

DOI: 10.12264/JFSC2020-0339

银杏叶提取物对鲤生长性能、抗氧化功能和免疫相关基因表达的影响

何勤^{1, 2, 3}, 贾睿^{1, 2, 3}, 曹丽萍^{2, 3}, 杜金梁^{2, 3}, 顾郑琰¹, Galina Jeney^{3, 4}, 徐跑^{1, 2, 3}, 殷国俊^{1, 2, 3}

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与种质资源利用重点实验室, 江苏 无锡 214081;
3. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 鱼类免疫药理国际联合实验室, 江苏 无锡 214081;
4. 匈牙利水产与渔业研究所, 国家农业研究中心, 匈牙利 索尔沃什 5440

摘要: 为探讨日粮中添加不同水平的银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* extract, GBE)对鲤(*Cyprinus carpio*)生长性能、血清生化指标、抗氧化功能、细胞色素酶以及免疫相关基因表达的影响, 在基础饲料中分别添加不同含量的银杏叶提取物[0 (对照组)、0.5 g/kg、1.0 g/kg、5.0 g/kg]投喂鲤 60 d。饲喂实验结束后, 称重并采集血液、肝脏、肠道、鳃和肌肉组织, 检测相关生化指标以及基因表达的变化。结果表明: 与对照组相比, 饲料中添加不同水平 GBE 对鲤生长性能和饵料系数均未产生显著影响($P>0.05$)。血清生化数据显示: 饲料中添加 GBE 显著提高了总蛋白(TP)含量, 而降低了葡萄糖(Glu)和皮质醇(cortisol)水平($P<0.05$), 但对总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)含量无显著影响($P>0.05$)。抗氧化参数表明: 与对照组相比, 日粮中添加 GBE 对血清、肝脏、肠道、鳃和肌肉中丙二醛(MDA)含量无显著影响($P>0.05$), 但肝脏中总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性、以及还原型谷胱甘肽(GSH)含量均显著升高。同时, 1.0 g/kg GBE 显著提高了肠道和鳃 T-AOC 含量($P<0.05$); 5.0 g/kg GBE 显著提高了鳃 GSH 含量($P<0.05$)。基因表达结果显示: 与对照组相比, 饲料中添加 GBE 能显著诱导肝脏和肠道中 *cyp3a* 基因表达, 而下调 *cyp1a* 和 *cyp1b* 基因表达; 同时, 肝脏和肠道中免疫相关基因(*c3* 和 *c-lyz*)表达量在 1.0 g/kg GBE 添加组中显著上调($P<0.05$)。综上所述, GBE 作为饲料添加剂不能改善鲤的生长性能和饵料系数, 但可以增强鲤的抗应激、抗氧化能力和免疫相关基因的表达, 并且未对鲤产生肝毒性, 鲤饲料中 GBE 建议添加量为 1.0 g/kg。

关键词: 鲤; 银杏叶提取物; 生长性能; 血清生化指标; 抗氧化能力; 基因表达

中图分类号: S941; S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)03-0326-11

集约化水产养殖模式下, 鱼类不可避免的受到多种应激因素的影响, 提高了鱼类感染疾病的风险, 威胁着鱼类的生长及存活^[1]。在养殖过程中, 为了降低鱼类感染疾病的风险, 抗生素等化学药物常被过度使用。抗生素等化学药物的滥用, 一方面, 会导致药物在水生生物体内残留, 造成食

品安全问题; 另一方面, 也使病原体产生抗药性, 不利于养殖业的可持续发展^[2]。随着人们对食品的质量和安全性要求日益严格, 绿色无污染的水产品更受青睐, 因此研发和应用高效、健康和环境友好型的植物饲料添加剂是推进水产养殖可持续发展的关键措施之一^[3]。

收稿日期: 2020-10-19; 修订日期: 2020-12-03。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31702318); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2019JBFM10, 2019JBFM11)。

作者简介: 何勤(1994-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产养殖. E-mail: 495385720@qq.com

通信作者: 贾睿, 副研究员, 专业方向为水产养殖, E-mail: jiar@ffrc.cn; 殷国俊, 研究员, 专业方向为水产养殖, E-mail: yingj@ffrc.cn

银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* extract, GBE)为银杏科植物银杏的干燥叶提取物, 广泛应用于医药、保健品、食品和化妆品等领域, 是现代植物药(中成药)开发应用最成功的案例之一^[4]。银杏叶提取物主要活性成分为黄酮类和萜内酯类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗应激、保肝和免疫调节等多种有益功能^[5]。在畜禽养殖中, GBE 作为饲料添加剂已被广泛报道^[6-7]。但在水生动物中, GBE 的研究与应用尚处于初级阶段。研究表明, 日粮中添加 0.125% 或 0.250% 的发酵银杏叶可有效改善团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)幼鱼的脂肪代谢和肌肉品质, 提高团头鲂幼鱼的肠道消化酶活性以及免疫、抗氧化和抗嗜水气单胞菌能力^[8]。高脂饲料中补充银杏叶提取物具有改善杂交石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*♂ × *Epinephelus fuscoguttatus*♀)肝脏抗氧化能力、维持肝脏结构和功能正常以及降低血脂的功效, 同时可以提高头肾中免疫相关基因和减少凋亡相关基因的表达^[9]。这些研究表明, GBE 可成为一种潜在的鱼类饲料添加剂。

鲤(*Cyprinus carpio*)是我国分布(养殖和野生)最广泛的一种鱼类, 常用于鱼类生理学、毒理学和发育生物学的研究^[10]。但迄今为止, 关于 GBE 对鲤影响的研究尚未报道。因此, 本研究以鲤为研究对象, 评价饲料中添加不同含量的 GBE 对鲤生长性能、血清生化指标、抗氧化能力和细胞色素酶以及免疫相关基因表达的影响, 为 GBE 在鲤养殖中的应用提供理论依据和借鉴。

1 材料与方法

1.1 实验材料与日粮

实验鲤[体重(35.0±4.5) g]来自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 选择个体健康、大小一致的鲤 300 尾, 随机分配至 15 个相同的玻璃缸中(120 m×40 m×50 m, 有效水体体积 230 L), 每缸 20 尾, 在循环水系统中暂养 14 d 以适应实验环境[水温(25±2) °C, pH 6.9~7.6, 溶解氧>5.0 mg/L, 氨氮浓度<1.0 mg/L]。暂养期间水体持续曝气并投喂基础饲料, 每天 2 次(9:00 和 15:00), 每天投喂量大约为体重的 2%。

