

文章编号: 1000-1573(2003)03-0011-04

二氢吡啶对尼罗罗非鱼生产性能及机体 抗氧化性能的影响

李玉荣, 武现军, 霍书英, 郝延刚, 庞新位

(河北农业大学 动物科技学院, 河北 保定 071001)

摘要: 二氢吡啶以 4 个不同水平(0、50、100、150 mg/kg)添加饲喂尼罗罗非鱼 64 d,探讨了二氢吡啶的适宜添加水平及其对机体抗氧化性能的影响。结果表明,添加二氢吡啶(50、100、150 mg/kg)可使日增重分别提高 17.2% ($p < 0.05$)、9.1%、2.5%,体重特定生长率提高 15.5%、9.3%、5.1%,饵料系数分别较对照组降低 12.1%、12.7%、5.9%,但对试验鱼平均存活率无影响;二氢吡啶可显著降低试验组肝 LPO 含量,提高机体的抗氧化性能;试验组肝 SOD 活性呈上升趋势,未达显著水平;二氢吡啶可分别降低试验组肝脂肪(绝干)的含量 19.7% ($p < 0.05$)、18.6% ($p < 0.05$)、24.1% ($p < 0.01$),对血清 GOT 和 GPT 的活性无影响。在试验剂量范围内,机体抗氧化性能随剂量的增加而增强,但生长速度并非如此,即生长速度最快的鱼其抗氧化性能并不一定最佳。

关键词: 二氢吡啶; 尼罗罗非鱼; 生产性能; 脂质过氧化物; 超氧化物歧化酶

中图分类号: S 965.125

文献标识码: A

Effects of Diludin on the growth performance and the antioxidant activity of *Tilapia nilotia*

LI Yu-rong, WU Xian-jun, HUO Shu-ying, HAO Yan-gang, PANG Xin-wei

(College of Animal Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: *Tilapia nilotia* were divided randomly into 4 groups. The groups were fed with diets containing 0 (control group), 50, 100 or 150 mg/kg Diludin under the same circumstance for a period of 64 days. The results indicated that Diludin supplementation (50, 100, 150 mg/kg) increased the average daily weight gain by 17.2% ($p < 0.05$), 9.1%, 2.5% respectively, specific rates in weight increased 15.5%, 9.3%, 5.1% compared with the control group. Feed to gain ratio (g/g) decreased 12.1%, 12.7%, 5.9% respectively. The average survival rate was not influenced. Lipid oxidation (LPO) levels of liver were lower significantly compared with the control group, which showed that Diludin could improve the antioxidant activity of the body. Diludin supplementation had the tendency of improving the superoxide dismutase (SOD) activity of liver. Liver lipid contents were lower by 19.7% ($p < 0.05$), 18.6% ($p < 0.05$), 24.1% ($p < 0.01$) respectively compared with the control group. The activity of GOT and GPT of serum were not influenced by Diludin supplementation. In this experiment the antioxidant activity of body was better as Diludin added to the diets, but the growth performance was not. The fish that grow the most fast may not be the one whose antioxidant activity was the best.

Key words: Diludin (1,4-dihydropyridine); *Tilapia nilotia*; growth performance; lipid oxidation; superoxide dismutase

收稿日期: 2003-02-20

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(395211)

