



不同方法制备的肌醇对建鲤幼鱼生长性能、生理和肠道炎症应答的影响

罗晨皓¹, 缪凌鸿^{1,2*}, 林艳², 刘波^{1,2}, 戈贤平^{1,2*}

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏无锡 214081;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,

农业农村部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081)

摘要:为了探讨不同方法制备的肌醇及其添加量对建鲤生长性能、生理生化以及抗氧化能力的影响, 实验以蛋白含量 34.64% 和脂肪含量 7.86% 制备基础日粮 (C), 通过在基础日粮中分别添加 400 mg/kg 酶促法肌醇 (C+400E-MI) 和 400 mg/kg 化工法肌醇 (C+400C-MI) 配制 3 种实验日粮, 选取当年繁育的健康的建鲤幼鱼 [(1.5±0.01) g] 进行为期 10 周的养殖实验。养殖结束后, 测定其生长性能、肝脏抗氧化酶活性和炎症相关基因的表达。结果显示, 与对照组相比, 基础日粮中添加不同制备方法的肌醇均具有提高建鲤幼鱼的特定生长率、蛋白质效率和蛋白质沉积率的作用; 能降低血浆中乳酸脱氢酶的含量, 有效保护肝细胞。与对照组相比, 添加 400 mg/kg 酶促法肌醇可以显著提高建鲤幼鱼肝脏总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活性, 增加谷胱甘肽 (GSH) 的含量。添加 400 mg/kg 化工法肌醇能够显著提高建鲤幼鱼肝脏 GPX 的活性, 但同时也显著提高了丙二醛 (MDA) 的含量。进一步对基因表达的分析发现, 2 种肌醇的添加均显著降低了建鲤幼鱼肠道中促炎因子 *IL-6*、*TNF-α* 和 *IL-12* 在 mRNA 水平的表达, 同时, 添加 400 mg/kg 酶促法肌醇还显著降低了肠道中抗炎因子 *TGF-β1* 和 *IL-10* 在 mRNA 水平的表达。总体而言, 饲料中添加 400 mg/kg 化工法和酶促法制备获得的肌醇均可以提高建鲤幼鱼的生长和饲料利用, 抑制了肠道炎症反应, 而酶促法肌醇对建鲤幼鱼的生长促进和抗氧化能力增强效果更优, 因此, 酶促法肌醇是一种符合绿色发展要求的水产动物营养添加剂。本实验可为不同方法制备的肌醇作为饲料添加剂在水产养殖中的应用提供参考依据。

关键词:建鲤; 肌醇; 制备方法; 生长性能; 抗氧化能力; 炎症因子

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

肌醇 (myo-inositol) 又名环己六醇, 俗名为心肌糖, 属水溶性维生素类产品, 分子式为 C₆H₁₂O₆, 相对分子质量是 180.16, 为白色结晶状粉末, 无臭, 味甜, 可广泛用于医药、食品、化妆品及饲料工业^[1]。在自然界中, 肌醇通常以植酸磷的形

式存在于植物内, 在动物体内则以磷脂酰肌醇的形式作为细胞的构成成分而广泛分布。由于鱼类饲料原料中肌醇含量的局限性和其自身合成能力的有限性, 故必须向饲料中添加肌醇^[2]。已有大量研究表明, 日粮中添加适量肌醇能够提高大黄

收稿日期: 2022-05-16 修回日期: 2022-09-23

资助项目: 现代农业产业技术体系国家大宗淡水鱼产业技术体系 (CARS-45)

第一作者: 罗晨皓 (照片), 从事动物营养与饲料研究, E-mail: 616430028@qq.com

通信作者: 缪凌鸿, 从事水产动物饲料营养研究, E-mail: miaolh@ffrc.cn;

戈贤平, 从事水产动物饲料营养与健康养殖研究, E-mail: gexp@ffrc.cn



鱼 (*Larimichthys crocea*)、日本花鮰 (*Lateolabrax japonicus*)^[3] 和胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*)^[4] 等水生动物的生长性能, 提高凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 幼虾和珍珠龙胆石斑鱼 [*Epinephelus lanceolatus*(♂)×*E. fuscoguttatus*(♀)] 幼鱼等的机体抗氧化能力^[5], 除此以外, 日粮中添加肌醇还有利于降低组织脂肪蓄积, 改善肝功能^[6]。

近年来, 肌醇及其衍生物在制药、化妆品、食品及饲料等行业得到广泛应用, 其需求量也越来越大, 传统的化学酸水解法制备肌醇虽然技术成熟, 但是该法的高污染、高成本、高能耗等缺点已经不符合现代绿色发展的需求, 新型的生物学方法已被视为从廉价原料生产肌醇的可行且具有成本效益的方法。体外级联酶生物催化是多种底物向肌醇的多酶转化, 具有产品收率和效价高、过程易控等优点。建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*) 以其生长速率快、适应性强、抗病能力强、肉质鲜嫩等特点, 已成为我国经济上重要的淡水养殖鱼类和高产鱼类之一^[7]。已有研究表明, 日粮中添加 567.94 和 517.22 mg/kg 肌醇可以显著提高建鲤肝脏抗超氧阴离子能力和抗羟基自由基能力, 抑制氧自由基的生成, 防止氧化损伤^[8]。姜维丹^[9]

研究认为, 建鲤饲料中肌醇的适宜添加量为 518 mg/kg。基于以上研究报道, 本实验选择在日粮中添加较低浓度 (400 mg/kg) 酶促法肌醇 (E-MI) 和化工法肌醇 (C-MI), 比较不同制备方法所得肌醇对建鲤生长性能、血液生理、肝脏抗氧化和肠道炎症应答的影响。

1 材料与方法

1.1 实验日粮

本实验配制 3 组等氮等能实验日粮, 分别为基础日粮 (C)、基础日粮添加 400 mg/kg 化工法肌醇 (C+400C-MI)、基础日粮添加 400 mg/kg 酶促法肌醇 (C+400E-MI), 实验日粮配方见表 1。化工法肌醇、酶促法肌醇购自四川博浩达生物科技有限公司 (肌醇纯度达 99% 以上)。化工法肌醇采用传统的玉米水浸泡化工法制备获得; 酶促法肌醇采用食用枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 发酵制备从葡萄糖至肌醇催化反应所需酶, 再以淀粉为底物, 中性条件下全水相“一锅法”酶促合成肌醇。鱼粉、豆粕、菜粕和棉粕等原料分别粉碎过 60 目筛, 首先把肌醇、磷酸二氢钙、维生素 C、氯化胆碱、

