

纳米缓释丁酸钠对草鱼生长性能、血清生化指标、肠道黏膜形态及*PepT1*基因表达的影响

唐建洲 曹申平 瞿符发 彭亮 刘臻 侯德兴 贺喜

EFFECTS OF SUSTAINED RELEASE NANOSPHERE SODIUM BUTYRATE ON THE GROWTH PERFORMANCE, SERUM BIOCHEMICAL INDICES, INTESTINAL MUCOSAL MORPHOLOGY AND *PEPT1* mRNA EXPRESSION IN INTESTINAL OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

TANG Jian-Zhou, CAO Shen-Ping, QU Fu-Fa, Peng Liang, LIU Zhen, Hou De-Xing, HE Xi

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2021.2020.076>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

饲料中发酵芝麻粕替代菜粕对草鱼生长性能、肠道形态和微生物及小肽转运相关基因表达的影响

EFFECTS OF DIETARY RAPESEED MEAL ON THE GROWTH PERFORMANCE, INTESTINAL MORPHOLOGY AND MICROFLORA OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

水生生物学报. 2019, 43(6): 1147–1154 <https://doi.org/10.7541/2019.135>

草鱼在摄食高能饲料后血清生化指标的动态变化

EFFECTS OF HIGH ENERGY DIETS ON SERUM BIOCHEMICAL INDICES OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLA*)

水生生物学报. 2019, 43(3): 517–525 <https://doi.org/10.7541/2019.063>

饲料蛋白水平对湘华鲮幼鱼生长性能、体成分及血清生化指标的影响

EFFECTS OF DIETARY PROTEIN LEVELS ON GROWTH PERFORMANCE, BODY COMPOSITION AND SERUM BIOCHEMICAL INDICES OF JUVENILE *SINILABEO DECORUS* TUNGTING (NICHOLS)

水生生物学报. 2020, 44(2): 346–356 <https://doi.org/10.7541/2020.042>

草鱼肠道黏膜厌氧细菌的分离与鉴定

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ANAEROBES IN THE INTESTINAL MUCOSA OF GRASS CARP *CTENOPHARYNGODON IDELLUS*

水生生物学报. 2018, 42(1): 11–16 <https://doi.org/10.7541/2018.002>

低磷饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响

EFFECTS OF α -KETOGLUTARATE SUPPLEMENTATION IN LOW-PHOSPHOROUS DIETS ON GROWTH PERFORMANCE, BODY COMPOSITION AND SERUM BIOCHEMICAL INDEXES OF SONGPU MIRROR CARP

水生生物学报. 2018, 42(3): 525–532 <https://doi.org/10.7541/2018.066>

益生芽孢杆菌对草鱼肠黏膜结构的保护作用

THE PROTECTIVE EFFECT OF PROBIOTIC *BACILLUS* ON THE INTESTINAL MUCOSAL STRUCTURE OF *CTENOPHARYNGODON IDELLUS*

水生生物学报. 2017, 41(4): 774–780 <https://doi.org/10.7541/2017.96>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2021.2020.076

纳米缓释丁酸钠对草鱼生长性能、血清生化指标、 肠道黏膜形态及*PepT1*基因表达的影响

唐建洲^{1,2} 曹申平² 瞿符发² 彭亮² 刘臻² 侯德兴^{1*} 贺喜^{1*}

(1. 湖南农业大学动物科技学院, 长沙 410128; 2. 长沙学院生物与环境工程学院, 水生动物营养与品质调控湖南省重点实验室, 长沙 410022)

摘要:以初始体重(18.65±0.21) g的草鱼为实验对象, 研究不同浓度纳米缓释丁酸钠对草鱼的生长性能、血清生化指标、肠道黏膜形态及*PepT1*基因表达的影响, 实验共配制6种等氮等能的草鱼实验饲料, 在基础饲料中分别添加0、0.1%、0.2%、0.4%、0.6%和0.8%的纳米缓释丁酸钠, 以不添加丁酸钠组为对照组。实验在室外网箱内进行, 每网箱饲养50尾草鱼, 每个处理重复3次, 养殖时间60d。结果表明: 当纳米缓释丁酸钠添加量为0.6%时, 草鱼的增重率、特定生长率、肥满度和肠绒毛高度均显著高于对照组($P<0.05$), 具有较好的促进生长的作用; 同时, 草鱼血清中的球蛋白含量显著增加 ($P<0.05$), 尿素氮含量与对照相比显著降低($P<0.05$), 谷丙转氨酶GOT、谷草转氨酶GPT及葡萄糖含量与对照相比差异不显著; 血清中总氨基酸含量及必需氨基酸含量相比对照组增加显著($P<0.05$), 小肠中*PepT1*基因表达量提高显著($P<0.05$)。在饲料中添加适量的纳米缓释丁酸钠通过保护肠道黏膜和提高肠道*PepT1*的表达量, 从而促进其生长, 适宜添加量为0.6%。

关键词: 纳米缓释丁酸钠; 草鱼; 血清生化指标; 肠道黏膜形态; *PepT1*

中图分类号: S965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2021)04-0764-10



随着草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)养殖向规模化和集约化模式的发展, 其对饲料的需求量逐年增加, 而由于鱼粉价格的不断攀升, 饲料厂家往往采用价格低廉的植物性蛋白替代鱼粉来降低生产成本, 如豆粕、菜粕和棉籽粕等。植物蛋白源替代鱼粉可有效节约饲料成本, 同时, 还可以缓解鱼粉供给侧紧张, 减少因鱼粉需求增加而导致过度捕捞带来的一系列渔业资源破坏和生态失衡等问题^[1]。一般来说, 随着植物性蛋白源替代比例升高, 养殖动物对饲料利用能力降低, 当植源性原料大量使用时还会引起鱼类肠道炎症, 严重则会造鱼类死亡。研究表明, 植源性原料的一个重要危害就是其所含有的抗营养因子能损伤鱼类小肠绒毛细胞, 造成水产动物的肠道损伤^[2]。另外, 由于鱼类对植物性饲料的利用率不高, 未消化吸收的营养物质直接

排到水域环境, 造成水中氨氮过高, 水体富营养化, 养殖水域环境严重污染^[3]。丁酸钠是一种重要的饲料添加剂, 其能被肠道快速吸收, 具有促进肠道细胞增殖和成熟, 维持肠黏膜完整性, 促进小肠对营养物质的消化吸收的作用^[4,5]。在仔猪(*Sus domestica*)^[6,7]和雏鸡(*Gallus gallus domesticus*)^[8]中的研究发现, 丁酸钠能降低动物的饵料系数, 提高其增重率。同时, 还能够调节动物肠道内微生物的生态平衡, 提高机体自身免疫力^[9,10]。在水产动物饲料中丁酸钠的应用也有相关报道。研究表明, 其对西伯利亚鲟(*Acipenser baeri*)^[11]和南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[12,13]的生长性能具有显著的促进作用, 但是有关丁酸钠对水生动物肠道蛋白质及小肽吸收转运影响的研究却鲜有报道。丁酸钠的活性成分是丁酸, 而丁酸具有挥发性和难闻的酸臭味,

收稿日期: 2020-04-20; 修订日期: 2020-07-18

基金项目: 国家自然科学基金(31001114和31272675); 湖南省教育厅创新平台开放基金资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31772865 and 31702378) and Scientific Research Fund of Hunan Provincial Education Department (19K010 and 18K095)]

作者简介: 唐建洲(1979—), 男, 博士研究生; 研究方为水产动物营养与饲料学。E-mail: 49071398@qq.com

通信作者: 侯德兴, 教授, 博士生导师; E-mail: hou@chem.agri.kagohima-u.ac.jp 贺喜, 教授, 博士生导师; E-mail: hexi111@126.com

