

DOI: 10.12264/JFSC2021-0247

日粮硒水平对虹鳟肌肉蛋白质自噬性降解的影响

滕振雷, 张学振, 张峰, 王力, 王龙, 黄涛涛

华中农业大学水产学院, 长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心, 湖北省池塘养殖工程实验室, 湖北 武汉 430070

摘要: 为了探究日粮硒水平对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肌肉生长和肌肉蛋白质自噬性降解的影响, 以酵母硒为硒源, 配制 3 种硒水平的日粮: 缺硒(DSe, 0 mg/kg)、足量硒(ASe, 4.0 mg/kg)、过量硒(ESe, 16.0 mg/kg), 对虹鳟进行 10 周的养殖实验。结果表明, DSe 和 ESe 组虹鳟的增重率、肌纤维直径与肌肉蛋白质含量显著低于 ASe 组($P<0.05$)。此外, DSe 和 ESe 组虹鳟肌肉中自噬相关基因(*Atg4b*、*Atg12l*、*LC3B*、*Atg13*、*Atg7*、*Atg5*)的表达量显著高于 ASe 组($P<0.05$); 并且其自噬标志物肌肉微管相关蛋白轻链 3-II (LC3-II)的水平相对于 ASe 组显著升高, 而 P62 的含量显著降低($P<0.05$)。同时对自噬的上游调节通路蛋白激酶 B-雷帕霉素靶蛋白(Akt-TOR)通路进行了检测, 发现日粮硒的缺乏和过量均显著抑制了虹鳟肌肉中 Akt 和 TOR 的磷酸化水平, 降低了 Akt-TOR 通路的活性。对腺苷酸活化蛋白激酶 α (AMPK α)的磷酸化分析也表明, DSe 和 ESe 组虹鳟肌肉的 AMPK 活性显著升高。在对虹鳟肌肉氧化状态的分析中也发现 DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉中丙二醛(MDA)和脂质过氧化物(LPO)的含量显著增加, 表明其肌肉氧化应激加剧, 这可能是日粮硒影响 Akt-TOR 和 AMPK 通路的一种途径。综上所述, 日粮硒的缺乏和过量通过抑制 Akt-TOR 的活性, 激活 AMPK 通路, 促进了虹鳟肌肉蛋白质的自噬性降解, 本研究结果为进一步研究硒对鱼类肌肉生长的调控机制奠定了基础。

关键词: 虹鳟; 酵母硒; 生长; 肌肉; 蛋白质; 自噬

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)06-0843-11

硒是鱼类的必需微量元素, 适宜的日粮硒水平可以改善鱼类的生长性能^[1]、抗氧化机能^[2]以及免疫功能^[3-4]等。抗氧化是硒元素经典的生物学功能, 硒的补充可以增强重要的抗氧化酶的活性并减少细胞内活性氧(ROS)的蓄积^[5], 在改善鱼类氧化应激中起着重要作用^[6-7]。此外, 硒对鱼类的肌肉生长和蛋白质沉积也具有显著影响, 在饲喂含酵母硒的日粮 6 周后, 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的生长性能和肌肉蛋白质沉积速率都得到了显著提升^[8]。肌肉作为鱼体中最大的组织, 其蛋白质的沉积速率可能是决定鱼体生长的主要因素^[9]。蛋白质的沉积由蛋白质合成与降解系统共同调控^[10], 本实验室前期研究发现, 日粮中酵母

硒的补充对虹鳟肌肉蛋白质合成相关基因的表达没有影响, 但是显著抑制了其降解系统相关基因的表达水平^[11]。自噬-溶酶体途径是硬骨鱼类肌肉蛋白质降解的主要途径之一^[12-14], 日粮硒可能通过 ROS 水平来影响 Akt-TOR 通路的活性^[14-16]和自噬相关基因的表达^[17], 进而影响了肌肉蛋白质的自噬性降解。

国内外关于鱼类硒营养的研究起步较晚, 且大多集中在硒对鱼类生长、氧化应激和免疫机能的影响等方面, 硒对鱼类生长的具体调控机制仍不清楚, 相关研究较少。目前, 已有研究表明适宜的日粮硒(4.0 mg/kg)添加可以促进虹鳟生长, 并抑制其肌肉蛋白质自噬性降解^[8,11]。然而, 日粮中

收稿日期: 2021-05-21; 修订日期: 2021-05-27.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD0900303); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2662019FW013).

作者简介: 滕振雷(1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产品品质形成. E-mail: zhenleiteng@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 张学振, 教授, 研究方向为水产品安全保障与品质提升. E-mail: xuezhen@mail.hzau.edu.cn

硒的缺乏和过量对鱼类肌肉生长和蛋白质自噬性降解的影响却鲜有研究。因此,本实验以虹鳟为模型,设置 4.0 mg/kg 为虹鳟日粮的足量硒水平,旨在探究不同日粮硒水平[缺硒(DSe, 0 mg/kg)、足量硒(ASe, 4.0 mg/kg)和过量硒(ESe, 16.0 mg/kg)]对鱼类躯体和肌肉生长的影响,并进一步从蛋白质降解的视角来探讨硒影响虹鳟肌肉生长的潜在机制。本研究丰富了我们对于鱼类硒营养功能的认识,为深入探究日粮硒对鱼类生长的调控机制提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

本研究使用的虹鳟由恩施州国硒冷水渔业有限公司(湖北恩施)提供,实际养殖实验在华中农业大学水产学院冷水鱼养殖系统中进行。选取 225 条健康、规格相近的虹鳟[(157.30±1.56) g]均匀放入 9 个(3 个组,每组 3 个平行缸)正式养殖缸中。养殖期间,每天 2 次(9:00 和 16:00)饱食投喂,养殖系统在循环水系统下进行水体交换,控制流水速率为 1 L/min,温度: 14~16 ℃,溶氧: 8.0~10.0 mg/L, pH: 7.0~7.6, 水体硒含量实测为 0.21 μg/L。

1.2 实验饲料

本研究共设计 3 组饲料,分别为特制的低硒基础饲料和向低硒基础饲料中分别添加 4.0 mg/kg (足量硒)和 16.0 mg/kg 硒(过量硒)(以酵母硒为硒源)。基础饲料的原料、基本营养成分见表 1,经过实测,3 组饲料的实际硒含量分别为 0.11 mg/kg、3.87 mg/kg 和 15.82 mg/kg。

1.3 实验方法

1.3.1 生长性能分析 存活率(survival rate, SR, %)=终末存活数/初始总数×100;

增重率(weight gain rate, WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100;

肥满度(condition factor, CF, g/cm³)=终末体重(g)/终末体长³(cm³)×100;

摄食率(feed intake, FI, %/d)=摄食量(g)/[1/2×(终末体重+初始体重)×养殖天数]×100;

饲料转化率(Feed conversion ratio, FCR)=摄食量(g)/(终末体重-初始体重)