表 1 基础日粮配方

Tab. 1 Basic diet formulation

原料/ ingredients	含量 content	营养组成(风干基础)/ % nutrient composition (naturally dried basis)	含量 content
鱼粉 fish meal	64.0	粗蛋白 crude protein	34.64
豆粕 soybean meal	270.0	粗脂肪 crude lipid	7.86
菜粕 rapeseed meal	195.0	能量/(MJ/kg) energy	16.28
棉粕 cottonseed meal	131.0	肌醇 ²⁾ myo-inositol	未检出
小麦粉 wheat flour	176.0		
米糠 rice bran	98.5		
豆油 soybean oil	20.0		
磷酸二氢钙 calcium dihydrogen phosphate	10.0		
矿物质和维生素预混料 ¹⁾ mineral and vitamin premix	10.0		
氯化胆碱 choline chloride	4.0		
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	1.5		
膨润土 bentonite	5.0		
合计 total	1 000.0		

注: 1). 矿物质和维生素预混料 (IU, mg 或 g/kg) 中每千克矿物质预混料含磷酸二氢钙 20 g, 氯化钠 2.6 g, 氯化钾 5 g, 硫酸镁 2 g, 硫酸亚铁 0.9 g, 硫酸锌 0.06 g, 硫酸铜 0.02 g, 硫酸锰 0.03 g, 硒酸钠 0.02 g, 氯化钴 0.05 g, 碘化钾 0.005 g; 维生素预混料: 每千克维生素预混料含维生素 A 25 000 IU, 维生素 D₃ 20 000 IU, 维生素 E 200 mg, 维生素 K₃ 20 mg, 维生素 B₁ 40 mg, 维生素 B₂ 50 mg, 泛酸钙 100 mg, 维生素 B₆ 40 mg, 维生素 B₁₂ 0.2 mg, 维生素 B₇ 6 mg, 维生素 B₅ 20 mg, 维生素 B₃ 200 mg, 维生素 C 2 000 mg。2). 采用 GB5009.270—2016 方法检测肌醇。Notes: 1). mineral premix (IU, g or mg/kg of diet) including calcium biphosphate 20 g, sodium chloride 2.6 g, potassium chloride 5 g, magnesium sulphate 2 g, ferrous sulphate 0.9 g, zinc sulphate 0.06 g, cupric sulphate 0.02 g, manganese sulphate 0.03 g, sodium selenate 0.02 g, cobalt chloride 0.05 g, potassium iodide 0.004 g; vitamins premix (IU, g or mg/kg of diet) including vitamin A 25 000 IU, vitamin D₃ 20 000 IU, vitamin E 200 mg, vitamin K₃ 20 mg, thiamin 40 mg, riboflavin 50 mg, calcium pantothenate 100 mg, pyridoxine 40 mg, cyanocobalamin 0.2 mg, biotin 6 mg, folic acid 20 mg, niacin 200 mg, vitamin C 2 000 mg. 2). the content of myo-inositol was measured by GB 5009.270-2016.

微晶纤维素、膨润土和预混料等充分混合混匀, 再逐级加大料充分混匀, 然后加适量水和油脂混合均匀, 用小型饲料颗粒机制作粒径 1.0 mm 的沉性颗粒饲料, 室温晾干备用。

1.2 实验鱼及养殖实验

实验过程中操作人员严格遵守实验动物福利伦理规范, 并按照中国水产科学研究院淡水渔业研究中心学术委员会制定的规章制度执行。实验用建鲤幼鱼由中国水产科学院淡水渔业研究中心提供, 选取健康、规格、体重基本一致的建鲤幼鱼 180 尾 [个体初重 (1.5 ± 0.01) g], 暂养 1 周后转移入 9 个室内可控温的循环水养殖桶 (规格为 $\varphi 820 \text{ mm} \times 700 \text{ mm}$), 随机分为 3 组, 每组 3 个平行, 每组实验所用养殖桶在空间位置上随机分散排布, 避免人为因素造成的误差。养殖期间, 每天按照鱼体重的 5% 定量投喂实验日粮, 每天投喂 3 次, 分别为 7:00—7:30、12:00—12:30、17:00—17:30, 每 2 周称取每桶鱼总重后调整投喂量, 养殖周期为 10 周。养殖期间, 日夜连续充气增氧, 保证充足的氧气, 减少人为干扰, 保持安静, 防止额外应激, 每周测 1 次水质。每日观察实验鱼摄食及死亡情况。养殖期间水质情况: 水温 26~28 °C, 溶解氧 >6.0 mg/L, pH 6.5~7.0, 氨氮含量 <0.10 mg/L, 亚硝酸氮 <0.10 mg/L。

1.3 样品采集

养殖 10 周实验结束后停食 24 h, 对每桶鱼体进行称重, 测定每桶鱼的总体重和尾数, 用于计算生长指标。随后从每桶中随机捞取 4 尾鱼, 每组 12 尾立即放入 200 mg/L 的 MS-222 中快速麻醉, 用肝素钠抗凝剂润湿的 1 mL 注射器从尾静脉采血, 血液样本转移入 1.5 mL 抗凝离心管后在 4 °C 冰箱静置 1~2 h, 然后 4 °C、4 000 r/min、离心 10 min 制备血浆, 用于测定血浆生化指标。采血后, 立即从腹腔剖开, 快速分离肝脏和肠道组织, 其中肝脏组织保存于 -20 °C 冰箱, 用于测定肝脏抗氧化指标, 肠道组织快速放入液氮速冻后转移入 -80 °C 冰箱, 用于分析基因相对表达量。另从每桶随机取 3 尾鱼, 用于全鱼体成分分析。最后, 每桶随机另取 1 尾鱼, 采集后肠, 先用生理盐水漂洗去除血液、粪便等杂质, 再转入 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h 后制作石蜡切片并进行苏木精-伊红 (H.E) 染色, 观察肠道组织病理学变化。

1.4 指标及测定方法

生长性能指标 各个生长性能指标计算公式:

存活率 (SR, %)=(实验末鱼尾数/实验初鱼尾数) ×100%

增重率 (WGR, %)=(实验末鱼均重-实验初鱼均重)/实验初鱼均重×100%

特定生长率 [SGR, (%/d)]= (ln 实验末鱼均重- ln 实验初鱼均重)/养殖天数×100%

蛋白质效率 (PER, %)=体重增加量 / (饲料摄取量×饲料蛋白质含量) ×100%

蛋白质沉积率 (PPV, %)=(实验末鱼重×实验末鱼体粗蛋白质含量-实验初鱼重×实验初鱼体粗蛋白含量)/(饲料摄取量×饲料蛋白质含量) ×100%

饲料系数 (FCR)=饲料消耗量/鱼体增重量

血液生理生化指标测定 血浆谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、总蛋白 (TP)、甘油三酯 (TG)、血糖 (GLU)、乳酸脱氢酶 (LDH)、低密度脂蛋白 (LDL)、高密度脂蛋白 (HDL) 等指标利用深圳迈瑞 BS-400 全自动生化分析仪分析检测, 所用试剂盒均购自上海执诚生物科技有限公司。