*共同通信作者

在应用中, 为了克服这些缺点并达到其在饲料投喂过程的增产等效果, 一般会采用包膜技术将丁酸钠进行各种包膜处理, 达到定点和延时释放的目的^[14]。本研究拟在草鱼饲料中添加不同剂量的纳米缓释丁酸钠(专利号: ZL2016103275999), 利用养殖生长实验, 探讨纳米缓释丁酸钠对草鱼生长性能、血清生化指标、肠道上皮细胞的增殖及 *PepT1* 基因表达的影响, 从而为纳米缓释丁酸钠在草鱼饲料中的生产应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

参照草鱼营养需求, 配制6种等氮等能的基础饲料, 在草鱼基础饲料中分别添加纳米缓释丁酸钠, 添加量为0、0.10%、0.20%、0.40%、0.60%和0.8%。豆粕和鱼粉等大颗粒饲料原料经粉碎机粉碎后过40目筛筛选, 确保原料粉碎充分、均匀。原料的混合采用逐级放大法进行混合, 先将微量组分充分混合均匀后, 再添加大宗原料豆粕和大米蛋白等, 最后与鱼油和水充分混合, 采用SLX-80型(上海饲料机械制造有限公司)颗粒饲料机制粒, 粒径为2.5 mm, 晾干备用。实验饲料配方见表1。

1.2 动物饲养与管理

实验用草鱼由湖南省水产科学研究所(湖南, 长沙)提供, 养殖实验在长沙学院网箱养殖基地进行, 网箱规格为长200 cm×宽200 cm×深250 cm, 每个网箱内饲养50尾初始体重为(18.65±0.21) g, 大小规格一致的草鱼, 喂食60d, 实验共6个处理, 每个处理设3个重复, 以不添加丁酸钠组为对照组; 其他为处理组, 分别编号0.1%组、0.2%组、0.4%组、0.6%组和0.8%组。每天于8:30、12:30和16:30投喂, 共投喂3次, 投喂量随鱼体质量而增加, 第一周投喂量为鱼体质量的5%, 以后每周增加1%, 在自然条件下养殖。每天记录天气状况、水温变化状况、投喂量和摄食状况。

1.3 样品采集与分析

生长性能指标 在养殖实验结束后, 实验鱼禁食24h, 分别称量每网箱鱼的总体重并记录鱼总数量, 按照公式分别计算每个处理组的草鱼平均体重、成活率、增重率、蛋白质效率和特定生长率。每个网箱随机取出6尾实验鱼, 分别测量其体重和体长, 按照公式计算肥满度。计算公式如下:

$$\text{成活率}(SR, \%) = \frac{\text{终末尾数}}{\text{初始尾数}} \times 100;$$

$$\text{增重率}(WGR, \%) = \frac{\text{末均体重} - \text{初均体重}}{\text{初均体重}} \times 100;$$

$$\text{蛋白质效率}(PER) = \frac{\text{体增重}}{\text{摄食量} \times \text{饲料蛋白}}$$

表1 饲料配方及生化组成(%干物质)

Tab. 1 Formulation and chemical composition of feed (% dry matter)

项目Item	丁酸钠添加量Sodium butyrate level (%)					
	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
丁酸钠 Sodium butyrate	0.00	0.10	0.20	0.40	0.60	0.80
面粉Wheat flour	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
淀粉Starch	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
豆粕 Soybean meal	32.00	32.00	32.00	32.00	32.00	32.00
鱼粉Fish meal	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00
豆油 Soybean oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
鱼油Fish oil	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
甲基纤维素 Methyl cellulose	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
预混料 Premix	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
营养成分Nutrient content						
粗蛋白 Crude protein	31.80	32.30	31.60	32.72	32.15	32.06
粗脂肪 Crude lipid	9.52	9.36	9.42	9.56	9.61	9.37
粗灰分 Crude ash	7.67	7.82	7.69	7.71	7.65	7.66

注: 预混料可为每千克饲料提供: 维生素A, 20000 IU; 维生素B₁, 300 mg; 维生素B₂, 300 mg; 维生素B₆, 400 mg; 维生素B₁₂, 4 mg; 烟酰胺, 2500 mg; 维生素C(35%), 1200 mg; 泛酸钙, 1000 mg; 生物素, 3.5 mg; 肌醇, 12000 mg; 叶酸, 3500 mg; 维生素E, 800 mg; 维生素K, 300 mg; 维生素D, 10000 IU; 硫酸镁, 600 mg; 硫酸锌, 1100 mg; 硫酸锰, 800 mg; 碘酸钾, 1.5 mg; 亚硒酸钠, 5 mg; 氯化钴(10%), 50 mg; 硫酸铜, 100 mg; 氯化钠, 100 mg; 次粉, 150 mg; 沸石粉, 4586 mg; 抗氧化剂, 200 mg

Note: The premix provided following per kg of diet: vitamin A, 20000 IU mg; vitamin B₁, 300 mg; vitamin B₂, 300 mg; vitamin B₆, 400 mg; vitamin B₁₂, 4 mg; niacinamide, 2500 mg; vitamin C(35%), 1200 mg; calcium pantothenate, 1000 mg; biotin, 3.5 mg; inositol, 12000 mg; folic acid, 3500 mg; vitamin E, 800 mg; vitamin K, 300 mg; vitamin D, 10000 IU; MgSO₄·7H₂O, 600 mg; ZnSO₄·7H₂O, 1100 mg; MnSO₄·7H₂O, 800 mg; KI, 1.5 mg; Na₂SeO₃, 5 mg; CoCl₂·6H₂O (10%), 50 mg; CuSO₄·5H₂O, 100 mg; NaCl, 100 mg; wheat middlings, 150 mg; zeolite, 4586 mg; antioxidant, 200 mg

质含量);

$$\text{特定生长率}(SGR, \%/d) = \frac{\ln \text{末均体重} - \ln \text{初均体重}}{\text{实验天数}} \times 100;$$

$$\text{肥满度}(CF, \text{g}/\text{cm}^3) = \frac{\text{体重}}{\text{体长}^3} \times 100.$$

饲料常规营养成分测定 实验饲料中的粗蛋白、粗脂肪和灰分的测定参照AOAC(2003)标准

方法:采用凯氏定氮仪(2300, Kjeltac Analyzer Unit)测定粗蛋白;粗脂肪采用索氏抽提仪(SoxtecSystem HT6, Tecator, Hoganas, Sweden)进行测定;灰分在马弗炉中550℃煅烧3h,采用失重法测定。

前肠的分离及黏膜形态测定和PepT1基因表达量的测定 每个重复随机取6尾鱼,分离前肠,用4%多聚甲醛溶液进行固定,石蜡切片,并用HE染色法染色,普通光学显微镜观察拍照,并在40倍镜下随机选取10根生长平直、舒展和完整的绒毛,测量绒毛高度及隐窝深度,并计算绒毛高度/隐窝深度的比值。每个重复另取6尾鱼,冰上解剖并分离前肠,6尾鱼肠道组织合为一个样品,迅速投入液氮中保存待用。

血清生化指标测定 在养殖结束后每个网箱随机取6尾鱼,尾静脉采取血液,采血过程中注意轻拿轻放,防止溶血现象的发生,全血放入4℃冰箱,次日用Eppendorf5804R台式离心机,4℃,4000 r/min离心10min,上层血清-80℃保存待测。用日立7170A型自动生化测定仪检测血清总蛋白、谷草转氨酶、谷丙转氨酶和尿素氮等指标。

血清游离氨基酸的测定 血清采集方法同上,吸取100 μL血清样品加入100 μL预冷的乙腈,漩涡振荡混匀,放入4℃冰箱中20min,沉淀蛋白质,12000 r/min离心10min,取上清100 μL,加入50 μL PITC衍生剂和50 μL三乙胺,室温避光衍生1h后12000 r/min离心10min,上清中加入等体积的正己烷振荡混匀后静置15min,去除过剩的衍生剂,取下层液,采用高效液相色谱柱法测定血清中游离氨基酸。

