

DOI: 10.12264/JFSC2023-0212

5-HMF 对黄条鰺生长、肠道组织结构及生理特性的影响

冯元^{1,2}, 周鹤庭^{1,2}, 徐永江¹, 崔爱君¹, 姜燕¹, 陈伟³

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所深蓝渔业工程联合实验室, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

3. 中科国生(杭州)科技有限公司, 浙江 杭州 310000

摘要: 为了分析在饲料中添加 5-HMF (5-羟甲基糠醛)对黄条鰺(*Seriola aureovittata*)幼鱼生长、肠道组织结构、血清生化特性、消化道菌群结构等方面的影响, 选用 360 尾平均体重(82.33±2.75) g 的黄条鰺, 随机分为 4 组(M0 组、M1 组、M2 组、M3 组), 每组 3 个重复, 每个重复 30 尾鱼, M0 组为对照组, 投喂基础饲料, M1 组、M2 组、M3 组分别投喂添加 5-HMF (添加量分别为 0.25%、0.5%、1%)的基础饲料, 实验持续 6 周。结果显示: 体外 Caco-2 细胞(人结肠腺癌细胞)增殖实验表明, 本研究所用 5-HMF 浓度在安全范围内; M2 和 M3 组实验鱼的增重率和特定生长率显著高于 M0 组($P<0.05$), 且 M2 组肥满度显著高于 M0 组($P<0.05$); M2 组实验鱼肠道肌层厚度和绒毛高度显著高于 M0 组($P<0.05$); M2 和 M3 组血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性显著高于 M0 组($P<0.05$), 而丙二醛(MAD)水平显著降低($P<0.05$); M2 和 M3 组实验鱼血清免疫球蛋白 M (IgM)和碱性磷酸酶(AKP)水平显著高于 M0 组($P<0.05$); M2 组血清溶菌酶(LZM)和酸性磷酸酶(ACP)活性显著高于 M0 组($P<0.05$); 在 M0 组幽门盲囊微生物 Chao1 指数显著高于 M1 组($P<0.05$), 而 M2 组肠道微生物的 Shannon 指数显著高于 M0 和 M1 组($P<0.05$)。综上所述, 饲料中添加 0.5% 的 5-HMF 实验饲料可以提升黄条鰺幼鱼生长性能, 提高血清免疫酶活水平和抗氧化能力, 对肠道组织和菌群结构起到一定的优化调节作用, 可为开发黄条鰺健康养殖技术和绿色饲料添加剂提供理论支撑。

关键词: 5-羟甲基糠醛(5-HMF); 黄条鰺; 肠道组织结构; 生长; 抗氧化; 菌群微生态

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)02-0185-12

近年来, 水产养殖已成为全球粮食供给系统中增速最快的单元, 鱼类是水产养殖的重要脊椎动物类群^[1]。作为人类优质蛋白的重要来源, 影响鱼类产品质量和产量的福利问题日益引起人们的重视^[2]。为提高鱼类养殖福利水平, 科研人员从植物、动物和微生物中提取出生物活性化合物作为绿色添加剂以改善生长性能或提高健康水平^[3-4]。何勤等^[5]给鲤(*Cyprinus carpio*)在饲料中添加 1.0 g/kg 的银杏提取物(GBE)可增强鲤的抗应激和抗氧化能力, 提高免疫相关基因的表达。

Harikrishna 等^[6]研究表明, 在饲料中添加壳寡糖(COS)和海藻酸(AA)可以提高鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)生长性能, 调节肠道微生物群平衡, 提高抗氧化能力和免疫力。5-HMF (5-hydroxymethyl furfural, 5-羟甲基糠醛)是一种含有呋喃环结构的糠醛化合物, 由葡萄糖等单糖化合物在高温或弱酸条件下脱水产生^[7-8], 广泛存在于食品^[9-10]和中药^[11]中。已经有研究报道 5-HMF 具有增加抗氧化活性^[12-14]、抗炎^[15-16]和调节肠道微生物区系^[17]等多种功效。Li 等^[18]研究表明, 给小鼠注射

收稿日期: 2023-11-14; 修订日期: 2024-01-19.

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2023TZXD050); 青岛海洋科技中心山东省专项经费(2022QNLM030001); 泰山产业领军人才工程项目; 中国水产科学研究院基本科研业务费(2023TD51); 现代农业产业技术体系项目(CARS-47).

作者简介: 冯元(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向为海水鱼类养殖福利. E-mail: fengyuan991788@163.com

通信作者: 徐永江, 研究员, 研究方向为海水鱼类繁育与健康养殖技术. E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn

5-HMF 可以通过恢复抗氧化酶含量保护酒精诱导的肝损伤。杨蒙^[17]研究发现在犍牛饲料中添加不同浓度 5-HMF 产品,可起到提高机体免疫力和抗氧化能力,增强红细胞血红蛋白携氧能力,调节肠道微生物等作用。Abdulmalik 等^[19]研究得出 5-HMF 可以迅速从小鼠胃肠道吸收到血液中,透过红细胞膜与镰状细胞血红蛋白(HbS)结合,在较低浓度下可以抑制镰状细胞的形成。研究还发现将含有 5-HMF 的中草药添加到动物日粮中能提高鸡的生长性能,增强机体免疫力,改善鸡肉品质^[20]。但目前尚未有 5-HMF 在水产养殖中应用的报道。

黄条鲷(*Seriola aureovittata*)隶属于鲈形目(Perciformes)、鲷科(Carangidae)、鲷属(*Seriola*),是一种全球海域广泛分布的大洋性经济鱼类,具有长距离洄游特性^[21],由于其生长迅速、营养丰富、肉质鲜嫩等特点,全球消费需求持续增加^[22]。黄条鲷是适宜深远海大型设施养殖的优良鱼种,自 2017 年苗种人工繁育技术突破以来,目前养殖产业已在山东、福建和辽宁兴起^[23]。养殖生产实践中发现,黄条鲷对环境变化和人工操作的应激较强,容易引起生理应激从而影响生长甚至引发病害或死亡,因此有必要筛选或研发可用于增强养殖黄条鲷免疫机能和消减应激反应的绿色生物制剂,以提高健康养殖水平。本实验以黄条鲷为对象,通过在其饲料中添加不同浓度的 5-HMF,探究其对黄条鲷生长性能、肠道组织结构、抗氧化和免疫生理特性、菌群结构等的调控作用。研究结果将为黄条鲷养殖应激消减绿色生物制剂研制和健康养殖技术开发提供理论支撑,也可作为 5-HMF 在海水鱼健康养殖中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 不同浓度 5-HMF 对 Caco-2 细胞增殖的影响

1.1.1 细胞活性实验设计 为确定适宜的饲料添加浓度,探究了不同 5-HMF 浓度对细胞的毒损作用,本实验选取不同浓度(0 mmol、1.6 mmol、3.2 mmol、6.3 mmol)的 5-HMF 干预 Caco-2 细胞(人结直肠腺癌细胞) 24 h,MTT 法检测细胞活力情况。以 1 mL DEME 细胞培养液中加入 0.01 mg

待测样品配置待测母液,母液中 5-HMF 有效浓度为 6.3 mmol/L,各实验组待测液配制及成分浓度见表 1。

表 1 不同实验组待测液配制及成分浓度
Tab. 1 Preparation and component concentrations of test solutions for different experimental groups

实验组 experimental group	实验浓度 experimental concentration	配置比例 configuration ratio
M0	0 mmol/L	DEME
M1	1.6 mmol/L	1 mL 3.2 mmol/L l+1 mL DMEM
M2	3.2 mmol/L	1 mL 母液+1 mL DMEM 1 mL mother liquor+1 mL DMEM
M3	6.3 mmol/L	母液 mother liquor

注:本实验中 M1、M2、M3 组中 5HMF 的有效浓度同添加剂投喂实验中设置的 M1、M2、M3 组中有效浓度一致。
Note: The effective concentration of 5HMF in the M1, M2, and M3 groups in this experiment is consistent with the effective concentration set in the M1, M2, and M3 groups in the additive feeding experiment.

