



甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉品质的影响

马莹莹¹, 贾永义², 顾亭亭¹, 张志勇¹, 王童¹,
张美玲¹, 杜震宇¹, 乔芳^{1*}

(1. 华东师范大学生命科学学院, 水生动物营养与环境健康实验室, 上海 200241;

2. 浙江省淡水水产研究所, 浙江 湖州 313001)

摘要: 甘露寡糖是一种新型饲料添加剂, 但是它对于鱼类肌肉品质的影响并无系统性报道。为此, 本实验选择平均体重为 (2.2±0.2) g 的健康尼罗罗非鱼幼鱼 315 尾, 随机分成对照组 (C, 淀粉水平为 35%)、高糖处理组 (HC, 淀粉水平为 45%) 和高糖饲料中添加甘露寡糖处理组 (HM, 淀粉水平为 45%, 甘露寡糖添加量为 0.5%), 每组 3 缸, 每缸 35 尾, 投喂 10 周后, 测定其生长、肌肉营养成分和质构特性等相关指标。结果显示, 与对照组相比, HC 组尼罗罗非鱼肝体比、肌肉内聚性、肌纤维数量、肌苷酸含量、鲜味氨基酸占比、甘油三酯含量以及可促进肌肉生长的钙蛋白酶抑制蛋白基因 *CAST* 相对表达量均显著升高; 肌肉硬度、胶着性、咀嚼性、肌纤维直径、蒸煮损失、必需氨基酸占比、在肌纤维的分化中起着重要作用的 *MyoG* 基因相对表达量以及脂肪酸、甘油二酯和磷脂酰肌醇含量显著降低。与 HC 组相比, HM 组尼罗罗非鱼的肌肉弹性、必需氨基酸占比、脂肪酸和甘油二酯含量以及 *CAST* 基因相对表达量显著增加; 肌肉粘力、肌纤维数量、肌苷酸含量、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰胆碱含量以及 *MyoG* 基因相对表达量均显著降低。与对照组相比, HM 组尼罗罗非鱼增重率和肌肉内聚性、甘油三酯和脂肪酸含量显著增加; 肝体比、肌肉硬度、咀嚼性以及磷脂含量均显著降低。研究表明, 甘露寡糖可以通过提高高糖饲喂下尼罗罗非鱼的产肉率、肌肉保水性、肌肉口感和氨基酸营养价值来提升其品质, 但是其对于肌肉中磷脂的影响不容忽视。本研究综合评价了甘露寡糖对尼罗罗非鱼生长和肌肉品质的影响, 以期拓宽其作为饲料添加剂的应用范围。

关键词: 尼罗罗非鱼; 高糖饲喂; 甘露寡糖; 肌肉品质

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

由于国际鱼粉资源紧缺, 造成饲料原料中优质蛋白的价格颇高, 因此人们常通过提高饲料中的糖水平或脂肪水平来降低饲料成本^[1]。然而, 随着我国民众生活水平的改善, 人们对高质量水产品的需求不断提高, 鱼肉的外观色泽、口感及营养价值等品质会直接影响消费者的选择^[2]。因此, 如何在降低饲料成本、保证鱼类正常生长

的同时, 又不影响鱼肉品质, 甚至提升鱼肉品质, 是亟待研究的课题。

鱼肉品质受诸多因素的影响, 包括品种、饵料、养殖方式、水质、养殖密度、水温以及后期的鱼肉保鲜方式等^[3-4]。近年来的研究表明, 饲料添加剂也会对鱼肉品质造成影响。例如, 在饲料中添加 0.8%~1.2% 的酶处理大豆蛋白可改善草鱼

收稿日期: 2021-07-05 修回日期: 2021-11-15

资助项目: 浙江省淡水水产研究所部省级重点实验室开放课题; 国家重点研发计划 (2018YFD0900400)

第一作者: 马莹莹 (照片), 从事水产动物营养与品质研究, E-mail: 10181900136@stu.ecnu.edu.cn;

贾永义, 从事水产养殖及繁育研究, E-mail: yongyi_jia@163.com

通信作者: 乔芳, 从事水生动物营养与品质研究, E-mail: fqiao@bio.ecnu.edu.cn



(*Ctenopharyngodon idella*) 肌肉的嫩度、多汁性、风味和抗氧化能力^[5]。而添加 10% 的膳食构树 (*Broussonetia papyrifera*) 可通过提高肌肉硬度、减少脂肪积累和肌肉纤维直径来改善草鱼肌肉品质^[6]。另外, 在大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 的饲料中添加月桂酸单甘油酯可显著提高其肌肉纤维粗脂肪含量, 降低肌纤维直径, 进而显著改变肌肉组织的内聚性; 还可显著促进大黄鱼氨基酸的生物合成和代谢, 如促进风味相关氨基酸 (谷氨酸、甘氨酸和脯氨酸) 含量显著升高, 促进蛋白质和脂类的合成, 激活大黄鱼产肌相关信号通路^[7]。同时, 饲料中铁元素缺乏或过量均会对草鱼幼鱼肌肉的抗氧化能力产生影响^[8]。

随着人们对肉类品质要求的不断提高, 功能性饲料添加剂越来越受到关注。当前, 由于糖类物质产量丰富, 价格低廉, 常用在鱼类饲料中代替部分鱼粉, 从而起到节约蛋白质、降低饲料成本的效果。杂食性的罗非鱼对于糖类物质的利用率较高, 根据生长阶段的不同, 其对可消化糖类的利用率通常为 30%~70%^[9]。然而, 摄入过多的糖类会对罗非鱼的生长产生不利影响, 并干扰其代谢稳态及免疫状态^[10]。甘露寡糖 (mannan oligosaccharides, MOS) 是由几个甘露糖分子或甘露糖与葡萄糖通过 α -糖苷键连接组成的非吸收性低聚寡糖, 其在小肠内几乎不会被消化利用而直接进入消化道后段, 可作为营养物质被动物肠道内固定的有益菌消化利用, 从而丰富益生菌的种类和数量, 增强动物的生长性能^[11-12]。刘爱君等^[13]发现, 在奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 饲料中添加 0.5% MOS 可以提高罗非鱼的增重率、干物质消化率和蛋白质消化率。本团队的研究显示, 饲料中添加 0.2%~0.3% MOS 可以显著提高中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 的生长性能, 改善肠道细胞膜的完整性, 增强抗氧化能力和非特异性免疫力^[14]。另外, 对于 MOS 改善肉质也有一些报道, 例如 Cheng 等^[15]的研究发现, 补充膳食 MOS 可以部分改善肉鸡热应激引起的氧化损伤, 从而提高肉鸡的肌肉品质。Abdel-Raheem 等^[16]和 Attia 等^[17]发现饲料中添加 MOS 可以提高鸡胸肉和兔肉的持水力 and 嫩度。但是, MOS 对养殖鱼类肌肉品质的影响尚未得到充分研究。已有研究发现, 随着饲料中 MOS 添加量的升高, 低眼无齿鲢 (*Pangasianodon hypophthalmus*) 肌肉中水分逐渐减少, 脂肪含量逐渐升高, 而 0.4% MOS 添加组的蛋白含量最高^[18]。从以上结果可预见, 饲料中添

加 MOS 可能会影响鱼肉的营养成分, 但 MOS 的添加对于肉质的影响需要更深入的研究。

罗非鱼是世界第 2 大养殖鱼类, 也是我国的主要养殖水产品种, 其肉质鲜美, 蛋白含量高, 受到消费者的一致好评^[19]。尽管罗非鱼作为杂食性鱼类对饲料糖类物质的耐受性较高, 但也有不少研究报道了高糖饲料对罗非鱼生长健康所造成的负面影响^[20-21]。因此, 如果在罗非鱼的高糖饲料中添加适量的 MOS, 可能会减轻高糖饲料对罗非鱼生长的不利影响, 也可能对其肌肉品质指标产生影响。为验证和评估这一假设, 本实验以尼罗罗非鱼为对象, 探究 MOS 对其在高糖饲喂下生长及肌肉品质的影响。本研究通过探讨肌肉的物理性状、常规生化指标、营养成分以及肌肉纤维生长等指标, 综合评价 MOS 这种功能性添加剂对尼罗罗非鱼生长和肌肉品质的影响, 以期拓宽 MOS 作为饲料添加剂的应用范围。