荧光定量引物设计及合成 以GenBank中草鱼PepT1基因为依据,用Primer Premier 5.0软件设计荧光定量PCR引物,并设计草鱼管家基因β-actin引物作为内参引物,引物由长沙擎科生物科技有限公司合成。β-actin上游引物:5'-GAACACTGTGCTGTCTGGAGGTA-3',下游引物:5'-CTTGGGTTGGTCGTTTGAATC-3';PepT1上游引物:5'-TGCT

CTTGTTGTGTTTCATCG-3',下游引物:5'-CTCTCTCTTGGGGTATTGCTT-3'。

前肠总RNA提取及cDNA第一链的合成 取出肠道组织,在研钵中用液氮研磨,按照OMEGA公司EZNA™ Total RNA Kit II的操作说明提取RNA,并消化去除DNA;cDNA第一链的合成:按照Fermentas公司RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒方法进行反转录合成cDNA第一链,-20℃保存备用。

肠道PepT1基因表达水平的分析 参考Kenneth等^[15]的报道,采用荧光定量PCR方法测定PepT1基因在肠道中的相对表达量,按照TaKaRa公司SYBR® Premix ExTaq™ II试剂盒反应体系,在Thermofisher公司Quant Studio 3 Real-Time PCR System实时荧光定量PCR仪上进行荧光定量分析。反应体系如下:SYBR Premix ExTaq 12.5 μL、上游引物0.5 μL、下游引物0.5 μL、cDNA 2 μL,用ddH₂O补齐体积至25 μL,每个样品重复3次。反应程序:95℃预变性30s,95℃变性3s、55℃退火25s、72℃延伸11s共40个循环。根据扩增曲线得出Ct值,用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [$\Delta\Delta Ct=(Ct,目的基因-Ct,管家基因)-\Delta Ct校准样$]计算基因相对表达丰度^[16,17]。

1.4 数据统计分析

本文中所有实验数据均以平均值±标准误(Means±SE)表示,用EXCEL(2013)进行计算和基本统计,用SPSS软件(版本17.0)进行统计分析。实验数据经方差齐性检验后,进行单因素方差分析(One-way ANOVA);若各实验组间差异显著,则进行Duncan's多重比较;以P<0.05判定为显著性差异。

2 结果

2.1 纳米缓释丁酸钠对草鱼生长性能的影响

如表2所示,经过60d的养殖实验,0.6%组草鱼全部成活,草鱼没有出现死亡与其他组有显著差异

表2 纳米缓释丁酸钠对草鱼生产指标性能的影响

Tab. 2 Effects of sustained release nanosphere sodium butyrate on the growth of grass carp

项目Item	对照组 Control	0.1%组 0.1% group	0.2%组 0.2% group	0.4%组 0.4% group	0.6%组 0.6% group	0.8%组 0.8% group
初始均重IBW (g)	18.82±0.17 ^a	18.86±0.51 ^a	18.49±0.27 ^a	18.60±0.13 ^a	18.80±0.95 ^a	18.35±0.66 ^a
终末均重FBW (g)	40.42±2.12 ^b	42.12±1.97 ^b	43.64±1.67 ^b	48.13±2.36 ^c	60.49±6.16 ^d	37.11±2.24 ^a
成活率SR (%)	94.66±1.22 ^a	95.16±1.21 ^a	95.13±2.15 ^a	98.05±1.23 ^b	100.00±0.00 ^b	93.66±2.35 ^a
增重率WGR (%)	114.77±20.11 ^b	123.33±19.95 ^b	136.02±31.12 ^c	158.76±29.28 ^d	221.76±56.33 ^c	102.23±18.67 ^a
饵料系数FCR	1.95±0.13 ^a	2.25±0.16 ^b	2.31±0.19 ^b	2.32±0.16 ^b	2.02±0.21 ^a	2.65±0.18 ^c
特定生长率SGR (%/d)	1.27±0.05 ^a	1.33±0.06 ^{ab}	1.43±0.01 ^b	1.58±0.07 ^c	1.94±0.12 ^d	1.17±0.11 ^a
蛋白质效率PER	1.48±0.02 ^c	1.11±0.04 ^a	1.25±0.03 ^b	1.29±0.12 ^b	1.45±0.06 ^c	1.02±0.11 ^a
饱满度CF (g/cm ³)	1.82±0.12 ^a	1.81±0.15 ^a	1.92±0.21 ^b	2.01±0.16 ^b	2.22±0.19 ^c	1.72±0.24 ^a

($P<0.05$), 其他各处理之间都有死亡, 但没有显著差异; 增重率、特定生长率和肥满度3个指标方面, 随丁酸钠的浓度升高出现先升后降的趋势, 0.2%、0.4%和0.6%组草鱼增重率相对对照都有显著升高, 以0.6%组升高最显著($P<0.05$); 相对对照组, 各丁酸钠处理组的饵料系数均有不同程度升高, 但0.6%组与对照组无显著差异($P>0.05$); 各丁酸钠处理组的蛋白质效率相对对照组都有不同程度降低, 但0.6%组与对照组接近, 无显著差异($P>0.05$)。

2.2 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠道黏膜形态的影响

如表3所示, 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠绒毛高度和隐窝深度的影响, 随着丁酸钠浓度升高, 草鱼

肠绒毛高度逐渐增加, 隐窝深度逐渐变浅(图1)。当饲料中纳米缓释丁酸钠添加量为0.6%时, 肠绒毛高度与隐窝深度的比值最大, 与对照组有显著差异($P<0.05$), 当超过这个浓度时则出现了负面影响。

2.3 纳米缓释丁酸钠对草鱼血清生化指标的影响

如表4所示, 在饲料中添加0.4%和0.6%丁酸钠会显著提高草鱼血清中总蛋白含量, 而添加0.1%和0.8%丁酸钠则会显著降低血清中总蛋白含量($P<0.05$); 球蛋白含量除在0.4%添加组与对照组没有显著性差异以外, 其他各添加组球蛋白含量均显著低于对照组($P<0.05$); 各添加组的谷丙转氨酶和谷草转氨酶含量相对对照组均出现下降, 当丁酸钠

表3 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠道黏膜形态的影响

Tab. 3 Effects of sustained release nanosphere sodium butyrate on intestinal mucosa morphology of grass carp

项目Item	对照组 Control	0.1%组 0.1% group	0.2%组 0.2% Group	0.4%组 0.4% group	0.6%组 0.6% group	0.8%组 0.8% group
绒毛高度Villus height (μm)	1126.65 \pm 310.22 ^b	1122.32 \pm 295.32 ^b	1322.50 \pm 289.3 ^c	1650.23 \pm 265.02 ^d	1704.06 \pm 316.15 ^d	1067.85 \pm 329.69 ^a
隐窝深度Crypt depth (μm)	74.45 \pm 34.34 ^b	69.78 \pm 26.42 ^b	52.93 \pm 7.12 ^a	49.08 \pm 17.42 ^a	49.02 \pm 7.96 ^a	83.56 \pm 70.17 ^c
绒毛高度/隐窝深度 Villus height/Crypt depth (V/C)	15.13 \pm 1.19 ^b	16.08 \pm 2.01 ^b	24.96 \pm 1.86 ^c	33.61 \pm 2.23 ^d	34.76 \pm 2.11 ^d	12.78 \pm 3.24 ^a