作者简介: 李玉荣(1973-),女,河北省广宗县人,助教,从事动物生理学教学与科研工作。

目前,鱼用饲料添加剂多集中于多维、混合矿物质及氨基酸等营养性饲料添加剂,对于人工合成的非营养性饲料添加剂研究很少。二氢吡啶(Diludin),化学名称为 2,6-二甲基-3,5-二乙酯基-1,4-二氢吡啶,作为非营养性添加剂对畜禽有促进生长、增强免疫力和改善繁殖性能的作用^[1,2]。在水产饲料研究方面,仅见夏先林(1993)报道二氢吡啶对鲤鱼有明显的促生长效果,无毒副作用,可作为鲤鱼的促生长剂^[3]。对于二氢吡啶的作用机理,国外报道二氢吡啶具有抗氧化性能,从而稳定生物组织细胞^[4],国内未见相关报道。动物的抗氧化酶类主要存在于肝脏和红细胞中,是机体重要的抗氧化防御系统,如果该组织氧化加重,说明自身抗氧化活性受到干扰,将对整个机体过氧化脂质的代谢和自由基的清除产生影响。因而,血清及肝中脂质过氧化物(Lipid oxidation, LPO)的含量是反映机体脂质过氧化和抗氧化性能的敏感指标^[5]。本试验以尼罗罗非鱼为试验材料,以实用饵料为基础,探讨二氢吡啶的适宜添加水平,并通过测试肝 LPO 水平得出二氢吡啶对机体抗氧化性能的影响为其在生产上的应用提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 试验动物 选用 800 尾二龄雌性尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*)为试验材料,平均体重(148 ±20) g。试验期 64 d,暂养 1 周后开始试验。设 4 个处理,每处理 4 个重复,每个重复饲养于 1 只网箱(1.0 m ×1.0 m ×1.1 m),50 尾/箱。平均体重各组间经方差分析无显著性差异。试验期二氢吡啶分别以 4 个水平添加(0、50、100、150 mg/kg),0 mg/kg 组为对照组(CK)。流动水体网箱养殖,利用热电厂余热控制水温平均为 28~32 ℃,pH 值 7.4~8.1,曝气冲氧,溶氧(DO) 6~7 mg/L,光照充足。按饱食量法饲喂(约为体重的 3%~5%),日投喂 3 次(8:30、11:40、15:30),每天称饲料,精确至 5 g。试验结束前 1 周停止添加二氢吡啶,试验期基础日粮及营养水平见表 1。

1.1.2 供试添加剂 二氢吡啶(Diludin)由河北农业大学基础部合成并提供,纯度为 96%,脂溶性淡黄色细粉末状结晶,易氧化。

1.2 方 法

1.2.1 血样制备及肝脏取样 每组取鱼 16 尾(每个重复 4 尾),尾静脉采血 3~5 mL,封口,离心,分离血清,-20 ℃保存,血清用于测定谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)活性。鱼体流水清洗,腹面剖解,取肝脏,用生理盐水洗去表面血迹,备用。

1.2.2 LPO 的测定 采用 TBA 法^[6]。LPO 含量以每克湿组织中丙二醛(MDA)的含量表示,即 nmol MDA/g 表示。脂质过氧化物标准品四乙氧基丙烷(1,1,3,3-tetraethoxypropane)(瑞士)。

1.2.3 SOD 的测定 采用连苯三酚自氧化法^[7]。酶活力单位(U)是每毫升反应液中,每分钟抑制连苯三酚自氧化速率达 50%的酶量。

1.2.4 GPT 和 GOT 的测定 采用赖式法,具体操作方法参考试剂盒说明书。GPT、GOT 测试试剂盒由北京化工二厂生产。

1.2.5 数据分析 用 SAS 软件包 ANOVA 过程进行组间单因素方差分析,差异显著时则用 Duncan '氏检验进行各组间的多重比较。

表 1 饲料配方及营养成分分析

原料名称 Ingredients	含量/% Content	营养水平* Nutrients level	含量/% Content
鱼粉	5	粗蛋白	28.5
血粉	5	粗脂肪	5.57
酵母	5		
豆饼	15		
花生饼	28.5		
菜籽饼	5		
玉米	15		
麸皮	20		
复合维生素**	0.25		
复合无机盐	1.25		