1.1.2 细胞培养与传代 Caco-2 细胞培养在含有 5 mL 的完全 DMEM 培养基(含有 10%的胎牛血清和 1%的青霉素、链霉素抗体)的 T₂₅ 细胞瓶中,培养在 37 ℃、含 5% CO₂ 的恒温培养箱,每 2 天更换一次培养基。

待细胞生长至 T₂₅ 细胞瓶的 90%左右时传代,传代时吸出培养瓶内原有培养基,用 2 mL 无菌 PBS (1×)轻轻冲洗,吸出 PBS 后用胰酶(含 0.25% EDTA)在 37 ℃处理 3 min,处理后加入 2 mL 完全 α-MEM 培养基中止消化,1000 g 离心 5 min 后弃上清,后用 1 mL 完全 α-MEM 培养基重悬细胞,轻吹均匀后,取 0.5 mL 加入到新的含有 4.5 mL 的完全 α-MEM 培养基 T₂₅ 细胞培养瓶中,置于培养箱中继续培养。

1.1.3 5-HMF 对 Caco-2 细胞活性的影响 选取 5-20 代内的 Caco-2 细胞,以每孔 1×10⁴ 个的接种量接种至 96 孔板内培养 24 h 后,吸出孔内原有培养基后加入 100 μL 的含不同浓度待测 5-HMF 培养基(5-HMF 溶解在不含有胎牛血清培养基中),具体浓度为 0 μg/mL、25 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL、400 μg/mL,在培养箱中培养 20 h 后,每孔加入 10 Mlmtt (5 mg/mL),在 37 ℃环境下孵育 4 h,将其吸出孔内培养基,加

入 150 μL DMSO, 摇板 15 min 后于 490 nm 处测定其吸光度, 细胞增殖活性按照如下公式计算:

$$\text{细胞增殖活性} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

式中, $A_{\text{空白}}$ 是样品浓度为 0 g/mL 下的吸光度。

5-HMF 由中科国生(杭州)科技有限公司提供; 培养基及血清等均来自 Biological Industries (Israel Beit Haemek Co., Ltd); MTT 来自 Sigma 公司; Caco-2 细胞来自中国科学院生物化学与细胞生物研究所(上海)。

1.2 实验鱼来源

实验于 2021 年 9 月至 11 月在大连富谷食品有限公司的工厂化养殖车间进行, 实验周期为 6 周。实验所用黄条鰺来自该公司海上网箱基地养殖的体质健康、规格一致的 6 月龄幼鱼, 平均体长(17.35 $\pm$ 0.51) cm, 平均体重(82.33 $\pm$ 2.75) g。

1.3 饲料添加投喂实验设计与管理

实验容器为 3 m^3 圆形玻璃缸水槽, 投喂基础饲料(林兼产业株式会社, 主要成分: 粗蛋白 46%、水分 11%、粗脂肪 6%、粗灰分 19%、钙 1%、总磷 1%、粗纤维 4%、氨基酸 1%)。实验开始前, 实验鱼暂养 7 d, 期间投喂基础饲料, 日投喂 2 次, 分别在 8:00 和 16:00 按体重的 2% 进行投喂, 实验开始前禁食 24 h。挑选 360 条体格均一、平均体重(82.33 $\pm$ 2.75) g 实验鱼随机分 4 组(M0 组、M1 组、M2 组、M3 组), 每组 3 个重复, 每个重复 30 尾实验鱼。饲料添加不同浓度的 5-HMF, 通过喷雾的方式均匀覆盖在饲料表面, 进行低温烘干, 将 5-HMF 附着在基础饲料上, 制成实验饲料。M0 组为对照组(投喂基础饲料), M1 组、M2 组、M3 组分别投喂 0.25%、0.5%、1% 5-HMF 的实验饲料(添加量依据细胞活性实验评估确定)。实验鱼流水养殖, 日换水率 200%~300%。实验养殖条件: 水温 17~22 $^{\circ}\text{C}$, 盐度 31~32, DO>7 mg/L。

1.4 样品采集与处理

实验结束后, 采取 24 h 饥饿处理, 对照组和实验组分别取样 12 尾实验鱼, 用 80 mg/L 的 MS-222 进行麻醉, 测量体长、体重。使用 2 mL 注射器从尾静脉采集血液样本, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置, 以 4000 r/min 离心 10 min, 分离上清液后储存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 备用。解剖实验鱼取消化道(胃、幽门盲囊、

肠道)样品, 去除各组织周围的脂肪等组织并轻轻挤出消化道内残留的食糜, 用预冷的灭菌生理盐水冲洗数次后, 将消化道(胃、幽门盲囊、中肠)分装保存于液氮中, 用于消化道菌群结构分析。利用 Davis 固定液, 保存肠道样品, 用于肠道组织形态特性分析。

1.5 指标测定

1.5.1 生长指标计算

$$\text{增重率}(\text{weight gain ratio, WGR, \%}) =$$

$$[(W_t - W_0) / W_0] \times 100;$$

$$\text{特定生长率}(\text{specific growth ratio, SGR, \% / d}) =$$

$$[(\ln W_t - \ln W_0) / t] \times 100;$$

$$\text{肥满度}(\text{condition factor, CF, g / cm}^3) = W_t / L^3。$$

式中, W_0 、 W_t 分别为实验初始和结束平均鱼体重(湿重, g); t 为实验天数(d); L 为体长(cm)。

1.5.2 肠道组织结构分析 取 Davis 固定的肠道样品, 经过 75%、80%、95%、100% 梯度乙醇脱水、二甲苯透明、常规石蜡包埋与切片(厚度为 5 μm)、苏木精-伊红(HE)染色后中性树胶封片, 置于 Panoramic MIDI II 数字切片扫描仪下观察, 并拍照记录样本。使用 Image J 软件测量肠道肌层厚度、绒毛高度和杯状细胞个数。

1.5.3 血清抗氧化酶活力测定 实验所用抗氧化酶检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所, 参照说明书测定血清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性, 并测定丙二醛(MAD)浓度。

1.5.4 血清免疫相关酶活力测定 免疫球蛋白 M(IgM)、溶菌酶(LZM)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活性使用试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行测定, 测定方法依照试剂盒说明书进行操作。