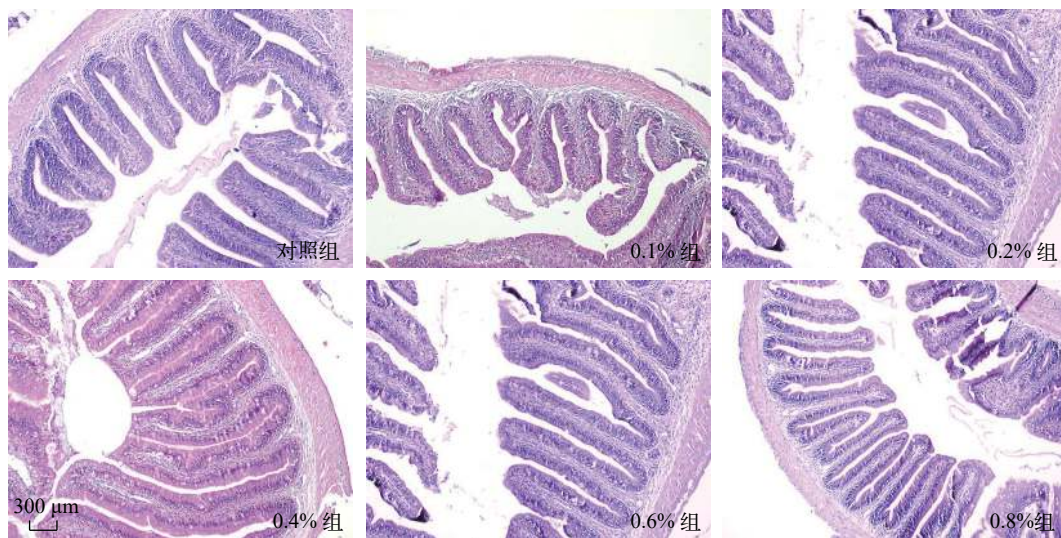


图1 不同处理组草鱼肠道黏膜形态光镜下比较($\times 40$)

Fig. 1 Intestinal mucosa morphology of grass carp in different groups under optical microscope ($\times 40$)

表4 纳米缓释丁酸钠对草鱼血清生化指标的影响

Tab. 4 Effects of sustained release nanosphere sodium butyrate on serum indices of grass carp

项目Item	对照组 Control	0.1%组 0.1% group	0.2%组 0.2% group	0.4%组 0.4% group	0.6%组 0.6% group	0.8%组 0.8% group
总蛋白TP (g/L)	23.89 \pm 0.89 ^b	21.13 \pm 1.01 ^a	22.65 \pm 0.96 ^b	25.23 \pm 1.11 ^c	27.01 \pm 1.56 ^d	20.76 \pm 1.34 ^a
球蛋白GLB (g/L)	10.50 \pm 0.86 ^c	10.01 \pm 0.79 ^b	9.96 \pm 0.56 ^b	10.80 \pm 0.99 ^c	10.13 \pm 1.01 ^b	9.12 \pm 1.21 ^a
谷草转氨酶AST (U/L)	42.17 \pm 3.69 ^c	30.21 \pm 4.21 ^b	25.92 \pm 3.89 ^a	40.60 \pm 3.88 ^c	42.10 \pm 3.74 ^c	28.29 \pm 3.45 ^a
谷丙转氨酶ALT (U/L)	10.32 \pm 1.10 ^d	7.17 \pm 2.13 ^b	5.69 \pm 0.98 ^a	8.89 \pm 1.87 ^c	10.28 \pm 1.56 ^d	5.44 \pm 2.01 ^a
尿素氮UN (mmol/L)	3.87 \pm 0.31 ^c	3.90 \pm 0.28 ^c	3.42 \pm 0.25 ^b	3.21 \pm 0.14 ^a	2.98 \pm 0.16 ^a	3.89 \pm 0.14 ^c
葡萄糖GLU (mmol/L)	4.22 \pm 0.70 ^c	3.76 \pm 0.54 ^b	3.92 \pm 0.130 ^{bc}	3.28 \pm 0.31 ^a	3.29 \pm 0.19 ^a	4.12 \pm 0.20 ^c

添加量为0.6%时,这2个酶的含量与对照组差异不显著($P>0.05$);血清中尿素氮含量随丁酸钠浓度升高而显著逐渐下降。其中尿素氮在0.6%丁酸钠添加组含量达到最低值($P<0.05$);在血清中葡萄糖含量在丁酸钠浓度0.2%和0.8%时与对照组无显著差异($P>0.05$),而其余各添加组则显著低于对照组($P<0.05$)。

2.4 纳米缓释丁酸钠对草鱼血清游离氨基酸的影响

各丁酸钠处理组血清中氨基酸含量随着丁酸钠浓度的升高而逐渐增加,且在0.6%丁酸钠处理组达到最高,随后下降,其中组氨酸和脯氨酸变化最为明显(表5)。氨基酸总量和必需氨基酸也具有同样的趋势,在0.6%丁酸钠添加组与对照组差异显著($P<0.05$)。

2.5 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠道PepT1 mRNA表达的影响

随着丁酸钠添加比例的增加,草鱼肠道PepT1 mRNA相对表达量呈上升趋势(图2);其中,PepT1 mRNA在添加0.6%丁酸钠浓度时相对表达量最高,与对照组差异显著($P<0.05$),在添加0.8%丁酸钠浓度时相对表达量最低($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 纳米缓释丁酸钠对草鱼生长性能的影响

在本实验中,饲料中不同丁酸钠处理组的草鱼

成活率、增重率、特定生长率和肥满度相比对照组均有一定程度提高,而饵料系数和蛋白质效率与对照组接近,无显著差异,尤其以0.6%组效果最显著,表明在饲料中添加适量的纳米缓释丁酸钠,会提高促进草鱼的成活率,促进生长。丁酸钠的促生长效果在畜禽动物上已有不少研究报道。张瑞阳等^[18]研究发现,在饲料中添加包被的丁酸钠可明显提高断奶仔猪的生长性能。相似的是,在断奶后小母牛饲料中添加丁酸钠对其生长性能和饲料效率均有促进作用,且对消化道总表观消化率不产生负面影响^[19]。Bortoluzzi等^[20]研究表明,在营养不良日粮的肉鸡饲料中添加丁酸钠,可调节其盲肠微生物群并提高其免疫功能,对其生长性能也有积极促进作用。在水产动物上,还殿宇等^[12]在鱼粉含量为12%的饲料中添加0.2%柠檬酸或丁酸钠,可显著改善凡纳滨对虾生长性能,提高饲料的利用效率。罗玲等^[21]在饲料中添加适量微囊丁酸钠,发现团头鲂的非特异性明显增高,主要原因是因为提高了饲料利用率,促进其健康生长。Zhou等^[22]研究了3种不同类型的丁酸钠在不影响鱼体生长的情况下,分别降低了鱼体的脂质积累,可能对鱼苗的健康生长及发育有一定的促进作用。魏朝青等^[23]在饲料中添加0.15%的丁酸钠研究其对大菱鲆幼鱼的影响,发现丁酸钠提高了其生长性能等生长指标,但是添加过多的丁酸钠会大大降低其生长性能。由此表明,

表5 纳米缓释丁酸钠对草鱼血清游离氨基酸的影响

Tab. 5 Effects of sustained release nanosphere sodium butyrate on serum free amino acids of grass carp

