



饲料糖脂比对吉富罗非鱼生长、生理生化指标、 肠道菌群组成及抗病力的影响

宁丽军¹, 陈森¹, 荣华², 陈晓瑛³, 郑佳¹,
张浩田¹, 潘庆¹, 李远友^{1*}

(1. 华南农业大学海洋学院, 广东 广州 510642;

2. 云南农业大学动物科学学院, 云南 昆明 650000;

3. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 为研究不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼幼鱼生长、生理生化指标、肠道菌群组成和抗病力的影响, 实验选取平均体质量为 27 g 的吉富罗非鱼幼鱼为研究对象, 分别用等氮等能的 5 种不同糖脂比饲料 [44.2/4(D1)、39.6/6(D2)、35.0/8(D3)、30.4/10(D4)、25.8/12(D5)] 饲喂 10 周, 采用营养学、生化分析结合高通量测序技术开展相关测定。结果显示, 2 周时高糖或高脂饲料组鱼生长较差, 但 4~10 周, 所有组间生长无显著差异。10 周时低糖脂比 D4 在脏体比上显著高于高糖脂比 D1, 而在血清尿素和抗病力上显著低于 D1, 在肠系膜指数上显著高于高糖脂比 D1 和 D2, 在全鱼粗蛋白上显著低于 D1 和 D2。另外, D1 不仅在肝体比上高于低糖脂比 D5, 而且在低密度脂蛋白胆固醇和糖耐受能力上均高于其他各组。与之相比, 糖脂比虽在肠道微生物物种丰度和均一度上没有显著性差异, 但 D4 在聚类关系上单独一支, 其门水平上的衣原体门、绿弯菌门、放线菌门高于其他各组, 特别是 D2 和 D1, 但厚壁菌门低于其他各组, 特别是 D2; 属水平上, D4 组幽门螺杆菌属明显多于其他组, 而乳杆菌、双歧杆菌属明显少于除 D3 外的其他组。研究表明, 吉富罗非鱼对不同糖脂比饲料有很强的适应和利用能力。

关键词: 吉富罗非鱼; 糖脂比; 生长表现; 糖耐受; 肠道菌群

中图分类号: S 963.31

文献标志码: A

水产品是人类食物蛋白源中仅次于谷物和牛奶的第三大来源^[1]。但近年来随着渔业捕捞资源的日益衰减, 水产品蛋白的产出越来越依赖于水产养殖业的发展。然而, 目前鱼粉等优质蛋白源紧缺依然是限制水产养殖业发展的最主要因素之一^[2]。蛋白质、脂肪和糖类是饲料中供给鱼体生长的主要营养和能量物质^[3]。王菲等^[4]研究认为, 在鱼饲料配方中适当提高非蛋白的能量原料含量,

可以在一定程度上节约蛋白和提高鱼类对饲料的利用率。糖类和脂肪作为鱼体的非蛋白饲料原料, 不仅可在饲料加工中提高黏合性或润滑性, 而且脂肪原料本身还有助于脂溶性等营养物质的吸收利用、增加饲料的适口性^[5]。此外, 饲料中适量的糖水平有助于鱼体生长、发育以及增强鱼体免疫力^[6]。不过饲料糖水平过高或者过低都会影响鱼体生长, 过高的糖含量会使鱼体出现糖原沉积,

收稿日期: 2022-04-04 修回日期: 2022-07-30

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓”项目 (2018YFD0900400); 国家自然科学基金 (32002400); 广东省基础与应用基础联合基金 (2019A1515110115)

第一作者: 宁丽军, 从事鱼类营养与糖脂代谢研究, E-mail: ning_lijun@163.com

通信作者: 李远友 (照片), 从事鱼类脂肪酸精准营养需要研究, E-mail: yuli16@scau.edu.cn



损伤鱼体免疫力^[7]。同样,脂肪作为饲料中必需脂肪酸的来源^[8],适量的脂肪含量能被鱼体充分利用,过高水平则常导致鱼体生长缓慢,体脂、肝脂蓄积,严重时还会出现肝坏死或充血而导致死亡等^[9-10]。

肠道微生物菌群是动物体肠道内定植的数量庞大的微生物菌群,与宿主和外界环境维持相对平衡,有利于保持机体健康。然而在受到内外因素影响时,肠道菌群会发生改变,肠道微生物的扰动或变化会引起免疫系统紊乱和增加各种疾病,如在临床研究上的炎症性肠病^[11]、肥胖和糖尿病以及心血管疾病^[12]。在众多影响扰动因素中,食物成分被证实可通过改变人类、小鼠及畜禽动物的肠道微生物组成结构,进而对机体营养代谢、免疫功能、生长发育,甚至神经传导等产生影响^[13]。随着可培养技术和微生物测序技术的发展,在水产养殖中,饲料(食物)因素也越来越被证实是影响鱼类肠道菌群的最重要因素之一^[14]。有研究发现,以昆虫粉替代饲料中鱼粉饲喂虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*),虹鳟生长良好且肠道有益菌丰度增加、致病菌丰度降低^[15];也有研究发现,用高脂饲喂三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)会导致其生长和抗病力下降,同时潜在的致病菌如肠道变形菌门和弧菌属等则丰度显著增加^[16]。不同糖脂比饲料饲喂建鲤(*Cyprinus carpio var. jian*)的结果表明,糖脂比过高或过低组其优势菌属会由气单孢菌属、假单孢菌属转变为单一的气单孢菌属^[17]。此外,利用包括有益菌和致病菌在内的可培养菌在无菌斑马鱼模型上的定植,进一步证实了鱼类肠道菌属对宿主的营养、代谢及抗病力具有重要作用^[18]。因此,探求不同糖脂比饲料对宿主肠道微生物的影响,对筛选鱼类生长与健康所需的适宜糖脂比饲料非常必要。

罗非鱼是广盐性和杂食性鱼类,也是世界上养殖产量最高的鱼类之一,具有生长迅速、产量高、抗病力强、出肉率多、肉质鲜美等优点^[19]。以往研究主要以增重为衡量指标^[8],而对于包括抗病力在内的健康和肠道菌群的系统研究则鲜见报道。为此,本实验以吉富罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)为研究对象,通过10周不同糖脂比饲料饲喂,探讨不同糖脂比饲料对吉富罗非鱼生长、生理生化指标、肠道菌群组成及抗病力的影响,以期为吉富罗非鱼幼鱼饲料中适宜的糖脂比配制与优化提供科学数据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验饲料

实验采用单因素实验,单一变量因素为饲料的糖脂比,配置5组等氮等能饲料,各组饲料糖脂比设置为44.2/4(D1)、39.6/6(D2)、35.0/8(D3)、30.4/10(D4)、25.8/12(D5)。实验原料以明胶和酪蛋白为蛋白源,以玉米淀粉为糖源,大豆油和亚麻籽油为脂肪源,将粉碎过40目筛后的原料干粉准确称重后,经混合(20 min)、加油搅拌(15 min)、加水混匀(20 min)后,制成直径约2.0 mm的“面条状”饲料,再转移至制粒机造粒制成颗粒饲料。颗粒料在空调环境(25℃)下阴干后装入密封袋中,于冰箱(-20℃)中保存待用。具体配方和营养成分见表1,相关油源和饲料配制参考文献[20]的方法。

1.2 实验设计

吉富罗非鱼购自广东省罗非鱼良种场(广州,南沙),运回先暂养2周,暂养结束后随机挑选平均体质量为(27.00±0.11)g的幼鱼500尾开展相关实验,共设置5个实验组,各实验组设置4个重复,每个重复25尾实验鱼。5个实验组D1、D2、D3、D4、D5分别投喂配制好的5组糖脂比饲料,养殖采用循环水系统(300 L/缸)饲养,共饲喂10周。采用室内日光灯作为光源,光周期为白天:黑夜=12:12。养殖期间进行定时定量投喂,每日饲喂时间为9:00和18:00,日投喂量为体质量的4%。每日记录病鱼死鱼情况,下午清理粪便。除吸底换水及投饵期外,其余时间持续充气增氧,水体溶解氧高于6.0 mg/L,水温(29.0±2.0)℃,pH 7.0±0.4,氨氮浓度低于0.2 mg/L。