表 1 基础饲料原料组成和近似成分

Tab. 1 Feed ingredients and proximate composition of basal diets

组成 composition	含量 content
饲料原料/% ingredient	
酪蛋白/% casein	25.00
大豆分离蛋白/% soy protein isolate	29.40
玉米淀粉/% corn starch	16.00
小麦面筋粉/% wheat gluten	10.00
预糊化淀粉/% pregelatinized starch	5.00
鱼油/% fish oil	6.00
大豆油/% soybean oil	5.00
大豆卵磷脂/% soy lecithin	0.50
甜菜碱/% betaine	0.50
氯化胆碱/% choline chloride	0.10
维生素预混料 ^a /% vitamin premix ^a	1.00
矿物预混料 ^b /% mineral premix ^b	1.50
近似成分 proximate composition	
水分/% moisture	6.53
粗蛋白/% crude protein	47.68
粗脂肪/% crude lipid	13.38
灰分/% ash	3.32
总硒含量 ^c /(mg/kg) actual Se content ^c	0.11

注: a. 维生素预混料(g/kg 混合物)包括维生素 A, 60.00; 维生素 B₁, 8.00; 维生素 B₂, 12.00; 维生素 B₃, 80.00, 维生素 B₅, 24.00; 维生素 B₆, 12.00; 维生素 H, 0.40; 维生素 B₁₂, 0.02; 维生素 C, 600.00; 维生素 D₃, 0.04; 维生素 E, 96.00; 维生素 K₃, 8.00; 维生素 M, 4.00; α-纤维素, 95.54. b. 矿物质预混料(g/kg 混合物)包括乳酸钙, 350.00; K₂HPO₄, 250.00; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 175.00; NaCl, 75.00; KI, 0.125; CuSO₄·5H₂O, 37.50; MnSO₄·H₂O, 2.50; ZnSO₄·H₂O, 14.05; K₂CO₃, 35.00; α-纤维素, 60.825. c. 酵母硒产品购自安琪酵母股份有限公司(湖北宜昌), 产品的实际硒含量为 2000 mg/kg.

Note: a. Vitamin premix (g/kg product) contains VA, 60.00; VB₁, 8.00; VB₂, 12.00; VB₃, 80.00; VB₅, 24.00; VB₆, 12.00; VH, 0.40; VB₁₂, 0.02; VC, 600.00; VD₃, 0.04; VE, 96.00; VK₃, 8.00; VM, 4.00; α-cellulose, 95.54. b. Mineral premix (g/kg product) contains Calcium Lactate, 350.00; K₂HPO₄, 250.00; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 175.00; NaCl, 75.00; KI, 0.125; CuSO₄·5H₂O, 37.50; MnSO₄·H₂O, 2.50; ZnSO₄·H₂O, 14.05; K₂CO₃, 35.00; α-cellulose, 60.825. c. Se-yeast products were purchased from Angel Yeast Co., Ltd. (Yichang, Hubei), and the actual Se content of the product was 2000 mg/kg.

1.3.2 肌肉组织形态学分析 肌肉组织切片的处理参考 Wang 等^[17]的方法。以 Pannoramic 250 数码显微镜对整个切片进行扫描。以 Image J 软件(v.1.8.0)处理图像,从每个肌纤维扫描图片中随机选取 4 个视野,确保所统计的总肌纤维数目大于 1000,从而对不同实验组虹鳟的肌纤维直径和

分布频率进行统计。

1.3.3 肌肉基本营养成分与总硒含量的测定 饲料和肌肉的基本营养成分与总硒含量的测定均参考本实验室前期研究方法^[8,18]: 粗蛋白含量采用凯氏定氮法测定, 粗脂肪含量采取索氏抽提法测定, 水分含量采用烘干法测量, 粗灰分含量采用马福炉测量, 总硒含量使用电感耦合等离子体质谱仪(日本 Yokogawa Analytical Systems 公司)进行测量。

1.3.4 肌肉氧化状态及抗氧化性能分析 肌肉样品用生理盐水 10 倍(*W/V*)稀释后匀浆、离心, 取匀浆液进行测定。所有的测定指标: 过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、脂质过氧化物(LPO)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)均使用相应商业化试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行测量。

1.3.5 实时荧光定量 PCR 荧光定量 PCR 反应在 QuantStudio 6 Flex Real-Time PCR System (美国 Applied Biosystems 公司)中进行, 所使用的试剂盒为 Hieff[®]qPCR[®]Green Master Mix (上海翊圣生物科技有限公司)。PCR 反应以三步法进行, 具体为: 95 ℃, 3 min; (95 ℃, 10 s; 目的基因退火温度, 20 s; 72 ℃, 20 s)×40 次, 于延伸阶段(72 ℃)收集荧光信号。自噬相关基因的基因引物^[11]见表 2。目的基因的相对丰度以 Livak 等^[19]的方法进行计算, 以 *EF1α* 和 *GAPDH* 的转录物丰度作为内部参照。

1.3.6 Western blot 分析 肌肉样品的前处理参考 Wang 等^[8]的方法, 然后进行电泳、转膜、封闭、免疫学反应以及扫描成像, 最后对条带进行灰度量化分析。本实验所使用的抗体如下: 抗蛋白激酶 B (Akt 或 PKB, 货号 9272)、磷酸化 Akt [p-Akt 丝氨酸(Ser)⁴⁷³, 货号 9271]、雷帕霉素靶蛋白(mTOR, 货号 2972)、磷酸化 mTOR (p-mTOR, Ser²⁴⁴⁸, 货号 2971)、腺苷酸活化蛋白激酶 α (AMPKα, 货号 2532)、磷酸化 AMPKα [p-AMPKα, 苏氨酸(Thr)¹⁷², 货号 2531]、Unc-51 样自噬激酶 1 (ULK1, 货号 8054)、磷酸化 ULK1 (p-ULK1, Ser⁷⁵⁷, 货号 6888)的一抗均购自美国 Cell Signaling Technology 公司, 抗 SQSTM1 (SQSTM1/P62, 货

表 2 本研究所用 qPCR 引物
Tab. 2 Oligonucleotide primers for qPCR assays in the study

基因 gene	引物(5'-3') oligonucleotide (5'-3')	登录号 accession no.
<i>Atg12l</i>	F GATGGAGGCCAATGAACAGC	CB490089
	R GCGTTTGAAGTGAAGGGCTAA	
<i>Atg4b</i>	F TATGCGCTTCCGAAAGTTGTC	CA345181
	R CAGGATCGTTGGGGTTCTGC	
<i>LC3B</i>	F GAAACAGTTTGACCTGCGTGAA	CA350545
	R TCTCTCAATGATGACCGGAATCT	
<i>Gabarapl1</i>	F GTGGAAAAAGCCCCAAAAGC	NM_001165091
	R CCTCTTCATGGTGCTCCTGGTA	
<i>CtsB</i>	F TTCCACCTCTGCAGCTCTAGT	NM_001124304.1
	R TCCATGTGGTGTCTGCGTTG	
<i>Beclin1</i>	F CCTCCACATCTGGCACAGT	NM_001124429.1
	R GAAGCGTAGCCCCATCTTGT	
<i>Atg5</i>	F ATTTCCAGAGCGTGACCTG	XM_036972415.1
	R TGTCGTTGATGACCTGGCTC	
<i>Atg7</i>	F TTCTGTTCCCTCAGCGTGTC	XM_036937473.1
	R GCCAGTCTCTTTGGGTCCAT	
<i>Atg13</i>	F GGACTTTAAGCCTGCGTTCT	XM_021585873.2
	R GCCATGGACTGAGAACTGAC	
<i>GAPDH</i>	F TTCACCACTACAACCCAATCAAC	NM_001124246.1
	R CACAATCAGCTTCCCGTCC	
<i>EF1α</i>	F TCCTCTTGTCGTTTCGCTG	NM_001124339.1
	R ACCCGAGGGACATCCTGTG	

注: F 表示正向引物; R 表示反向引物。
Note: F indicates forward primer; R indicates reverse primer.

