase Freed H_2O 4 μL), 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 并在 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下加热 5 s 合成 cDNA 模板。

实时荧光定量 PCR 分析基因表达 黄颡鱼肝脏内参基因 (β -actin)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, *sod*)、过氧化氢酶 (catalase, *cat*)、白介素-1 β (interleukin-1 β , *il-1 β)、白介素-8 (interleukin-8, *il-8*)、白介素-6 (interleukin-6, *il-6*)、白介素-10 (interleukin-10, *il-10*) 等引物序列见表 2。引物设计过程: 通过 NCBI 查找黄颡鱼的基因序列;*

Primer Premier 5 软件设计挑选引物; 上海生工有限公司合成引物。Real Time PCR 反应体系共 12.5 μL (SYBR 6 μL , Forward primer 0.5 μL , Reverse primer 0.5 μL , cDNA 0.5 μL , RNase Freed H_2O 5 μL), 实时荧光定量反应程序为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 25 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 15 s, 共 40 个循环, 最后于 $70\sim 95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下收集数据 60 s, 荧光定量的结果运用表达量 $E=2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行计算, 其中 $\Delta\Delta C_t=(C_t \text{目的基因}-C_t \text{内参基因})_{\text{实验组}}-(C_t \text{目的基因}-C_t \text{内参基因})_{\text{对照组}}$ 。

1.8 数据处理

实验结果先利用 WPS 表格进行数据整理, 并采用 SPSS 19.0 对实验数据进行统计分析, 实验结果用平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE) 表示。首先对实验数据进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 如果组间差异显著 ($P<0.05$), 采用 Duncan 氏进行多重比较。

2 结果

2.1 AFB1 对黄颡鱼幼鱼生长性能的影响

各处理组黄颡鱼幼鱼特定生长率、增重率、饲料系数、成活率、脏体比和肥满度均无显著差异 ($P>0.05$), 但随着 AFB1 添加量升高, 黄颡鱼幼鱼肝体比呈上升趋势, 当饲料中 AFB1 添加量为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时肝体比达到最高且显著高于对照组 ($P<0.05$) (表 3)。

2.2 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肠道消化酶活性的影响

饲料中添加 AFB1 显著提高了黄颡鱼幼鱼胰

表 2 本研究所用引物序列

Tab. 2 Primer sequences used in the study

目的基因 target gene	序列号 accession no.	上游引物 forward primer(5' to 3')	下游引物 reverse primer(5' to 3')	产物长度/bp product length
<i>β-actin</i>	EU161066.1	CTGCTGCCTCTTCCTCTCT	CCGCAGGACTCCATACCC	133
<i>sod</i>	KX455916.1	TTGGAGACAATACAAATGGGTG	CATCGGAATCGGCAGTCA	129
<i>cat</i>	KX455919.1	GAAGTTCTACACCGATGAGGGA	ACAGGGTTGCCTTCAGAGTTTA	288
<i>il-1β</i>	MF770571.1	AGCGACTGTGGATTTGACTCA	CCTGGATACGGATTCTTTGT	109
<i>il-8</i>	KY218792.1	TGAAGGTCTGCCTGAATCCA	GCTTGTGTATGTTGACCCTTG	96
<i>il-10</i>	KY218793.1	AGGTTCTCTGCTTTCTTTG	CTGTTGAATAGTGC GG GTGCC	194
<i>il-6</i>	XM_027176013.1	CTGCACTATCTTGCCCTGTTG	TCTGGTCTGGAGCGTGAGC	121

表 3 AFB1 对黄颡鱼幼鱼生长指标的影响
Tab. 3 Effect of aflatoxin B1 on the growth of juvenile *P. fulvidraco*

n=3

项目 items	AFB1 添加量/($\mu\text{g}/\text{kg}$ diet) supplemented AFB1			
	0	50	100	200
初始均重/g IBW	6.00±0.01	6.01±0.00	5.99±0.00	6.01±0.01
终末均重/g FBW	18.17±0.39	19.82±1.61	18.34±1.33	18.37±1.47
增重率/% WGR	202.70±6.25	229.98±26.92	206.18±22.27	205.66±24.07
特定增长率/(%/d) SGR	1.88±0.04	2.01±0.14	1.89±0.12	1.88±0.14
饲料系数 FCR	2.06±0.10	1.97±0.36	1.97±0.19	1.96±0.24
成活率/% SR	86.00±9.02	85.00±0.58	86.00±3.46	94.00±2.31
肝体比/% HSI	2.06±0.15 ^a	2.38±0.11 ^{ab}	2.41±0.08 ^{ab}	2.74±0.13 ^b
脏体比/% VSI	13.13±0.60	11.76±0.53	12.07±0.36	12.01±0.41
肥满度/(g/cm^3) CF	0.97±0.01	1.04±0.03	0.97±0.02	1.01±0.02

注: 表中同一行数据右上标字母不同表示差异显著, $P<0.05$; 下同

Notes: Data in the same lime with different superscript letters mean significant difference ($P<0.05$), the same below

蛋白酶活性 ($P<0.05$), 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 添加组胰蛋白酶活性最高。与对照组相比, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 200

$\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 添加组肠道淀粉酶和脂肪酶活性显著降低 ($P<0.05$)(表 4)。