注: * 营养指标为测定值; **复合预混料由北京万森农工贸发展股份有限公司碧波饲料厂与北京中龙生物科技总公司联合生产。

2 结果与分析

2.1 二氢吡啶对尼罗罗非鱼生产性能的影响

二氢吡啶对尼罗罗非鱼生产性能有改善作用,可提高日增重、降低饵料系数(见表 2)。试验 50、100、150 mg/kg 组日增重分别较对照组提高 17.2%、9.1%、2.5%,体重特定生长率分别较对照组提高 15.5%、9.3%、5.1%,且 50 mg/kg 组与对照组的差异均达显著水平 ($p < 0.05$);二氢吡啶有降低试验组饵料系数的趋势,试验 50、100、150 mg/kg 组分别较对照组降低 12.1%、12.7%、5.9%;二氢吡啶对平均存活率无影响。本试验的最适添加水平(50 mg/kg)不及夏先林(1992)^[3]在鲤鱼上的添加效果,仅以一个梯度 100 mg/kg 添加饲喂鲤鱼,日增重提高 37.8%,饵料系数改善 23.0%,这可能与鱼的品种与习性有关。

因设备及饲养空间的限制,仅得出所设几个梯度(50、100、150 mg/kg)中以 50 mg/kg 效果最好,具体到添加水平小于 50 mg/kg 是否有更好的效果及剂量加大是否有副作用,不能确定,应进一步作梯度试验。

表 2 二氢吡啶对尼罗罗非鱼生产性能的影响

Table 2 The effect of Diludin on growth performance of *Tilapia nilotica*

项目 Item	样本 NO.	组别 Groups			
		0 mg/kg(CK)	50 mg/kg	100 mg/kg	150 mg/kg
始重/g	4	149 ±19	135 ±7	139 ±19	147 ±16
末重/g	4	268 ±17	293 ±18	277 ±58	283 ±39
日增重/(g d ⁻¹)	4	1.98 ±0.14 ^a	2.32 ±0.19 ^b	2.16 ±0.64 ^{ab}	2.03 ±0.40 ^{ab}
特定生长率/(% d ⁻¹)	4	0.97 ±0.11 ^a	1.12 ±0.19 ^b	1.06 ±0.16 ^{ab}	1.02 ±0.1 ^{ab}
饵料系数	4	3.06 ±0.17	2.69 ±0.86	2.67 ±0.93	2.88 ±0.94
平均存活率/%	4	99.5	99.0	99.5	99.5

注:同行右肩标以小写字母不相同表示差异显著 ($p < 0.05$),大写字母不相同者为差异极显著 ($p < 0.01$),其它为差异不显著 ($p > 0.05$),以下各表同。

体重特定生长率 (% d⁻¹) = (ln 试验末平均体重 - ln 试验初平均体重) ×100/试验天数。

饵料系数 = 投饵量/鱼体增重 (以网箱为单位统计投饵量,饵料系数同样以网箱为单位计算)。

存活率 (%) = (试验末存活尾数/试验初存活尾数) ×100。

2.2 二氢吡啶对机体抗氧化性能的影响

添加二氢吡啶可显著降低试验组的肝 LPO 含量,并使 SOD 活性有升高的趋势,表明二氢吡啶具有提高机体抗氧化性能的作用,且随添加剂量的增加,机体抗氧化性能增强(见表 3)。饲喂到 33 d 时,50 mg/kg 组肝 LPO 含量显著低于对照组 ($p < 0.05$);100、150 mg/kg 组肝 LPO 含量极显著 ($p < 0.01$) 低于对照组,且与 50 mg/kg 组的差异也达显著水平;饲喂到 64 d 时,试验组肝 LPO 含量都极显著地低于对照组 ($p < 0.01$),试验 150 mg/kg 组与 50、100 mg/kg 组的差异也达极显著水平。

二氢吡啶对肝 SOD 活性的影响虽未达显著水平,但试验组 SOD 活性有升高的趋势。这与邹晓庭等(1988)^[2]对蛋鸡的报道结果相一致。同时由对照组可见,随生理年龄的增长,鱼体肝 LPO 含量增加,即鱼体抗氧化性降低。