号 GB11531)的一抗购自武汉塞维尔生物科技有限公司, 抗微管相关蛋白轻链 3B (LC3B, 货号 18725-1-AP)的一抗购自武汉三鹰生物技术有限公司。抗 β-Tubulin 蛋白(内参)一抗购自武汉 ABclonal Technology 公司。

1.4 统计学分析

所有数据都以平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示, 并且使用 SPSS 26.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)进行统计学分析, 以 Shapiro-Wilks test 和 Levene's test 对数据进行正态分布检验和方差齐性检验。对服从正态分布且方差齐性的数据进行单因素 ANOVA 分析, 当出现显著性差异时, 使用 Duncan's test 进行多重比较。对不服从正态分布的数据或方差不齐的数据进行 Kruskal-Wallis 非参数检验并以 Dunn-Bonferroni post-hoc test 进行多重比较。显著性水平设置为 0.05。

2 结果与分析

2.1 生长性能

如表 3 所示,日粮硒水平对虹鳟生长性能具有显著影响。DSe 和 ESe 组的虹鳟终末体重和增重率显著低于 ASe 组($P<0.05$),但是对其终末体长无显著影响($P>0.05$)。日粮硒水平显著影响了虹鳟的饲料转化率, ASe 组虹鳟的饲料转化率显著低于 DSe 和 ESe 组($P<0.05$),但是对其摄食率和肥满度无显著影响($P>0.05$)。

2.2 肌肉生长

经过 10 周的养殖,日粮硒水平对虹鳟白肌横截面的肌纤维结构的影响如图 1 所示,肌纤维平均直径和分布频率如表 4 所示。DSe 和 ESe 组虹鳟白肌纤维平均直径显著低于 ASe 组($P<0.05$),并且 DSe 和 ESe 组虹鳟的小型肌纤维(直径 $<60\text{ }\mu\text{m}$ 和 $60\sim 90\text{ }\mu\text{m}$)的比例显著高于 ASe 组($P<0.05$),但是其大型纤维($>120\text{ }\mu\text{m}$)的比例显著低于 ASe 组($P<0.05$)。

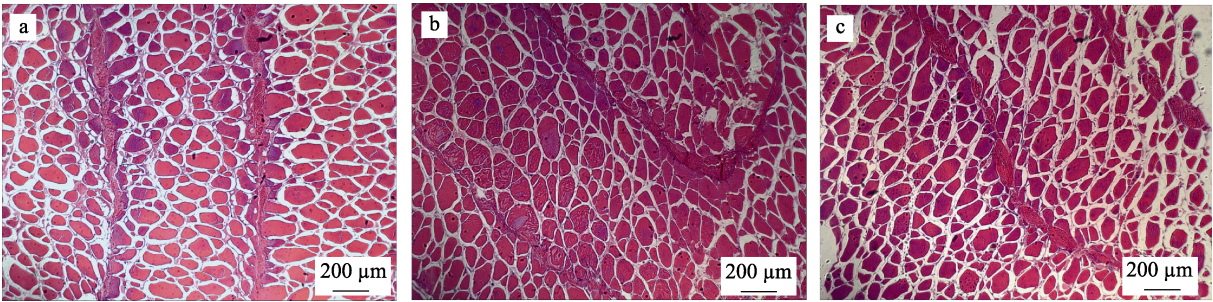


图 1 日粮硒水平对虹鳟的肌肉组织形态的影响

a 代表缺硒组; b 代表足量硒组; c 代表过量硒组.

Fig. 1 Effects of dietary Se level on muscle tissue morphology of rainbow trout
a represents deficient selenium group; b represents adequate selenium group;
c represents excessive selenium group.

2.3 肌肉基本营养成分与总硒含量

日粮硒的添加显著影响了虹鳟肌肉的粗蛋白含量(表 5), ASe 组虹鳟肌肉粗蛋白含量显著高于 DSe 和 ESe 组($P<0.05$),但是日粮硒水平对虹鳟肌肉的脂肪、水分和灰分含量无显著性影响($P>0.05$);随着日粮硒水平的提高,肌肉中总硒含量呈剂量效应增加($P<0.05$)。

2.4 肌肉氧化状态及抗氧化性能

如表 6 所示,日粮硒水平显著影响了虹鳟肌

表 3 日粮硒水平对虹鳟生长性能的影响

Tab. 3 Effects of dietary Se level on the growth performance of rainbow trout

$n=3; \bar{x}\pm\text{SE}$

指标 index	饲料 diet		
	DSe	ASe	ESe
初始体重/g initial body weight	156.60±0.84	157.25±0.67	157.56±0.57
终末体重/g final body weight	319.96±7.73 ^a	365.99±5.64 ^b	339.55±2.01 ^c
终末体长/mm final body length	277.07±1.27	284.17±5.66	278.13±4.84
增重率/% WGR	103.79±3.11 ^a	135.25±5.24 ^b	118.31±3.76 ^c
摄食率/(%/d) FI	1.96±0.03	2.06±0.01	2.07±0.09
饲料转化率 FCR	1.44±0.02 ^a	1.28±0.02 ^b	1.45±0.00 ^a
肥满度/(g/cm ³) CF	1.57±0.06	1.54±0.04	1.53±0.01
存活率/% SR	100.00	100.00	100.00

注: DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。同行不同的上标字母表示处理组之间差异显著($P<0.05$)。

Note: DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium. In each line, different superscript letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

肉中脂质过氧化产物 LPO 和 MDA 的含量,并且在 ASe 组含量最低($P<0.05$),表明 ASe 组的虹鳟氧化压力最小。此外,随着日粮硒水平的提高,肌肉中 GPX 活性也显著升高, DSe 组的虹鳟 GPX 活性显著低于其他两个组($P<0.05$)。本研究中,3 个实验组的虹鳟肌肉的 CAT 和 SOD 活性均无显著差异($P>0.05$)。

