

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.20016

饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能、抗氧化指标及抗胁迫能力的影响

王咏梅^{1,2,3,4}, 陈冰^{2,3,4}, 王国霞^{2,3,4}, 曹俊明^{2,3,4}, 黄燕华^{2,3,4}, 莫文艳^{2,3,4},
彭凯^{2,3,4}, 赵红霞^{2,3,4}

1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 广东 广州 510640;
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
3. 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东 广州 510640;
4. 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640

摘要: 为了探讨桑叶黄酮对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长性能、体成分、血清生化和抗氧化指标的影响, 选用初始体重为(1.32±0.01) g 的凡纳滨对虾 960 尾, 随机分为 6 组(每组 4 个重复, 每个重复 40 尾), 分别投喂在基础饲料中添加 0、10 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg、150 mg/kg 和 300 mg/kg 桑叶黄酮的实验饲料, 饲养 50 d 后测定成活率、生长相关指标、血清生化指标、抗氧化指标及抗低氧胁迫能力。结果显示, 饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾成活率、增重率、特定生长率、饲料系数等无显著影响($P>0.05$)。饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾体成分无显著性影响($P>0.05$)。添加 150 mg/kg 和 300 mg/kg 桑叶黄酮可显著提高凡纳滨对虾血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性($P<0.05$)。添加 10~300 mg/kg 桑叶黄酮可显著提高血清和肝脏总抗氧化能力, 显著降低肝胰腺丙二醛和脂质过氧化物的含量, 添加 50 mg/kg 桑叶黄酮可提高血清谷胱甘肽过氧化物酶的活性($P<0.05$)。低氧胁迫 2 h 时, 10 mg/kg、50 mg/kg 组的累计死亡率显著低于对照组($P<0.05$); 在低氧胁迫 4 h 时, 10 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg 组的累计死亡率显著低于对照组($P<0.05$)。结果表明, 以血清总抗氧化能力为评价指标进行回归分析得出, 桑叶黄酮在凡纳滨对虾饲料中的适宜添加量为 56.18 mg/kg, 添加 10~100 mg/kg 桑叶黄酮可提高凡纳滨对虾抗低氧胁迫能力。

关键词: 桑叶黄酮; 凡纳滨对虾; 生长性能; 抗氧化; 低氧胁迫

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)10-1184-13

黄酮类化合物(flavonoids)是一类化学结构相似的植物次生代谢产物, 具有抗癌^[1-2]、抗氧化^[3-4]、调节脂代谢^[5-6]、抗菌抗病毒^[7-8]、抗炎^[9]等生理功能。黄酮类化合物作为一种天然、绿色、环保抗氧化剂, 可提高鱼类生长性能和抗氧化能力。水

飞蓟素(从水飞蓟果实中分离得到的一种黄酮类抗氧化剂)能够显著提高草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)的增重率和特定生长率, 降低饲料系数^[10]。在饲料中添加槐属植物黄酮能显著提高罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的增重率、特定生长率、

收稿日期: 2020-01-17; 修订日期: 2020-02-28.

基金项目: 广东省级现代农业产业技术推广体系建设项目(2018LM1083); 广东省现代农业产业技术体系创新团队(2019KJ115); 广州市科技计划项目(201707010355).

作者简介: 王咏梅(1995-), 女, 硕士研究生, 水产动物营养与饲料科学, E-mail: 1361348164@qq.com; 同等贡献作者: 陈冰, 副研究员, E-mail: chenbing114@163.com

通信作者: 曹俊明, 博士, 教授, 研究方向为水产动物营养与饲料科学, E-mail: junmcao@163.com; 赵红霞, 研究员, 硕士生导师, E-mail: zhaohongxia8866@163.com

蛋白质效率和肥满度并降低饲料系数^[11], 在饲料中添加 10~20 mg/kg 的大豆黄酮能降低大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 幼鱼血清丙二醛(MDA)水平, 显著提高血清超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性, 提高抗氧化能力^[12]。桑叶黄酮为从桑叶中提取的黄酮类化合物, 本实验室前期实验结果表明, 在吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*, GIFT) 饲料中添加适量的桑叶黄酮可提高吉富罗非鱼抗氧化能力^[13-14], 但在甲壳动物上尚未见报道。凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是中国重要的经济养殖水产动物之一, 其快速发展的集约化、高密度的养殖模式, 常伴随水质污染、疾病暴发等一系列问题, 造成成活率、对抗氧化能力下降等后果。因此, 本研究以凡纳滨对虾为实验对象, 探讨桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能、体成分、血清生化和抗氧化指标的影响, 研究结果将为桑叶黄酮在甲壳动物上的应用提供理论基础, 为对虾饲料中适宜添加量提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料

以鱼粉、豆粕和花生麸为蛋白源, 鱼油和磷脂油为脂肪源, 高筋面粉为糖源配制基础饲料, 其配方及营养水平见表 1。在基础饲料中分别添加 0、10 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg、150 mg/kg、300 mg/kg 桑叶黄酮, 配制 6 种实验饲料, 分别标记为 G0、G10、G50、G100、G150、G300。桑叶黄酮(主要成分为黄酮和黄酮醇类, 纯度为 81.40%) 由广东省农业科学院蚕业与农产品加工所提供。饲料原料经粉碎后过 60 目筛, 微量成分采取逐级扩大法添加, 桑叶黄酮先溶于水配制成液体, 将该液体与混合好的饲料原料均匀混合, 保持足够水分, 在 NH-10 捏合机中加入鱼油和磷脂油, 混合均匀后, 用 SLX-80 型双螺杆挤压机(华南理工大学科技实业总厂生产)和 G-500 型造粒机(华南理工大学科技实业总厂生产)制成粒径为 1.5 mm 的颗粒饲料, 55 °C 烘干, 自然冷却, 筛去粉末和破碎小颗粒饲料后放入封口袋排出空气密封, 于 -20 °C 冰箱中保存备用。

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Tab. 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis)

项目 item	含量 content	%
原料 ingredient		
鱼粉 fish meal	23	
豆粕 soybean meal	21	
花生麸 peanut bran	12	
乌贼膏 squid paste	3	
虾壳粉 shrimp shell meal	5	
高筋面粉 high gluten flour	26.5	
鱼油 fish oil	3	
磷脂油 phosphatidic oil	1.5	
胆固醇 cholesterol	0.2	
维生素 C 酯 vitamin C ester	0.1	
胆碱 choline	0.3	
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	
维生素预混料 ¹⁾ vitamin premix ¹⁾	0.2	
矿物质预混料 ²⁾ mineral premix ²⁾	0.5	
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	2	
食盐 NaCl	0.2	
合计 total	100.00	
营养水平 ³⁾ nutrient level ³⁾		
粗蛋白质 crude protein (CP)	40.08	
灰分 ash	9.79	
粗脂肪 ether extract (EE)	8.5	
水分 moisture	6.37	

注: 1) 每千克维生素预混料含维生素含: 维生素 A 4000000 IU, 维生素 D 2000000 IU, 维生素 K₃ 10 g, 维生素 B₁ 5 g, 维生素 B₂ 15 g, 维生素 B₆ 8 g, 维生素 B₁₂ 0.02 g, 泛酸钙 25 g, 叶酸 2.5 g, 生物素 0.08 g, 烟酸 40 g, 肌醇 150 g.