表 3 二氢吡啶对肝 LPO 含量及肝 SOD 活性的影响

Table 3 The effect of Diludin on LPO level and SOD activity of liver

项目 Item	样本 NO.	试验天数/d Days of experiment	组别 Groups			
			0 mg/kg(CK)	50 mg/kg	100 mg/kg	150 mg/kg
LPO	10	33	102.4 ±13.1 ^{ab}	81.7 ±13.6 ^b	61.8 ±3.9 ^{Ac}	61.5 ±7.1 ^{Ac}
/(nmolMDA g ⁻¹)	10	64	150.7 ±17.9 ^A	111.9 ±8.6 ^B	117.5 ±10.9 ^B	78.8 ±5.7 ^C
SOD	10	33	26.5 ±5.3	26.9 ±13.4	27.0 ±6.2	28.4 ±9.8
/(U g ⁻¹)	10	64	24.1 ±5.3	29.7 ±12.4	25.0 ±9.1	26.7 ±11.2

2.3 二氢吡啶对肝脂肪含量(相对于干组织)及 GPT、GOT 活性的影响

二氢吡啶对血清 GOT 及 GPT 的活性无影响,且可降低肝脏脂肪含量(见表 4)。结果表明,二氢吡啶对

血清 GOT 及 GPT 的活性无影响;添加二氢吡啶可分别降低肝脏脂肪含量 19.7% ($p < 0.05$), 18.6% ($p < 0.05$), 24.1% ($p < 0.01$), 50 mg/kg 组、100 mg/kg 组与对照组的差异达显著水平, 150 mg/kg 组与对照组的差异达极显著水平。可见, 二氢吡啶对肝脂肪代谢有显著性影响。

表 4 二氢吡啶对肝脏脂肪含量及血清 GOT、GPT 活性的影响

Table 4 The effect of Diludin on contents of liver lipid and serum GOT and GPT activity

项目 Item	样本 NO.	组 别 Groups			
		0 mg/kg(CK)	50 mg/kg	100 mg/kg	150 mg/kg
GOT	8	22.6 ±1.7	23.4 ±2.7	24.6 ±1.3	22.2 ±1.6
GPT	8	20.8 ±1.0	20.2 ±1.8	18.3 ±1.8	19.6 ±1.8
肝脏脂肪/ %	8	56.04 ±5.58 ^{Aa}	45.58 ±8.87 ^{bc}	45.02 ±6.85 ^{bc}	42.56 ±7.35 ^{Bc}

注: GPT、GOT 单位为卡门氏单位。

3 讨论

1) 正常情况下血清中转氨酶的活性很低, 而组织中转氨酶的活性很高, 即转氨酶主要存在于细胞内, 只有少量被释放到血浆中。只有当组织病变而引起细胞的通透性增加, 或者受损伤的组织范围较大时, 细胞内的转氨酶才大量释放出来, 使血浆内转氨酶超过正常水平。因此, GOT 与 GPT 酶活性是反映肝脏和心脏功能的敏感性指标, 本试验结果表明, 二氢吡啶的添加对试验组 GOT 与 GPT 的活性均无影响, 即对心脏与肝脏功能无损伤。肝细胞氧化脂肪能力降低是肝中脂肪积累的原因。二氢吡啶降低了肝脂肪的含量, 即提高了肝脏中脂肪酶的活性。这与邹晓庭(1998)^[2]在蛋鸡上的结果一致, 二氢吡啶可通过提高肝脏中脂肪酶的活性, 促进甘油三酯的分解, 抑制胆固醇的合成, 从而降低肝中脂肪的含量。