表 4 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肠道消化酶活性的的影响
Tab. 4 Effect of aflatoxin B1 on the digestive enzyme activities in the intestinal tract of juvenile *P. fulvidraco*

n=3

项目 items	AFB1 添加量/($\mu\text{g}/\text{kg}$ diet) supplemented AFB1			
	0	50	100	200
胰蛋白酶/(U/mg prot) trypsin	1656.17±48.48 ^a	1906.71±56.02 ^b	1847.09±42.88 ^b	1834.37±29.45 ^b
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	58.80±1.51 ^c	54.63±4.70 ^{bc}	41.82±2.21 ^a	48.02±1.13 ^{ab}
脂肪酶/(U/g prot) lipase	23.48±1.28 ^b	43.64±1.25 ^c	14.30±1.30 ^a	18.31±2.00 ^a

2.3 AFB1 对黄颡鱼幼鱼血清生化指标的影响

随着饲料中 AFB1 添加量升高, 黄颡鱼幼鱼血清 GLU 和 TG 含量呈显著上升趋势 ($P<0.05$), TC 含量在 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 添加组显著高于对照组 ($P<0.05$), 其余各处理组间无显著差异。与对照组相比, AFB1 添加组血清 AST 与 ALT 活性显著升高 ($P<0.05$), 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 添加组血清 TBA 含量显著高于其他各组 ($P<0.05$)(表 5)。

2.4 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏 AST, ALT 活性的影响

饲料中 AFB1 含量低于 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 对黄颡鱼幼鱼肝脏 AST、ALT 活性无影响, 当 AFB1 浓度达 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 黄颡鱼幼鱼肝脏 AST 活性 (图 1-a) 显著下降 ($P<0.05$), 而肝脏 ALT 活性 (图 1-b) 则在 AFB1 浓度达 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时显著下降 ($P<0.05$)。

2.5 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏组织形态结构的影响

经含 AFB1 的饲料投喂 56 d 后, 各实验组黄颡鱼幼鱼出现绿肝现象。肝脏组织学 (图版) 观察可知, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组与对照组相比无明显影响, 而当 AFB1 浓度达 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 黄颡鱼幼鱼部分肝细胞出现轻微萎缩、肝细胞核移位、细胞界限模糊、肝细胞内空泡化程度增加。

2.6 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏抗氧化能力的影响

随着 AFB1 添加量的升高, 黄颡鱼幼鱼肝脏 CAT 活力和 MDA 含量显著升高 ($P<0.05$)。当 AFB1 添加量达 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 黄颡鱼幼鱼肝脏 SOD 活性显著升高 ($P<0.05$), 其余各组间无显著差异 ($P>0.05$)(表 6)。黄颡鱼幼鱼肝脏 *sod* (图 2-a) 基因表达量会着随 AFB1 浓度上升显著上调 ($P<0.05$), *cat*

表 5 AFB1 对黄颡鱼幼鱼血清生化指标的的影响
Tab. 5 Effect of aflatoxin B1 on serum biochemical indexes of juvenile *P. fulvidraco*

n=3

项目 items	AFB1添加量/($\mu\text{g}/\text{kg}$ diet) supplemented AFB1			
	0	50	100	200
葡萄糖/(mg/dL) GLU	108.72 \pm 0.96 ^a	120.72 \pm 2.41 ^b	157.16 \pm 3.15 ^c	226.84 \pm 2.49 ^d
总胆固醇/(mmol/L) T-CHO	5.50 \pm 0.15 ^a	5.62 \pm 0.14 ^{ab}	5.69 \pm 0.05 ^{ab}	5.93 \pm 0.05 ^b
甘油三酯/(mmol/L) TG	2.62 \pm 0.04 ^a	2.77 \pm 0.02 ^b	4.07 \pm 0.05 ^d	3.29 \pm 0.08 ^c
总胆汁酸/($\mu\text{mol}/\text{L}$) TBA	11.33 \pm 0.55 ^a	11.50 \pm 0.54 ^{ab}	13.42 \pm 0.55 ^c	13.12 \pm 0.67 ^{bc}
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	4.88 \pm 0.33 ^a	7.95 \pm 0.25 ^b	7.36 \pm 0.86 ^b	18.70 \pm 1.26 ^c
谷草转氨酶/(U/L) AST	23.93 \pm 1.68 ^a	34.38 \pm 2.35 ^b	33.24 \pm 0.63 ^b	43.08 \pm 2.06 ^c