1.3 实验鱼称重、采样

养殖结束后鱼禁食过夜后,从每处理中随机捞出6尾实验鱼,放入配有麻醉剂丁香酚(1:10000)的水桶中进行麻醉,将麻醉的实验鱼捞出擦干体表水分后,测量其体长及体质量。紧接着从尾静脉抽血收集至1.5 mL离心管中静置待离心。将解剖的鱼取出内脏团、肝脏、肠系膜脂肪并称重,用于肝体比、脏体比、肠系膜脂肪指数和肥满度的计算,采集肌肉、肝脏、肠道内容物样品放入管子内于-80℃冰箱中保存,用于组织糖脂成分和肠道菌群测定。将静置2 h后的血液进行离心(4℃、3 500 r/min离心10 min),取血清于-80℃

表 1 饲料配方与营养成分
Tab. 1 Formulation and proximate composition of the basal diet (g/kg)

项目 items	糖/脂 C/L					%
	44.2/4 (D1)	39.6/6 (D2)	35.0/8 (D3)	30.4/10 (D4)	25.8/12 (D5)	
玉米淀粉 corn starch	44.20	39.60	35.00	30.40	25.60	
酪蛋白 casein	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	
明胶 gelatin	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50	
豆油 soybean oil	2.25	3.38	4.51	5.63	6.76	
亚麻油 linseed oil	1.75	2.62	3.49	4.37	5.24	
纤维素 cellulose	7.07	9.67	12.27	14.87	17.67	
磷酸二氢钙 monocalcium phosphate	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
氯化胆碱 choline chloride	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	
多维 ¹ mixed vitamin ¹	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
多矿 ² mixed minerals ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	
维c酯 ester Vc	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	
牛磺酸 taurine	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	
总量 total quantity	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	
营养成分 nutrient component						
粗蛋白 crude protein	33.62	32.98	32.62	31.91	33.23	
粗脂肪 crude lipid	4.13	6.01	7.89	10.18	11.90	
粗灰分 crude ash	1.81	1.65	1.68	1.64	1.71	

1. 多维(g/kg): 维生素 A (IU/kg), 3 500 000; 维生素 D (IU/kg), 1 000 000; 维生素 E, 20; 维生素 K₃, 2.5; 抗坏血酸, 63; 硫胺素, 4; 核黄素, 15; 吡哆醇, 6; 钴胺素, 0.025; D-calcium panthothenate, 20; 烟酸, 25; 叶酸, 2.5; 生物素, 0.05; 肌醇, 70 以及载体。购于广州海因特生物技术有限公司。2. 多矿(g/kg): 磷酸二氢钙, 123.2; 沸石粉, 474.22; 磷酸二氢钠, 42.03; 硫酸钾, 163.83; 硫酸铁, 10.8; 柠檬酸铁, 38.4; 硫酸镁, 44; 硫酸锌, 1.2; 硫酸锰, 0.4; 亚硒酸钠, 0.6; 硫酸铜, 0.22; 硫酸钴, 0.52; 碘酸钙, 0.02; 氯化钠, 32.4; 氯化钾, 66; 微晶纤维素, 157.2; 与多维购于同一家公司
Notes: 1. Vitamin premix (g/kg): vitamin A (IU/kg), 3 500 000; vitamin D (IU/kg), 1 000 000; vitamin E, 20; vitamin K₃, 2.5; ascorbic acid, 63; thiamin-HCl, 4; riboflavin, 15; pyridoxine-HCl, 6; cyanocobalamin, 0.025; D-calcium panthothenate, 20; niacin, 25; folic acid, 2.5; D-biotin, 0.05; inositol 70 and the carrier rice chaff. The vitamin premixes were obtained from Guangzhou Hinter Bio-technology Co., Ltd., China. 2. Mineral premix (g/kg): Ca(H₂PO₄)₂, 123.2; Zeolite powder, 474.22; NaH₂PO₄, 42.03; K₂SO₄, 163.83; FeSO₄, 10.8; Ferric citrate, 38.4; MgSO₄, 44; ZnSO₄, 1.2; MnSO₄, 0.4; Sodium selenite, 0.6; CuSO₄, 0.22; CoSO₄, 0.52; CaI₂, 0.02; NaCl, 32.4; KCl, 66; Microcrystalline cellulose, 157.2; The Mineral premixes were obtained from Guangzhou Hinter Bio-technology Co., Ltd., China

冰箱中保存, 用于血清生化指标测定。最后, 从每处理中另取 4 尾鱼用于全鱼营养成分测定。

1.4 生长指标计算

$$\text{增重率 (weight gain, WG, \%)} = (W_f - W_i) \times 100 / W_i$$

$$\text{存活率 (survival rate, SR, \%)} = N_2 \times 100 / N_1$$

$$\text{脏体比 (visceral somatic index, VSI, \%)} = W_v \times 100 / W_b$$

$$\text{肠系膜脂肪指数 (mesenteric fat index, MFI, \%)} = W_m \times 100 / W_b$$

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

$$\text{肥满度 (condition factor, CF, \%)} = W_b \times 100 / L_b^3$$

$$\text{摄食率 (feeding rate, FR, \%)} = F_t \times 100 \times 2 / (W_i +$$

$$W_f) \times d$$

$$\text{饵料系数 (feed conversion rate, FCR)} = F_t / (W_f - W_i)$$

式中, W_f 和 W_i 分别表示终末和初始的平均鱼体质量 (g), W_f 和 W_i 分别表示终末和初始的鱼体总重 (g), N_2 和 N_1 分别为终末和初始的鱼数量, W_b 代表鱼体质量 (g), W_h , W_v 和 W_m 分别代表肝脏, 内脏和肠系膜脂肪重量 (g), L_b 代表鱼体长 (cm), F_t 为总摄入饲料量 (g)。

1.5 组织糖脂及血清生化指标测定

将组织样本肝脏和肌肉从 -80 °C 冰箱取出, 称取所需重量进行糖原和甘油三酯含量测定, 糖原和甘油三酯指标均采用南京建成生物公司试剂盒测定。

将血清样本从 -80 °C 冰箱中取出, 于 4 °C 条

件下解冻测定血清生化指标,总氨基酸(AA)、游离脂肪酸(FA)、丙酮酸(pyruvate)、葡萄糖(glucose)、乳酸(lactate)等采用南京建成生物公司试剂盒测定。剩下的血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、尿素氮(urea)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(globin)、碱性磷酸酶(ALP)等采用罗氏自动生化分析仪测定(COBAS c702,荷兰)。为避免血清反复冻融影响相关指标活性,血清生化指标在一周内测定完成。

1.6 糖耐受实验

养殖结束后对鱼禁食过夜后,从每个处理组分别取出20尾罗非鱼放入含有丁香酚(1:10000)的水桶中麻醉,之后每组随机抽取4尾鱼进行抽血并检测正常初始血糖值,其余的逐条称重并注射相应体积的D-葡萄糖溶液(溶解于0.75%的生理盐水,注射浓度:500 mg/kg鱼体质量、注射体积为2 μ L/g鱼体质量,注射位置为腹腔注射),计时并在0, 0.5、1、3、6 h时间点从尾静脉抽血,采集的血液即时用拜安进(拜耳,德国)血糖仪进行血糖测定。