2) 每千克矿物质预混料含: 一水硫酸镁 12 g; 氯化镁 90 g; 蛋氨酸-铜 3 g; 一水硫酸铁 1 g; 一水硫酸锌 10 g; 碘酸钙 0.06 g; 蛋氨酸-钴 0.16 g; 硒酸钠 0.0036 g.

3) 营养水平为实测值.

Note: 1) One kg of multi-vitamin premix containing: vitamin A 4000000 IU, vitamin D 2000000 IU, vitamin K₃ 10 g, vitamin B₁ 5 g, vitamin B₂ 15 g, vitamin B₆ 8 g, vitamin B₁₂ 0.02 g, calcium pantothenic 25 g, folic acid 2.5 g, biotin 0.08 g, nicotinic acid 40 g, inositol 150 g.

2) One kg of mineral premix containing: MgSO₄·H₂O 12 g, MgCl₂ 90 g, Met-Cu 3 g, Met-Co 0.16 g, FeSO₄·H₂O 1 g, ZnSO₄·H₂O 10 g, CaH₄I₂O₆ 0.06 g, Na₂SeO₄ 0.0036 g.

3) Nutrient levels were measured values.

1.2 实验虾与饲养管理

实验虾购于广东中山市龙泽水产养殖有限公司, 置于 3.0 m×2.0 m×1.2 m 的水泥池中暂养 2 周, 每天投喂对照组饲料两次。饲养实验在广东

省农业科学研究所动物科学研究所水产室进行,使用直径 80 cm,高 70 cm,体积约 300 L 的玻璃纤维桶进行养殖,采用室内循环养殖系统。选取初始体重为(1.32±0.01) g 的凡纳滨对虾 960 尾,随机分为 6 组,每组 4 个重复,每个重复 40 尾虾。分别饲喂基础饲料和 5 种实验饲料,以饱食投喂的方式每天投喂 3 次(8:00、14:00 和 20:00)。养殖水体为天然海水和自来水混合后的淡咸水,经过滤、消毒后加入养殖系统,盐度为 5~6,每周换水 2 次,每次换水量为总水量的 1/3,从养殖第 4 周开始每天排污(约占总水量 1/10)。养殖期间氨氮≤0.2 mg/L,亚硝酸盐≤0.05 mg/L,溶氧≥7.0 mg/L,采用自然光照,水温 27~30 °C。实验周期 50 d。

1.3 样品采集

养殖实验结束后,禁食 24 h,称重和计数,计算存活率(survival rate, SR)、增重率(weight gain rate, WGR)、特定生长率(specific growth rate, SGR)、饲料系数(feed conversion ratio, FCR)、蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER)等。每个重复随机取 5 尾虾,用于体成分测定,包括水分(moisture)、粗蛋白(crude protein, CP)、粗脂肪(ether extract, EE)、粗灰分(ash)。每个重复随机取 14 尾,用 1 mL 注射器围心腔采血,于离心管中,4 °C 静置 24 h,取上清液于-80 °C 保存,用于血清生化指标和酶活测定。每个重复随机取 6 尾测体长、体重,解剖并分离内脏,用于肥满度(condition factor, CF)、肝胰腺指数(hepatosomatic index, HSI)计算。肝胰腺和肌肉于 2 mL 离心管中-80 °C 保存,用于酶活测定。

1.4 指标测定

1.4.1 生长性能 各参数按下列公式进行计算:

存活率(SR, %)=100×终末尾数/初始尾数;

增重率(WGR, %)=100×(终末平均体重-初始平均体重)/初始平均体重;

特定生长率(SGR, %/d)=100×[ln(终末平均体重+死亡体重)-ln 初始平均体重]/饲养天数;

饲料系数(FC)=投饲总量/(终末体重+死亡体重-初始体重);

蛋白质效率(PER, %)=100×(终末体重+死亡体重-初始体重)/(饲料摄入量×饲料粗蛋白含量);

肥满度(CF, g/cm³)=100×体重/体长³;

肝胰腺指数(HSI, %)=100×肝脏重/体重;

摄食量(FI, g/尾)=投饲总量/[(初始尾数+终末尾数)/2]

1.4.2 体成分 水分的测定为 105 °C 烘干至恒重法(GB/T 6435-2014);粗蛋白的测定为凯氏定氮法(GB/T 6432-2018);粗脂肪的测定为索氏抽提法(GB/T 6433-2006);粗灰分的测定为箱式电阻炉 550 °C 灼烧法(GB/T 6438-2007)。

1.4.3 血清生化指标 应用金域医学检验中心全自动生化分析仪检测,包括总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、尿酸(UA)、甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、胆固醇(CHOL)、血糖(GLU)等。

1.4.4 血清、肝胰腺抗氧化指标 采用南京建成生物工程研究所试剂盒,检测血清、肝胰腺抗氧化酶活,主要指标包括总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)等。

1.4.5 低氧应激实验 饲养实验结束后,每桶随机选取 12 尾虾进行低氧胁迫实验,方法参照 Mugnier 等^[15]、Zeng 等^[16]并做适当调整。低氧胁迫开始前,将循环水关闭,每桶中水量下调至 60 L,水面距离桶底约 12 cm,将 1 层透明的悬浮薄膜覆盖在水面上,防止空气和水体中氧气交换。实验期间使用便携式溶氧仪(Seven2Go, Mettler Toledo, 美国)每隔 30 min 监测 1 次水体溶氧量。当水体溶氧量由饱和状态(7.0 mg/L 左右)下降至低氧状态(0.6 mg/L)时,记录每桶实验起始时间以及虾的死亡情况。当 G0 组(未添加组)中虾的死亡率达到 50%时,终止低氧胁迫实验。

累计死亡率(cumulative mortality rate, CMR, %)=低氧胁迫后死亡虾尾数/低氧胁迫虾尾数×100

1.5 数据统计分析

结果用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析,进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 多重比较,

$P < 0.05$ 认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能的影响

如表 2 所示, 在饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾 FBW、WGR、SR、SGR、FCR 以及 FC 和 HSI 无显著影响($P > 0.05$), 但 50 mg/kg 组 FBW、WGR、

SGR 比对照组分别高出 6.07%、6.76% 和 2.83%。50 mg/kg 组摄食量显著高于对照组($P < 0.05$), 300 mg/kg 组摄食量显著低于对照组($P < 0.05$)。300 mg/kg 组蛋白质效率显著高于对照组($P < 0.05$)。

