

文章编号:1000-0615(2015)01-0097-11

DOI:10.3724/SP.J.1231.2015.59368

酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼生长和生长轴基因表达、营养品质及抗病力的影响

龙萌,侯杰,苏玉晶,吴宁,张维然,孙博超,李莉*

(华中农业大学水产学院,农业部淡水生物繁育重点实验室,
淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心,湖北武汉 430070)

摘要:为探讨酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼生长、肌肉营养品质和抗病力的影响,以初始体质量为(1.75 ± 0.01)g的团头鲂为研究对象,采用二因素三水平实验设计在基础饲料(Se含量为0.08 mg/kg)中分别添加酵母硒(按硒计)3个水平(分别为0.025和0.50 mg/kg),茶多酚3个水平(分别为0.50和100 mg/kg),进行排列组合后得到9组饲料。连续投喂60 d后,检测团头鲂生长、肌肉营养成分、血液和肝脏生化指标以及生长相关基因的表达水平,并统计团头鲂感染嗜水气单胞菌后的成活率,以综合评价酵母硒和茶多酚对团头鲂的作用效果。结果表明:饲料中添加酵母硒和茶多酚均显著提高了团头鲂幼鱼的增重率、特定生长率以及肌肉中粗蛋白含量,降低了饵料系数($P < 0.05$),酵母硒和茶多酚交互作用也显著提高增重率和特定生长率,显著降低饵料系数($P < 0.05$),表现出协同增效作用。酵母硒和茶多酚均可以通过诱导下丘脑—垂体—生长轴相关基因表达来提高生长性能,不同的是,酵母硒主要上调脑垂体 *MaGH* 和肝脏 *MaIGF-I* 基因的 mRNA 表达,茶多酚主要上调脑垂体 *MaGHR₂* 基因而显著下调肝脏 *MaIGF-I* 基因的 mRNA 表达($P < 0.05$),结果表明,饲料中添加酵母硒显著提高团头鲂血清中 GH 和 IGF-I 的含量($P < 0.05$),而茶多酚显著降低血清中 IGF-I 的含量($P < 0.05$)。攻毒实验表明,酵母硒和茶多酚均能提高攻毒后鱼的成活率,且两者交互作用明显。综合生长性能和抗病力分析,团头鲂幼鱼饲料中酵母硒和茶多酚配伍的适宜添加量为0.50 mg/kg 酵母硒和50 mg/kg 茶多酚。

关键词:团头鲂;酵母硒;茶多酚;生长;基因表达;嗜水气单胞菌

中图分类号:S 963.7

文献标志码:A

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)又名武昌鱼或团头鳊,属硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鳊亚科(Parabramis),鳊属,是我国特有草食性经济鱼类之一。团头鲂传统的养殖一般采取多品种混养模式,投喂青饲料并配合使用一般性动物源或植物源配合饲料。随着团头鲂养殖逐渐进入现代化高密度主养新时期,全国各地普遍转用精饲料或全价配合饲料喂养^[1]。由于集约化养殖程度的提高,养殖过程中出现了大量的应激因子,如营养、拥挤、环境恶化(包括氨氮、亚硝酸盐、溶氧、温度和pH等)导致养殖鱼

类代谢紊乱,抗病力下降,生长受阻甚至死亡^[2]。同时,为了防治鱼病,人们在饲料中大量添加抗生素或激素,结果造成了抗药性和药物残留等诸多问题,在一定程度上也制约了团头鲂产业的可持续发展。因此,从动物机体本身入手,通过营养免疫调控提高生产效率、提高或激活水产动物自身的免疫力,不仅可克服传统使用抗生素治疗方法存在的缺陷,而且有利于健康养殖,减少环境污染,保证食品安全。

酵母硒和茶多酚都是优质高效的天然抗氧化剂。硒作为一种必需微量元素其营养功效已被充分肯定,缺硒会造成动物营养不良、繁殖受阻、体质量

收稿日期:2014-06-26 修回日期:2014-11-01

资助项目:湖北省自然科学基金(2014CFB938);国家自然科学基金(31100378,51179134);华中农业大学大学生科技创新基金(SRF2014177)

通信作者:李莉,E-mail:foreverlili78@mail.hzau.edu.cn

<http://www.scxuebao.cn>

减轻等,通过补充适量的硒,可促进动物健康生长发育,改善肉质品质,进而改进人类的膳食营养。一方面,硒作为谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的组分,能提高动物抗应激、抗氧化能力,增强免疫功能,降低死亡率,促进生长^[3];另一方面,硒作为5'-脱碘酶的组成部分,能介导甲状腺激素的合成和降解,催化甲状腺素(T4)转变为三碘甲腺原氨酸(T3),T3控制着生长激素基因的表达和生长激素的合成,从而促进生长^[4]。有机硒具有吸收快、利用率高、污染少等特点,并且能够通过其特有的代谢途径,以有机的形式沉积在肌肉组织中,从而提高畜禽生长性能和肉质品质^[5-7]。国外对有机硒的研究主要以酵母硒(selenium yeast,SY)为主,然而国内对酵母硒在水生动物上应用研究鲜有报道。茶多酚(tea polyphenols,TP)是茶叶中多酚类化合物的总称,是优良的天然抗氧化剂和安全可靠的食品添加剂,在畜禽饲料中被广泛研究。已有研究表明,茶多酚可提高畜禽的生长性能、肉质品质和免疫功能^[8],但茶多酚在鱼类饲料中的研究应用较少,仅见于褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[9]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[10]、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)^[11]和罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[12]等。

本实验以团头鲂为研究对象,在饲料中添加不同水平的酵母硒和茶多酚及其配伍,探讨两者对团头鲂的生长、肉质营养品质和抗嗜水气单胞菌感染

能力的影响以及两者之间有无协同效应;同时,进一步测定血清中生长激素含量及相关基因在mRNA水平的表达,从下丘脑—垂体—生长轴基因表达变化探讨两者促生长的机制,以期为酵母硒和茶多酚在水产上的应用提供重要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼种、添加剂及饲料

团头鲂幼鱼由海大集团团风育种基地提供,为同一批繁殖、健康无病的团头鲂幼鱼,放入室内循环水养殖系统进行养殖。实验开始前,先用基础饲料驯养4周。正式实验选择健康、体质量、规格基本一致的团头鲂幼鱼,初始体质量约为(1.75±0.01)g。实验共分为9个处理,每个处理设3个重复,每个重复50尾,以重复为单位分养于规格为300 L圆柱形水族箱。

饲料原料购自武汉海大饲料有限公司,酵母硒(硒含量2 000 mg/kg)购自湖北安琪酵母股份有限公司。茶多酚(儿茶素含量60%)纯度为95%,购于浙江禾田生物技术有限公司。实验采用二因素三水平设计,在团头鲂幼鱼基础饲料中分别添加酵母硒(按硒计)3个水平(分别为0、0.25和0.50 mg/kg),茶多酚3个水平(分别为0.50和100 mg/kg),进行排列组合后得到9组饲料。基础饲料配方和营养水平见表1(干物质基础)。饲料原料经

表1 团头鲂幼鱼基础饲料配方和营养水平(干物质基础)

Tab.1 Basic diet formulation and nutrient levels of juvenile Wuchang bream (dry matter)

成分 ingredients	含量/% content	营养水平 nutrient levels	含量/% content
白鱼粉 white fish meal	15.00	粗蛋白 crude protein	35.09
豆粕 soybean meal	49.05	粗脂肪 crude lipid	5.48
鱼油 fish oil	7.05	水分 water	7.18
玉米淀粉 corn starch	10.30	灰分 ash	14.33
氯化胆碱(50%) choline chloride(50%)	1.00	能量/(kJ/g) energy	18.04
羧甲基纤维素 carboxyl methyl cellulose	3.00		
纤维素 cellulose	3.60		
三氧化二铬 Cr ₂ O ₃	0.50		
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	2.50		
维生素预混物 vitamin premix ¹⁾	1.00		
矿物质预混物(不含硒) mineral premix (no Se) ²⁾	2.00		

注:1) 维生素预混物(mg/kg):硫胺素,20;核黄素,20;维生素B₆,20;维生素B₁₂,2;维生素A,1.83;维生素D,0.5;维生素K,10;叶酸,5;泛酸钙,50;肌醇,100;维生素E,10。2) 矿物盐预混物(g/kg):NaCl,0.8;MgSO₄·7H₂O,12;NaH₂PO₄·7H₂O,20;KH₂PO₄,25.6;Ca(H₂PO₄)₂·H₂O,16;FeSO₄,2;(CH₂CHCOO)₂Ca·5H₂O,2.8;ZnSO₄·7H₂O,0.028;MnSO₄·4H₂O,0.013;CuSO₄·5H₂O,0.0025;CoCl₂·6H₂O,0.0008;KIO₃·6H₂O,0.0024

Notes:1) Vitamin premix (mg/kg): thiamin, 20; riboflavin, 20; pyridoxine, 20; vitamin B₁₂, 2; vitamin A, 1.83; vitamin D, 0.5; vitamin K, 10; folic acid, 5; Ca-pantothenate, 50; inositol, 100; vitamin E, 10. 2) Mineral premix (g/kg): NaCl, 0.8; MgSO₄·7H₂O, 12; NaH₂PO₄·7H₂O, 20; KH₂PO₄, 25.6; Ca(H₂PO₄)₂·H₂O, 16; FeSO₄, 2; (CH₂CHCOO)₂Ca·5H₂O, 2.8; ZnSO₄·7H₂O, 0.028; MnSO₄·4H₂O, 0.013; CuSO₄·5H₂O, 0.0025; CoCl₂·6H₂O, 0.0008; KIO₃·6H₂O, 0.0024

粉碎过40目筛,按表1配比、混合均匀,少量组分采用逐级扩大法混合,以微晶纤维素为填充剂,使各实验组饲料其他营养水平保持一致。用实验室型膨化饲料制粒机(型号:21204547)制成粒径2.0 mm的软颗粒饲料,50℃烘箱中烘干后,置于4℃冰箱中保存备用。饲料中酵母硒的含量采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP)检测,测得基础饲料中硒的含量为0.08 mg/kg,茶多酚采用中华人民共和国轻工行业标准—食品添加剂茶多酚(QB 2154-95)进行检测。

1.2 饲养管理

实验期间,日投饵量为鱼体质量的3%~4%,每天投喂3次,在9:00投喂适量,半小时后观察吃食情况,估计采食量,18:00与22:00再各投喂一次,方法同上,每次投喂以大部分鱼吃饱,不在徘徊水面抢食为结束点。在整个实验期间,水质为曝气自来水,采用自动循环微流水系统,保持水温(25 ± 0.5)℃,pH为7.5~7.8,溶氧大于5 mg/L。实验饲养期为60 d。

1.3 攻毒实验

饲养实验结束后,每个平行选取体质量基本一致的30尾团头鲂进行嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)感染实验。实验用嗜水气单胞菌的菌种购自中国科学院微生物研究所菌种保藏中心,购回后用营养肉汁琼脂培养基在28℃振荡培养箱中培养24 h,进行菌苗的复壮,用灭菌生理盐水清洗,以4 000 r/min离心15 min,收集沉淀细菌体,用灭菌生理盐水进行梯度稀释,分别配制成 1×10^7 、 5×10^6 、 1×10^6 和 1×10^5 CFU/mL 4个浓度梯度来确定团头鲂的LD₅₀,确定其LD₅₀在 5×10^6 CFU/mL左右。正式实验每尾鱼注射嗜水气单胞菌液(2.05×10^6 CFU/mL)0.1 mL,每组继续投喂原来的实验组饲料,保证充足的溶氧,观察鱼的死亡情况,并分别于1、24、48、96和168 h统计存活率。

1.4 采样与处理

实验结束后,禁食48 h。实验开始及结束时分别对各水族箱的鱼进行称重并记录其初重(g)及末重(g),计算生长指标。每个平行随机选取3尾团头鲂,用一次性医用注射器从尾静脉采血,血样在4℃冰箱中静置1~2 h后,以4℃、3 000 r/min离心10 min制备血清,用于测定血清中生长激素含量。将其解剖,迅速分离内脏团、肝脏和

脑,称量,分别取0.1 g肝脏和脑用液氮速冻后转移至-80℃冰箱中保存,用于RNA提取和基因表达测定,剩余鱼体取肌肉,用冷冻干燥机烘干,用于测定常规营养成分。

1.5 测定指标与方法

生长与形体指标

分别按下式计算增重率(weight gain rate,WGR)、特定生长率(specific growth rate,SGR)、饵料系数(feed coefficient,FC)、肥满度(condition factor,CF)、肝体比(hepatosomatic index,HSI)和脏体比(viscerosomatic index,VSI):

$$\text{增重率(WGR, %)} = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$$

$$\text{特定生长率(}SGR, \%/\text{d}\text{)} = 100 \times [\ln(W_t) - \ln(W_0)]/t$$

$$\text{饵料系数(}FC\text{)} = W_D / (W_t - W_0)$$

$$\text{肥满度(}CF, \% \text{)} = 100 \times W_t / L_t^3$$

$$\text{肝体比(}HSI, \% \text{)} = 100 \times \text{肝脏重量(g)}/\text{全体重(g)}$$

$$\text{脏体比(}VSI, \% \text{)} = 100 \times \text{内脏重量(g)}/\text{全体重(g)}$$

式中, W_t 为终末团头鲂总质量(g); W_0 为初始团头鲂总质量(g); t 为饲喂天数(d); W_D 为摄食饲料总质量(g); W_t 为终末团头鲂平均体质量(g); L_t 为终末团头鲂平均体长(cm)。

肌肉常规营养成分分析 水分采用105℃恒重法(GB/T 6435-86)测定,粗蛋白采用凯氏定氮法(GB/T 6432-94)测定,粗脂肪采用索氏抽提法(GB/T 6433-94)测定,粗灰分采用550℃灼烧法(GB/T 6438-92)测定。

血清中生化指标的测定 采用南京建成生物工程研究所酶联免疫试剂盒检测血清中生长激素(GH)和胰岛素样生长因子(IGF-I)的含量,GH和IGF-I的测定原理均基于生物素双抗体夹心技术,具体操作步骤参照试剂盒说明书进行。

脑垂体、肝脏中基因表达水平分析 采用Trizol法提取脑和肝脏总RNA,用超微量分光光度计(NanoDrop ND-2000 spectrophotometer,Thermo Scientific,USA)测定260和280 nm处的吸收值,检测RNA的产量和纯度,并使用1%琼脂糖凝胶进行RNA非变性电泳检测RNA样品完整性。取1 μg总RNA,用PrimeScriptTM RT Reagent反转录试剂盒(TaKaRa)合成cDNA,并将得到的cDNA保存在-20℃冰箱备用。

采用 Bio-Rad CFX96 实时定量 PCR 仪,参照 TaKaRa 公司的 Prime Script RT Master Mix 试剂盒 (DRR036A) 说明书进行 qRT-PCR, 荧光染料为 SYBR Green I。每个反应重复 3 次。qPCR 检测引物序列文献[13]的方法,由生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 反应条件为预变性 94 ℃ 10 s, 变性 94 ℃ 5 s, 退火/延伸 60 ℃ 34 s, 共 40 个重复。以 β -Actin 作为相对定量内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析数据, 计算目的基因的相对表达量^[14]。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 2 Primer sequences for real-time quantitative PCR

基因 genes	引物序列(5'-3') primer sequence	产物/bp product
<i>MaGH</i>	F: TGTCGGTGGTGCTGGTT R: CGCCTCAATGGAGTCAGAGT	212
<i>MaGHR1</i>	F: AGCCTCCTCCTGAATCCT R: TTCCAGCAGTGAGAAGGTAT	186
<i>MaGHR2</i>	F: CAGAGAATGTGAAGATAGGATGGA R: TAGGAATGAGAATGAAGATGGAGT	216
<i>MaIGF-I</i>	F: CCGATTAAAGGTCCGTATT R: GTGCAGCCGTAGTTCAAGTT	243
β -Actin	F: ACCCACACCGTGCCCCATCTA R: CGGACAATTCTCTTCGGCTG	152

表 3 饲料中不同水平的酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼生长及形体指标的影响

Tab. 3 Effects of dietary selenium yeast and tea polyphenols on growth and body indices of juvenile Wuchang bream

组别 groups	增重率/% WGR	特定生长率/% SGR	肥满度/% CF	肝体比/% HSI	脏体比/% VSI	饵料系数 FCR
S ₀ T ₀	463.43 ± 4.86 ^c	3.09 ± 0.02 ^c	2.03 ± 0.05	1.49 ± 0.10 ^a	11.07 ± 0.75 ^a	2.56 ± 0.05 ^a
S ₀ T ₁	620.45 ± 16.76 ^b	3.53 ± 0.05 ^b	2.01 ± 0.01	1.21 ± 0.01 ^{bcd}	9.48 ± 0.35 ^{bcd}	1.91 ± 0.05 ^b
S ₀ T ₂	675.29 ± 17.82 ^a	3.65 ± 0.04 ^a	2.00 ± 0.01	1.17 ± 0.01 ^{bcd}	9.77 ± 0.01 ^{bcd}	1.83 ± 0.04 ^{cd}
S ₁ T ₀	679.92 ± 16.39 ^{ab}	3.66 ± 0.04 ^{ab}	2.00 ± 0.01	1.38 ± 0.06 ^{ab}	10.43 ± 0.20 ^{ab}	1.74 ± 0.02 ^{cd}
S ₁ T ₁	612.00 ± 26.00 ^b	3.51 ± 0.07 ^b	1.99 ± 0.01	1.13 ± 0.10 ^{cde}	8.87 ± 0.51 ^{cde}	1.94 ± 0.08 ^b
S ₁ T ₂	620.79 ± 37.36 ^b	3.53 ± 0.22 ^b	2.00 ± 0.06	1.07 ± 0.06 ^{de}	9.93 ± 0.70 ^b	1.89 ± 0.01 ^b
S ₂ T ₀	661.80 ± 26.12 ^{ab}	3.63 ± 0.07 ^{ab}	2.02 ± 0.06	1.26 ± 0.25 ^{bc}	8.93 ± 0.45 ^{cde}	1.77 ± 0.03 ^c
S ₂ T ₁	681.92 ± 26.71 ^{ab}	3.67 ± 0.15 ^{ab}	2.01 ± 0.04	1.04 ± 0.05 ^{de}	8.68 ± 0.11 ^e	1.65 ± 0.03 ^d
S ₂ T ₂	661.36 ± 3.69 ^{ab}	3.62 ± 0.01 ^{ab}	2.03 ± 0.05	1.00 ± 0.01 ^e	8.79 ± 0.70 ^{de}	1.79 ± 0.06 ^c
SY P 值	0.007	0.003	0.122	0.002	0.000	0.000
TP P 值	0.009	0.004	0.304	0.000	0.002	0.005
SY × TP	0.000	0.000	0.545	0.985	0.185	0.000

注:同列数据上标不同者表示差异显著($P < 0.05$),下同

Notes: Means in each column with no common superscript differ significantly ($P < 0.05$), the same as the following

酵母硒和茶多酚对团头鲂血清中生长激素的影响 饲料中添加酵母硒显著提高团头鲂血清中 GH 和 IGF-I 含量($P < 0.05$);而添加茶多酚显著降低 IGF-I 含量($P < 0.05$),对 GH 含量无显著影响($P > 0.05$);酵母硒和茶多酚的交互作

1.6 数据处理

采用 SPSS 17.0 版软件对数据进行统计分析,用 Duncan 氏法进行多重比较检验各组间的差异, $P < 0.05$ 表示差异显著。实验数据以平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示。

2 结果

2.1 酵母硒和茶多酚对团头鲂生长性能的影响

酵母硒和茶多酚对团头鲂生长和形体指标的影响 基础饲料中添加 0.25 和 0.50 mg/kg 酵母硒与不添加酵母硒相比,增重率分别提高 5.86% 和 10.83%, 饵料系数分别降低 10.63% 和 15.94%; 而添加 50 和 100 mg/kg 茶多酚与不添加茶多酚相比,增重率分别提高 5.90% 和 11.05%, 饵料系数分别降低 9.41% 和 10.89%。经双因素方差分析, 饲料中添加酵母硒和茶多酚均显著提高团头鲂幼鱼的增重率和特定生长率($P < 0.05$);显著降低肝体比、脏体比和饵料系数($P < 0.05$), 对肥满度无显著影响($P > 0.05$);酵母硒和茶多酚交互作用显著提高增重率和特定生长率($P < 0.05$),降低饵料系数($P < 0.05$),对鱼体的肝体比、脏体比和肥满度无显著影响($P > 0.05$) (表 3)。

用对团头鲂血清中 GH 和 IGF-I 含量影响不显著($P > 0.05$),在同一硒水平时,随着茶多酚添加量的提高,血清中 GH 含量先升高后下降,当饲料中添加 0.50 mg/kg 酵母硒和 50 mg/kg 茶多酚时, 血清中 GH 含量达到最高值(表 4)。

表4 饲料中不同水平的酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼血清中生长激素的影响
Tab. 4 Effects of dietary selenium yeast and tea polyphenols on the content of growth hormone in the serum of juvenile Wuchang bream

组别 groups	酵母硒 (按硒计)/ (mg/kg)	茶多酚/ (mg/kg)	GH/ (ng/mL)	IGF-I/ (ng/mL)
S ₀ T ₀	0	0	1.02 ± 0.06 ^b	69.19 ± 4.15 ^{cd}
S ₀ T ₁	0	50	1.11 ± 0.02 ^{ab}	61.18 ± 3.81 ^e
S ₀ T ₂	0	100	1.17 ± 0.13 ^{ab}	60.42 ± 5.92 ^e
S ₁ T ₀	0.25	0	1.18 ± 0.05 ^{ab}	85.69 ± 3.89 ^b
S ₁ T ₁	0.25	50	1.24 ± 0.11 ^a	73.14 ± 3.61 ^c
S ₁ T ₂	0.25	100	1.20 ± 0.12 ^{ab}	64.95 ± 4.72 ^{de}
S ₂ T ₀	0.50	0	1.20 ± 0.18 ^{ab}	95.90 ± 5.35 ^a
S ₂ T ₁	0.50	50	1.29 ± 0.05 ^a	87.62 ± 3.93 ^b
S ₂ T ₂	0.50	100	1.19 ± 0.04 ^{ab}	76.83 ± 4.78 ^c
SY P 值		0.026	0.000	
ANOVA TP P 值		0.185	0.000	
SY × TP P 值		0.630	0.159	

表5 饲料中不同水平的酵母硒和茶多酚对团头鲂幼鱼生长相关基因表达的影响
Tab. 5 Effects of dietary selenium yeast and tea polyphenols on transcriptional levels of growth related genes of juvenile Wuchang bream

组别 groups	脑 brain			肝脏 liver		
	MaGH	MaGHR ₁	MaGHR ₂	MaGHR ₁	MaGHR ₂	MaIGF-I
S ₀ T ₀	0.99 ± 0.10 ^b	1.01 ± 0.21	1.05 ± 0.22 ^c	1.06 ± 0.15	0.99 ± 0.21	1.00 ± 0.09 ^{bcd}
S ₀ T ₁	1.00 ± 0.21 ^b	1.03 ± 0.28	1.22 ± 0.12 ^{abc}	1.02 ± 0.12	1.02 ± 0.09	0.82 ± 0.16 ^{de}
S ₀ T ₂	1.06 ± 0.18 ^b	1.01 ± 0.21	1.37 ± 0.20 ^{ab}	1.03 ± 0.10	0.98 ± 0.19	0.74 ± 0.15 ^e
S ₁ T ₀	1.69 ± 0.25 ^a	1.05 ± 0.25	1.14 ± 0.28 ^{bc}	1.12 ± 0.19	1.02 ± 0.18	1.25 ± 0.11 ^{ab}
S ₁ T ₁	1.68 ± 0.29 ^a	1.03 ± 0.06	1.38 ± 0.15 ^{ab}	1.05 ± 0.23	0.98 ± 0.21	1.15 ± 0.19 ^{abcd}
S ₁ T ₂	1.84 ± 0.09 ^a	1.05 ± 0.30	1.42 ± 0.16 ^{ab}	1.09 ± 0.08	0.99 ± 0.25	0.88 ± 0.29 ^{cde}
S ₂ T ₀	1.45 ± 0.28 ^a	1.08 ± 0.08	1.26 ± 0.13 ^{abc}	1.08 ± 0.10	0.99 ± 0.11	1.41 ± 0.31 ^a
S ₂ T ₁	1.47 ± 0.16 ^a	1.04 ± 0.19	1.18 ± 0.22 ^{abc}	1.07 ± 0.10	1.04 ± 0.15	1.07 ± 0.06 ^{abcde}
S ₂ T ₂	1.56 ± 0.24 ^a	1.05 ± 0.06	1.48 ± 0.15 ^a	1.05 ± 0.19	1.06 ± 0.17	1.19 ± 0.22 ^{abc}
SY P 值	0.002	0.780	0.348	0.615	0.279	0.001
TP P 值	0.820	0.987	0.008	0.677	0.542	0.029
SY × TP P 值	0.897	0.987	0.462	0.970	0.776	0.565

2.2 酵母硒和茶多酚对团头鲂肌肉营养成分的影响

饲料中添加酵母硒和茶多酚均显著提高团头鲂肌肉中粗蛋白含量($P < 0.05$)，另外，茶多酚的添加也显著提高肌肉中水分含量($P < 0.05$)；酵母硒和茶多酚的交互作用对团头鲂肌肉中粗蛋白、水分和灰分的含量无显著影响($P > 0.05$) (表6)。

酵母硒和茶多酚对团头鲂脑垂体和肝脏中生长相关基因表达的影响 基础饲料中添加0.25、0.50 mg/kg 酵母硒与不添加酵母硒相比，脑 MaGH 基因表达水平分别提高了75.76%、50.51% (表5)。经双因素方差分析，饲料中添加酵母硒可显著提高团头鲂脑 MaGH 基因表达水平($P < 0.05$)，对脑 MaGHR₁ 和 MaGHR₂ 基因表达水平无显著影响($P > 0.05$)；添加茶多酚显著提高脑 MaGHR₂ 基因表达水平($P < 0.05$)，而对脑 MaGH 和 MaGHR₁ 基因表达水平无显著影响($P > 0.05$)；酵母硒和茶多酚的交互作用对团头鲂脑 MaGH、MaGHR₁ 和 MaGHR₂ 基因表达影响不显著($P > 0.05$)。

饲料中添加酵母硒和茶多酚均显著影响团头鲂肝脏 MaIGF-I 基因的表达水平($P < 0.05$)，其中，酵母硒显著提高 MaIGF-I 基因表达水平($P < 0.05$)，而茶多酚显著降低 MaIGF-I 基因表达水平($P < 0.05$)；酵母硒和茶多酚的交互作用对团头鲂肝脏中 MaGHR₁、MaGHR₂ 和 MaIGF-I 基因表达水平影响不显著($P > 0.05$)。

2.3 酵母硒和茶多酚对团头鲂抗嗜水气单胞菌的影响

团头鲂人工注射感染嗜水气单胞菌168 h后，各实验组存活率达到稳定。与基础饲料组相比，各添加组团头鲂在48、96和168 h的存活率均升高，且酵母硒和茶多酚配伍效果更加明显。其中，当基础饲料中同时添加0.50 mg/kg 酵母硒

和 100 mg/kg 茶多酚时团头鲂幼鱼的存活率最高。

表 6 饲料中不同水平的酵母硒和茶多酚对

团头鲂幼鱼肌肉中营养成分的影响

Tab. 6 Effects of dietary selenium yeast and tea polyphenols on nutritional composition in muscle of juvenile Wuchang bream %

组别 groups	水分 moisture	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 DW	粗灰分 DW
S ₀ T ₀	80.36 ± 1.05 ^{ab}	83.88 ± 0.87 ^c	9.69 ± 0.70	5.48 ± 0.16
S ₀ T ₁	80.11 ± 0.55 ^b	84.79 ± 0.73 ^b	9.07 ± 1.18	5.49 ± 0.05
S ₀ T ₂	80.19 ± 0.34 ^{abc}	84.95 ± 1.57 ^b	9.40 ± 1.68	5.52 ± 0.12
S ₁ T ₀	79.97 ± 0.52 ^b	85.10 ± 0.40 ^{abc}	9.63 ± 1.27	5.48 ± 0.07
S ₁ T ₁	80.06 ± 1.23 ^b	86.02 ± 0.10 ^{ab}	9.81 ± 0.45	5.50 ± 0.09
S ₁ T ₂	80.43 ± 1.11 ^{ab}	85.58 ± 1.08 ^{ab}	8.59 ± 0.68	5.55 ± 0.23
S ₂ T ₀	79.73 ± 0.99 ^c	85.22 ± 1.11 ^{abc}	9.58 ± 1.95	5.48 ± 0.35
S ₂ T ₁	80.08 ± 1.32 ^b	85.98 ± 0.62 ^{ab}	9.82 ± 1.14	5.55 ± 0.93
S ₂ T ₂	80.74 ± 1.10 ^a	86.67 ± 0.32 ^a	8.38 ± 0.58	5.51 ± 0.78
SY P 值	0.906	0.008	0.879	0.804
TP P 值	0.024	0.045	0.352	0.677
SY × TP	0.079	0.820	0.814	0.965

注: DW 表示肌肉干重

Notes: DW represents dry weight of the muscle

表 7 注射嗜水气单胞菌对各实验组团头鲂幼鱼存活率的影响

Tab. 7 The survival rate of juvenile Wuchang bream fed on diets containing different levels of selenium yeast and tea polyphenols after being injection of *A. hydrophila* %

组别 groups	注射后观察时间点				
	1 h	24 h	48 h	96 h	168 h
S ₀ T ₀	100	70	38	25	25
S ₀ T ₁	100	60	40	35	35
S ₀ T ₂	100	75	63	45	45
S ₁ T ₀	100	55	40	30	30
S ₁ T ₁	100	55	50	38	38
S ₁ T ₂	100	80	68	55	55
S ₂ T ₀	100	75	63	50	50
S ₂ T ₁	100	70	63	55	50
S ₂ T ₂	100	88	70	58	58

3 讨论

3.1 酵母硒和茶多酚对团头鲂生长性能的影响

酵母硒对团头鲂生长性能的影响 硒是动物体必需的微量元素, 饲料中硒缺乏会导致鱼类的生长减缓, 而补充适量的硒, 则可促进养殖对象

的生长, 降低饵料系数, 提高成活率^[15~16]。有机硒具有吸收快、利用率高、污染少等特点, 并且能够通过其特有的代谢途径, 以有机的形式沉积在肌肉组织中, 改善肉质品质。Nugroho 等^[17]研究发现饲料中添加 0.40 mg/kg 酵母硒能显著提高鳌虾的存活率、增重率和特定生长率。王亭亭等^[18]研究发现, 在基础饲料中添加 0.50 mg/kg 酵母硒能显著促进鳖的生长, 日增重率显著高于对照组。许友卿等^[19]研究也发现, 投喂添加酵母硒的饲料可显著提高鳡鱼饲料转化率, 当添加量为 0.60 mg/kg 时能显著提高鳡鱼增重率和特定生长率, 降低饵料系数。本实验结果表明, 饲料中添加 0.25 和 0.50 mg/kg 酵母硒均能显著提高团头鲂幼鱼增重率和特定生长率, 降低饵料系数, 表明饲料中添加适量的有机硒可显著提高团头鲂的生长性能。

动物生长是一个非常复杂、涉及多种生理活动的过程, 除了受遗传、营养、环境等因素影响外, 神经内分泌系统在调控动物生长、机体组成方面起核心作用^[20]。在动物神经内分泌生长轴中, 生长激素 (GH) 和胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 及其相关受体和结合蛋白构成的促生长系统是调控机体生长的中心环节。GH 发挥对生长的调控作用, 主要是通过 IGF 介导实现^[21], 肝脏生长激素受体 (GHR) 是 IGF-I 基因表达的调节因子之一^[22]。硒是组织中 5'-脱碘酶的组成成分, 可以提高血清中三碘甲腺原氨酸的水平, 促进生长激素的合成和分泌, 从而加快动物的生长和蛋白质合成^[4]。本实验中, 在基础饲料中添加不同水平的酵母硒均能显著提高团头鲂血清中 GH 和 IGF-I 含量, 提示补充适量硒能够通过调节神经内分泌系统的激素水平, 提高动物的生长性能和饲料转化率。这与石磊^[23]在硒对羊围术期血清中生长激素的影响中得到的结论一致。Clarke 等^[24]和 Towle 等^[25]的报道认为, 饲料中主要的营养物质以及某些维生素和矿物质等, 对下丘脑—垂体—生长轴相关基因表达有着显著的影响。金明昌^[26]在幼鲤饲料中添加硒(以亚硒酸钠形式)0、0.15、0.30 和 0.45 mg/kg, 饲养 8 周后发现, 随着硒水平的提高, 幼鲤肝脏中 IGF-I 基因 mRNA 的表达量显著增加。本实验通过荧光定量基因表达检测, 发现随着饲料中酵母硒添加量的增加, 团头鲂脑垂体中 *MaGH* 和肝脏中 *MaIGF-I* 基因

mRNA 表达水平显著上调,表明酵母硒可通过显著上调 *MaGH* 和 *MaIGF-I* 基因 mRNA 的表达而促进团头鲂的生长性能。

茶多酚对团头鲂生长性能的影响 茶多酚对动物生长性能的影响有不同的报道。本实验发现饲料中添加 50 和 100 mg/kg 茶多酚显著提高团头鲂增重率和特定生长率,显著降低饵料系数。同时,显著上调脑垂体中 *MaGHR₂* 基因表达,对血清中 GH 含量及脑垂体中 *MaGH* 基因表达水平均有提高的趋势。辜玲芳等^[11]研究发现饲料中添加 50 mg/kg 茶多酚能显著提高异育银鲫的增重率和特定生长率,降低饵料系数。刘振兴等^[12]在罗非鱼饲料中分别添加 0、83、166、333 和 666 mg/kg 茶多酚,经过 8 周的饲养实验发现,饲料中添加 166 mg/kg 茶多酚可显著提高罗非鱼的生长性能,推测茶多酚促生长的机理是通过调节神经内分泌系统,提高血清中 GH 含量,进而提高生长性能,且茶多酚具有显著的抗氧化活性和极强的清除自由基的能力,又具有杀菌、抗病毒、改善肠道微生物环境的生理功能,这可能有助于提高动物对饲料中营养成分的吸收和利用,从而促进生长性能。然而,Cho 等^[9]发现,在饲料中添加绿茶提取物未提高褐牙鲆的生长性能,直接添加茶叶还会降低其生长性能。徐奇友等^[10]在虹鳟饲料中分别添加 0、25、50、100、500 和 1 000 mg/kg 茶多酚,与对照组相比,添加不同水平的茶多酚对虹鳟增重率、特定生长率和饵料系数未产生显著影响。目前,茶多酚对鱼类生长性能影响的研究报道不多,结论也不一致,可能与茶多酚的添加量、饲料中脂肪比例、鱼类食性和实验周期等有关。

酵母硒和茶多酚的交互作用对团头鲂生长性能的影响 酵母硒和茶多酚都是优质的天然抗氧化剂。研究表明,酵母硒和茶多酚具有协同抗氧化作用^[27]。抗氧化添加剂一般通过提高动物抗应激、抗氧化能力,来增强机体免疫功能,降低死亡率,实现促生长^[3]。本实验发现酵母硒和茶多酚的交互作用对生长性能影响随饲料中硒水平而异,当饲料中硒缺乏时,随着茶多酚添加量的增加显著提高团头鲂增重率和特定生长率,且降低饵料系数,两者交互作用显著,但是当酵母硒添加量达到 0.25 mg/kg 以后,茶多酚对增重率和特定生长率无显著影响,两者交互作用不显著。与蒋

焕超^[28]在吉富罗非鱼饲料中添加维生素 E 和硒得到的结果类似,即不添加硒时,添加维生素 E 显著提高罗非鱼特定生长率,而当硒的添加量达到 0.15 mg/kg 后,添加维生素 E 对罗非鱼的特定生长率无显著影响。本实验结果表明,当饲料中硒不能满足团头鲂的营养需求时,茶多酚能够补偿硒的不足从而发挥生物学效价,部分替代硒的生物学功能;而在高水平硒时,添加茶多酚对生长性能无显著影响,甚至有下降的趋势,分析可能的原因是硒与茶多酚竞争受体活性靶位,抑制了硒的生物学功能。本实验中,当基础饲料中添加 0.50 mg/kg 酵母硒和 50 mg/kg 茶多酚时,生长性能达到最大值,同时血清中生长激素含量达到最高,从生长性能考虑,本实验建议基础饲料中添加 0.50 mg/kg 酵母硒和 50 mg/kg 茶多酚的组合,能较好地提高团头鲂幼鱼的生长性能,降低饵料系数。

3.2 酵母硒和茶多酚对团头鲂肌肉营养品质的影响

酵母硒和茶多酚能改善肉品质已在畜禽实践中得到证实^[29~30]。鱼类的营养价值主要取决于其肌肉中的蛋白质和脂肪含量等^[31]。苏传福等^[32]在草鱼基础饲料中分别添加 0、0.15、0.30、0.60、1.20、2.40 和 4.80 mg/kg 的硒,结果发现无论是全鱼还是肌肉,饲料中添加硒对粗蛋白含量均有显著影响,当添加量在 0~0.60 mg/kg 时,随着添加量的增加,肌肉中蛋白质含量显著提高;当添加量在 0.60~2.40 mg/kg 时,随着硒的添加量增加,粗蛋白含量显著降低。本实验结果也显示,在团头鲂饲料中添加 0.25、0.50 mg/kg 酵母硒能显著提高肌肉中粗蛋白含量。徐奇友等^[10]研究发现,在虹鳟饲料中添加 50~100 mg/kg 茶多酚可改善虹鳟的肉质品质,提高肌肉中粗蛋白含量。该研究还指出,茶多酚可通过作用于肌细胞的 β-受体,激活细胞膜上 cAMP 酶的活性使其浓度提高,cAMP 含量的提高可激活蛋白激酶,蛋白激酶又可降低肌肉中组织蛋白酶的活性,从而促进蛋白质沉积^[10]。本实验结果表明,在团头鲂饲料中添加 50 和 100 mg/kg 茶多酚对团头鲂肌肉中粗蛋白的含量影响显著,各实验组中粗蛋白含量均高于对照组。可见,酵母硒和茶多酚均能够通过提高粗蛋白含量改善肌肉营养品质。同时还发现,饲料中添加茶多酚能显著提高肌肉中水

分含量,从而改善肌肉的嫩度,其可能原因是茶多酚作为天然高效的抗氧化剂能保护细胞膜免受破坏,保证细胞的完整性,降低肉品滴水损失,从而改善肌肉的嫩度。

3.3 酵母硒和茶多酚对团头鲂抗嗜水气单胞菌感染的影响

酵母硒和茶多酚能增强水生动物的抗病力^[33~36]。Wang 等^[33]研究表明,斑点叉尾鮰的抗病力与饲料硒水平密切相关,0.20 mg/kg 的硒代蛋氨酸和 0.40 mg/kg 的酵母硒可显著提高斑点叉尾鮰经爱德华氏菌攻毒后的成活率。华雪铭等^[34]研究发现,饲料中添加不同水平的酵母硒均使异育银鲫对嗜水气单胞菌的半致死剂量极显著提高,而且随着酵母硒的添加量的增加而增大。刘群芳等^[35]研究发现饲料中 β-葡萄糖与硒代蛋氨酸二者联合添加能一定程度地提高凡纳滨对虾的免疫防御功能,可以作为凡纳滨对虾的复合免疫增强剂。茶多酚具有优良的抗菌抑菌,增强机体抵抗力、抗瘤抑瘤以及降血脂的功效,但其在鱼类饲料中的研究应用较少。马美湖^[36]通过小鼠体内抑菌实验表明,在感染大肠杆菌和金黄色葡萄球菌之前 18 h 灌喂茶多酚复合剂,死亡率(72 h)分别为 40%、30%,感染后 1 h 灌喂死亡率(72 h)分别为 70%、60%,同对照组比差异极显著和显著,表明茶多酚有很好的体内抑菌效果。本实验中,嗜水气单胞菌攻毒后 168 h 内各添加组的存活率均高于对照组,表明酵母硒和茶多酚均能一定程度上增强团头鲂幼鱼抵抗嗜水气单胞菌感染的能力,且两者联合添加时抗感染能力增加更加明显。

因此,在基础饲料中添加酵母硒和茶多酚可促进团头鲂的生长,降低饵料系数,提高肌肉中粗蛋白含量,增强鱼体抗病原菌的感染力,两者配伍效果更佳。同时,诱导下丘脑—垂体—生长轴相关基因表达,不同的是酵母硒主要上调脑垂体中 GH 和肝脏中 *MaIGF-I* 基因 mRNA 表达,茶多酚主要上调脑垂体中 *MaGHR₂* 基因表达。综合生长性能和抗病力分析,团头鲂幼鱼饲料中酵母硒和茶多酚配伍的适宜添加量为 0.50 mg/kg 酵母硒和 50 mg/kg 茶多酚。

参考文献:

- [1] Li X F, Liu W B, Jiang Y Y, et al. Effects of dietary protein and lipid levels in practical diets on growth performance and body composition of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings [J]. Aquaculture, 2010, 303 (1~4): 65~70.
- [2] Ojolick E J, Cussack R, Benfey T J, et al. Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature [J]. Aquaculture, 1995, 131 (3~4): 177~187.
- [3] Raymond F, Burk M D. Selenium, an antioxidant nutrient [J]. Clinical Nutrition, 2002, 5 (2): 75~79.
- [4] Arthur J R, Nicol F, Beckett G J. Hepatic iodothyronine 5'-deiodinase: The role of selenium [J]. Biochemical Journal, 1990, 272 (2): 537~542.
- [5] Clyburn B S. Effects of sel-plex (organic selenium) and vitamin E on performance, immune response, and beef cut shelf life of feedlot steers [D]. Lubbock: Texas Technology University, 2002.
- [6] Yang H. Effect of organic se fed to Duroc × Yorkshire × Landrace and Yorkshire × Landrace Growing-finishing pigs on production performance, carcass trait, meat quality and mechanism of action [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2002. [杨华. 有机硒对杜大长和大长商品猪生产性能、胴体性状、肉质的影响及其机理探讨. 杭州: 浙江大学, 2002.]
- [7] Zou X T, Zheng G H, Yin Z Z, et al. Effects of different selenium sources on growth performance, carcass composition and meat quality in broilers [J]. Journal of Zhejiang University, 2005, 31 (6): 773~776. [邹晓庭, 郑根华, 尹兆正, 等. 不同硒源对肉鸡生长性能、胴体特性和肉质的影响. 浙江大学学报, 2005, 31 (6): 773~776.]
- [8] Li Y Y, Duan X D, Zhao J, et al. Effects of tea polyphenol on growth performance and immune function of weaned piglets challenged with oxidative stress [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2011, 47 (15): 53~57. [李永义, 段绪东, 赵娇, 等. 茶多酚对氧化应激仔猪生长性能和免疫功能的影响. 中国畜牧杂志, 2011, 47 (15): 53~57.]
- [9] Cho S H, Lee S M, Park B H, et al. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of the juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2007, 33 (1): 49~57.
- [10] Xu Q Y, Li C, Xu H, et al. Effects of tea polyphenols on growth performance, blood biochemical indices and non-specific immune indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Chinese

- Journal of Animal Nutrition, 2008, 20 (5) : 547 – 553. [徐奇友, 李婵, 许红, 等. 茶多酚对虹鳟生长性能、生化指标和非特异性免疫指标的影响. 动物营养学报, 2008, 20 (5) : 547 – 553.]
- [11] Gu L F. Effects of Plant Extracts on growth performance, protein synthesis and liver morphology in *Carassius auratus gibelio* [D]. Wuhan: Wuhan University of Technology, 2008. [辜玲芳. 植物提取物对异育银鲫生长性能、蛋白质合成及肝脏形态结构的影响. 武汉: 武汉工业学院, 2008.]
- [12] Liu Z X, Ke H, Hao L, et al. Effect of tea polyphenols on growth performance, antioxidant effect and non-specific immune indices of *Oreochromis niloticus* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012 (23) : 113 – 115. [刘振兴, 柯浩, 郝乐, 等. 茶多酚对罗非鱼生长性能、抗氧化功能和非特异性免疫指标的影响. 广东农业科学, 2012 (23) : 113 – 115.]
- [13] Sun S M, Ge X P, Zhu J, et al. Identification and mRNA expression of antioxidant enzyme genes associated with the oxidative stress response in the Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) in response to acute nitrite exposure [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 159 (5) : 69 – 77.
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Method [J]. Methods, 2001, 25 (1) : 402 – 408.
- [15] Lin Y H, Shiao S Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus* [J]. Aquaculture, 2005, 250 (1 – 2) : 356 – 363.
- [16] Wang Y B, Han J Z, Li W F, et al. Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allognogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. Animal Feed Science and Technology, 2007, 134 (3 – 4) : 243 – 251.
- [17] Nugroho R A, Fotedar R. Effects of dietary organic selenium on immune responses, total selenium accumulation and digestive system health of marron, *Cherax cainii* [J]. Aquaculture Research, 2013 (10) : 1 – 11.
- [18] Wang T T, Cai W Q. Effects of dietary pollen and selenoyeast on growth, non-specific immunity of *Trionyx sinensis* [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2005, 14 (2) : 97 – 102. [王亭亭, 蔡完其. 饲料中添加花粉和酵母硒对中华鳖幼鳖生长和非特异性免疫功能的影响. 上海水产大学学报, 2005, 14 (2) : 97 – 102.]
- [19] Xu Y Q, Li T Y, Ding Z K, et al. Effects of dietary selenium on digestion and feed conversion in yellowcheek carp *Elopichthys bambusa* [J]. Fisheries Science, 2013, 32 (7) : 391 – 395. [许友卿, 李太元, 丁兆坤, 等. 添加酵母硒对鳡鱼消化酶活性与饲料转化率的影响. 水产科学, 2013, 32 (7) : 391 – 395.]
- [20] Zeng L H, Zhou G A, Yang F. Application of animal growth hormone in meat livestock production [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 1999, 11 (4) : 1 – 8. [曾礼华, 周安国, 杨风. 动物生长激素与肉畜生产. 动物营养学报, 1999, 11 (4) : 1 – 8.]
- [21] Pierce A L, Beckman B R, Shearer K D, et al. Effects of ration on somatotropic hormones and growth in coho salmon [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2001, 128 (2) : 255 – 264.
- [22] Stewart C E, Rotwein. Growth, differentiation, and survival: Multiple physiologically functions for insulin-like growth factors [J]. Physiological Reviews, 1996, 76 (4) : 1005 – 1026.
- [23] Shi L. Effect of selenium to serum trace elements, growth hormone and related antioxidant enzyme of perioperative sheep [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2009. [石磊. 硒对羊围术期血清相关微量元素、生长激素及抗氧化酶的影响. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.]
- [24] Clarke S D, Abraham S. Gene expression: Nutrient control of pretranscriptional and posttranscription events [J]. The FASEB Journal, 1992, 6 (13) : 3146 – 3152.
- [25] Towle H C. Metabolic regulation of gene transcription in mammals [J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270 (40) : 23235 – 23238.
- [26] Jin M C. Study on selenium deficiency symptom and mechanism and requirement in juvenile common carps [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2007. [金明昌. 幼鲤硒缺乏症及其机制和硒需要量研究. 雅安: 四川农业大学, 2007.]
- [27] He L Q. Effect of tea polyphenols and selenium yeast on yolk cholesterol, selenium content and antioxidant activity in hens [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2012. [何柳青. 茶多酚和酵母硒对绿壳鸡蛋胆固醇、硒含量及抗氧化性能的影响. 长沙: 湖南农业大学, 2012.]

- [28] Jiang H C. The interaction effects of vitamin E and Se on growth, reproduction, antioxidation and immunity of juvenile gift, *Oreochromis niloticus* [D]. Nanning: Guangxi University, 2012. [蒋焕超. VE与硒的交互作用对吉富罗非鱼生长、生殖、抗氧化及免疫力的影响. 南宁: 广西大学, 2012.]
- [29] Xu B H. The biological effect of nano selenium on Avian broiler and approach to the molecular mechanism [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2003. [胥保华. 纳米硒对Avian肉鸡的生物学效应及其分子机理的研究. 杭州: 浙江大学, 2003.]
- [30] Xia M S, Zhang H M, Hu C H. Effect of nano-selenium on meat quality of pigs [J]. Journal of Zhejiang University, 2005, 31(3): 263–268. [夏枚生, 张红梅, 胡彩虹. 纳米硒对肥育猪肌肉品质的影响. 浙江大学学报, 2005, 31(3): 263–268.]
- [31] Yin H B, Sun Z W, Shen X S, et al. Analysis of muscle nutritious composition for *Oncorhynchus Masou* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2004, 28(5): 57–61. [尹洪滨, 孙中武, 沈希顺, 等. 山女鳟肌肉营养组成分析. 水生生物学报, 2004, 28(5): 57–61.]
- [32] Su C F, Luo L, Wen H, et al. Effects of dietary selenium on growth performance, quality and digestive enzyme activities of grass carp [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2007, 16(2): 124–129. [苏传福, 罗莉, 文华, 等. 硒对草鱼生长、营养组成和消化酶活性的影响. 上海水产大学学报, 2007, 16(2): 124–129.]
- [33] Wang C L, Richard T L. Organic selenium, selenomethionine and selenoyeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish [J]. Aquaculture, 1997, 152(25): 223–234.
- [34] Hua X M, Zhou H Q, Qiu X C, et al. Effects of dietary *Bacillus* sp. And selenoyeast on growth and disease resistance of allogynogenetic crucian carp [J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(5): 448–453. [华雪铭, 周洪琪, 邱小琼, 等. 饲料中添加芽孢杆菌和硒酵母对异育银卿的生长及抗病力的影响. 水产学报, 2001, 25(5): 448–453.]
- [35] Liu Q F, Cao J M, Huang Y H, et al. Effects of β -glucan and selenium, vitamin E combined supplementation on tissue biochemical indexes and immune, antioxidant related enzyme mRNA expression of *Litopenaeus vannamei* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(5): 1045–1053. [刘群芳, 曹俊明, 黄燕华, 等. β -葡聚糖与硒、维生素E联合添加对凡纳滨对虾组织生化指标及免疫、抗氧化相关酶mRNA表达的影响. 动物营养学报, 2013, 25(5): 1045–1053.]
- [36] Ma M H. Studies on the effect and mechanism of the fastness of tea polyphenols compound agent to experimental animals [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2005. [马美湖. 茶多酚复合剂对实验动物抗性效果与机理研究. 长沙: 湖南农业大学, 2005.]

Effects of selenium yeast and tea polyphenols on growth and related gene transcription in the hypothalamus-pituitary-growth axis, muscle composition and disease resistance of juvenile Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*)

LONG Meng, HOU Jie, SU Yujing, WU Ning, ZHANG Weiran, SUN Bochao, LI Li *

(Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province;

Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture;

Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Selenium yeast(SY) and tea polyphenols(TP) belong to high-quality natural antioxidants. As an organic selenium source, SY has the effects on both promoting growth and improving product quality. TP is a term for polyphenols in tea, which is helpful to induce growth, improve product quality and enhance immunity. In the present study, a two-factorial and three-level experiment was designed to evaluate the effects of dietary SY, TP and their combination on the growth performance, the nutritional composition in muscle and the ability to resist *Aeromonas hydrophila* in juvenile Wuchang bream, *Megalobrama amblycephala* [mean weight(1.75 ± 0.01) g]. Totally nine semi-purified diets were formulated to provide graded levels of SY 0, 0.25, 0.50 mg/kg and TP 0, 50, 100 mg/kg. After 60 days' feeding, the growth performance, muscle composition, biochemical parameters of serum and liver, related gene transcription in the hypothalamus-pituitary-growth axis as well as survival rates after being infected with *A. hydrophila* were investigated. The results showed that dietary SY and TP significantly improved the weight gain rate(WGR), specific growth rate(SGR) and the content of protein in muscle ($P < 0.05$), while reduced the food conversion ratio(FCR) significantly($P < 0.05$). Both dietary SY and TP significantly enhanced the growth performance by upregulating the mRNA expression of growth related genes in the hypothalamus-pituitary-growth axis. The difference is that SY mainly upregulated the mRNA expression of *MaGH* and *MaIGF-I* significantly($P < 0.05$), whereas TP enhanced the transcription of *MaGHR₂* and decreased the mRNA level of *MaIGF-I* significantly($P < 0.05$). Consequently, dietary SY significantly enhanced the contents of GH and IGF- I in the serum, whereas TP decreased serum IGF- I levels significantly($P < 0.05$). No significant interaction effect of dietary SY and TP on serum GH and IGF- I was observed in juvenile Wuchang bream ($P > 0.05$). Both dietary SY and TP significantly enhanced the crude protein content in the muscle ($P < 0.05$). And there was no significant interaction effect of dietary SY and TP on the content of the crude protein in the muscle($P > 0.05$). Both dietary SY and TP could improve the ability to resist *A. hydrophila*. And there was an interaction effect of SY and TP on the ability to resist *A. hydrophila*. In light of the above, it could be concluded that a basal diet supplemented with 0.50 mg/kg of SY and 50 mg/kg of TP could help keep better growth performance and disease resistance in juvenile Wuchang bream.

Key words: *Megalobrama amblycephala*; selenium yeast; tea polyphenols; growth; gene expression; *Aeromonas hydrophila*

Corresponding author: LI Li. E-mail:foreverlili78@mail.hzau.edu.cn