1.7 攻毒实验

攻毒所用无乳链球菌来源于南海水产研究所病害研究室赠送(TGZ1001)。采用从各组中取得的鱼混合进行预实验,确定罗非鱼半致死菌液浓度为 (4.2×10^7) CFU/mL。将同一传代的活化无乳链球菌用体积分数为0.75%生理盐水洗脱菌苔。从同一批各组鱼中各取30尾鱼,分别随机以每缸10尾分配到3个玻璃缸中,每尾鱼腹腔注射菌液0.5 mL后,观察鱼7 d内累计死亡率,观察期间对鱼不投喂。实验后对死鱼病灶进行分离鉴定,经过菌种鉴定病灶菌为攻毒所用无乳链球菌。

1.8 16s高通量测序

将采集到的各处理肠道内容物样品送广州基迪奥生物有限公司进行Illumina Miseq高通量测序。样品DNA检测合格后,根据所选测序区域,用带有barcode的特异引物扩增16s rDNA的V3+V4区。引物序列为341F: CCTAYGGGRBGCASCAG和806R: GGACTACNN-GGGTATCTAAT^[21]。然后切胶回收PCR扩增产物,采用AMPure XP Beads进行PCR产物纯化,纯化后用Qubit 3.0定量。将纯化的扩增产物进行等量混合,连接测序接头,构建测序

文库,进行定量,根据Novaseq 6000的PE 250模式上机测序。根据序列首尾两端的barcode和引物序列区分样品得到有效序列,并校正序列方向来进行数据优化。再对优化的数据进行分类学分析,以得到在各个分类水平上统计各样本的群落组成。并结合Heatmap图对吉富罗非鱼肠道样本进行分析,由高丰度和低丰度的物种分块聚集,可知不同分组的样品在各分类水平上群落组成的相似性和差异性。通过单样本(α -多样性)分析吉富罗非鱼肠道样品中的微生物菌群丰度和多样性。PICRUSt2功能富集呈现不同处理组间吉富罗非鱼肠道样本中微生物富集功能的差异性。高通量数据分析均在OmicShare云平台(www.omicshare.com)上进行,原始数据已上传到NCBI(SRP340983)。

1.9 统计分析

实验数据用SPSS 22软件的单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行处理,结合Tukey氏方法进行多重比较,数据均用“平均值 \pm 标准差”表示。

2 结果

2.1 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼生长性能和形体指标的影响

饲养2周后,较高糖脂比的D1组、D2组的增重率显著低于低糖脂比的D3和D4组($P < 0.05$)。10周后,各组之间增重率差异不显著($P > 0.05$)(表2)。吉富罗非鱼D4脏体比和肠系膜指数最高,且显著高于D1($P < 0.05$);D1组则肝体比最高,且显著高于D5($P < 0.05$);各组间肥满度没有显著性差异($P > 0.05$)(表3)。

2.2 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼鱼体组成的影响

D2组粗蛋白含量最高,且D1和D2组粗蛋白含量显著高于D4($P < 0.05$)。其余水分、粗脂肪、粗灰分在不同糖脂比处理间则无显著性差异($P > 0.05$)(表4)。

2.3 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼肝脏、肌肉中脂肪和糖原的影响

D1~D4组实验鱼随着饲料糖脂比的下降,肝脏甘油三酯含量降低,且甘油三酯含量D1和D4组差异显著($P < 0.05$),D5组肝脏甘油三酯含量略有上升(图1)。各组实验鱼体肌肉脂肪、肝脏和肌

表 2 不同糖脂比饲料饲喂 10 周后的吉富罗非鱼增重率变化

Tab. 2 Weight gain of juvenile GIFT tilapia fed test diets during the 10 weeks

糖/脂 C/L	增重率/% weight gain				
	2周 weeks	4周 weeks	6周 weeks	8周 weeks	10周 weeks
44.2/4 (D1)	51.28±0.87 ^a	116.98±0.28	183.43±4.94	256.36±4.81	332.00±8.44
39.6/6 (D2)	51.31±1.58 ^a	120.65±3.43	176.13±11.19	238.35±13.27	300.68±18.18
35.0/8 (D3)	86.71±2.66 ^b	121.61±1.37	183.65±7.01	248.75±11.04	315.38±19.17
30.4/10 (D4)	73.59±5.83 ^b	113.62±3.06	175.76±7.67	240.63±10.72	309.41±16.20
25.8/12 (D5)	69.95±6.90 ^{ab}	116.01±2.41	188.97±6.66	250.54±7.20	315.65±7.08

注: 表格中同行肩标相同小写字母或无字母代表差异不显著 ($P > 0.05$), 不同小写字母代表差异显著 ($P < 0.05$)。下表同

Notes: In the same row, value with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant differences ($P > 0.05$), different small superscripts mean significant differences ($P < 0.05$). The same below

表 3 不同糖脂比饲料饲喂 10 周后的吉富罗非鱼生长表现

Tab. 3 Growth performance of GIFT tilapia fed test diets for 10 weeks

糖/脂 C/L	存活率/% SR	脏体比/% VSI	肝体比/% HSI	肠系膜指数/% MFI	肥满度/% CF	摄食率/% FR	饵料系数 FCR
44.2/4 (D1)	100.00±0.00	9.76±0.33 ^b	2.50±0.24 ^a	1.41±0.15 ^b	3.50±0.19	3.32±0.26	1.48±0.14
39.6/6 (D2)	96.00±3.27	10.70±0.50 ^{ab}	2.36±0.15 ^{ab}	1.37±0.13 ^b	3.50±0.13	3.59±0.16	1.70±0.11
35.0/8 (D3)	98.00±3.46	10.88±0.49 ^{ab}	2.29±0.09 ^{ab}	2.12±0.33 ^{ab}	3.60±0.13	3.42±0.21	1.60±0.20
30.4/10 (D4)	96.00±4.62	11.51±0.42 ^a	2.40±0.17 ^{ab}	2.81±0.34 ^a	3.54±0.11	3.49±0.17	1.60±0.02
25.8/12 (D5)	99.00±1.73	10.66±0.37 ^{ab}	1.90±0.13 ^b	2.00±0.26 ^{ab}	3.67±0.06	3.34±0.19	1.54±0.11

表 4 不同糖脂比饲料饲喂 10 周后的吉富罗非鱼全鱼体组成

Tab. 4 Whole body composition of GIFT tilapia fed test diets for 10 weeks %

体成分 body composition	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	粗灰分 crude ash	水分 moisture
44.2/4(D1)	15.91±0.14 ^a	10.56±0.27	3.37±0.19	69.82±0.83
39.6/6 (D2)	16.12±0.14 ^a	12.04±0.40	3.64±0.24	67.88±0.92
35.0/8(D3)	15.53±0.17 ^{ab}	11.62±0.35	3.63±0.13	68.8±1.13
30.4/10(D4)	14.99±0.25 ^b	10.23±0.58	3.25±0.14	70.54±1.30
25.8/12(D5)	15.36±0.13 ^{ab}	10.90±0.23	3.40±0.15	68.44±0.39

肉糖原含量差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.4 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼生理生化指标的影响

糖代谢指标中各组实验鱼葡萄糖、乳酸和丙酮酸含量均无显著性差异 ($P > 0.05$)。脂代谢相关指标中, 甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和游离脂肪酸含量各组差异不显著 ($P < 0.05$); 低密度脂蛋白含量最高的是 D1 组, 最低的是 D3 组, 且最高组与其他组之间低密度脂蛋白含量差异显著 ($P < 0.05$)。氨基酸代谢相关指标中, 总氨基酸含量最高的是 D4 组, 最低的是 D3 组, 且

两组之间总氨基酸含量差异显著 ($P < 0.05$); 尿素含量最高的是 D1 组, 最低的是 D4 组, 且两组之间差异显著 ($P < 0.05$)。免疫相关指标中, 各组总蛋白、白蛋白、球蛋白、碱性磷酸酶含量差异均不显著 ($P > 0.05$) (图 2)。