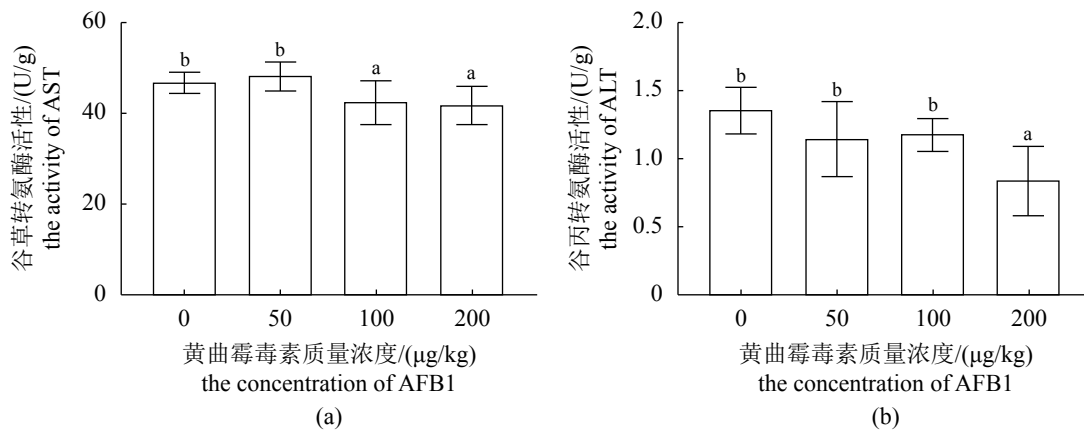


图 1 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏 AST、ALT 活性的影响

图中上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Fig. 1 Effect of aflatoxin B1 on activities of AST, ALT in liver of juvenile *P. fulvidraco*

Different letters in the figure mean significant difference ($P < 0.05$), the same below

(图 2-b) 基因表达量则在 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 组显著上调 ($P < 0.05$)。

2.7 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏炎症相关基因表达的影响

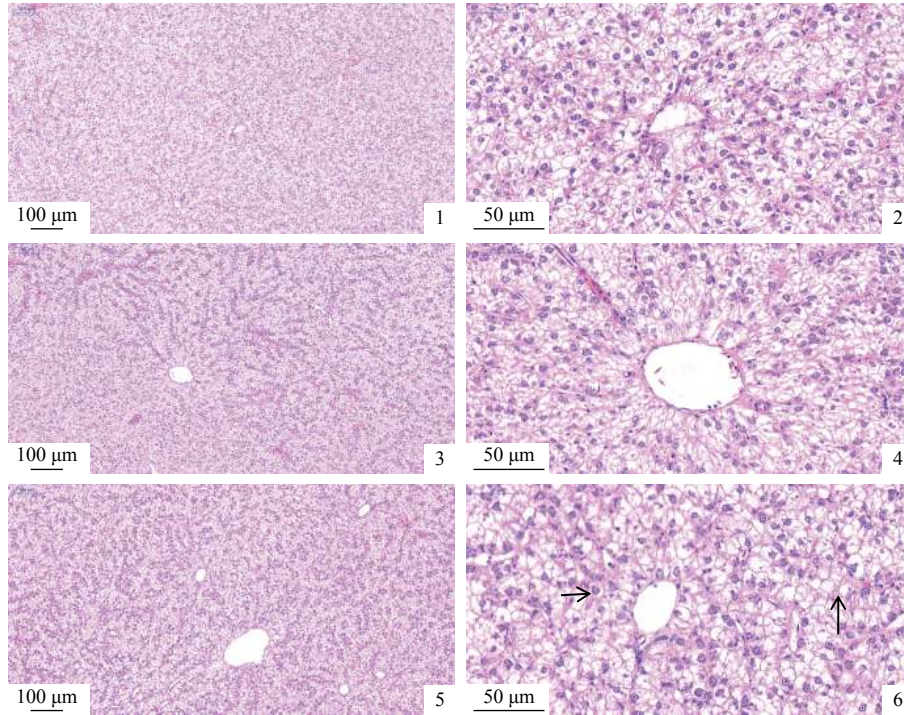
随着 AFB1 浓度的升高, *il-1 β* (图 3-a) 基因表达量显著上调 ($P < 0.05$), 当 AFB1 水平达 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时, *il-8* (图 3-b) 基因及 *il-10* (图 3-c) 表达量出现显著上调 ($P < 0.05$), 而各毒素组 *il-6* (图 3-d) 基因表达量与对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 AFB1 对黄颡鱼幼鱼生长和肠道消化酶活性的影响

AFB1 是一种剧毒物质, 高剂量 AFB1 易造成机体死亡, 低剂量 AFB1 会因累积效应导致机

体慢性中毒, 阻碍生长发育及其对营养物质的吸收^[19], 造成水产动物体表黄化、生长下降、行为异常等^[2]。研究发现, 杂交鲟^[12]摄食 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 饲料 25 d 后存活率显著下降, 巴沙鱼^[15]、喀拉鲃 (*Catla catla*)^[20]摄食 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 饲料后增重率显著降低。然而, 在本实验研究发现黄颡鱼幼鱼摄食 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AFB1 饲料 56 d 后其生长性能与对照组无明显差异, 这与黄莹等^[10]研究结果类似, 造成这些不同结果的可能原因有: 养殖时间短, 低剂量累积效应不足以阻碍动物的生长发育; 添加 AFB1 的浓度和方法不同; 不同品种或不同阶段水产动物对 AFB1 生物转化能力有差异等。与此同时, 本实验中的饲料系数相对偏高, 推测其原因是养殖用水为池塘水, 能见度较低, 实验所用饲料为沉性料, 在投喂时易造成浪费。



图版 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏组织结构的影响

1. 对照组 (100×); 2. 对照组 (200×); 3. 50 µg/kg 组 (100×); 4. 50 µg/kg 组 (200×); 5. 200 µg/kg 组 (100×); 6. 200 µg/kg 组 (200×), 箭头表示肝细胞出现轻微萎缩、肝细胞核移位、细胞界限模糊和肝细胞内空泡化