1 材料与方 法

1.1 实验设计与饲料

实验所用尼罗罗非鱼购自广州市添发鱼苗发展有限公司, 暂养期间按照体重的 3% 投喂通威商品饲料, 鱼苗暂养 2 周直至稳定。然后选择体重为 (2.2±0.2) g 的幼鱼 315 尾, 随机分为 3 个处理组, 每个处理组设 3 个平行缸, 每个缸内 35 尾鱼。实验期间水温 (28.0±0.5) °C, pH (7.0±0.5), 溶解氧 > 6.0 mg/L。日光灯照射时间 7:00—19:00, 模拟日常光照。每个组分别用正常糖饲料 (对照组, C, 淀粉水平为 35%)、高糖饲料 (高糖组, HC, 淀粉水平为 45%) 以及高糖饲料中添加甘露寡糖 (高糖+甘露寡糖组, HM, 淀粉水平为 45%, 甘露寡糖添加量为 0.5%) (均为质量分数), 按照体重的 6% 投喂, 每天投喂 2 次, 投喂周期为 10 周。饲料配方见表 1。本实验过程中, 操作人员严格遵守华东师范大学动物实验伦理审查委员会实验动物伦理规范, 并按照华东师范大学动物实验伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 样品采集和生长指标测定

养殖实验结束后, 从每组的 3 个缸中各取 10 尾鱼 (每组 30 尾鱼), 用麻醉剂 (MS-222, 20 mg/L) 麻醉, 测量体长和体重。每条鱼解剖后取肝脏和内脏团称重, 保存于 -80 °C 冰箱用于后续研究。采集无皮下脂肪组织的背部两侧肌肉样本,

表 1 实验饲料配方
Tab. 1 Formulation of experimental diets

项目 item	C	HC	HM
原料 ingredients			
鱼粉 fish meal	300	300	300
酪蛋白 casein	88	88	88
大豆分离蛋白 soybean protein isolate	50	50	50
玉米淀粉 corn starch	350	450	450
玉米油 corn oil	40	40	40
复合维生素 ¹⁾ vitamin premix	15	15	15
复合矿物质 ²⁾ mineral premix	15	15	15
羧甲基纤维素钠 CMC	10	10	10
纤维素 cellulose	109.75	9.75	4.75
二叔丁基 BHT	0.25	0.25	0.25
氯化胆碱 choline chloride	5	5	5
诱食剂 phagostimulant	2	2	2
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	15	15	15
甘露寡糖 mannan oligosaccharides	0	0	5
常规成分 proximate composition			
粗蛋白 crude protein	328.2	328.2	328.2
粗脂肪 crude lipid	64	64	64

注: 1). 复合维生素(mg/kg)包含维生素A 172.0, 维生素D₃ 12.5, 维生素E 2 500.0, 维生素K₃ 5 000.0, 维生素B₁ 5 000.0, 维生素B₂ 5 000.0, 维生素B₆ 5 000.0, 维生素B₁₂ 5.0, 肌醇 25 000.0, 泛酸 10 000.0, 胆碱 100 000.0, 烟酸 2 500.0, 叶酸 1 000.0, 生物素 250.0, 维生素C 10 000.0; 2). 复合矿物质(g/kg)包含硫酸镁 147.4, 氯化钠 49.8, 葡萄糖酸铁 10.9, 硫酸锌 3.12, 硫酸铜 0.62, 碘化钾 0.16, 氯化钴 0.08, 钼酸钠 0.06, 亚硒酸钠 0.022. C.对照组, 饲料中淀粉水平为35%; HC.高糖组, 饲料中淀粉水平为45%; HM.高糖饲料中添加甘露寡糖组, 饲料中淀粉水平为45%, 甘露寡糖添加量为0.5%, 下同。

Notes: 1). vitamin mixture(mg/kg) contain vitamin A 172.0, vitamin D₃ 12.5, vitamin E 2 500, vitamin K₃ 5 000.0, vitamin B₁ 5 000.0, vitamin B₂ 5 000.0, vitamin B₆ 5 000.0, vitamin B₁₂ 5.0, inositol 25 000.0, pantothenic acid 10 000.0, choline 100 000.0, niacin 2 500.0, folic acid 1 000, biotin 250.0, vitamin C 10 000.0; 2). mineral mixture (g/kg) contain MgSO₄·7H₂O 147.4, NaCl 49.8, Fe(II) gluconate 10.9, ZnSO₄·7H₂O 3.12, CuSO₄·5H₂O 0.62, KI 0.16, CoCl₂·6H₂O 0.08, NH₄ molybdate 0.06, Na₂SeO₃ 0.022. Control group contain the diet carbohydrate is 35%, high-carbohydrate diet contain the diet carbohydrate is 45%, high-carbohydrate added with mannan-oligosaccharides diet contain the diet carbohydrate is 45%, and mannan-oligosaccharides addition is 0.5%, C. control, HC. high-carbohydrate diet, HM. high-carbohydrate diet with mannan-oligosaccharides addition, the same below.

其中一侧做质构及营养成分分析, 另一侧用液氮冷冻后保存于-80 °C 冰箱, 用于后续研究。增重率、肥满度、脏体比和肝体比计算公式^[22]:

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

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

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

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

式中, W_0 为初始体重 (g), W_t 为终末体重 (g), L 为鱼体长 (cm), W_v 为鱼内脏团重 (g), W_h 为鱼肝脏重 (g)。

1.3 肌肉的质构特性

罗非鱼肌肉质构特性使用质构仪 (Brookfield CT3) 进行测量, 探头类型为 TA3/100, 用 TPA 模式测定肌肉的硬度、粘力、内聚性、弹性、胶着性和咀嚼性, 测试速度为 0.5 mm/s, 目标值为 0.5

mm, 循环次数为 2, 触发点负载为 6.8 g^[23]。从每个处理组的 3 个缸中各取 7 尾鱼, 解剖后取完整背部肌肉, 切取长宽厚分别为 4 cm × 3 cm × 2 cm 的块状肌肉在质构仪上进行检测。

1.4 肌肉纤维的测定

取尼罗罗非鱼背部肌肉 (1 cm × 1 cm × 1 cm), 用 Bouin 氏液固定, 石蜡包埋。使用 Harris 苏木素-伊红染色法 (H.E) 对 5 μm 厚度的切片进行染色, 并在光学显微镜 (Nikon DSRI2) 下进行观察。由于肌纤维的横截面呈不规则的椭圆形, 因此以椭圆表面的最长距离 (长轴直径) 来表示肌纤维的粗细。使用 IPP 软件测量肌纤维横截面最长轴直径并统计数量, 用 Image J 软件测量肌纤维面积^[24] (0.35 mm² 肌肉切片视野范围内, 200 倍放大倍数)。从每个处理组的 3 个缸中各取 4 尾鱼, 取肌肉组织

制成组织切片进行观察。

1.5 肌肉的理化特性及营养成分分析

肌肉乳酸含量测定 取 0.2 g 背部肌肉样品, 加入 9 倍体积的去离子水后匀浆, 然后用南京建成生物工程研究所生产的乳酸试剂盒检测肌肉组织匀浆液的乳酸含量^[22]。

蒸煮损失测定 取约 0.3 g 样品 (W_1) 于 2 mL 离心管中, 70 °C 水浴 10 min, 将样品从水浴中取出, 冷却至室温后称重 (W_2), 蒸煮损失 (%) = $(W_1 - W_2) / W_1 \times 100\%$ ^[22]。

肌苷酸含量的测定 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定肌苷酸 (IMP) 含量^[25]。从每个处理组的 3 个缸内各取 2 条鱼, 取 1 g 左右背部肌肉样品, 加入 5 mL 0.6 mol/L 高氯酸并用高速组织匀浆机匀浆后, 4 °C 8 000 r/min 离心 10 min。收集离心管上清液于 50 mL EP 管中, 加入 5 mL ddH₂O, 用 1 mol/L KOH (分析纯) 调 pH 值为 6.5~6.8, 用 ddH₂O 定容至 20 mL。4 °C、5 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 过滤后进行高效液相色谱分析。高效液相色谱仪 (Shimadzu LC-20AT, 日本) 色谱柱条件: 0.4 cm×25 cm 径向加压柱, 内装 5 μm C₁₈ 填料, 流动相为 pH 值 6.5 的磷酸钾溶液和甲醇 (95 : 5, 体积比), 流速为 1 mL/min, 紫外灯波长为 254 nm。肌苷酸的浓度通过标准曲线计算获得, 肌苷酸含量计算公式:

$$X = N \times 20 \text{ mL} / M$$

式中, X 为肌苷酸含量 (mg/g); N 为肌苷酸浓度 (mg/mL); 通过与标准曲线峰面积相比可得 M , 为鱼肌肉重量 (g)。

肌肉中水分、总蛋白和总脂肪的测定 从每个处理组的 3 个缸内各随机选取 2 尾鱼, 取其肌肉样品 (即每个处理组 6 份样品), 进行水分、总蛋白和总脂肪的测定。水分采用 105 °C 烘干法, 总蛋白采用半自动凯氏定氮法 (FOSS Kjeltac 8200, 瑞典), 总脂肪采用氯仿-甲醇法, 以上均参照国际标准法 AOAC (1995) 测定^[26]。

