

## 高糖饲料中添加沙棘粉对黄河鲤生长性能、抗氧化能力和非特异性免疫的影响

张航<sup>1</sup>, 闫潇<sup>1</sup>, 杨丽萍<sup>1</sup>, 秦超彬<sup>1</sup>,  
庞鹏<sup>2</sup>, 杨博文<sup>1</sup>, 聂国兴<sup>1\*</sup>

(1. 河南师范大学水产学院, 河南新乡 453007;

2. 河南师范大学生命科学学院, 河南新乡 453007)

**摘要:** 为研究沙棘粉对黄河鲤生长性能、抗氧化能力和非特异性免疫的影响, 实验选用初始体重约为 7.55 g 的黄河鲤 450 尾, 随机分为 5 组, 即对照组 (control 组)、高糖组 (HG 组)、高糖+0.1% 沙棘粉组 (G-LSP 组)、高糖+0.3% 沙棘粉组 (G-MSP 组) 和高糖+0.5% 沙棘粉组 (G-HSP 组), 开展为期 10 周的养殖实验。结果显示, 与高糖组相比, G-HSP 组黄河鲤的增重率 (WGR) 显著提高。与对照组相比, 高糖组黄河鲤血清和肝胰脏中丙二醛 (MDA) 含量升高, 过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和总抗氧化能力 (T-AOC) 降低, 而补充沙棘粉可减轻这些负面影响。高糖饲料抑制了肝胰脏和肌肉中 *nrf2* mRNA 的表达水平, 上调了 *keap1* mRNA 的表达水平。沙棘粉对高糖引起的 *nrf2* mRNA 表达水平的降低和 *keap1* mRNA 表达水平的升高有显著的抑制作用。沙棘粉可显著提高受 Nrf2 调控的下游转录因子 (*gr*、*cat*、*gpx* 和 *sod*) 的 mRNA 表达水平。此外, 添加 0.5% 的沙棘粉能显著提高血清、脾脏和肠道中碱性磷酸酶 (AKP)、酸性磷酸酶 (ACP)、溶菌酶 (LZM) 活性和白蛋白 (Alb) 含量。另外, 沙棘粉可以恢复因高糖饲料造成的脾脏和肠道中 *nf- $\kappa$ b*、*il-1 $\beta$*  和 *tnf- $\alpha$*  的 mRNA 异常表达。研究表明, 沙棘粉可以缓解高糖饲料造成的氧化应激和炎症损伤, 同时促进黄河鲤生长、增强其抗氧化能力和免疫力。结合本研究结果, 在饲料中的建议添加剂量为 0.5%。

**关键词:** 黄河鲤; 沙棘粉; 高糖; 抗氧化能力; 非特异性免疫

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

黄河鲤 (*Cyprinus carpio haematopterus*) 作为我国传统名鱼, 具有较强的环境适应性, 生长速率也比较快。此外, 黄河鲤肉质鲜美、养殖范围广, 是一种重要的养殖对象。黄河鲤在我国传统文化中有许多传说和典故, 如“鲤跃龙门”“卧冰求鲤”等, 赋予其特殊的文化内涵。因此, 黄河鲤深受广大消费者的喜爱。然而, 随着近年来养殖成

本的提高, 养殖密度过高或营养不均衡引起的机体氧化应激会造成鱼类发生疾病, 甚至导致死亡, 这给黄河鲤养殖产业带来严重的负面影响, 制约着黄河鲤养殖产业的健康发展。饲料中添加适当水平的糖类可以节约蛋白质, 促进鱼类生长, 减少氮排放, 降低养殖成本<sup>[1]</sup>。但是, 当饲料中糖类超过一定水平时, 鱼类就会出现生长速率降低、

收稿日期: 2023-04-05 修回日期: 2023-06-20

资助项目: 国家自然科学基金 (31902384); 河南省现代农业产业技术体系 (HARS-22-16-G2); 河南师范大学  
优秀科技创新团队 (2020TD02); 河南师范大学研究生科研创新项目 (YL202115)

第一作者: 张航 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-miai: 863166275@qq.com

通信作者: 聂国兴, 从事水产动物营养与饲料研究, E-miai: niegx@htu.cn



抗氧化能力变差、抗病力降低和死亡率升高等情况, 这可能与高糖饲料导致鱼体肝受损及代谢紊乱有关<sup>[2]</sup>。

沙棘 (*Hippophae rhamnoides*) 作为一种药食同源植物被广泛关注, 我国拥有非常广阔的沙棘种植面积, 在世界沙棘总种植面积中占比达 99% 以上<sup>[3]</sup>。沙棘中含有蛋白质、维生素、黄酮、有机酸和氨基酸等多种对人体有益的功能活性成分和营养成分, 具有独特的保健功能和药用价值, 享有“绿色黄金”的美誉<sup>[4-5]</sup>。据报道, 沙棘具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、增强免疫力、降低血脂等多种功能<sup>[6-8]</sup>。研究表明, 发酵沙棘果汁能够增加小鼠成肌细胞 (C2C12 细胞) 内抗氧化酶活性, 减少丙二醛 (MDA) 的产生, 缓解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞氧化损伤<sup>[9]</sup>。此外, 沙棘粉提高机体免疫力的作用也在很多研究中被提及, 例如 Dorhoi 等<sup>[10]</sup> 的研究发现, 沙棘可提高蛋鸡吞噬细胞的吞噬功能, 进而提高机体的免疫力。灌胃沙棘粉能显著提高昆明种小白鼠 (*Mus musculus*) 腹腔巨噬细胞的吞噬

功能, 促进小白鼠的体液免疫及淋巴细胞转化, 进而提高小白鼠的免疫性能<sup>[11]</sup>。

关于沙棘粉的研究大多以畜禽动物和小鼠为研究对象, 在水产动物中研究较少。因此, 本实验通过在高糖饲料中添加不同水平的沙棘粉, 探究其对黄河鲤生长、抗氧化能力和非特异性免疫的影响, 以期改善饲料中高糖给黄河鲤生产所带来的不利影响, 为沙棘粉在黄河鲤配合饲料中的应用提供理论基础和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 饲料原料与配方

以鱼粉和玉米蛋白粉为主要蛋白源, 鱼油为主要脂肪源, 小麦粉和玉米淀粉为糖源制作 5 种等氮等脂饲料。其中对照组饲料的无氮浸出物含量为 27%, 高糖组饲料的无氮浸出物含量为 43%, 在高糖饲料中添加 0.1%、0.3% 和 0.5% 沙棘粉 (西安汇林生物科技有限公司)。具体饲料配方如表 1

表 1 实验饲料配方和主要营养成分

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets

组分/% ingredients	组别 groups				
	control	HG	G-LSP	G-MSP	G-HSP
鱼粉 fish meal	30	30	30	30	30
玉米蛋白粉 corn gluten meal	21	21	21	21	21
小麦粉 wheat flour	12	12	12	12	12
玉米淀粉 corn starch	15	31	31	31	31
鱼油 fish oil	2	2	2	2	2
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
维生素混合物 vitamin premix <sup>1)</sup>	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
矿物质混合物 mineral premix <sup>2)</sup>	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
氯化胆碱 choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
羧甲基纤维素钠 carboxy methyl cellulose	1	1	1	1	1
微晶纤维素 cellulose microcrystalline	17.11	1.11	1.01	0.81	0.61
沙棘粉 sea buckthorn powder	0	0	0.1	0.3	0.5
营养物质/% proximate composition					
干物质 dry matter	90.8	90.6	90.8	90.7	90.7
粗蛋白 crude protein	38.9	39.1	39.4	39.1	39.0
粗脂肪 crude lipid	6.4	6.3	6.8	6.8	6.4
粗灰分 ash	7.3	7.3	7.3	7.4	7.4

注: 1) 每千克维生素预混料中含有维生素 A 2 000 000~6 000 000 IU, 维生素 D<sub>3</sub> 1 000 000~2 000 000 IU, 维生素 E 9 000~30 000 mg, 维生素 K<sub>3</sub> 2 700~9 000 mg, 维生素 B<sub>1</sub> 550~1 800 mg, 维生素 B<sub>2</sub> 860~2 880 mg, 维生素 B<sub>6</sub> 5 500~18 000 mg, 维生素 B<sub>12</sub> 10~20 mg, 烟酰胺 10 000~42 000 mg, 叶酸 900~3 000 mg, 泛酸钙 5 500~18 000 mg, 生物素 20~60 mg, 维生素 C 6 000~20 000 mg, 肌醇 7 200~24 000 mg。2) 每千克矿物质预混料中含有 Cu 3 000~12 000 mg, Fe 5 000~20 000 mg, Zn 8 000~32 000 mg, Mn 10 000~40 000 mg, I 200~800 mg, Se 100~400 mg。  
Notes: 1) per kilogram of vitamin premix contains VA 2 000 000-6 000 000 IU, VD<sub>3</sub> 1 000 000-2 000 000 IU, VE 9 000-30 000 mg, VK<sub>3</sub> 2 700-9 000 mg, VB<sub>1</sub> 550-1 800 mg, VB<sub>2</sub> 860-2 880 mg, VB<sub>6</sub> 5 500-18 000 mg, VB<sub>12</sub> 10-20 mg, nicotinamide 10 000-42 000 mg, folic acid 900-3 000 mg, calcium pantothenate 5 500-18 000 mg, biotin 20-60 mg, VC 6 000-20 000 mg, inositol 7 200-24 000 mg. 2) per kilogram of mineral premix contain Cu 3 000-12 000 mg, Fe 5 000-20 000 mg, Zn 8 000-32 000 mg, Mn 10 000-40 000 mg, I 200-800 mg, Se 100-400 mg.