2.5 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼糖耐受能力的影响

在饲喂不同糖脂比饲料 10 周后进行糖耐受实验, 结果表明, 注射葡萄糖后不同糖脂比处理组的吉富罗非鱼血糖浓度皆出现显著上升, 且均在注射葡萄糖后 30 min 内达到最大值, 在注射后 3~6 h 恢复到正常水平, 其中 44.2/4 组在达到最高峰后恢复最快, 44.2/4 组的糖耐受能力显著高于其他各组 ($P < 0.05$) (图 3)。

2.6 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼肠道微生物的影响

吉富罗非鱼肠道中微生物群落在门水平上的差异 各组群落组成共 10 个主要门, 各组在菌落组成分布上趋同 (图 4-c)。除 D4 组外, 丰度各组排在前三的优势菌群门类为梭杆菌门 (Fusobacterium), 变形菌门 (Proteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes), 三者在各组占比 D1 (39.14%, 24.06%,

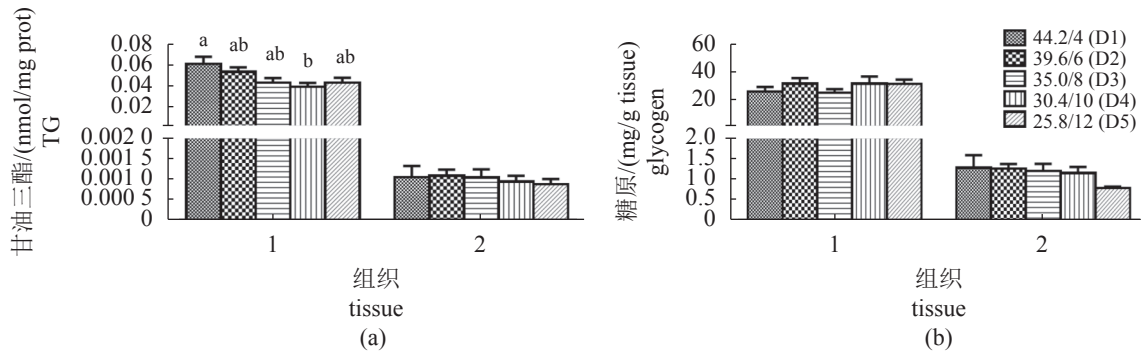


图 1 10 周不同糖脂比饲料饲喂对吉富罗非鱼肝脏、肌肉中甘油三酯 (a) 和糖原 (b) 的影响

各列柱子上方字母不同表示组间差异显著, $P < 0.05$

Fig. 1 Effects of different treatments on triglyceride (a) and glycogen (b) content of liver and muscle of GIFT tilapia fed for 10 weeks

Values with different letters on columns are statistically different ($P < 0.05$)

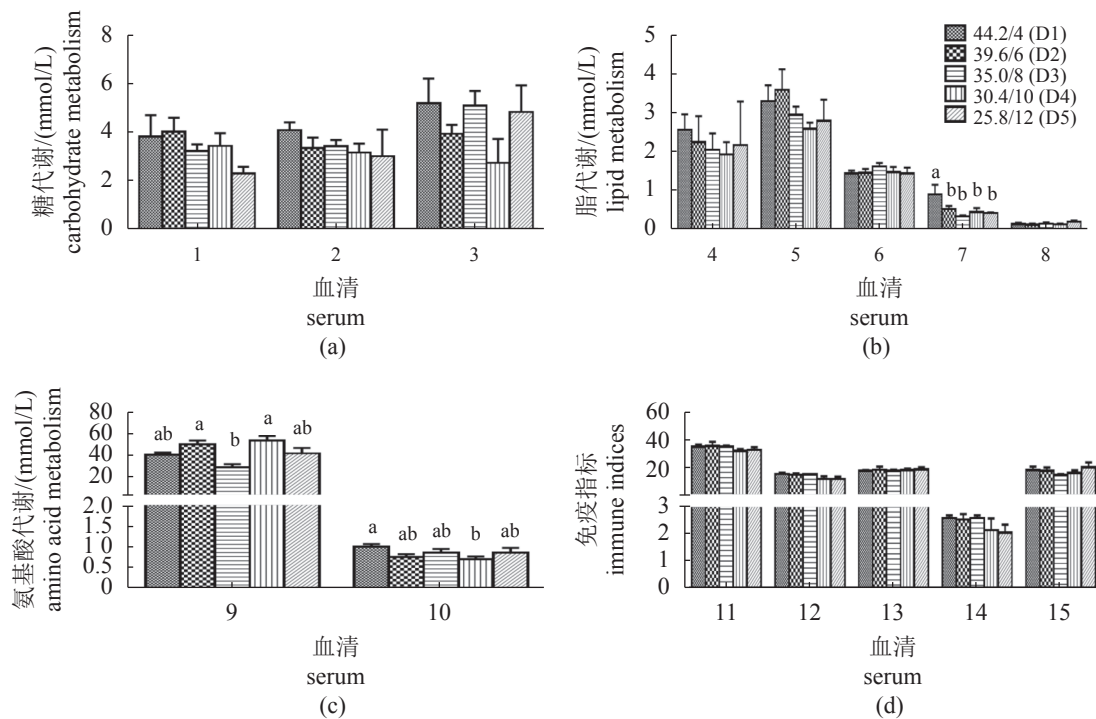


图 2 10 周不同糖脂比饲料饲喂对吉富罗非鱼生理生化指标的影响

(a) 糖代谢指标; 1. 葡萄糖, 2. 乳酸, 3. 丙酮酸。(b) 脂代谢相关指标; 4. 甘油三酯, 5. 总胆固醇, 6. 高密度脂蛋白胆固醇, 7. 低密度脂蛋白胆固醇, 8. 游离脂肪酸。(c) 氨基酸代谢相关指标; 9. 总氨基酸, 10. 尿素。(d) 免疫相关指标; 11. 总蛋白, 12. 白蛋白, 13. 球蛋白, 14. 白蛋白/球蛋白, 15. 碱性磷酸酶。各列柱子上方字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 2 Effects of different treatments on physiology and biochemistry indices of GIFT tilapia fed for 10 weeks

(a) glucose metabolism related indices ; 1. glucose; 2. lactate; 3. Pyruvate.(b) lipid metabolism related indices ; 4. TG(triglycerides); 5. TC(total cholesterol); 6. HDL(high density lipoprotein); 7. LDL(low density lipoprotein); 8. FA(free fatty acid); (c) amino acid related indices; 9. amino acids, 10.urea. (d) immune related indices; 11. TP(total protein); 12. ALB(albumin); 13. globin; 14. albumin/globin; 15. ALP(alkaline phosphatase). Values with different letters on columns are statistically different ($P < 0.05$)

11.85%), D2(32.29%, 27.81%, 15.88%), D3(47.18%, 16.92%, 13.00%), D4(36.68%, 20.81%, 10.75%), D5(41.33%, 14.27%, 14.40%)。D4 组门聚类上独立

一支, 其衣原体门 (Chlamydiae)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、放线菌门 (Actinobacteria) 均数量明显多于其他各组, 特别是多于 D2 和 D1, 而厚壁

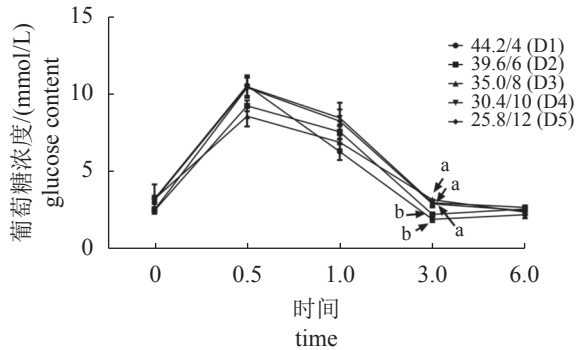


图3 10周不同糖脂比饲料饲喂对吉富罗非鱼糖耐受的影响

数值为平均值±标准差 ($n=3$), 各列柱子上方字母不同表示组间差异显著 ($P<0.05$)