各组饲料配方及营养组成如表 1 所示。银杏叶提取物(GBE, CAS: 90045-36-6)购自上海麦克林生化科技有限公司, 采用有机溶剂提取法制备(根据中国药典标准), 每 100 g 银杏叶提取物含黄酮醇苷 26.0 g, 银杏内酯 6.9 g, 热稳定性良好。首先配制基础饲料, 然后将银杏叶提取物粉末分别按 0 g/kg、0.5 g/kg、1.0 g/kg 和 5.0 g/kg 的添加量均匀添加到基础饲料中, 确保各组间饲料的等氮等能作用。

1.2 实验设计及饲养管理

饲养实验在循环水养殖系统中进行, 将暂养后的鲤(240 尾)称重, 按实验设计随机分为 4 组, 分别投喂含 GBE (0 g/kg、0.5 g/kg、1.0 g/kg 和 5.0 g/kg)的试验饲料, 饲喂 60 d。每组设 3 个平行重复(3 个缸), 每个缸 20 尾鱼, 每日饱食投喂 2 次(9:00 和 15:00), 以不留残饵为准。试验期间水体持续曝气, 每隔 2 天吸污 1 次并换 1/5 清水, 水体环境与暂养期间保持一致。试验结束后, 所有鱼麻醉、称重, 然后每组随机选取 10 尾鱼, 采集血液、肝脏、鳃、肠道和肌肉, 并分离血清、制备组织匀浆, 然后储存在-80 °C, 备用。

1.3 指标测定

1.3.1 生长性能指标 饲喂试验期间, 所有试验组均未出现鲤死亡, 取样前停食 1 d, 麻醉后逐尾称重, 根据以下公式计算:

$$\text{增重率}(\text{weight gain rate, WGR, } \%) = \frac{(W_1 - W_0)}{W_1} \times 100\%$$

$$\text{特定生长率}(\text{specific growth rate, SGR, } \%) = \frac{(\ln W_1 - \ln W_0)}{T} \times 100\%$$

饵料系数(feed conversion ratio, FCR)= $W_2/(W_1 - W_0)$ 式中, W_0 为鱼初均体重(g), W_1 为鱼终均体质量(g), T 为饲喂时间(d), W_2 为每尾鱼平均摄食量(g)。

1.3.2 生化指标测定 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、葡萄糖(Glu)、总蛋白(TP)、还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)和总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒购自于南京建成生物工程研究所; 丙二醛(MDA)和过氧化氢酶(CAT)指标测定采用碧云天生物公司试剂盒; 皮质醇(cortisol)和乳酸(LA)指标采用上海

表 1 实验饲料组成与营养水平
Tab. 1 Formation and nutrient of the experimental diets

原料成分/(g/kg) ingredient	饲料 GBE 水平/(mg/kg) dietary GBE level				DW
	0	0.5	1.0	5.0	
鱼粉 fish meal	100	100	100	100	
次粉 wheat middling	230	230	230	230	
米糠 rice bran	74	74	74	74	
大豆粕 soybean meal	140	140	140	140	
棉籽粕 cotton seed meal	140	140	140	140	
菜籽粕 rape seed meal	194	194	194	194	
玉米胚芽粕 corn gern meal	50	50	50	50	
维生素预混料 ¹ vitamin premix ¹	10	10	10	10	
矿物质预混料 ² mineral premix ²	10	10	10	10	
大豆油 soybean oil	25	25	25	25	
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄)	10	10	10	10	
羧甲基纤维素钠 carboxymethylcellulose sodium	10.0	9.5	9.0	5.0	
氯化胆碱 choline chloride	1	1	1	1	
银杏叶提取物 GBE	0	0.5	1.0	5.0	
氯化钠 sodium chloride	6	6	6	6	
合计 total	1000	1000	1000	1000	
营养成分 nutrition composition					
粗蛋白/% crude protein	32.3	32.3	32.3	32.3	
粗脂肪/% ether extract	5.3	5.3	5.3	5.3	
粗灰分/% ash	5.4	5.4	5.4	5.4	

注: 1. 每 kg 饲料含维生素: 维生素 A 5000 IU; 维生素 B₁ 10 mg; 维生素 D₃ 1000 IU; 维生素 B₂ 10 mg; 维生素 B₁₂ 0.02 mg; 维生素 E 50 mg; 维生素 B₆ 4 mg; 甲萘醌 2 mg; 泛酸 20 mg; 叶酸 1 mg; 烟酸 20 mg; 肌醇 100 mg; 生物素 0.2 mg; 维生素 C 200 mg; 2. 每 kg 饲料含矿物质: 铁 100 mg; 锌 80 mg; 锰 8 mg; 镁 100 mg; 铜 3 mg; 碘 0.3 mg; 钴 0.05 mg; 硒 0.1 mg.

Note: 1. Vitamins supplied per kg of diet: VA 5000 IU; VB₁ 10 mg; VD₃ 1000 IU; VB₂ 10 mg; VB₁₂ 0.02 mg; VE 50 mg; VB₆ 4 mg; VK₃ 2 mg; pantothenic acid 20 mg; folic acid 1 mg; niacin 20 mg; inositol 100 mg; biotin 0.2 mg; VC 200 mg; 2. Minerals supplied per kg of diet: Fe 100 mg; Zn 80 mg; Mn 8 mg; Mg 100 mg; Cu 3 mg; I 0.3 mg; Co 0.05 mg; Se 0.1 mg.

酶联生物科技有限公司试剂盒。上述生化指标测定按照相应的试剂盒说明书进行。

1.3.3 荧光定量 PCR(qPCR)检测 取鲤肝、肠、鳃和肌肉组织适量, 利用 RNAiso Plus (TaKaRa, 大连)试剂 1 mL 提取各组织总 RNA。测定其 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值(1.7~2.0), 并计算其 RNA 浓度。取适量 RNA 使用 PrimeScriptTM RT 试剂(TaKaRa, 大连)进行反转录合成 cDNA, 储存在-80 °C 中备用。

依照试剂盒操作说明, 利用 BeyoFastTM SYBR Green qPCR Mix (2×) (碧云天)试剂盒进行实时荧光定量 PCR。反应体系为 20.0 μL: BeyoFastTM SYBR Green qPCR Mix (2×) 10.0 μL, 上、下游引物各 1.0 μL, RNase-free water 6.0 μL, cDNA 模板 2.0 μL。反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火延伸 30 s, 进行 40 个循环。以

β -actin 基因作为内参进行标准化 C_q 值, 并应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法^[11]计算目标基因的相对表达量。目标基因特异性引物见表 2。