肝脏抗氧化指标测定 将肝脏样品按质量体积比 (1 : 9) 加入无菌生理盐水后冰浴匀浆, 4 °C、2 500 r/min, 离心 10 min 后取上清液, 制备获得 10% 肝脏匀浆液, 测定肝脏组织匀浆液蛋白含量、丙二醛 (MDA) 含量、总超氧歧化酶 (T-SOD) 活性、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性、总抗氧化能力 (T-AOC)、还原性谷胱甘肽 (GSH) 含量等抗氧化指标, 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

肠道组织切片 H.E 染色 取适当大小的肠道组织, Bouin 氏液固定后, 按照常规的切片程序依次进行脱水、透明、浸蜡、包埋、切片。然后进行 H.E 染色, 最后进行观察, 并选取具有代表性的视野拍照用于结果分析。

基因相对表达量的测定 采用实时荧光定量 PCR 法 (RT-PCR) 测定肠道中炎症相关基因如白介素 10 (IL-10)、白介素 1 β (IL-1 β)、白介素 6 (IL-6)、转化生长因子 β 1 (TGF- β 1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素 12 (IL-12)、白介素 8 (IL-8) 等的相对表达量, 以建鲤 β -actin (XM_019089433.1) 为内参基因, 引物序列见表 2, 所有引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

建鲤肠道组织的总 RNA 用 RNAiso plus 试剂

<https://www.china-fishery.cn>

表 2 RT-PCR 引物序列

Tab. 2 Primer sequences of RT-PCR

引物 primers	序列信息 sequence Information	基因序号或参考文献 GenBank no. or references	扩增片段长度/bp amplification length
β -actin	F: 5'-CGTGATGGACTCTGGTGATG-3' R: 5'-TCGGCTGTGGTGGTGAAG-3'	XM_019089433.1	162
IL-10	F: 5'-GCATACAGAGAAATACAGAACT-3' R: 5'-GTGACAGGCCATAAGGACTA-3'	[7]	102
IL-1 β	F: 5'-ACAGCCTCCTCTTCAG-3' R: 5'-CACCTCTCCCAATCATCAAA-3'	[7]	110
IL-6	F: 5'-TGGAAAGAGTCCTCTGAGCG-3' R: 5'-TCTAAACTGCTGGTCTCGC-3'	XM_019073058.2	95
TGF- β 1	F: 5'-TTCTAAACCCACTGCCCATC-3' R: 5'-AGGCCTTCAGCAACACTG-3'	[7]	102
TNF- α	F: 5'-GCTGCTGCTCACGCTCAA-3' R: 5'-CCTTCCAAGTGACATTGCTTT-3'	[8]	106
IL-12	F: 5'-GAGCGCATCAACCTGACCAT-3' R: 5'-AGGATCGTGGATAGTAGCCTCTAC-3'	XM_019086418.2	150
IL-8	F: 5'-ATCCACGCTGTCGCTGCATTG-3' R: 5'-AGGGTGGCAGTGATCTCTGTGTC-3'	[9]	115

盒(TaKaRa, 中国)提取, 提取方法参照试剂盒说明。提取的 RNA 用 NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 测定 OD_{260/280}, 以确定 RNA 浓度和纯度 (OD_{260/280}=1.8~2.0)。使用 One-Step SYBR Primer Script PLUS RT-PCR Kit (TaKaRa, 中国) 进行 qPCR 反应 (Biorad CFX96, 美国)。荧光定量程序: 45 °C 5 min, 95 °C 10 s; 95 °C 5 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40 个循环; 熔解曲线 65~95 °C。基因的相对表达水平用 2^{-ΔΔCt} 方法来计算。

1.5 数据分析

数据处理均使用 SPSS (Ver.20.0) 软件, 通过正态性检验 (Shapiro-Wilk 检验) 和方差齐性检验 (Levene 氏检验) 后, 利用单因素方差分析 (Duncan 氏, One-Way ANOVA) 进行组间的多重比较, $P<0.05$ 表示具有统计学显著差异。所有的结果均以平均值±标准误 (mean±SE) 表示。

2 结果

2.1 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤生长性能的影响

为期 10 周的养殖实验结束后, 日粮中添加 400 mg/kg C-MI 和 E-MI 均显著提高了建鲤对饲料蛋白质的利用率和沉积率 ($P<0.05$), 并具有提高建鲤生长性能的趋势, 但各组间饲料系数差异不显著 (表 3)。与基础日粮相比, 添加 400 mg/kg E-

MI 可显著提高建鲤的 WGR、SGR ($P<0.05$), 但与 C+400C-MI 组差异不显著。

2.2 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤血液生理生化的影响

建鲤幼鱼摄食实验日粮 10 周后, 血浆中 LDL、HDL、GLU、ALT、AST 和 TP 含量无显著差异。但是与对照组相比, C-MI 和 E-MI 的添加均显著降低建鲤幼鱼血浆 LDH 含量 ($P<0.05$), 并具有降低血浆 TG 含量的趋势。其中 400 mg/kg E-MI 添加组鱼体血浆 TG 含量显著低于对照组 ($P<0.05$), 但与 C-MI 添加组差异不显著 (表 4)。

2.3 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤肝脏抗氧化酶活性的影响

建鲤幼鱼摄食实验日粮饲喂 10 周后, 虽然肝脏 CAT 活性和 T-AOC 无显著差异, 但是 C-MI 和 E-MI 的添加具有提高肝脏 T-SOD 和 GPX 活性、增加 GSH 含量的趋势。其中, C-MI 和 E-MI 的添加均显著提高建鲤肝脏 GPX 活性 ($P<0.05$), 且 C+400E-MI 组建鲤幼鱼肝脏 T-SOD 活性显著高于对照组和 C+400C-MI 组 ($P<0.05$)。C+400E-MI 组鱼体肝脏 GSH 含量显著高于对照组 ($P<0.05$), 但与 C+400C-MI 组无显著差异。同时, 与对照组和 C+400E-MI 组相比, C+400C-MI 组肝脏 MDA 含量显著升高 ($P<0.05$) (表 5)。