2.5 肌肉自噬水平

对自噬-溶酶体途径相关基因表达的分析如

表 4 日粮硒水平对虹鳟的肌纤维直径和分布频率的影响
Tab. 4 Effects of dietary Se level on muscle fiber diameter and distribution frequency in rainbow trout
n=3; $\bar{x}\pm$ SE

指标 index	饲料 diet		
	DSe	ASe	ESe
直径/ μ m diameter	82.51 $\pm$ 5.81 ^a	105.86 $\pm$ 4.93 ^b	88.79 $\pm$ 5.08 ^a
分布频率/% distribution frequency			
<60 μ m	12.19 $\pm$ 2.82 ^{ab}	6.92 $\pm$ 1.18 ^b	13.21 $\pm$ 2.58 ^a
60–90 μ m	34.77 $\pm$ 1.01 ^a	35.85 $\pm$ 3.08 ^{ab}	41.44 $\pm$ 2.65 ^b
90–120 μ m	46.59 $\pm$ 1.34 ^a	42.45 $\pm$ 1.54 ^b	40.24 $\pm$ 1.12 ^b
>120 μ m	6.45 $\pm$ 2.32 ^a	14.78 $\pm$ 3.80 ^b	5.11 $\pm$ 1.53 ^a

注: DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。在每一行中, 不同的上标字母表示处理之间的显著差异($P<0.05$)。
Note: DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium. In each line, different superscript letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

表 5 日粮硒水平对虹鳟肌肉基本营养成分和硒含量的影响
Tab. 5 Effects of dietary Se level on nutritional composition and actual Se content in rainbow trout muscle
n=3; $\bar{x}\pm$ SE

指标 index	饲料 diet		
	DSe	ASe	ESe
水分/(g/kg) moisture	756.71 $\pm$ 5.45	742.47 $\pm$ 7.54	750.81 $\pm$ 6.12
粗蛋白/(g/kg) crude protein	204.20 $\pm$ 2.58 ^a	218.52 $\pm$ 1.83 ^b	208.04 $\pm$ 3.07 ^a
粗脂肪/(g/kg) crude lipid	43.72 $\pm$ 4.25	46.58 $\pm$ 2.80	43.53 $\pm$ 2.02
灰分/(g/kg) ash	15.35 $\pm$ 0.78	15.33 $\pm$ 0.62	14.88 $\pm$ 0.79
总硒含量/(mg/kg) total Se content	0.19 $\pm$ 0.02 ^a	0.82 $\pm$ 0.03 ^b	2.80 $\pm$ 0.27 ^c

注: DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。在每一行中, 不同的上标字母表示处理之间的显著差异($P<0.05$)。
Note: DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium. In each line, different superscript letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

图 2a 所示, 日粮硒水平显著影响了虹鳟肌肉中 6 个自噬相关基因(*LC3B*、*Atg5*、*Atg13*、*Atg7*、*Atg4b* 和 *Atg12l*)的表达($P<0.05$), 并且在 DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉中的表达量高于 ASe 组。进一步对肌肉中自噬标志物含量进行了测定, 结果显示, DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉中 LC3-II/LC3-I 的比值相对于 ASe 组显著增加($P<0.05$, 图 2c), 并且其 P62 蛋白和 p-ULK1 Ser⁷⁵⁷ 蛋白含量显著低于 ASe 组

表 6 日粮硒水平对虹鳟的肌肉抗氧化酶活性与氧化产物含量的影响
Tab. 6 Effects of dietary Se level on antioxidant enzyme activity and oxidation product content in muscle of rainbow trout
n=3; $\bar{x}\pm$ SE

指标 index	饲料 diets		
	DSe	ASe	ESe
MDA 含量/(nmol/mg) MDA content	1.48 $\pm$ 0.35 ^a	0.69 $\pm$ 0.15 ^b	1.32 $\pm$ 0.28 ^a
LPO 含量/(μ mol/mg) LPO content	1.18 $\pm$ 0.35 ^a	0.37 $\pm$ 0.09 ^b	0.68 $\pm$ 0.30 ^{ab}
CAT 活性/(U/mg) CAT activity	210.61 $\pm$ 56.67	172.10 $\pm$ 40.83	167.87 $\pm$ 42.11
SOD 活性/(U/mg) SOD activity	2.95 $\pm$ 0.24	2.34 $\pm$ 0.61	2.79 $\pm$ 0.46
GPX 活性/(mU/mg) GPX activity	47.03 $\pm$ 9.05 ^a	84.74 $\pm$ 8.83 ^b	78.74 $\pm$ 11.99 ^b

注: DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。在每一行中, 不同的上标字母表示处理之间的显著差异($P<0.05$)。
Note: DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium. In each line, different superscript letters indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

($P<0.05$, 图 2d 和图 2f)。这表明日粮硒水平对虹鳟的肌肉自噬水平具有显著影响, 且 DSe 和 ESe 组虹鳟的肌肉自噬水平显著高于 ASe 组($P<0.05$)。

2.6 自噬上游调节通路

2.6.1 Akt-TOR 通路 Akt-TOR 通路是细胞自噬调节过程中的一个重要途径, 因此本研究检测了日粮硒水平对虹鳟肌肉中 Akt-TOR 通路活性的影响。研究发现, 日粮硒水平对虹鳟肌肉 Akt 总蛋白含量无显著影响($P>0.05$, 图 3b), 但是显著影响了 Akt Ser⁴⁷³ 位点的磷酸化水平, 并且 DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉的 Akt Ser⁴⁷³ 磷酸化水平显著低于 ASe 组($P<0.05$, 图 3c); 不同组的虹鳟肌肉的 TOR 总蛋白水平没有变化($P>0.05$, 图 3d), 但是日粮硒的缺乏和过量显著降低了 TOR Ser²⁴⁴⁸ 的磷酸化水平($P<0.05$, 图 3e)。

2.6.2 AMPK 通路 AMPK 通路也能对细胞自噬水平进行调控, 因此, 本研究进一步检测了虹鳟肌肉中 AMPK α 的总蛋白和磷酸化的水平。结果表明, 日粮硒水平对虹鳟肌肉 AMPK α 的总蛋白水平没有影响($P>0.05$, 图 4b), 但是 DSe 和 ESe 组虹鳟肌肉的 p-AMPK α Thr¹⁷² 的含量相比于 ASe 组显著升高($P<0.05$, 图 4c)。