2.2 桑叶黄酮对凡纳滨对虾体成分的影响

由表 3 可知, 在饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾体成分并无显著影响($P > 0.05$)。

表 2 桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 2 Effects of mulberry leaf flavonoids on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

$n=4; \bar{x} \pm SD$

项目 item	添加量/(mg/kg) supplementation					
	0	10	50	100	150	300
初始体重/g IBM	1.32±0.01	1.32±0.01	1.32±0.01	1.32±0.01	1.32±0.01	1.32±0.01
终末体重/g FBW	12.52±0.44	12.43±0.57	13.28±0.53	12.48±0.48	12.36±0.67	12.56±0.96
增重率/g WGR	848.57±33.18	841.30±37.92	905.95±40.33	846.69±46.20	837.55±43.79	851.04±65.61
成活率/% SR	88.64±2.71	88.00±5.96	89.73±3.70	93.30±3.46	90.22±6.87	89.91±3.41
特定生长率/(%/d) SGR	4.24±0.07	4.23±0.07	4.36±0.08	4.24±0.09	4.22±0.09	4.29±0.13
肥满度/(g/cm ³) FC	0.79±0.01	0.80±0.02	0.79±0.03	0.80±0.04	0.81±0.01	0.79±0.03
肝胰腺指数/% HSI	5.04±0.38	4.79±0.35	4.83±0.14	4.84±0.34	5.22±0.26	4.85±0.11
饲料系数 FCR	1.19±0.06	1.18±0.04	1.18±0.02	1.20±0.02	1.21±0.05	1.16±0.06
摄食量/(g/尾) FI	13.36±0.29 ^{ab}	14.12±0.55 ^b	14.87±0.45 ^c	13.70±0.19 ^{ab}	13.69±0.38 ^{ab}	13.27±0.33 ^a
蛋白质效率/% PER	194.47±4.71 ^a	190.39±5.98 ^a	194.39±2.77 ^a	198.72±3.68 ^a	191.47±4.79 ^a	212.99±8.8 ^b

注: 同行数据上标字母不同表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

表 3 桑叶黄酮对凡纳滨对虾体成分的影响(湿重基础)

Tab. 3 Effects of mulberry leaf flavonoids on body composition of *Litopenaeus vannamei* (wet weight basis)

$n=4; \bar{x} \pm SD$

项目 item	添加量/(mg/kg) supplementation					
	0	10	50	100	150	300
水分 moisture	76.77±1.01	77.33±0.90	76.44±0.86	76.74±0.84	76.63±1.22	76.35±1.21
粗蛋白 crude protein	18.56±0.65	17.82±1.01	17.95±0.56	17.55±0.49	17.45±0.60	17.75±0.36
粗脂肪 ether extract	1.46±0.25	1.53±0.22	1.48±0.22	1.41±0.20	1.44±0.30	1.59±0.29
灰分 ash	2.59±0.10	2.56±0.13	2.68±0.13	2.66±0.15	2.71±0.21	2.68±0.29

注: 同行数据上标字母不同表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2.3 桑叶黄酮对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

由表 4 可知, 在饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾血清中 ALB、GLB、TP 无显著性影响($P > 0.05$)。CHO 含量在 10 mg/kg 组最低, 300 mg/kg 组最高, 但 LDL 和 HDL 含量各组间无显著性差异($P > 0.05$)。150 mg/kg 组和 300 mg/kg 组 ALT 和

AST 显著高于对照组($P < 0.05$)。与对照组相比, 实验组尿酸含量均有增加, 150 mg/kg 组尿酸含量最高。血糖和甘油三酯并无显著性差异($P > 0.05$)。

2.4 桑叶黄酮对凡纳滨对虾抗氧化指标的影响

由表 5 可知, 对于血清抗氧化指标, 添加桑叶黄酮组血清 T-AOC 显著高于对照组, 50 mg/kg

表 4 桑叶黄酮对凡纳滨对虾血清生化指标的影响
 Tab. 4 Effects of mulberry leaf flavonoids on serum biochemical indices of *Litopenaeus vannamei*

$n=4; \bar{x} \pm SD$

项目 item	添加量/(mg/kg) supplementation					
	0	10	50	100	150	300
白蛋白/(g/L) ALB	43.80±4.26	41.98±3.20	43.05±4.28	42.18±3.37	42.10±1.71	43.83±3.17
球蛋白/(g/L) GLB	35.15±3.97	30.78±3.41	34.25±4.69	33.18±2.34	32.58±2.75	35.68±2.80
总蛋白/(g/L) TP	78.95±8.16	72.75±6.39	77.30±8.90	75.35±5.05	74.68±4.37	79.5±5.49
胆固醇/(mmol/L) CHO	1.99±0.22 ^{ab}	1.70±0.15 ^a	2.00±0.20 ^{ab}	1.86±0.23 ^{ab}	1.83±0.25 ^{ab}	2.04±0.17 ^b
低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) LDL	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01	0.02±0.01	0.03±0.02	0.02±0.01
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) HDL	0.02±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	0.02±0.01
甘油三酯/(mmol/L) TG	1.26±0.12	1.27±0.23	1.26±0.13	1.26±0.21	1.35±0.36	1.35±0.19
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	285.50±16.03 ^b	277.00±20.52 ^{ab}	256.25±37.42 ^{ab}	247.75±16.34 ^a	341.75±17.50 ^c	341.00±11.53 ^c
谷草转氨酶/(U/L) AST	246.67±32.47 ^a	219.67±45.00 ^a	284.75±46.65 ^a	253.50±41.04 ^a	349.75±41.37 ^b	353.33±16.74 ^b
葡萄糖/(mmol/L) Glu	4.51±0.70	3.64±0.22	4.64±0.60	3.94±0.32	3.79±0.83	4.38±0.95
尿酸/(nmol/L) UA	69.00±9.54 ^a	83.75±13.43 ^{ab}	91.50±6.95 ^b	77.00±8.72 ^{ab}	92.25±8.81 ^b	71.67±8.81 ^a

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 5 桑叶黄酮对凡纳滨对虾血清抗氧化指标的影响
 Tab. 5 Effects of mulberry leaf flavonoids on antioxidant indices in serum of *Litopenaeus vannamei*

$n=4; \bar{x} \pm SD$

项目 item	添加量/(mg/kg) supplementation					
	0	10	50	100	150	300
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	3.73±0.19 ^a	4.63±0.34 ^b	7.21±0.49 ^d	5.38±0.38 ^c	4.37±0.38 ^b	4.62±0.40 ^b
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	7.45±0.81 ^b	8.64±0.28 ^c	6.82±0.44 ^{ab}	6.25±0.21 ^a	7.10±0.38 ^{ab}	6.22±0.31 ^{ab}
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	54.49±4.90 ^a	48.79±2.47 ^a	99.13±6.27 ^c	53.37±2.73 ^a	64.44±3.71 ^b	55.69±5.61 ^a
过氧化氢酶/(U/mL) CAT	7.20±0.65 ^c	6.22±0.35 ^{ab}	6.20±0.56 ^{ab}	5.47±0.06 ^a	6.65±0.65 ^b	7.09±0.50 ^c
丙二醛/(nmol/mL) MDA	20.31±1.12 ^{bc}	20.20±0.89 ^{bc}	21.31±1.10 ^c	20.19±1.75 ^{bc}	18.35±0.96 ^a	19.12±0.71 ^{ab}
脂质过氧化物/(μ mol/L) LPO	8.55±0.30 ^{ab}	8.85±0.20 ^{ab}	8.25±0.45 ^a	9.56±0.63 ^b	10.93±0.64 ^c	9.26±0.48 ^{ab}

注: 同行数据上标字母不同表示组间存在显著差异($P<0.05$).