表 3 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤的生长性能和饲料利用的影响

Tab. 3 Effects of dietary C-MI and E-MI on the growth performance and feed utilization of *C. carpio* var. *jian*

指标 indicators	C	C+400C-MI	C+400E-MI
初均重/g IBW	1.50±0.01	1.50±0.01	1.50±0.01
末均重/g FBW	13.87±3.61	18.63±3.37	17.78±0.23
增重率/% WGR	1 259.65±67.64 ^a	1 471.90±116.16 ^{ab}	1 622.65±35.73 ^b
特定生长率/(%/d) SGR	3.95±0.08 ^a	4.16±0.12 ^{ab}	4.31±0.03 ^b
蛋白质效率/% PER	145.43±14.65 ^a	175.31±16.31 ^b	171.12±4.30 ^b
蛋白质沉积率/% PPV	21.64±3.67 ^a	27.42±4.11 ^b	28.28±0.71 ^b
饲料系数 FCR	2.12±0.39	1.64±0.29	1.65±0.05

注: 不同小写字母表示各行数值差异显著 ($P<0.05$); C. 对照组, C+400C-MI. 化工法肌醇组, C+400E-MI. 酶促法肌醇组; 下同。

Notes: Different lowercase letters indicate that the values of each row are significantly different ($P<0.05$); C. basic diet, C+400C-MI. chemical myo-inositol, C+400E-MI. enzymatic myo-inositol; the same below.

表 4 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤血液生理生化的影响

Tab. 4 Effects of dietary C-MI and E-MI on blood physiology and biochemistry of *C. carpio* var. *jian*

指标 indicators	C	C+400C-MI	C+400E-MI
低密度脂蛋白/(mmol/L) LDL	0.28±0.02	0.34±0.02	0.33±0.04
高密度脂蛋白/(mmol/L) HDL	0.59±0.08	0.63±0.04	0.72±0.08
葡萄糖/(mmol/L) GLU	11.24±1.08	11.22±0.96	11.28±1.09
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	60.27±7.22	51.27±10.45	50.92±11.05
谷草转氨酶/(U/L) AST	384.13±36.21	297.25±11.98	317.55±24.94
总蛋白/(g/L) TP	43.29±2.59	39.75±3.64	35.86±3.74
甘油三酯/(mmol/L) TG	2.97±0.27 ^b	2.52±0.05 ^{ab}	2.16±0.04 ^a
乳酸脱氢酶/(mmol/L) LDH	957.67±122.03 ^b	635.17±34.97 ^a	636.83±60.01 ^a

表 5 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤肝脏抗氧化能力的影响

Tab. 5 Effects of dietary C-MI and E-MI on the hepatic antioxidant capability of *C. carpio* var. *jian*

指标 indicators	C	C+400C-MI	C+400E-MI
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	29.87±0.7	31.62±1.31	30.47±2.22
总抗氧化能力/(U/mg prot) T-AOC	0.42±0.05	0.23±0.04	0.36±0.03
总超氧化物歧化酶/(U/mg prot) T-SOD	76.55±1.75 ^a	80.93±1.52 ^a	91.28±2.51 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg prot) GPX	625.34±26.89 ^a	770.29±40.94 ^b	743.32±35.14 ^b
谷胱甘肽/(mg/g prot) GSH	2.95±0.36 ^a	4.49±0.6 ^{ab}	7.75±1.23 ^b
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	1.64±0.35 ^a	2.88±0.22 ^b	1.51±0.28 ^a

2.4 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤肠道炎症因子表达量的影响

摄食不同实验日粮 10 周后, 2 种肌醇的添加均显著降低了建鲤肠道中 *IL-6*、*TNF-α* 和 *IL-12* 的 mRNA 表达 ($P<0.05$), 且 C+400E-MI 组鱼体肠道中 *IL-6* 和 *TNF-α* 的 mRNA 表达水平显著低于 C+400C-MI 组 ($P<0.05$)。两种肌醇都具有抑制鱼体肠道 *IL-1β*、*IL-8*、*TGF-β1* 和 *IL-10* 表达的趋势,

C+400E-MI 组的鱼体肠道 *IL-1β*、*IL-8*、*TGF-β1* 的 mRNA 表达显著低于对照组和 C+400C-MI 组 ($P<0.05$); *IL-10* 的 mRNA 表达显著低于对照组 ($P<0.05$), 而与 C+400C-MI 组差异不显著 (图 1)。