所示。使用粉碎机将所有饲料原料粉碎后, 过 40 目筛网, 采用逐级混匀的方式依次将原料混匀, 然后加入鱼油和水混匀, 使用饲料机制成 1.5 mm 的颗粒状饲料。待凉干后, 于 -20 °C 冰箱中保存备用。

## 1.2 实验管理及样品采集

实验鱼由河南省新乡市延津水产养殖场提供, 于漯河养殖基地进行暂养。选取体重约 7.55 g 的健康黄河鲤 450 尾, 随机分配到 15 个规格为 2.0 m × 2.0 m × 1.5 m 养殖网箱中, 每个网箱 30 尾实验鱼, 分为 5 个处理组, 每个处理组 3 个重复, 养殖实验正式开始之前, 使用对照组饲料暂养 2 周。开展为期 10 周的养殖实验, 在每日 8: 30、12: 30 和 16: 30 饲喂, 以体重的 3% 为固定的投饲率, 每周对实验鱼进行一次称重, 根据体重调整一次投饲量。在养殖实验期间, 保证 24 h 持续供氧, 水中溶解氧含量 ≥ 5.5 mg/L, 水温 26 °C~28 °C, pH 值 7.3~7.8, 光照条件为自然光循环。本研究获得了河南师范大学实验动物管理和使用伦理委员会批准 (HNSD-2023-BS-0926), 实验过程中操作人员严格遵守实验动物伦理规范, 并按照河南师范大学伦理委员会制定的规章制度执行。

养殖实验结束, 实验鱼饥饿 24 h 后取样。统计每个处理组实验鱼的体重。每个处理组随机选取 8 尾实验鱼, 经尾静脉取血, 离心后分离血清样品, -80 °C 保存以进行酶活性分析。在冰上解剖后迅速分离肝胰脏、脾脏、肠道和肌肉组织, 保存于 1.5 mL 无菌无酶 EP 管中, 经液氮速冻后, 于 -80 °C 保存以进行 RNA 提取和酶活性分析。同时, 每个组处理随机选取 8 尾鱼, 取肝胰脏组织放入装有 4% 多聚甲醛组织固定液的 EP 管中用于组织形态学分析。

## 1.3 生长性能相关指标的计算

生长性能相关指标的计算公式:

增重率 (WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重 × 100%

肥满度 (CF, g/cm<sup>3</sup>)=终末体重/体长<sup>3</sup> × 100

特定生长率 (SGR, %/d)=[ln 终末体重-ln 初始体重]/实验天数] × 100%

饲料效率 (FE, %)=(终末体重-初始体重)/摄食量 × 100%

脏体指数 (VSI, %)=内脏团重/终末体重 ×

100%

肝体指数 (HSI, %)=肝胰脏重/终末体重 × 100%

## 1.4 抗氧化指标和免疫指标的测定

血清和肝胰脏中谷胱甘肽 (GSH)、过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 和 MDA 的含量, 谷丙转氨酶 (GPT)、谷草转氨酶 (GOT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性和总抗氧化能力 (T-AOC) 参照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书进行测定。

血清、脾脏和肠道中白蛋白 (Alb) 含量, 溶菌酶 (LZM)、碱性磷酸酶 (AKP) 和酸性磷酸酶 (ACP) 的活性采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

## 1.5 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)

使用 RNAiso Plus(TaKaRa, 大连) 提取肝胰脏、肌肉、脾脏和肠道中的 RNA。所提取的 RNA 使用 TaKaRa PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa, 大连) 试剂盒进行反转录。以 cDNA 为模板, 18S *rRNA* 基因为内参。荧光定量 PCR 反应体系: 5 μl SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq™(TaKaRa, 大连), 0.3 μL 正向引物 (10 μmol/L), 0.3 μL 反向引物 (10 μmol/L), 1 μL cDNA 模板, 3.4 μL 无菌水。扩增程序: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s; 60 °C 20 s, 共 40 个循环。荧光定量 PCR 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 引物序列见表 2, 基因的相对表达量采用 2<sup>-ΔΔC<sub>T</sub></sup> 法分析<sup>[12]</sup>。

## 1.6 组织形态学分析

将肝胰脏组织在 4% 多聚甲醛组织固定液中固定 24 h 后, 用蒸馏水冲洗肝胰脏组织, 然后将组织样品在分级乙醇溶液和二甲苯中脱水。通过包埋机, 将样品包埋在石蜡中。使用切片机对组织进行切片 (6 μm), 所得切片经 40 °C 烘干后用苏木精-伊红 (H.E) 进行染色。制备好的切片在光学显微镜下进行观察与拍摄。

## 1.7 数据分析及统计

实验数据使用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析和 Duncan 氏法多重比较检验, 以 P<0.05 代表两组之间差异显著。实验数据均采用平均值 ± 标准误差表示。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 2 The primers of qRT-PCR

基因名称 genes	序列(5'-3') sequence (5'-3')	基因编号 accession no.
<i>nrf2</i>	F:ACGACAAATGCCGAAGT R:CTGCCTCATCTAGTGGAAA	JX462955.1
<i>keap1</i>	F:CAGTGGGCGAGAAGTGT R:TTTGATGGCTCCAGGTT	JX470752.1
<i>cat</i>	F:TTCTGTGGGACGCCTTGT R:TCCGAGCCGATGCCTATGT	JF411604.1
<i>sod</i>	F:CGCACTTCAACCTCAT R:CATTGCCTCCTTACCC	XM_019111527.2
<i>gr</i>	F:TGGCTGGTATCCTTTCC R:TGTCGTGAGGGTCTTTT	XM_042770144.1
<i>gpx</i>	F:AACCAGTTCGGACATCA R:ATCACCCATCAAGGACA	GQ376155.1
<i>nf-<math>\kappa</math>b</i>	F:AATGTGGTGCCTGTGCTT R:TGTTGTCATAGATGGGGTTGGA	XM_019094112.1
<i>il-1<math>\beta</math></i>	F:GAATGACAGCCTCCTCTCTTC R:CCACCTTCTCCAATCATCAA	XM_019080073.1
<i>tnf-<math>\alpha</math></i>	F:CAGAAACCCTGGACTGGAAA R:CCTGGCTGTAGACGAAGTAAAT	XM_019088899.1
<i>il-10</i>	F:CGCCAGCATAAAGAACTCGT R:TGCCAAATACTGCTCGATGT	XM_042766262.1
<i>tgf-<math>\beta</math></i>	F:GCTACTGGAATCACGCTTTA R:CTTGCTCTGCCTCACTTCTC	XM_019072371.1
<i>lyz</i>	F:GTGTCTGATGTGGCTGTGCT R:TTCCCAGGTATCCCATGAT	XM_019104788.1
<i>zo-1</i>	F:AGGAAGTTCTCCCTCGTACTC R:CCTCTGTTGTGGTTGAGTGTAG	KY290394
<i>occludin</i>	F:ATGTTGTCCTCCCGTGATAAG R:TCCGTAAGAACCTCCGTAAGA	KF975606
18S rRNA	F:GAGACTCCGGCTTGCTAAAT R:CAGACTGTTATTGCTCCATCT	FJ710826.1

## 2 结果

### 2.1 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤生长性能的影响

高糖组黄河鲤的末体重、增重率和特定生长率与对照组相比无显著差异 ( $P>0.05$ , 表 3)。随着饲料中沙棘粉添加量的增加, 黄河鲤的末体重、增重率和特定生长率逐渐增加, G-HSP 组黄河鲤的末体重、增重率和特定生长率显著高于对照组, 这说明高糖饲料中添加沙棘粉能促进黄河鲤的生长。

### 2.2 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤抗氧化指标的影响

分析黄河鲤血清中抗氧化指标发现, 与对照组相比, 高糖组黄河鲤血清 GPT 酶活性升高, GSH-Px、SOD 和 T-AOC 酶活性降低 ( $P>0.05$ ), MDA 含量显著升高 ( $P<0.05$ ), 说明高糖饲料能够导致黄河鲤产生氧化应激。与高糖组相比, G-MSP 组和 G-HSP 组黄河鲤血清 GPT 活性降低, MDA 含量减少 ( $P<0.05$ )。G-HSP 组黄河鲤血清 GSH-Px、CAT、SOD 和 T-AOC 酶活性显著提高 ( $P<0.05$ )(表 4)。

分析黄河鲤肝胰脏中抗氧化指标发现, 与对照组相比, 高糖组肝胰脏  $H_2O_2$  和 MDA 含量增加 ( $P<0.05$ ), GOT 酶活性升高 ( $P<0.05$ ), SOD 和 T-AOC 酶活性降低 ( $P>0.05$ )。与高糖组相比, G-MSP 组肝胰脏中 GOT 活性显著降低,  $H_2O_2$  和 MDA 含量显著减少 ( $P<0.05$ )。G-HSP 组黄河鲤肝胰脏中 CAT、SOD 和 T-AOC 酶活性显著升高 ( $P<0.05$ )(图 1)。