1.5.5 消化道微生物高通量测序 按照 DNA 提取试剂盒(MagPure Soil DNA KF Kit)操作说明提取消化道样本的基因组 DNA, 利用 Nano Drop 2000 和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的浓度和纯度。以基因组 DNA 为模板, 采用带 barcode 的特异引物 Tks Gflex DNA Polymerase (Takara)进行 PCR, 使用引物 343F (5'-TACGGRAGGCAGCAG-3') 和 798R (5'-AGGGTATCTAATCCT-3') 扩增 16S

V3-V4 区。琼脂糖凝胶电泳检测合格后的扩增序列可利用 Illumina MiSeq PE300 平台进行高通量测序。

1.6 数据统计与分析

将微生物测序获得的原始图像数据文件经过碱基识别分析,使用 FASTQ 格式转化成原始测序序列,在剪切、去杂、拼接、质控和去除嵌合体后得到有效序列。根据序列相似性将其整合成多个可分类操作单元(OTU),当相似度 $\geq 97\%$ 序列被归为一个 OTU 单元。使用 QIIME 软件筛选出每个 OUT 中丰度最大的序列,作为该 OUT 的代表序列,使用 Silva (version123)数据库把所有代表序列对比注释,使用 RDP classifier 软件进行物种对比注释,保留置信区间大于 0.7 的注释结果。

使用 Excel 2021 对实验结果数据进行处理,均以平均值 $\pm$ 标准差(SD)表示。数据统计分析采用 SPSS 26.0 软件,将不同浓度实验组的同一指标使用单因素方差分析(one-way ANOVA)并作 Duncan 多重比较,显著差异水平采用 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 5-HMF 对 Caco-2 细胞增殖的影响

不同浓度 5-HMF 实验组细胞增殖率均与对

照组出现显著性差异($P<0.05$),但各实验组的细胞增殖率均大于 85% (表 2),表明实验所使用的 5-HMF 浓度对细胞无明显生理毒损作用,实验所用 5-HMF 浓度处于安全范围,适宜作为饲料添加浓度。

表 2 不同浓度 5-HMF 对 Caco-2 细胞增殖的影响

Tab. 2 Effects of different concentrations of 5-HMF on the proliferation of Caco-2 cells

$n=6; \bar{x} \pm SD$

实验组别 experimental group	M0	M1	M2	M3
细胞增殖率/% cell proliferation rate	1.00 $\pm$ 0.08 ^b	0.90 $\pm$ 0.05 ^a	0.89 $\pm$ 0.07 ^a	0.85 $\pm$ 0.08 ^a

注:上标不同小写字母表示不同实验组有显著差异($P<0.05$)。本实验中 M1、M2、M3 组的浓度对应添加剂投喂实验中设置的 M1、M2、M3 组浓度。

Note: Different lowercase letters with superscripts indicate significant differences among different experimental groups ($P<0.05$). The concentrations of M1, M2, and M3 groups in this experiment correspond to the concentrations of M1, M2, and M3 groups set in the additive feeding experiment.

2.2 5-HMF 对黄条鰺幼鱼生长的影响

M2 和 M3 组的增重率和特定生长率均显著高于 M0 和 M1 组($P<0.05$),其中以 M3 组的效果最好,而只有 M2 组肥满度显著高于 M0 组($P<0.05$) (表 3)。

表 3 5-HMF 对黄条鰺幼鱼生长指标的影响

Tab. 3 Effects of 5-HMF on growth indexes of juvenile *Seriola aureovittata*

$n=12; \bar{x} \pm SD$

生长指标 growth index	M0	M1	M2	M3
终末体重/g final body weight	140.41 $\pm$ 5.17 ^a	142.48 $\pm$ 6.04 ^a	149.33 $\pm$ 9.29 ^b	150.02 $\pm$ 6.7 ^b
增重率/% weight gain ratio	70.54 $\pm$ 6.27 ^a	73.06 $\pm$ 7.34 ^a	81.37 $\pm$ 11.28 ^b	82.21 $\pm$ 8.14 ^b
特定生长率/(%/d) specific growth ratio	1.27 $\pm$ 0.09 ^a	1.31 $\pm$ 0.10 ^a	1.41 $\pm$ 0.15 ^b	1.43 $\pm$ 0.11 ^b
肥满度/(g/cm ³) condition factor	1.68 $\pm$ 0.11 ^a	1.75 $\pm$ 0.14 ^{ab}	1.80 $\pm$ 0.11 ^b	1.75 $\pm$ 0.09 ^{ab}

注:上标不同小写字母表示不同实验组有显著差异($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters with superscripts indicate significant differences among different experimental groups ($P<0.05$).

2.3 5-HMF 对黄条鰺肠道组织结构的影响

不同组黄条鰺肠道组织形态如图 1 所示。M2 组实验鱼肠道肌层厚度和绒毛高度显著高于 M0、M1 和 M3 组($P<0.05$),杯状细胞数量最多但与其他组无显著差异($P>0.05$)(表 4)。

2.4 5-HMF 对黄条鰺幼鱼血清抗氧化酶活力的影响

与 M0 组相比,实验组实验鱼血清 GSH-PX 水平显著升高($P<0.05$); M2、M3 组血清 SOD 和

CAT 活性显著高于 M0 组($P<0.05$),但 MAD 水平显著低于 M2、M3 组($P<0.05$)(表 5)。

2.5 5-HMF 对黄条鰺幼鱼血清免疫相关酶活性的影响

M2 和 M3 组实验鱼血清 IgM 和 AKP 显著高于 M0 和 M1 组($P<0.05$); M2 组 LZM 和 ACP 活性显著高于 M0 组($P<0.05$),但 M3 组的 LZM 和 ACP 水平显著低于 M0 和 M1 组(表 6)。

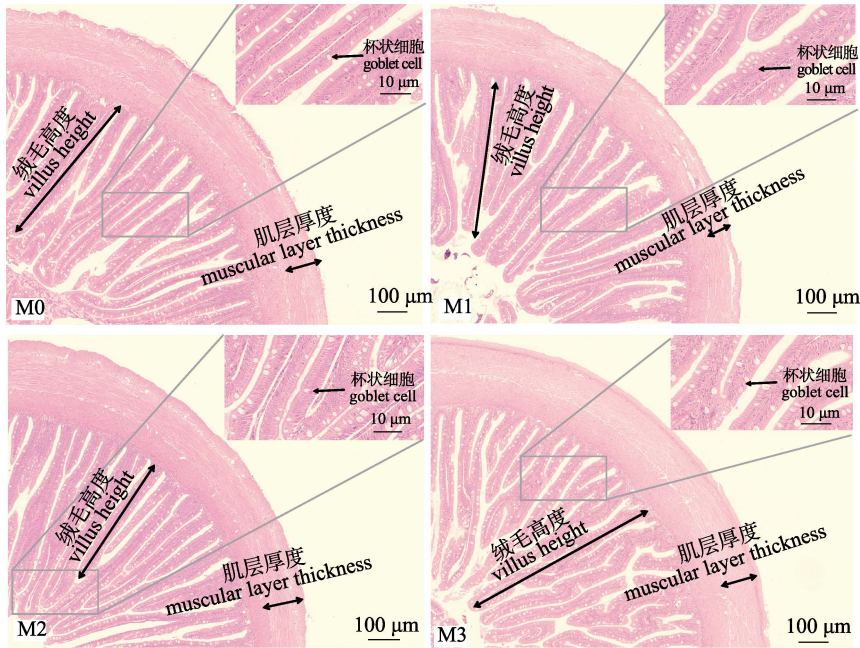


图 1 饲料中添加不同浓度 5-HMF 对黄条鲮肠道组织形态的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of 5-HMF on the intestinal morphology and histology of juvenile *Seriola aureovittata*