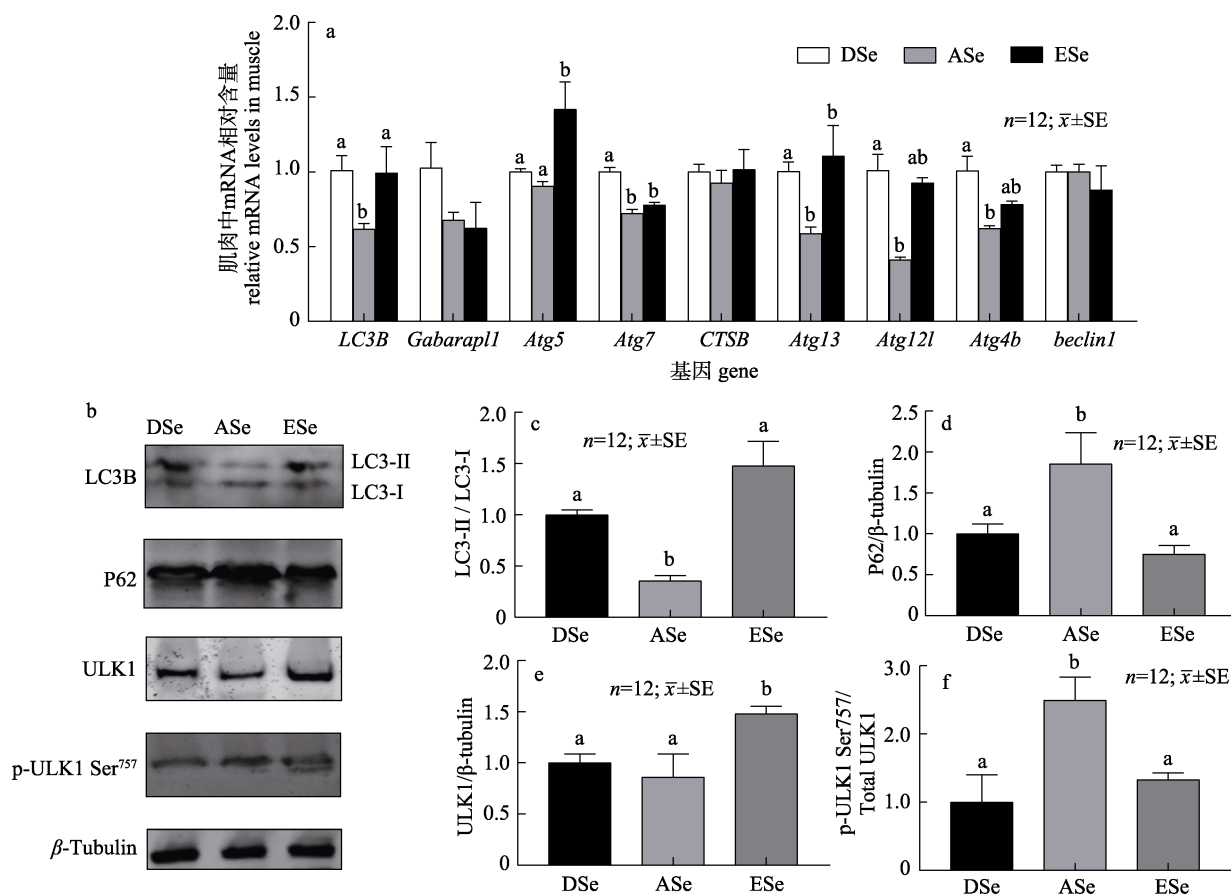


图 2 日粮硒水平对虹鳟肌肉自噬的影响

DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。a 表示肌肉自噬相关基因表达水平; b 表示肌肉自噬相关蛋白电泳图谱; c 表示 LC3-II/LC3-I 的丰度比值; d 表示 P62 蛋白与内参蛋白的丰度比值; e 表示 ULK1 蛋白与内参蛋白的丰度比值; f 表示 p-ULK1 Ser⁷⁵⁷ 蛋白与 ULK1 总蛋白的丰度比值。不同的上标字母表示处理之间的显著差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 2 Effects of dietary Se level on autophagy in rainbow trout muscle

DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium. a represents the level of muscle autophagy-related gene expression; b represents the muscle autophagy-related protein electro-swimming map; c represents the abundance ratio of LC3-II/LC3-I; d represents the abundance ratio of P62 protein to internal reference; e represents the abundance ratio of ULK1 protein to internal reference; f represents the abundance ratio of p-ULK1 Ser⁷⁵⁷ protein to ULK1 total protein. Different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 日粮硒水平对虹鳟肌肉生长和蛋白质含量的影响

硒对鱼类的营养作用已被广泛报道^[20-21], 适宜的日粮硒补充对鱼类的生长性能^[22]、抗氧化机能^[23]、免疫功能^[24]具有一定程度的改善作用。本研究中 DSe 和 ESe 组虹鳟生长性能显著低于 ASe 组, 肌纤维组织形态学的结果也显示, DSe 和 ESe 组的虹鳟的肌纤维平均直径相对于 ASe 组显著降低, 表明其肌肉生长减缓。另一方面, 通过对虹鳟肌肉成分的检测, 发现 DSe 和 ESe 组虹鳟肌肉的

蛋白质含量也显著低于 ASe 组。因此, 本研究结果表明, 日粮硒水平对虹鳟肌肉生长和蛋白质含量都产生了显著影响, 并且 DSe 和 ESe 组虹鳟躯体生长受阻可能与其肌肉生长减缓有关。

3.2 日粮硒水平对虹鳟肌肉氧化状态和抗氧化性能的影响

抗氧化是硒的主要生物学功能之一, 生物体中许多硒蛋白都具有抗氧化功能^[25], 抗氧化酶 GPX 就是一种典型的硒蛋白。本研究中, 肌肉中 GPX 的活性在 DSe 组显著降低, 且 DSe 和 ESe 组虹鳟肌肉 MDA 和 LPO 含量显著升高。MDA 和 LPO 可以作为监测体内氧化应激的标志物^[26],