Plate Effect of aflatoxin B1 on liver tissue structure of juvenile *P. fulvidraco*

1. control group (100×); 2. control group (200×); 3. 50 µg/kg group (100×); 4. 50 µg/kg group (200×); 5. 200 µg/kg group (100×); 6. 200 µg/kg group (200×). The arrows indicate slight atrophy of hepatocytes, nuclear translocation of hepatocytes, blurring of cell boundaries and vacuolization of hepatocytes

表 6 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏抗氧化相关指标的影响

Tab. 6 Effect of aflatoxin B1 on the antioxidant indexes in the liver of juvenile *P. fulvidraco*

n=3

项目 items	AFB1 添加量/(µg/kg diet) supplemented AFB1			
	0	50	100	200
过氧化氢酶/(U/mg) CAT	9.46±1.67 ^a	13.65±0.38 ^b	15.51±1.95 ^b	19.42±0.56 ^c
超氧化物歧化酶/(U/mg) SOD	151.62±14.51 ^{ab}	137.18±10.11 ^a	167.51±7.57 ^{bc}	193.20±4.59 ^c
丙二醛/(nmol/mg) MDA	8.31±0.45 ^a	10.97±0.61 ^b	18.06±0.99 ^c	26.03±1.31 ^d

肠道是消化吸收的主要器官, 摄食 AFB1 会引发肠道氧化应激, 导致肠道屏障功能受损, 从而降低动物的生长性能^[19,21]。冯光德等^[22]发现肉鸭摄食霉变玉米(含 AFB1)后胰淀粉酶、脂肪酶活性无明显影响; Han 等^[23]发现, 饲喂 20 或 40 µg/kg AFB1 饲料时, 肉鸭十二指肠内食糜中胰蛋白酶和淀粉酶活性增加。而在本实验中, AFB1 浓度达 100 µg/kg 时, 淀粉酶、脂肪酶活性显著下降, 这表明适量的 AFB1 不会对黄颡鱼幼鱼脂肪、糖类等的消化造成影响, 但饲料中 AFB1 浓度过高会加重肠道的负担, 从而对淀粉酶、

脂肪酶的分泌造成影响。胰蛋白酶一般是以酶原的形式通过胰腺细胞分泌, 当动物肠道黏膜屏障损伤时, 胰蛋白酶会侵入肠壁, 导致胰蛋白酶活性升高^[24], 实验中 AFB1 浓度升高, 黄颡鱼幼鱼胰腺等发生慢性炎症, 胰腺细胞大量释放酶原, 使得黄颡鱼幼鱼肠道内的胰蛋白酶活性异常升高, 肠道对营养物质的消化吸收能力并未加强。

3.2 AFB1 对黄颡鱼幼鱼肝脏功能的影响

肝脏是 AFB1 的主要靶器官, AFB1 的毒性

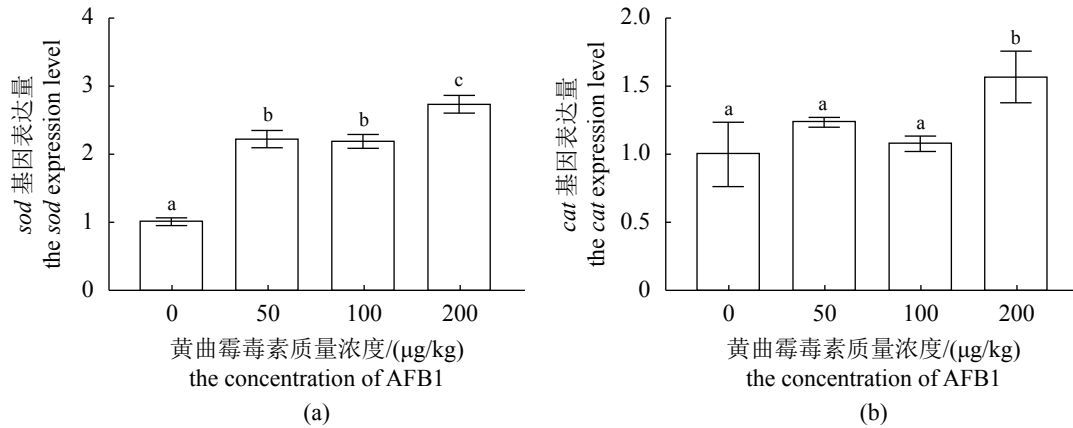


图2 AFB1对黄颡鱼幼鱼肝脏抗氧化相关基因表达的影响

Fig. 2 Effect of aflatoxin B1 on liver antioxidant related gene expression of juvenile *P. fulvidraco*