### 2.3 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤抗氧化相关基因表达的影响

分析黄河鲤肝胰脏中抗氧化相关基因表达量发现, 与对照组相比, 高糖饲料显著抑制了 *nrf2* 和 *sod* mRNA 的表达 ( $P<0.05$ )。与高糖组相比, 0.5% 沙棘粉显著降低 *keap1* mRNA 的表达水平, 0.3% 沙棘粉显著升高 *nrf2* mRNA 的表达水平 ( $P<0.05$ )。与高糖组相比, G-HSP 组 *cat*、*sod* 和 *gpx* mRNA 的表达量显著增加 ( $P<0.05$ )。各组间 *gr* mRNA 的表达水平均无显著差异 ( $P>0.05$ )(图 2)。

分析黄河鲤肌肉中抗氧化相关基因表达量发现, 与对照组相比, 高糖组 *keap1* mRNA 的表达水平升高, *nrf2*、*cat*、*gpx* 和 *gr* mRNA 的表达水平降低 ( $P>0.05$ )。相比于对照组, 高糖组 *sod* mRNA 的表达量显著降低 ( $P<0.05$ )。与高糖组相比, 0.3% 和 0.5% 沙棘粉会降低 *keap1* mRNA 的表达量, 提高 *nrf2*、*cat* 和 *sod* mRNA 的表达量 ( $P<0.05$ )。0.3% 沙棘粉提高 *gpx* 和 *gr* mRNA 的表达丰度 ( $P<0.05$ )(图 3)。

### 2.4 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤肝胰脏形态结构的影响

通过分析黄河鲤肝胰脏组织形态结构发现, 对照组肝细胞核位于近中心位置, 形态轮廓清晰; 高糖组黄河鲤肝细胞空泡化, 肝细胞核明显移位; 在低水平沙棘粉添加时, 肝细胞的空泡化并未表现

表 3 各实验组黄河鲤鱼生长性能

Tab. 3 The growth performance of *C. carpio haematopterus* in each group

指标 index	组别 groups				
	control	HG	G-LSP	G-MSP	G-HSP
初体重/g IBW	7.57±0.02	7.56±0.02	7.56±0.02	7.55±0.02	7.54±0.02
末体重/g FBW	91.15±1.52 <sup>a</sup>	96.86±3.10 <sup>ab</sup>	94.44±3.05 <sup>ab</sup>	96.25±0.99 <sup>ab</sup>	99.45±2.65 <sup>b</sup>
增重率/% WGR	1104.03±19.02 <sup>a</sup>	1182.19±42.50 <sup>ab</sup>	1149.20±39.63 <sup>ab</sup>	1174.45±11.89 <sup>ab</sup>	1219.68±37.69 <sup>b</sup>
特定增长率/(%/d) SGR	3.55±0.02 <sup>a</sup>	3.64±0.05 <sup>ab</sup>	3.60±0.04 <sup>ab</sup>	3.64±0.01 <sup>ab</sup>	3.68±0.04 <sup>b</sup>
肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF	2.53±0.10	2.59±0.07	2.50±0.06	2.61±0.07	2.47±0.04
饲料效率/% FE	89.67±1.62 <sup>a</sup>	95.81±3.33 <sup>ab</sup>	93.21±3.26 <sup>ab</sup>	95.16±1.05 <sup>ab</sup>	98.61±2.86 <sup>b</sup>
肝体指数/% HSI	3.96±0.16	4.41±0.26	3.98±0.25	4.56±0.24	4.52±0.12
脏体指数/% VSI	11.79±0.79	12.79±0.76	11.71±0.85	13.38±0.56	12.35±0.29

注: 不同小写字母表示同行之间有显著差异( $P < 0.05$ ); 下同。

Notes: Different lowercases refer to the significant difference in the same line ( $P < 0.05$ ); the same below.

表 4 各实验组黄河鲤鱼血清抗氧化指标

Tab. 4 Antioxidant indicators of serum in *C. carpio haematopterus* in each group

指标 index	组别 groups				
	control	HG	G-LSP	G-MSP	G-HSP
丙二醛/(nmol/mL) MDA	10.29±1.32 <sup>a</sup>	13.72±0.37 <sup>b</sup>	10.86±0.85 <sup>ab</sup>	9.98±1.28 <sup>a</sup>	9.98±0.83 <sup>a</sup>
过氧化氢/(mmol/L) H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	73.62±3.13	78.81±5.03	68.41±3.62	70.54±4.30	75.93±2.73
谷丙转氨酶/(U/L) GPT	2.03±0.62 <sup>ab</sup>	3.32±0.32 <sup>b</sup>	2.43±0.43 <sup>ab</sup>	1.80±0.33 <sup>a</sup>	1.30±0.42 <sup>a</sup>
谷草转氨酶/(U/L) GOT	15.86±3.49	18.16±1.90	13.31±0.68	16.02±1.84	14.68±2.13
谷胱甘肽/(mg/L) GSH	9.36±0.57 <sup>ab</sup>	7.85±0.30 <sup>a</sup>	9.70±0.85 <sup>b</sup>	10.27±0.38 <sup>b</sup>	8.88±0.47 <sup>ab</sup>
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	197.23±16.40 <sup>ab</sup>	162.04±24.66 <sup>a</sup>	206.84±22.45 <sup>ab</sup>	248.89±9.26 <sup>b</sup>	232.38±12.18 <sup>b</sup>
过氧化氢酶/(U/mL) CAT	63.15±4.15 <sup>a</sup>	55.17±10.21 <sup>a</sup>	74.56±5.12 <sup>a</sup>	63.75±6.34 <sup>a</sup>	119.93±12.77 <sup>b</sup>
超氧化物歧化酶/(U/mL) SOD	363.90±15.61 <sup>ab</sup>	329.34±12.75 <sup>a</sup>	368.06±15.20 <sup>ab</sup>	402.94±14.54 <sup>b</sup>	397.47±3.40 <sup>b</sup>
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	5.67±0.49 <sup>ab</sup>	4.43±0.18 <sup>a</sup>	4.96±0.76 <sup>a</sup>	5.18±0.78 <sup>a</sup>	7.32±0.74 <sup>b</sup>

出显著缓解作用, 但随着沙棘粉添加量的增加, 肝细胞空泡减小, 细胞轮廓恢复到正常组水平 (图版)。

## 2.5 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤鱼免疫指标的影响

在血清中, 各实验组 ACP 和 LZM 活性无显著差异 ( $P > 0.05$ )。与对照组相比, 高糖组 AKP 活性降低 ( $P > 0.05$ )。与高糖组相比, G-HSP 组 AKP 活性和 Alb 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ) (表 5)。在脾脏中, 高糖组 LZM 活性较对照组显著降低 ( $P < 0.05$ )。与高糖组相比, G-LSP 组和 G-HSP 组 AKP 和 ACP 活性升高, G-HSP 组 LZM 活性和 Alb 含量升高 ( $P < 0.05$ ) (图 4)。在肠道中, 各实验组 AKP 活性无显著差异 ( $P > 0.05$ )。与对照组相比, 高糖组 LZM 活性显著降低 ( $P < 0.05$ )。添加沙棘粉后, ACP 活性升高, 且 G-HSP 组 ACP 活性显著高于高糖组 ( $P < 0.05$ )。与高糖组相比, G-HSP 组 LZM

活性和 Alb 含量升高 ( $P < 0.05$ ) (图 5)。

## 2.6 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤鱼免疫相关基因表达的影响

黄河鲤鱼脾脏中免疫相关基因表达量如图 6 所示, 与对照组相比, 饲喂高糖饲料后, *nf- $\kappa$ b* 和 *il-1 $\beta$*  mRNA 的表达水平升高, *il-10* 和 *lyz* mRNA 的表达水平降低 ( $P > 0.05$ )。与高糖组相比, 沙棘粉下调了 *nf- $\kappa$ b*、*tnf- $\alpha$*  和 *il-1 $\beta$*  mRNA 的表达水平, 且沙棘粉添加量为 5% 时, *nf- $\kappa$ b*、*tnf- $\alpha$*  和 *il-1 $\beta$*  mRNA 的表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。与高糖组相比, G-LSP 组抑炎转录因子 *il-10* 和 *tgf- $\beta$*  mRNA 的表达量增加, G-HSP 组抑炎转录因子 *lyz* mRNA 的表达量增加 ( $P < 0.05$ )。

黄河鲤鱼肠道中免疫相关基因表达量如图 7 所示, 与对照组相比, 高糖组 *nf- $\kappa$ b* 和 *tnf- $\alpha$*  mRNA 的表达水平升高, *il-10* 和 *lyz* mRNA 的表达水平