表 4 5-HMF 对黄条鲮幼鱼肠道组织结构的影响

Tab. 4 Effects of 5-HMF on the histological and morphometric characteristics of the intestine of juvenile *Seriola aureovittata*
n=6; $\bar{x} \pm SD$

项目 item	M0	M1	M2	M3
肌层厚度/ μm muscular layer thickness	172.79 $\pm$ 5.46 ^a	178.25 $\pm$ 20.74 ^a	211.11 $\pm$ 15.7 ^b	187.19 $\pm$ 14.7 ^a
绒毛高度/ μm villus height	811.29 $\pm$ 56.35 ^a	841.38 $\pm$ 80.19 ^a	941.45 $\pm$ 68.18 ^b	833.66 $\pm$ 69.47 ^a
杯状细胞数量 goblet cell number	46.83 $\pm$ 7.36 ^a	48.83 $\pm$ 6.79 ^a	49.83 $\pm$ 9.3 ^a	49.17 $\pm$ 6.97 ^a

注: 上标不同小写字母表示不同实验组有显著差异($P<0.05$).
Note: Different lowercase letters with superscripts indicate significant differences among different experimental groups ($P<0.05$).

表 5 5-HMF 对黄条鲮幼鱼血清抗氧化酶活性的影响

Tab. 5 Effects of 5-HMF on the serum antioxidant enzymes activities of juvenile *Seriola aureovittata*
n=3; $\bar{x} \pm SD$

项目 item	M0	M1	M2	M3
谷胱甘肽过氧化氢酶/(U/mL) GSH-Px	146.77 $\pm$ 3.2 ^a	175.52 $\pm$ 5.87 ^b	227.46 $\pm$ 1.79 ^d	217.61 $\pm$ 2.69 ^c
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	62.44 $\pm$ 1.98 ^a	64.53 $\pm$ 2.06 ^a	81.39 $\pm$ 1.28 ^b	81.67 $\pm$ 2.69 ^b
过氧化氢酶/(U/mL) CAT	3.58 $\pm$ 0.34 ^a	4.03 $\pm$ 0.41 ^a	6.53 $\pm$ 0.37 ^b	5.96 $\pm$ 0.47 ^b
丙二醛/(nmol/mL) MDA	11.08 $\pm$ 0.14 ^b	10.50 $\pm$ 0.25 ^b	9 $\pm$ 0.25 ^a	8.83 $\pm$ 0.58 ^a

注: 上标不同小写字母表示不同实验组有显著差异($P<0.05$).
Note: Different lowercase letters with superscripts indicate significant differences among different experimental groups ($P<0.05$).

表 6 5-HMF 对黄条鲮幼鱼血清免疫相关酶活性的影响

Tab. 6 Effects of 5-HMF on serum immune related enzymes activities of juvenile *Seriola aureovittata*
n=3; $\bar{x} \pm SD$

项目 item	M0	M1	M2	M3
溶菌酶/($\mu\text{g/mL}$) LZM	29.17 $\pm$ 0.76 ^b	28.83 $\pm$ 0.76 ^b	31.83 $\pm$ 1.53 ^c	25.67 $\pm$ 0.58 ^a
免疫球蛋白 M/($\mu\text{g/mL}$) IgM	974.76 $\pm$ 31.24 ^a	957.77 $\pm$ 18.74 ^a	1400.55 $\pm$ 20.25 ^c	1248.01 $\pm$ 57.58 ^b
碱性磷酸酶/(U/100mL) AKP	1.53 $\pm$ 0.33 ^a	1.76 $\pm$ 0.16 ^a	2.4 $\pm$ 0.18 ^b	2.69 $\pm$ 0.05 ^b
酸性磷酸酶/(U/100mL) ACP	6.68 $\pm$ 0.45 ^b	7.69 $\pm$ 0.27 ^{bc}	7.98 $\pm$ 0.41 ^c	5.01 $\pm$ 0.93 ^a

注: 上标不同小写字母表示不同实验组有显著差异($P<0.05$).
Note: Different lowercase letters with superscripts indicate significant differences among different experimental groups ($P<0.05$).

2.6 5-HMF 对黄条鰺消化道菌群结构的影响

以添加不同浓度 5-HMF 的饲料投喂黄条鰺幼鱼后, 消化道微生物测序数据表明 12 个处理组的 coverage 指数均接近 1, 说明测序数据可靠(表 7)。M0 组幽门盲囊微生物 Chao1 指数显著高于 M1 组($P<0.05$)。M2 组肠道微生物的 Shannon 指数显著高于 M0 和 M1 组($P<0.05$)。

2.7 消化道菌群结构特征

在门水平上, 黄条鰺幼鱼消化道中的菌群丰

度前 5 位为拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和脱硫菌门(Desulfobacterota)。各实验组中拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门和放线菌门的相对丰度均达到 90%以上。在幽门盲囊中, M0 组变形菌门和放线菌门相对丰度高于实验组, 而拟杆菌门的相对丰度低于实验组(图 2)。

在属水平上, 黄条鰺幼鱼消化道的菌群组成相似, 主要是由拟杆菌属(*Bacteroides*)、*Muribaculaceae*、

表 7 5-HMF 对黄条鰺幼鱼消化道菌群 alpha 多样性指数的影响
Tab. 7 Effects of 5-HMF on alpha diversity of the gastrointestinal bacteria of juvenile *Seriola aureovittata*

$n=3$; $\bar{x}\pm SD$

分组 group	goods_coverage	Shannon	Simpson	Chao1
M0S	0.993±0 ^a	7.179±0.106 ^a	0.983±0.001 ^a	1154.257±32.398 ^a
M1S	0.994±0 ^b	7.092±0.010 ^a	0.981±0.001 ^a	1055.4988±77.997 ^a
M2S	0.994±0 ^b	7.159±0.098 ^a	0.982±0.002 ^a	1082.302±69.585 ^a
M3S	0.994±0 ^b	7.238±0.035 ^a	0.983±0.001 ^a	1089.228±107.982 ^a
M0P	0.994±0 ^a	7.369±0.239 ^a	0.984±0.002 ^a	1134.587±29.569 ^b
M1P	0.994±0 ^b	7.129±0.098 ^a	0.981±0.001 ^a	1012.155±29.525 ^a
M2P	0.994±0 ^b	7.126±0.153 ^a	0.981±0.003 ^a	1034.250±58.744 ^{ab}
M3P	0.994±0.001 ^{ab}	7.230±0.111 ^a	0.983±0.001 ^a	1104.301±71.102 ^{ab}
M0G	0.994±0 ^{ab}	7.190±0.014 ^a	0.983±0.002 ^a	1028.265±32.789 ^a
M1G	0.994±0.001 ^{ab}	7.176±0.118 ^a	0.982±0.002 ^a	1122.356±85.304 ^a
M2G	0.993±0.001 ^{ab}	7.660±0.386 ^b	0.987±0.004 ^a	1277.362±215.104 ^a
M3G	0.993±0.002 ^{ab}	7.238±0.197 ^{ab}	0.983±0.002 ^a	1145.733±194.459 ^a

注: 上标不同小写字母表示不同浓度实验组同一部位之间有显著差异($P<0.05$)。S、P、G 分别为胃、幽门盲囊、肠道, M1、M2、M3 表示不同实验组, M0 为对照组。

Note: Different lowercase letters of superscript indicate that there are significant differences between the same part of the experimental group with different concentrations ($P<0.05$). S, P and G represent the stomach, pyloric caecum and intestine M0 represent control group, while M1, M2 and M3 represent different experimental groups.