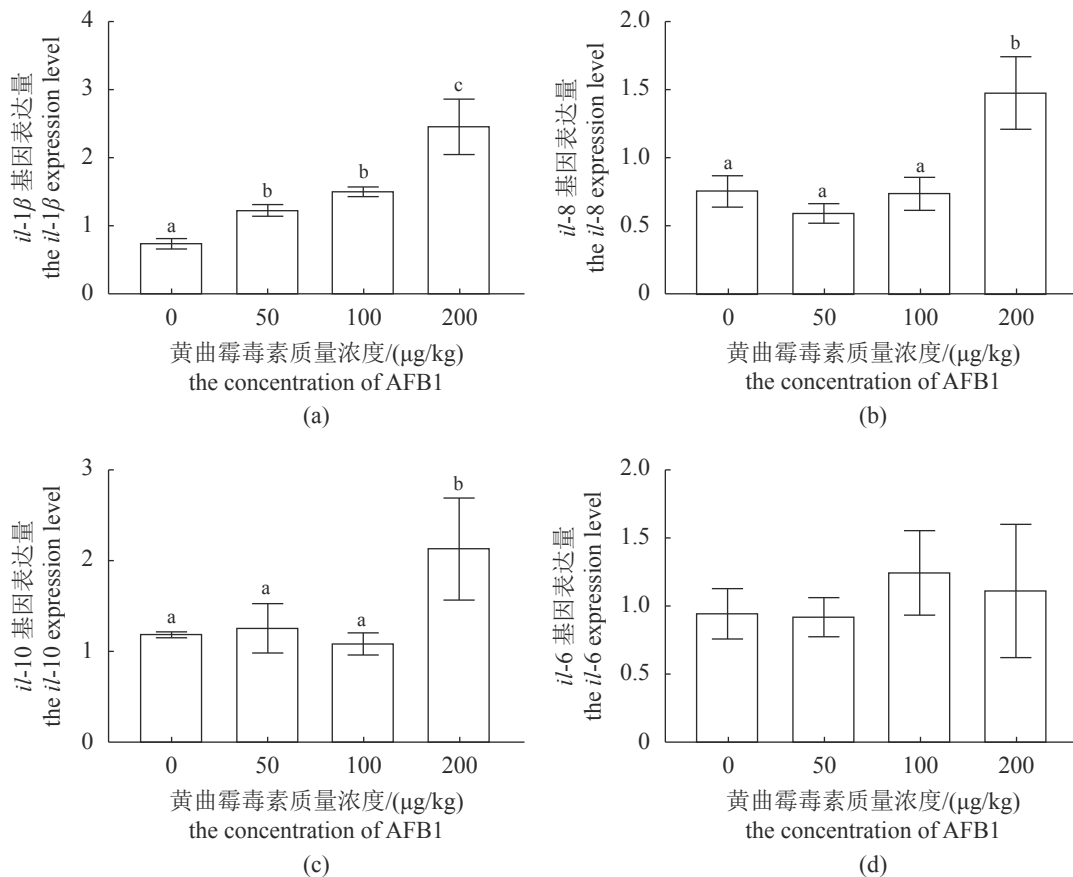


图3 AFB1对黄颡鱼幼鱼肝脏炎症相关基因表达的影响

Fig. 3 Effect of aflatoxin B1 on liver inflammatory related gene expression of juvenile *P. fulvidraco*

作用表现：动物在摄食 AFB1 饲料后，饲料中的 AFB1 在机体内通过细胞色素 P450 氧化酶 (cytochrome P450, CYP450) 代谢为 AFBO，随后以共价键形式与 DNA、RNA 及蛋白质结合形成加合物^[2,9]，损伤肝细胞。而肝脏是葡萄糖、脂肪和蛋白质代谢的重要场所。血清甘油三酯、胆固

醇能够反映出机体对脂类代谢状况^[25]，当机体脂质代谢与葡萄糖代谢出现紊乱时，血清葡萄糖、甘油三酯、胆固醇含量升高。转氨酶主要存在于肝细胞胞浆内，参与蛋白质的代谢，催化氨基酸与酮酸之间氨基的转移，ALT 活性升高表明机体氨基酸代谢旺盛，合成代谢增强，蛋白

质分解减弱, 有利于氮的沉积, AST 活性升高则表明尿素生成速度加快, 氨基酸代谢产物的毒害作用削弱, 两者的活性高低可反映机体蛋白质合成及分解的情况^[26], 当细胞受损时转氨酶可逸出细胞外, 导致血清中 ALT 和 AST 活性升高, 血清中两者的活性常作为反映肝细胞受损的主要敏感指标。本实验中, 黄颡鱼摄食 AFB₁ 饲料后, 血清中 GLU、TG、TC 和 TBA 含量以及 AST 和 ALT 活性升高, 肝脏中 AST 和 ALT 活性降低, 表明 AFB₁ 进入黄颡鱼幼鱼机体后, 形成的加合物会造成黄颡鱼幼鱼葡萄糖、脂肪和蛋白质代谢紊乱, 肝脏功能受损。本研究结果与在凡纳滨对虾^[13]、巴沙鱼^[15]、异育银鲫^[27]上的研究一致, 而在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*)^[16] 上的研究却发现摄食 AFB₁ 含量 $\leq 500 \mu\text{g}/\text{kg}$ 饲料 56 d 后 AST、ALT 无显著变化, 未造成肝功能受损, 说明不同水产动物对 AFB₁ 耐受程度存在差异, 但具体机制还需进一步研究。