项目Item	对照组 Control	0.1%组 0.1% group	0.2%组 0.2% group	0.4%组 0.4% group	0.6%组 0.6% group	0.8%组 0.8% group
天冬氨酸Asp	5.70±0.89 ^c	0.71±0.16 ^a	4.18±0.98 ^b	5.04±1.10 ^c	7.43±0.65 ^d	4.45±0.56 ^b
谷氨酸Glu	8.64±0.99 ^c	0.89±0.23 ^a	7.44±1.16 ^b	8.62±1.30 ^c	9.20±1.12 ^d	8.41±0.86 ^c
组氨酸His	161.16±10.11 ^b	84.58±13.20 ^a	418.02±32.40 ^d	426.97±29.67 ^d	456.30±18.69 ^d	350.40±23.34 ^c
丝氨酸Ser	77.94±4.68 ^d	6.25±1.32 ^a	30.65±7.65 ^b	41.83±12.32 ^c	43.67±11.89 ^c	48.09±14.48 ^c
精氨酸Arg	94.49±17.23 ^c	5.78±2.30 ^a	49.23±14.57 ^b	58.37±19.35 ^c	69.56±13.84 ^d	49.88±14.01 ^b
甘氨酸Gly	210.75±35.36 ^f	11.64±2.79 ^a	70.38±13.21 ^b	98.60±22.30 ^c	120.09±31.25 ^d	154.37±36.39 ^c
苏氨酸Thr	115.39±43.90 ^d	8.53±2.33 ^a	58.65±20.30 ^b	95.17±24.37 ^c	103.31±32.24 ^c	62.50±14.63 ^b
丙氨酸Ala	53.58±13.46 ^d	4.70±1.99 ^a	19.73±6.38 ^b	33.00±13.20 ^c	63.32±15.89 ^c	29.40±10.33 ^c
脯氨酸pro	350.05±35.96 ^c	24.03±3.75 ^a	200.41±46.650 ^b	226.47±39.32 ^{bc}	245.13±21.22 ^c	277.39±45.20 ^d
酪氨酸Tyr	30.11±5.66 ^b	6.13±1.98 ^a	39.59±4.65 ^c	31.21±5.55 ^b	33.92±8.32 ^b	40.24±2.65 ^c
缬氨酸Val	92.37±24.37 ^c	2.66±0.65 ^a	12.41±1.24 ^b	19.11±3.01 ^c	38.58±5.64 ^d	22.49±4.83 ^c
甲硫氨酸Met	18.01±2.96 ^c	0.72±0.31 ^a	4.24±1.01 ^b	5.95±1.16 ^c	8.90±1.40 ^d	6.34±1.32 ^c
异亮氨酸Ile	40.90±3.87 ^c	1.41±0.23 ^a	13.59±1.65 ^{bc}	14.76±1.88 ^c	16.13±2.94 ^d	11.69±1.97 ^b
亮氨酸Leu	73.09±23.85 ^f	2.56±0.97 ^a	13.61±1.20 ^b	18.69±2.79 ^c	30.16±3.68 ^c	24.49±2.83 ^d
苯丙氨酸Phe	27.19±2.36 ^d	1.88±0.67 ^a	19.20±2.33 ^c	15.13±4.54 ^b	16.89±1.67 ^b	28.04±2.37 ^d
赖氨酸Lys	59.29±21.01 ^c	3.12±0.67 ^a	40.68±11.66 ^b	42.78±12.34 ^b	68.71±18.32 ^d	42.39±9.98 ^b
氨基酸总量WTAA	1418.67±235.54 ^c	165.59±23.91 ^a	1002.01±320.61 ^b	1346.68±421.56 ^c	1571.30±333.65 ^d	1160.57±119.65 ^b
必需氨基酸WEAA	426.25±43.21 ^d	20.87±4.62 ^a	162.38±26.55 ^b	416.58±45.78 ^d	452.68±33.50 ^c	197.94±32.45 ^c

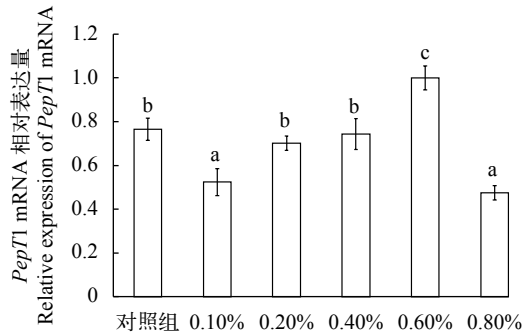


图2 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠道PepT1表达量的影响

Fig. 2 Effects of sustained release nanosphere sodium butyrate on PepT1 relative expression of grass carp

在饲料中添加丁酸钠具有良好的促进生长作用,但是要把握其添加量。在本实验中,草鱼在0.6%组的成活率明显高于对照组,而且其饵料系数和蛋白质效率指标与对照组无明显差异,说明0.6%浓度的丁酸钠对草鱼具有一定的促生长效果,这与上述研究报道相似,表明在饲料中添加纳米缓释丁酸钠有一定的正面作用,最佳添加量为0.6%。但并不是丁酸钠的浓度越高越好,在添加浓度过高的实验组,其生长效果及其他指标并不理想,可能是过高的丁酸钠浓度抑制了肠道上皮细胞的生长,从而降低了机体对营养物质的吸收利用,具体原因有待进一步研究。

3.2 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠道黏膜形态的影响

水生动物的消化系统没有胃,肠道在食物的消化吸收中发挥重要作用,但是水生动物的肠道壁都很薄,植物性配合饲料中抗营养因子会造成鱼类肠道损伤,抑制肠道黏膜上皮细胞的增殖和分化,进而影响整个肠道的健康状况。研究表明,丁酸钠在高等脊椎动物如牛和鸡的饲料中应用比较广泛,能促进其肠道细胞的增值与成熟^[24,25];丁酸钠在水生动物中的应用中也表现出较好的促进鱼类肠道发育及增值的效果,孙浪等^[26]研究发现,在饲料中添加一定浓度的丁酸钠能有效促进鲫肠道上皮细胞的增殖,汪富荣等^[27]在匙吻鲟饲料中添加1.0 g/kg的丁酸钠,促进了匙吻鲟肠道绒毛的生长与增殖,肠道绒毛高度与隐窝深度的比值显著增加。在本实验中,当饲料中纳米缓释丁酸钠添加量为0.6%时,肠绒毛高度最高,隐窝深度最浅,其比值与对照组相比显著增加($P<0.05$),表明丁酸钠对于草鱼肠道上皮细胞的生长与增殖具有很好的促进作用,与上述研究结果一致。

3.3 纳米缓释丁酸钠对草鱼血清生化指标的影响

鱼体的身体健康及物质的代谢可以通过监测

其血清生理生化指标的变化来评价。血清中的一些酶活力水平可以反映蛋白、肽类及氨基酸等物质的吸收代谢状况,球蛋白等指标可以直观的反映机体健康及免疫状况^[28,29]。在本实验中,草鱼血清中的总蛋白和球蛋白含量在0.4%组和0.6%时相对对照组显著增加,说明在饲料中添加纳米缓释丁酸钠后,有利于草鱼对饲料中蛋白质等各种营养成分的吸收和利用,蛋白质合成速度加快,免疫力增强,间接的促进了草鱼的生产性能。AST和ALT是氨基酸代谢中重要的转氨酶,主要分布在心脏和肝脏中,在正常情况下,血清中转氨酶活力在一定范围内的升高,表示机体对蛋白质的合成、利用和分解代谢增强^[28,30]。在本实验中,各丁酸钠添加组这两种酶的活力均低于对照组,没有差异,说明饲料中的纳米缓释丁酸钠能有效提升鱼体蛋白质的代谢,而且不会损伤肝脏,从而有助于鱼体内蛋白质的合成与积累。

血清中的尿素氮是蛋白质等含氮有机物代谢的终产物,血清中尿素氮的含量可以反映体内蛋白质代谢的状况及肾脏功能的好坏^[31]。Malmolf等^[32]研究认为,蛋白质和氨基酸之间的代谢平衡关系可以通过血清中的尿素氮含量来衡量,在一定范围内,尿素氮的含量越低表明蛋白质合成效率越高,越有利于营养物质的吸收和利用。在湘云鲫(*Carassius auratus Trip1*)^[33]和匙吻鲟(*Polyodon spathula*)^[34]等水产动物中发现,丁酸钠可以显著降低血清中尿素氮的含量,从而达到蛋白质的高效利用。在本实验中,0.6%添加组草鱼血清中的尿素氮含量最低,且与对照组相比差异显著,说明饲料中添加纳米缓释丁酸钠能有效提高草鱼对饲料中蛋白质的吸收利用效率及蛋白质的合成效率。

葡萄糖是机体的主要供能物质,血清中葡萄糖含量是机体营养状况的一个重要指标^[35],饲料中的营养素的吸收转运对血糖有较大影响。在本实验中,0.6%组草鱼血清中葡萄糖含量与对照组无显著差异,说明饲料中纳米缓释丁酸钠不会影响草鱼对营养物质的消化吸收,不会对营养状况造成负面影响吧。

3.4 纳米缓释丁酸钠对草鱼血清游离氨基酸的影响

血清中游离氨基酸直接参与机体氨基酸的代谢和蛋白质的合成与积累,其含量高低反应机体的营养状况^[36]。汪富荣等^[34]研究发现,丁酸钠能显著提高匙吻鲟血清中蛋氨酸等氨基酸含量;孙浪等^[33]在湘云鲫的饲料中添加丁酸钠,发现丁酸钠浓度为2.5 g/kg时,血清中游离氨基酸含量最高。在本实验中,饲料中添加一定量的纳米缓释丁酸钠,能影

响草鱼血清中的游离氨基酸含量,各中氨基酸的总体趋势是先增后减,在0.6%添加组,其氨基酸总量和必需氨基酸含量显著提高,表明饲料中添加纳米缓释丁酸可以提高草鱼血清中游离氨基酸含量,进而表明草鱼的营养状况良好。

3.5 纳米缓释丁酸钠对草鱼肠道PepT1 mRNA表达的影响

蛋白质是鱼类的重要营养物质之一,饲料中蛋白质的消化、吸收和利用的情况直接决定了鱼类对蛋白质的利用情况。传统蛋白质代谢理论认为,饲料中蛋白质在进入鱼类肠道后,降解成氨基酸和小肽类分子,大部分以小肽的形式被动物体吸收利用^[37]。在动物小肠中负责吸收和转运小肽(二肽和三肽)的功能单位是位于其上皮细胞中的小肽转运载体PepT1(Oligopeptide transporter 1, *PepT1*), *PepT1*在小肠上皮细胞的表达水平将直接反应动物体对一部分蛋白质的利用效率。因此如何提高*PepT1*的表达量,从而提高鱼类对蛋白质的消化利用至关重要。自从Fei等^[38]克隆出兔小肠中*PepT1*基因以来,此后很多学者证实*PepT1*主要在高等哺乳动物中小肠上皮细胞中表达,是小肠转运小肽的关键载体。近年,关于鱼类的*PepT1*基因的研究日趋成熟,发现鱼类*PepT1*基因也主要是在鱼类肠道上皮细胞中表达,且主要集中于前肠,在肝和肾中有少量表达^[39]。目前,国内淡水鱼如鳊^[40]、草鱼^[41]和鲫^[42]等鱼类的*PepT1*基因已被克隆得到,为本研提供了研究基础。在本实验中,草鱼在0.6%丁酸钠添加组的肠道*PepT1*基因表达量相比对照组显著升高($P < 0.05$)。在高等动物中也有类似的实验结果,丁酸钠能显著增加猪小肠黏膜上皮细胞*PepT1*的表达量^[43]。在鱼类中,吴凡等^[44]在饲料中添加 γ -氨基丁酸和丁酸钠,发现丁酸钠能显著提高草鱼肠道*PepT1* mRNA的表达量;孙浪等^[26]也研究发现,包膜丁酸钠能显著提高鲫鱼肠道*PepT1*的表达水平。本实验结果与前述研究结果一致,说明在饲料中添加一定量的纳米缓释丁酸钠会显著影响肠道*PepT1*基因的表达量,从而促进鱼体对蛋白质的吸收利用。

4 结论

本实验结果表明,在草鱼饲料中添加0.6%的纳米缓释丁酸钠,对于草鱼的生长性能和饲料利用率均未受到显著负面影响;在饲料中添加适量(0.6%)的纳米缓释丁酸钠对鱼类具有保护肠道,提高免疫力,促进生长,上调鱼肠道中小肽转运基因*PepT1*的表达水平。综上所述,建议草鱼饲料中添加纳米缓释丁酸钠的量0.6%。

参考文献:

- [1] Chen M, Tian L X, Liu Y J. Research progress of new protein source for aquatic feed [J]. *Guangdong Feed*, 2015, **24**(2): 35-38. [陈明, 田丽霞, 刘永坚. 水产饲料新型蛋白源的研究进展 [J]. *广东饲料*, 2015, **24**(2): 35-38.]
- [2] Zhang H, Shan A S, Mou Z B. The effect of antinutritional factors in plant feed on fish [J]. *Feed China*, 2008(9): 34-37. [张辉, 单安山, 牟振波. 植物饲料成分中抗营养因子对鱼类的影响 [J]. *饲料广角*, 2008(9): 34-37.]
- [3] Liu Y L, Hu Y, Zhong L, et al. A review: research progression on effects of butyric acid on intestinal health in animals and its application in aquaculture [J]. *Fisheries Science*, 2019, **38**(2): 276-281. [刘艳莉, 胡毅, 钟蕾, 等. 丁酸对动物肠道健康的影响及水产应用前景 [J]. *水产科学*, 2019, **38**(2): 276-281.]
- [4] Mallo J J, Balfagon A, Gracia M I, et al. Evaluation of different protections of butyric acid aiming for release in the last part of the gastrointestinal tract of piglets [J]. *Journal of Animal Science*, 2012, **90**(Suppl 4): 227-229.
- [5] Hamer H M, Jonkers D, Venema K, et al. Review article: the role of butyrate on colonic function [J]. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 2008, **27**(2): 104-119.
- [6] Fang C L, Sun H, Wu J, et al. Effects of sodium butyrate on growth performance, haematological and immunological characteristics of weanling piglets [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2014, **98**(4): 680-685.
- [7] Kou S S, Wang Z S, Xu D W, et al. Effects of adding different levels of sodium butyrate on growth performance, diarrhea rate and blood biochemical indexes of weaned Piglets [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2018, **45**(7): 1841-1848. [寇莎莎, 王诏升, 徐德旺, 等. 日粮中添加不同水平丁酸钠对断奶仔猪生长性能、腹泻率及血液生化指标的影响 [J]. *中国畜牧兽医*, 2018, **45**(7): 1841-1848.]
- [8] Chen G S, Xu Z F, Li C. Study on different amounts of coated sodium butyrate on broiler performance [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2014, **46**(6): 16-19. [陈国顺, 徐振飞, 李冲. 不同添加水平的包膜丁酸钠颗粒对肉仔鸡生产性能的影响 [J]. *畜牧与兽医*, 2014, **46**(6): 16-19.]
- [9] Liu W, Yang Y, Zhang J, et al. Effects of dietary microencapsulated sodium butyrate on growth, intestinal mucosal morphology, immune response and adhesive bacteria in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) pre-fed with or without oxidised oil [J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, **112**(1): 15-29.
- [10] Liu L H. Effects of sodium butyrate on growth, digestion, intestinal histology and immunity in broiler chickens [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009: 31-55. [刘丽华. 丁酸钠对肉仔鸡生长、消化、肠道组织形态及肠粘膜免疫的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2009: 31-55]
- [11] Qi X, Chen Y G, Zhang Y, et al. Effect of sodium butyrate on feeding and growth of juvenile sturgeon [J]. *Hebei*