2.5 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤肠道组织结构的影响

摄食不同实验日粮 10 周后观察建鲤幼鱼肠道组织的结构, 建鲤摄食添加化工法肌醇日粮后

肠道组织隐窝变浅, 部分出现肠绒毛轻微肿胀和细胞破损等现象, 摄食添加酶促法肌醇日粮后建

鲤肠道组织结构完整, 褶皱面积增大, 隐窝较深, 肠绒毛丰富且粗壮且排列紧密(图版)。

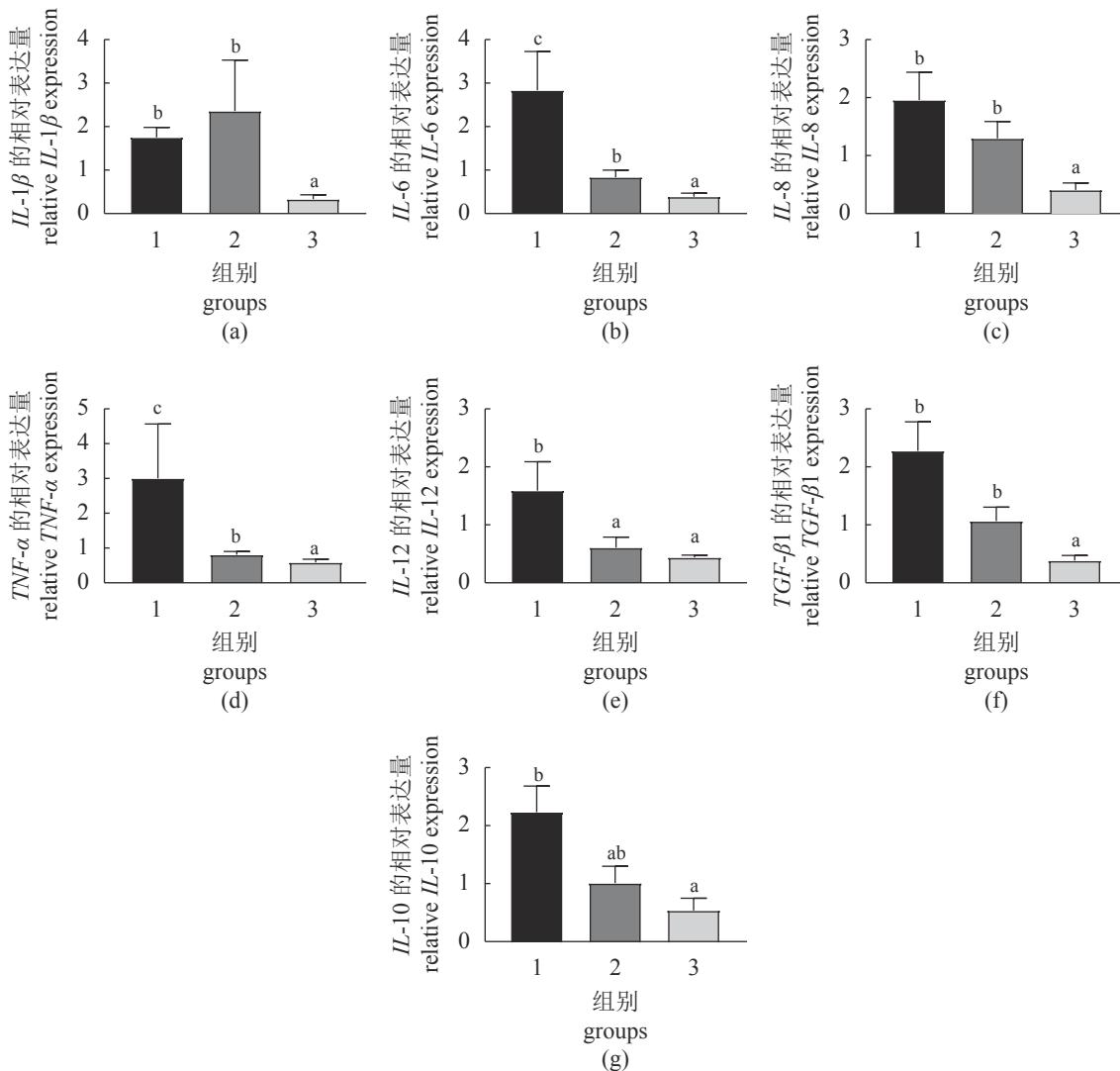


图 1 酶促法肌醇与化工法肌醇对建鲤肠道炎症相关基因的表达

建鲤幼鱼摄食实验日粮 10 周后肠道组织 $IL-1\beta$ (a)、 $IL-6$ (b)、 $IL-8$ (c)、 $TNF-\alpha$ (d)、 $IL-12$ (e)、 $TGF-\beta1$ (f) 和 $IL-10$ (g) 的表达; 1. C, 2. C+400C-MI, 3. C+400E-MI; 柱形图上方字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 1 Effects of dietary C-MI and E-MI on intestinal inflammatory related genes expression of *C. carpio* var. *jian*

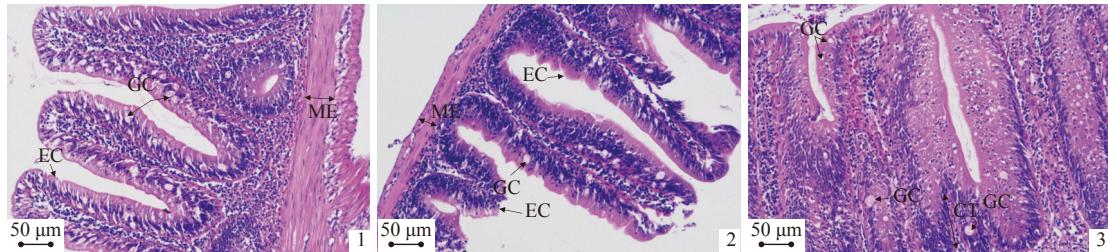
The expression of inflammatory related genes of $IL-1\beta$ (a), $IL-6$ (b), $IL-8$ (c), $TNF-\alpha$ (d), $IL-12$ (e), $TGF-\beta1$ (f) and $IL-10$ (g) in *C. carpio* var. *jian* intestines fed experimental diets for 10 weeks; 1. C, 2. C+400C-MI, 3. C+400E-MI; different letters indicate the significant difference ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 不同方法制备的肌醇对建鲤生长性能的影响

在牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)^[10]、凡纳滨对虾^[11]、条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*)^[12] 和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*)^[13] 等研究中证实了肌醇在水生动物中的作用。在牙鲆饲料中添加 800 mg/kg 肌醇可显著提高牙鲆的 WGR, 改善牙鲆的生长性能^[10]。在条石鲷饲料中添加 100 mg/kg 肌醇

显著提高 WGR 和 SGR, 改善生长性能^[12]。向凡纳滨对虾高氧化鱼油饲料中添加 200 mg/kg 肌醇显著提高对虾肝胰腺的 GST 和 GPX 活性, 提高凡纳滨对虾的抗氧化能力^[11]。在中华绒螯蟹饲料中添加 1 650 mg/kg 肌醇可显著提高 WGR 和 SGR, 改善生长性能^[13]。虽然, 不同鱼虾品种对饲料中肌醇的需要量不同, 但均显示肌醇的添加可以促进水生生物的生长。本实验同样发现, 在饲料中添加酶促法和化工法肌醇能够改善建鲤幼鱼的生



图版 摄食不同实验日粮建鲤幼鱼肠道组织切片

1. 对照组建鲤肠道($\times 200$ 倍), 2. 化工法肌醇组建鲤肠道($\times 200$ 倍, 箭头示部分肠绒毛轻微水肿、脱落), 3. 酶促法肌醇组建鲤肠道($\times 200$ 倍); GC. 杯状细胞, ME. 肌层, EC. 上皮细胞, CT. 隐窝。

Plate Histological examination of *C. carpio* var. *jian* intestines fed experimental diets

1-3 indicates the intestine structures of *C. carpio* var. *jian* fed basic diet (C, $\times 200$), C+400C-MI diet ($\times 200$, arrow showed slight edema and detachment of some intestinal villi), and C+400E-MI diet ($\times 200$). GC, goblet cells; ME, muscular layer; EC, epithelial cells; CT, crypt.