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

组血清 T-AOC 最高且显著高于其他各组($P<0.05$)。10 mg/kg 组 SOD 活性显著高于对照组($P<0.05$)。50 mg/kg 组 GSH-Px 活性显著高于对照组($P<0.05$), 比对照组提高了 81.92%。10 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg 和 150 mg/kg 组 CAT 活性显著低于对照组($P<0.05$), 100 mg/kg 组最低。150 mg/kg 组 MDA 含量显著低于其对照组($P<0.05$)。50 mg/kg 组 LPO 含量最低且显著低于对照组($P<0.05$)。通过线性回归分析桑叶黄酮添加量(X)与血清 T-AOC(Y)之间的关系, 得到 0~100 mg/kg 桑叶黄酮添加量与血清 T-AOC 的回归方程为: $Y=$

$-0.0011X^2+0.1236X+3.6324(R^2=0.9439)$, 100、150 和 300 mg/kg 组无显著性差异($P>0.05$)。由方程得出, 血清 T-AOC 最高值时, 桑叶黄酮的添加量为 56.18 mg/kg。

由表 6 可知, 对于肝胰脏抗氧化指标, 添加组肝胰脏 T-AOC 显著高于对照组($P<0.05$), 50 mg/kg 组最高, 且比对照组增加了 176%。对照组 SOD 活性最高, 50 mg/kg 组最低。GSH-Px 活性呈降低后升高趋势, 300 mg/kg 组最高, 显著高于其他各组($P<0.05$)。添加组 CAT 活性显著降低($P<0.05$)。添加组 MDA 含量显著低于对照组($P<$

0.05), 且在 100 mg/kg 组 MDA 含量最低。添加组 LPO 含量显著降低($P<0.05$), 在 50 mg/kg 组 LPO 含量最低。

2.5 桑叶黄酮对凡纳滨对虾低氧胁迫累计死亡率的影响

由表 7 可知, 对照组、150 mg/kg 和 300 mg/kg

组 3 组累计死亡率较高且相近, 10 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg 组累计死亡率较低且相近。在低氧胁迫 2 h 时, 10 mg/kg 和 50 mg/kg 组累计死亡率显著低于对照组($P<0.05$); 在低氧胁迫 4 h 时, 10 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg 组累计死亡率显著低于对照组($P<0.05$)。

表 6 桑叶黄酮对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化指标的影响

Tab. 6 Effects of mulberry leaf flavonoids on antioxidant indices in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*

$n=4; \bar{x} \pm SD$

项目 item	添加量/(mg/kg) supplementation					
	0	10	50	100	150	300
总抗氧化能力/(U/mg prot) T-AOC	1.29±0.15 ^a	3.11±0.37 ^d	3.56±0.22 ^e	2.49±0.39 ^c	3.26±0.07 ^{de}	1.83±0.12 ^b
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	3.97±0.38 ^c	2.76±0.26 ^b	2.27±0.28 ^a	2.55±0.29 ^{ab}	3.80±0.15 ^c	2.57±0.29 ^{ab}
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	29.37±1.45 ^b	27.29±0.60 ^{ab}	24.68±0.79 ^a	25.50±2.65 ^a	29.68±2.22 ^b	45.72±3.67 ^c
过氧化氢酶/(U/mg prot) CAT	4.29±0.19 ^c	1.45±0.03 ^b	1.31±0.08 ^b	0.48±0.11 ^a	1.87±0.29 ^c	3.74±0.29 ^d
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	8.19±0.70 ^c	2.54±0.63 ^b	1.51±0.20 ^b	0.53±0.06 ^a	1.18±0.21 ^b	1.19±0.12 ^b
脂质过氧化物/(μmol/g prot) LPO	52.19±1.52 ^d	33.99±1.33 ^c	21.15±1.42 ^a	23.58±1.75 ^b	22.78±1.39 ^{ab}	22.94±0.37 ^{ab}

注: 同行数据上标字母不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

表 7 桑叶黄酮对凡纳滨对虾低氧胁迫累计死亡率的影响

Tab. 7 Effects of mulberry leaf flavonoids on cumulative mortality rate of *Litopenaeus vannamei* suffered hypoxic challenges

$n=4; \bar{x} \pm SD$

项目 item	添加量/(mg/kg) supplementation					
	0	10	50	100	150	300
2 h 累计死亡率/%	29.17±4.81 ^b	20.83±4.81 ^a	20.83±4.81 ^a	22.92±4.17 ^{ab}	27.08±4.17 ^{ab}	29.17±4.81 ^b
2 h cumulative mortality rate						
4 h 累计死亡率/%	52.08±4.17 ^c	39.58±7.98 ^a	39.58±4.17 ^a	41.67±6.80 ^{ab}	47.92±4.17 ^{abc}	50.00±6.80 ^c
4 h cumulative mortality rate						

注: 同行数据上标字母不同表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能的影响

本研究在饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能包括终末体重、增重率、成活率、特定生长率无显著性影响。黄酮类化合物对动物生长的影响报道结论各异。研究表明, 沙葱黄酮能够通过促进血清中生长激素(GH)和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)分泌提高肉用绵羊生长性能^[17]; 大豆异黄酮可通过提高生长激素和睾酮水平促进奥里亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)雄鱼生长^[18]; 低浓度的金雀异黄酮对尼罗罗非鱼生长无影响, 但高浓

度的金雀异黄酮可下调尼罗罗非鱼垂体 GH、肝脏 GHRs 和 IGF-1 mRNA 的表达, 抑制尼罗罗非鱼的生长^[19-20]; 槐属黄酮可通过改善罗非鱼增重率、特定生长率、饲料系数、蛋白质效率等促进罗非鱼生长^[11]。这可能是因为黄酮类化合物与雌二醇结构相似, 具有弱雌激素活性, 能与下丘脑、垂体等处的雌二醇受体结合, 发挥雌激素或抗雄激素作用, 通过生长轴、性腺轴和甲状腺轴等, 促进动物机体生长发育。而杨继华等^[13]研究表明, 桑叶黄酮对吉富罗非鱼生长性能无显著性影响; 陈密等^[21]研究表明在饲料中添加芦丁不会促进草鱼生长; 郭海燕等^[22]研究指出, 在饲料中添加