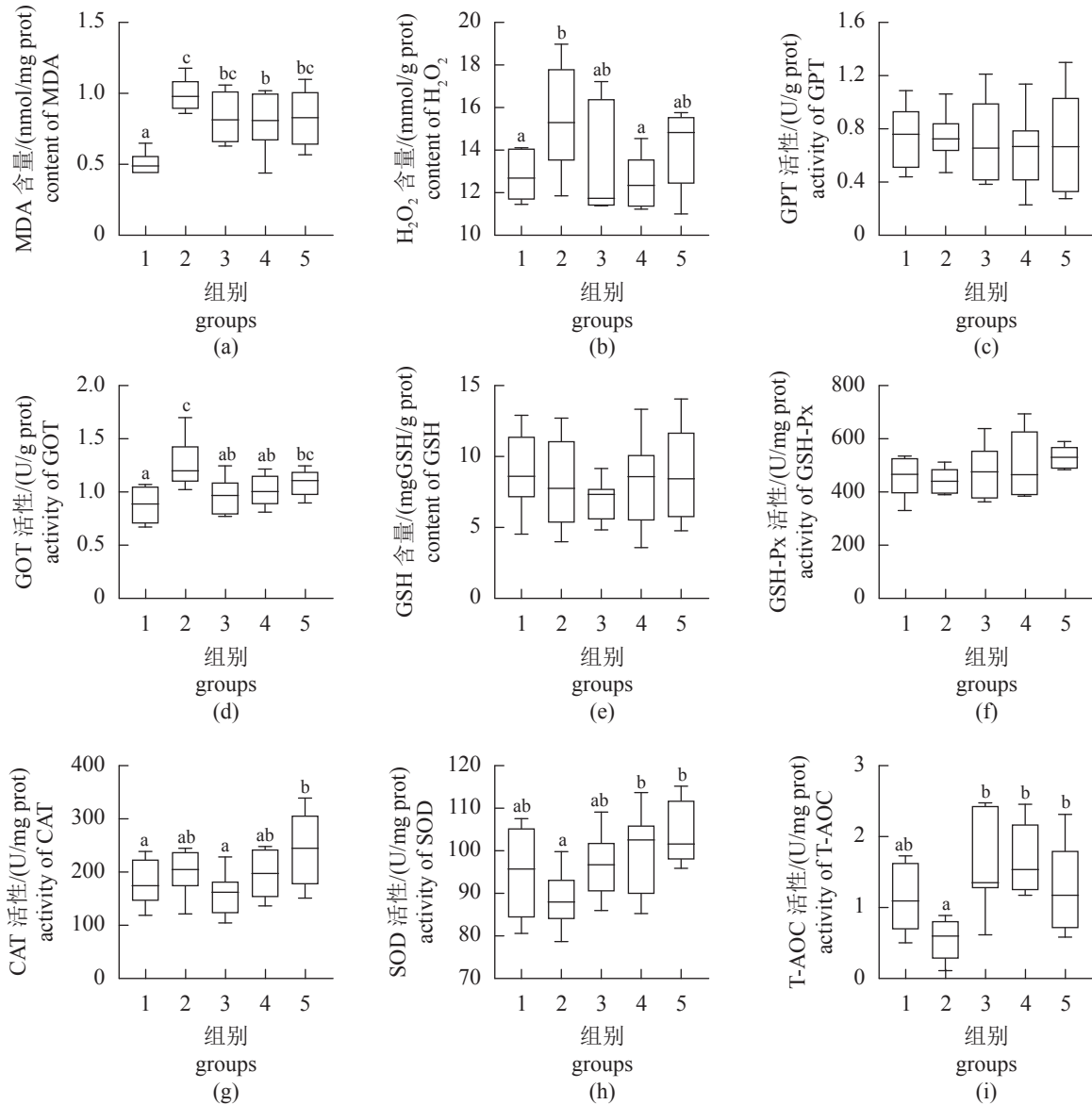


图 1 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤肝胰脏抗氧化指标的影响

(a) 丙二醛, (b) 过氧化氢, (c) 谷丙转氨酶, (d) 谷草转氨酶, (e) 谷胱甘肽, (f) 谷胱甘肽过氧化物酶, (g) 过氧化氢酶, (h) 超氧化物歧化酶, (i) 总抗氧化能力; 1. 对照, 2. HG, 3. G-LSP, 4. G-MSP, 5. G-HSP; 图版、图 4、图 5 同。

Fig. 1 Effects of sea buckthorn powder on hepatopancreas tissue antioxidant indicators of

### *C. carpio haematopterus* fed with high-carbohydrate diet

(a) malondialdehyde, (b) hydrogen peroxide, (c) glutamic-pyruvic transaminase, (d) glutamic-oxaloacetic transaminase, (e) glutathione, (f) glutathione peroxidase, (g) catalase, (h) superoxide dismutase, (i) total antioxidant activity; 1. control, 2. HG, 3. G-LSP, 4. G-MSP, 5. G-HSP; the same as the plate, fig. 4 and fig. 5.

降低 ( $P>0.05$ ), *occludin* mRNA 的表达水平降低 ( $P<0.05$ )。与高糖组相比, 随着沙棘粉含量的提高, *nf- $\kappa$ b* 和 *tnf- $\alpha$*  mRNA 的表达水平降低, 并且分别在 G-MSP 组和 G-HSP 组显示出最低表达水平 ( $P<0.05$ )。当沙棘粉的添加水平为 0.5% 时, *il-10* 和 *lyz* mRNA 的表达量与高糖组相比显著增加 ( $P<0.05$ )。与高糖组相比, G-LSP 组和 G-MSP 组 *occludin* mRNA 的表达丰度提高, G-MSP 组 *zo-1*

mRNA 的表达丰度提高 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤生长性能的影响

中草药能够提升动物饲料的质量, 促进鱼类的生长, 国内外学者对此进行了大量的研究<sup>[13]</sup>。

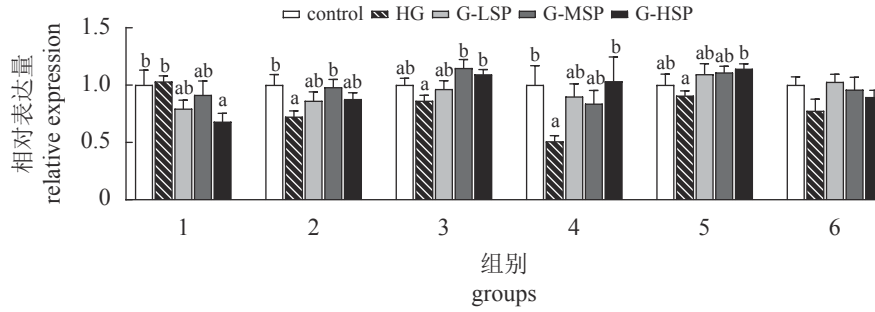


图 2 各实验组黄河鲤肝胰脏抗氧化相关基因的相对表达量

Fig. 2 The relative expression levels of antioxidant-related genes in the hepatopancreas of *C. carpio haematopterus* in each group

1. keap1, 2. nrf2, 3. cat, 4. sod, 5. gps, 6. gr; the same below.

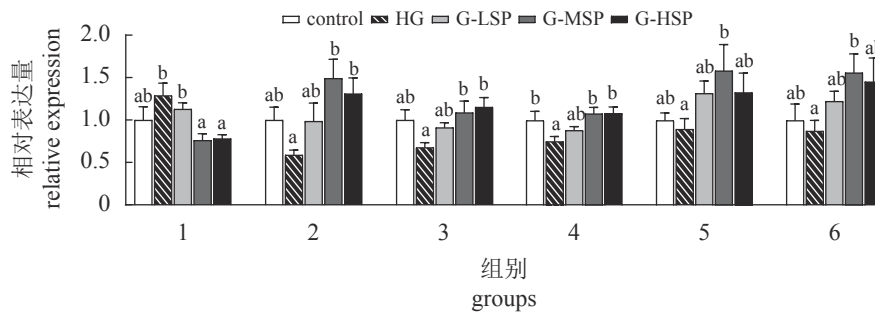
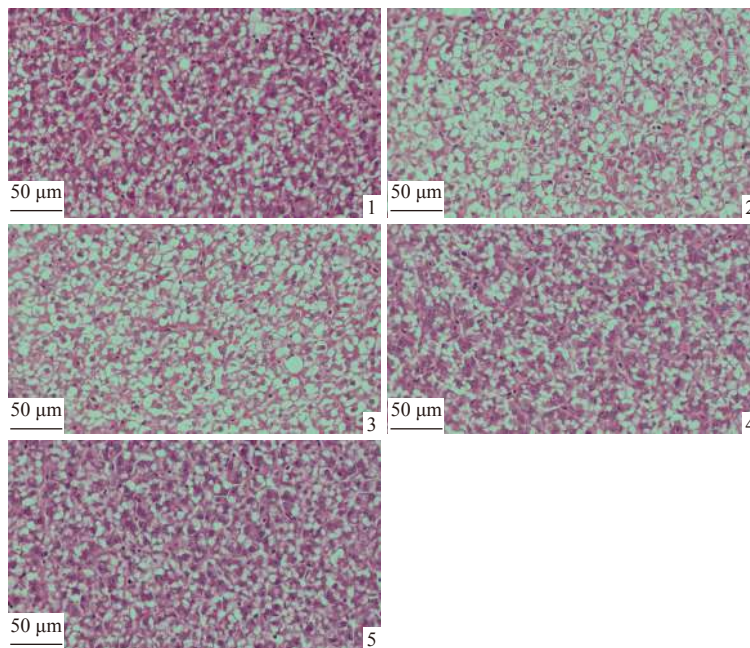


图 3 各实验组黄河鲤肌肉抗氧化相关基因的相对表达量

Fig. 3 The relative expression levels of antioxidant related genes in the muscle of *C. carpio haematopterus* in each group