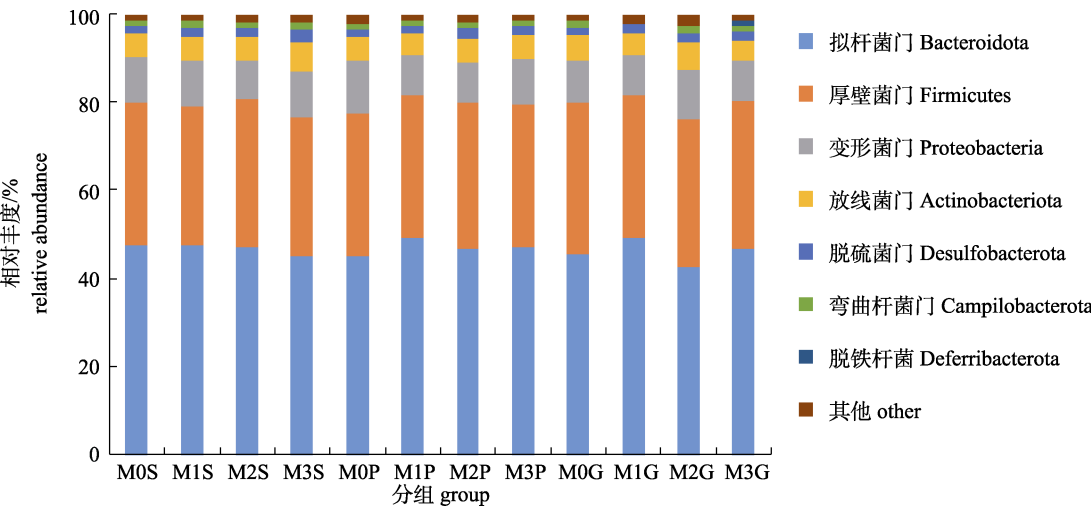


图 2 基于门水平的黄条鰺幼鱼消化道微生物群落结构

S、P、G 分别为胃、幽门盲囊、肠道, M1、M2、M3 表示不同实验组, M0 为对照组。

Fig. 2 Gastrointestinal microbial community structure based on phylum level

S, P and G represent the stomach, pyloric caecum and intestine of juvenile *Seriola aureovittata*, respectively, while M1, M2 and M3 represent different experimental groups, M0 represents the control group.

Lachnoclostridium、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、副杆菌属(*Parabacteroides*)、回肠杆菌属(*Ileibacterium*)、*Lachnospiraceae_NK4A136_group*、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、普拉梭菌属(*Faecalibaculum*)等组成。与 M0 组相比, 实验组的幽门盲囊中拟杆菌属和 *Muribaculaceae* 等优势菌属比例有所增加, 而 *Escherichia-Shigella* 等致病菌属丰度下降。(图 3)

3 讨论

本研究表明利用不同浓度 5-HMF 处理

Caco-2 细胞后, 细胞增殖率虽与对照组有显著差异但细胞增殖率仍大于 85%, 表明实验所使用的 5-HMF 浓度对细胞无明显生理毒损作用。Janzowski 等^[24]研究发现 5-HMF 对 Caco-2 细胞有弱毒性, 但并没有观察到遗传毒性和 DNA 损伤作用, 因此 5-HMF 即使达到细胞毒性浓度极限值 (80 mmol/L)也不会对人类构成严重的健康风险。Abraham 等^[25]研究也发现给小鼠每天投喂添加量为 80~100 mg/kg 的 5-HMF 也没有观察到急性和亚急性中毒症状。

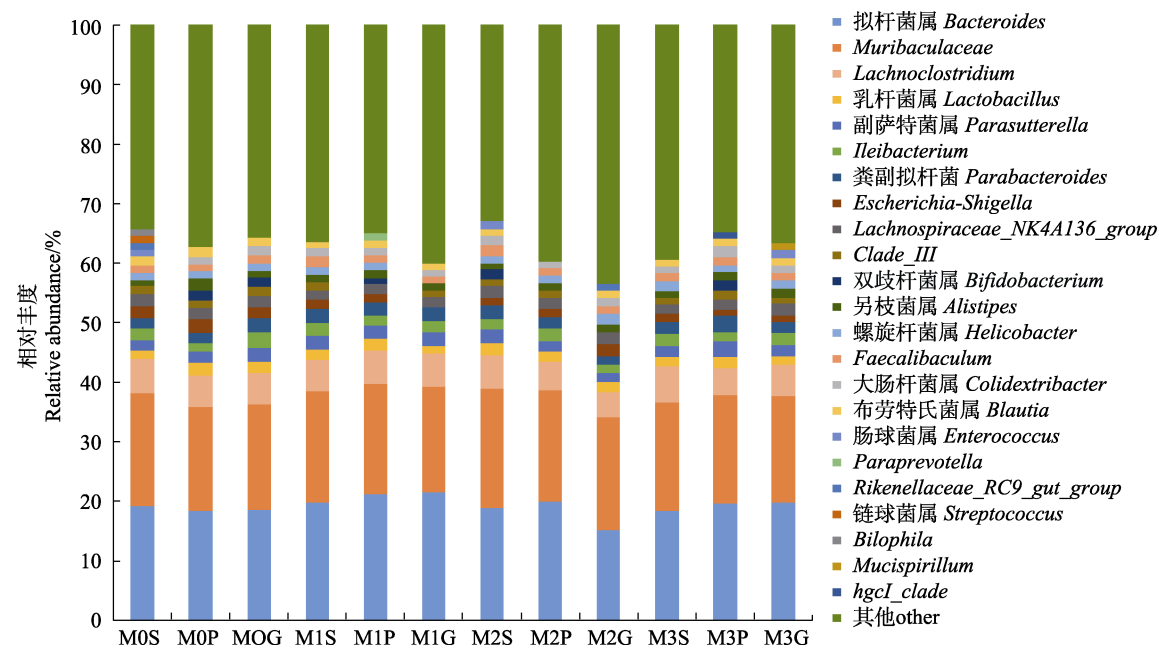


图 3 基于属水平的消化道微生物群落结构

S、P、G 分别为胃、幽门盲囊、肠道, M1、M2、M3 表示不同实验组, M0 为对照组。

Fig. 3 Gastrointestinal microbial community structure based on genus level

S, P and G represent the stomach, pyloric caecum and intestine of juvenile *Seriala aureontta*, respectively, while M1, M2 and M3 represent different experimental groups, M0 represents the control group.