Fig. 3 Effects of different treatments on the glucose tolerance test of GIFT tilapia fed for 10 weeks

Values are means±SD ($n=3$). Values with different letters on columns statistically differ ($P<0.05$)

菌门 (Firmicutes) 数量少于其他组, 尤其是 D2。

吉富罗非鱼肠道中微生物群落在属水平上的差异 属水平上优势菌群属在各组存在较大差异, 占比最大均为鲸杆菌属 (*Cetobacterium*, 39.09%, 32.26%, 47.17%, 36, 67%, 41.25%) 外, 其余有 D1 罗尔斯通菌属 (*Ralstonia*, 7.67%), 鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 4.15%); D2 鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 7.20%), 罗尔斯通菌属 (*Ralstonia*, 3.54%); D3 肠球菌属 (*Enterococcus*, 3.07%); 邻单胞菌属 (*Ralstonia*, 1.32%), D4 出芽菌属 (*Gemmata*, 3.40%), 鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 2.95%); D5 为出芽菌属 (*Gemmata*, 3.12%), 鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 1.81%) (图 4-d)。其中, D4 组幽门螺杆菌属 (*Phreatobacter*) 明显多于其他组, 而乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*) 明显少于除 D3 外的其他组。

α 多样性分析显示, sob 和 Shannon 指数均没有显著差异 (图 4-e,f); PICRUST2 功能富集表明, D4 在 3 大营养素和能量代谢上高于其他组, 且在糖和能量代谢上显著高于 D5 组 (图 4-g)。

2.7 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼抗病力的影响

攻毒试验结果显示, D4 与 D1 组间存在显著性差异 ($P<0.05$), 其余各组差异不显著 ($P>0.05$), 这表明高糖脂比饲喂吉富罗非鱼有较强的抗病力, 而 D4 糖脂比 (30.4/10) 饲喂吉富罗非鱼的抗病力

最差 (图 5)。

3 讨论

3.1 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼生长及体组成的影响

在蛋白和能量水平一定的条件下, 不同糖脂配比饲料对鱼的影响不同^[22]。分别用糖脂比为 6.9 和 7.7 的饲料 (等氮等能) 投喂普通杂交鲤和建鲤, 生长状况最好; 而饲喂糖脂比为 5.2、9.7 和 27.8 的普通鲤, 与饲喂糖脂比为 2.3、3.0 和 12.1 的建鲤, 生长则受到抑制^[3-4]。本实验中, 不同糖脂比饲料饲喂 2 周时间时, 吉富罗非鱼生长呈现不同的结果。在糖脂比为 35.0/8(D3)、30.4/10(D4) 两组实验鱼增重率显著高于糖脂比为 44.2/4(D1)、39.6/6(D2) 的两组实验鱼 ($P<0.05$), 25.8/12(D5) 组则介于之间。这表明, 吉富罗非鱼在这一阶段内未能很好利用高糖或高脂组分饲料。这与用单一营养素 (不等能) 研究所获得的罗非鱼一般需要 30%~36% 的淀粉和 7%~10% 的脂质才能达到最佳生长相似^[23]。从第 4 周开始到第 10 周结束, 吉富罗非鱼增重率在各组实验鱼间差异均不显著 ($P>0.05$)。这提示在本实验条件下吉富罗非鱼对糖脂比变化有很强地耐受适应和利用能力。此外, 糖耐受实验中 44.2/4 组快于其他组恢复到正常血糖水平, 显示吉富罗非鱼在适应高糖脂比饲料后, 对糖利用增强。该结果类似于近年来在水产动物研究中的“营养程序化”效应, 即早期的营养刺激会对后期产生一个长久的生理和代谢影响^[24]。有报道认为, 在鱼苗期较早饲喂高糖饲料, 成鱼期的鱼便更好地利用葡萄糖的能力^[25]。这在虹鳟和金头鲷 (*Sparus aurata*) 的研究上有相似的结果^[26]。在体组成上, 39.6/6 组粗蛋白含量最高, 且 44.2/4 和 39.6/6 组粗蛋白高于其他各组, 提示吉富罗非鱼对高糖脂比饲料的利用能力相对更强, 起到了糖脂节约蛋白效应, 这些结果部分与 44.2/4 组增强的糖利用能力相吻合。与此类似, Kumkhong 等^[25]对罗非鱼营养程序化的研究显示, 早期和持续高糖低蛋白饲喂后, 鱼氨基酸分解酶活性下降, 糖分解酶活性增强, 鱼虽然生长未达到高蛋白低糖的增重, 但高糖鱼呈现出补偿生长。通过不同糖脂比饲料对石斑鱼饲喂后也显示, 处于适宜糖脂比水平的较高糖脂比饲料比较低糖脂比饲料饲喂后的鱼, 生长更好, 能较好地发挥糖脂节约蛋白效应^[27]。这与之前在建鲤、暗纹东方鲀

(*Takifugu obscurus*) 上低糖脂比饲料喂鱼呈生长下降, 脂沉积结果不同。本实验糖脂比中即便最低糖脂比 25.8/12 组生长、体脂含量也与其他各组没有显著性差异。与之前研究不同, 本实验所采用的油源为本课题组前期实验中所获得的满足吉富罗非鱼脂肪酸需要的调配油源 (亚油酸: 亚麻酸;

3:2)^[20]。在鱼类油源研究上显示, 金鲷 (*Trachinotus ovatus*) 在使用不满足或不适宜其需要的山茶油和花生油饲料时可导致鱼脂肪沉积, 油脂相关脂肪酸通过激活脂合成或抑制脂分解相关基因表达促使脂合成增加或脂分解减少^[28], 而在相对适宜的混合油或鱼油满足必需脂肪酸需要后, 则明显降