图版 各实验组黄河鲤肝胰脏组织形态结构

Plate Hepatopancreas tissue morphological structure of *C. carpio haematopterus* in each group

研究表明, 用添加蒲公英多糖的饲料饲喂建鲤 (*C. carpio* var. Jian) 后, 建鲤的终末体重、蛋白质效

率和增重率都得到了显著提高<sup>[14]</sup>。在尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 饲料中添加刺五加

表 5 各实验组黄河鲤鱼血清免疫指标

Tab. 5 Immune indicators of serum in *C. carpio haematopterus* in each group

指标 index	组别 groups	组别 groups				
		control	HG	G-LSP	G-MSP	G-HSP
碱性磷酸酶/(U/100 mL) AKP		67.02±1.14 <sup>ab</sup>	61.28±0.95 <sup>a</sup>	63.53±1.48 <sup>ab</sup>	69.15±2.98 <sup>b</sup>	69.39±3.38 <sup>b</sup>
酸性磷酸酶/(U/100 mL) ACP		128.41±38.74	93.58±19.89	105.48±18.22	157.92±33.00	156.75±33.05
溶菌酶/(U/mL) LZM		150.74±45.24	139.41±32.51	157.35±21.04	155.76±20.42	183.91±31.73
白蛋白/(g/L) Alb		13.04±0.69 <sup>a</sup>	11.84±0.64 <sup>a</sup>	13.03±0.70 <sup>a</sup>	13.79±0.17 <sup>ab</sup>	15.55±0.81 <sup>b</sup>

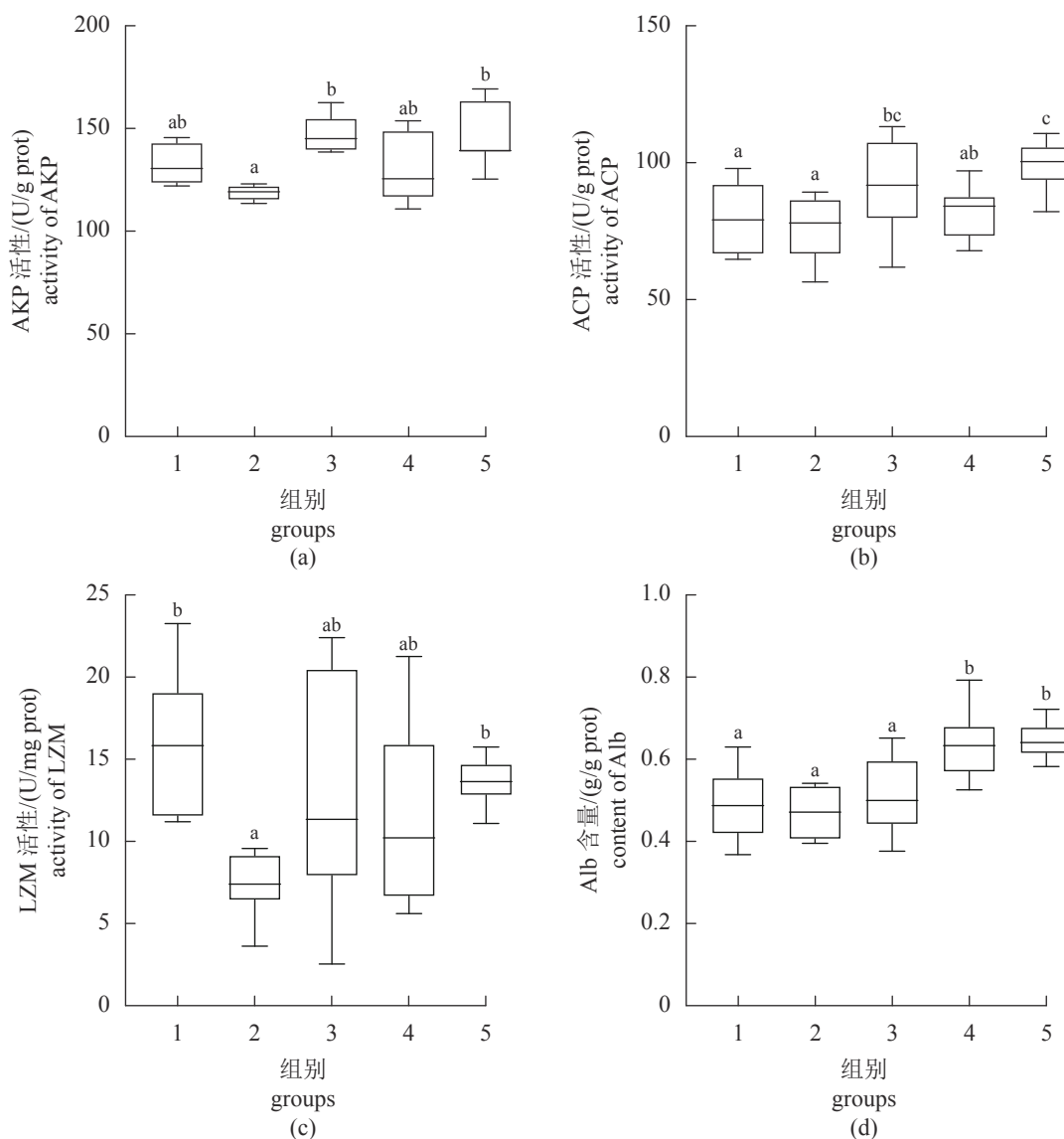


图 4 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤鱼脾脏免疫指标的影响

(a) 碱性磷酸酶, (b) 酸性磷酸酶, (c) 溶菌酶, (d) 白蛋白; 下同。

Fig. 4 Effects of sea buckthorn powder on spleen immune indicators of *C. carpio haematopterus* fed with high-carbohydrate diet

(a) alkaline phosphatase, (b) acid phosphatase, (c) lysozyme, (d) albumin; the same below.

(*Eleutherococcus senticosus*) 提取物, 尼罗罗非鱼的特定生长率显著提高, 生长性能得到改善<sup>[15]</sup>。

目前, 沙棘对生长性能的影响还没有统一的

结论, 研究发现, 在德国长白猪 (*Sus scrofa*) 饲料中添加不同水平的沙棘果渣, 德国长白猪的平均日增重无显著差异<sup>[16]</sup>。给小鼠灌胃不同剂量的沙



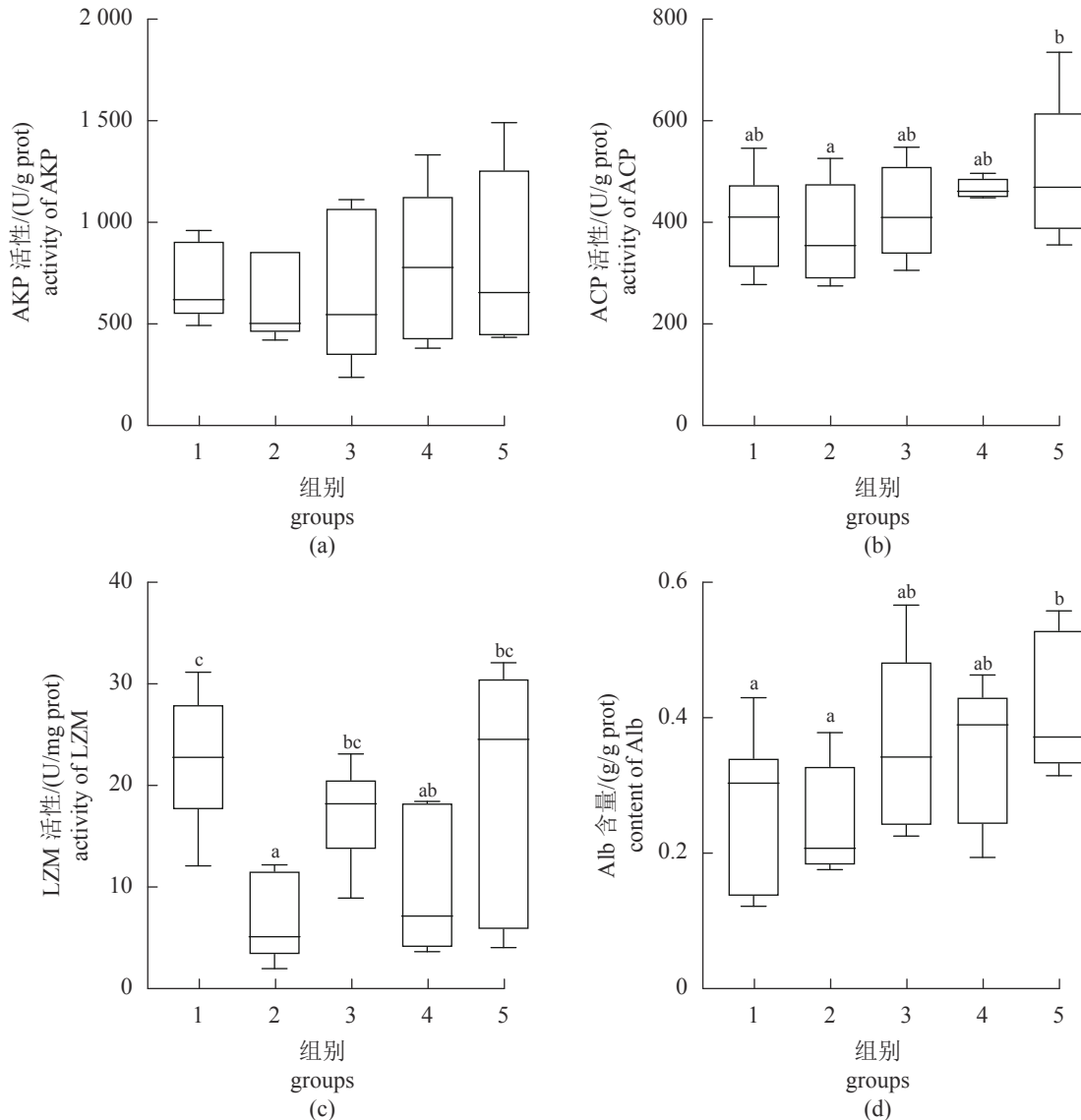


图5 沙棘粉对高糖饲料饲喂下黄河鲤肠道免疫指标的影响

Fig. 5 Effects of sea buckthorn powder on intestinal tract immune indicators of *C. carpio haematopterus* fed with high-carbohydrate diet