氨基酸组成分析 氨基酸组成分析是根据 Wei 等^[27] 的方法使用氨基酸自动分析仪 (日立 L-8900, 日本) 进行。从每个处理组的 3 个缸内各取 1 条鱼的肌肉, 冷冻干燥后制得肌肉干样, 取 20 mg 放入棕色水解瓶中, 加入 6 mol/L 盐酸 5 mL 和 20 μL 苯酚, 并在充氮气的状态下将水解瓶封口, 水解瓶放入 110 °C 烘箱中水解 24 h。冷却至

室温后, 取 1 mL 水解液至玻璃管中, 氮吹至干, 加入 1 mL 0.02 mol/L 盐酸溶解, 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液 700 μL 转移至上样瓶中, 上机检测。通过与标准品的峰面积进行比较, 得出肌肉中氨基酸的含量, 并以“mg/g 肌肉”表示。

脂质组成分析 肌肉中脂质组成分析参照吕宏波等^[22] 的方法。利用氯仿-甲醇提取法提取出脂肪, 并通过薄层色谱法 (TLC) 分离各种组分。从每个处理组的 3 个缸内各随机选取 2 尾鱼, 取肌肉样品 (每个处理组 6 份样品), 将提取出的 20 mg 肌肉总脂肪带状点样至标准薄层层析硅胶板上 (200 mm×200 mm), 首先以混合磷脂展层液 [乙酸甲酯 : 异丙醇 : 氯仿 : 甲醇 : 0.25% KCl = 25 : 25 : 25 : 10 : 9, 体积比] 展层 100 min, 50 °C 烘箱中干燥 30 min, 后转移至甘油三酯混合展层液 [异己烷 : 乙醚 : 乙酸 = 80.0 : 25.0 : 1.5, 体积比] 中展层 160 min, 50 °C 烘箱中干燥 20 min。碘染 20 min 后, 用薄层层析色谱扫描仪 (科哲 KH-3000 型) 分析脂类组成, 展开的脂类顺序依次为甘油三酯 (TG)、脂肪酸 (FA)、甘油二酯 (DG)、磷脂酸 (PA)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰肌醇 (PI) 和磷脂酰胆碱 (PC), 扫描出来的峰面积即代表各类脂质的绝对含量, 肌肉中各类脂质的含量表示为“mg/g 肌肉”。

1.6 实时荧光定量 (RT-qPCR) 测定

采用 RNA 提取试剂盒 (Aidlab, 中国) 提取肌肉总 RNA。用 NANODROP 2000 分光光度计 (Thermo, 美国) 检测总 RNA 的浓度。使用反转录试剂盒 (TaKaRa, 日本) 合成肌肉总 RNA 对应的 cDNA。生长因子 1α (EF1α) 和 β-肌动蛋白 (β-actin) 作为不同处理的双内参基因。引物特异性采用熔解曲线分析, 产物浓度采用 NCBI 测定。采用基因特异性引物 (序列如表 2 所示), 在 CFX Connect Real-Time System (Bio-Rad) 的 96 孔板上进行 RT-qPCR。2 μL cDNA 与 10 μL 2 × Ultra SYBR 混合液 (Aidlab, 中国) 混合, 每个基因特异性引物正向和反向各 2 μL, 6 μL ddH₂O 按 20 μL 体积混合。每个 qRT-PCR 反应重复 8 次。表达量由交叉点 (Cp) 的数据得出。采用 2^{-ΔΔC_t} 法计算相对 mRNA 表达量。

1.7 数据分析

使用 SPSS 20.0 软件 (IBM, USA) 进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 结果用平均值 ± 标准误 (mean ± SE) 表示。不同饲料投喂组之间进行 Duncan 氏多重比较分析, 显著性差异设为 $P < 0.05$ 。

表 2 qRT-PCR 检测中使用的引物

Tab. 2 Primers used in the qRT-PCR assay

基因名称 gene	序列 sequences (5' to 3')	基因登录号 gene accession no.
<i>EF1α</i>	F ATCAAGAAGATCGGCTACAACCCT R ATCCCTGAACCAGCTCATCTTGT	NM_001279647.1
β -actin	F AGCCTTCCTTCCTTGGTATGGAAT R TGTGGCGTACAGGTCCTTACG	XM_003443127.5
<i>MyoD</i>	F AACGCAGTTCAGTGGTCTCC R GATCAGCAAACATGCATCGGC	NM_001279720.1
<i>MyoG</i>	F AACGCAGTTCAGTGGTCTCC R GATCAGCAAACATGCATCGGC	NM_001279526.1
<i>MyHC</i>	F TGAGTCCCAGGTCAACAAGC R AGACTGGCCAAGTCAACAACA	LR535849.1
<i>CAST</i>	F CAGCCAGACAACACCCAAAC R AGACAGGTGCAGTCTCTGGTT	XM_005450321.4v

2 结果

2.1 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼生长和器官指标的影响

HC 组罗非鱼的增重率和脏体比与对照组相比无显著差异 ($P>0.05$), 而肝体比显著升高 ($P<0.05$), 说明摄入高糖饲料后, 尼罗罗非鱼的肝脏变大, 高糖饲料可能对尼罗罗非鱼的健康产生不利影响。HM 组尼罗罗非鱼的增重率比对照组和 HC 组显著升高, 脏体比显著降低 ($P<0.05$) (表 3), 这说明在高糖饲料中添加甘露寡糖能促进尼罗罗非鱼的生长, 增加产肉率。另外, HM 组尼罗罗非鱼的肝体比与对照组相比无显著差异, 与 HC 组相比有所下降但尚未表现出显著差异, 间接说明甘露寡糖有可能减轻高糖饲料对尼罗罗非鱼肝脏产生的不利影响。

2.2 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉质地特性的影响

与对照组相比, HC 组尼罗罗非鱼肌肉硬度、胶着性和咀嚼性显著降低, 而内聚性显著增加

($P<0.05$), 说明 HC 组比 C 组的尼罗罗非鱼肌肉更软更紧密 (表 4)。与 HC 组相比, HM 组尼罗罗非鱼肌肉硬度和胶着性下降更为显著, 内聚性增加更显著, 且弹性显著升高, 粘力显著降低 ($P<0.05$), 表明甘露寡糖的添加使得尼罗罗非鱼肌肉更加柔软紧密且有弹性。

2.3 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉纤维的影响

对肌纤维切片图进行统计分析得出, 与对照组相比, HC 组尼罗罗非鱼的较小直径肌肉纤维 (0~30 μm , 30~60 μm) 占比显著升高, 而较大直径肌肉纤维 (60~90 μm , 90~140 μm) 占比显著减少 ($P<0.05$) (图 1, 图 2, 图 3-b)。因此, 相同面积内 HC 组肌肉纤维的数量也显著升高 ($P<0.05$) (图 3-a)。与 HC 组相比, HM 组 30~60 μm 直径的肌肉纤维占比显著下降 ($P<0.05$), 但是尚未下降至对照组水平, 而 60~90 μm 直径的肌肉纤维占比有所回升, 但是差异不显著 ($P>0.05$)。相同面积内 HM 组肌肉纤维的数量显著降低 ($P<0.05$), 但是尚未下降至对照组水平 (图 1, 图 3-a)。所以, 高糖饲料和高糖饲料添加甘露寡糖均能增加尼罗罗非鱼肌肉

表 3 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼生长和器官指标的影响

Tab. 3 Effects of mannose-oligosaccharides addition on growth indexes of *O. niloticus* fed with high-carbohydrate diet

项目 item	C	HC	HM
增重率/% weight gain rate	1743.99 \pm 113.26 ^a	1988.78 \pm 90.12 ^a	2519.23 \pm 90.36 ^b
肥满度/(g/cm ³) condition factor	3.42 \pm 0.05	3.37 \pm 0.17	3.41 \pm 0.09
脏体比/% viscerosomatic	15.57 \pm 0.59 ^b	14.55 \pm 0.43 ^b	12.92 \pm 0.28 ^a
肝体比/% hepatosomatic	4.23 \pm 0.23 ^a	4.85 \pm 0.21 ^b	4.54 \pm 0.15 ^{ab}

注: 不同小写字母表示同行之间有显著差异, 下同。

Notes: Different lowercases refer to the significant difference in the same line, the same below.