先前研究发现, 5-HMF 可提高脊椎动物红细胞变形能力, 促进血液流动, 显著改善血液循环^[26], 使机体的生长和代谢活动增加, 提高动物生长性能。如给牛、羊添加含有 5-HMF 的中草药可以提高其生长性能和免疫能力^[27-28]。本研究发现, 在饲料中添加适量 5-HMF 能够促进黄条鰻生长, 随着饲料中 5-HMF 添加量的增加, 实验鱼增重率和特定生长率呈升高趋势, 同时也不同程度提高了黄条鰻的肥满度, 表明 5-HMF 可能在生

长代谢方面起到了重要的调控作用, 这也是 5-HMF 在促进鱼类养殖生长机能方面的首次应用报道, 具体的机理有待于进一步研究探索。

肠道是鱼类消化和营养吸收的主要器官, 其形态结构对于鱼类生长发育至关重要^[29], 肌层越厚, 肠道绒毛越高, 营养物质吸收能力和消化利用率越高^[30-31]。本研究发现, 实验鱼肠道的肌层厚度、绒毛高度和杯状细胞数目均高于对照组, 其中以 M2 组的效果最为明显, 表明饲料中添加

5-HMF 改善了实验鱼的肠道组织结构, 促进了营养物质吸收和利用, 且具有剂量依赖效应。有研究指出肠道微生物群可以通过促进血管形成、绒毛厚度增加、黏液产生等驱动肠道发育^[32], 推测 5-HMF 诱导益生菌产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)等代谢物质, 对肠道绒毛增殖和修复起促进作用, 具体的作用途径及可能的机理有待于进一步探究。

鱼类抗氧化功能是将机体内因代谢异常而产生多余的活性氧(ROS)清除, 从而维持机体抗氧化和氧化能力平衡^[33-34]。SOD 通过将机体产生多余的 $O_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 来消除超氧阴离子自由基^[35], CAT 可以催化 H_2O_2 分解成 H_2O 和 O_2 , 还能抑制 H_2O_2 转化成 $\cdot OH$ ^[36]。GSH-Px 能够阻止自由基对磷脂膜和其他分子的损害^[37]。本研究发现, M2 和 M3 组实验鱼血清中 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性显著高于 M0 和 M1 组, 表明饲料中添加 0.5% 以上的 5-HMF 可有显著提高黄条鰺幼鱼抗氧化相关酶活水平, 有效应对过氧化反应引发的 ROS 和自由基损伤, 从而提升机体抗氧化性能。同时, M2 组 GSH-Px 酶活水平最高, 表明 0.5% 的 HMF 饲料添加量对于机体自由基损伤的防护作用最佳。血清 MDA 浓度反映了机体活性氧自由基的水平^[38]。笔者也发现使用添加了 0.5% 和 1% 的 5-HMF 的饲料后, 实验鱼血清中 MDA 含量浓度显著下降, 表明饲料中添加一定量的 5-HMF 有效降低了脂质过氧化物的积累, 从而起到对组织过氧化效应的保护作用。先前研究发现, 在高脂饲料中添加 5-HMF, 可以显著提高小鼠中血浆 CAT 活性, 并显著降低 MDA 含量^[39]。赵玲^[38]的研究表明, 5-HMF 通过增加抗氧化能力和抑制促炎因子的表达, 从而延缓肝脏细胞的损伤, 同时可以提高抗氧化酶的含量起到抗 DNA 氧化损伤的作用。这些与本研究结果相似, 但 5-HMF 对鱼类抗氧化机能的提升是否与哺乳动物相似尚有待于深入研究确证。

鱼体抵御病原菌的侵害时, 体内的非特异性免疫系统率先发挥作用^[40]。IgM 有杀菌、免疫调理和激活补体等作用^[41], 对犊牛研究表明在饲料中添加 5-HMF 可显著提高血清中免疫球蛋白含

量从而调节免疫机能^[17]。本研究也发现, M2 和 M3 组实验鱼血清中的 IgM 活性显著高于 M0 组, 表明 5-HMF 的摄入提升了黄条鰺幼鱼应对病原菌入侵的能力和免疫水平。ACP 和 AKP 是溶酶体的重要标志酶, 参与机体内信号传导和磷酸酯代谢等功能调节^[42]。LZM 可以将细菌细胞壁上的黏多糖溶解, 从而发挥重要的免疫作用^[43]。笔者发现 M2 组的血清 LZM 活性以及 ACP 和 AKP 活性均显著高于 M0 组, 表明 5-HMF 提升了黄条鰺幼鱼血清中免疫相关酶的活性, 提高了机体免疫信号转导和应对病原菌侵害的能力, 从而提高了免疫机能, 具体的作用途径和机理尚有待于进一步验证。

消化道微生物会显著影响宿主机体的生理代谢过程^[44], 对水产养殖动物健康起着重要的调控作用。在本研究中, M0 组实验鱼幽门盲囊中微生物 chao1 指数显著高于 M1 组, 而在肠道组织中, M2 组实验鱼微生物的 shannon 指数显著高于 M0 和 M1 组, 说明饲料中添加 5-HMF 可以改变黄条鰺消化道内菌群的结构及多样性。本研究还发现, 在饲料中添加不同浓度 5-HMF 后, 黄条鰺幼鱼消化道菌群虽然在门和属水平上种类的组成相似且不存在显著性差异, 但实验组实验鱼幽门盲囊中拟杆菌属和 *Muribaculaceae* 等优势菌属比例有所增加, 而 *Escherichia-Shigella* 等致病菌属丰度下降。拟杆菌属有助于消化食物并给寄主提供所需的能量和营养, 还能促进其他菌群的生长以保持消化道内菌群平衡^[45], *Muribaculaceae* 属于 S24-7 家族, 涉及复杂的碳水化合物降解^[46]。由此, 可初步推断饲料中添加 5-HMF 改善了黄条鰺幼鱼肠道菌群的结构, 并对肠道中营养消化和能量供给相关菌群结构起到了积极的优化作用, 并对潜在致病菌的丰度起到了抑制调控作用。下一步, 将从 5-HMF 与消化道中其他微生物的互作机制方面进行深入研究, 以期阐释 5-HMF 在黄条鰺消化道微生态健康调控中的作用和科学的应用提供更深层面的理论支撑。

4 结论

综上所述, 在饲料中添加 5-HMF 实验饲料有

利于提升黄条鰺幼鱼的生长性能, 提高血清免疫和抗氧化相关酶活力, 对肠道组织形态和消化道菌群结构也起到一定的优化调节作用。基于本研究结果, 综合肥满度、肠道结构指标、消化道菌群及血清 GSH-Px、CAT、SOD、LZM、IgM、ACP 等酶活水平数据, 认为在本实验条件下在饲料中添加 0.5%浓度的 5-HMF 对黄条鰺幼鱼的生长和生理特性调控效果最佳, 结果可为黄条鰺绿色饲料添加剂研制和健康养殖技术开发提供科学依据。

参考文献:

- [1] Carbone D, Faggio C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 54: 172-178.
- [2] Bovenkerk B, Meijboom F L B. Fish welfare in aquaculture: Explicating the chain of interactions between science and ethics[J]. Journal of Agricultural and Environmental Ethics, 2013, 26(1): 41-61.
- [3] Vijayaram S, Sun Y Z, Zuurro A, et al. Bioactive immunostimulants as health-promoting feed additives in aquaculture: A review[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2022, 130: 294-308.
- [4] Dawood M A O, Koshio S, Esteban M Á. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: A review[J]. Reviews in Aquaculture, 2018, 10(4): 950-974.
- [5] He Q, Jia R, Cao L P, et al. Effect of *Ginkgo*, *Ginkgo biloba*, leaf extracts on growth performance, antioxidant function, and immune-related gene expressions of common carp, *Cyprinus carpio*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(3): 326-336. [何勤, 贾睿, 曹丽萍, 等. 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[J]. 中国水产科学, 2021, 28(3): 326-336.]
- [6] Harikrishnan R, Devi G, Van Doan H, et al. Immunomodulation effect of alginic acid and chitooligosaccharides in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2022, 128: 592-603.
- [7] Fallico B, Arena E, Zappala M. Degradation of 5-hydroxymethylfurfural in honey[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(9): C625-C631.
- [8] Cao G, Cai H, Cai B C, et al. Effect of 5-hydroxymethylfurfural derived from processed *Cornus officinalis* on the prevention of high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells and its mechanism[J]. Food Chemistry, 2013, 140(1-2): 273-279.
- [9] Ameer L A, Mathieu O, Lalanne V, et al. Comparison of the effects of sucrose and hexose on furfural formation and browning in cookies baked at different temperatures[J]. Food Chemistry, 2007, 101(4): 1407-1416.
- [10] Rada-Mendoza M, Sanz M L, Olano A, et al. Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods[J]. Food Chemistry, 2004, 85(4): 605-609.
- [11] Wang M, Wang Y X, Wu Y R, et al. Research progress on content changes of 5-hydroxymethyl furfural during processing of Chinese medicine and its pharmacological effects[J]. Drug Evaluation Research, 2020, 43(11): 2319-2327. [王梅, 王越欣, 武英茹, 等. 5-羟甲基糠醛在中药加工过程中的变化及药理作用研究概况[J]. 药物评价研究, 2020, 43(11): 2319-2327.]
- [12] Li Y X, Li Y, Qian Z J, et al. *In vitro* antioxidant activity of 5-HMF isolated from marine red alga *Laurencia undulata* in free-radical-mediated oxidative systems[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 19(11): 1319-1327.
- [13] Ya B L, Zhang L, Zhang L, et al. 5-hydroxymethyl-2-furfural prolongs survival and inhibits oxidative stress in a mouse model of forebrain ischemia[J]. Neural Regeneration Research, 2012, 7(22): 1722-1728.
- [14] Wang M Y, Zhao F M, Peng H Y, et al. Investigation on the morphological protective effect of 5-hydroxymethylfurfural extracted from wine-processed *Fructus corni* on human L02 hepatocytes[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 130(2): 424-428.
- [15] Kitts D D, Chen X M, Jing H. Demonstration of antioxidant and anti-inflammatory bioactivities from sugar-amino acid Maillard reaction products[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(27): 6718-6727.
- [16] Kong F H, Lee B H, Wei K. 5-hydroxymethylfurfural mitigates lipopolysaccharide-stimulated inflammation via suppression of MAPK, NF- κ B and mTOR activation in RAW 264.7 cells[J]. Molecules, 2019, 24(2): 275.
- [17] Yang M. Effects of 5-hydroxymethylfurfural on growth performance, rumen fermentation, blood indexes and fecal microorganisms of pre-weaning calves[D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2022. [杨蒙. 5-羟甲基糠醛对哺乳犊牛生长性能、瘤胃发酵、血液指标及粪便微生物的影响[D]. 保定: 河北农业大学, 2022.]
- [18] Li W, Qu X N, Han Y, et al. Ameliorative effects of

- 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) from *Schisandra chinensis* on alcoholic liver oxidative injury in mice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(2): 2446-2457.
- [19] Abdulmalik O, Safo M K, Chen Q K, et al. 5-hydroxymethyl-2-furfural modifies intracellular sickle haemoglobin and inhibits sickling of red blood cells[J]. *British Journal of Haematology*, 2005, 128(4): 552-561.
- [20] Yan R X, Tang D F, Jin H W, et al. Application of Chinese herbal medicine feed additives in chicken production[J]. *China Feed*, 2021(7): 50-55. [闫如霞, 唐德富, 金贺伟, 等. 中草药饲料添加剂在鸡生产中的应用[J]. *中国饲料*, 2021(7): 50-55.]
- [21] Liu X Z, Xu Y J, Li R, et al. Analysis and evaluation of nutritional composition of the muscle of Yellowtail Kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 128-135. [柳学周, 徐永江, 李荣, 等. 黄条鰺 (*Seriola aureovittata*)肌肉营养组成分析与评价[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(1): 128-135.]
- [22] Xu Y J, Wang K J, Jiang Y, et al. Comparative analysis of the muscle texture characteristics and nutrient compositions among three *Seriola* fishes[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, 29(7): 1022-1032. [徐永江, 王开杰, 姜燕, 等. 三种鰺属鱼类肌肉质地特性及营养成分比较分析[J]. *中国水产科学*, 2022, 29(7): 1022-1032.]
- [23] Li Y. Molecular cloning and expression patterns of leptin and its receptor genes and their roles in feeding regulation of *Seriola aureovittata*[D]. Tianjin: Tianjin Agricultural University, 2021. [李影. 黄条鰺 leptin 及受体基因的克隆表达与摄食调控功能研究[D]. 天津: 天津农学院, 2021.]
- [24] Janzowski C, Glaab V, Samimi E, et al. 5-Hydroxymethylfurfural: Assessment of mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2000, 38(9): 801-809.
- [25] Abraham K, Gürtler R, Berg K, et al. Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food[J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2011, 55(5): 667-678.
- [26] Kubo M, Asano T, Matsuda H, et al. Studies on *Rehmannia radix*. III. The relation between changes of constituents and improvable effects on hemorheology with the processing of roots of *Rehmannia glutinosa*[J]. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 1996, 116(2): 158-168.
- [27] Li M B, Zhang L Z, Liu H Y, et al. Research progress on the effects of Chinese herbal medicines and their extracts and their application in cattle production[J]. *Feed Research*, 2021, 44(16): 148-150. [李明博, 张龙舟, 刘环宇, 等. 中草药及其提取物的作用及在牛生产中的应用研究进展[J]. *饲料研究*, 2021, 44(16): 148-150.]
- [28] Zhong P. Application of Chinese herbal feed additives in mutton sheep production[J]. *Modern Animal Husbandry Science and Technology*, 2022(1): 1-3. [钟鹏. 中草药饲料添加剂在肉羊生产中的应用[J]. *现代畜牧科技*, 2022(1): 1-3.]
- [29] He J J, Wang P, Feng J, et al. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth, intestinal histology, and intestinal microbiota of large yellow croaker, *Larimichthys crocea*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(2): 361-372. [何娇娇, 王萍, 冯建, 等. 玉米蛋白粉对大黄鱼生长、肠道组织结构及肠道菌群的影响[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(2): 361-372.]
- [30] Caspary W F. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1992, 55(1 Suppl): 299S-308S.
- [31] Yang L X, Xu H Z, Liu C J, et al. Effect of vitamin C on the structure and function of the digestive system of *Andrias davidianus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2023, 10: 159-170. [杨理想, 徐杭忠, 刘长江, 等. 维生素 C 对大鲵消化系统结构和功能的影响[J]. *水产学报*, 2023, 10: 159-170.]
- [32] Becattini S, Taur Y, Pamer E G. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease[J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2016, 22(6): 458-478.
- [33] Zhao H X, Cao J M, Huang Y H, et al. Effects of dietary nucleotides on growth, physiological parameters and antioxidant responses of Juvenile Yellow Catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(1): 214-222.
- [34] Huang J B, Chi Y, Zhou C P, et al. Effects of dietary alginate oligosaccharide on growth performance, anti-oxidative capacity and immune function of juvenile *Trachinotus ovatus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2022, 18(3): 118-128. [黄健彬, 迟艳, 周传朋, 等. 褐藻寡糖对卵形鲳鲹幼鱼生长性能、抗氧化能力和免疫功能的影响[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(3): 118-128.]
- [35] Winston G W, Di Giulio R T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms[J]. *Aquatic Toxicology*, 1991, 19(2): 137-161.
- [36] Gebicka L, Krych-Madej J. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2019, 197: 110699.
- [37] Ighodaro O M, Akinloye O A. First line defence antioxidants-

- superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid[J]. Alexandria Journal of Medicine, 2018, 54(4): 287-293.
- [38] Zhao L. *In vitro* antioxidant and antiproliferative activities of 5-hydroxymethylfurfural and its mechanism[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014. [赵玲. 5-羟甲基糠醛抗氧化活性及其抑制肿瘤细胞增殖的作用机制[D]. 广州: 华南理工大学, 2014.]
- [39] Zhao L, Zhang L, Li Y L, et al. Effects of 5-hydroxymethylfurfural on learning-memory and brain free radical metabolism in cerebral ischemia-reperfusion model mice[J]. China Pharmacy, 2007, 18(13): 974-976. [赵玲, 张兰, 李雅莉, 等. 5-羟甲基糠醛对脑缺血再灌注模型小鼠学习记忆及脑部自由基的影响[J]. 中国药房, 2007, 18(13): 974-976.]
- [40] Zhang C N, Pu C C, Yuan X Y, et al. Effect of dietary fructooligosaccharide and *Lactobacillus delbrueckii* on growth performance, blood index, and antioxidant activity in koi carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(8): 1001-1010. [张春暖, 普畅畅, 袁小玉, 等. 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤生长、血液指标和抗氧化指标的影响[J]. 中国水产科学, 2021, 28(8): 1001-1010.]
- [41] Yu W, Yang Y K, Chen Z B, et al. Dietary effect of *Spirulina platensis* on growth performance, digestive enzymes, haematological indices and antioxidant capacity of Chinese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) [J]. Southern Fisheries Science, 2019, 15(3): 57-67. [虞为, 杨育凯, 陈智彬, 等. 饲料中添加螺旋藻对花鲈生长性能、消化酶活性、血液学指标及抗氧化能力的影响[J]. 南方水产科学, 2019, 15(3): 57-67.]
- [42] Yan F J, Tian X L, Dong S L, et al. Growth performance, immune response, and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* fed a supplementary diet of the potential probiotic *Paracoccus marcusii* DB11 [J]. Aquaculture, 2014, 420-421: 105-111.
- [43] Kong Y X, Tian J X, Peng S B, et al. Effects of three kinds of lactic acid bacteria on growth, antioxidant and immune function of *Channa argus* [J]. Journal of Fisheries, 2021, 45(10): 1764-1774. [孔雨昕, 田佳鑫, 彭思博, 等. 3 种乳酸菌对乌鳢生长、抗氧化及免疫功能的影响[J]. 水产学报, 2021, 45(10): 1764-1774.]
- [44] Martínez-Córdova L R, Emerenciano M, Miranda-Baeza A, et al. Microbial-based systems for aquaculture of fish and shrimp: An updated review [J]. Reviews in Aquaculture, 2015, 7(2): 131-148.
- [45] Wu S G, Wang G T, Angert E R, et al. Composition, diversity, and origin of the bacterial community in grass carp intestine [J]. PLoS One, 2012, 7(2): e30440.
- [46] Lagkouvardos I, Lesker T R, Hitch T C A, et al. Sequence and cultivation study of *Muribaculaceae* reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family [J]. Microbiome, 2019, 7(1): Article No.28.

Effects of 5-HMF on growth, intestinal tissue structure, physiological characteristics of juvenile yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)

FENG Yuan^{1,2}, ZHOU Heting^{1,2}, XU Yongjiang¹, CUI Aijun¹, JIANG Yan¹, CHEN Wei³

1. Deep Blue Fisheries Engineering Joint Laboratory, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
2. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Zhongke Guosheng (Hangzhou) Technology Co., Ltd, Hangzhou 310000, China

Abstract: This study was conducted to analyze the effects of 5-HMF (5-hydroxymethylfurfural) on the growth performance, intestinal histology, serum biochemical characteristics, and gastrointestinal microecology of juvenile yellowtail kingfish. A total of 360 6-month-old yellowtail kingfish juveniles with an initial mean body mass of (82.33±2.75) g were randomly divided into four groups (M0 group, M1 group, M2 group, and M3 group) with

three replicates per group and 30 fish assigned in each replicate. The M0 group was the control group and was fed the basic diet, whereas the M1, M2, and M3 groups were fed the experimental diets (0.25% 5-HMF, 0.5% 5-HMF, and 1% 5-HMF, respectively). The experiment lasted for six weeks. The results showed that the proliferation experiment of Caco-2 cells (human colorectal adenocarcinoma cells) *in vitro* showed that the concentration of 5-HMF used in this study was within the safe range. The weight gain rate and specific growth rate of the M2 and M3 groups were significantly higher than those of the M0 group ($P<0.05$) and the plumpness of the M2 group was significantly higher than that of the M0 group ($P<0.05$). The muscle layer thickness and villus height of the M2 group were significantly higher than those of the M0 group ($P<0.05$). The activities of glutathione peroxidase (GSH-PX), superoxide dismutase (SOD), and catalase (CAT) in the serum of M2 and M3 groups were significantly higher than those in the serum of M0 group ($P<0.05$), while the level of malondialdehyde (MAD) was significantly lower ($P<0.05$). The serum levels of immunoglobulin M (IgM) and alkaline phosphatase (AKP) in M2 and M3 groups were significantly higher than those in the M0 group ($P<0.05$). The activities of lysozyme (LZM) and acid phosphatase (ACP) in the M2 group were significantly higher than those in the M0 group ($P<0.05$). In the M0 group, the Chao1 index of pyloric caecum microbiota was significantly higher than that of the M1 group ($P<0.05$), while the Shannon index of intestinal microbiota in the M2 group was significantly higher than that in the M0 and M1 groups ($P<0.05$). The results of this study showed that the addition of 0.5% 5-HMF to feed could improve the growth performance and promote serum immune levels and antioxidant capacity of yellowtail kingfish. 5-HMF may have played a role in optimizing and regulating the intestinal morphology and microbial community structure of juvenile yellowtail kingfish. This provides theoretical support for the development of healthy breeding technologies and green feed additives for yellowtail kingfish.

Key words: 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF); *Seriola aureovittata*; intestinal histology; growth; antioxidant; microbial microecology

Corresponding author: XU Yongjiang. E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn