

doi: 10.7541/2023.2022.0414

大豆皂甙对杂交黄颡鱼生长、免疫及肠道健康的影响

王岳松¹ 李 鸿² 矣林圆¹ 刘婧文¹ 沈志刚¹ 杨慧君¹ 袁勇超¹

(1. 华中农业大学水产学院, 农业农村部淡水生物繁育重点实验室, 武汉 430070; 2. 湖南省水产科学研究所, 长沙 410153)

摘要: 为探究大豆皂甙对杂交黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*♀×*Pelteobagrus vachelli*♂)生长、免疫及肠道健康的影响, 在鱼粉、虾粉及玉米浓缩蛋白为蛋白源的基础饲料中分别添加0、0.20%、0.40%、0.80%、1.60%和4.00%的大豆皂甙, 配制成6种等氮等脂的饲料饲喂初始质量为(1.0±0.17) g的杂交黄颡鱼, 分别记为D0、D0.2、D0.4、D0.8、D1.6和D4.0等处理组, 每组设3个重复, 每个重复30尾鱼。60d饲养试验结束后测定生长指标、体组成、血清免疫、抗氧化酶活性和肠道炎症因子表达量等变化。结果显示: (1) 与D0组相比, 添加大豆皂甙的处理组增重率和特定生长率均显著性降低($P<0.05$), 饲料系数显著性升高($P<0.05$)。试验鱼体蛋白含量和肌肉脂肪含量先降低后升高, 体脂含量和肌肉蛋白含量先上升后下降。(2) 随着饲料皂甙水平的提高, 血清T-AOC持续降低, AKP、NO和CAT活性先升高后降低, ACP活性先降低后升高。(3) D0.8、D1.6和D4.0组试验鱼肝脏ACP活性显著高于其他组($P<0.05$); D0和D4.0组试验鱼肝脏CAT活性显著低于其他组($P<0.05$); 肝脏T-AOC活性表现出先升高后降低的趋势; 肝脏MDA含量随皂甙水平升高逐渐降低, 添加皂甙的处理组均显著低于D0组($P<0.05$); 肝脏T-SOD表现出先降低后升高的趋势。(4) 随着日粮皂甙水平的不断提高, 远端肠道TGF-β和IL-10 mRNA表达不断下调, IL-1β、IL-8、IL-15和TNF-α mRNA表达先上调后下调。综上所述, 在饲料中添加一定水平的大豆皂甙对杂交黄颡鱼的生长性能、免疫及抗氧化能力和肠道健康产生了明显的负面影响, 当大豆皂甙水平超过0.40%后, 杂交黄颡鱼生长和免疫均受到抑制, 出现了典型的肠炎现象。因此在黄颡鱼商业养殖中选择饲料需要控制皂甙含量不超过0.40%。

关键词: 大豆皂甙; 生长; 免疫; 肠道健康; 杂交黄颡鱼

中图分类号: S965.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)09-1386-10



蛋白质是水产动物生长过程中所需的重要营养与能源物质^[1], 而鱼粉产量日益下降^[2], 大豆蛋白成为鱼粉的主要替代原料之一。豆粕是大豆提取豆油后得到的一种副产品, 价格低廉, 蛋白质含量高^[3], 不过相较于鱼粉, 豆粕中存在的抗营养因子会给鱼类带来危害, 降低生长性能^[4-6], 是影响大豆蛋白高效利用的主要原因。大豆蛋白源主要含有大豆抗原蛋白、大豆皂甙、植物凝集素、低聚糖和蛋白酶抑制因子等抗营养因子^[7]。目前生产上已经可以运用热处理、生物发酵和膨化处理等技术大幅度降低各类抗营养因子含量, 而大豆皂甙热稳定性好, 有效的祛除方法为乙醇抽提, 成本较高, 不易达成。不经处理的豆粕中大豆皂甙占1.9%—2.5%^[8],

会使鱼类肠道黏膜上皮细胞渗透性增强, 影响其肠道上皮细胞功能的正常发挥, 阻碍物质运输^[9], 从而导致被动摄取抗原类物质^[10], 可引起牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)^[11]、大西洋鲑(*Salmo salar*)^[12]、大菱鲈(*Scophthalmus maximus*)^[13]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[14]、黄鳊(*Monopterus albus*)^[15]和异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[16]等鱼类出现肠炎病。

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)是我国一种优质的淡水养殖品种, 其肉质鲜美, 且无肌间刺, 深受消费者的好评。杂交黄颡鱼新品种“黄优1号”(Pelteobagrus fulvidraco♀×Pelteobagrus vachelli♂)是本团队历经多年培育而出, 相比于普通黄颡鱼苗种, “黄优1号”成活率更高、生长更快、耐低氧能力

收稿日期: 2022-10-11; 修订日期: 2023-01-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32273167); 湖北省大学生创新创业训练计划(S202210504191)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (32273167); Provincial Innovation and Entrepreneurship Training Program for Undergraduate (S202210504191)]

作者简介: 王岳松(1998—), 男, 硕士研究生; 研究方向为名特优水产种苗繁育与健康养殖。E-mail: 1250455127@qq.com

通信作者: 袁勇超, E-mail: yyc@mail.hzau.edu.cn

更强^[17], 逐渐成为养殖行业普遍接受的黄颡鱼品种之一, 但其相关营养研究目前较少。本研究旨在探究饲料中不同水平的大豆皂甙对杂交黄颡鱼生长、免疫及抗氧化性能和肠道健康的影响, 研究其抗营养性, 为豆粕在杂交黄颡鱼饲料中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

饲料以鱼粉、虾粉和玉米浓缩蛋白为蛋白质来源, 麦麸粉作为碳水化合物来源, 鱼油作为脂肪来源制备基础饲料。在不同组别饲料中分别添加 0、0.20%、0.40%、0.80%、1.60% 和 4.00% 的大豆皂甙(纯度 80%), 记为 D0、D0.2、D0.4、D0.8、D1.6 和 D4.0 等处理组。所有原料过 60 目筛, 按照逐级预混原则将维生素和矿物质预混料与鱼粉等原材料混合在一起。加入鱼油后混合均匀, 油状颗粒物手工搓散, 添加适量蒸馏水混匀, 倒入制粒机中制成粒径为 2 mm 的小颗粒。经过 65℃ 烘箱烘干, 称得初始重量, 于 -20℃ 下保存。饲料配方及营养

组成见表 1。

1.2 养殖试验

实验鱼为湖北黄优源渔业发展有限公司提供的杂交黄颡鱼“黄优 1 号”(Pelteobagrus fulvidraco♀× Pelteobagrus vachelli♂)苗种, 养殖于华中农业大学水产学院实验基地室内循环养殖系统。驯养 14d 后, 选取体格健康, 无畸形、平均体重约为 1 g 的幼鱼 540 尾, 随机投放于 18 个实验缸中, 每个实验缸 30 尾。日投喂量为鱼体重的 2.0%—5.0%, 具体投喂量根据摄食情况、气温及天气情况调整, 每天投喂两次, 投喂时间分别为 08:00 和 18:00。每次投饵 2h 后清理食物残渣和粪便, 将未摄食完的饲料烘干至恒重, 用于记录饲料消耗量, 在实验过程中记录试验鱼存活情况, 有试验鱼死亡及时捞出, 养殖试验周期为 60d。

1.3 样品采集

在养殖试验结束后, 停食 24h, 用 MS-222 麻醉。称取每条黄颡鱼体重, 每个平行取 3 条 10 g 左右实验鱼测量体长, 称量内脏团、肝脏和肠系膜脂肪。每个平行取 15 尾实验鱼从尾静脉处取血液,

表 1 饲料配方及营养组成(%干物质)

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets (% dry matter)

成分Ingredient	不同饲料皂甙含量的处理组 Different dietary soyasaponins treatments (%)					
	D0	D0.2	D0.4	D0.8	D1.6	D4.0
白鱼粉 White fish meal	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
虾壳粉 Shrimp shell meal	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
玉米浓缩蛋白 Corn gluten meal	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
鱼油 Fish oil	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
麦麸粉 Wheat bran powder	19.30	19.10	18.90	18.50	17.70	15.30
大豆皂甙 Soyasaponins	0.00	0.20	0.40	0.80	1.60	4.00
维生素预混物 Vitamin premix ¹	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
矿物质预混物 Mineral premix ²	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
食盐 Sodium chloride	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
羧甲基纤维素钠 CMC	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
甜菜碱 Betaine	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
营养水平 Nutrient level						
粗脂肪 Crude lipid	6.73	6.60	6.85	6.48	6.27	6.13
粗蛋白 Crude protein	41.48	41.55	40.90	40.86	40.21	40.19
灰分 Ash	11.95	12.18	12.03	11.78	12.04	11.86

注: ¹维生素预混料(mg或g/kg): 维生素B₁, 15 g; 维生素B₂, 25 g; 维生素B₆, 20 g; 维生素B₁₂, 50 mg; 纤维糖, 180 g; 维生素B₃, 30 g; 维生素B₅, 40 g; 叶酸, 5 g; 维生素B₇, 1 mg; 维生素A, 5 million IU; 维生素D₃, 3 million IU; 维生素K₃, 10 g; 维生素C, 150 g; 维生素E, 60 g; 纤维素, 415 g; ²矿物质预混料(g/kg): NaF, 1.5 g; KI, 2.5 g; CoCl₂·6H₂O, 0.1 g; CuSO₄·5H₂O, 10 g; FeSO₄·7H₂O, 40 g; ZnSO₄·7H₂O, 6.0 g; MnSO₄·H₂O, 2 g; MgSO₄·7H₂O, 25 g; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 12.5 g; NaCl, 2.5 g; CaCO₃, 27.8 g; 沸石粉, 870.1 g

Note: ¹The vitamin premix (mg or g/kg): Vitamin B₁, 15 g; Vitamin B₂, 25 g; Vitamin B₆, 20 g; Vitamin B₁₂, 50 mg; Inositol, 180 g; Vitamin B₃, 30 g; Vitamin B₅, 40 g; Folic acid, 5 g; Vitamin B₇, 1 mg; Vitamin A, 5 million IU; Vitamin D₃, 3 million IU; Vitamin K₃, 10 g; Vitamin C, 150 g; Vitamin E, 60 g; Cellulose, 415 g; ²The mineral premix (g/kg): NaF, 1.5 g; KI, 2.5 g; CoCl₂·6H₂O, 0.1 g; CuSO₄·5H₂O, 10 g; FeSO₄·7H₂O, 40 g; ZnSO₄·7H₂O, 6.0 g; MnSO₄·H₂O, 2 g; MgSO₄·7H₂O, 25 g; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 12.5 g; NaCl, 2.5 g; CaCO₃, 27.8 g; Zeolite powder, 870.1 g

3500 r/min, 4℃恒温离心取上清液, 用于测定血清酶活性; 用医用剪刀剪开腹腔, 暴露肝脏, 用镊子取出肝脏, 用生理盐水冲洗, 用滤纸吸去多余水分称重; 每个平行取5尾鱼, 取远端肠道(肠道“U”形底部, 约中间1/3段), 用于实时荧光定量PCR (qPCR); 每个平行留存约50 g全鱼样品, 采集约35 g肌肉, 用于营养成分测定; 以上所得样品置于-80℃条件下保存。

1.4 生长指标计算

存活率(SR, %)=100×末期鱼存活数/初期鱼存活数

增重率(WGR, %)=100×(末期鱼体重-初期鱼体重)/初期鱼体重

特定生长率(SGR, %/d)=100×(ln末期鱼体重-ln初期鱼体重)/实验周期

饲料系数(FCR)=100×摄食量/(末期鱼体重-初期鱼体重)

肠系膜脂肪指数(MFI)=100×肠系膜脂肪重/末期鱼体重

肝体比(HSI)=100×肝脏重/末期鱼体重

脏体比(VSI)=100×内脏重/末期鱼体重

肥满度(CF, g/cm³)=100×末期鱼体重/末期鱼体长³

1.5 常规营养成分的测定

通过105℃烘干法测定样品水分含量, 用Kjeltec™ 8400 (FOSS, 丹麦)测定样品粗蛋白含量, 通过索氏抽提法测定样品粗脂质含量, 在马弗炉中550℃高温烧灼测定样品灰分含量。

1.6 酶活性测定

按照南京建成生物工程研究所商品化试剂盒的说明书分别测定血清和肝脏T-AOC(A015-1-2)、SOD(A001-1-2)、MDA(A003-1-2)、CAT(A007-1-1)、NO(A013-2-1)、ACP(A060-2-2)、AKP(A059-2-2)、GOT(C010-1-1)和GPT(C009-1-1)活性。

1.7 实时荧光定量PCR

在qPCR反应中, 将远端肠道样品在-80℃的TRIzol试剂中保存。通过RNA提取逆转录试剂盒(GM2005, Servicebio)提取总RNA, 使用NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, 美国)测定样品RNA浓度, 再反转录为cDNA。引物序列参考Liu等^[18]和Xie等^[19], 在Primer Premier 5软件上设计特异性引物, 并于生工生物工程股份有限公司(上海)合成。使用QuantStudio 6 Flex实时荧光定量PCR系统(Thermo Fisher Scientific, 美国)进行荧光定量PCR检测。20 μL反应体系包括10 μL 2×SYBR Green qPCR Master Mix (None ROX; G3320-15; Servicebio), 0.2 μL浓度为0.25 μmol/L的特异性引物、7.8 μL

无酶水和2 μL cDNA模板。基本反应程序为95℃预变性30s; 95℃变性15s, 60℃退火10s, 72℃延伸30s, 40个循环。以β-actin基因为内参, 用2^{-ΔΔC_t}法分析肠道炎症因子IL-1β、IL-8、IL-15、TNF-α、IL-10和TGF-β等基因mRNA转录水平的变化。每组中采用3个样品, 每个样品进行3次qPCR分析。引物序列见表2。

1.8 数据分析

实验数据通过齐性检验后使用SPSS Statistics 22软件进行单因素方差分析, 百分比数据经反正弦变换后再进行分析, 通过Duncan检验分析实验结果的显著差异(P<0.05), 以平均值±标准差表示。

2 结果

2.1 大豆皂甙对杂交黄颡鱼生长性能的影响

在60d饲养试验结束后, 试验鱼饲喂含不同水平的大豆皂甙饲料后, 各生长指标结果见表3。在试验鱼IBW (1.08±0.09) g无显著性差异(P>0.05)的条件下, 各组试验鱼FBW、WGR、SGR、FCR和SR等指标间存在显著性差异(P<0.05)。可以发现随着饲料皂甙水平的提高, WGR、SGR和SR均表现出下降趋势, FCR则表现出上升趋势。与D0组相比, 添加大豆皂甙的处理组WGR和SGR显著降低(P<0.05), FCR显著升高(P<0.05)。D0.4组SR显著低于D0组(P<0.05), D1.6和D4.0组MFI显著低于D0.4组(P<0.05)。

2.2 大豆皂甙对杂交黄颡鱼体组成和肌肉营养组成的影响

不同日粮皂甙水平下试验鱼体组成和肌肉营

表2 远端肠道中目标基因的引物序列

Tab. 2 Primer sequences of target genes in the distal gut

目标基因 Target gene	引物序列 Primer sequence (5'—3')	登录号 Accession No.
IL-1β	GGCTGGTTTGCTGATGTGTC CTCGCTGAACACCTTCGAGT	XM_027139700.1
IL-8	AACCTGCGCAGTGTCGAAAT TCAGAGGGGAATGTGCCAGA	XM_017472609.1
IL-10	GAAACTCAGGTGCGCAACAA GGCAACACGGTCTCCAAGTA	XM_027144360.1
IL-15	CAACGTCTCCGCAAGGATG AGATCCTGAGCTTGGTGTCG	XM_027145925.2
TNF-α	TCGACTGGTAGCCTTTGTGT TCCGTAACGGCCTCTACTTC	XM_027133763.1
TGF-β	CCAACCACAGAGTGGGAACA ACGGCAACTGGTAGTCTTCG	XM_027149962.1
β-actin	CCACTTCCCCCACATCACTG AGAACCCAGGAAAGCTCACG	XM_027142941.1

养组成见表 4, 随饲料皂甙水平的上升, 试验鱼体蛋白含量和肌肉脂肪含量先下降后上升, D0.4 组体蛋白含量和肌肉脂肪含量显著低于 D0 组 ($P<0.05$), 而 D1.6 和 D4.0 组体蛋白含量均显著高于 D0 组 ($P<0.05$)。试验鱼体脂含量和肌肉蛋白含量表现出先升高后降低的趋势, D0.4 组体脂含量和肌肉蛋白含量显著高于 D0 组, 而 D1.6 和 D4.0 组体脂水平显著低于 D0 组 ($P<0.05$)。D0.8 和 D4.0 组肌肉灰分含量显著高于 D0 组 ($P<0.05$)。

2.3 大豆皂甙对杂交黄颡鱼血清免疫酶、抗氧化酶和转氨酶的影响

不同日粮皂甙水平下试验鱼血清生化指标结果见表 5, 可以发现随着饲料皂甙水平的提高, T-AOC 呈降低趋势, GPT 活性呈上升趋势, AKP、NO 和 CAT 活性呈先升高后降低的趋势, ACP 活性呈先降低后升高的趋势。与 D0 组相比, D0.2、D0.4 组 AKP 活性显著升高 ($P<0.05$); D0.4 组 ACP 活性显著降低 ($P<0.05$); 除 D0.2 组 NO 水平显著升高外其他各

表 3 大豆皂甙对杂交黄颡鱼生长指标的影响

Tab. 3 Effects of soya saponins on growth indexes of hybrid yellow catfish

指标 Index	D0	D0.2	D0.4	D0.8	D1.6	D4.0
初始重 IBW (g)	1.11±0.07	1.11±0.11	1.11±0.10	1.11±0.09	1.06±0.10	1.11±0.13
终末体重 FBW (g)	9.86±0.13 ^a	8.46±0.72 ^a	8.76±0.50 ^a	8.59±0.59 ^a	8.33±0.91 ^{ab}	6.56±0.95 ^b
增重率 WGR (%)	886.20±12.80 ^a	746.20±71.75 ^b	691.30±64.70 ^b	674.40±16.20 ^b	648.20±21.70 ^b	489.10±50.74 ^c
特定生长率 SGR (%/d)	3.74±0.02 ^a	3.44±0.04 ^b	3.16±0.09 ^c	3.21±0.07 ^c	3.09±0.05 ^c	2.71±0.09 ^d
饲料系数 FCR (%)	112.70±2.26 ^c	140.90±7.62 ^b	142.30±4.33 ^b	137.70±4.67 ^b	155.20±5.35 ^b	183.80±16.30 ^a
存活率 SR (%)	95.56±1.93 ^a	93.34±5.77 ^{ab}	84.45±3.85 ^b	88.89±1.92 ^{ab}	85.55±3.85 ^{ab}	86.67±3.34 ^{ab}
肠系膜脂肪指数 MFI	1.70±0.26 ^{ab}	1.35±0.19 ^{ab}	2.27±0.53 ^a	1.56±0.40 ^{ab}	1.24±0.33 ^b	0.91±0.28 ^b
肝体比 HSI	1.39±0.31	1.18±0.03	1.38±0.14	1.23±0.21	1.27±0.18	1.45±0.12
脏体比 VSI	6.66±0.47	5.28±0.61	6.38±0.52	5.81±0.85	5.45±0.41	5.35±0.44
肥满度 CF (g/cm ³)	1.41±0.25	1.57±0.01	1.45±0.31	1.69±0.21	1.48±0.07	1.55±0.04

注: 表中数据为 3 个重复的平均值, 无共同字母表的数据有显著差异 ($P<0.05$); 下同

Note: Data are means of triplicates, treatments without a common alphabet are significantly different ($P<0.05$), the same applies below

表 4 大豆皂甙对杂交黄颡鱼全鱼和肌肉营养组成的影响(%干重)

Tab. 4 Effect of soyasaponins on whole body and muscle composition of hybrid yellow catfish (% dry weight)

指标 Index	D0	D0.2	D0.4	D0.8	D1.6	D4.0
全鱼 Whole body						
粗蛋白 Crude protein	59.95±0.87 ^b	60.39±0.87 ^b	55.78±0.91 ^c	61.50±0.33 ^b	64.87±0.37 ^a	63.08±0.64 ^a
粗脂肪 Crude lipid	19.18±0.43 ^b	19.41±0.05 ^b	23.40±0.38 ^a	18.89±0.57 ^b	14.17±0.38 ^d	15.93±0.58 ^c
灰分 Ash	16.00±0.70 ^{ab}	16.02±0.26 ^{ab}	15.68±0.02 ^{ab}	14.91±0.20 ^b	16.83±0.19 ^a	16.18±0.62 ^a
肌肉 Muscle						
粗蛋白 Crude protein	80.95±0.90 ^b	81.74±0.58 ^b	83.86±0.46 ^a	84.30±0.52 ^a	83.44±0.29 ^a	81.60±0.63 ^b
粗脂肪 Crude lipid	9.62±0.48 ^a	8.78±0.14 ^b	8.56±0.15 ^{bc}	7.84±0.23 ^c	9.64±0.32 ^a	9.96±0.26 ^a
灰分 Ash	5.98±0.14 ^b	6.23±0.17 ^{ab}	6.27±0.06 ^{ab}	6.66±10.30 ^a	6.31±0.12 ^{ab}	6.64±0.19 ^a

表 5 大豆皂甙对黄颡鱼血清免疫酶、抗氧化酶和转氨酶的影响

Tab. 5 Effects of soya saponins on serum immune enzymes, antioxidant enzymes and transaminases of hybrid yellow catfish

指标 Index	D0	D0.2	D0.4	D0.8	D1.6	D4.0
碱性磷酸酶 AKP (金氏单位/mL)	2.61±0.18 ^c	3.48±0.30 ^b	4.59±0.17 ^a	2.42±0.27 ^c	2.21±0.24 ^c	1.96±0.45 ^c
酸性磷酸酶 ACP (金氏单位/mL)	39.00±1.36 ^{ab}	34.44±0.75 ^{ab}	31.00±0.87 ^b	36.44±4.54 ^{ab}	38.84±6.92 ^{ab}	42.65±3.30 ^a
一氧化氮 NO (μmol/L)	3.35±0.11 ^b	4.80±0.45 ^a	2.47±0.40 ^c	1.58±0.29 ^d	0.87±0.22 ^{de}	0.27±0.09 ^c
过氧化氢酶 CAT (U/mL)	12.56±0.65 ^c	16.08±0.27 ^b	18.64±0.65 ^a	15.23±0.77 ^b	4.31±0.61 ^d	0.72±0.79 ^c
总抗氧化能力 T-AOC (U/mL)	11.55±0.94 ^a	9.37±1.19 ^{ab}	7.32±0.70 ^{bc}	7.00±1.31 ^{bc}	5.51±1.24 ^c	4.60±0.93 ^c
丙二醛 MDA (nmol/mL)	16.48±2.09	16.56±1.77	13.44±1.03	15.40±1.05	14.70±1.51	13.62±2.03
总超氧化物歧化酶 T-SOD (U/mL)	262.10±8.90	236.60±17.27	297.00±19.21	258.60±8.58	278.90±14.21	289.50±12.57
谷草转氨酶 GOT (U/L)	24.69±6.14	22.98±3.59	23.81±3.01	24.04±3.72	21.26±1.28	24.14±1.74
谷丙转氨酶 GPT (U/L)	8.00±0.69 ^c	7.56±1.00 ^c	9.34±0.25 ^c	13.17±1.57 ^b	13.11±1.66 ^b	18.78±1.53 ^a

组NO水平显著降低($P<0.05$); 各皂甙处理组CAT活性显著降低($P<0.05$); 除D0.2组外各组T-AOC显著降低($P<0.05$); D0.8、D1.6和D4.0组GPT活性显著升高($P<0.05$)。

2.4 大豆皂甙对杂交黄颡鱼肝脏免疫酶和抗氧化酶的影响

不同日粮皂甙水平下试验鱼肝脏生化指标见表6, 可以发现高水平皂甙($>0.80\%$)显著提高ACP活性($P<0.05$); D0和D4.0组CAT活性显著低于其他处理组($P<0.05$); T-AOC表现出先升高后降低的趋势, 其中D0.4和D0.8组显著高于D0组($P<0.05$); D1.6和D4.0组MDA显著低于D0组($P<0.05$); T-SOD表现出先降低后升高的趋势, 与D0组相比, D0.4组T-SOD显著降低, D1.6和D4.0组T-SOD显著提高($P<0.05$)。

2.5 大豆皂甙对杂交黄颡鱼肠道炎症相关基因表达的影响

不同日粮皂甙水平下试验鱼肠道炎症相关基因表达水平见图1, 随着日粮皂甙水平提高, *TGF- β* 和*IL-10* mRNA表达持续下调, *IL-1 β* 、*IL-8*、*IL-15*和*TNF- α* mRNA表达先上调后下调。*TGF- β* 在日粮皂甙水平增至0.80%后mRNA表达显著下调($P<0.05$), 而*IL-10*在D0.2组后就出现了mRNA表达显著下调($P<0.05$)。相比D1.6, D4.0组*IL-1 β* 、*IL-8*、*IL-15*和*TNF- α* mRNA表达出现显著下调($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 大豆皂甙对杂交黄颡鱼生长性能的影响

已有的研究表明饲料中添加一定水平的皂甙会对水产动物的生长和免疫产生负面作用^[11-16], 本试验研究发现在以鱼粉为基础的饲料中添加0.20%以上的大豆皂甙对杂交黄颡鱼的生长性能和饲料利用等方面产生了明显的负面影响。这与Chen等^[11]的研究类似, 用0.32%的大豆皂甙喂养牙鲆28d后, 其摄食和生长被抑制, 当饲料中皂甙水平增至0.64%时, 对其摄食和生长的抑制效果也更强。同时, 也有研究报道饲料中添加0.3%的大豆皂甙会引

起了虹鳟生长性能下降, 肠道严重破坏^[20]。Gu等^[21]对大西洋鲑幼鱼的研究也有类似结果。然而, Francis等^[22]在对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的研究中发现, 当日粮中皂甙含量为150 mg/kg时, 尼罗罗非鱼的生长性能反而明显增加。Twibell和Wilson^[23]在对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的研究中, 也发现在饲料中添加0.26%的大豆皂甙并没有引起其生长性能的下降。Couto等^[24]发现生长阶段的海鲷(*Sparus aurata*)显示出对单独或组合的皂甙(0.1%—0.2%)和植物甾醇的高度耐受性。此外, 余桂娟等^[25]发现以鱼粉为基础饲料中0.3%浓度的大豆皂甙对大菱鲆的生长性能无明显影响, 并发现大豆皂甙对牙鲆的影响作用与养殖周期密切相关^[11]。上述的研究结果表明饲料中不同水平的大豆皂甙对鱼类的影响作用与鱼类的品种、食性和饲喂周期相关, 并表现出一定的差异性。因此, 研究不同食性鱼类对饲料大豆皂甙的耐受性是十分必要的。

3.2 大豆皂甙对杂交黄颡鱼体组成和肌肉营养组成的影响

本研究中发现伴随饲料皂甙水平的上升, 试验鱼体蛋白含量先下降后上升, D0.4组粗蛋白显著低于D0组, 而D1.6和D4.0组粗蛋白均显著高于D0组。试验鱼体脂含量表现出先升高后降低的趋势, D0.4组粗脂肪显著高于D0组, 而D1.6和D4.0组粗脂肪显著低于D0组。这可能是在皂甙水平增至0.40%组时降低了消化能力, 影响了机体的蛋白吸收和沉积, 导致机体粗蛋白含量降低, 而后继续升高的皂甙水平可能抑制了机体脂肪的合成。有研究发现富含皂甙的提取物和纯化物可以抑制胰脂肪酶活性或调节脂肪生成和食欲, 而且还会抑制脂质过氧化物的产生, 从而导致全鱼粗脂肪的降低和粗蛋白的升高^[16]。在Gu等^[21]对大西洋鲑的研究中也发现了皂甙有降低胆固醇的作用。本研究D1.6和D4.0组MFI显著低于D0.4组也证明了这一点。试验鱼肌肉蛋白含量呈现出先升高再降低的趋势, 粗脂肪含量表现出先降低后升高的趋势。肌肉干物质主要由蛋白质组成, 而鱼类能源物质主要

表6 大豆皂甙对杂交黄颡鱼肝脏免疫酶和抗氧化酶的影响

Tab. 6 Effects of soya saponins on liver immune enzymes and antioxidant enzymes of hybrid yellow catfish

指标Index	D0	D0.2	D0.4	D0.8	D1.6	D4.0
碱性磷酸酶AKP (金氏单位/g prot)	5.51±0.40	7.60±0.81	4.67±1.15	5.53±1.04	5.76±2.18	6.80±1.00
酸性磷酸酶ACP (金氏单位/g prot)	159.50±2.34 ^b	143.50±26.94 ^b	149.80±25.43 ^b	263.10±18.59 ^a	255.40±9.38 ^a	272.90±42.37 ^a
过氧化氢酶CAT (U/mg prot)	28.82±1.30 ^b	38.49±1.80 ^a	35.99±1.89 ^a	36.70±0.91 ^a	37.37±0.71 ^a	29.23±2.77 ^b
总抗氧化能力T-AOC (U/mg prot)	1.47±0.31 ^c	1.39±0.38 ^c	2.51±0.20 ^b	4.02±0.48 ^b	2.08±0.12 ^{bc}	1.66±0.07 ^c
丙二醛MDA (nmol/mg prot)	1.45±0.61 ^a	1.23±0.61 ^{ab}	0.61±0.25 ^{ab}	0.73±0.17 ^{ab}	0.24±0.08 ^b	0.20±0.14 ^b
总超氧化物歧化酶T-SOD (U/mg prot)	596.30±115.60 ^c	556.30±47.68 ^c	376.50±43.43 ^d	657.20±51.71 ^{bc}	768.80±34.94 ^{ab}	857.10±36.63 ^a

是蛋白质,高水平皂甙组的试验鱼摄入能量不足体型瘦小缺乏能源物质,导致肌肉中的蛋白质被大量降解供能^[26]。

3.3 大豆皂甙对杂交黄颡鱼免疫酶活性的影响

AKP是吞噬细胞的标记调节酶,直接参与磷酸基团的转移和代谢^[5],ACP参与蛋白质胞饮和细胞内消化^[27],NO可以有效激活巨噬细胞,发挥其细胞毒作用^[28]。本研究发现皂甙水平超过0.40%会导致血清AKP和NO活性下降,血清ACP活性升高,肝脏ACP活性显著上升。类似现象在Hu等^[15]和张伟^[16]的研究中也有发现,这可能是因为AKP在应激、寄生虫感染和伤口愈合中具有关键作用^[29],还在肠黏膜LPS去磷酸化和解毒中发挥重要作用^[30]。而NO介导了LPS和TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子的病理作用,可以提高NK细胞活性等^[28]。低水平(<0.40%)

的皂甙可以在一定程度上刺激了机体免疫系统,导致血清AKP和NO出现上升趋势;而过高的皂甙水平(>0.40%)严重破坏了机体的免疫系统导致血清AKP和NO后又出现下降趋势,且破坏肠道黏膜组织影响营养物质的消化吸收,刺激机体产生更多ACP。

3.4 大豆皂甙对杂交黄颡鱼抗氧化能力及转氨酶活性的影响

T-AOC是衡量机体抗氧化能力的重要指标^[31],SOD可以增强生物体内的吞噬细胞防御能力^[32],可以歧化超氧阴离子自由基生成过氧化氢^[33],再由CAT还原为水。转氨酶(GPT和GOT)是评价肝脏的健康状况^[34]的指标。本研究发现大豆皂甙会提高黄颡鱼SOD和GPT活力,降低T-AOC和MDA水平,而CAT表现出先升高后降低的趋势。这可能是因

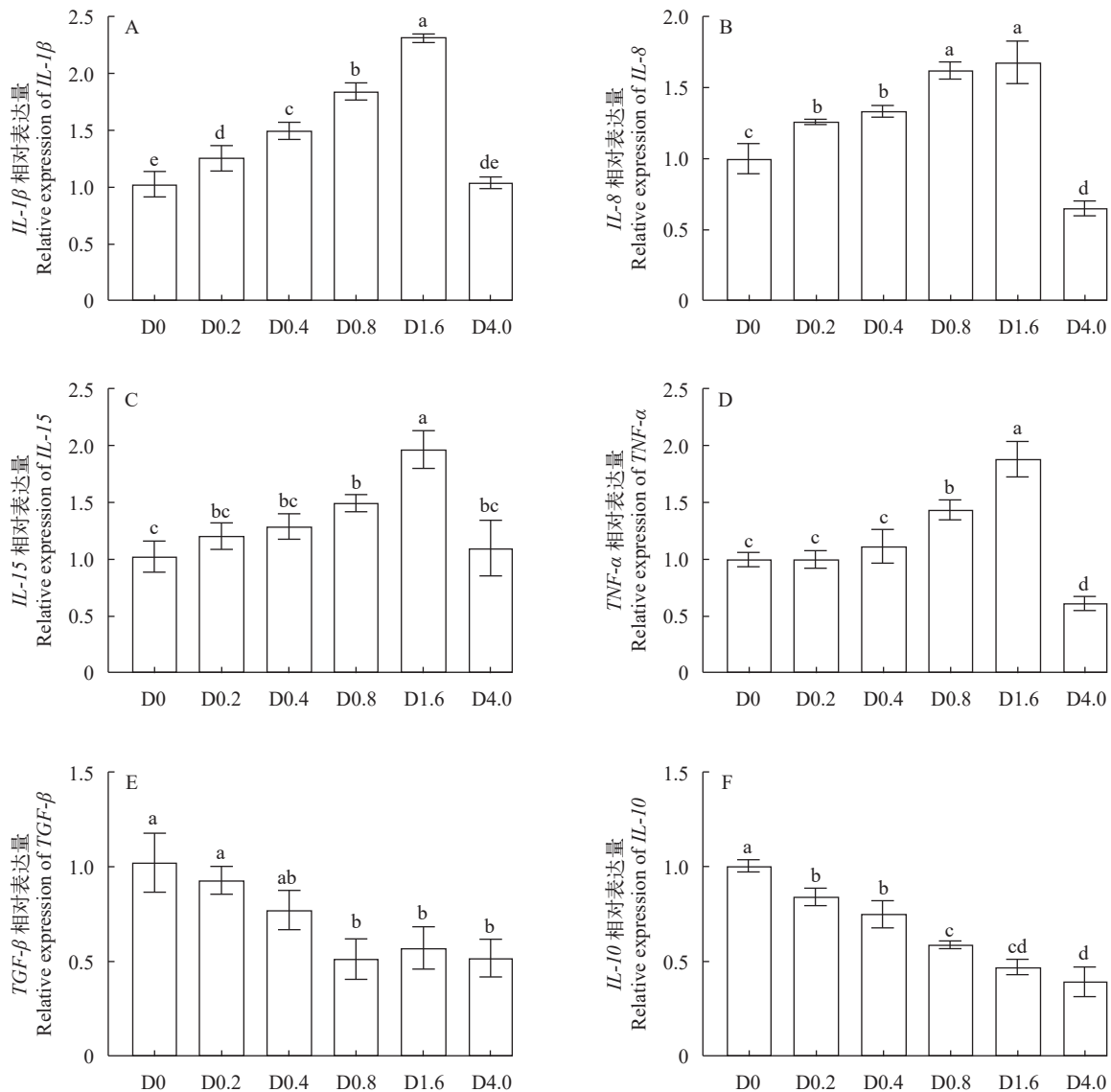


图1 大豆皂甙对杂交黄颡鱼远端肠道炎症相关基因表达的影响

Fig. 1 Effect of soya saponin on the expression of genes related to distal intestinal inflammation in hybrid yellow catfish

为大豆皂甙具有较强的抗氧化能力和抗活性氧能力,有研究称其可以抑制家兔、大鼠和人血清脂质过氧化发生,提高抗氧化酶活性^[35-38]。还有研究证明,苦瓜皂甙也会明显增强动物体内的SOD和谷胱甘肽过氧化物酶活力^[39]。水产动物在正常的生理过程中会不断地产生和清除活性氧(ROS)达到一个动态平衡,而这个动态平衡的维持与免疫系统息息相关,过量ROS堆积会导致氧化应激现象,继而导致炎症反应,造成脂质和蛋白质的修饰、DNA损伤、凋亡或致癌细胞转化^[40]。有研究表明氧化应激与炎症性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩病和结肠癌等许多疾病相关^[41]。Hu等^[15]在黄鳝的研究中发现皂甙作为抗营养因子会对动物肝脏造成破坏。综上所述,大豆皂甙对黄颡鱼具有抗氧化作用,一定水平的皂甙可以刺激机体抗氧化系统,但高水平(>0.40%)的皂甙可能会破坏机体肠道和肝脏功能,打破抗氧化系统平衡引起氧化应激现象。

3.5 大豆皂甙对杂交黄颡鱼肠道健康的影响

炎症反应由抗炎细胞因子和促炎细胞因子共同调节,一般来说,肠道炎症表现为这些炎症免疫因子的基因表达发生变化^[42]。本研究发现一定水平(0.20%—1.60%)的大豆皂甙会诱发肠炎现象,使抗炎因子 $TGF-\beta$ 和 $IL-10$ mRNA表达下调,促炎因子 $IL-1\beta$ 、 $IL-8$ 、 $IL-15$ 和 $TNF-\alpha$ mRNA表达上调,这与Hu等^[15]以大豆皂甙诱导黄鳝肠炎的研究结果类似,且Zhu等^[43]在大豆球蛋白诱导的肠炎现象中也有类似发现。而炎症因子和氧化应激又会破坏肠道上皮紧密连接^[44],进一步破坏鱼类肠道健康。鱼类肠道是营养物质消化吸收的主要部位,不断受到食物抗原及细菌、病毒、寄生虫和毒素的挑战,肠道的结构完整性对鱼类的免疫屏障功能起到重要影响^[45]。皂甙是两亲性分子,它可以嵌入到肠道黏膜细胞膜上,形成空洞,增加肠道黏膜细胞的通透性,引起许多病原体不正常性摄入^[46],诱发肠炎,进而影响黄颡鱼肠道细胞的正常功能。硬骨鱼远端肠道在从肠腔摄取抗原物质的过程中发挥重要作用^[47],黄颡鱼远端肠道微绒毛下密集聚积着溶酶体,主要进行蛋白质的胞吞和消化作用^[48],是肠炎发生的核心部位^[46]。越来越多的研究证明某些鱼类饮食中豆粕的增加与肠炎的发生有关:在水产饲料中使用高剂量豆粕会导致帝王鲑(*Oncorhynchus tshawytscha*)^[49]、驼背大麻哈鱼(*O. gorbuscha*)^[49]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[50]和鲤(*Cyprinidae*)^[51]等鱼类出现肠道黏膜病理学变化等肠炎现象,而大豆皂甙有可能是饲喂豆粕引起肠炎的主要因素之一。

4 结论

综上所述,在以鱼粉为基础的饲料中添加不同浓度的大豆皂甙对杂交黄颡鱼的生长性能、免疫及抗氧化能力和肠道健康产生了明显的负面影响,且作用效果与浓度有一定关系。在饲料中添加0.20%的大豆皂甙就可能导致黄颡鱼的生长性能下降,而当大豆皂甙水平超过0.40%后,黄颡鱼生长和免疫均受到抑制,且出现了典型的肠炎现象,说明大豆皂甙可能是水产饲料中使用高剂量豆粕导致鱼类肠炎的重要因素,因此在黄颡鱼养殖中需要控制皂甙含量不超过0.40%。

参考文献:

- [1] Hossain S, Koshio S, Ishikawa M, et al. Substitution of dietary fishmeal by soybean meal with inosine administration influences growth, digestibility, immunity, stress resistance and gut morphology of juvenile amberjack *Seriola dumerili* [J]. *Aquaculture*, 2018(488): 174-188.
- [2] Cheng Z Y, Chen S Q, An M L, et al. Effects of replacing fish meal with soybean meal, with or without dietary arginine, on growth performance, immune indices and intestinal morphology of grouper, *Epinephelus malabaricus* [J]. *Aquaculture Research*, 2018(49): 2954-2964.
- [3] Zhang Y L, Duan X D, Jiang W D, et al. Soybean glycinin decreased growth performance, impaired intestinal health, and amino acid absorption capacity of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019(45): 1589-1602.
- [4] Yang J F, Hua X M, Guo Z H, et al. The replacement of fish meal and soybean meal to fermented soybean meal and its effects on the growth performance, serum biochemical indices, and immune gene expression in giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, 42(4): 719-727. [杨景丰, 华雪铭, 郭子好, 等. 发酵豆粕替代鱼粉和豆粕对罗氏沼虾生长、血清生化及免疫基因表达的影响 [J]. *水生生物学报*, 2018, 42(4): 719-727.]
- [5] Li M, Li L, Kong Y D, et al. Effects of glycinin on growth performance, immunity and antioxidant capacity in juvenile golden crucian carp, *Cyprinus carpio* × *Carrasius auratus* [J]. *Aquaculture Research*, 2020(51): 465-479.
- [6] Yi L Y, Liu J W, Yang H J, et al. Effects of dietary glycinin on oxidative damage, apoptosis and tight junction in the intestine of juvenile hybrid yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* ♀ × *Pelteobagrus vachelli* ♂ [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(19): 11198.
- [7] Yu X J, Wu Z H, Guo J S, et al. Replacement of dietary fish meal by soybean meal on growth performance, im-

- munity, anti-oxidative capacity and mTOR pathways in juvenile abalone *Haliotis discus hannai* Ino [J]. *Aquaculture*, 2022(551): 737914.
- [8] Gestetner B, Birk Y, Tencer Y. Soybean saponins. Fate of ingested soybean saponins and the physiological aspect of their hemolytic activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1968, **16**(6): 1031-1035.
- [9] Johnson I T, Gee J M, Price K, *et al.* Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro [J]. *The Journal of Nutrition*, 1986, **116**(11): 2270-2277.
- [10] Gee J M, Wortley G M, Johnson I T, *et al.* Effects of saponins and glycoalkaloids on the permeability and viability of mammalian intestinal cells and on the integrity of tissue preparations in vitro [J]. *Toxicology in Vitro*, 1996, **10**(2): 117-128.
- [11] Chen W, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary soybean saponins on feed intake, growth performance, digestibility and intestinal structure in juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, 2011, **318**(1-2): 95-100.
- [12] Krogdahl Å, Gajardo K, Kortner T M, *et al.* Soya saponins induce enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, **63**(15): 3887-3902.
- [13] Gu M, Jia Q, Zhang Z Y, *et al.* Soya-saponins induce intestinal inflammation and barrier dysfunction in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018(77): 264-272.
- [14] Iwashita Y, Suzuki N, Matsunari H, *et al.* Influence of soya saponin, soya lectin, and cholytaurine supplemented to a casein-based semipurified diet on intestinal morphology and biliary bile status in fingerling rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Fisheries Science*, 2009, **75**(5): 1307-1315.
- [15] Hu Y J, Zhang J Z, Xue J J, *et al.* Effects of dietary soy isoflavone and soy saponin on growth performance, intestinal structure, intestinal immunity and gut microbiota community on rice field eel (*Monopterus albus*) [J]. *Aquaculture*, 2021(537): 736506.
- [16] Zhang W. Effects of soybean saponins and soybean isoflavones on growth, physiology and intestinal health of Allogynogentic silver crucian carp [D]. Suzhou: Soochow University, 2010: 12-35. [张伟. 大豆皂甙与大豆异黄酮对异育银鲫生长、生理及肠道健康的影响 [D]. 苏州: 苏州大学, 2010: 12-35.]
- [17] Sun J X, Han G K, Liu Y, *et al.* The growth characteristics and hypoxia tolerant ability of yellow catfish and hybrid catfish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(6): 1271-1279. [孙俊霄, 韩广坤, 刘娅, 等. 杂交黄颡鱼与普通黄颡鱼幼鱼生长性能及耐低氧能力的比较 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(6): 1271-1279.]
- [18] Liu Y, Meng F X, Wang S D, *et al.* Vitamin D3 mitigates lipopolysaccharide-induced oxidative stress, tight junction damage and intestinal inflammatory response in yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2021(243): 108982.
- [19] Xie D M, Li Y W, Liu Z H, *et al.* Inhibitory effect of cadmium exposure on digestive activity, antioxidant capacity and immune defense in the intestine of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2019(222): 65-73.
- [20] Bureau D P, Harris A M, Cho C Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1998, **161**(1-4): 27-43.
- [21] Gu M, Kortner T M, Penn M, *et al.* Effects of dietary plant meal and soya-saponin supplementation on intestinal and hepatic lipid droplet accumulation and lipoprotein and sterol metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, **111**(3): 432-444.
- [22] Francis G, Makkar H P S, Becker K. Effects of *Quillaja* saponins on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2001, **129**(2): 105-114.
- [23] Twibell R G, Wilson R P. Preliminary evidence that cholesterol improves growth and feed intake of soybean meal-based diets in aquaria studies with juvenile channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *Aquaculture*, 2004, **236**(1-4): 539-546.
- [24] Couto A, Kortner T M, Penn M, *et al.* Effects of dietary soy saponins and phytosterols on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during the on-growing period [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014(198): 203-214.
- [25] Yu G J, Yang P, Dai J H, *et al.* Effects of dietary soyasaponins on the growth performance and intestinal health of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, **43**(4): 1104-1115. [余桂娟, 杨沛, 戴济鸿, 等. 饲料中添加大豆皂甙对大菱鲆幼鱼生长和肠道健康的影响 [J]. *水产学报*, 2019, **43**(4): 1104-1115.]
- [26] Ma Z, Hassan M M, Allais L, *et al.* Comparison of partial replacement of fishmeal with soybean meal and EnzoMeal on growth performance of Asian seabass *Lates calcarifer* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2019(216): 29-37.
- [27] Nigam A K, Kumari U, Mittal S, *et al.* Comparative analysis of innate immune parameters of the skin mucous secretions from certain freshwater teleosts, inhabiting different ecological niches [J]. *Fish Physiology and Bio-*

- chemistry*, 2012, **38**(5): 1245-1256.
- [28] Yang G. Nitric oxide, inflammation and immune regulation [J]. *International Journal of Immunology*, 1995, **18**(6): 303-307. [杨光. 一氧化氮与炎症及免疫调节 [J]. 国外医学. 免疫学分册, 1995, **18**(6): 303-307.]
- [29] Palaksha K J, Shin G W, Kim Y R, *et al.* Evaluation of non-specific immune components from the skin mucus of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, **24**(4): 479-488.
- [30] Bates J M, Akerlund J, Mittge E, *et al.* Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota [J]. *Cell Host & Microbe*, 2007, **2**(6): 371-382.
- [31] Zhang B R, Tan H R. Research progress and application prospect of superoxide dismutase [J]. *Microbiology*, 1992, **19**(6): 352-357. [张博润, 谭华荣. 超氧化物歧化酶的研究进展和应用前景 [J]. 微生物学通报, 1992, **19**(6): 352-357.]
- [32] Mu H J, Jiang X L, Liu S Q, *et al.* Effects of immunopolysaccharide on the activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase and superoxide dismutase in *Chlamys farreri* [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao* (Natural Science), 1999, **29**(3): 463-468. [牟海津, 江晓路, 刘树青, 等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 1999, **29**(3): 463-468.]
- [33] Radmila C N, Pavle S, Dean J, *et al.* The influence of nutrition (diet treatment) in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Macedonian Veterinary Review*, 2013, **36**(1): 41-47.
- [34] Hansen A C, Rosenlund G, Karlsen Ø, *et al.* Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I-Effects on growth and protein retention [J]. *Aquaculture*, 2007, **272**(1-4): 599-611.
- [35] Li T, Liu S P, Quan J S. Anti-plasma lipid peroxidative and erythrocyte protective effects of Soyasaponins [J]. *Soybean Science*, 2009, **28**(6): 1067-1070. [李天, 刘淑萍, 全吉淑. 大豆皂甙抗血清脂质过氧化和红细胞保护作用的研究 [J]. 大豆科学, 2009, **28**(6): 1067-1070.]
- [36] Song B J, Zhao Y, Sun Y W. Effects of soysaponins on blood lipid and antioxidation in hyperlipidemia population [J]. *Chinese General Practice*, 2010, **13**(34): 3880-3881. [宋柏捷, 赵艳, 孙玉薇. 大豆皂甙对高脂血症患者血脂水平及抗氧化作用研究 [J]. 中国全科医学, 2010, **13**(34): 3880-3881.]
- [37] Xu H X, Wang X, Jin Y H, *et al.* Effect of soybean isoflavones and saponins on serum marker enzymes and antioxidative activities of rat with hepatic preneoplasia [J]. *Soybean Science*, 2012, **31**(1): 124-126. [许惠仙, 汪霞, 金延华, 等. 大豆异黄酮和皂甙对肝癌前病变大鼠血清标志酶及抗氧化活性的影响 [J]. 大豆科学, 2012, **31**(1): 124-126.]
- [38] Liu Z, Liu Y, Xiong Z, *et al.* Total soy saponins improve the antioxidant capacity of the myocardium and exercise ability in exhausted rats [J]. *Journal of Sport and Health Science*, 2016, **5**(4): 424-429.
- [39] Niwa Y, Ozaki Y, Kanoh T, *et al.* Role of cytokines, tyrosine kinase, and protein kinase C on production of superoxide and induction of scavenging enzymes in human leukocytes [J]. *Clinical Immunology and Immunopathology*, 1996, **79**(3): 303-313.
- [40] Włodarczyk M, Nowicka G. Obesity, DNA damage, and development of obesity-related diseases [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(5): 1146.
- [41] Piechota-Polanczyk A, Fichna J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2014, **387**(7): 605-620.
- [42] Niklasson L, Sundh H, Fridell F, *et al.* Disturbance of the intestinal mucosal immune system of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), in response to long-term hypoxic conditions [J]. *Fish Shellfish Immunology*, 2011, **31**(6): 1072-1080.
- [43] Zhu R, Li L, Li M, *et al.* Effects of dietary glycinin on the growth performance, immunity, hepatopancreas and intestinal health of juvenile *Rhynchocypris lagowskii* Dybowski [J]. *Aquaculture*, 2021(544): 737030.
- [44] Rao R. Oxidative stress-induced disruption of epithelial and endothelial tight junctions [J]. *Frontiers in Bioscience: a Journal and Virtual Library*, 2008(13): 7210-7226.
- [45] He J J, Wang P, Feng J, *et al.* Effects of fermented soybean meal on the growth and intestinal histology and microbiota of juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(5): 919-928. [何娇娇, 王萍, 冯建, 等. 发酵豆粕对大黄鱼生长、肠道结构及肠道微生物菌群的研究 [J]. 水生生物学报, 2018, **42**(5): 919-928.]
- [46] Gu M. The research on the plant protein utilization by marine fish and shrimp-antinutritional factors and methionine [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013: 19-24. [谷珉. 影响海水鱼虾对植物蛋白利用的抗营养因子和蛋氨酸的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 19-24.]
- [47] Li Y X, Yang P, Zhang Y J, *et al.* Effects of dietary glycinin on the growth performance, digestion, intestinal morphology and bacterial community of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. [J]. *Aquaculture*, 2017(479): 125-133.
- [48] Song L. The gastrointestinal tract morphology and function of *Pelteobagrus fulvidraco* and *Eriocheir sinensis* as well as its response to feeding and feed [D]. Suzhou: Soochow University, 2013: 12-49. [宋霖. 黄颡鱼和中华绒螯蟹胃肠道形态和功能对投饲的响应 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013: 12-49.]

- [49] Booman M, Forster I, Vederas J C, *et al.* Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) but not in pink salmon (*O. gorbuscha*) [J]. *Aquaculture*, 2018(483): 238-243.
- [50] Peng K S, Wu N, Cui Z W, *et al.* Effect of the complete replacement of dietary fish meal by soybean meal on histopathology and immune response of the hindgut in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2020(221): 110009.
- [51] Urán P A, Gonçalves A A, Taverne-Thiele J J, *et al.* Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 25(6): 751-760.

SOYA SAPONINS ON GROWTH, IMMUNITY AND INTESTINAL HEALTH OF YELLOW CATFISH HYBRID (*PELTEOBAGRUS FULVIDRACO*♀×*PELTEOBAGRUS VACHELLI*♂)

WANG Yue-Song¹, LI Hong², YI Lin-Yuan¹, LIU Jing-Wen¹, SHEN Zhi-Gang¹,
YANG Hui-Jun¹ and YUAN Yong-Chao¹

(1. Key Lab of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Hunan Fisheries Science Institute, Changsha 410153, China)

Abstract: In order to investigate the effects of soyasaponins on growth, immunity and intestinal health of hybrid yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*♀×*Pelteobagrus vachelli*♂), six isonitroid and isolipid diets supplemented with 0, 0.20%, 0.40%, 0.80%, 1.60% and 4.00% soy saponin with fish meal, shrimp meal and corn protein concentrate as protein sources were fed to hybrid yellow catfish with an initial weight of (1.0±0.17) g. They were divided into D0, D0.2, D0.4, D0.8, D1.6 and D4.0, with three replicates in each group and 30 fish in each replicate. After 60-day feeding experiment, the changes of growth index, body composition, serum immunity, antioxidant enzyme activity and intestinal inflammatory factor expression levels were measured. The results showed that the weight gain rate and specific growth rate of treated groups were significantly decreased ($P<0.05$), the content of body composition protein and muscle fat decreased first and then increased, while the content of body fat and muscle protein increased and then decreased. With the increase of saponins level, T-AOC in serum continuously decreased, AKP, NO, CAT activities increased at first and then decreased while ACP activities decreased at first and then increased. We found that the activities of ACP in liver of D0.8, D1.6 and D4.0 groups were significantly higher than other groups and the activities of CAT in liver of D0 and D4.0 groups were significantly lower than other groups ($P<0.05$). Besides, the activity of liver T-AOC increased first and then decreased, while the content of liver MDA decreased with the increase of saponin level. The content of liver MDA in the treated groups with saponin were significantly lower compared to D0 group. The activity of liver T-SOD showed a tendency to decrease first and then increase. With the increasing of the level of saponins, the mRNA levels of *TGF-β* and *IL-10* in distal intestine were reduced, while that of *IL-1β*, *IL-8*, *IL-15* and *TNF-α* were increased first and reduced later. To sum up, the soybean saponins added to the diet had obvious negative effects on the growth performance, immunity, anti-oxidation ability and intestinal health of the hybrid yellow catfish. When the soybean saponins level exceeded 0.40%, the hybrid yellow catfish showed severe oxidative stress, immune system disorder, liver injury, up-regulation of intestinal pro-inflammatory factors and down-regulation of anti-inflammatory factors. Therefore, it is necessary to limit the content of soybean saponins to 0.40% by replacing fish meal with soybean meal.

Key words: Soyasaponins; Growth; Immunity; Intestinal health; *Pelteobagrus fulvidraco*♀×*Pelteobagrus vachelli*♂