棘冻干粉后, 小鼠的体重显著低于高脂饮食组<sup>[17]</sup>。也有文献显示, 饲喂沙棘可提高实验动物增重率。例如, 在肉鸡中的研究发现, 基础日粮中补充5%沙棘嫩枝叶可显著提高肉鸡的平均日增重<sup>[18]</sup>。丁保安等<sup>[19]</sup>等用沙棘果渣代替AA肉仔鸡日粮中麸皮, AA肉仔鸡的日增重得到了显著提高。这与本研究结果一致, 高糖日粮中添加0.5%的沙棘粉可显著提高黄河鲤的体重。这些不同的结果可能是由于沙棘剂量和作用对象的不同。

### 3.2 沙棘粉可提高高糖饲料饲喂下黄河鲤抗氧化能力

一般来说, 鱼类的氧化状态可能受到许多因

素的影响, 包括营养物质<sup>[20]</sup>。日粮中过多的碳水化合物会对肝脏形态和肝功能产生负面影响<sup>[21]</sup>。研究发现, 在团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 饲料中添加47%碳水化合物, 团头鲂血清中GOT活性显著增加, 肝脏SOD和T-AOC活性有下降的趋势<sup>[22]</sup>。MDA的含量间接反映了鱼体受自由基攻击的严重程度和体内脂质过氧化的程度, 是判断机体内源性氧化损伤的指标<sup>[23]</sup>。GPT和GOT活性的升高通常作为机体受到损伤的标志, 机体损伤可能是由于肝脏受损而无法及时清除体内过多的有害物质造成的<sup>[24]</sup>。CAT、GSH-Px和SOD在机体和组织的氧化与抗氧化系统中发挥着非常重要的作用, 能够清除自由基及活性氧, 防止脂质

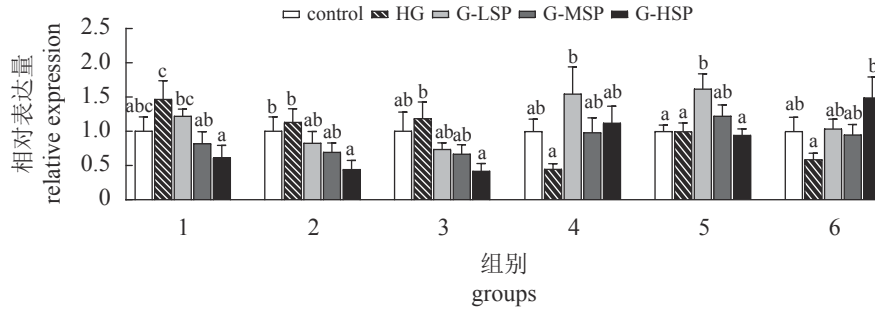


图 6 各实验组黄河鲤脾脏免疫相关基因的相对表达量

Fig. 6 The relative expression levels of immune-related genes in the spleen of *C. carpio haematopterus* in each group

1. *nf- $\kappa$ b*, 2. *tif- $\alpha$* , 3. *il-1 $\beta$* , 4. *il-10*, 5. *tgf- $\beta$* , 6. *lys*; the same below.

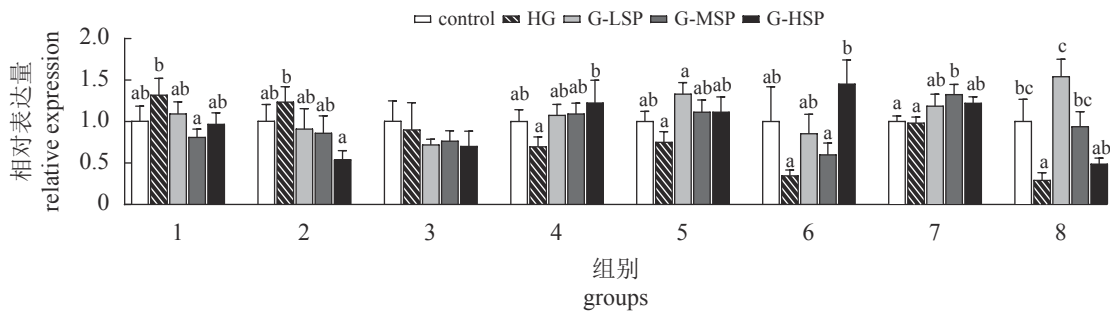


图 7 各实验组黄河鲤肠道免疫相关基因的相对表达量

Fig. 7 The relative expression levels of immune-related genes in the intestinal tract of *C. carpio haematopterus* in each group

7. *zo-1*, 8. *occludin*

过氧化, 起到保护机体的功能<sup>[25]</sup>。GSH 是存在于肝脏组织中的最丰富的非蛋白生物硫醇, 是整个抗氧化防御系统的关键组成部分, 可保护细胞免受活性氧的损伤<sup>[26]</sup>。在大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 的研究中发现, 随着日粮淀粉水平的升高, 大口黑鲈肝脏中的 MDA 含量升高<sup>[27]</sup>。本研究结果显示, 高糖组黄河鲤血清和肝胰脏中 MDA 的含量高于对照组, 表明高糖饲料可导致黄河鲤产生氧化应激, 加剧体内脂质过氧化的程度, 从而损伤黄河鲤健康。先前的研究表明, 抗氧化酶的活性越高, 水生动物的健康状况和代谢稳态越好<sup>[28-29]</sup>。饲料中添加绿色健康的添加剂可以提高机体抗氧化能力, 研究表明, 在饲料中添加黄芩素可降低草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 血清 MDA 含量, 同时提高 CAT 和 SOD 活性, 进而提高草鱼的抗氧化能力<sup>[30]</sup>。本研究表明, 高糖饲料中添加沙棘粉, 显著提高了黄河鲤血清和肝胰脏 GSH-Px、CAT、SOD 和 T-AOC 酶活性, 降低 MDA 含量。之前的研究表明, 沙棘叶提取物可抑制铬诱导的大鼠 (*Rattus norvegicus*) 血浆 MDA 水平的升

高, 同时, GSH 含量和 GSH-Px 的活性升高, 保护大鼠免受铬引起的肝脏损伤<sup>[31]</sup>。此外, 给高脂血症大鼠灌胃沙棘总黄酮可显著降低其血清中的 MDA 含量, 提高 SOD 活性<sup>[32]</sup>。因此, 沙棘粉具有缓解高糖饲料引起的氧化应激作用。为了更好地了解其提高抗氧化能力的分子机制, 本研究初步探究了沙棘粉对抗氧化相关基因及 Nrf2 信号通路的影响。

NF-E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 是机体核转录因子家族成员之一, 在调节机体的氧化应激防御中发挥着重要的作用<sup>[33]</sup>。Nrf2 的稳定性主要受 Keap1 的影响, 当机体受到氧化应激时, Nrf2 从 Keap1 中解离并迅速进入到细胞核内, 进而转录激活受 Nrf2 调控的下游抗氧化基因 (*cat*、*sod*、*gpx* 和 *gr*) 的表达<sup>[34]</sup>。在本实验中, 高糖组 *nrf2* mRNA 的表达水平降低。这与在尼罗罗非鱼中的研究一致, 高糖饲料可诱导尼罗罗非鱼产生氧化应激, 且 *nrf2* mRNA 的表达量显著减少<sup>[35]</sup>。研究发现, 沙棘提取物上调了 *nrf2* mRNA 的表达, 并增强其靶基因 *gpx* 和 *cat* 的

表达, 缓解百草枯诱导的 A549 细胞毒性<sup>[36]</sup>, 与本实验结果一致。本研究发现, 沙棘粉可减少 *keap1* mRNA 的表达量, 同时增加 *nrf2*、*cat*、*sod*、*gpx* 和 *gr* mRNA 的表达量, 其中, *sod* 和 *cat* mRNA 的表达量变化与血清中相应的抗氧化酶活性变化是一致的。这表明沙棘粉可提高黄河鲤的抗氧化能力, 这可能与 Nrf2 信号通路有关。