染料木黄酮对大菱鲆幼鱼的存活、终末体重、特定生长率、饲料效率、摄食量、肥满度、脏体比和肝体比均无显著性影响。此外,肖凡等^[23]研究发现大豆异黄酮可提高荷斯坦犊牛增重,促进生长,但饲喂时间在 40 d 以上效果最佳。由此可见,黄酮类化合物可通过影响动物机体对营养物质的吸收和内分泌激素分泌而影响动物生长发育,但可能与动物种类、黄酮类化合物剂量、饲养时间、动物性别等有关。

本研究中添加桑叶黄酮组的终末体重、增重率、特定生长率虽与对照相比没有显著差异,但均随添加量增加呈先增加后降低的趋势,且均在 50 mg/kg 组达最大值,分别比对照组增加了 6.07%、6.76%和 2.83%,这可能是低剂量的桑叶黄酮可促进凡纳滨对虾生长,但养殖周期较短,还未出现显著性差异,也可能是凡纳滨对虾与鱼类以及牛、羊等陆生动物内分泌机制不同,造成桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长作用机制不同,也可能是桑叶黄酮对凡纳滨对虾促生长方面的作用不明显,还需进一步研究。50 mg/kg 组摄食量显著高于对照组,300 mg/kg 组摄食量显著低于对照组,可能是高剂量桑叶黄酮影响了凡纳滨对虾饲料的适口性。

3.2 桑叶黄酮对凡纳滨对虾体成分的影响

本研究中,桑叶黄酮对凡纳滨对虾全虾和肌肉水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分无显著影响。刘淑兰^[11]、胡海滨等^[12]、郭海燕等^[22]研究表明,黄酮类化合物可降低鱼体脂肪含量,可能是通过提高脂肪分解相关酶的活性,降低脂肪合成酶的活性,减少脂肪在体内的蓄积^[24-25];此外有研究表明黄酮类化合物可通过下调肝脏脂质合成相关基因的表达和抑制草鱼脂肪细胞分化,降低鱼体肝脏脂肪蓄积^[26-27],说明黄酮类化合物可以调节水产动物脂代谢,保持机体健康。桑叶黄酮对降低粗脂肪含量的效果各异。Kamboh 等^[28]研究认为黄酮类化合物可通过促进动物分泌生长激素,直接促进肌肉蛋白质的合成能力,异黄酮能增加肉仔鸡肌肉中蛋白质的合成,促进肌肉生长;陈密等^[21]研究表明芦丁可提高草鱼全鱼粗蛋白含量;胡海滨等^[12]研究表明大豆异黄酮可降低大菱鲆幼鱼粗蛋白含量;杨继华等^[13]研究表明桑叶黄酮

对吉富罗非鱼体成分无显著性影响,这与本研究结论一致。以上研究结果的差异性可能与黄酮类化合物的种类、养殖对象以及水产动物本身生长机制的特性有关。

3.3 桑叶黄酮对凡纳滨对虾血清生化指标的影响

本研究结果表明桑叶黄酮对血清 LDL、HDL、TG 无显著性影响,10 mg/kg 组 CHO 水平最低,说明在饲料中添加 10 mg/kg 桑叶黄酮可降低血清 CHO 水平。黄酮类化合物可以通过肠道内脂质的吸收和排泄、肝脏脂质的合成和分解调节脂代谢。李登清等^[29]研究发现,银杏叶提取物可能通过扶植高脂血症大鼠肠道有益菌,发挥调节脂代谢作用。虽然黄酮类化合物对调节脂代谢的作用机制复杂,但黄酮类化合物可显著降低动物血清 TG、TC、LDL 水平^[30-35],显著提高血清 HDL 水平^[33-35]。

血清中的蛋白与免疫和营养物质代谢相关^[35],沙葱黄酮可提高肉羊血清中 TP 和 ALB 的含量,GLB 在第 0、15、30、60 天无显著性差异,第 45 天 GLB 含量显著增加^[36]。本研究结果表明桑叶黄酮对凡纳滨对虾血清 ALB、GLB、TP 水平无显著性影响,这可能与实验周期有关,还需进一步研究。血清中转氨酶不仅可反映蛋白质代谢的状况,还可以反映肝脏、心脏等组织健康状况,肝细胞受损时,ALT 和 AST 便会释放到血液里,使血清中 ALT 和 AST 的含量升高。本研究结果表明 10 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg 组 ALT 活性有下降趋势,100 mg/kg 组 ALT 活性显著低于对照组,150 mg/kg 和 300 mg/kg 组血清 ALT 和 AST 活性显著高于对照组,说明在桑叶黄酮添加量为 150 mg/kg 和 300 mg/kg 时可能对凡纳滨对虾肝胰腺造成了负面影响。李彦先^[37]、李方方等^[38]研究表明适量的大豆黄酮可降低异育银鲫、哺乳母猪血清尿素氮水平,而本研究结果表明 50 mg/kg 和 150 mg/kg 组尿酸含量显著高于对照组,可能是桑叶黄酮影响了蛋白质的吸收,还需进一步研究。

3.4 桑叶黄酮对凡纳滨对虾抗氧化指标的影响

动物机体在代谢过程中会不断产生自由基,自由基性质活泼,氧化能力极强,通过连锁氧化反应,可产生 MDA,MDA 可攻击动物体内核酸、蛋白质、糖类及细胞膜系统中的不饱和脂肪酸等,

造成氧化损伤, 诱发多种病理损伤, 危害机体健康^[39]。黄酮类化合物可清除自由基和抑制自由基生成酶的合成^[40], 还可以通过提高机体抗氧化酶活力^[41]和清除脂质过氧化物抑制脂质过氧化反应达到抗氧化作用。机体抗氧化状态由抗氧化酶和非酶抗氧化物质共同维持, 在一定程度上反映了机体的健康状况。抗氧化酶活力的升高说明机体受到了一定的刺激, 也说明机体受到这种刺激后可通过提高抗氧化酶的活性来保护机体免受更大的伤害。SOD、CAT、GSH-Px 等抗氧化酶可保护活细胞避免产生氧化应激, 与 T-AOC 等是评价机体抗氧化水平的重要指标。本研究表明, 10 mg/kg 组血清 SOD 活性和 50 mg/kg 组血清 GSH-Px 活性显著高于对照组, 肝胰腺中 SOD 和 GSH-Px 的活性随桑叶黄酮添加量的增加呈先降低后升高趋势, 且添加组肝胰腺 SOD 活性低于对照组, 10 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg 组肝胰腺 GSH-Px 活性低于对照组。部分研究表明, 饲料中添加适量的黄酮类化合物能提高动物体 SOD、GSH-Px 活性^[12-13, 42-43], 亦有研究表明断奶仔猪血清和肝脏 SOD、GSH-Px 活性随饲料中苜蓿黄酮添加剂量的增加先降低后升高^[44], 说明黄酮化合物对动物血清和肝脏中 SOD、GSH-Px 的活性影响并不相同。本研究中添加桑叶黄酮组血清和肝胰腺 CAT 活性下降, 杨继华等^[13]发现桑叶黄酮对吉富罗非鱼血清 CAT 无显著性影响, 但添加 100~1000 mg/kg 桑叶黄酮可提高肝脏 CAT 活力; 曲根对断奶仔猪肝脏 CAT 活性无显著性影响^[44]; Li 等^[42]报道大豆异黄酮可提高异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)血清 CAT 活性, 说明黄酮类化合物对 CAT 影响并不一致, 可能与黄酮类化合物的种类和动物品种不同有关。部分研究表明黄酮类化合物可提高动物机体 T-AOC^[13, 43-45], 与本研究结果一致, 说明黄酮类化合物可提高动物机体 T-AOC, 根据回归曲线方程, 桑叶黄酮添加量为 56.18 mg/kg 时血清 T-AOC 最强。