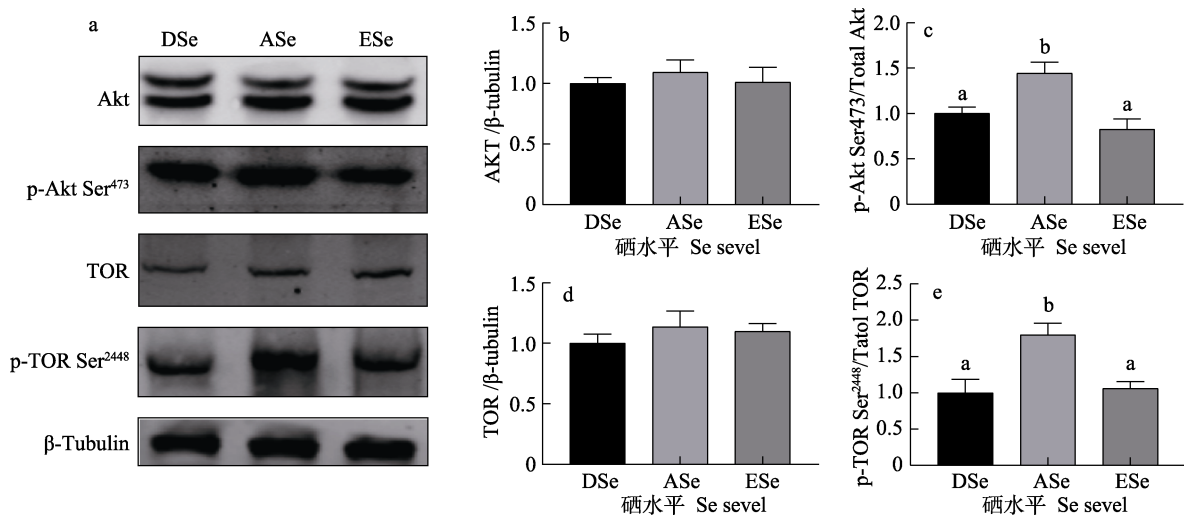


图 3 日粮硒水平对虹鳟肌肉 Akt-TOR 通路活性的影响

DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。a 表示肌肉 Akt-TOR 通路蛋白电泳图谱; b 表示 AKT 总蛋白与内参蛋白的丰度比值; c 表示 p-AKT Ser⁴⁷³ 蛋白与 AKT 总蛋白的丰度比值; d 表示 TOR 总蛋白与内参蛋白的丰度比值; e 表示 p-TOR Ser²⁴⁴⁸ 蛋白与 TOR 总蛋白的丰度比值。不同的上标字母表示处理之间的显著差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 3 Effects of dietary Se level on the activity of Akt-TOR pathway in the muscle of rainbow trout
DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium. a represents the muscle Akt-TOR path electro-swimming map; b represents the abundance ratio of AKT protein to internal reference; c represents the abundance ratio of p-AKT Ser⁴⁷³ protein to AKT total protein; d represents the abundance ratio of TOR protein to internal reference; e represents the abundance ratio of p-TOR Ser²⁴⁴⁸ protein to TOR total protein.
Different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

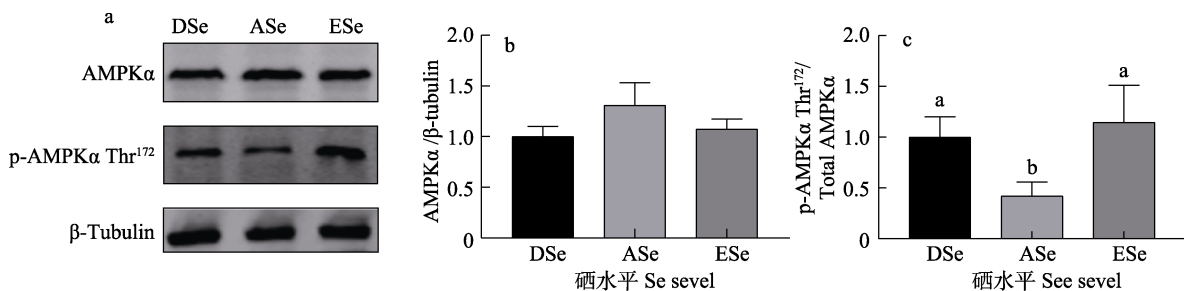


图 4 日粮硒水平对虹鳟肌肉中 AMPKα 活性的影响

DSe 代表缺硒; ASe 代表足量硒; ESe 代表过量硒。a 表示肌肉 AMPK 通路蛋白电泳图谱; b 表示 AMPKα 总蛋白与内参蛋白的丰度比值; c 表示 p-AMPKα Thr¹⁷² 蛋白与 AMPKα 总蛋白的丰度比值。

不同的上标字母表示处理之间的显著差异 ($P < 0.05$)。

Fig. 4 Effects of dietary Se level on the activity of AMPKα in rainbow trout muscle
DSe represents deficient selenium; ASe represents adequate selenium; ESe represents excessive selenium.
a represents the muscle AMPK path electro-swimming map; b represents the abundance ratio of AMPKα protein to internal reference; c represents the abundance ratio of p-AMPKα Thr¹⁷² protein and AMPKα total protein.
Different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

其含量的变化也说明了 DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉氧化应激加剧, 抗氧化性能下降。氧化应激所产生的 ROS 在细胞凋亡^[27]和自噬激活^[28]等方面发挥着重要作用, 所以本研究中日粮硒的缺乏与过量导致了虹鳟肌肉组织氧化应激水平的升高, 进而可能对肌肉的自噬水平产生了影响。

3.3 日粮硒水平对虹鳟肌肉自噬水平的影响

自噬在细胞的生命活动中起着重要作用, 机体在受到外界较大的压力或应激时, 可以诱导自噬作为反馈调节机制抵抗应激^[29]。本实验中 DSe 和 ESe 组的虹鳟处于高氧化应激的状态, 并且其肌肉的自噬水平相比于 ASe 组显著升高, 这说明

日粮硒的缺乏和过量可能激活了细胞自噬以抵抗应激。在自噬过程中,众多自噬相关基因与自噬体的形成有关^[30],其表达情况可以在一定程度上反映自噬水平。本实验结果显示,DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉自噬相关基因的表达水平相比于 ASe 组显著上升。在对虹鳟的肌肉自噬标志性蛋白的检测中,发现 DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉中 LC3-II/LC3-I 比值显著升高,P62 含量显著降低,而 LC3-II/LC3-I 比值的升高和 P62 水平的降低通常与自噬的激活相关联^[31-32]。因此,本研究发现日粮硒水平对虹鳟肌肉的自噬水平产生了显著影响,这与许多在哺乳类和禽类上的研究类似^[33-35],相比于适宜硒水平,日粮硒的缺乏和过量均会导致肌肉自噬水平的升高。作为鱼类肌肉蛋白质降解的主要途径之一,自噬水平的升高可能导致虹鳟肌肉蛋白质沉积速率减缓,进而影响虹鳟的肌肉生长和躯体生长。

3.4 日粮硒水平对虹鳟肌肉自噬上游调节途径的影响

3.4.1 日粮硒水平对虹鳟肌肉 Akt-TOR 通路活性的影响 自噬受到细胞信号的严格调控,许多研究都表明,TOR 是自噬调节的关键性蛋白^[28,36]。Akt Ser⁴⁷³ 位点的磷酸化水平可以反映 Akt 的活化程度,活化的 Akt 可以刺激 TORC1 的活性^[37-38],从而使 ULK1 Ser⁷⁵⁷ 位点磷酸化,破坏 ULK1 与 AMPK 的相互作用,导致胞内自噬受到抑制^[39]。硒可以影响 Akt 蛋白的活性^[40],本实验中,DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉 Akt Ser⁴⁷³ 和 TOR Ser²⁴⁴⁸ 的磷酸化水平均显著低于 ASe 组,表明 DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉 Akt-TOR 通路的活性相比于 ASe 组显著降低。通过进一步检测肌肉中 ULK1 Ser⁷⁵⁷ 位点的磷酸化水平,发现 DSe 和 ESe 组虹鳟肌肉 p-ULK1 Ser⁷⁵⁷ 的含量显著降低,这与 Akt-TOR 通路的实验结果相符。亚硒酸盐可以通过激活 Akt 途径来抑制过氧化氢处理对细胞的损伤^[41],本实验中,DSe 组和 ESe 组的肌肉组织氧化应激水平上升,这将导致肌肉 ROS 的蓄积,所以作者推测日粮硒可能通过肌肉中 ROS 水平而导致 Akt Ser⁴⁷³ 位点的磷酸化水平发生改变,进而影响肌肉中 Akt-TOR 通路活性,日粮硒水平对虹鳟肌肉自噬