### 3.3 沙棘粉可增强高糖饲料饲喂下黄河鲤非特异性免疫

长期喂食高碳水化合物的日粮可能会对鱼类的健康产生有害影响。研究表明, 过量的碳水化合物会导致动物抗病性降低, 产生应激反应, 这可能导致水产动物的免疫功能受到抑制<sup>[37-39]</sup>。AKP 和 ACP 是鱼类重要的非特异性免疫因子, 能清除侵入机体的有害物质, 在免疫防御中发挥着至关重要的作用<sup>[40]</sup>。有研究表明, AKP 的活性与机体的免疫能力成正相关<sup>[41]</sup>。LZM 可杀死致病细菌进而发挥非特异性免疫反应的功能, 是水生动物的免疫防御功能的第一道屏障<sup>[42]</sup>。白蛋白在维持细胞营养和机体免疫中有至关重要的作用, 能反映机体的免疫能力<sup>[43]</sup>。本实验结果表明, 沙棘粉可提高黄河鲤血清、脾脏和肠道中 AKP、ACP 和 LZM 活性, Alb 含量。

NF- $\kappa$ B 参与调控多种因子的表达, 在免疫调控、炎症和细胞凋亡中起重要作用<sup>[44]</sup>。细胞因子是由巨噬细胞或单核细胞分泌的至关重要的调节因子, 在免疫调节中发挥着重要的作用<sup>[45]</sup>。在这些细胞因子中, IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  是预测炎症反应的生物标志物, IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的高水平表达会激活 NF- $\kappa$ B 信号通路, 加重炎症反应<sup>[46]</sup>。IL-10 和 TGF- $\beta$  能够抑制炎症反应<sup>[47]</sup>。在大口黑鲈<sup>[2]</sup> 和 团头鲂<sup>[48]</sup> 的研究中表明, 高糖饲料上调了促炎因子 *il-1 $\beta$*  和 *tnf- $\alpha$*  mRNA 的表达。本研究结果显示, 高糖组黄河鲤脾脏和肠道中促炎因子 *il-1 $\beta$*  和 *tnf- $\alpha$*  mRNA 的表达上调, 抑炎因子 *il-10* 和 *tgf- $\beta$*  mRNA 的表达下调, 表明饲喂高糖饲料后, 黄河鲤的免疫性能下降。研究表明, 给高脂血症大鼠灌胃剂量为 7~28 mg/kg 的沙棘浆果多酚, 沙棘浆果多酚能够显著降低血清中 TNF- $\alpha$  的水平, 可减轻血管损伤<sup>[49]</sup>。在斑马鱼 (*Danio rerio*) 幼鱼中的研究中显示, 给斑马鱼饲喂高胆固醇饲料+0.1% 沙棘醋饮后, *il-1 $\beta$*  和 *tnf- $\alpha$*  mRNA 的表达水平显著降低<sup>[50]</sup>。在本研究中, 沙棘粉可降低脾脏和肠道中促炎因

子 *nf- $\kappa$ b*、*il-1 $\beta$*  和 *tnf- $\alpha$*  mRNA 的表达水平, 增加抑炎因子 *lyz*、*il-10* 和 *tgf- $\beta$*  mRNA 的表达水平。紧密连接蛋白 (Zo-1 和 Occludin) 是肠黏膜机械屏障的重要组成部分<sup>[51]</sup>, 可以维持肠黏膜的稳定性<sup>[52]</sup>。沙棘粉可升高肠道 *zo-1* 和 *occludin* mRNA 的表达水平, 说明沙棘粉提升了屏障的保护作用。

综上所述, 饲料中添加沙棘粉能够促进黄河鲤生长、提高抗氧化能力和非特异性免疫, 在一定程度上改善饲料中高糖对鱼类生产所带来的不利影响。另外, 在本实验条件下, 结合生长性能、抗氧化能力和非特异性免疫分析, 建议沙棘粉在黄河鲤饲料中的添加比例为 0.5%。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, *et al.* Effects of carbohydrate source for maintaining a high C:N ratio and fish driven re-suspension on pond ecology and production in periphyton-based freshwater prawn culture systems[J]. *Aquaculture*, 2010, 301(1): 37-46.
- [2] Zhao L L, Liang J, Chen F K, *et al.* High carbohydrate diet induced endoplasmic reticulum stress and oxidative stress, promoted inflammation and apoptosis, impaired intestinal barrier of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2021, 119:(308-317).
- [3] 员冬梅, 陈玉琴. 沙棘植物资源的综合利用[J]. *江西园艺*, 2005(04): 9-11.  
Yuan D M, Chen Y Q. Comprehensive utilization of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) plant resources [J]. *Jiangxi Horticulture*, 2005(04): 9-11 (in Chinese).
- [4] Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011, 138(2): 268-278.
- [5] Stobdan T, Targais K, Lamo D, *et al.* Judicious use of natural resources: a case study of traditional uses of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) in Trans-Himalayan Ladakh, India[J]. *National Academy Science Letters*, 2013, 36(6): 609-613.
- [6] Mohamed E A, Tulcan C, Alexa E, *et al.* Sea buckthorn

- and grape extract might be helpful and sustainable phytoresources as associated hypolipidemic agents—preliminary study[J]. *Sustainability*, 2020, 12(21): 9297.
- [ 7 ] Mulati A, Ma S, Zhang H, *et al.* Sea-buckthorn flavonoids alleviate high-fat and high-fructose diet-induced cognitive impairment by inhibiting insulin resistance and neuroinflammation[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2020, 68(21): 5835-5846.
- [ 8 ] Wang Z, Zhao F L, Wei P P, *et al.* Phytochemistry, health benefits, and food applications of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): a comprehensive review [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9.
- [ 9 ] Liu X L, Lv M S, Maimaitiyiming R, *et al.* Development of fermented sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) juice and investigation of its antioxidant and antimicrobial activity[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10.
- [10] Dorhoi A, Dobrean V, Zăhan M, *et al.* Modulatory effects of several herbal extracts on avian peripheral blood cell immune responses[J]. *Phytotherapy Research*, 2006, 20(5): 352-358.
- [11] 李丽芬, 石扣兰, 白建平, 等. 沙棘粉对免疫功能及胆固醇的影响[J]. *西北药学杂志*, 1994(05): 218-221.
- Li L F, Shi K L, Bai J P, *et al.* Effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) powder on immune function and cholesterol[J]. *Northwest Journal of Pharmacy*, 1994(05): 218-221 (in Chinese).
- [12] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [13] 王丹, 屈俊成, 张昕. 中草药饲料添加剂在畜禽养殖生产中的应用 [J]. *养殖与饲料*, 2019, (01): 75-76.
- Wang D, Qu J C, Zhang X. Application of Chinese herbal feed additives in livestock and poultry production[J]. *Journal of Farming and feed*, 2019, (01): 75-76(in Chinese).
- [14] Yu Z, Zhao L, Zhao J L, *et al.* Dietary *Taraxacum mongolicum* polysaccharide ameliorates the growth, immune response, and antioxidant status in association with NF- $\kappa$ B, Nrf2 and TOR in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture*, 2022, 547: 737522.
- [15] Li M X, Qiang J, Zhu X W, *et al.* Effect of Siberian ginseng water extract as a dietary additive on growth performance, blood biochemical indexes, lipid metabolism, and expression of PPARs pathway-related genes in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fishes*, 2022, 7(4): 149-149.
- [16] Nuernberg K, Nuernberg G, Priepeke A, *et al.* Sea buckthorn pomace supplementation in the finishing diets of pigs – are there effects on meat quality and muscle fatty acids?[J]. *Archives Animal Breeding*, 2015, 58(1): 107-113.
- [17] Guo C, Han L, Li M, *et al.* Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) freeze-dried powder protects against high-fat diet-induced obesity, lipid metabolism disorders by modulating the gut microbiota of mice[J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 265.
- [18] 邵淑丽, 徐兴军, 邵会祥, 等. 沙棘嫩枝叶对鸡生长性能及肉质的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2002(05): 12-13.
- Shao S L, Xu X J, Shao H X, *et al.* Effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) shoots and leaves on growth performance and meat quality of chickens[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2002(05): 12-13 (in Chinese).
- [19] 丁保安, 陈福军, 秦迎新. 日粮中添加沙棘果渣对肉鸡生产性能和免疫机能的影响 [J]. *中国饲料*, 2010, (13): 32-34.
- Ding B A, Chen F J, Qin Y X. Effects of hippophae rhanuwides fruits residue on production performance and immunity of broiler chicken[J]. *China Feed*, 2010, (13): 32-34 (in Chinese).
- [20] Sheikhzadeh N, Tayefi-Nasrabadi H, Oushani A K, *et al.* Effects of *Haematococcus pluvialis* supplementation on antioxidant system and metabolism in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, 38(2): 413-419.
- [21] Hemre G I, Mommsen T P, Krogdahl A. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2002, 8(3): 175-194.
- [22] Zhou C, Liu B, Ge X, *et al.* Effect of dietary carbohydrate on the growth performance, immune response, hepatic antioxidant abilities and heat shock protein 70 expression of Wuchang bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2013, 29(6):

- 1348-1356.
- [23] Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress[J]. *Progress in Lipid Research: An International Journal*, 2004, 43(3): 200-227.
- [24] Ramesh B, Karuna R, Sreenivasa R S, *et al.* Effect of *Commiphora mukul* gum resin on hepatic marker enzymes, lipid peroxidation and antioxidants status in pancreas and heart of streptozotocin induced diabetic rats[J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, 2(11): 895-900.
- [25] Ji R L, Li Y C, Li X S, *et al.* Effects of dietary tea polyphenols on growth, biochemical and antioxidant responses, fatty acid composition and expression of lipid metabolism related genes of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49(3): 1210-1218.
- [26] Garrett T, Rachel A, Ruoqiong C, *et al.* Glutathione as a marker for human disease[J]. *Advances in Clinical Chemistry*, 2018, 87: 141-159.
- [27] Ma H J, Mu M M, Pu D C, *et al.* Effect of dietary starch level on growth, metabolism enzyme and oxidative status of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Aquaculture*, 2018, 498: 482-487.
- [28] Wu C L, Ye J Y, Gao J E, *et al.* The effects of dietary carbohydrate on the growth, antioxidant capacities, innate immune responses and pathogen resistance of juvenile black carp *Mylopharyngodon piceus*[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2016, 49: 132-142.
- [29] Zhou C, Ge X, Lin H, *et al.* Effect of dietary carbohydrate on non-specific immune response, hepatic anti-oxidative abilities and disease resistance of juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*)[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2014, 41(2): 183-190.
- [30] 徐祺, 杨航, 梁高杨, 等. 黄芩素对草鱼生长性能、血清抗氧化指标和肌肉品质的影响[J]. *水产学报*, 2019, 43(11): 2383-23932.
- Xu Z, Yang H, Liang G Y, *et al.* Effects of dietary baicalein on growth, serum anti-oxidation indicators and flesh quality of *Ctenopharyngodon idella*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(11): 2383-23932 (in Chinese).
- [31] Geetha S, Ram M S, Mongia S S, *et al.* Evaluation of antioxidant activity of leaf extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) on chromium(VI) induced oxidative stress in albino rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 87(2): 247-251.
- [32] Jiao Y, Zheng X Q, Liu X L, *et al.* Study on the hypolipidemic effect and antioxidant activity of seabuckthorn marc flavonoids[J]. *Advanced Materials Research*, 2011, 345(345-345): 292-296.
- [33] Ma Q. Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity[J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 2013, 53(1): 401-426.
- [34] Ho C Y, Cheng Y T, Chau C F, *et al.* Effect of diallyl sulfide on in vitro and in vivo Nrf2-mediated pulmonary antioxidant enzyme expression via activation ERK/p38 signaling pathway[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(1): 100-107.
- [35] 许蓉. 益生菌缓解高碳水化合物饲料引发罗非鱼代谢紊乱及氧化应激的机制初探 [D]. 华东师范大学, 2022.
- Xu R. Probiotics alleviate metabolic disturbance and oxidative stress induced by high carbohydrate diet in Nile tilapia[D]. Shanghai: East China Normal University, 2022(in Chinese).
- [36] Podder B, Kim Y-S, Song H-Y. Cytoprotective effect of bioactive sea buckthorn extract on paraquat-exposed A549 cells via induction of Nrf2 and its downstream genes[J]. *Molecular medicine reports*, 2013, 8(6): 1852-1860.
- [37] Kumar V, Sahu N P, Pal A K, *et al.* Immunomodulation of *Labeo rohita* juveniles due to dietary gelatinized and non-gelatinized starch[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2007, 23(2): 341-353.
- [38] Enes P, Panserat S, Kaushik S, *et al.* Rapid metabolic adaptation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles fed different carbohydrate sources after heat shock stress[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2006, 145(1): 73-81.
- [39] Rider S A, Davies S J, Jha A N, *et al.* Supra-nutritional dietary intake of selenite and selenium yeast in normal and stressed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): implications on selenium status and health responses[J]. *Aquaculture*, 2009, 295(3): 282-291.

- [40] Zhao L L, Yang X Z, Cheng Y X, *et al.* Effects of histamine on survival and immune parameters of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2012, 31(3): 827-834.
- [41] Shirazi S P, Beechey R B, Butterworth P J. The use of potent inhibitors of alkaline phosphatase to investigate the role of the enzyme in intestinal transport of inorganic phosphate[J]. *Biochemical Journal*, 1981, 194(3): 803-809.
- [42] Ragland S A, Criss A K. From bacterial killing to immune modulation: recent insights into the functions of lysozyme[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(9): e1006512.
- [43] Kaysen G A. Serum albumin concentration in dialysis patients: why does it remain resistant to therapy?[J]. *Kidney International. Supplement*, 2003(87): S92-S98.
- [44] Luedde T, Beraza N, Trautwein C. Evaluation of the role of nuclear factor -  $\kappa$ B signaling in liver injury using genetic animal models[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2006, 21(s3): S43-S46.
- [45] Chen S W, Liu C H, Hu S Y. Dietary administration of probiotic *Paenibacillus ehimensis* NPUST1 with bacteriocin-like activity improves growth performance and immunity against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 84: 695-703.
- [46] Baumann B. NF-kappaB: critical regulator of inflammation and the immune response[J]. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 2004.
- [47] Kazuo F N K. Macrophages in inflammation[J]. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, 2005, 4(3): 281-286.
- [48] Xu C, Liu W B, Remø S C, *et al.* Feeding restriction alleviates high carbohydrate diet-induced oxidative stress and inflammation of *Megalobrama amblycephala* by activating the AMPK-SIRT1 pathway[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2019, 92: 637-648.
- [49] Yang F, Suo Y R, Chen D L, *et al.* Protection against vascular endothelial dysfunction by polyphenols in sea buckthorn berries in rats with hyperlipidemia[J]. *BioScience Trends*, 2016, 10(3): 188-196.
- [50] 司霞, 张昕, 王晨尧, 等. 苦荞醋饮及沙棘醋饮在代谢相关脂肪性肝病斑马鱼幼鱼中的应用[J]. *护理研究*, 2023, 37(02): 302-308.
- Si X, Zhang X, Wang C R, *et al.* Application of tartary buckwheat vinegar and sea-buckthorn vinegar in zebrafish larvae with metabolic associated fatty liver disease[J]. *Chinese Nursing Research*, 2023, 37(02): 302-308 (in Chinese).
- [51] Gonzalez-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, *et al.* Tight junction proteins[J]. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 2003, 81(1): 1-44.
- [52] Ugalde-Silva P, Gonzalez-Lugo O, Navarro-Garcia F. Tight junction disruption induced by type 3 secretion system effectors injected by enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2016, 6: 87.

## Effects of high-carbohydrate diet supplemented with sea buckthorn powder on the growth, antioxidant ability and non-specific immunity of Yellow River carp (*Cyprinus carpio haematopterus*)

ZHANG Hang<sup>1</sup>, YAN Xiao<sup>1</sup>, YANG Liping<sup>1</sup>, QIN Chaobin<sup>1</sup>,  
PANG Peng<sup>2</sup>, YANG Bowen<sup>1</sup>, NIE Guoxing<sup>1\*</sup>

(1. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

**Abstract:** In order to explore the effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) powder on growth, antioxidant ability and non-specific immunity of Yellow River carp (*Cyprinus carpio haematopterus*), a total of 450 *C. carpio haematopterus* with similar body weight about 7.55 g were randomly divided into five groups: control, HG, G-LSP, G-MSP, G-HSP, respectively. A 10-week feeding trial was performed. The results indicated that the weight gain rate of *C. carpio haematopterus* in G-HSP group was significantly higher than that in HG group. Compared with the control group, the content of malondialdehyde (MDA) in serum and hepatopancreas increased, but the activity of (CAT), superoxide dismutase (SOD) and total antioxidant activity (T-AOC) in serum and hepatopancreas decreased. These negative effects could be relieved with sea buckthorn powder supplementation. The high-carbohydrate diet inhibited *nrf2* mRNA levels of hepatopancreas and muscle, while the mRNA levels of *keap1* were promoted. Sea buckthorn powder significantly inhibited the decrease of *nrf2* mRNA levels and increase of *keap1* mRNA levels induced by the HG diet. And the antioxidant-related genes (*gr*, *cat*, *gpx* and *sod*) mRNA levels were also promoted by sea buckthorn powder. Moreover, fish fed the diet containing 0.5% sea buckthorn powder had higher activity of alkaline phosphatase (AKP), acid phosphatase (ACP), lysozyme (LZM) and the content of albumin (Alb) in serum, spleen and intestine. In addition, sea buckthorn powder can restore the abnormal mRNA expression of *nf-κb*, *il-1β* and *tnf-α* in spleen and intestine caused by high-carbohydrate diet. In conclusion, sea buckthorn powder can alleviate oxidative stress and inflammation injury caused by high-carbohydrate diet, and improve the growth performance, and enhance antioxidant ability and non-specific immunity of *C. carpio haematopterus*. The recommended dosage of sea buckthorn powder in diet is 0.5%.

**Key words:** Yellow River carp (*Cyprinus carpio haematopterus*); sea buckthorn powder; high-carbohydrate diet; antioxidant ability; non-specific immunity

**Corresponding author:** NIE Guoxing. E-mail: niegx@htu.cn.

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31902384); Special Fund for Henan Agriculture Research System (HARS-22-16-G2); Innovation Scientists and Technicians Troop Construction Projects of Henan Normal University (2020TD02); Scientific Research Project for Postgraduates of Henan Normal University (YL202115)