肝脏是鱼类最主要的解毒器官, 可将体内新陈代谢产生的有毒物质化解成为无毒, 毒性较轻或容易被溶解的物质, 再经胆汁或尿液排出体外, 肝脏结构完整是其行使正常生理功能的重要保障。本实验中, 随着饲料中 AFB₁ 浓度的上升, 黄颡鱼幼鱼机体内形成的加合物逐渐增多, 肝脏的解毒作用不足以抵消 AFB₁ 的毒性作用, 导致鱼体肝体比逐渐增大, 部分肝细胞出现轻微萎缩、肝细胞核移位、细胞界限模糊、肝细胞内空泡化程度增加, 肝细胞结构受损。有研究发现, 罗非鱼摄食超过 $245 \mu\text{g}/\text{kg}$ AFB₁ 饲料 20 周以上后会导致肝形态异常, 肝脏空泡化严重^[5]; 凡纳滨对虾摄入 AFB₁(400~2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 后肝细胞坏死程度加深, 肝胰腺空泡数量增加^[28], 与本实验结果相似, 推测 AFB₁ 造成肝脏葡萄糖、脂肪和蛋白质代谢紊乱及肝功能破坏可能与肝脏形态损伤有关。

SOD、CAT 作为抗氧化系统中的重要指标, 在维持机体氧化与抗氧化平衡中起关键作用, 两者可在一定程度上反映机体抗氧化能力^[29], MDA 作为自由基引发脂质过氧化反应后的最终分解产物, 其含量不仅能反映机体脂质过氧化程度, 还能反映机体细胞损伤程度^[30]。本研究中, 随着 AFB₁ 浓度的升高, 黄颡鱼幼鱼肝脏 CAT、SOD 活性、MDA 含量均呈现升高趋势, *sod*、*cat*

基因表达量也出现显著上调, 这与凡纳滨对虾摄食 $15 \text{ mg}/\text{kg}$ AFB₁ 后 SOD、CAT、GST 活性增加类似^[31], 推测可能是由于 AFB₁ 浓度增加, 毒性增强, 肝脏损伤, 产生氧化应激反应, 机体生理失衡。白细胞介素 (*il*) 是由淋巴细胞等产生的细胞因子, 在免疫反应、造血以及炎症过程中起着调节作用。其中, *il-6* 可通过诱导 B 细胞的产生和 T 细胞增殖和分化来参与机体的免疫应答^[32], *il-8* 能促进炎症细胞趋化和诱导细胞增殖, *il-1 β* 作为早期促炎症的关键细胞因子, 不仅能调节机体免疫反应, 还能在细菌感染时诱导一系列炎症反应^[33], 而 *il-10* 则具有抗炎特性, 能减少促炎介质的产生, 也能抑制抗原呈递^[34]。有研究表明, AFB₁ 能诱发机体炎症反应^[32], 与本实验研究结果相似, 随着饲料中 AFB₁ 水平的升高, 黄颡鱼幼鱼肝脏促炎症因子 *il-1 β* 、*il-8* 表达量以及抗炎因子 *il-10* 表达量显著上调, 说明饲料中添加 AFB₁ 诱发了黄颡鱼幼鱼肝脏炎症反应。

4 结论

在本实验条件下, 饲料中 AFB₁ 含量低于 $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 不影响黄颡鱼幼鱼生长性能, 但饲料中 AFB₁ $\geq 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时会影响黄颡鱼幼鱼肠道的消化吸收功能, 同时引起肝脏氧化应激及炎症反应, 造成肝脏功能损伤。

参考文献 (References):

- [1] 伍皓茗, 苗玉涛. 黄颡鱼营养免疫研究进展[J]. 广东饲料, 2017, 26(2): 31-33.
Wu H M, Miao Y T. Advances in nutritional immunity of *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Guangdong Feed*, 2017, 26(2): 31-33(in Chinese).
- [2] Santacroce M P, Conversano M C, Casalino E, et al. Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2008, 18(1): 99-130.
- [3] Mahato D K, Lee K E, Kamle M, et al. Aflatoxins in food and feed: An overview on prevalence, detection and control strategies[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 02266.
- [4] Nunes E M C G, Pereira M M G, Costa A P R, et al. Effects of aflatoxin B₁ on performance and health of tambaqui fingerlings (*Colossoma macropomum*)[J]. In-