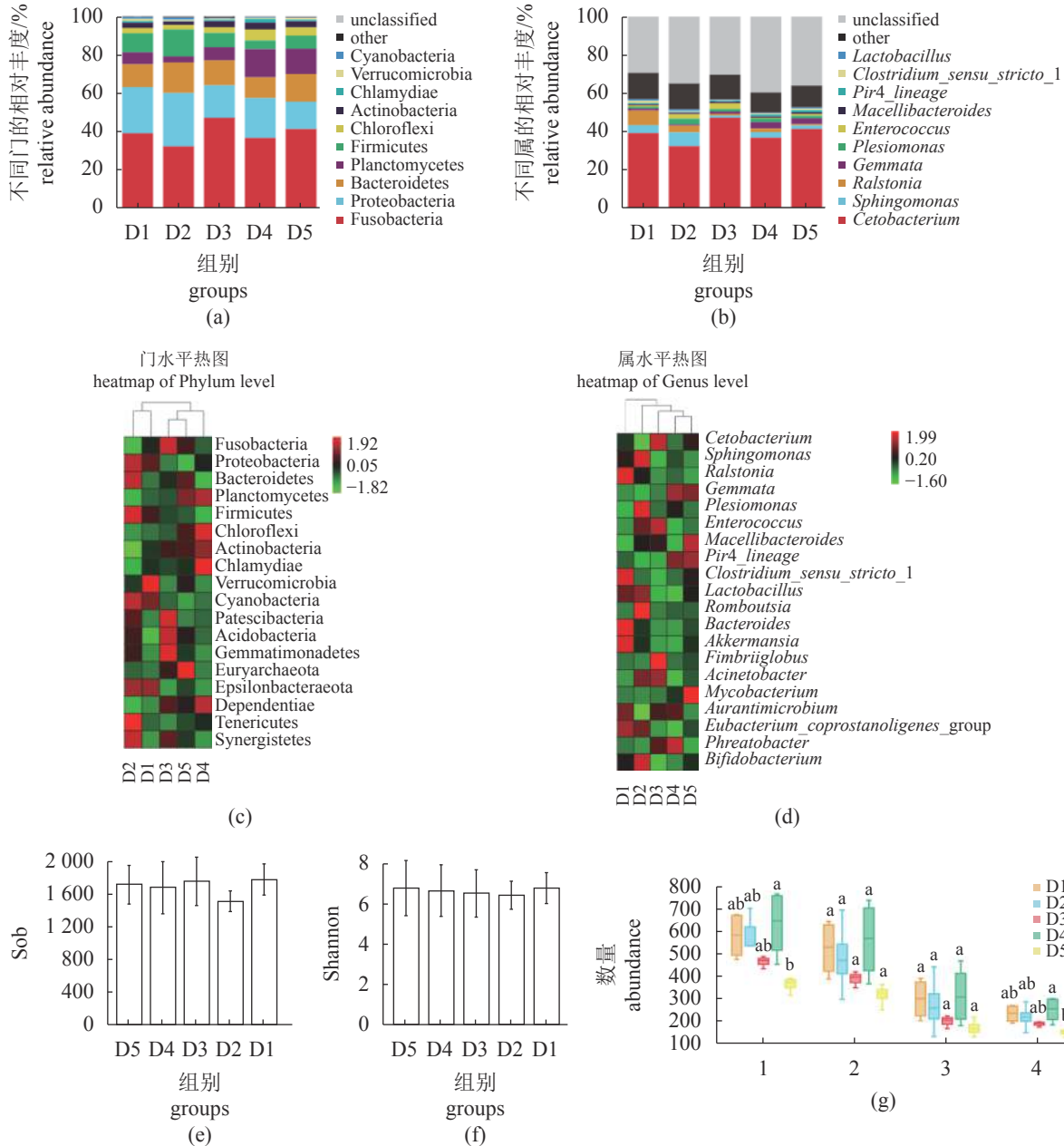


图 4 10 周不同糖脂比饲料饲喂下吉富罗非鱼肠道微生物分析

(a)(b) 菌群门和属水平上的物种分布堆叠图; (c)(d) 菌群门和属水平热图分析菌群; (e)(f) α 多样性分析之 sob 和 Shannon 指数; (g) PICRUSt2 功能富集。1. 糖代谢, 2. 氨基酸代谢, 3. 脂代谢, 4. 能量代谢。

Fig. 4 Effects of different treatments on gut microbiota of GIFT tilapia fed for 10 weeks

(a)(b) The stacked column graph represents the average percentage of phylum and genus of microflora; (c)(d) heatmap of phylum and genus of microflora; (e)(f) The α diversity of sob and Shannon index; (g) PICRUSt2 analysis. 1. carbohydrate metabolism, 2. amino acid metabolism, 3. lipid metabolism, 4. energy metabolism

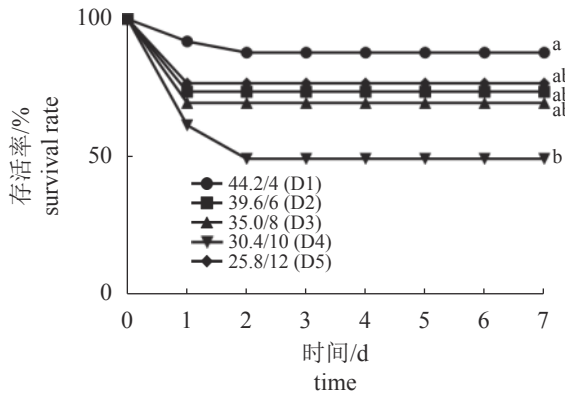


图5 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼感染无乳链球菌后存活率的影响

各列柱子上方字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 5 Survival rate of GIFT tilapia after *S. agalactiae* intraperitoneally injected for 7 days

Values with different letters on columns statistically differ at $P < 0.05$

低了脂肪蓄积及其对鱼体生长发育的负面影响^[29]。因此, 油源中脂肪酸组成不同可能是导致本研究不同于以往结果的原因。

3.2 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼生理生化指标的影响

肝脏是鱼类中间代谢的主要器官, 也是营养物质储存的重要场所。然而过高的营养物质会阻碍鱼体正常功能的发挥, 甚至造成肝损伤^[7]。吴凡等^[30]研究表明, 高糖脂比饲料造成吉富罗非鱼血液血糖和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL) 升高, 可能原因是高血糖和肝糖原沉积影响了肝脏重新摄入 LDL。这与许霄霄等^[31]的研究结果相似, 即肝糖原和脂肪蓄积导致鱼体肝脏功能抑制, 影响了 LDL 重转运回肝脏。但大多数鱼也会伴随肝脏脂肪增多, 合成更多的 LDL 分泌进入血液^[32]。本实验结果与前述研究一致, 44.2/4 组高糖脂比组实验鱼血清 LDL 含量显著高于其他组, 结合该组更高的肝脏脂肪, 可推测高肝脏脂肪含量促使更多的 LDL 向血转运, 同时影响肝脏对 LDL 的重摄入。此外, 在高等哺乳动物体外和临床数据都表明高血糖可导致 LDL 糖基化与过氧化物的发生, 从而导致机体产生一系列并发症, 加剧 LDL 的脂代谢异常^[33]。类似的高淀粉饮食诱导的高甘油三酯血症大鼠, 肝细胞 LDL 受体降低, 潜在地降低 LDL 重转运回肝脏, 从而影响 LDL 水平^[34]。不过相关影响指标在本研究各组中均无显著差异。在血液氨基酸代谢相关指标中, 30.4/10 组拥有最高的血清总氨基酸和最低的尿素水平, 从代谢角度

看, 该组蛋白水解更强, 氨基酸分解更弱是造成该组血清总氨基酸高的原因^[35]。

3.3 不同糖脂比饲喂对吉富罗非鱼肠道菌群组成及抗病力的影响

在凡纳滨对虾饲料中用豆粕部分替代鱼粉, 尽管不能影响其肠道菌群组成多样性, 但其潜在的致病菌和有益菌如塔式弧菌、副溶血弧菌和玫瑰杆菌, 会分别增加和减少^[36]。此外, 高脂饲喂的虹鳟其菌群多样性更丰富, 且比低脂组中多检测出气单胞菌 (*Aeromonas* spp.), 黄杆菌 (*Flavobacterium* spp.), 假单胞菌 (*Pseudomonas* spp.) 和棒状杆菌 (*Coryneforms*) 等^[37]。本研究中, 菌群多样性在各组没有显著差异。不过, 在菌群组成上 30.4/10 组衣原体门、绿弯菌门和放线菌门丰度上明显多于其他组, 特别是 39.6/6 和 44.2/4 两组, 而厚壁菌门低于其他各组。攻毒试验显示, 30.4/10 组存活率低于其他各组, 且显著低于 44.2/4 组。这与衣原体门在水产养殖中被认为是引发疾病的门类^[38]和厚壁菌门中的一些成员能够提供鱼类消化和吸收所需的各种酶相吻合^[39]。此外, 属水平上 30.4/10 组幽门螺杆菌属 (井杆菌属) 明显高于除 35.0/8 外的其他组, 而乳杆菌属和双歧杆菌属明显低于 39.6/6、44.2/4 和 25.8/12 组。再一次说明 30.4/10 组低糖高脂组呈现潜在有益菌下降、致病菌升高, 这可能是造成其抗病力更差的原因。这与高等哺乳动物上高脂饮食的摄入导致肠道 (尤其是后肠) 双歧杆菌属等有益菌丰度减少, 而条件性致病菌拟杆菌目和梭菌目部分细菌丰度增加相类似^[40]。但是, 实验中, 菌群组成优势最明显的 39.6/6 组吉富罗非鱼存活率不是最高, 这可能与未能拥有像 44.2/4 组那样强的糖利用能力有关。有报道认为, 在致病菌胁迫下, 葡萄糖作为底物供能有利于鱼类非特异免疫蛋白的合成从而提高抗病力^[41]。本实验中, 吉富罗非鱼抗病力可能由其对糖的利用能力和肠道菌群共同决定, 与 30.4/10 组同为低糖高脂处理的 25.8/12 组吉富罗非鱼抗病力亦强于 30.4/10 组。菌群组成上, 25.8/12 组衣原体门和双歧杆菌属、乳酸菌属分别低于和高于 30.4/10 组, 菌群 DPICRUST2 功能富集也发现 30.4/10 组在碳水化合物和能量代谢上显著高于 25.8/12 组, 这可能说明该组菌群在功能上与 25.8/12 组存在较大差异, 但具体机制有待进一步研究。