长性能, 包括增重率、蛋白转化和沉积效率等。通过对化工法肌醇和酶促法肌醇的生物利用进行比较, 发现两者的添加均能够提高建鲤幼鱼的生长性能、饲料蛋白质效率和蛋白质沉积率。其中, 蛋白质效率和蛋白质沉积率是反映动物对蛋白质利用效率的重要指标, 饲料中的蛋白质经过一系列代谢过程合成新的蛋白质, 在组织器官中沉积, 从而促进鱼体的生长^[14]。

3.2 不同方法制备的肌醇对建鲤幼鱼血浆及肝脏抗氧化功能的影响

血液指标是鱼类的重要特征之一, 能够用来评价鱼类的健康状况^[15]。血浆甘油三酯(TG)是机体脂质代谢稳态的重要指标, 反映了鱼体内脂肪转运的情况, 主要功能是供给与储存能源, 还可固定和保护内脏, 其含量的升高指示机体内脂肪沉积过多, 脂肪分解代谢能力减弱^[16]。乳酸脱氢酶(LDH)是糖酵解过程中一种重要的酶, 任何原因引起的肝细胞损伤均可导致乳酸脱氢酶逸出, 引起血浆乳酸脱氢酶活性增加^[17]。在哺乳动物中, 日粮中添加适量肌醇可有效降低非酒精性脂肪肝大鼠(*Rattus norvegicus*)TG的积累^[18]。在水生动物中, 日粮中适量的肌醇可以降低中华绒螯蟹肝脏中TG等脂质的积累^[13], 本实验中, 添加两种肌醇均具有降低建鲤血浆中TG和LDH的效果, 其原因可能是肌醇可以促进脂肪分解从而减少血循环中TG含量, 而脂质的清除在一定程度上保护了肝细胞, 因而降低血浆中LDH的含量。MDA是脂质过氧化作用的最终分解产物, 其含量高低可以反映机体的脂质过氧化水平。本实验中, 虽然添加400 mg/kg的化工法肌醇引起了建鲤肝脏中MDA的显著升高, 与姜维丹^[9]的结论存在

不同, 但是建鲤肝脏中MDA含量值相对较低, 因而推测实验鱼并未出现脂质过氧化的代谢状态。进一步检测的肝脏抗氧化指标结果也体现了一致的结果, 肝脏中T-SOD和GPX活性及GSH含量提高。肝脏作为鱼体最重要的解毒器官之一, 是许多重要化学性物质的重要靶点, 很容易受到外界化学性药物、病毒和酒精等的侵害^[19], 氧化应激是诱导鱼类肝损伤的重要原因, 氧化应激引起的过多的氧自由基会攻击生物膜, 导致肝细胞膜脂质过氧化和蛋白质氧化, 破坏肝细胞膜结构和功能, 形成脂质过氧化和肝损伤等^[20]。因此, 鱼体肝脏抗氧化酶对体内自由基的清除和细胞氧化的抵抗都至关重要, 其活性高低都是衡量机体抗氧化能力的重要指标^[21-22]。SOD和GPX都是衡量机体抗氧化能力的重要指标, 对体内自由基的清除和细胞氧化的抵抗都要重要作用^[23-24]。SOD能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢^[25], GPX是鱼类清除细胞内过氧化氢的抗氧化关键酶, 保护细胞免受过氧化氢的毒害作用, GSH是动物体内重要的自由基清除剂和抗氧化剂^[26]。有研究发现, 日粮中添加200 mg/kg肌醇可显著改善凡纳滨对虾摄食高氧化鱼油日粮后肝胰腺的GST和GPX活性, 提高了凡纳滨对虾的抗氧化能力, 说明肌醇可以修复由日粮脂质氧化引起的肝脏氧化应激损伤^[13]。

3.3 不同方法制备的肌醇对建鲤幼鱼肠道抗炎功能的影响

细胞因子是免疫系统的关键调节因子, 具有免疫调节、抗肿瘤、促进造血、参与炎症反应以及神经内分泌效应等多种生物学功能^[27]。根据其在炎症反应中发挥的作用, 细胞因子又可以分为

促炎细胞因子(如 *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-8*、*TNF- α* 、*IL-12* 等)^[28] 和抗炎细胞因子(*IL-10*、*TGF- β 1* 等)^[29]。在炎症反应中, 促炎因子参与调节局部炎症反应, 抑制内皮细胞的增殖, 促进内皮细胞分泌更多的黏附分子, 促进产生局部炎症细胞的浸润, 其在炎症反应时会明显增高^[30]。本研究中, 基础日粮中添加肌醇能够显著下调建鲤幼鱼肠道中 *IL-6*、*TNF- α* 和 *IL-12* 的表达, 且添加酶促法肌醇进一步显著下调 *IL-1 β* 和 *IL-8* 的表达。据研究报道, 慢性阻塞性肺疾病、炎症性肠病等疾病发生时会大量合成并分泌 *IL-6*^[31-33]。*TNF- α* 可直接诱导肝细胞的凋亡或通过对过氧化物及其他炎性因子的刺激产生肝组织的损伤^[23]。*IL-12* 是一种具有多种免疫调节功能的促炎症性细胞因子, 能引起 Th1、Th2 细胞免疫应答, 参与机体的免疫反应^[24]。与本实验结果相类似的是, 李双安^[25]发现在日粮中添加适宜水平的肌醇可下调草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 肠道促炎细胞因子 *IL-1 β* 、*TNF- α* 和 *IL-8* 的表达。抗炎因子是能够抑制炎症反应发生的细胞因子, *IL-10* 是调节抗原提呈细胞、单核/巨噬细胞等免疫相关细胞功能的一个重要细胞抗炎因子^[34], 还具有免疫激活、促进 NK 细胞的增殖分化等功能^[35]。*TGF- β 1* 同样也是多功能的免疫调节因子, 主要通过抑制促炎因子的生成而降低炎症反应对机体的损伤^[36]。有研究报道, 适量的肌醇能够抑制草鱼体内促炎细胞因子表达, 上调抗炎因子表达^[25]。然而, 本实验发现酶促法和化工法肌醇均显著抑制了 *IL-10* 和 *TGF- β 1* 的表达, 可能是由于抗炎因子往往随着炎症的发生或促炎因子的上调而激活表达, 在 LPS 处理的头肾白细胞、嗜水气单胞菌感染后的鱼中发现, *IL-10* 的上调表达晚于促炎因子激活^[37-38], 而本实验中肌醇的添加维持了鱼体肠道的正常生理状态和健康功能而免受免疫刺激, 因此 *IL-10* 等抗炎因子未上调表达。但是与基础日粮组相比, 酶促法肌醇的添加对于肠道健康的维持效果可能更优于化学法肌醇。肠道的组织切片同样也佐证了这一结果, 摄食酶促法肌醇的鱼体肠道隐窝更深, 肠绒毛丰富且粗壮且排列紧密。隐窝-绒毛轴在动物肠道形态发育生长中具有重要的作用^[39]。在哺乳动物肠道中, 肠道干细胞在基底隐窝中复制, 沿着绒毛易位, 并经历细胞死亡, 而鱼类也具有相似的发育模式, 其肠道干细胞位于功能类似于隐窝的基底细胞簇中, 促进肠道细胞增殖和形态发育^[40]。