- ternational Aquatic Research, 2019, 11(1): 73-83.
- [5] Deng S X, Tian L X, Liu F J, *et al.* Toxic effects and residue of aflatoxin B₁ in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) during long-term dietary exposure[J]. Aquaculture, 2010, 307(3-4): 233-240.
- [6] Ayyat M S, Ayyat A M N, Al-Sagheer A A, *et al.* Effect of some safe feed additives on growth performance, blood biochemistry, and bioaccumulation of aflatoxin residues of Nile tilapia fed aflatoxin-B₁ contaminated diet[J]. Aquaculture, 2018, 495: 27-34.
- [7] Huang Y, Han D, Xiao X C, *et al.* Effect of dietary aflatoxin B₁ on growth, fecundity and tissue accumulation in gibel carp during the stage of gonad development[J]. Aquaculture, 2014, 428-429: 236-242.
- [8] Arana S, Alves V A F, Sabino M, *et al.* Immunohistochemical evidence for myofibroblast-like cells associated with liver injury induced by Aflatoxin B₁ in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Journal of Comparative Pathology, 2014, 150(2-3): 258-265.
- [9] Kowalska A, Walkiewicz K, Kozieł P, *et al.* Aflatoxins: characteristics and impact on human health[J]. Postepy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej, 2017, 71: 315-327.
- [10] 黄莹, 朱晓鸣, 韩冬, 等. 饲喂不同浓度黄曲霉毒素B₁饲料对异育银鲫成鱼的生长和毒素积累的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(5): 817-825.
- Huang Y, Zhu X M, Han D, *et al.* Growth and aflatoxin B₁ accumulation of gibel carp adult fed with diets of different levels of aflatoxin B₁[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012, 36(5): 817-825(in Chinese).
- [11] 黄莹, 韩金高, 朱晓鸣, 等. 饲喂不同浓度黄曲霉毒素B₁饲料对花鳢幼鱼生长、抗氧化能力和毒素积累的影响[J]. 水生生物学报, 2021, 45(3): 566-572.
- Huang Y, Han J G, Zhu X M, *et al.* Effects of dietary aflatoxin B₁ on growth, antioxidant capacity and tissue accumulation of juvenile marbled eel (*Anguilla marmorata*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2021, 45(3): 566-572(in Chinese).
- [12] Raghavan P R, Zhu X, Lei W, *et al.* Low levels of aflatoxin B₁ could cause mortalities in juvenile hybrid sturgeon, *Acipenser ruthenus* ♂ × *A. baeri* ♀[J]. Aquaculture Nutrition, 2011, 17(2): e39-e47.
- [13] Zeng S L, Long W Q, Tian L X, *et al.* Effects of dietary aflatoxin B₁ on growth performance, body composition, haematological parameters and histopathology of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(5): 1152-1159.
- [14] Yu Y Y, Niu J, Yin P, *et al.* Detoxification and immunoprotection of Zn(II)-curcumin in juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) feed with aflatoxin B₁[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 80: 480-486.
- [15] Gonçalves R A, Cam T D, Tri N N, *et al.* Aflatoxin B₁ (AFB₁) reduces growth performance, physiological response, and disease resistance in Tra catfish (*Pangasius hypophthalmus*)[J]. Aquaculture International, 2018, 26(3): 921-936.
- [16] 黄莹, 姚远, 朱晓鸣, 等. 饲喂不同浓度黄曲霉毒素B₁饲料对草鱼幼鱼生长和毒素积累的影响[J]. 水生生物学报, 2019, 43(4): 723-730.
- Huang Y, Yao Y, Zhu X M, *et al.* Effects of aflatoxin B₁ on growth and tissue accumulation of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(4): 723-730(in Chinese).
- [17] El-Sayed Y S, Khalil R H. Toxicity, biochemical effects and residue of aflatoxin B₁ in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.)([J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(7): 1606-1609.
- [18] Fan Y, Liu L T, Zhao L H, *et al.* Influence of *Bacillus subtilis* ANSB060 on growth, digestive enzyme and aflatoxin residue in Yellow River carp fed diets contaminated with aflatoxin B₁[J]. Food and Chemical Toxicology, 2018, 113: 108-114.
- [19] 齐灿灿, 王宝杰, 刘梅, 等. 黄曲霉毒素B₁(AFB₁)的短期投喂对凡纳滨对虾肠道黏膜屏障的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(12): 1936-1945.
- Qi C C, Wang B J, Liu M, *et al.* Effects of short term addition of aflatoxin B₁(AFB₁) on the intestinal mucosal barrier of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(12): 1936-1945(in Chinese).
- [20] Andleeb S, Ashraf M, Hafeez-Ur-Rehman M, *et al.* Effect of aflatoxin B₁-contaminated feed on growth and vital organs of advance fry of *Catla catla*[J]. Journal of Animal and Plant Sciences, 2015, 25(3): 816-825.
- [21] 毕小娟, 陈代文, 余冰, 等. 黄曲霉毒素B₁对断奶仔猪生长性能、肝脏组织及肠道健康的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(8): 3276-3284.