表 4 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉质构特性的影响
Tab. 4 Effects of mannose-oligosaccharides addition on the muscle texture quality of *O. niloticus* fed with the high-carbohydrate diet

项目 item	C	HC	HM
硬度/g hardness	85.64±8.50 ^c	64.39±5.17 ^b	44.64±1.25 ^a
粘力/g adhesion	1.12±0.08 ^b	1.25±0.10 ^b	0.75±0.02 ^a
内聚性 cohesiveness	0.62±0.01 ^a	0.68±0.01 ^b	0.74±0.01 ^c
弹性/mm springness	0.53±0.01 ^a	0.53±0.01 ^a	0.56±0.01 ^b
胶着性/g gumminess	50.99±3.63 ^c	42.87±2.84 ^b	34.02±1.01 ^a
咀嚼性/mJ chewiness	0.26±0.02 ^b	0.22±0.01 ^a	0.19±0.01 ^a

纤维密度, 而高糖饲料的作用更显著。

2.4 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉理化特性及营养成分的影响

与对照组相比, HC 组尼罗罗非鱼肌肉的蒸

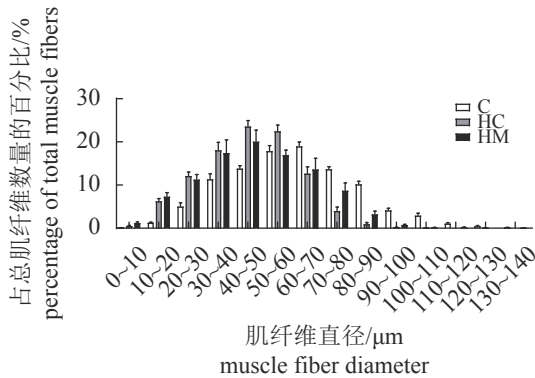


图 1 尼罗罗非鱼不同直径肌纤维的占比分布图

Fig. 1 Proportion distribution of different muscle fiber diameters of *O. niloticus*

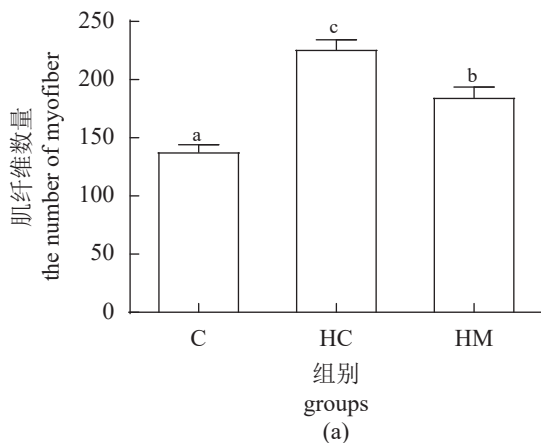


图 3 尼罗罗非鱼肌纤维数量 (a) 和肌纤维直径 (b)

(a) 不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$; (b) 不同小写字母表示在同一肌纤维直径范围内 (如 0~30 μm), 组间差异显著, $P < 0.05$ 。

Fig. 3 Number (a) and proportion (b) of muscle fiber of *O. niloticus* in three groups

(a) difference lowercases refer to significant differences, $P < 0.05$; (b) difference lowercases refer to significant differences between the three diet groups in the same muscle fiber diameter range, $P < 0.05$.

煮损失显著降低 ($P < 0.05$), 肌苷酸含量显著升高 ($P < 0.05$), 但肌肉乳酸含量、水分、总蛋白和总脂肪含量无显著差异 ($P > 0.05$) (表 5)。与 HC 组相比, HM 组尼罗罗非鱼除肌肉的肌苷酸含量显著降低外 ($P < 0.05$), 其他指标没有显著变化 ($P > 0.05$)。但 HM 组肌苷酸含量显著高于 C 组 ($P < 0.05$)。说明高糖饲料和高糖饲料中添加甘露寡糖均能降低尼罗罗非鱼肌肉的蒸煮损失, 并且提升鲜味, 对于肌肉的蛋白质和脂肪含量等营养成分无明显影响。

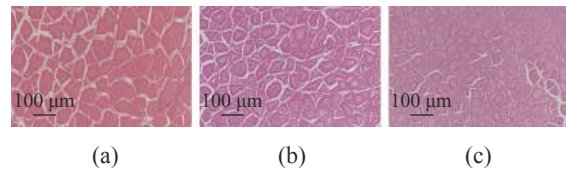


图 2 尼罗罗非鱼肌肉纤维切片图

(a) C 组, (b) HC 组, (c) HM 组。

Fig. 2 Muscle fiber section of *O. niloticus*

(a) C group, (b) HC group, (c) HM group.

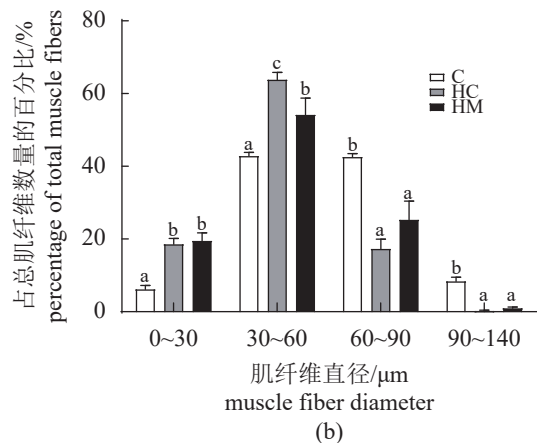


表 5 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉理化特性及营养成分的影响

Tab. 5 Effects of mannose-oligosaccharides addition on the physical and chemical properties and nutritional components of muscle in *O. niloticus* fed with the high-carbohydrate diet

项目 item	C	HC	HM
乳酸/(mg/g) lactate	3.04±0.26	3.15±0.22	2.65±0.22
蒸煮损失/% cooking loss	39.16±4.19 ^b	24.19±1.25 ^a	23.87±0.96 ^a
肌苷酸/(mg/g) inosinic	2.99±0.19 ^a	4.01±0.09 ^c	3.58±0.12 ^b
水分/% moisture	79.03±1.82	77.27±0.93	77.05±0.93
总蛋白/% total protein	16.08±1.15	18.11±0.93	17.00±0.58
总脂肪/% total lipid	0.82±0.18	1.07±0.31	1.36±0.30

2.5 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉组织中氨基酸含量的影响

与对照组相比, 高糖饲料使尼罗罗非鱼肌肉中鲜味氨基酸 (DAA)、半必需氨基酸 (SEAA) 和总氨基酸 (TAA) 含量显著升高, DAA/TAA 和支链氨基酸 (BCAA)/芳香族氨基酸 (AAA) 也显著升高 ($P<0.05$), EAA/TAA 显著降低 ($P<0.05$) (表 6)。在高糖饲料中添加甘露寡糖后, 尼罗罗非鱼肌肉中必需氨基酸 (EAA)、DAA、SEAA 和 TAA 含量比 HC 组和 C 组均显著降低 ($P<0.05$); BCAA/AAA 与 HC 组相比无显著变化 ($P>0.05$), 但是显著高于对照组; HM 组 EAA/TAA 与 HC 组相比显著升高 ($P<0.05$), 与对照组相比无显著差异 ($P>0.05$) (表 6)。以上结果表明, 高糖饲料在提高尼罗罗非鱼肌肉中风味氨基酸含量的同时也降低了氨基酸的营养价值, 添加甘露寡糖后, 肌肉中氨基酸的风味有所降低, 但 EAA 相对含量显著增加。

2.6 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉组织中脂质组成的影响

与对照组相比, 高糖饲料饲喂下的尼罗罗非鱼肌肉中 TG 含量显著升高 ($P<0.05$), 而 FA、DG 和 PI 含量显著降低 (图 4) ($P<0.05$)。添加甘露寡糖后, 与 HC 组相比, 尼罗罗非鱼肌肉中 FA 和 DG 含量显著升高 ($P<0.05$), 而 PE 和 PC 含量显著减少 ($P<0.05$)。另外, 与对照组相比, HM 组尼罗罗非鱼肌肉中 TG 和 FA 含量显著升高 ($P<0.05$), PE、PI 和 PC 含量显著降低 ($P<0.05$), 而 DG 含量无显著差异。以上结果说明, 高糖饲料使罗非鱼肌肉中堆积 TG, 而使 FA、DG 和 PI 含量减少。添加甘露寡糖可以使 DG 含量恢复至对照组水平, 且使 FA 含量升高, 但会使 PE 和 PC 含量减少。

2.7 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉组织中肌纤维生长相关基因的相对表达量的影响

与对照组相比, HC 组尼罗罗非鱼肌肉中 *MyoG* 基因的表达量显著降低 (图 5-b) ($P<0.05$), *CAST* 基因的表达量显著升高 (图 5-d) ($P<0.05$)。高糖饲料中添加甘露寡糖后, 肌肉中 *MyoG* 的表达量下降地更为显著 (图 5-b) ($P<0.05$), *CAST* 的表达量增加地也更为显著 (图 5-d) ($P<0.05$), 但 *MyoD* 的表达量在 3 组间无显著差异 (图 5-a) ($P>0.05$)。说明 HC 组和 HM 组均能促使尼罗罗非鱼肌肉中 *MyoG* 基因的表达水平降低, 促使 *CAST* 和 *MyHC* 基因的表达水平上升, 并且添加甘露寡糖对 *MyoG* 和 *CAST* 基因表达的影响效果更明显。

3 讨论

3.1 甘露寡糖提升尼罗罗非鱼在高糖饲喂下的生长性能及健康

高能量饲料 (高脂肪/高碳水化合物) 的过量摄入会使鱼类在胴体、肝脏, 以及内脏周围沉积过量脂肪^[28], 从而对鱼类的生长和健康造成不良影响, 降低肉质和产肉率, 并在某些情况下诱发肝病等^[29]。因此, 通过营养方式调节脂质代谢, 添加有助于减少脂质沉积的饲料添加剂, 如甘油二酯油^[30] 和菊粉^[31] 等, 有助于改善动物的健康状况。本研究显示, 高糖饲料饲喂可使尼罗罗非鱼增重率与对照组持平, 但是会使肝体比显著增加, 这意味着高糖饲料虽然可以节约蛋白质和提高饲料效率, 但是可能会造成肝脏代谢异常, 这与前期研究结果一致^[10]。而在高糖饲料中添加甘露寡糖可以显著提高尼罗罗非鱼的增重率并降低脏体比, 即提高产肉率。在鱼类中, 肌肉的增加通常通过肌肉纤维的增粗和数量的增多两种机制来实现,

表 6 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌肉氨基酸组成的影响(干重)
Tab. 6 Effects of mannose-oligosaccharides on the amino acid composition in the muscle of
***O. niloticus* fed with the high-carbohydrate diet (dry weight)**

氨基酸 amino acids	C	HC	HM
谷氨酸 Glu ¹⁾	121.14±0.73 ^b	129.89±1.98 ^c	115.74±0.81 ^a
天冬氨酸 Asp ¹⁾	81.67±0.52 ^b	83.18±1.36 ^b	76.38±0.69 ^a
赖氨酸 Lys ²⁾	75.11±0.41 ^b	78.28±1.31 ^c	70.48±0.42 ^a
亮氨酸 Leu ^{2),3)}	63.73±0.38 ^b	66.24±1.05 ^c	60.41±0.37 ^a
丙氨酸 Ala ¹⁾	49.57±0.43 ^b	50.17±0.83 ^b	45.59±0.41 ^a
精氨酸 Arg ^{1),4)}	47.34±0.25 ^a	50.9±0.76 ^b	46.56±0.3 ^a
缬氨酸 Val ^{2),3)}	39.31±0.28 ^{ab}	40.56±0.68 ^b	38.35±0.29 ^a
甘氨酸 Gly ¹⁾	38.49±0.24 ^a	40.52±0.62 ^b	36.99±0.51 ^a
异亮氨酸 Ile ^{2),3)}	37.85±0.34 ^b	39.14±0.66 ^b	36.02±0.14 ^a
苏氨酸 Thr ²⁾	35.57±0.22 ^a	37.57±0.57 ^b	34.31±0.26 ^a
苯丙氨酸 Phe ^{2),5)}	34.32±0.26 ^b	33.81±0.61 ^b	31.29±0.22 ^a
丝氨酸 Ser	31.11±0.23 ^a	32.51±0.49 ^b	29.92±0.28 ^a
酪氨酸 Tyr ⁵⁾	26.59±0.26 ^a	28.05±0.50 ^b	25.72±0.17 ^a
组氨酸 His ⁴⁾	24.32±0.05 ^b	23.46±0.44 ^b	21.18±0.20 ^a
蛋氨酸 Met ²⁾	20.94±0.27	22.07±1.05	20.79±0.20
半胱氨酸 Cys	3.35±0.47	4.24±0.86	4.89±0.33
EAA	306.82±2.05 ^b	317.67±5.61 ^b	291.65±1.73 ^a
DAA	338.22±2.14 ^b	354.66±5.53 ^c	321.26±2.63 ^a
SEAA	71.66±0.22 ^b	74.36±0.89 ^c	67.75±0.31 ^a
TAA	730.42±5.05 ^b	760.57±12.75 ^c	694.64±4.98 ^a
EAA/TAA/%	42.01±0.03 ^b	41.76±0.06 ^a	41.99±0.06 ^b
SEAA/TAA/%	9.81±0.04	9.78±0.08	9.75±0.05
DAA/TAA/%	46.31±0.05 ^a	46.63±0.07 ^b	46.25±0.06 ^a
BCAA/AAA/%	231.31±0.31 ^a	235.94±0.57 ^b	236.42±0.33 ^b

注: 1). 鲜味氨基酸(DAA), 2). 必需氨基酸(EAA), 3). 支链氨基酸(BCAA), 4). 半必需氨基酸(SEAA), 5). 芳香族氨基酸(AAA), TAA. 总氨基酸。
 Notes: 1). delicious amino acids (DAA), 2). essential amino acids (EAA), 3). branched chain amino acids (BCAA), 4). semi-essential amino acids (SEAA), 5). aromatic amino acid (AAA), TAA. total amino acids.

在任何特定的生长阶段, 都是两种机制之间平衡的结果^[31-32]。本研究显示, HC 组较 C 组肌纤维数量显著上升, 而肌纤维直径显著下降。在添加甘露寡糖后, 肌纤维直径相对于 HC 组增加, 但数量显著下降。由此推断, 甘露寡糖能够促进尼罗罗非鱼生长主要是由于肌纤维直径的增粗造成的。另外, 甘露寡糖可以通过维持鱼类肠道的完整性, 提高肝脏的抗氧化能力等来缓解肝脏损伤, 从而提高鱼类的生长性能。如 Lu 等^[33]和 Torrecillas 等^[34]发现在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 和舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 体内, 甘露寡糖通过维持鱼类肠道的完整性, 提高抗氧化能力, 促进鱼类生长。舌齿鲈食用添加甘露寡糖的饲料 8 周后, 其肝脏中 β 氧化能力增强, 脂代谢活力增强^[11]。也

有研究者发现, 甘露寡糖可促使珍珠龙胆石斑鱼 [*Epinephelus lanceolatus* (♂) × *E. fuscoguttatus* (♀)] 通过提高肝脏的抗氧化能力, 增强免疫相关基因的表达, 减少细胞自噬相关基因的表达来提高鱼体免疫力, 促进健康生长^[35]。因此在本实验中, 与 HC 组相比, 添加甘露寡糖使尼罗罗非鱼的脏体比显著降低, 肝体比有所降低, 说明甘露寡糖有可能促进脂代谢, 减少内脏脂肪, 改善肝脏健康状况, 使鱼类健康生长。

3.2 甘露寡糖促使尼罗罗非鱼肌肉纤维密度增大并提升肉质柔软度及弹性

质构特性是评价鱼肉品质的重要指标, 包括硬度、弹性、内聚性、咀嚼性、弹力和粘度等^[36]。

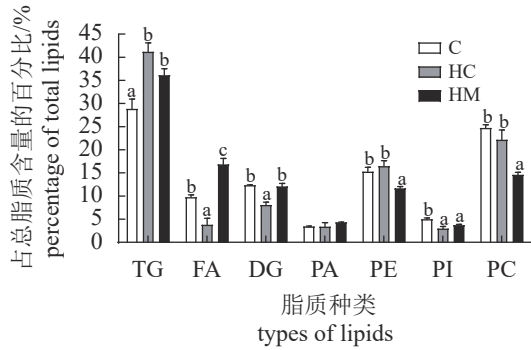


图 4 尼罗罗非鱼肌肉中各脂质的占比

TG.甘油三酯; FA.脂肪酸; DG.甘油二酯; PA.磷脂酸; PE.磷脂酰乙醇胺; PI.磷脂酰肌醇; PC.磷脂酰胆碱, 不同字母表示同一种脂质在三组之间有显著差异。

Fig. 4 Proportions of different lipids in the muscle of *O. niloticus*

TG. triglyceride; FA. fatty acids; DG. diglyceride, PA. phosphatidic acid; PE. phosphatidylethanolamine; PI. phosphatidylinositol; PC. phosphatidyl choline. Different lowercases refer to significant differences between the three groups.

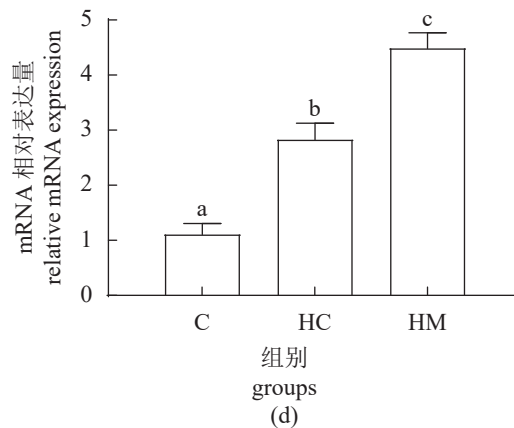
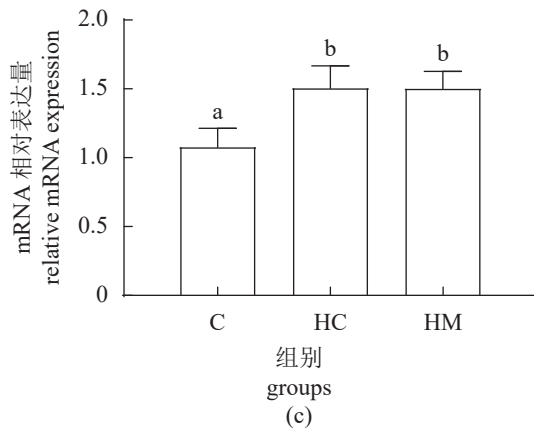
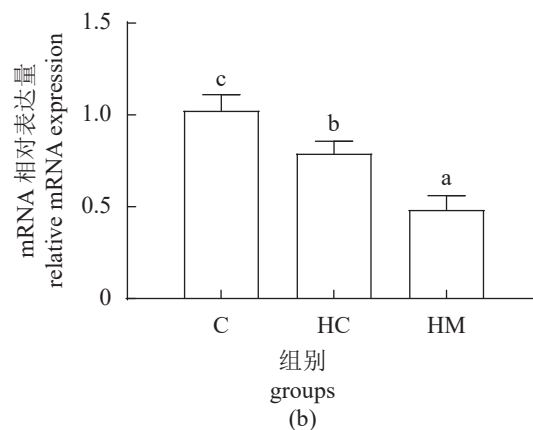
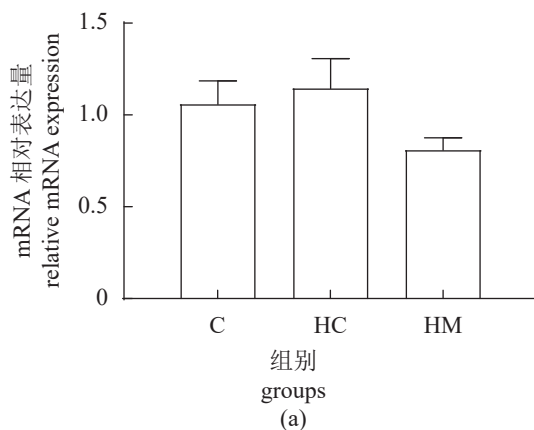


图 5 甘露寡糖对高糖饲喂下尼罗罗非鱼肌纤维生长相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig. 5 Effects of mannose-oligosaccharides addition on the relative mRNA expression of *O. niloticus* fed with the high-carbohydrate diet

(a) *MyoD*, (b) *MyoG*, (c) *MyHC*, (d) *CAST*.

韦玲静等^[37]已证实, 肌肉的硬度、咀嚼性、胶着性和粘力越大, 肌肉越结实, 口感越有嚼劲, 而且弹性越大, 肉质越爽脆^[38]。水分是生物体内含量最多的成分, 水分影响肉质的诸多指标, 如纤维分布、色泽、煮熟率、硬度、弹性、咀嚼性与黏着性以及风味等, 水分下降会引起肌肉的老化与嫩度下降^[39]。对于肉鸡和家兔来说, 饲料中添加 MOS 可以提高肌肉的持水力和嫩度^[15-16]。在本研究中, 与对照组相比, HC 组尼罗罗非鱼肌肉的硬度、胶着性和咀嚼性显著下降, 内聚性显著增加, 并且 HM 组的变化更为显著。另外, HC 组和 HM 组的肌肉蒸煮损失均显著低于对照组。以上结果表明, 高糖和高糖添加甘露寡糖处理均能够提高肌肉持水力, 使肌肉更嫩, 添加甘露寡糖后效果更明显, 这与 MOS 对于其他家禽肉质的提升作用效果相似。

鱼类肌肉纤维形态与口感密切相关。Johnston 等^[40]的研究表明, 鱼类肌肉的口感和肌纤维

密度呈正相关。在本研究中, HC 组和 HM 组的肌纤维数量显著多于对照组, 且 HC 组肌纤维数量最多。从肌纤维直径来看, C 组的较大直径肌纤维占比较高, 而 HC 组和 HM 组的较小直径肌纤维占比较高。所以, 高糖和高糖添加甘露寡糖处理均能增加肌纤维的密度, 从而使肌肉更嫩、更紧实, 口感也更好。

MyoD 和 MyoG 是肌原性调节因子 (MRFs) 家族的成员, MyoG 在肌纤维的分化中起着重要作用, 而 MyoD 控制着肌纤维的增多^[24]。在虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 体内, 饲料中的糖水平和饲喂时间均会影响骨骼肌 *MyoD* 的表达^[41]。在本研究中, 3 组之间的尼罗罗非鱼肌肉中 *MyoD* 表达量均无显著差异, 而 HC 组尼罗罗非鱼肌肉中 *MyoG* 表达量显著低于对照组, 并且添加甘露寡糖后其表达量进一步降低, 说明高糖和高糖添加甘露寡糖处理在一定程度上抑制了肌原细胞的分化。鱼类肌球蛋白重链基因 (*MyHC*) 是肌纤维类型形成的决定因子, 常用作区分肌纤维增多和增粗的分子标记^[42], 其与肉质性状密切相关, 高表达可使肌肉更加紧密有弹性^[43]。在本研究中, HC 组和 HM 组尼罗罗非鱼肌肉中的 *MyHC* 基因表达量显著高于对照组, 因此, 高糖和添加甘露寡糖都能够促进肌肉纤维增多, 使得肌肉内聚性显著升高, 肌肉更加紧密。钙蛋白酶抑制蛋白基因 (*CAST*) 可以通过抑制钙蛋白酶对蛋白的降解速率来促使肌肉更结实, 促进肌肉生长^[44] 并增加肌肉柔韧性^[45]。本研究中, HC 组的 *CAST* 表达量显著高于对照组, 添加甘露寡糖后 *CAST* 的表达量进一步升高, 这在分子水平上验证了高糖饲喂促使尼罗罗非鱼肌肉柔韧性增加, 而添加甘露寡糖后效果更显著。

3.3 甘露寡糖影响鱼肉营养价值和风味

肉类的营养成分指标主要包括蛋白含量、总脂肪含量、氨基酸组成和脂质组成等, 其中肌苷酸和鲜味氨基酸又是肉质鲜味的重要评判指标^[46]。

鱼类肌肉中 EAA 占总氨基酸含量 (EAA/TAA) 越高, 对人体的营养价值就越高。另外, 总氨基酸中 DAA 含量 (DAA/TAA) 和鱼类肌肉的鲜味成正比^[47]。本研究结果表明, 高糖处理使得尼罗罗非鱼肌肉中 DAA/TAA 显著升高而 EAA/TAA 显著降低, 而且其肌苷酸含量也显著升高, 说明高糖饲喂可以提高尼罗罗非鱼肌肉鲜味, 但会降低其氨基酸营养价值。而在添加甘露寡糖后, 则有

效缓解了高糖饲喂对尼罗罗非鱼肌肉中氨基酸营养的降低情况。贾成霞等^[48]对鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 和鳙 (*Aristichthys nobilis*) 以及施永海等^[49]对美洲鲈 (*Alosa sapidissima*) 的研究都表明, BCAA/AAA 比例高的肌肉具有保护人体肝脏的功能, 因此鱼肌肉中 BCAA/AAA 比例越高, 其营养价值越高。本研究中, HC 组的 BCAA/AAA 比例显著高于对照组, 添加甘露寡糖后比值进一步增大, 因此, 从肝脏保健的角度来看, 高糖饲料以及添加甘露寡糖饲喂下的尼罗罗非鱼肌肉的氨基酸营养价值均有所提升。

此外, 本团队的研究表明, 肌肉中 TG 和 PL 含量的变化影响着肌肉的营养价值和口感^[22]。过量摄入 TG 会引发心血管疾病, 而 PL 是细胞膜的重要组成部分, 并且肌肉中磷脂含量对肌肉中香味物质的形成具有重要作用^[50]。在本研究中, 高糖饲料引起罗非鱼肌肉中 TG 比例显著上升, FA 和 DG 占比降低, 但并不影响 PL 的比例, 而添加甘露寡糖后会引发 FA 占比显著升高、PL 占比显著下降。因此, 高糖或高糖添加甘露寡糖均会对鱼肉的脂质营养产生影响。

4 结论

本实验探究了高糖和添加甘露寡糖饲喂对尼罗罗非鱼肌肉品质的影响。结果显示, 高糖饲料饲喂可以保证尼罗罗非鱼增重率, 但是会影响其健康, 而添加甘露寡糖则可以使尼罗罗非鱼健康快速地生长并提高产肉率。另外, 高糖饲喂可以使罗非鱼肌肉的保水能力增强, 其肌肉更嫩、更柔韧, 提升肌肉鲜味, 但会降低氨基酸营养价值。而在高糖饲料中添加甘露寡糖后, 使肌肉更加柔韧且富有弹性, 提高氨基酸营养价值, 但是会降低磷脂含量。本研究表明, 添加甘露寡糖可以通过提高高糖饲喂下尼罗罗非鱼的产肉率、肌肉保水性、肌肉口感和氨基酸营养价值来提升鱼肉品质, 但是其对于肌肉中磷脂的影响也不容忽视。本研究结果为甘露寡糖作为饲料添加剂应用于水产养殖业提供了新的参考。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

[1] Carlberg H, Lundh T, Cheng K, *et al.* In search for pro-

- tein sources: evaluating an alternative to the traditional fish feed for Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.)[J]. *Aquaculture*, 2018, 486: 253-260.
- [2] Rodrigues P M, Richard N, De Vareilles M, *et al.* Assessing fish quality in aquaculture: a proteomics approach[C]//Rodrigues P, Eckersall D, De Almeida. Farm animal proteomics. Vilamoura: Wageningen Academic Publishers, 2012: 28-30.
- [3] Listrat A, Leuret B, Louveau I, *et al.* How muscle structure and composition influence meat and flesh quality[J]. *The Scientific World Journal*, 2016, 2016: 3182746.
- [4] Bahuaud D, Mørkøre T, Østbye T K, *et al.* Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *pre-* and *post-rigor* fillets exposed to short and long-term crowding stress[J]. *Food Chemistry*, 2010, 118(3): 602-615.
- [5] Song Y, Yan L C, Jiang W D, *et al.* Enzyme-treated soy protein supplementation in low protein diet improved flesh tenderness, juiciness, flavor, healthiness, and antioxidant capacity in on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(1): 213-230.
- [6] Tang T, Bai J H, Ao Z P, *et al.* Effects of dietary paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*) on growth performance and muscle quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Animals*, 2021, 11(6): 1655.
- [7] Wang J, Jiang H Q, Alhamed Y, *et al.* Integrated metabolomic and gene expression analyses to study the effects of glycerol monolaurate on flesh quality in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Food Chemistry*, 2022, 367: 130749.
- [8] Zhang L, Feng L, Jiang W D, *et al.* The impaired flesh quality by iron deficiency and excess is associated with increasing oxidative damage and decreasing antioxidant capacity in the muscle of young grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(1): 191-201.
- [9] Food and Agriculture Organization of the United Nation FAO. Cultured aquatic species information programme: *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) [R]. Rome : FAO, 2018.
- [10] Wang T, Zhang N, Yu X B, *et al.* Inulin alleviates adverse metabolic syndrome and regulates intestinal microbiota composition in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with high-carbohydrate diet[J]. *British Journal of Nutrition*, 2021, 126(2): 161-171.
- [11] Torrecillas S, Montero D, Caballero M J, *et al.* Effects of dietary concentrated mannan oligosaccharides supplementation on growth, gut mucosal immune system and liver lipid metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 42(2): 508-516.
- [12] 陈勇江, 王金荣, 苏兰利, 等. 甘露寡糖的作用机制及其在动物生产中的应用[J]. *饲料研究*, 2019, 42(1): 118-120.
Chen Y J, Wang J R, Su L L, *et al.* Mechanism of manno-oligosaccharide and its application in animal production[J]. *Feed Research*, 2019, 42(1): 118-120 (in Chinese).
- [13] 刘爱君, 冷向军, 李小勤, 等. 甘露寡糖对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)生长、肠道结构和非特异性免疫的影响[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2009, 35(3): 329-336.
Liu A J, Leng X J, Li X Q, *et al.* Effect of mannan oligosaccharides on growth performance, intestinal structure and nonspecific immunity of tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences)*, 2009, 35(3): 329-336 (in Chinese).
- [14] Lu J T, Qi C L, Limbu S M, *et al.* Dietary mannan oligosaccharide (MOS) improves growth performance, antioxidant capacity, non-specific immunity and intestinal histology of juvenile Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 510: 337-346.
- [15] Cheng Y F, Du M F, Xu Q, *et al.* Dietary mannan oligosaccharide improves growth performance, muscle oxidative status, and meat quality in broilers under cyclic heat stress[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2018, 75: 106-111.
- [16] Abdel-Raheem S M, Abd-Allah S M S. The effect of single or combined dietary supplementation of mannan oligosaccharide and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers[J]. *International Journal of Poultry Science*, 2011, 10(11): 854-862.
- [17] Attia Y A, Hamed R S, Abd E H A E, *et al.* Performance, blood profile, carcass and meat traits and tissue morphology in growing rabbits fed mannanoligosaccharides and zinc-bacitracin continuously or intermittently[J]. *Animal Science Papers and Reports*, 2015, 33(1): 85-101.
- [18] Akter M N, Sutriana A, Talpur A D, *et al.* Dietary supplementation with mannan oligosaccharide influences

- growth, digestive enzymes, gut morphology, and microbiota in juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*[J]. *Aquaculture International*, 2016, 24(1): 127-144.
- [19] FAO. The state of world fisheries and aquaculture[R]. Rome: FAO, 2020.
- [20] Luo Y, Hu C T, Qiao F, *et al.* Gemfibrozil improves lipid metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed a high-carbohydrate diet through peroxisome proliferator activated receptor- α activation[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2020, 296: 113537.
- [21] Li L Y, Wang Y, Limbu S M, *et al.* Reduced fatty acid β -oxidation improves glucose catabolism and liver health in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles fed a high-starch diet[J]. *Aquaculture*, 2021, 535: 736392.
- [22] 吕宏波, 张志勇, 张美玲, 等. 水体盐度与饲料脂肪含量对尼罗罗非鱼生长、营养组成和肉质的影响[J]. *水产学报*, 2020, 44(7): 1156-1172.
- Lü H B, Zhang Z Y, Zhang M L, *et al.* Influences of water salinity and dietary fat content on growth, nutrient composition and fillet quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(7): 1156-1172 (in Chinese).
- [23] Li H H, Pan Y X, Liu L, *et al.* Effects of high-fat diet on muscle textural properties, antioxidant status and autophagy of Chinese soft-shelled turtle (*Pelodiscus sinensis*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 511: 734228.
- [24] Zhang Z Y, Jiang Z Y, Lv H B, *et al.* Dietary aflatoxin impairs flesh quality through reducing nutritional value and changing myofiber characteristics in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2021, 274: 114764.
- [25] Ryder J M. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1985, 33(4): 678-680.
- [26] Jee M H. Official Methods of Analysis of AOAC International (16th edn); Official and Standardized Methods of Analysis (3rd edn) [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 1995, 6(11).
- [27] Wei Z H, Deng K Y, Zhang W B, *et al.* Interactions of dietary vitamin C and proline on growth performance, anti-oxidative capacity and muscle quality of large yellow croaker *Larimichthys crocea*[J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735558.
- [28] Prisingkorn W, Prathomya P, Jakovlić I, *et al.* Transcriptomics, metabolomics and histology indicate that high-carbohydrate diet negatively affects the liver health of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 856.
- [29] Landgraf K, Schuster S, Meusel A, *et al.* Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity[J]. *BMC Physiology*, 2017, 17(1): 4.
- [30] Zhang H, Luo Y, Lu D L, *et al.* Diacylglycerol oil reduces fat accumulation and increases protein content by inducing lipid catabolism and protein metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 510: 90-99.
- [31] Periago M J, Ayala M D, López-Albors O, *et al.* Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.[J]. *Aquaculture*, 2005, 249(1-4): 175-188.
- [32] White D P, Baumgarner B L, Watanabe W O, *et al.* The effects of dietary β -guanidinopropionic acid on growth and muscle fiber development in juvenile red porgy, *Pagrus pagrus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2018, 216: 48-58.
- [33] Lu Z Y, Feng L, Jiang W D, *et al.* Mannan oligosaccharides improved growth performance and antioxidant capacity in the intestine of on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 17: 100313.
- [34] Torrecillas S, Rivero-Ramírez F, Izquierdo M S, *et al.* Feeding European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles with a functional synbiotic additive (mannan oligosaccharides and *Pediococcus acidilactici*): an effective tool to reduce low fishmeal and fish oil gut health effects?[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 81: 10-20.
- [35] Ren Z L, Wang S F, Cai Y, *et al.* Effects of dietary mannan oligosaccharide supplementation on growth performance, antioxidant capacity, non-specific immunity and immune-related gene expression of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ \times *Epinephelus fuscoguttatus*♀)[J]. *Aquaculture*, 2020, 523: 735195.
- [36] 胡芬, 李小定, 熊善柏, 等. 5种淡水鱼肉的质构特性及与营养成分的相关性分析[J]. *食品科学*, 2011, 32(11): 69-73.
- Hu F, Li X D, Xiong S B, *et al.* Texture properties of freshwater fish and their correlation with nutritional

- components[J]. Food Science, 2011, 32(11): 69-73 (in Chinese).
- [37] 韦玲静, 叶香尘, 甘宝江, 等. 不同规格苏氏圆腹鲢生长性状和肌肉质构特性分析[J]. 水产养殖, 2020, 41(8): 22-25.
Wei L J, Ye X C, Gan B J, *et al.* Analysis of growth characteristics and muscle texture characteristics of different size of *Pangasius sutchi*[J]. Journal of Aquaculture, 2020, 41(8): 22-25 (in Chinese).
- [38] 王欣欣, 宋丽荣, 王乐, 等. 不同冻结条件下罗非鱼片的质构分析[J]. 食品与机械, 2012, 28(1): 205-207, 231.
Wang X X, Song L R, Wang L, *et al.* Texture analysis of tilapia fillets under different frozen conditions[J]. Food & Machinery, 2012, 28(1): 205-207, 231 (in Chinese).
- [39] Shi Y W, Zhang W G, Zhou G H. Effects of different moisture-permeable packaging on the quality of aging beef compared with wet aging and dry aging[J]. Foods, 2020, 9(5): 649.
- [40] Johnston I A, Alderson R, Sandham C, *et al.* Muscle fibre density in relation to the colour and texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. Aquaculture, 2000, 189(3-4): 335-349.
- [41] Chapalamadugu K C, Robison B D, Drew R E, *et al.* Dietary carbohydrate level affects transcription factor expression that regulates skeletal muscle myogenesis in rainbow trout[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2009, 153(1): 66-72.
- [42] 孙冉冉. 黄条鲮肌肉生长因子的克隆及其表达规律的研究 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2019.
Sun R R. Cloning and expression of muscle growth factor in the *Seriola aureovittata*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2019 (in Chinese).
- [43] Craig R, Woodhead J L. Structure and function of myosin filaments[J]. Current Opinion in Structural Biology, 2006, 16(2): 204-212.
- [44] 李东放, 李耀国, 金生振, 等. 草鱼(♀)×赤眼鲮(♂)F₁及其亲本CAST基因cDNA全长克隆与结构差异[J]. 水生生物学报, 2020, 44(3): 528-533.
Li D F, Li Y G, Jin S Z, *et al.* Full-length cDNA cloning and structural differences of the CAST gene from *Ctenopharyngodon idellus* (♀), *Squaliobarbus curriculus* (♂) and their hybrid F₁[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(3): 528-533 (in Chinese).
- [45] Arshad M S, Kwon J H, Imran M, *et al.* Plant and bacterial proteases: a key towards improving meat tenderization, a mini review[J]. Cogent Food & Agriculture, 2016, 2(1): 1261780.
- [46] 陈其美, 曾勇庆, 魏述东, 等. 不同猪种肌肉风味前体物质及其营养和食用品质特性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2010, 36(3): 299-305.
Chen Q M, Zeng Y Q, Wei S D, *et al.* Study on flavor precursors, nutritional and eating quality of meat for different pig breeds[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 2010, 36(3): 299-305 (in Chinese).
- [47] Yao L, Zhang A Q, Zhang H Y, *et al.* Effects of dietary aqueous extract from *Eucommia ulmoides* Oliver on growth, muscle composition, amino acid composition and fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Pakistan Journal of Zoology, 2021, 53(2): 603-611.
- [48] 贾成霞, 曲疆奇, 李永刚, 等. 密云水库鲢鱼、鳙鱼营养成分分析与评价[J]. 水产科学, 2019, 38(1): 40-47.
Jia C X, Qu J Q, Li Y G, *et al.* Nutritional compositions in muscles of silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* and bighead carp *Aristichthys nobilis* in Miyun Reservoir[J]. Fisheries Science, 2019, 38(1): 40-47 (in Chinese).
- [49] 施永海, 徐嘉波, 谢永德, 等. 美洲鲟鱼卵营养成分分析及评价[J]. 水产科学, 2020, 39(3): 407-413.
Shi Y H, Xu J B, Xie Y D, *et al.* Nutritional composition analysis and evaluation of eggs in American shad *Alosa sapidissima*[J]. Fisheries Science, 2020, 39(3): 407-413 (in Chinese).
- [50] Mottram D S, Edwards R A. The role of triglycerides and phospholipids in the aroma of cooked beef[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1983, 34(5): 517-522.

Effects of manna oligosaccharides on flesh quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with high carbohydrate diet

MA Yingying¹, JIA Yongyi², GU Tingting¹, ZHANG Zhiyong¹, WANG Tong¹,
ZHANG Meiling¹, DU Zhenyu¹, QIAO Fang^{1*}

(1. Lab of Aquaculture Nutrition and Environmental Health, College of Life Sciences,
East China Normal University, Shanghai 200241, China;

2. Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China)

Abstract: Mannan oligosaccharide is a new kind of feed additive whose effects on fish flesh quality has not been well studied. In this study, 315 healthy juvenile *Oreochromis niloticus* with an average body weight of (2.2±0.2) g were randomly divided into three treatment groups: control group (C, 35% carbohydrate), high carbohydrate diet group (HC, 45% carbohydrate) and high carbohydrate diet supplemented with mannan-oligosaccharide (HM, 45% carbohydrate, 0.5% mannan oligosaccharide). Three tanks for each group, and 35 fish reared in each tank. After feeding trial for 10 weeks, the growth indicator, muscle nutritional composition and flesh texture of all groups were determined. Compared with the control group, the hepatosomatic index, muscle cohesiveness, myofiber number, content of inosinic acid and triglyceride, proportion of delicious amino acids, and relative expression of *CAST* gene, which could improve muscle growth, were significantly increased in the fish of HC group; the muscle hardness, gumminess and chewiness, myofiber diameter, cooking loss, proportion of essential amino acids, contents of fatty acids, diglyceride and phosphatidylinositol, and relative expression of *MyoG* gene, which functions in the differentiation of muscle fibers, were significantly decreased in the fish of HC group. Compared with the HC group, the muscle springiness, proportion of essential amino acids, contents of fatty acids and diglyceride, and *CAST* gene relative expression were significantly increased in *O. niloticus* of HM group; the muscle adhesion, number of myofiber, contents of inosinic acid, phosphatidylethanolamine and phosphatidyl choline, and *MyoG* gene relative expression in *O. niloticus* of HM group were significantly decreased. Compared with the control group, the weight gain rate, muscle cohesion and contents of triglyceride and fatty acids were significantly increased in fish of the HM group; the hepatosomatic index, muscle hardness and chewiness, content of phospholipid in the fish of HM group were significantly decreased. The above results indicated that with the addition of manna oligosaccharides in high carbohydrate diet, the meat yield of *O. niloticus* was greatly improved, the flesh quality was improved due to elevated water holding capacity, texture and nutritional value of amino acids, but the decreased phospholipid content should not be neglected. In this study, the effects of mannan oligosaccharides on the growth and muscle quality of *O. niloticus* were comprehensively evaluated, with a view to broadening its application as a feed additive.

Key words: *Oreochromis niloticus*; high carbohydrate diet; mannan oligosaccharides; muscle quality

Corresponding author: QIAO Fang. E-mail: fqiao@bio.ecnu.edu.cn

Funding projects: Provincial Key Laboratory of Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries; National Key R & D Program of China (2018YFD0900400)