1.4 数据统计与分析

所有数据用平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示, 并使用 SPSS 22.0 软件包进行分析。使用单因素方差分析(one-way ANOVA)结合 Duncan 多重检验分析各组间数据的差异性, $P < 0.05$ 被确认为具有显著性。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加 GBE 对鲤生长性能的影响

如表 3 所示, 饲喂 60 d 后, 与对照组(0 g/kg)相比, 目粮 GBE 水平对鲤相对增重率、特定生长率以及饵料系数均无显著影响($P > 0.05$)。

2.2 饲料中添加 GBE 对鲤血清生化指标的影响

为了评价 GBE 对鲤生理状态的影响, 检测了血清中 TC、TG、Glu、cortisol、LA、ACP、AKP、ALT、AST 和 TP 水平(表 4)。从表 4 中可见, 与对照组相比, 0.5 g/kg、1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添

加组的血清葡萄糖(Glu)浓度显著降低($P<0.05$); cortisol 含量在 0.5 g/kg、1.0 g/kg GBE 添加组中显著下降($P<0.05$)。此外, 1.0 g/kg GBE 显著提高了血清 TP 含量($P<0.05$)。而 TC、TG、LA、ACP、AKP、ALT 和 AST 水平在 3 个 GBE 添加组中均

表 2 荧光定量引物

Tab. 2 The sequences of primers in real-time quantitative PCR

引物名称 primer	引物序列(5'-3') primer sequence	基因序列号 GenBank number
c-lyz-F	ATGAAGGTGACTATTGCTGTCTTG	AB027305.1
c-lyz-R	GCCAACTGAGAATCCCTCAAAG	
c3-F	GATTGCTATGCAGGAGGCCA	AB016211.1
c3-R	TCATCGAACACAGCGTAAGGAA	
cyp1a-F	AGATCGGAATGGACCGAACG	AB048939.1
cyp1a-R	GAAGGACGAATGGCGGAAGA	
cyp3a-F	ACAATCTGGCAACCAACCCA	GU046696.1
cyp3a-R	CTTCATAGTCCACCAGGAGCC	
cyp1b-F	CATGACCCGACCAAATGGGA	AB048942.2
cyp1b-R	CCAGCAAGGAGGTGAAGAGG	
β-actin-F	AGCACGGTATTGTCACCAACT	M24113.1
β-actin-R	AGTCGCCAGCCAAAAACCA	

表 3 日粮 GBE 水平对鲤生长指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary GBE on growth the index of *Cyprinus carpio* $n=60; \bar{x} \pm SE$

指标 index	饲料 GBE 水平/(mg/kg) dietary GBE level			
	0	0.5	1.0	5.0
初体质量/g initial body weight	41.86±1.42	43.74±1.76	44.91±1.01	47.98±1.75
终体质量/g final weight	82.47±4.01	84.27±3.28	86.39±2.91	89.82±3.74
相对增重率/% RWR	96.84±4.42	92.06±3.43	91.50±3.52	87.17±4.26
特定生长率/(%/d) SGR	1.13±0.07	1.09±0.09	1.08±0.06	1.04±0.09
饵料系数 FCR	1.81±0.12	1.86±0.09	1.82±0.13	1.79±0.16

表 4 日粮 GBE 对鲤血清常规生化指标的影响

Tab. 4 Effects of dietary GBE on serum biochemical indexes of *Cyprinus carpio* $n=10; \bar{x} \pm SE$

指标 index	饲料 GBE 水平/(mg/kg) dietary GBE level			
	0	0.5	1	5
总胆固醇/(mmol/L) TC	4.61±0.27	5.18±0.13	5.02±0.17	4.70±0.27
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.71±0.02	0.76±0.03	0.71±0.02	0.78±0.02
葡萄糖/(mmol/L) Glu	6.34±0.13 ^a	4.81±0.45 ^b	4.92±0.61 ^b	4.27±0.31 ^b
皮质醇/(ng/mL) cortisol	47.26±0.78 ^a	36.16±1.68 ^b	37.45±1.94 ^b	44.94±2.02 ^a
乳酸/(mmol/L) LA	1.68±0.04	1.69±0.11	1.58±0.03	1.64±0.09
酸性磷酸酶/(金氏单位/100L) ACP	2.76±0.03	2.55±0.07	2.75±0.06	2.62±0.15
碱性磷酸酶/(金氏单位/100L) AKP	3.69±0.18	3.46±0.12	3.81±0.08	3.79±0.12
谷丙转氨酶/(IU/L) ALT	3.69±0.18	3.46±0.12	3.81±0.08	3.79±0.12
谷草转氨酶/(IU/L) AST	14.73±1.33	16.13±1.55	17.17±2.83	15.28±1.56
总蛋白/(mg/mL) TP	15.07±0.76 ^a	16.75±0.98 ^a	19.09±0.63 ^b	17.47±0.33 ^{ab}

注: 同行数据上标不同字母表示组间存在显著差异($P<0.05$)。

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

无显著性差异($P>0.05$)。

2.3 饲料中添加 GBE 对鲤不同组织抗氧化指标的影响

GBE 添加对鲤血清、肝脏、肠道、鳃和肌肉中抗氧化指标影响如图 1 所示。在血清中(图 1A),与对照组相比,0.5 g/kg、1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 显著提高了 CAT 活性($P<0.05$); T-AOC 含量和

SOD 活力仅在 1.0 g/kg GBE 添加组中显著升高($P<0.05$);而 GSH 和 MDA 含量在各组中均无显著差异($P>0.05$)。

肝脏中(图 1B),GBE 显著的改变了 CAT、GSH、T-AOC 和 SOD 活力或含量。与对照组相比, CAT 活性和 T-AOC 分别在 0.5 g/kg 和 1.0 g/kg GBE 添加组中被显著提高($P<0.05$); GSH 含量在 3 个添

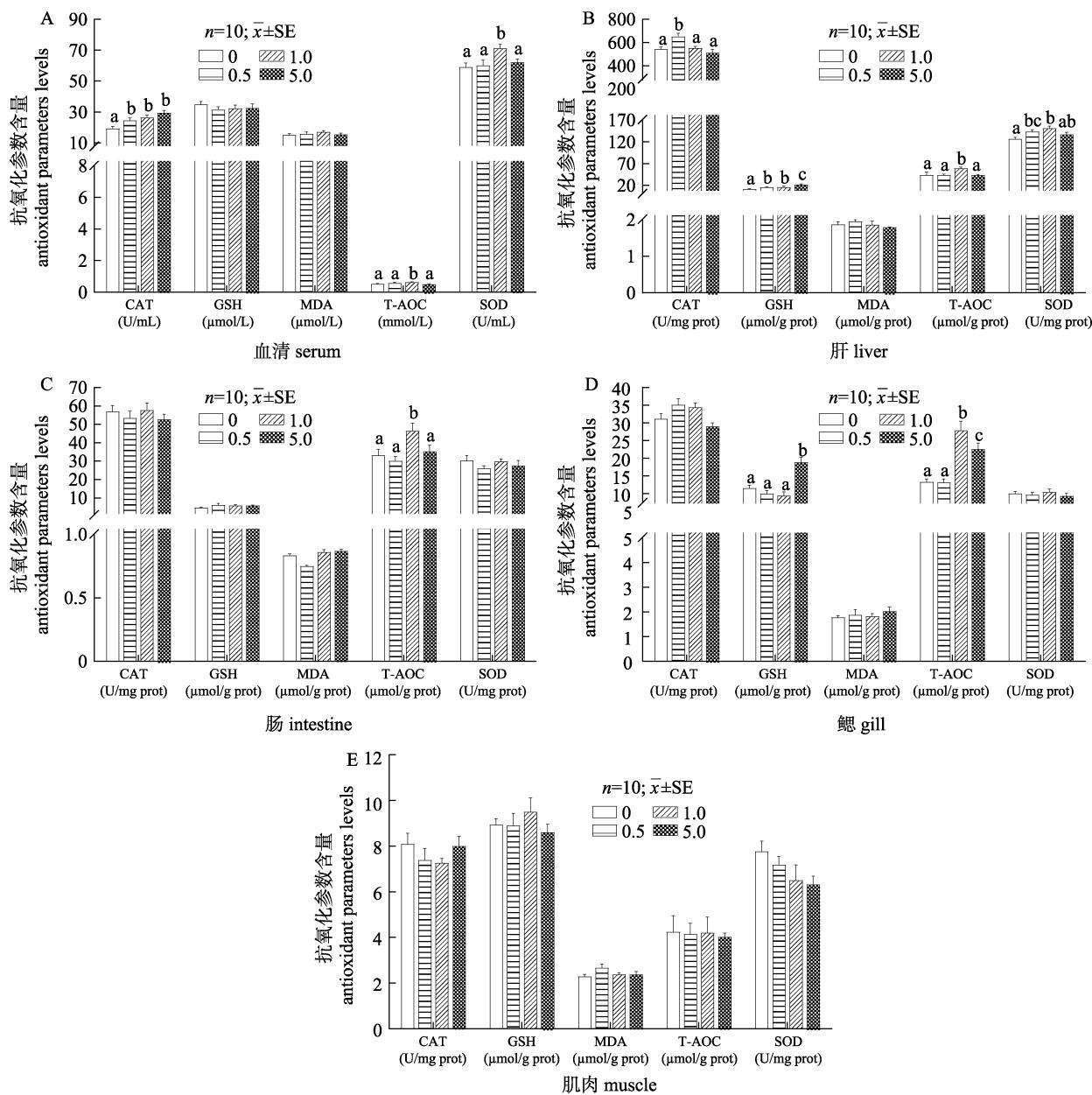


图 1 日粮 GBE 对鲤不同组织抗氧化指标的影响

A. 血清; B. 肝; C. 肠; D. 鳃; E. 肌肉。在每个参数中, 不同的上标字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

Fig. 1 Effects of dietary GBE levels in different tissues antioxidative indexes of *Cyprinus carpio*

A. Serum; B. liver; C. intestine; D. gill; E. muscle. Different superscript letters for each parameter indicate significant differences ($P<0.05$).

加组中均显著升高($P<0.05$); SOD 活性在 0.5 g/kg 和 1.0 g/kg GBE 添加组中显著提高($P<0.05$); 而 MDA 含量在各试验组中均无显著变化($P>0.05$)。

肠道中(图 1C), T-AOC 含量仅在 1.0 g/kg GBE 添加组中显著升高($P<0.05$)。但 GBE 对 CAT、GSH、SOD 和 MDA 含量无显著影响($P>0.05$)。

鳃组织中(图 1D), 1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 显著提高了 T-AOC 含量($P<0.05$); 1.0 g/kg GBE 显著提高了 GSH 含量($P<0.05$); 而 CAT、SOD 和 MDA 水平在各组中均无显著差异($P>0.05$)。

肌肉中(图 1E), 日粮 GBE 对 CAT、GSH、

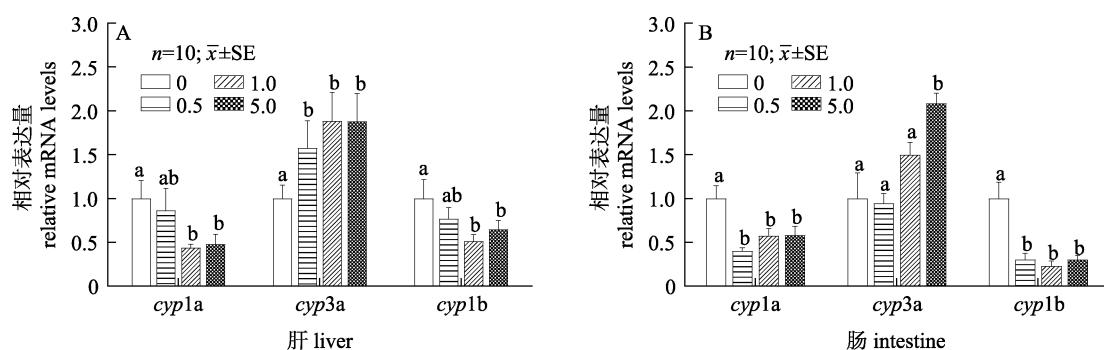


图 2 不同 GBE 水平对鲤肝(A)和肠(B)中 *cyp1a*、*cyp3a* 和 *cyp1b* 基因表达的影响

在每个参数中, 不同的上标字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

Fig. 2 Effects of dietary GBE on the mRNA levels of *cyp1a*, *cyp3a* and *cyp1b* in the liver (A) and intestine (B) of *Cyprinus carpio*
Different superscript letters for each parameter indicate significant differences ($P<0.05$).

在肠道中(图 2B), 与对照组相比, 在 0.5 g/kg、1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添加组中, *cyp1a* 和 *cyp1b* 表达量均显著下降($P<0.05$); 相反, *cyp3a* 表达量呈上调趋势, 并在 5.0 g/kg GBE 添加组出现显著升高($P<0.05$)。

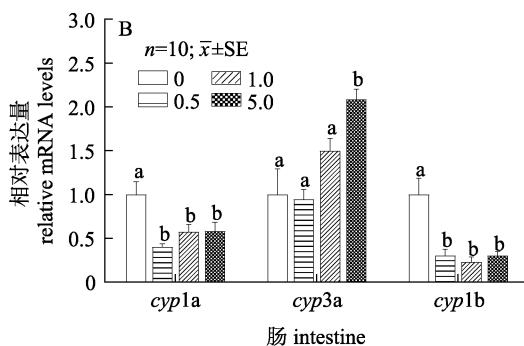
2.5 饲料中添加 GBE 对鲤免疫相关基因表达的影响

GBE 对鲤各组织免疫相关基因表达影响见图 3。与对照组相比, 肝中(图 3A)补体(*c3*)表达量在 1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添加组显著上调($P<0.05$), 溶菌酶(*c-lyz*)基因表达仅在 1.0 g/kg GBE 添加组显著升高($P<0.05$)。肠道中(图 3B), *c-lyz* 相对表达量在 1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添加组显著上调($P<0.05$), 而 *c3* 仅在 1.0 g/kg GBE 添加组中被显著提高。鳃和肌肉组织中(图 3C, 图 3D), *c3* 和 *c-lyz* 相对表达量在各组间均无显著性差异($P>0.05$)。

T-AOC、SOD 和 MDA 水平均无显著影响($P>0.05$)。

2.4 饲料中添加 GBE 对肝脏和肠道中细胞色素 P450 酶基因表达的影响

GBE 明显影响了鲤肝脏和肠道组织中细胞色素酶基因(*cyp1a*、*cyp3a* 和 *cyp1b*)的表达(图 2)。在肝脏中(图 2A), 随着 GBE 含量升高, *cyp1a* 表达量不断下调, 并在 1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添加组出现显著下降($P<0.05$); 而 *cyp3a* 表达量呈相反的趋势, 并在 0.5 g/kg、1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添加组处出现显著升高($P<0.05$); *cyp1b* 表达量在 1.0 g/kg 和 5.0 g/kg GBE 添加组显著降低($P<0.05$)。



3 讨论

3.1 饲料中添加 GBE 对鲤生长性能的影响

中草药提取物中富含蛋白质、糖类、氨基酸和微量元素等营养物质, 因此具有诱食、促生长、抗氧化和增强免疫等有益功效, 作为饲料添加剂被广泛关注^[12]。据报道, 饲料中添加银杏叶提取物能显著改善肉仔鸡^[13]和断奶仔猪^[14]的生长性能。日粮中添加发酵银杏叶有效改善团头鲂幼鱼的增重率和特定生长率, 并显著降低饵料系数^[8]。但是, 在本研究结果中, 日粮 GBE 对鲤的生长性能和饵料系数无显著影响。许维唯等^[15]研究表明饲料中添加发酵银杏叶不能改善斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的生长性能, 但可以提高其肝脏抗氧化能力, 与本结果一致。同时, 饲料中添加小果咖啡(*Coffea arabica*)^[16]和柳叶草(*Epilobium hirsutum*)^[17]提取物对鲤的生长也无显著促进作

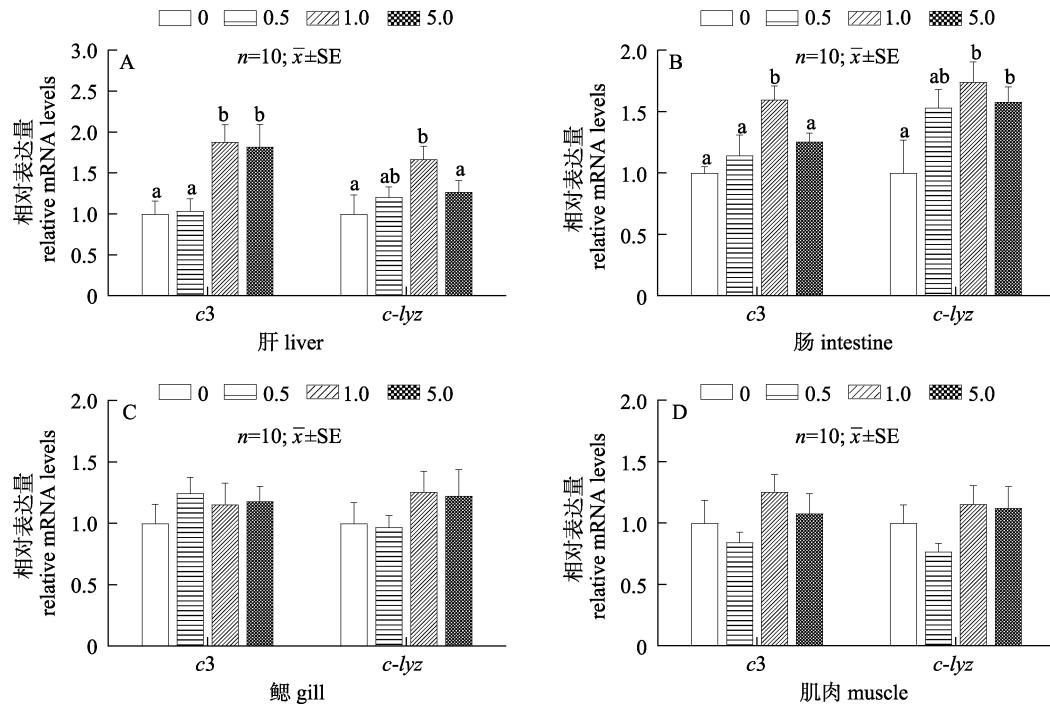


图 3 不同 GBE 水平对鲤肝(A)、肠(B)、鳃(C)和肌肉(D)组织中 *c3* 和 *c-lyz* 基因表达的影响
在每个参数中，不同的上标字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

Fig. 3 Effects of dietary GBE on the mRNA levels of *c3* and *c-lyz* in the liver (A), intestine (B), gill (C) and muscle (D) of *Cyprinus carpio*
Different superscript letters for each parameter indicate significant differences ($P<0.05$).

用。这些结果表明，植物提取物对动物生长性能的影响可能与植物种类、植物提取物组分、提取方法以及动物物种差异相关。

3.2 饲料中添加 GBE 对鲤常规血清生化指标的影响

血清生化指标可以反映机体生理状态和物质代谢水平^[18]，可评估日粮添加 GBE 条件下鲤的健康状况。血清中血糖、cortisol 和 LA 含量可以评估鱼类抗应激能力，研究表明机体处于急性或慢性应激状态下，血清中 Glu、cortisol 和 LA 含量会显著升高^[19-20]。注射和投喂刺五加提取物均能显著降低鲫(*Carassius auratus*)血清中皮质醇水平，提高鱼体抗应激能力以及维持机体功能相对稳定^[21]。本研究结果表明，饲料中添加 0.5 g/kg 和 1.0 g/kg GBE 显著降低了鲤血清中 Glu 和 cortisol 含量，而 LA 含量无明显变化，表明鲤未出现明显的应激反应，并且饲料中添加 GBE 能一定程度提高鲤抗应激能力。

肝是鱼类主要的代谢器官，易受到多种毒物

的损伤。AST 和 ALT 是肝中最关键的转氨酶，当肝细胞受到损伤时会进入血液中，因此血清中 AST 和 ALT 活性可以反映肝健康状态^[22]。以前的研究表明，基础日粮中添加 0.5% 银杏叶提取物能增加鲤血清中 TP 含量，但对 AST 和 ALT 活性无显著影响^[23]。本研究结果显示，日粮添加 GBE 能提高血清中 TP 含量，而 ALT 和 AST 活性无显著变化，与上述结果一致。另外，TC 和 TG 是分析鱼类脂类代谢的重要指标，可以一定程度上揭示肝的健康程度，肝受到损伤时血清中 TC 和 TG 含量往往会升高^[24]。Tan 等^[9]在高脂饲料中添加银杏叶提取物显著降低了杂交石斑鱼血浆中 TC 和 TG 含量，并减少了脂肪在肝和腹内的累积。我们的结果表明，日粮 GBE 水平对血清中 TC 和 TG 含量无显著影响，可能是本次实验饲料蛋白质、脂肪和碳水化合物等营养物质配比适宜，因此未出现显著变化。

3.3 饲料中添加 GBE 对鲤抗氧化性能的影响

氧化应激普遍存在于各种应激反应中，与多

种疾病密切相关, 因此增强机体抗氧化防御能力对鱼类的健康生长有着重要意义^[25]。本研究通过采集鲤血清、肝、肠、鳃和肌肉进行生化指标测定以全面评估 GBE 对不同组织抗氧化性能的影响。MDA 是脂质过氧化的最终产物, 其含量变化间接反映了鱼体细胞受活性氧和自由基攻击的程度^[26]。SOD、CAT、T-AOC 和 GSH 是机体抗氧化系统(酶类和非酶类)的重要组成部分, 可以有效清除和平衡内源性过量 ROS, 在维持机体氧化和抗氧化的动态平衡状态中起关键作用^[27-28]。以前的研究表明, GBE 在体内和体外都具有抗氧化作用, 并且对羟基自由基和超氧阴离子具有很强的清除效果^[29]。任小杰等^[30]研究表明, 饲粮中添加 GBE 显著提高了肉仔鸡血清和肝中 SOD 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性, 但对 MDA 含量无显著影响。孙翰昌^[23]在鲫鱼日粮中补充 GBE 能显著提高血清中 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性, 而 MDA 含量显著低于对照组。Tan 等^[9]在杂交石斑鱼的高脂饲料中添加 0~5 g/kg GBE 能显著提高肝脏抗氧化酶 SOD、CAT 和 T-AOC 活性, 降低机体 MDA 含量。本研究结果表明, 与对照组相比, 鲤日粮中添加 GBE 对血清、肝、肠道、鳃和肌肉中 MDA 含量无显著影响, 但肝中 SOD、CAT、T-AOC 和 GSH 水平均显著升高, 并且血清、肠道和鳃中各抗氧化活性成分也有不同程度的提高, 表明 GBE 可以提高鲤抗氧化能力, 而不影响 MDA 的形成。

3.4 饲料中添加 GBE 对鲤细胞色素酶基因表达的影响

细胞色素 P450 酶(CYP450)是动物体内重要的外源性和内源性物质代谢酶, 在肝脏和肠道含量丰富, 其活性的变化可以反映药物的治疗效果和毒性效应^[31]。CYP1a、CYP1b 和 CYP3a 是主要的 3 个亚族, 在多种化合物(包括药物)的代谢、催化以及毒性转化过程中起关键作用^[32]。研究发现, CYP450 在药物的转化过程中主要完成 I 期反应, 使药物的极性增加以及水溶性升高从而排出体外, 并且其活性被多种药物抑制或诱导^[33]。在本研究中, GBE 对肝和肠中 cyp3a 表达有明显的诱导效果, 并且呈明显的剂量效应, 这可能是银杏叶提

取物中的银杏黄酮和银杏内酯类活性成分共同作用的结果, 与鲫^[34]中的结果一致。研究表明, CYP1b 与氧化应激密切相关, 机体内 ROS 过度产生会诱导 cyp1b 基因的表达, 而抑制 cyp1b 基因的表达能减轻机体受到的氧化损伤^[35-36]。本研究结果表明, 肝和肠中 cyp1a 和 cyp1b 表达量均显著下调, 与上述结果一致, 这可能与 GBE 的抗氧化和清除自由基能力有关。

3.5 饲料中添加 GBE 对鲤不同组织免疫相关基因表达的影响

鱼类属于变温和低等动物, 因此更依赖于非特异性免疫系统来抵抗外界不利因素的侵袭。溶菌酶(C-lyz)和补体 3(C3)是主要的免疫指标, 具有抗菌、抗病毒和抗炎等特性, 在鱼类非特异免疫过程中发挥重要作用, 其活性的高低能间接反应机体免疫功能状况和抗感染能力^[37]。利用中草药提高水产动物免疫功能的研究已被广泛的报道, Yuan 等^[38]研究发现, 鲤腹腔注射黄芪多糖能显著诱导脾脏和鳃组织中 c-lyz 基因表达, 并对机体起到一定的免疫保护作用。日粮中添加 7.5% 杜仲粉能显著诱导青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 肝、肾组织中 c3 表达, 增强其免疫功能^[39]。GBE 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* C₅₆₀₂₃)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli* C₈₃₉₀₁)和链球菌(*streptococcus* C₅₅₁₃₈)均具有良好的抑菌效果, 并且能增强小鼠的免疫功能^[40]。在本研究结果中, 日粮中添加 1.0 g/kg GBE 能显著诱导肝和肠中 c-lyz 和 c3 基因的相对表达, 而鳃和肌肉中 c-lyz 和 c3 表达量在各个处理组中差异均不显著。这些结果表明, GBE 能诱导免疫相关基因(c-lyz、c3)的表达, 增强机体免疫能力, 同时具有组织差异性。

4 结论

日粮中添加 0~5.0 g/kg GBE 对鲤的生长性能未产生影响, 但可不同程度的增强鲤抗应激和抗氧化能力。同时, 饲料中添加 GBE 能显著诱导肝和肠组织中免疫相关基因(c3 和 c-lyz)的表达, 增强机体免疫能力。此外基于本研究结果, 在饲料中添加 1.0 g/kg GBE 效果较好。

参考文献：

- [1] Tort L. Stress and immune modulation in fish[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2011, 35(12): 1366-1375.
- [2] Zhang Q, Yu H R, Tong T, et al. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus* and its disease resistance against *Vibrio vulnificus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 38(1): 7-14.
- [3] Citarasu T. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry[J]. *Aquaculture International*, 2010, 18(3): 403-414.
- [4] Xu Y F, Zhang L J, Song X B. Advances in research on extract of *Ginkgo biloba* leaves[J]. *Drug Evaluation Research*, 2010, 33(6): 452-456. [徐艳芬, 张丽娟, 宋新波. 银杏叶提取物的研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(6): 452-456.]
- [5] Shao J P, Wang B C, Chen X, et al. Advanced research on pharmacology value of the extracts of *Ginkgo biloba* leaves [J]. *Journal of Chongqing University (Natural Science Edition)*, 2003, 26(1): 130-134. [邵继平, 王伯初, 陈欣, 等. 银杏叶提取物药用价值的研究进展[J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2003, 26(1): 130-134.]
- [6] Huang Q C, Chen T, Zheng X T, et al. Modulatory effects of *Ginkgo biloba* extract on duodenum mucosal immunity of broilers[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2011, 39(11): 25-30. [黄其春, 陈彤, 郑新添, 等. 银杏叶提取物对肉仔鸡十二指肠黏膜免疫的调节作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(11): 25-30.]
- [7] Tang S Q, Liang G T, Dong X Y. Extract of *Ginkgo biloba*: Biological functions and applications in poultry breeding[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(4): 606-611. [唐胜球, 梁桂桃, 董小英. 银杏叶提取物生物学功能及其在家禽养殖中的应用[J]. 动物营养学报, 2012, 24(4): 606-611.]
- [8] Lu Y. Studies on application of fermented *Ginkgo*-leaves in artificial feed of juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2015. [逯岩. 发酵银杏叶在团头鲂幼鱼饲料中的应用研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2015.]
- [9] Tan X H, Sun Z Z, Liu Q Y, et al. Effects of dietary *Ginkgo biloba* leaf extract on growth performance, plasma biochemical parameters, fish composition, immune responses, liver histology, and immune and apoptosis-related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) fed high lipid diets[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 72: 399-409.
- [10] 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.
- [11] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [12] Reverter M, Bontemps N, Lechini D, et al. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives[J]. *Aquaculture*, 2014, 433: 50-61.
- [13] Wang X J. The study of extract of *Ginkgo biloba* on the productivity and plasma index of broilers[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2006. [王学静. 银杏叶提取物对肉鸡生产性能及血液生化指标的影响研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2006.]
- [14] Huang Q C, Zheng X T, Zhong S P, et al. Effects of *Ginkgo biloba* extract on growth performance, serum biochemical parameters and hormones level in weaned piglets[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2011, 39(8): 51-55. [黄其春, 郑新添, 钟升平, 等. 银杏叶提取物对断奶仔猪生长性能、血清生化指标和激素水平的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(8): 51-55.]
- [15] Xu W W, Li Z X, Song K. Effects of fermented *Ginkgo biloba* leaves on growth performance, plasma biochemical parameters and liver antioxidant parameters of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(2): 959-964. [许维唯, 李泽鑫, 宋凯. 发酵银杏叶对斜带石斑鱼生长性能、血浆生化指标与肝脏抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(2): 959-964.]
- [16] Abdel-Tawwab M, Sharafeldin K M, Mosaad M N M, et al. Coffee bean in common carp, *Cyprinus carpio* L. diets: Effect on growth performance, biochemical status, and resistance to waterborne zinc toxicity[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 207-213.
- [17] Pakravan S, Hajimoradloo A, Ghorbani R. Effect of dietary willow herb, *Epilobium hirsutum* extract on growth performance, body composition, haematological parameters and *Aeromonas hydrophila* challenge on common carp, *Cyprinus carpio*[J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43(6): 861-869.
- [18] Refaey M M, Tian X, Tang R, et al. Changes in physiological responses, muscular composition and flesh quality of channel catfish *Ictalurus punctatus* suffering from transport stress[J]. *Aquaculture*, 2017, 478: 9-15.
- [19] Qian Y X, Chen H Q, Sun J F. Effects of starvation on he-

- matological and blood biochemical indices in cultured *Lateolabrax japonicus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2002, 9(2): 133-137. [钱云霞, 陈惠群, 孙江飞. 饥饿对养殖鲈鱼血液生理生化指标的影响[J]. 中国水产科学, 2002, 9(2): 133-137.]
- [20] Fanouraki E, Mylonas C C, Papandroulakis N, et al. Species specificity in the magnitude and duration of the acute stress response in Mediterranean marine fish in culture[J]. General and Comparative Endocrinology, 2011, 173(2): 313-322.
- [21] Wang W B. Effects of environmental stress, Chinese herb medicine and gene transfer on the non-specific immune functions of fish[D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2005. [王文博. 环境胁迫、中草药及基因转植对鱼体非特异性免疫功能的影响[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2005.]
- [22] Du L, Wang C Y, Zhang L H, et al. Clinical value of liver function indicators for hepatic injury caused by Hantavirus [J]. Journal of Pathogen Biology, 2008, 3(10): 740-742. [杜磊, 王昌源, 张立华, 等. 肝功指标判断汉坦病毒所致肝损害的临床价值[J]. 中国病原生物学杂志, 2008, 3(10): 740-742.]
- [23] Sun H C. Effects of *Ginkgo biloba* leaf extract on blood biochemical indexes and antioxidant activity in *Carassius auratus*[J]. China Feed, 2008(13): 36-37. [孙翰昌. 银杏叶提取物对鲫鱼血液生化指标和抗氧化功能的影响[J]. 中国饲料, 2008(13): 36-37.]
- [24] Gao Y, Zheng P, Yan L, et al. Preliminary mechanism study of matrine on chronic alcohol-induced hepatic injury in rats [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2013, 29(7): 1012-1016. [高艳, 郑萍, 闫琳, 等. 苦参碱对大鼠慢性酒精性肝损伤的作用及初步机制研究[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(7): 1012-1016.]
- [25] Wang Q J, Ju X, Wang Q B, et al. Research progress on mechanisms of oxidative stress generation in water body[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2014, 41(6): 144-149. [王秋举, 鞠雪, 王清滨, 等. 养殖水体中氧化应激产生机理的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(6): 144-149.]
- [26] Mansour M A. Protective effects of thymoquinone and desferrioxamine against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in mice[J]. Life Sciences, 2000, 66(26): 2583-2591.
- [27] Jia R, Du J L, Cao L P, et al. Antioxidative, inflammatory and immune responses in hydrogen peroxide-induced liver injury of tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 84: 894-905.
- [28] Klaunig J E, Wang Z M, Pu X Z, et al. Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2011, 254(2): 86-99.
- [29] Chen J J, Zhang T, Jiang B, et al. Characterization and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* exocarp polysaccharides[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(1): 40-45.
- [30] Ren X J, Li X M, Yang Z B, et al. Effects of *Ginkgo biloba* leaves and *Ginkgo biloba* extract on growth performance, antioxidant and serum biochemical indices of broilers[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2018, 33(4): 73-79. [任小杰, 李祥明, 杨在宾, 等. 银杏叶及其提取物对肉鸡生长性能、抗氧化及血清生化指标的影响[J]. 中国粮油学报, 2018, 33(4): 73-79.]
- [31] Wijnen P A H M, op den Buijsch R A M, Drent M, et al. Review article: The prevalence and clinical relevance of cytochrome P450 polymorphisms[J]. Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 2007, 26(s2): 211-219.
- [32] Guengerich F P. Cytochrome P450 and chemical toxicology [J]. Chemical Research in Toxicology, 2008, 21(1): 70-83.
- [33] Yang H F, Zhang L L, Qin S H, et al. Induction of phenobarbital and dexamethasone on cytochrome P450 enzymes in chickens[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2007, 35(5): 69-72. [杨海峰, 张玲玲, 覃少华, 等. 苯巴比妥和地塞米松对鸡细胞色素 P450 的诱导作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(5): 69-72.]
- [34] Sun H C. The effects of *Ginkgo biloba* leaf extract (GBE) on cytochrome P4503A and lysozyme activity in crucian carp (*Carassius auratus*)[J]. Fisheries Science, 2009, 28(12): 760-762. [孙翰昌. 银杏叶提取物对鲤 CYP4503A 和溶菌酶活性的影响[J]. 水产科学, 2009, 28(12): 760-762.]
- [35] Jennings B L, Anderson L J, Estes A M, et al. Involvement of cytochrome P-450 1B1 in renal dysfunction, injury, and inflammation associated with angiotensin II-induced hypertension in rats[J]. American Journal of Physiology: Renal Physiology, 2012, 302(4): F408-F420.
- [36] Liu Q Q, Wang W, Zhang Y M, et al. Bisphenol A regulates cytochrome P450 1B1 through miR-27b-3p and induces carp lymphocyte oxidative stress leading to apoptosis[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 102: 489-498.
- [37] Zhao J, Feng L, Liu Y, et al. Effect of dietary isoleucine on the immunity, antioxidant status, tight junctions and microflora in the intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *jian*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 41(2): 663-673.
- [38] Yuan C T, Pan X P, Gong Y, et al. Effects of Astragalus polysaccharides (APS) on the expression of immune response genes in head kidney, gill and spleen of the common carp, *Cyprinus carpio* L[J]. International Immunopharma-

- cology, 2008, 8(1): 51-58.
- [39] Xu Y Q, Zhang Q H, Li Y H, et al. Effects of dietary *Eucommia ulmoides* Oliver leaf powder on the growth performance and expression of immunity related genes in *Myllopharyngodon piceus*[J]. Research of Agricultural Modernization, 2015, 36(6): 1074-1079. [许友卿, 张青红, 李颖慧, 等. 饲料中添加杜仲叶粉对青鱼生长和组织免疫相关基因表达的影响研究[J]. 农业现代化研究, 2015, 36(6): 1074-1079.]
- [40] Xu F. Investigation on the in vitro antibacterial activity and immune modulatory function of *Ginkgo biloba* extract[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014. [徐芳. 银杏叶提取物的体外抑菌及免疫调节作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.]

Effect of ginkgo, *Ginkgo biloba*, leaf extracts on growth performance, antioxidant function, and immune-related gene expressions of common carp, *Cyprinus carpio*

HE Qin¹, JIA Rui^{1, 2, 3}, CAO Liping^{2, 3}, DU Jinliang^{2, 3}, GU Zhengyan¹, Galina Jeney^{3, 4}, XU Pao^{1, 2, 3}, YIN Guojun^{1, 2, 3}

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;
3. International Joint Research Laboratory for Fish Immunopharmacology; Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;
4. National Agricultural Research Center, Research Institute for Fisheries and Aquaculture, Szarvas 5440, Hungary

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of ginkgo, *Ginkgo biloba*, leaf extracts (GBE) on the growth performance, serum biochemical indices, antioxidative status, CYP450, and immune-related gene expressions of common carp, *Cyprinus carpio*. Common carp were fed a basal diet supplemented with GBE at concentrations of 0 g/kg (control), 0.5 g/kg, 1.0 g/kg, and 5.0 g/kg for 60 d. Subsequently, blood, liver, intestine, gill, and muscle tissues were collected to evaluate biochemical parameters and gene expressions. The results indicated that the different concentrations of dietary GBE did not improve the growth performance and feed coefficient ($P>0.05$) of carp. Serum concentrations of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) did not differ significantly between treatments and controls ($P>0.05$), although GBE treatments significantly increased the serum total protein (TP) content and decreased glucose (Glu) and cortisol concentrations. The antioxidant indices showed that dietary GBE could significantly increase the levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), total antioxidant capacity (T-AOC), and glutathione (GSH) in the liver ($P<0.05$). Furthermore, the T-AOC in the intestines and gills was significantly higher in the GBE treatment groups than that in the control group, and GSH was significantly higher in the gills of carp in the 5.0 g/kg GBE treatment than that in the other groups. Moreover, the gene expression data indicate that dietary GBE up-regulated the transcription of cytochrome p450 (*cyp3a*) and down-regulated the transcription of *cyp1a* and *cyp1b* in the liver and intestines of carp. Additionally, immune-related genes (*c3* and *c-lyz*) in the livers and intestines of carp in the 1.0 g/kg and 5.0 g/kg GBE groups were significantly up-regulated. In conclusion, dietary GBE did not improve the growth performance and feed coefficients in carp; however, it reduced physiological stress, improved antioxidant ability, and increased expression of immune-related genes. Based on the results of our study, we recommend supplementing common carp with 1.0 g/kg of dietary GBE.

Key words: *Cyprinus carpio*; *Ginkgo biloba* leaf extract; growth performance; serum biochemical parameters; antioxidant capacity; gene expression

Corresponding author: JIA Rui; E-mail: jiari@ffrc.cn; YIN Guojun; E-mail: yingj@ffrc.cn