研究表明, 染料木黄酮可通过清除脂质过氧化产物来降低脂质过氧化的速度^[46], 大豆黄酮可通过镶嵌在细胞膜磷脂双分子层之间限制包膜的

流动性, 进而抑制脂质过氧化产物的形成和降低脂肪氧化速率^[47], 本研究表明, 150 mg/kg 桑叶黄酮可降低血清 MDA 含量, 50 mg/kg 桑叶黄酮可降低血清 LPO 含量, 所有添加剂量的桑叶黄酮均可降低肝胰腺 MDA 含量和 LPO 含量, 杨继华等^[13]、吕小文等^[48]研究表明适量黄酮类化合物可降低血清 MDA 含量, 与本研究结论一致。说明黄酮类化合物可能清除脂质过氧化产物提高机体抗氧化能力。在肝胰腺中 10 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg 组与对照组相比 SOD、GSH-Px、CAT 抗氧化酶活性降低, MDA 和 LPO 含量降低, T-AOC 提高, 说明桑叶黄酮可能主要通过清除脂质过氧化物来达到抗氧化的目的, 但具体作用机制还需进一步研究。

3.5 桑叶黄酮对凡纳滨对虾抗低氧胁迫的影响

本研究表明, 在饲料中添加 10~100 mg/kg 桑叶黄酮可提高凡纳滨对虾抗低氧胁迫能力。在高密度集约化的养殖条件下, 水体中溶氧是保证水产动物生长、存活的条件之一, 缺氧是水产动物经常遭受的不利的养殖条件之一, 影响动物行为和生理生化机制, 容易导致机体和细胞氧化损伤, 严重缺氧会导致水产动物的死亡。研究表明, 甲壳动物中虾类对低氧胁迫最为敏感^[49], 水温 28 °C 时, 溶氧不低于 0.6 mg/L 并不会造成细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)死亡, 而在低氧环境下暴露 100 min, 死亡率达到 50%^[15]。说明水中溶氧一旦到达窒息临界点就会加剧水产动物的死亡。在饲料中添加 10~100 mg/kg 桑叶黄酮可能通过提高机体抗氧化能力从而提高低氧胁迫条件下凡纳滨对虾的成活率, 其具体作用机制还需进一步研究。

4 结论

在饲料中添加桑叶黄酮对凡纳滨对虾生长性能和体成分没有显著性影响; 在饲料中添加桑叶黄酮可提高血清和肝胰腺总抗氧化能力, 降低血清肝胰腺丙二醛和脂质过氧化物的含量, 提高凡纳滨对虾抗氧化能力。以血清 T-AOC 为评价指标, 桑叶黄酮在凡纳滨对虾饲料中适宜添加量为 56.18 mg/kg。

参考文献:

- [1] Haddad A Q, Venkateswaran V, Viswanathan L, et al. Novel antiproliferative flavonoids induce cell cycle arrest in human prostate cancer cell lines[J]. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 2006, 9(1): 68-76.
- [2] Zhu W Z, Ma L, Li G R. Prevention and molecular mechanisms of flavonoids against cancer[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2012, 24(5): 444-449. [朱文振, 马龙, 李国荣. 黄酮类化合物的抗癌作用及作用机制[J]. *生命科学*, 2012, 24(5): 444-449.]
- [3] Grzesik M, Naparło K, Bartosz G, et al. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants[J]. *Food Chemistry*, 2018, 241: 480-492.
- [4] Eren-Guzelgun B, Ince E, Gurer-Orhan H. In vitro antioxidant/prooxidant effects of combined use of flavonoids[J]. *Natural Product Research*, 2018, 32(12): 1446-1450.
- [5] Assini J M, Mulvihill E E, Huff M W. Citrus flavonoids and lipid metabolism[J]. *Current Opinion in Lipidology*, 2013, 24(1): 34-40.
- [6] Jung U J, Lee M K, Park Y B, et al. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2006, 38(7): 1134-1145.
- [7] Seleem D, Pardi V, Murata R M. Review of flavonoids: A diverse group of natural compounds with anti-Candida albicans activity in vitro[J]. *Archives of Oral Biology*, 2017, 76: 76-83.
- [8] Zakaryan H, Arabyan E, Oo A, et al. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections[J]. *Archives of Virology*, 2017, 162(9): 2539-2551.
- [9] Guardia T, Rotelli A E, Juarez A O, et al. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat[J]. *Il Farmaco*, 2001, 56(9): 683-687.
- [10] Xiao P Z. Effect of dietary silymarin on lipid metabolism of grass carp (*Ctenopharygodon Idellus*)[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017. [萧培珍. 日粮中添加水飞蓟素对草鱼脂质代谢的影响及其机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.]
- [11] Liu S L. Effects of *Sophora* flavonoid levels on the growth and antioxidant capacity in hepatopancreas of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[D]. Xiamen: Jimei University, 2012. [刘淑兰. 不同水平槐属植物黄酮对罗非鱼生长及肝脏脏抗氧化能力的影响[D]. 厦门: 集美大学, 2012.]
- [12] Hu H B, Liu J T, Li Y X, et al. Effects of dietary daidzein on growth performance, activities of digestive enzymes, anti-oxidative ability and intestinal morphology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1503-1513. [胡海滨, 刘金桃, 李彦先, 等. 饲料中大豆黄酮对大菱鲆生长、消化酶活力、抗氧化力及肠道结构的影响[J]. *水产学报*, 2014, 38(9): 1503-1513.]
- [13] Yang J H, Chen B, Huang Y H, et al. Effects dietary mulberry flavonoids on growth performance, body composition, antioxidant indices and resistance to nitrite exposure of genetic improvement of farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(9): 3403-3412. [杨继华, 陈冰, 黄燕华, 等. 饲料中添加桑叶黄酮对吉富罗非鱼生长性能、体成分、抗氧化指标及抗亚硝酸盐应激能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(9): 3403-3412.]
- [14] Chen B, Yang J H, Cao J M, et al. Effects of dietary mulberry leaf flavonoids on muscle antioxidant indices and nutritional compositions of GIFT, *Oreochromis niloticus*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2018, 48(3): 90-95. [陈冰, 杨继华, 曹俊明, 等. 桑叶黄酮对吉富罗非鱼肌肉抗氧化指标及营养组成的影响[J]. *淡水渔业*, 2018, 48(3): 90-95.]
- [15] Mugnier C, Soyeux C. Response of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* to temperature decrease and hypoxia in relation to molt stage[J]. *Aquaculture*, 2005, 244(1-4): 315-322.
- [16] Zeng L, Wang Y H, Ai C X, et al. Effects of β -glucan on ROS production and energy metabolism in yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) under acute hypoxic stress[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2016, 42(5): 1395-1405.
- [17] Muqier, Qi S, Wang T, et al. Effects of flavonoids from *Allium mongolicum* Regel on growth performance and growth-related hormones in meat sheep[J]. *Animal Nutrition*, 2017, 3(1): 33-38.
- [18] Yu Z G, Xia D Q, Wu T T. Effects of daidzein on growth, hormone and physio-biochemical parameters levels in *Oreochromis aureus*[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2006, 26(2): 183-185. [余祖功, 夏德全, 吴婷婷. 大豆黄酮对奥利亚罗非鱼生长及相关激素水平、血液生化指标的影响[J]. *中国兽医学报*, 2006, 26(2): 183-185.]
- [19] Chen D, Jin Q Y. Effects of genistein on the growth and gene expressions of the growth axis in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Feed Industry*, 2016, 37(6): 32-37. [陈栋, 金秋燕. 金雀异黄素对尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 生长及生长轴相关基因表达的影响[J]. *饲料工业*, 2016, 37(6): 32-37.]
- [20] Chen D. The research of effects and mechanisms of dietary genistein on the growth of juvenile Nile tilapia, (*Oreochromis*

- niloticus*][J]. Qingdao: Ocean University of China, 2013. [陈栋. 金雀异黄素对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长的影响及其机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.]
- [21] Chen M, Fu G X, Dong J E, et al. Effects of rutin on growth performance, body composition, non-specific immunity and intestinal digestive enzyme activities of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(10): 4868-4876. [陈密, 付国香, 董娟娥, 等. 芦丁对草鱼生长性能、体成分、非特异性免疫力和肠道消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(10): 4868-4876.]
- [22] Guo H Y, Zhang Y J, Mai K S, et al. Influence of genistein on the growth performance, activities of digestive enzymes and intestinal morphology of *Scophthalmus maximus*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2014, 44(9): 30-36. [郭海燕, 张彦娇, 麦康森, 等. 染料木黄酮对大菱鲆生长、消化酶活力和肠道组织结构的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2014, 44(9): 30-36.]
- [23] Xiao F, Shen F, Yu X, et al. Effects of soy isoflavones on growth performance and diarrhea of Holstein calves[J]. Feed Industry, 2019, 40(21): 39-44. [肖凡, 沈菲, 余雄, 等. 饲料大豆异黄酮对荷斯坦牛生长性能及腹泻的影响[J]. 饲料工业, 2019, 40(21): 39-44.]
- [24] Zhang Q F, Fu Y J, Huang Z W, et al. Effects of flavonoids from *Rhizoma smilacis glabrae* on lipid metabolism and antioxidation status in mice[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(11): 8-15. [张清峰, 付莹娟, 黄占旺, 等. 土茯苓黄酮对高脂小鼠脂肪代谢及抗氧化水平的影响[J]. 现代食品科技, 2016, 32(11): 8-15.]
- [25] Peng C H, Liu L K, Chuang C M, et al. Mulberry water extracts possess an anti-obesity effect and ability to inhibit hepatic lipogenesis and promote lipolysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(6): 2663-2671.
- [26] Xiao P Z, Ji H, Ye Y T, et al. Dietary silymarin supplementation promotes growth performance and improves lipid metabolism and health status in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed diets with elevated lipid levels[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2017, 43(1): 245-263.
- [27] Xiao P Z, Yang Z, Sun J, et al. Silymarin inhibits adipogenesis in the adipocytes in grass carp *Ctenopharyngodon idellus* in vitro and in vivo[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2017, 43(6): 1487-1500.
- [28] Kamboh A A, Zhu W Y. Effect of increasing levels of bioflavonoids in broiler feed on plasma anti-oxidative potential, lipid metabolites, and fatty acid composition of meat[J]. Poultry Science, 2013, 92(2): 454-461.
- [29] Li D Q, Zhu J, Liang H, et al. Effects of ginkgo biloba extract on serum lipids and normal intestinal flora in experimental hyperlipidemia[J]. Journal of China Traditional Chinese Medicine Information, 2010, 2(2): 5-6. [李登清, 朱俊, 梁卉, 等. 银杏叶提取物对实验性高脂血症血脂水平及肠道正常菌群的影响[J]. 中国中医药咨讯, 2010, 2(2): 5-6.]
- [30] Feng L J, Yu C H, Ying K J, et al. Hypolipidemic and antioxidant effects of total flavonoids of *Perilla frutescens* leaves in hyperlipidemia rats induced by high-fat diet[J]. Food Research International, 2011, 44(1): 404-409.
- [31] Roza J M, Zheng X L, Guthrie N. Effect of citrus flavonoids and tocotrienols on serum cholesterol levels in hypercholesterolemic subjects[J]. Alternative Therapies in Health and Medicine, 2007, 13(6): 44-48.
- [32] Thilakarathna S H, Wang Y W, Rupasinghe H P V, et al. Apple peel flavonoid- and triterpene-enriched extracts differentially affect cholesterol homeostasis in hamsters[J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(4): 963-971.
- [33] Ouyang K H, Xu M S, Jiang Y, et al. Effects of alfalfa flavonoids on broiler performance, meat quality and gene expression[J]. Canadian Journal of Animal Science, 2016, 96(3): 332-341.
- [34] Chen L, Ma X B, Liang Y H, et al. Effects of persimmon leaf total flavonoid on enzyme of lipoprotein metabolism and antioxidation in hyperlipidemia rats[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2011, 9(1): 74-77. [陈丽, 马新博, 梁宇红, 等. 柿叶黄酮对高脂血症大鼠肝脂蛋白代谢相关酶活性及抗氧化能力的影响[J]. 中国天然药物, 2011, 9(1): 74-77.]
- [35] Yang J F, Guo Z H, Cai X B, et al. Physiological, biochemical, and immune effects of dietary soybean antigen proteins in the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(2): 322-332. [杨景丰, 郭子好, 蔡修兵, 等. 大豆抗原蛋白对罗氏沼虾生理生化及免疫的影响[J]. 中国水产科学, 2019, 26(2): 322-332.]
- [36] Temuqile. The study on effect of flavonoids from *Allium mongolicum* regel blood biochemical parameters and intestinal mucosal immune in meat sheep[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019. [特木其乐. 沙葱黄酮对肉羊血液生化指标和肠道黏膜免疫影响的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.]
- [37] Li Y X. Tolerance and safety evaluations of daidzein in gibel carp (*Carassais auratus gibelio*) and cobalt dichloride in turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[D]. Qingdao: Ocean Univer-

- sity of China, 2015. [李彦先. 大豆黄酮和氯化钴在养殖鱼类中的安全性评价[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.]
- [38] Li F F, Zhu T T, Zhang Y, et al. Soybean isoflavone: Effects on performance, blood physiological and biochemical indices and fecal microorganism flora of lactating sows[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(9): 2803-2810. [李方方, 朱涛涛, 张勇, 等. 大豆异黄酮对哺乳母猪生产性能、血液生理生化指标和粪便微生物菌群的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(9): 2803-2810.]
- [39] Hu Y M, Li Q, Liu S K, et al. Effects of acute temperature and salinity stress on the survival and immune indexes of Iwagaki oysters, *Crassostrea nippona*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(3): 286-294. [胡益鸣, 李琪, 刘士凯, 等. 温度和盐度急性胁迫对岩牡蛎存活及免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(3):286-294.]
- [40] Procházková D. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids[D]. Hradec Králové: Charles University in Prague, 2010.
- [41] Liu D Y, He S J, Jin E H, et al. Effect of daidzein on production performance and serum antioxidative function in late lactation cows under heat stress[J]. Livestock Science, 2013, 152(1): 16-20.
- [42] Li Y X, Yu H H, Xue M, et al. A tolerance and safety assessment of daidzein in a female fish (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Aquaculture Research, 2016, 47(4): 1191-1201.
- [43] Wang M Z. Effects of alfalfa flavonoids on rumen fermentation, growth performance and serum index of sheep[D]. Shihezi: Shihezi University, 2016. [王梦竹. 苜蓿黄酮对绵羊瘤胃发酵、生长性能和血液生化指标的影响研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2016.]
- [44] Qu G. Effects of alfalfa meal and alfalfa flavonoids on growth performance, immune indexes, antioxidant indexes and colon microflora of weaned piglets[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2018. [曲根. 苜蓿草粉和苜蓿黄酮对断奶仔猪生长性能、免疫及抗氧化性能、结肠微生物区系的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2018.]
- [45] Lin X J, Jiang S Q, Lin Z M, et al. Effects of soybean isoflavone and antibiotics on growth performance, meat quality and plasma antioxidant indexes of Wenchang chickens[J]. Journal of South China Agricultural University, 2018, 39(1): 1-6. [林厦菁, 蒋守群, 林哲敏, 等. 大豆异黄酮和抗生素对文昌鸡生长性能、肉品质和血浆抗氧化指标的影响[J]. 华南农业大学学报, 2018, 39(1): 1-6.]
- [46] Barnes S. The biochemistry, chemistry and physiology of the isoflavones in soybeans and their food products[J]. Lymphatic Research and Biology, 2010, 8(1): 89-98.
- [47] Dwiecki K, Neunert G, Polewski P, et al. Antioxidant activity of daidzein, a natural antioxidant, and its spectroscopic properties in organic solvents and phosphatidylcholine liposomes[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2009, 96(3): 242-248.
- [48] Lü X W, Hao Q, Chen Y Y, et al. Mango extractum additive promoting fish growth, Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering[J]. 2013, 29(18): 277-283. [吕小文, 郝倩, 陈业渊, 等. 饲料添加芒果叶黄酮浸膏促进鱼类生长[J]. 农业工程学报, 2013, 29(18): 277-283.]
- [49] Vaquer-Sunyer R, Duarte C M. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(40): 15452-15457.

Effects of dietary mulberry leaf flavonoids on growth performance, antioxidant indices, and anti-hypoxic stress ability of *Litopenaeus vannamei*

WANG Yongmei^{1,2,3,4}, CHEN Bing^{2,3,4}, WANG Guoxia^{2,3,4}, CAO Junming^{2,3,4}, HUANG Yanhua^{2,3,4}, MO Wenyan^{2,3,4}, PENG Kai^{2,3,4}, ZHAO Hongxia^{2,3,4}

1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;
2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510640, China;
4. Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of dietary mulberry leaf flavonoids on growth performance, serum biochemical parameters, antioxidant indices and anti-hypoxic stress ability of *Litopenaeus vannamei*. A total of 960 *L. vannamei* individuals (initial body weight: 1.32±0.01 g) were divided into 6 groups, with 4 replicates per group and 40 shrimp per replicates. Six diets were formulated to contain 0 mg/kg, 10 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg, and 300 mg/kg diet of mulberry leaf flavonoids. The trial ran for 50 days. The survival rate, growth related indicators, serum biochemical indexes, antioxidant index and resistance to hypoxia stress were determined. The results indicated that: (1) there were no significant differences in the survival rate (SR), weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), or feed conversion ratio (FCR) among the groups ($P>0.05$). WGR was highest in the 50 mg/kg group, 6.76% higher than the control group. (2) There were no significant effects on whole-body composition ($P>0.05$). (3) Adding 150 mg/kg and 300 mg/kg of mulberry leaf flavonoids to the diet significantly increased the activities of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the serum of *L. vannamei* ($P<0.05$). (4) Adding 10–300 mg/kg of mulberry leaf flavonoids to the diet significantly increased the total antioxidant capacity (T-AOC) in the serum and liver, and significantly decreased the malondialdehyde (MDA) and lipid peroxide (LPO) contents in the liver of *L. vannamei*. Adding 50 mg/kg mulberry leaf flavonoids significantly increased glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in the serum ($P<0.05$). (5) After 2 h of hypoxic stress, the cumulative mortality of the 10 mg/kg and 50 mg/kg groups were significantly lower than the control group, and after 4 h, the cumulative mortality of the 10 mg/kg, 50 mg/kg, and 100 mg/kg groups were significantly lower than the control group ($P<0.05$). In conclusion, the evaluative index of T-AOC in the serum and regression equation analyses showed that the optimal supplemental level of mulberry leaf flavonoids in the diet of *L. vannamei* was 56.18 mg/kg. Adding 10–100 mg/kg mulberry leaf flavonoids to the diet improved the anti-hypoxic stress ability of *L. vannamei*.

Key words: mulberry leaf flavonoids; *Litopenaeus vannamei*; growth performance; antioxidant; hypoxic stress

Corresponding author: CAO Junming, E-mail: junmcao@163.com; ZHAO Hongxia, E-mail: zhaohongxia8866@163.com