- Fisheries*, 2019(9): 14-15, 20. [齐鑫, 陈永光, 张燕, 等. 丁酸钠对鲟鱼幼鱼摄食及生长的影响 [J]. 河北渔业, 2019(9): 14-15, 20.]
- [12] Huan D Y, Li X Q, Yao W X, *et al.* Effects of organic acids (Salt) supplementation in low fish meal diet on growth performance, digestive enzyme activities and nutrient apparent digestibility of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, **30**(11): 4526-4537. [还殿宇, 李小勤, 姚文祥, 等. 低鱼粉饲料中添加有机酸(盐)对凡纳滨对虾生长性能、消化酶活性和营养物质表观消化率的影响 [J]. 动物营养学报, 2018, **30**(11): 4526-4537.]
- [13] Zhang X X, Wang D, Tian X L, *et al.* Effects of coated sodium butyrate on growth performance and serum non-specific immunity enzymes of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Periodical of ocean University of China*, 2017, **47**(S1): 27-34. [张晓晓, 汪多, 田相利, 等. 包膜丁酸钠对凡纳滨对虾生长和血清非特异性免疫酶活性的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2017, **47**(S1): 27-34.]
- [14] Pan J H, Peng Y, Xie F. The effect of sodium butyrate on the growth performance and related mechanisms in aquatic animal [J]. *Feed Review*, 2017(6): 33-37. [潘加红, 彭艳, 谢飞. 丁酸钠对水生动物的促生长作用及其机理研究进展 [J]. 饲料博览, 2017(6): 33-37.]
- [15] Livaka J K, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402-408.
- [16] Ginzinger D G. Gene quantification using real-time quantitative PCR: an emerging technology hits the mainstream [J]. *Experimental Hematology*, 2002, **30**(6): 503-512.
- [17] Feng J C, Nie G X, Liu Z. Clone of aminopeptidase N gene and its expression analysis in *Ctenopharyngodon idellus* tissues [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, **36**(6): 859-867. [冯军厂, 聂国兴, 刘臻, 等. 草鱼APN基因的克隆及表达特征 [J]. 水产学报, 2012, **36**(6): 859-867.]
- [18] Zhang R Y, Meng L, Li F F, *et al.* Effects of coated sodium butyrate on growth performance, serum biochemical indices, nutrient apparent digestibility and fecal microflora population of weaning piglets [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(5): 2296-2302. [张瑞阳, 孟玲, 李方方, 等. 包被丁酸钠对断奶仔猪生长性能、血清生化指标、养分表观消化率和粪便微生物菌群的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, **31**(5): 2296-2302.]
- [19] Rice E M, Aragona K M, Moreland S C, *et al.* Supplementation of sodium butyrate to postweaned heifer diets: effects on growth performance, nutrient digestibility and health [J]. *Journal of Dairy Science*, 2019, **102**(4): 3121-3130.
- [20] Bortoluzzi C, Pedrosa A A, Mallo J J, *et al.* Sodium butyrate improved performance while modulating the cecal microbiota and regulating the expression of intestinal immune-related genes of broiler chickens [J]. *Journal of Poultry Science*, 2017, **96**(11): 3981-3993.
- [21] Luo L, Yi D W, Yang K M, *et al.* Effects of microencapsulated sodium butyrate on growth performance, nonspecific immunity and hepatic function of blunt snout bream under high density culture condition [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, **30**(7): 2865-2871. [罗玲, 易德玮, 杨坤明, 等. 饲料中添加微囊丁酸钠对高密度养殖条件下团头鲂生长性能、非特异性免疫力及肝功能的影响 [J]. 动物营养学报, 2018, **30**(7): 2865-2871.]
- [22] Zhou J S, Guo P, Yu H B, *et al.* Growth performance, lipid metabolism, and health status of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fed three different forms of sodium butyrate [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, **45**(1): 287-298.
- [23] Wei C Q, Zhou H H, Wang X, *et al.* Effects of adding different levels of sodium butyrate in high plant protein diets on growth performance, nutrient apparent digestibility coefficients and liver antioxidant function of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, **29**(9): 3392-3402. [魏朝青, 周慧慧, 王旋, 等. 高植物蛋白质饲料中添加丁酸钠对大菱鲆幼鱼生长性能、营养物质表观消化率及肝脏抗氧化功能的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, **29**(9): 3392-3402.]
- [24] Yu W J, Wang C, Wang M, *et al.* Research progress on the effect of sodium butyrate on the development of gastrointestinal tract of calves [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2019, **46**(8): 2354-2359. [俞文靓, 王超, 王敏, 等. 丁酸钠对犊牛胃肠道发育的研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, **46**(8): 2354-2359.]
- [25] Chamba F M, Puyalto A, Ortiz, *et al.* Effect of partially protected sodium butyrate on performance, digestive organs, intestinal villi and *E. coli* development in broilers chickens [J]. *International Journal of Poultry Science*, 2014, **13**(7): 390-396.
- [26] Sun L. Effects of sodium butyrate on intestine cell proliferation and protein metabolism in *Carassius auratus* and its molecular mechanism [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2013: 29-43. [孙浪. 丁酸钠对鲫鱼肠道细胞增殖和蛋白代谢的作用与分子机理研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2013: 29-43.]
- [27] Wang F R, Sun L, He C X, *et al.* Effects of sodium butyrate on the growth and intestinal mucosal morphology of Polyodon [J]. *China Feed*, 2017(13): 39-41, 45. [汪富荣, 孙浪, 何纯希, 等. 丁酸钠对匙吻鲟生长和肠道黏膜形态的影响 [J]. 中国饲料, 2017(13): 39-41, 45.]
- [28] Ai F, Wang L S, Li J N, *et al.* Effects of α -Ketoglutarate supplementation in different protein level diets on growth performance, body composition and serum biochemical indices of Songpu mirror carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(3): 525-532. [艾凤, 王连生, 李晋南, 等. 低磷饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响 [J]. 水生生物学报, 2018, **42**(3): 525-532.]
- [29] Shan L L, Li X Q, Zheng X M, *et al.* Effects of different forms of dietary methionine on the growth and free amino acids in serum of jian carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, **39**(2): 259-266. [单玲玲, 李小勤, 郑小淼, 等.