<https://www.china-fishery.cn>

4 结论

总体而言, 日粮中添加 400 mg/kg 化学法制备肌醇和酶促法制备肌醇可以改善建鲤幼鱼生长性能, 提高饲料蛋白质利用率, 增强肝脏抗氧化能力和肠道健康。综合生化指标、基因表达和组织病理学, 饲料中添加 400 mg/kg 酶促法肌醇在提高建鲤幼鱼饲料蛋白质利用率、维持肠道健康等方面的效果更佳。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Lu Y P, Wang L, Teng F, et al. Production of myo-inositol from glucose by a novel trienzymatic cascade of polyphosphate glucokinase, inositol 1-phosphate synthase and inositol monophosphatase[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2018, 112: 1-5.
- [2] Chen S J, Guo Y C, Espe M, et al. Growth performance, haematological parameters, antioxidant status and salinity stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed different levels of dietary myo-inositol[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(5): 1527-1539.
- [3] 程镇燕. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 和鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*) 对几种水溶性维生素营养需求及糖类营养生理的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
Cheng Z Y. Requirement of several water-soluble vitamins and nutritional physiology of carbohydrate in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) and Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010 (in Chinese).
- [4] 蒋明, 张志强, 文华, 等. 肌醇对胭脂鱼生长、体成分和部分血清生化指标的影响 [J]. *淡水渔业*, 2017, 47(4): 63-68.
Jiang M, Zhang Z Q, Wen H, et al. Effects of dietary myo-inositol on growth performance, body composition and some serum biochemical indexes of Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2017, 47(4): 63-68 (in Chinese).
- [5] 李日美. 低鱼粉饲料添加肌醇、锌对凡纳滨对虾和珍珠龙胆石斑鱼的营养生理效应研究 [D]. 湛江: 广东海大学, 2019.
Li R M. The effects of inositol and zinc in low-fishmeal

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- dietary on nutritional physiological functions for juvenile *L. vannamei* and (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀), respectively[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019 (in Chinese).
- [6] 田娟, 文华, 郜卫华, 等. 肌醇对大规格吉富罗非鱼生长、体组成和血清指标的影响[J]. 南方水产科学, 2018, 14(2): 83-89.
- Tian J, Wen H, Gao W H, et al. Effect of myo-inositol on growth performance, body composition and serum biochemical indices of large size GIFT Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2018, 14(2): 83-89 (in Chinese).
- [7] Mirghaed A T, Fayaz S, Hoseini S M. Effects of dietary 1, 8-cineole supplementation on serum stress and antioxidant markers of common carp (*Cyprinus carpio*) acutely exposed to ambient ammonia[J]. *Aquaculture*, 2019, 509: 8-15.
- Jiang W D, Lin F, Yang L, et al. Myo-inositol prevents oxidative damage, inhibits oxygen radical generation and increases antioxidant enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(15): 1770-1776.
- [9] 姜维丹. 肌醇对幼建鲤肠道抗氧化能力的影响及其作用机制研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- Jiang W D. Effects of myo-inositol on the antioxidant ability in the intestine of juveniles Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) and the mechanism studies[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [10] Lee B J, Lee K J, Lim S J, et al. Dietary myo-inositol requirement for Olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminch et Schlegel)[J]. *Aquaculture Research*, 2008, 40(1): 83-90.
- Chen S J, Zhuang Z X, Yin P, et al. Changes in growth performance, haematological parameters, hepatopancreas histopathology and antioxidant status of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed oxidized fish oil: regulation by dietary myo-inositol[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 88: 53-64.
- [12] Khosravi S, Lim S J, Rahimnejad S, et al. Dietary myo-inositol requirement of parrot fish, *Oplegnathus fasciatus*[J]. *Aquaculture*, 2015, 436: 1-7.
- Bu X Y, Lin Z D, Liu S B, et al. Effects of myo-inositol on growth performance, body composition, antioxidant status, non-specific immunity and lipid metabolism of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(5): 1623-1635.
- [14] National Research Council. Nutrient requirements of fish and shrimp[M]. Washington: National Academies Press, 2011.
- [15] Harikrishnan R, Nisha Rani M, Balasundaram C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection[J]. *Aquaculture*, 2003, 221(1-4): 41-50.
- [16] 谢瑞涛. 饲料脂肪与蛋白质对杂交石斑鱼(褐点石斑鱼♀×清水石斑鱼♂)生长及代谢的影响 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2021.
- Xie R T. Effects of dietary lipid levels and protein levels on growth and physiological metabolism of the hybrid (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. polyphekadion*♂)[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2021 (in Chinese).
- [17] 吴宁, 李莉, 侯杰, 等. 射流式鱼泵胁迫下草鱼的应激响应[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(5): 75-83.
- Wu N, Li L, Hou J, et al. Stress response of grass carp after passing the jet fish pump[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2016, 35(5): 75-83 (in Chinese).
- [18] Shimada M, Ichigo Y, Shirouchi B, et al. Treatment with myo-inositol attenuates binding of the carbohydrate-responsive element-binding protein to the chREBP- β and FASN genes in rat nonalcoholic fatty liver induced by high-fructose diet[J]. *Nutrition Research*, 2019, 64: 49-55.
- Sun J S, Zhao L, Sun L. Interleukin-8 of *Cynoglossus semilaevis* is a chemoattractant with immunoregulatory property[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30(6): 1362-1367.
- [20] Hu Y H, Chen L, Sun L. CXCL8 of *Scophthalmus maximus*: expression, biological activity and immunoregulatory effect[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(10): 1032-1039.
- [21] 董硕. 肌醇、D-手性肌醇对酒精性脂肪肝大鼠的作用及其机理 [D]. 天津: 天津科技大学, 2015.
- Dong S. Effect and mechanism of inositol and D-chiroinositol on alcoholic fatty liver rats[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015 (in Chinese).
- [22] 张立, 王迎新, 杨婷, 等. 白介素12与常见自身免疫性疾病