4 结论

本实验结果表明,吉富罗非鱼有快速适应和耐受饲料糖脂变化的能力,且对高糖脂比饲料适应后有对糖利用增强的能力。本实验中,次高糖脂比 39.6/6(D2)组在粗蛋白含量、菌群组成均表现最佳,说明吉富罗非鱼在高糖脂比饲料应用上具有一定的潜力,也表明吉富罗非鱼可一定程度利用糖对脂和蛋白的节约效应以配制成本更低而不影响其健康生长的理想饲料。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Tacon A G J, Metian M. Food matters: fish, income, and food supply—a comparative analysis[J]. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 2018, 26(1): 15-28.
- [2] Naylor R L, Hardy R W, Buschmann A H, *et al.* A 20-year retrospective review of global aquaculture[J]. *Nature*, 2021, 591(7851): 551-563.
- [3] 陈天翔, 曲木, 吕春双, 等. 饲料不同糖脂比对鲤鱼生长、免疫及抗氧化相关酶活性的影响[J]. *天津农学院学报*, 2016, 23(1): 5-9.
Chen T X, Qu M, Lü C S, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate-to-lipid ratio on growth, immune ability and antioxidant enzymes activity of carp[J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2016, 23(1): 5-9 (in Chinese).
- [4] 王菲, 李向飞, 李贵锋, 等. 不同糖脂比对建鲤幼鱼生长、体组成、消化及糖酵解能力的影响[J]. *水产学报*, 2015, 39(9): 1386-1394.
Wang F, Li X F, Li G F, *et al.* Effects of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, body composition, digestion and glycolysis of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(9): 1386-1394 (in Chinese).
- [5] 付辉云, 万国媛, 傅义龙, 等. 饲料脂肪水平对彭泽鲫免疫、抗氧化和肠道消化酶活性的影响[J]. *饲料研究*, 2020, 43(1): 14-17.
Fu H Y, Wan G Y, Fu Y L, *et al.* Effect of dietary lipid levels on immune, antioxidant function and digestive enzyme activities of juvenile Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. *Pengze*)[J]. *Feed Research*, 2020, 43(1): 14-17 (in Chinese).
- [6] 丁立云, 陈文静, 贺凤兰, 等. 饲料碳水化合物水平对养成期彭泽鲫生长性能、抗氧化及血清生化指标的影响[J]. *水产学杂志*, 2022, 35(1): 16-22.
Ding L Y, Chen W J, He F L, *et al.* Effects of dietary carbohydrate level on growth performance, antioxidation and serum biochemical indices of pengze crucian carp *Carassius auratus* var. *Pengze*[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2022, 35(1): 16-22 (in Chinese).
- [7] Liu Y J, Liu N, Wang A, *et al.* Resveratrol inclusion alleviated high-dietary-carbohydrate-induced glycogen deposition and immune response of largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *British Journal of Nutrition*, 2022, 127(2): 165-176.
- [8] 杨丽萍, 郑文佳, 秦超彬, 等. 饲料糖脂比对吉富罗非鱼生长、血液指标和肝脏糖代谢关键酶活性及基因表达的影响[J]. *水产学报*, 2016, 40(9): 1376-1386.
Yang L P, Zheng W J, Qin C B, *et al.* Effects of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, blood biochemical indices, key enzymes activity and gene expression of hepatic glucose metabolism of juvenile GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(9): 1376-1386 (in Chinese).
- [9] Zhou Y L, Guo J L, Tang R J, *et al.* High dietary lipid level alters the growth, hepatic metabolism enzyme, and anti-oxidative capacity in juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(1): 125-134.
- [10] 李坚明, 甘晖, 冯广朋, 等. 饲料脂肪含量与奥尼罗非鱼幼鱼肝脏形态结构特征的相关性[J]. *南方水产*, 2008, 4(5): 37-43.
Li J M, Gan H, Feng G P, *et al.* Correlation between lipid levels of feed and liver morphology characters of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(5): 37-43 (in Chinese).
- [11] Mentella M C, Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, *et al.* Nutrition, IBD and gut microbiota: a review[J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): E944.
- [12] Pascale A, Marchesi N, Marelli C, *et al.* Microbiota and metabolic diseases[J]. *Endocrine*, 2018, 61(3): 357-371.
- [13] 孟晓林, 李文均, 聂国兴. 鱼类肠道菌群影响因子研究进展[J]. *水产学报*, 2019, 43(1): 143-155.
Meng X L, Li W J, Nie G X, *et al.* Effect of different factors on the fish intestinal microbiota[J]. *Journal of China Water and Fishery Society* sponsored by China Society of Fisheries

- Fisheries of China, 2019, 43(1): 143-155 (in Chinese).
- [14] Ringø E, Zhou Z, Vecino J L G, *et al.* Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story?[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(2): 219-282.
- [15] Bruni L, Pastorelli R, Viti C, *et al.* Characterisation of the intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) partially defatted larva meal as partial dietary protein source[J]. *Aquaculture*, 2018, 487: 56-63.
- [16] Sun P, Jin M, Ding L Y, *et al.* Dietary lipid levels could improve growth and intestinal microbiota of juvenile swimming crab, *Portunus trituberculatus*[J]. *Aquaculture*, 2018, 490: 208-216.
- [17] 曲木. 饲料不同糖脂比和烟酸铬对津新鲤生长及代谢的影响 [D]. 天津: 天津农学院, 2016.
- Qu M. Effects of different dietary carbohydrate-to-lipid (CHO/L) ratio and chromium-nicotinic on growth performance and metabolism in carp (*Cyprinus carpio* Jian)[D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [18] Zhang M L, Shan C J, Tan F, *et al.* Gnotobiotic models: powerful tools for deeply understanding intestinal microbiota-host interactions in aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2020, 517: 734800.
- [19] 叶儒锴, 郑钧, 李孟孟, 等. 液态和粉末脂肪对吉富罗非鱼幼鱼生长、健康及肌肉品质的影响[J]. *水产学报*, 2019, 43(10): 2197-2208.
- Ye R K, Zheng J, Li M M, *et al.* Effects of liquid and powdered fat on growth, health and muscle quality of juvenile GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(10): 2197-2208 (in Chinese).
- [20] Chen C Y, Sun B L, Li X X, *et al.* N-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: quantification of optimum requirement of dietary linolenic acid in juvenile fish[J]. *Aquaculture*, 2013, 416/417: 99-104.
- [21] Guo M J, Wu F H, Hao G G, *et al.* *Bacillus subtilis* improves immunity and disease resistance in rabbits[J]. *Frontiers in Immunology*, 2017, 8: 354.
- [22] Ren M C, Liang H L, Ge X P, *et al.* Effects of dietary carbohydrate-to-lipid ratio on growth performance, plasma parameters and hepatic antioxidant status in ide (*Leuciscus idus*, Linnaeus, 1758)[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 19: 100618.
- [23] Abdel-Ghany H M, Salem M E S, Ezzat A A, *et al.* Effects of different levels of dietary lipids on growth performance, liver histology and cold tolerance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2021, 96: 102833.
- [24] Kumkhong S, Marandel L, Plagnes-Juan E, *et al.* Glucose injection into the yolk influences intermediary metabolism in adult Nile tilapia fed with high levels of carbohydrates[J]. *Animal*, 2021, 15(9): 100347.
- [25] Kumkhong S, Marandel L, Plagnes-Juan E, *et al.* Early feeding with hyperglucidic diet during fry stage exerts long-term positive effects on nutrient metabolism and growth performance in adult tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Nutritional Science*, 2020, 9: e41.
- [26] Song Y, Alami-Durante H, Skiba-Cassy S, *et al.* Higher glycolytic capacities in muscle of carnivorous rainbow trout juveniles after high dietary carbohydrate stimulus at first feeding[J]. *Nutrition & Metabolism*, 2019, 16 (1): 1-14.
- [27] Chen G F, Qian J H, Liu H Y, *et al.* Dietary carbohydrate-to-lipid ratios modulate juvenile hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatus*): Effects on growth, serum biochemistry, intestinal digestion and hepatic metabolism of glucose and lipid[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2021, 27(5): 1370-1382.
- [28] Guo H J, Chen C Y, Yan X, *et al.* Effects of different dietary oil sources on growth performance, antioxidant capacity and lipid deposition of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735923.
- [29] Liu K, Liu H Y, Chi S Y, *et al.* Effects of different dietary lipid sources on growth performance, body composition and lipid metabolism-related enzymes and genes of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49(2): 717-725.
- [30] 吴凡, 蒋明, 文华, 等. 饲料碳水化合物与脂肪比例对吉富罗非鱼成鱼生长、体成分和血清生化指标的影响[J]. *南方水产科学*, 2019, 15(4): 53-60.
- Wu F, Jiang M, Wen H, *et al.* Effects of dietary carbohydrate to lipid ratio on growth performance, body composition and serum biochemical indices of adult GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2019, 15(4): 53-60 (in Chinese).
- [31] 许霄霄, 刘伟, 文华, 等. 高糖饲料对吉富罗非鱼生长