- 不同形式蛋氨酸对建鲤生长性能及血清游离氨基酸含量的影响 [J]. 水生生物学报, 2015, **39**(2): 259-266.]
- [30] Jeney G J, Nemcsók Z, Jeney, *et al.* Acute effect of sub-lethal ammonia concentrations on common carp (*Cyprinus carpio* L.) II. Effect of ammonia on blood plasma transaminases (GOT, GPT), G1DH enzyme activity, and ATP value [J]. *Aquaculture*, 1992, **104**(1-2): 149-156.
- [31] Holecck, M. Relation between glutamine, branched-chain amino acids, and protein metabolism [J]. *Nutrition*, 2002, **18**(2): 130-133.
- [32] Malmolf K. Amino acid in farm animal nutrition metabolism, partition and consequences of imbalance [J]. *Swedish Journal of Agricultural Research*, 1988, **18**(4): 191-193.
- [33] Sun L, Liu Z, Hao G, *et al.* Effects of sodium butyrate expression of triploid on protein metabolism and its related gene crucian carp (*Carassius auratus* Trip1) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, **25**(11): 2775-2782. [孙浪, 刘臻, 郝光, 等. 丁酸钠对湘云鲫蛋白质代谢及其相关基因表达的影响 [J]. *动物营养学报*, 2013, **25**(11): 2775-2782.]
- [34] Wang F R, Sun L, He C X, *et al.* Effect of sodium butyrate on serum biochemical and free amino acid content of paddlefish [J]. *Feed Research*, 2017(12): 36-38, 46. [汪富荣, 孙浪, 何纯希, 等. 丁酸钠对匙吻鲟血清生化指标及游离氨基酸含量的影响 [J]. *饲料研究*, 2017(12): 36-38, 46.]
- [35] Coma J D, Carrion D, Zimmerman D R, *et al.* Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 1995, **73**(2): 472-481.
- [36] Yao J H, Wang K N, Song D J. Change regularity of plasma free amino acid content in broiler chicken [J]. *The Journal of Northwest Agricultural University*, 1999, **27**(6): 97-101. [姚军虎, 王康宁, 宋代军. 肉仔鸡血浆游离氨基酸浓度变化规律的研究 [J]. *西北农业大学学报*, 1999, **27**(6): 97-101.]
- [37] Webb K E J. Intestinal absorption of protein hydrolysis products: A review [J]. *Journal of Animal Science*, 1990, **68**(9): 3011-3022.
- [38] Fei Y J, Kanai Y, Nussberger S, *et al.* Expression cloning of a mammalian proton-coupled oligopeptide transporter [J]. *Nature*, 1994, **368**(6471): 563-566.
- [39] Ronnestad I, Murashita K, Kottra G, *et al.* Molecular cloning and functional expression of Atlantic salmon peptide transporter 1 in xenopus oocytes reveals efficient intestinal uptake of lysine-containing and other bioactive di- and tripeptides in teleost fish [J]. *Journal of Nutrition*, 2010, **140**(5): 893-900.
- [40] Liu Z X, Zhang J D, Liu X Y, *et al.* Molecular characterization and expression research of oligopeptide transporter *PepT1* in *Siniperca chuatsi* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(3): 160-166. [刘知行, 张健东, 刘小燕, 等. 鳊小肽转运载体 *PepT1* 基因分子特征及其表达研究 [J]. 水生生物学报, 2014, **38**(3): 160-166.]
- [41] Feng J C, Liu Z, Lu S Q, *et al.* Cloning of the *PepT1* gene and analysis of its expression in *Ctenopharyngodon idellus* tissues [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, **20**(2): 276-285. [冯军厂, 刘臻, 鲁双庆, 等. 草鱼小肽转运载体 *PepT1* 基因的克隆与表达特征 [J]. *中国水产科学*, 2013, **20**(2): 276-285.]
- [42] Xiong G. Cloning, analysis of sequences and tissue expression of *LAT2* and *PepT1* genes in carp [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2009: 40-52. [熊钢. 鲫鱼 *LAT2* 和 *PepT1* 基因克隆、序列分析及组织表达研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009: 40-52.]
- [43] Zou S G, Feng D Y, Chen F, *et al.* Effects of sodium butyrate on expression of *PepT1*, *NHE2* and *NHE3* mRNA abundances in primary cultured IEC in vitro [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2010, **30**(12): 1698-1702. [邹仕庚, 冯定远, 陈峰, 等. 丁酸钠对体外培养猪肠黏膜上皮细胞寡肽转运载体及钠氢交换载体 mRNA 表达的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2010, **30**(12): 1698-1702.]
- [44] Wu F. Effects of dietary gamma aminobutyric acid and sodium butyrate on growth performance, antioxidant status and intestinal structure of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016: 28-30. [吴凡. γ -氨基丁酸和丁酸钠对草鱼生长、抗氧化性能和肠道结构的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 28-30.]

EFFECTS OF SUSTAINED RELEASE NANOSPHERE SODIUM BUTYRATE ON THE GROWTH PERFORMANCE, SERUM BIOCHEMICAL INDICES, INTESTINAL MUCOSAL MORPHOLOGY AND *PEPT1* mRNA EXPRESSION IN INTESTINAL OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

TANG Jian-Zhou^{1,2}, CAO Shen-Ping², QU Fu-Fa², Peng Liang², LIU Zhen², Hou De-Xing¹ and HE Xi¹

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Nutrition and Quality Control of Aquatic Animals, Department of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China)

Abstract: Sodium butyrate is an important feed additive, which can be quickly absorbed by the intestinal tract. It can promote the proliferation and maturation of intestinal cells, maintain the integrity of intestinal mucosa and improve the digestion and absorption of nutrients in the small intestine. It was found in piglets and chicks that sodium butyrate could decrease the feed coefficient and increase the weight gain rate. Meanwhile, it also can regulate the ecological balance of microorganisms in the intestinal tract of animals and improve the immune function of the organism. The application of sodium butyrate in aquatic animal feed has also been reported. Some previous studies suggested that sodium butyrate significantly promoted the growth performance of sturgeon and *Litopenaeus vannamei*, but there were few literatures on the effects of sodium butyrate on the absorption and transport of protein and small peptides in intestine of aquatic animals. The active ingredient of sodium butyrate is butyric acid, which has volatile and unpleasant sour smell. In the application of butyric acid, in order to overcome these shortcomings and achieve the effect of promoting production on aquatic animals, sodium butyrate is generally treated by envelopment technology, so as to achieve the purpose of fixed point and delayed release. To explore effects of dietary nano slow-release sodium butyrate on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) growth performance, serum biochemical indices, intestinal mucosal morphology and intestinal *PepT1* mRNA expression, we conducted a 60-day feeding trial with different levels of nano slow-release sodium butyrate in the diet. Six isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated with 0, 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.6% and 0.8% nano slow-release sodium butyrate in the basal diet. The feeding trial was carried out in an outdoor cage farming system (cage size: 200 cm×200 cm×250 cm). Each diet was randomly assigned to three net cages with 50 fish [initial body weight of (18.65±0.21) g] per cage for three times (8: 30, 12: 30 and 16: 30) per day. The feeding quantity in the first week was 5% of the fish body quality, and then increased by 1% every week. Daily record of weather conditions, water temperature, feeding quantity and feeding status. At the terminal of the feeding trial, fish from each cage were weighed the total weight and recorded the total number after fasted 24h. Six fish per cage were collected to measure the body length and body weight for the calculation of condition factor (*CF*). The blood sample was drawn from the caudal vein of six another fish per tank with a disposable syringe and kept at 4°C for 24h, then centrifuged at 3000×g for 15min to get serum and stored at -80°C for analysis of serum total protein, glutamic oxalacetic transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT), urea nitrogen and other indices. Also, six fish were randomly selected from each repeat, the foregut was separated and stained with HE method, then observed under an ordinary optical microscope (40×), villi height and crypt depth were measured and the ratio of villi height to crypt depth was calculated. Intestinal *PepT1* gene expression level was analyzed according to Kenneth *et al.*, and the relative expression level of the target gene in the intestinal tract was determined by real-time polymerase chain reaction (PCR) method. The crude protein, crude fat, moisture and ash content in experimental diets were determined by AOAC (2003) standard method. The results showed that weight gain rate, specific growth rate, *CF* and intestinal villi height of grass carp in 0.6% sodium butyrate group were significantly higher than those of the control group ($P<0.05$). 0.6% sodium butyrate supplement significantly increased serum globulin, serum total amino acids and serum essential amino acids and significantly decreased serum urea nitrogen ($P<0.05$). 0.6% sodium butyrate supplement significantly increased the expression of *PepT1* in intestine ($P<0.05$) without impacting Glutamic oxalacetic transaminase (GOT), Glutamate pyruvate transaminase (GPT) and the content of glucose ($P>0.05$). In conclusion, the supplementation of 0.6% nano sustained-release sodium butyrate into juvenile grass carp diet can protect intestinal mucosa, induce *PepT1* expression and promote its growth performance. The results of this study will fill in the blank of the research on the effect of sodium butyrate on the absorption and transport of intestinal protein and small peptides in aquatic animals. Moreover, the present research systematically analyzed the positive effects of nano-slow-release sodium butyrate on the growth performance and intestinal health of grass carp, which will provide an important theoretical basis for the promotion and application of sodium butyrate in grass carp diet.

Key words: Nano sustained-release sodium butyrate; Grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*); Serum biochemical indices; Intestinal mucosal morphology; *PepT1*