水平的影响可能与 Akt-TOR-ULK1 途径有关。

3.4.2 日粮硒水平对虹鳟肌肉 AMPK 活性的影响 AMPK 通路也是自噬调节的重要组成部分^[29],当能量缺乏时,细胞内 AMPK 活性增强,可以通过抑制 TORC1 的活性来促进自噬^[42]。另一方面,在营养充足的情况下,TORC1 也可以破坏 ULK1 和 AMPK 的结合,导致自噬受到抑制^[39]。本研究中,DSe 和 ESe 组的虹鳟肌肉 AMPK α Thr¹⁷² 的磷酸化水平显著高于 ASe 组,而 AMPK α Thr¹⁷² 位点磷酸化水平的提高与 AMPK 的活化息息相关,通常被用来检测 AMPK 的活性^[43-44]。本研究结果表明,日粮硒水平影响了虹鳟肌肉中 AMPK 的活性,这与之前在大鼠上的研究结果类似^[45]。足量的日粮硒水平通过影响 TORC1 的活性,导致 AMPK 与 ULK1 的结合被破坏,使得 ASe 组虹鳟的肌肉自噬水平显著低于 DSe 和 ESe 组,因此,对 AMPK 活性的调节可能也是日粮硒影响虹鳟肌肉自噬水平的一种途径。

4 结论

本研究表明日粮硒水平显著影响了虹鳟抗氧化性能、肌肉生长和自噬水平,通过对自噬上游调节通路(Akt-TOR 和 AMPK)的检测,发现日粮硒的缺乏和过量可能通过 Akt-TOR 和 AMPK 通路来提高虹鳟肌肉的自噬水平,进而导致其肌肉蛋白质沉积速率减缓,躯体和肌肉生长受阻,在这个过程中,氧化应激所产生的 ROS 可能起到了关键性作用。综上所述,本研究初步探讨了日粮硒对鱼类肌肉生长的影响及潜在机制,为研究硒对鱼类肌肉生长的调控作用奠定了基础。

参考文献:

- [1] Khan K U, Zuberi A, Fernandes J B K, et al. An overview of the ongoing insights in selenium research and its role in fish nutrition and fish health[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(6): 1689-1705.
- [2] Molnar, T, Biro, J, Balogh, K, et al. Improving the nutritional value of Nile tilapia fillet by dietary selenium supplementation[J]. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 2012, 64(744): 1-6.
- [3] Lee J H, Kim Y C, Park S I, et al. Evaluation of the optimum dietary selenium (Se) level to improve immune responses in

- juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2009, 42(1): 26-33.
- [4] Zhou X X, Wang Y B, Gu Q, et al. Effects of different dietary selenium sources (selenium nanoparticle and selenomethionine) on growth performance, muscle composition and glutathione peroxidase enzyme activity of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Aquaculture, 2009, 291(1-2): 78-81.
- [5] Martin S A M, Blaney S, Bowman A S, et al. Ubiquitin-proteasome-dependent proteolysis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effect of food deprivation[J]. Pflugers Archive: European Journal of Physiology, 2002, 445(2): 257-266.
- [6] Patching S G, Gardiner R H E. Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: A review[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 1999, 13(4): 193-214.
- [7] Köhrl J, Brigelius-Flohé R, Böck A, et al. Selenium in biology: Facts and medical perspectives[J]. Biological Chemistry, 2000, 381(9-10): 849-864.
- [8] Wang L, Wang L, Zhang D, et al. Effect of dietary selenium on postprandial protein deposition in the muscle of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. The British Journal of Nutrition, 2020: 125(7): 721-731.
- [9] Bureau D P, Hua K, Cho C Y. Effect of feeding level on growth and nutrient deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) growing from 150 to 600g? [J]. Aquaculture Research, 2006, 37(11): 1090-1098.
- [10] Johnston I A, Bower N I, MacQueen D J. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish[J]. The Journal of Experimental Biology, 2011, 214(Pt 10): 1617-1628.
- [11] Wang L, Wu L, Liu Q, et al. Improvement of flesh quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed supranutritional dietary selenium yeast is associated with the inhibited muscle protein degradation[J]. Aquaculture Nutrition, 2018, 24(4): 1351-1360.
- [12] Sandri M. Autophagy in skeletal muscle[J]. FEBS Letters, 2010, 584(7): 1411-1416.
- [13] Nemova N N, Lysenko L A, Kantserova N P. Degradation of skeletal muscle protein during growth and development of salmonid fish[J]. Ontogenez, 2016, 47(4): 197-208.
- [14] Byun Y J, Kim S K, Kim Y M, et al. Hydrogen peroxide induces autophagic cell death in C6 glioma cells via BNIP3-mediated suppression of the mTOR pathway[J]. Neuroscience Letters, 2009, 461(2): 131-135.
- [15] Zhang H Y, Kong X X, Kang J S, et al. Oxidative stress induces parallel autophagy and mitochondria dysfunction in human glioma U251 cells[J]. Toxicological Sciences, 2009, 110(2): 376-388.
- [16] Mitroulis I, Kourtzelis I, Kambas K, et al. Regulation of the autophagic machinery in human neutrophils[J]. European Journal of Immunology, 2010, 40(5): 1461-1472.
- [17] Wang L, Chen C Y, Liu W J, et al. Effects of toxic cyanobacteria and ammonia on flesh quality of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(4): 1200-1206.
- [18] Wang L, Zhang X Z, Wu L, et al. Expression of selenoprotein genes in muscle is crucial for the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets supplemented with selenium yeast[J]. Aquaculture, 2018, 492: 82-90.
- [19] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [20] Sissener N H, Julshamn K, Espe M, et al. Surveillance of selected nutrients, additives and undesirables in commercial Norwegian fish feeds in the years 2000-2010[J]. Aquaculture Nutrition, 2013, 19(4): 555-572.
- [21] Berntssen M H G, Betancor M, Caballero M J, et al. Safe limits of selenomethionine and selenite supplementation to plant-based Atlantic salmon feeds[J]. Aquaculture, 2018, 495: 617-630.
- [22] Hunt A, Berkoy M, Ozkan Yilmaz F, et al. Effects of organic selenium on growth, muscle composition, and antioxidant system in rainbow trout[J]. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2011, 562(1): 125-132.
- [23] Wang K Y, Peng C Z, Huang J L, et al. The pathology of selenium deficiency in *Cyprinus carpio* L.[J]. Journal of Fish Diseases, 2013, 36(7): 609-615.
- [24] Zheng L, Feng L, Jiang W D, et al. Selenium deficiency impaired immune function of the immune organs in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 77: 53-70.
- [25] Lu J, Holmgren A. Selenoproteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(2): 723-727.
- [26] Esterbauer H, Schaur R J, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1991, 11(1): 81-128.
- [27] Bedard K, Krause K H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: Physiology and pathophysiology[J]. Physiological Reviews, 2007, 87(1): 245-313.
- [28] Huang J, Lam G Y, Brumell J H. Autophagy signaling through reactive oxygen species[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2011, 14(11): 2215-2231.