- 性能、饲料利用和糖脂代谢的影响[J]. *南方水产科学*, 2017, 13(5): 94-102.
- Xu X X, Liu W, Wen H, *et al.* Effect of high-carbohydrate diet on growth performance, feed utilization, glucose and lipid metabolism of GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2017, 13(5): 94-102 (in Chinese).
- [32] Lovell T. Nutrition and Feeding of Fish[M]. New York: Springer, 1989.
- [33] Hunt J V, Smith C C T, Wolff S P. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose[J]. *Diabetes*, 1990, 39(11): 1420-1424.
- [34] 刘秉文, 洪瑛, 傅明德. 高甘油三酯血症大鼠肝非实质细胞LDL受体功能的研究[J]. *华西医科大学学报*, 1995, 26(3): 252-256.
- Liu B W, Hong Y, Fu M D. Study on LDL receptors of liver non-parenchymal cells in hypertriglyceridemic rats induced by high carbohydrate diet[J]. *Journal of West China University of Medical Sciences*, 1995, 26(3): 252-256 (in Chinese).
- [35] Ning L, Liu Y, Wang W, *et al.* The metabolic regulation of fenofibrate is dependent on dietary protein content in male juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *British Journal of Nutrition*, 2019, 122(6): 648-656.
- [36] Hu X, Yang H L, Yan Y Y, *et al.* Effects of fructooligosaccharide on growth, immunity and intestinal microbiota of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed diets with fish meal partially replaced by soybean meal[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2019, 25(1): 194-204.
- [37] Lésel R, de la Noüe J, Choubert G. Fecal bacterial flora of rainbow trout under antibiotic treatment: effect of the number of pyloric caeca and the lipid content of food[M]//De Pauw N, Jaspers E, Ackfors H, *et al.* Aquaculture: a Biotechnology in Progress. Bredene: European Aquaculture Society, 1989, 1: 897-903.
- [38] Pawlikowska-Warych M, Deptuła W. Characteristics of chlamydia-like organisms pathogenic to fish[J]. *Journal of Applied Genetics*, 2016, 57(1): 135-141.
- [39] Smriga S, Sandin S A, Azam F. Abundance, diversity, and activity of microbial assemblages associated with coral reef fish guts and feces[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 73(1): 31-42.
- [40] Zafar H, Saier M H Jr. Gut *Bacteroides* species in health and disease[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1848158.
- [41] 强俊, 杨弘, 王辉, 等. 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血液生化指标和肝脏HSP70 mRNA表达的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(6): 958-968.
- Qiang J, Yang H, Wang H, *et al.* Studies on blood biochemical indices and expression of hepatic HSP70 mRNA of different tilapia strains artificially challenged with *Streptococcus iniae*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(6): 958-968 (in Chinese).

Effects of dietary carbohydrate-to-lipid ratio on growth, physiology and biochemistry, gut microbiota and disease resistance of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*)

NING Lijun¹, CHEN Sen¹, RONG Hua², CHEN Xiaoying³, ZHENG Jia¹,
ZHANG Haotian¹, PAN Qing¹, LI Yuanyou^{1*}

(1. College of Marine Sciences of South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. College of Animal Sciences of Yunnan Agricultural University, Kunming 650000, China;

3. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The experiment was conducted to study the effects of different carbohydrate-to-lipid ratio diets on growth, physiological and biochemical indices, gut microbiota composition and disease resistance of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish with an average body weight of 27g were selected as the research object. Five isonitrogenous and isoenergetic diets with different carbohydrate-to-lipid ratios were used respectively: 44.2/4(D1), 39.6/6(D2), 35/8(D3), 30.4/10(D4), 25.8/12(D5) and fed for 10 weeks. Nutritional and biochemical analysis methods combined with high-throughput sequencing technology were used to determine the indices. The results showed that the changed C/L ratio had significant effect on the growth of GIFT tilapia in the early feeding stage of 2 weeks, both the growth effects of low- C/L and high- C/L ratio groups were not good. While in 4-10 weeks, there was no significant difference among all groups ($P > 0.05$). At 10 weeks, low C/L ratio-D4 was significantly higher than high C/L ratio-D1 in viscera/body ratio ($P < 0.05$), while whose serum urea and disease resistance were lower than D1 ($P < 0.05$). Moreover, mesenteric index of D4 was higher than high C/L ratios D1 and D2 ($P < 0.05$), while whose whole-body crude protein was significantly lower than D1 and D2 ($P < 0.05$). On the other hand, the hepatosomatic of D1 was higher than that of low C/L ratio-D5 ($P < 0.05$), and the low-density lipoprotein cholesterol and glucose tolerance of D1 were higher than those of other groups ($P < 0.05$). The species composition and heat map showed that D4 was separated from the other groups. In terms of phylum heatmap, Chlamydia, Chloroflexi and Actinomycetes of D4 were higher than other groups (especially D2 and D1), while its firmicutes were lower than other groups (especially D2). Further at genus level, *Phreatobacter* of D4 was significantly higher than that of other groups, while *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in D4 was significantly lower than that of other groups (except D3). In conclusion, GIFT tilapia has strong adaptability and utilization ability to different C/L ratio diets. Under the experimental conditions, although 39.6/6(D2) diet group had no significant difference with other groups in growth, its whole-body crude protein content was the highest among groups, and the composition of gut microbiota was also superior to other groups, which was an appropriate C/L ratio for GIFT tilapia.

Key words: *Oreochromis niloticus*; carbohydrate-to-lipid ratio; growth performance; glucose tolerance; gut microbiota

Corresponding author: LI Yuanyou. E-mail: yyli16@scau.edu.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2018YFD0900400); National Natural Science Foundation of China (32002400); Guangdong Project Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2019A1515110115)