- Bi X J, Chen D W, Yu B, *et al.* Effects of aflatoxin B₁ on growth performance, liver tissue and intestine health of weaned piglets[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(8): 3276-3284(in Chinese).
- [22] 冯光德. 自然霉变玉米对肉鸭生产性能和消化生理的影响及机制研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.
- Feng G D. Effects of corn naturally contaminated with mycotoxins on performance and digestive physiology of ducks and its mechanism[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [23] Han X Y, Huang Q C, Li W F, *et al.* Changes in growth performance, digestive enzyme activities and nutrient digestibility of cherry valley ducks in response to aflatoxin B₁ levels[J]. *Livestock Science*, 2008, 119(1-3): 216-220.
- [24] 巨增曲珍, 廖雪莲, 侯晨姝, 等. 胰蛋白酶在脓毒症大鼠模型血清及组织中的表达及意义[J]. *中华内科杂志*, 2018, 57(7): 505-510.
- Dan Z Q Z, Liao X L, Hou C Z, *et al.* The expression of trypsin in serum and vital organs of septic rats[J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 2018, 57(7): 505-510(in Chinese).
- [25] 何杰, 吴代武, 叶元土, 等. 饲料组胺水平对黄颡鱼生长性能、血清生化指标和胃肠道黏膜结构的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(7): 2581-2593.
- He J, Wu D W, Ye Y T, *et al.* Effects of dietary histamine level on growth performance, serum biochemical indexes and gastrointestinal mucosa structure of Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(7): 2581-2593(in Chinese).
- [26] Yan Q, Xie S, Zhu X, *et al.* Dietary methionine requirement for juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 13(3): 163-169.
- [27] Han D, Xie S, Zhu X, *et al.* Growth and hepatopancreas performances of gibel carp fed diets containing low levels of aflatoxin B₁[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 16(4): 335-342.
- [28] 王静. 饲料中黄曲霉毒素 B₁ 对凡纳滨对虾生长、生化指标及肝胰腺显微结构的影响 [D]. 保定: 河北农业大学, 2014.
- Wang J. Toxic effects of aflatoxin B₁ on growth performance, biochemical and hepatopancreas microstructure of *Litopenaeus vannamei*[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2014 (in Chinese).
- [29] 石勇, 胡毅, 刘艳莉, 等. 血根碱对LPS诱导后黄鳝免疫应激及肠道炎症相关基因表达的影响[J]. *中国水产科学*, 2020, 27(1): 125-136.
- Shi Y, Hu Y, Liu Y L, *et al.* Effects of sanguinarine on immune and intestinal inflammation related to gene expression in rice field eels (*Monopterus albus*) induced by LPS[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2020, 27(1): 125-136(in Chinese).
- [30] 张媛媛, 宋理平, 胡斌, 等. 饲料中添加姜黄素对尼罗罗非鱼幼鱼生长和四氯化碳诱导肝损伤的影响[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(6): 1271-1280.
- Zhang Y Y, Song L P, Hu B, *et al.* Effect of curcumin on growth performance and protective effect of liver injury induced by carbon tetrachloride in *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(6): 1271-1280(in Chinese).
- [31] Zhao W, Wang L, Liu M, *et al.* Transcriptome, antioxidant enzyme activity and histopathology analysis of hepatopancreas from the white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed with aflatoxin B₁(AFB₁)[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 74: 69-81.
- [32] 周小新. 牛磺酸对黄曲霉毒素 B₁ 中毒大鼠脾脏功能影响的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2019.
- Zhou X X. Effect of taurine on spleen function of aflatoxin B₁ poisoned rats[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [33] Lu C, Ling F, Ji J, *et al.* Expression of immune-related genes in goldfish gills induced by *Dactylogyrus* intermediate infections[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(1): 372-377.
- [34] Moore K W, de Waal Malefy R, Coffman R L, *et al.* Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor[J]. *Annual Review of Immunology*, 2001, 19(1): 683-765.

Effects of aflatoxin B1 on growth performance and liver function of juvenile *Pelteobagrus fulvidraco*

ZHONG Lei¹, WANG Ziqin¹, WANG Jinlong^{2,3*}, XIA Liqiu⁴,
CHEN Liyuan⁵, ZHOU Jiancheng⁶, HU Yi^{1*}

(1. Hunan Engineering Research Center for Utilization of Characteristics Aquatic Resources,
Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Collage of Life and Environmental Sciences, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China;

3. Hunan Fisheries Science Institute, Changsha 410153, China;

4. College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

5. Jiangsu Aomai Bio-Technology Co.LTD, Nanjing 210000, China;

6. Wuhan DBN Aquaculture Technology Co. LTD, Wuhan 430090, China)

Abstract: An experiment was conducted to study the effect of aflatoxin B1 on growth performance, digestive enzyme activities in intestinal tract and liver function of juvenile *Pelteobagrus fulvidraco*. Four experimental diets were prepared to contain 0 (control), 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ aflatoxin B1. Each diet was randomly assigned to triplicate cages of 50 fish with an initial average weight of (6.00 ± 0.10) g for 8 weeks. The results showed that: ① There were no significant differences in survival rate, feed coefficient ratio and specific growth rates of juvenile *Pelteobagrus fulvidraco* among all groups. The activity of trypsin in the AFB1 group significantly increased compared with the control group. When the AFB1 concentration reached 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the amylase and lipase activities significantly decreased; ② With increasing AFB1 concentration, the levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glucose, triglyceride, total bile acid and total cholesterol contents in serum significantly increased, and the AST, ALT activities in the liver significantly decreased; ③ With increasing AFB1 concentration, the catalase activity and malondialdehyde content in the liver significantly increased. The superoxide dismutase activity significantly increased when the AFB1 concentration reached 100 and 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$; ④ With increasing AFB1 concentration, the expression levels of *sod* and *il-1 β* in the liver were significantly up-regulated, the expression levels of *cat*, *il-10* and *il-8* in the liver were significantly up-regulated when the AFB1 concentration reached 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$; ⑤ Histological observations showed that an increase in the concentration of AFB1 caused some liver cells to present slight atrophy, hepatocyte nucleus shifted, cell boundary blurred, liver cell vacuolation degree. The results showed that under the experimental conditions, there was no significant effect on the growth of juvenile *Pelteobagrus fulvidraco* with the concentration of AFB1 ≤ 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, but it could affect the digestion and absorption function of the intestines, cause oxidative stress and inflammatory reactions in the liver, and result in liver function damage with the concentration of AFB1 ≥ 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; aflatoxin; growth performance; liver function

Corresponding authors: WANG Jinlong. E-mail: 124532076@qq.com;

HU Yi. E-mail: huyi740322@163.com

Funding projects: Special Technical System for Freshwater Fish Industry with National Characteristics (CARS-46); National Key Laboratory of Freshwater Fish Development Biology Open Fund (2020KF006); 2019 Science and Technology Cooperation Project of DBN