- [29] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741.
- [30] Cui J Z, Gong Z Y, Shen H M. The role of autophagy in liver cancer: Molecular mechanisms and potential therapeutic targets[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 2013, 1836(1): 15-26.
- [31] Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing[J]. *The EMBO Journal*, 2000, 19(21): 5720-5728.
- [32] Long J W, Pi X M. Polyphyllin I promoted melanoma cells autophagy and apoptosis via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *BioMed Research International*, 2020, 2020: 5149417.
- [33] Kumari S, Mehta S L, Li P A. Glutamate induces mitochondrial dynamic imbalance and autophagy activation: Preventive effects of selenium[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e39382.
- [34] Liu C P, Fu J, Liu C, et al. The role of nitric oxide and autophagy in liver injuries induced by selenium deficiency in chickens[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(62): 50549-50556.
- [35] Khoso P A, Pan T R, Wan N, et al. Selenium deficiency induces autophagy in immune organs of chickens[J]. *Biological Trace Element Research*, 2017, 177(1): 159-168.
- [36] Jung C H, Ro S H, Cao J, et al. mTOR regulation of autophagy[J]. *FEBS Letters*, 2010, 584(7): 1287-1295.
- [37] Dan H C, Ebbs A, Pasparakis M, et al. Akt-dependent activation of mTORC1 complex involves phosphorylation of mTOR (mammalian target of rapamycin) by I κ B kinase α (IKK α)[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(36): 25227-25240.
- [38] Melick C H, Jewell J L. Regulation of mTORC1 by upstream stimuli[J]. *Genes*, 2020, 11(9): 989.
- [39] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. *Nature Cell Biology*, 2011, 13(2): 132-141.
- [40] Lee J H, Shin S H, Kang S, et al. A novel activation-induced suicidal degradation mechanism for Akt by selenium[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2008, 21(1): 91-97.
- [41] Yoon S O, Kim M M, Park S J, et al. Selenite suppresses hydrogen peroxide-induced cell apoptosis through inhibition of ASK1/JNK and activation of PI3-K/Akt pathways[J]. *The FASEB Journal*, 2002, 16(1): 1-27.
- [42] Egan D F, Shackelford D B, Mihaylova M M, et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy[J]. *Science*, 2011, 331(6016): 456-461.
- [43] Hawley S A, Davison M, Woods A, et al. Characterization of the AMP-activated protein kinase kinase from rat liver and identification of threonine 172 as the major site at which it phosphorylates AMP-activated protein kinase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(44): 27879-27887.
- [44] Shaw R J, Kosmatka M, Bardeesy N, et al. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(10): 3329-3335.
- [45] He S L, Guo X, Tan W H, et al. Effect of selenium deficiency on phosphorylation of the AMPK pathway in rats[J]. *Biological Trace Element Research*, 2016, 169(2): 254-260.

Effects of dietary selenium level on autophagic degradation of muscle protein of *Oncorhynchus mykiss*

TENG Zhenlei, ZHANG Xuezheng, ZHANG Feng, WANG Li, WANG Long, HUANG Taotao

College of Fisheries, Huazhong Agricultural University; Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education; Engineering Laboratory for Pond Aquaculture of Hubei Province, Wuhan 430070, China

Abstract: Selenium (Se) is an essential trace element for fish, and deficient or excess dietary Se influence their growth. The body growth of fish is mainly influenced by muscle growth, which is mainly determined by the deposition rate of protein in muscle tissue. There is evidence that the autophagic degradation of fish muscle protein is significantly influenced by the level of dietary Se. The autophagy lysosomal pathway is one of the main pathways for muscle protein degradation. Studies have shown that adequate dietary Se (4.0 mg Se/kg diet) inhibited autophagic degradation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. However, the effects of deficient or excess dietary Se on the autophagic degradation of rainbow trout muscle requires further exploration. This study aimed to explore the effects and possible mechanisms of dietary Se level on the growth of rainbow trout. Different amounts of Se yeast (as source of Se) were added to the basal diet to reach deficient (DSe, 0 mg Se/kg diet), adequate (ASe, 4.0 mg Se/kg diet), and excessive (ESe, mg Se/kg diet) Se levels. Results showed that DSe and ESe diets were not conducive to the growth performance of rainbow trout. The final body weight and weight gain rate in the rainbow trout fed DSe and ESe diets were significantly lower than those fed ASe diets ($P<0.05$). The feed conversion ratio of fish in the ASe group was significantly higher than those in DSe and ESe groups. There was no significant difference in condition factor or feed intake. Furthermore, the diameter of rainbow trout muscle fibers in the DSe and ESe groups was significantly lower than those in the ASe group ($P<0.05$). Additionally, dietary Se significantly affected the protein and total Se content of rainbow trout muscle. The autophagy-related gene (*Atg*) expression and autophagy markers (microtubule-associated protein light chain 3 (LC3) and P62 level are important biomarkers for assessing the level of autophagy. Results showed that mRNA levels of *Atg4b*, *Atg12l*, *LC3B*, *Atg13*, *Atg7*, and *Atg5* in the muscle of rainbow trout in DSe and ESe groups were significantly higher than those in the ASe group ($P<0.05$). The LC3-II level of rainbow trout in DSe and ESe groups was significantly induced, while the content of P62 was significantly reduced ($P<0.05$). These results indicate that deficient or excess dietary Se led to increased levels of autophagy in the muscle of rainbow trout. The protein kinase B-target of rapamycin (Akt-TOR) and amp-activated protein kinase (AMPK) pathways are important pathways for autophagy regulation. Both deficient and excessive Se levels significantly inhibited the phosphorylation of Akt and TOR and inhibited the activity of the Akt-TOR pathway. The AMPK activity of rainbow trout muscle was induced in DSe and ESe groups. The malondialdehyde and lipid peroxide contents of rainbow trout muscle were significantly higher in the DSe and ESe groups than that in the ASe group, as revealed through analysis of the oxidation status of rainbow trout muscle. The muscle oxidative stress was intensified, which may have allowed dietary Se to affect the Akt-TOR and AMPK pathways. In summary, this study explored the comprehensive effects of dietary Se on somatic and muscle growth in rainbow trout. The effects and possible mechanisms of dietary Se level on autophagic degradation of rainbow trout muscle protein were also preliminarily revealed. The results can enrich our understanding of the nutritional function of Se and provide a foundation for further research on the mechanism by which Se regulates fish growth.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*; selenium yeast; growth; muscle; protein; autophagy

Corresponding author: ZHANG Xuezheng. E-mail: xuezheng@mail.hzau.edu.cn