- 疾病的研究进展[J]. 中华疾病控制杂志, 2014, 18(11): 1099-1103.
- Zhang L, Wang Y X, Yang T, et al. A current review of the relationship between IL-12 and autoimmune diseases[J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2014, 18(11): 1099-1103 (in Chinese).
- [23] 郑清梅, 温小波, 韩春艳, 等. 草鱼胞浆谷胱甘肽过氧化物酶cDNA全长的克隆与分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2010, 29(5): 919-926.
- Zheng Q M, Wen X B, Han C Y, et al. Full-length cDNA cloning and analysis of glutathione peroxidase from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)[J]. Genomics and Applied Biology, 2010, 29(5): 919-926 (in Chinese).
- [24] 董亮, 何永志, 王远亮, 等. 超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(5): 53-58.
- Dong L, He Y Z, Wang Y L, et al. Research progress on application of superoxide dismutase (SOD)[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2013, 15(5): 53-58 (in Chinese).
- [25] 李双安. 肌醇对草鱼生产性能、肠道健康、机体健康、鳃健康以及肉质的作用及其作用机制 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2017.
- Li S A. Effects of dietary myo-inositol on growth performance, intestinal health, body health, gill health and flesh quality, as well as the mechanisms in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [26] O'Garra A, Vieira P. Th1 cells control themselves by producing interleukin-10[J]. Nature Reviews Immunology, 2007, 7(6): 425-428.
- [27] Yoshie O, Imai T, Nomiyama H. Chemokines in immunity[J]. Advances in Immunology, 2001, 78: 57-110.
- [28] Watkins L R, Maier S F, Goehler L E. Immune activation: the role of pro-inflammatory cytokines in inflammation, illness responses and pathological pain states[J]. Pain, 1995, 63(3): 289-302.
- [29] Waseem T, Duxbury M, Ito H, et al. Exogenous ghrelin modulates release of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in LPS-stimulated macrophages through distinct signaling pathways[J]. Surgery, 2008, 143(3): 334-342.
- [30] Dubravec D B, Spriggs D R, Mannick J A, et al. Circulating human peripheral blood granulocytes synthesize and secrete tumor necrosis factor alpha[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1990, 87(17): 6758-6761.
- [31] Nishihara T, Matsuda M, Araki H, et al. Effect of adiponectin on murine colitis induced by dextran sulfate sodium[J]. Gastroenterology, 2006, 131(3): 853-861.
- [32] Karmiris K, Kouroukakis I E, Xidakis C, et al. Circulating levels of leptin, adiponectin, resistin, and ghrelin in inflammatory bowel disease[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2006, 12(2): 100-105.
- [33] Fayad R, Pini M, Sennello J A, et al. Adiponectin deficiency protects mice from chemically induced colonic inflammation[J]. Gastroenterology, 2007, 132(2): 601-614.
- [34] Ryan J J, Kashyap M, Bailey D, et al. Mast cell homeostasis: a fundamental aspect of allergic disease[J]. Critical Reviews™ in Immunology, 2007, 27(1): 15-32.
- [35] Cai G F, Kastelein R A; Hunter C A. IL-10 enhances NK cell proliferation, cytotoxicity and production of IFN- γ when combined with IL-18[J]. European Journal of Immunology, 1999, 29(9): 2658-2665.
- [36] Strober W, Fuss I J, Blumberg R S. The immunology of mucosal models of inflammation[J]. Annual Review of Immunology, 2002, 20: 495-549.
- [37] Zhang D C, Shao Y Q, Huang Y Q, et al. Cloning, characterization and expression analysis of interleukin-10 from the zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2005, 38(5): 571-576.
- [38] Savan R, Igawa D, Sakai M. Cloning, characterization and expression analysis of interleukin-10 from the common carp, *Cyprinus carpio* L.[J]. European Journal of Biochemistry, 2003, 270(23): 4647-4654.
- [39] Kwon O, Han T S, Son M Y. Intestinal morphogenesis in development, regeneration, and disease: the potential utility of intestinal organoids for studying compartmentalization of the crypt-villus structure[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2020, 8: 593969.
- [40] Tavakoli S, Zhu S W, Matsudaira P. Cell clusters containing intestinal stem cells, line the zebrafish intestine intervillus pocket[J]. iScience, 2022, 25(5): 104280.

Effects of myo-inositol by different preparation methods on growth performance, physiology and intestinal inflammation related genes expressions in *Cyprinus carpio* var. *jian*

LUO Chenhao¹, MIAO Linghong^{1,2*}, LIN Yan², LIU Bo^{1,2}, GE Xianping^{1,2*}

(1. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: This study was conducted to investigate the effects of myo-inositol by different preparation methods on growth performance, plasma biochemical indicators, hepatic antioxidant capability and intestinal anti-inflammatory gene expressions of *Cyprinus carpio* var. *jian*. A basic diet (C, 34.64% of crude protein and 7.86% of crude fat) was formulated, and two experimental diets 400 mg/kg enzymatic myo-inositol (C+400E-MI) and chemical myo-inositol (C+400C-MI) in the basic diet were prepared. 180 healthy juvenile *C. carpio* var. *jian* [(1.50±0.01) g] were randomly distributed to 9 tanks in triplicate at the density of 20 fish per tank. After the 10-week feeding trial, the growth performance, liver antioxidant ability and intestinal inflammatory response-related gene expressions were determined. The results showed that the dietary E-MI and C-MI increased protein efficiency and protein deposition rate ($P<0.05$), and 400 mg/kg of dietary E-MI improved the weight gain rate and specific growth rate compared to the control group ($P<0.05$), and reduced the content of plasma lactate dehydrogenase ($P<0.05$). Compared to the basic group, 400 mg/kg E-MI supplementation significantly increased the activities of hepatic total superoxide dismutase (T-SOD), glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPX) ($P<0.05$). 400 mg/kg C-MI supplementation significantly increased the hepatic GPX ($P<0.05$), while the content of malondialdehyde (MDA) increased as well ($P<0.05$). The intestinal gene expressions showed that the inclusion of E-MI and C-MI significantly down-regulated the mRNA expressions of pro-inflammatory factors in the fish intestine, e.g. *IL-6*, *TNF-α* and *IL-12* ($P<0.05$). The inclusion of 400 mg/kg E-MI significantly reduced the mRNA expressions of anti-inflammatory factors, e.g. *TGF-β1* and *il-10* ($P<0.05$). In general, the supplementation of 400 mg/kg myo-inositol by different preparation methods improved the growth and feed utilization of juvenile *C. carpio* var. *jian*, and inhibited inflammatory response in the intestine. In addition, the enzymatic myo-inositol exhibited a better effect on growth improvement and antioxidant capacity enhancement of juvenile *C. carpio* var. *jian*. Therefore, enzymatic myo-inositol is a nutritional additive for aquatic animals that meets the requirements of green development.

Key words: *Cyprinus carpio* var. *jian*; myo-inositol; preparation method; growth performance; antioxidant capacity; inflammatory factor

Corresponding authors: MIAO Linghong. E-mail: miaolh@ffrc.cn;
GE Xianping. E-mail: gexp@ffrc.cn

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-45)