2) 无论是游离的, 还是结合在脂质膜上的多不饱和脂肪酸(PUFA)都易受到自由基和其他一些氧化剂的攻击, 而生成 LPO^[8]。对于重要生物结构之一的生物膜, 自由基主要的进攻部位是膜组分磷脂中的 PUFA, 引发自由基链式反应, 使膜的结构和功能改变, 膜的流动性降低, 通透性增加, 最终造成整个细胞的结构损伤^[9]。LPO 对鱼类有毒害作用, 其程度因鱼的种类而异, 毒害主要表现为死亡率增加、瘦背肌症、肝脏病变以及贫血症等^[10]。生物膜中脂质占主要地位, 其氧化作用在体内是一个复杂的过程。正常情况下, 细胞内存在产生自由基与清除自由基的平衡能力, 动物体内抑制与清除活性氧的防御系统, 可分为酶系统(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 CAT、谷胱甘肽过氧化物酶 GSH - PX 等)和非酶系统(维生素、氨基酸、肽、葡萄糖等)。而 SOD 主要由 Cu - Zn SOD 和 Mn - SOD 组成, 均能催化反应活性强、具有潜在毒性的 O_2^- 成为 H_2O_2 ^[11], 而 H_2O_2 又由 GSH - PX 和 CAT 催化分解^[12], 因而 SOD 具有清除自由基, 间接抑制 LPO 生成的作用。本试验二氢吡啶降低肝 LPO 含量, 提高了机体的抗氧化性能及免疫力, 对于生物的健康具有非常重要的意义。二氢吡啶有可能从两角度提高机体的抗氧化性能, 从非酶系统角度提高体内 V_E 和 V_A 的含量; 从酶系统角度提高 SOD、GSH - PX、CAT 的活性, 本研究仅对肝 SOD 的活性进行了检测, 二氢吡啶具有提高 SOD 活性的趋势。

3) 二氢吡啶的这种抗氧化性能, 能保护机体免受自由基的损伤, 保护生物膜的结构和功能^[13], 这是其增强机体抗病力, 改善生产性能的机制之一。但本研究生产性能与抗氧化性能并非正相关。在鸡的营养方面, 存在如下报道, 高水平 V_E 有益于增强免疫力, 但养鸡者一般不应用高水平的 V_E , 因为免疫系统对生产性能有不利的反应^[14]。蔡春芳(2001)报道生长速度最快的鱼其免疫力并不一定最佳^[15]。DIBNER J (1990)认为添加剂量过高, 机体的负载过重而影响蛋白质的转化, 从而影响生产性能^[16]。这些从侧面初步解释为什么尼罗罗非鱼生产性能不与机体的抗氧化性能成正相关。

4) 上海医科大学曾分别通过大白鼠、家兔对二氢吡啶进行了系统的药理、毒理研究, 均证明二氢吡啶为无毒物, 使用安全^[1], 农业部等 5 个部委已于 1988 年批准在我国使用。唐柏林等(1990)报道, 饲料中添加二氢吡啶可提高乳脂率及奶中 V_A 和胡萝卜素的含量, 且在乳汁中无任何残留^[17]。本试验因时间关系, 未对其残留进行测定, 仅在试验结束前 1 周停止添加。

(下转第 18 页)

倍,与碘醚柳胺注射液相比减少 10 倍剂量的情况下,皮下注射碘醚柳胺脂质体,仍取得了 100% 的驱杀效果。这是由于脂质体在体内代谢过程中具有网状内皮巨噬系统的趋向性,能把药物特异性地带入到靶部位——肝脏,从而使药物在肝脏中的浓度明显高于其它器官^[8],进而提高了药物的有效利用度。

参考文献:

- [1] BANGHAM A D, STANDISH M M, WEISSMACH G. Diffusion of univalent ions across the lamellar of swollen phospholipids [J]. *J Mol Biol*, 1965, 13: 238.
- [2] 黄力夫. 脂质体作为药物载体的可行性及其在细胞生物学上的应用[J]. 国外医学. 分子生物学分册, 1984, 6(5): 230.
- [3] 陈丽凤, 张西臣, 杨永胜, 等. 碘醚柳胺脂质体定向剂的制备[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 1999, 12(2): 117.
- [4] OHSAWA T, MIURA H, HARADA K. A new method for preparing liposomes with high capacity to encapsulate proteinous drug: freeze-drying method[J]. *Chem Pharm Bull*, 1984, 32: 2442.
- [5] 张连峰. 脂质体在基因治疗的应用及前景[J]. 国外医学. 遗传学分册, 1994, 6: 296.
- [6] 阎仲堂, 李德昌, 耿国彬, 等. 碘醚柳胺对羊肝片吸虫病的治疗试验[J]. 兽医大学学报, 1989, 1: 21.
- [7] 张西臣, 戴国华, 阎仲堂, 等. 碘醚柳胺注射剂对牛羊肝片吸虫的治疗试验[J]. 中国兽医学报, 1997, 17(3): 270.
- [8] 何宏轩. 碘醚柳胺脂质体定向剂在绵羊体内的药代动力学及组织残留量的研究[D]. 长春: 中国人民解放军农牧大学, 1998.

(编辑:李 川)

(上接第 14 页)

参考文献:

- [1] 陈菊芳. 新颖的饲料添加剂——二氢吡啶[J]. 饲料研究, 1987(10): 21 - 22.
- [2] 邹晓庭, 许梓荣, 马玉龙, 等. 二氢吡啶对产蛋鸡的作用效果及机理研究[J]. 浙江农业大学学报, 1998, 24(3): 297 - 302.
- [3] 夏先林, 胡迪先, 王忠, 等. 二氢吡啶对鲤鱼的促生长作用研究[J]. 贵州农学院学报, 1993, 12(2): 32 - 33.
- [4] 李景云, 刘希丰. 应用二氢吡啶喂羊试验[J]. 青海畜牧兽医, 1989(2): 51 - 52.
- [5] 刘伟, 张桂兰, 陈海燕. 饲料中添加油脂对鲤鱼体内脂质过氧化及血液指标的影响[J]. 中国水产科学, 1997, 4(1): 94 - 96.
- [6] 钱伯初, 钱芸, 臧星星, 等. 蜂花粉对小鼠体内外脂质过氧化的影响[J]. 营养学报, 1989, 11(4): 355 - 358.
- [7] 邓碧玉, 袁勤生, 李文杰. 改良连苯三酚自氧化测定超氧化物歧化酶活性的方法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1991, 18(2): 163.
- [8] HALLIWELL B, CHIRICO S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance[J]. *Am J Clin Nutr*, 1993, 57(s): 715.
- [9] 张亚非, 吴风兰, 王凡, 等. 大鼠补硒后谷胱甘肽过氧化物酶、维生素 E 和脑脂褐质的变化[J]. 营养学报, 1996, 18(4): 418 - 422.
- [10] 黄柏炎, 梁旭方. 脂质过氧化对鱼类的毒害及其检测[J]. 水利渔业, 1999, 19(1): 47 - 48.
- [11] FRIDOVISH I. Superoxide radical radical as an endogenous toxicant[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1983, 23(23): 157 - 160.
- [12] 马卓, 唐兆新, 陈万芳. 硒对镉诱导的小鼠肝组织脂质过氧化作用的影响[J]. 畜牧兽医学报, 1997, 28(4): 304 - 310.
- [13] 丛杰, 方允中. 天然抗氧化剂与防癌[J]. 生理科学进展, 1993, 24(2): 175 - 177.
- [14] WILLIAM A, DUDLEY - CASH. Immunological response reduces growth, ups nutrient requirements[J]. *Feedstuffs*, 1994(11): 32 - 33, 41.
- [15] 蔡春芳, 吴康, 潘新法, 等. 蛋白质营养对已育银鲫生长和免疫力的影响[J]. 水生生物学报, 2001, 25(6): 290 - 295.
- [16] DIBNER J, LVEY F J. Hepatic protein and amino acid metabolism in poultry[J]. *Poultry Science*, 1990, 69(7): 1188 - 1194.
- [17] 唐柏林. 乳牛产奶促进剂二氢吡啶[J]. 饲料研究, 1990(9): 6 - 7.

(编辑:李 川)