

DOI: 10.11964/jfc.20230714078

# 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙生长性能、胴体成分、血清生化指标的影响



陈祥<sup>1</sup>, 刘东华<sup>1</sup>, 耿琳焯<sup>2</sup>, 沈诗桀<sup>2</sup>, 王倩茹<sup>2</sup>, 沈以红<sup>2</sup>,  
黄先智<sup>2</sup>, 段彪<sup>1\*</sup>

1. 西南大学水产学院, 重庆, 400716; 2. 西南大学, 资源昆虫高效养殖与利用全国重点实验室, 重庆, 400716

## 摘要:

**【目的】**探究不同水平桑叶提取物对黑斑侧褶蛙生长性能、胴体成分及血清生化指标的影响。

**【方法】**实验以 396 只健康黑斑侧褶蛙 [体重 (2.7±0.2) g] 为对象, 随机分为 4 组, 每组 3 个重复, 每个重复 33 只, 分别饲喂在基础饲料中添加 0、3、6、9 g/kg 桑叶提取物的实验饲料, 饲养周期为 56 d。

**【结果】**桑叶提取物组成存活率、末均重、增重率和特定生长率呈先升后降趋势, M03 组末均重、增重率、特定生长率较对照组分别显著提高 4.18%、6.98%、2.86%。摄食率和饵料系数呈先降后升趋势, M03 组较对照组分别显著降低 7.73%、12.32%, M09 组与对照组无显著差异。与对照组相比, M03 组、M06 组胴体粗蛋白、粗脂肪含量无显著变化, 肝脂中的含量显著降低 10.17%、10.60%; M09 组胴体蛋白质含量显著下降 4.11%。随桑叶提取物添加水平升高, M03 组 TC、LDL 较对照组显著降低 35.23%、53.12%; M03 组、M06 组肝脏 SOD 较对照组显著提高 18.59%、9.67%, M09 组无显著差异; 肝脏 T-AOC、MDA 均高于对照组, 但无显著差异。

**【结论】**桑叶提取物可有效提高黑斑侧褶蛙对饲料的消化利用率、抗氧化能力, 促进其生长。实验结果显示, 在黑斑侧褶蛙基础饲料中桑叶提取物的添加量为 0.34%~0.42%。本研究可为黑斑侧褶蛙绿色健康养殖提供理论依据。

**关键词:** 黑斑侧褶蛙; 桑叶提取物; 生长性能; 胴体成分; 血清生化指标

桑叶是桑科 (Moraceae) 植物桑 (*Morus alba*) 的干燥叶, 产量高、品种多、应用广泛, 但其利用效率较低<sup>[1]</sup>。桑叶品种、产地及收获季节等因素会影响其营养和药理成分<sup>[2]</sup>, 含水率较高的桑叶容易发霉且难以保存。桑叶中的抗营养因子如单宁等会影响养殖动物的摄食和消化<sup>[3]</sup>。对桑叶深加工, 浓缩提取桑叶中有效成分是提高桑叶资源在饲料产业中利用程度的有效方法。

桑叶中含高达 21% 的优质蛋白质, 可作为水产饲料蛋白源的替代

第一作者: 陈祥, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 1284737982@qq.com



通信作者: 段彪, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: 635335983@qq.com

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-18)

收稿日期: 2023-07-14

修回日期: 2023-08-31

文章编号:  
1000-0615(2025)04-049616-13  
中图分类号: S 963.7  
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)  
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)



品。桑叶提取物是以桑叶粉为原料, 即桑叶经阴干、粉碎、分别用正丁醇、乙醇和水加温浸提, 并喷雾干燥而得, 外观黄绿色或浅黄棕色<sup>[4]</sup>, 可有效降低抗营养因子含量, 解除其对动物消化酶的抑制作用, 从而提升其在动物配合饲料中的最大耐受添加量。桑叶提取物 (mulberry leaf extract, MLE) 作为一种天然、绿色的饲料添加剂, 富含多种功能性活性物质, 具有多种生理活性, 被广泛应用于家禽及畜牧业等领域。

近年来, 桑叶提取物的研究主要集中在多糖、黄酮、生物碱和多酚等方面, 具促生长、增强免疫力、抗菌抗氧化、降糖降脂、抗癌等功能活性<sup>[5-7]</sup>。1-脱氧野尻霉素是桑叶中生物碱最主要的成分。桑叶生物碱具有提高免疫功能、增强机体免疫力和抗病能力的作用<sup>[8]</sup>。桑叶多酚是一种植物次生代谢物, 大量存在于植物中。研究表明, 桑叶多酚在体内可以清除自由基, 减少氧化应激, 起到抗氧化作用<sup>[9-10]</sup>。桑叶多酚被广泛应用于保健品、医药、食品等领域。桑叶多糖占干桑叶的 1.79%~2.64%, 主要含 D-阿拉伯糖、D-木糖、D-葡萄糖、D-鼠李糖和 D-甘露糖等成分, 具有提高免疫力、抗氧化、降血脂、预防心血管疾病等作用<sup>[11]</sup>。桑叶黄酮类化合物占桑叶干重的 1%~3%, 是桑叶发挥作用的主要活性成分之一, 具抗菌、抗氧化和降血脂等作用<sup>[12]</sup>。

至今, 桑叶及桑叶提取物在水产动物上的研究较少。研究发现, 在草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 饲料中添加适量 (5%) 桑叶粉可降低其肌肉和内脏脂肪含量, 提高肉品质, 但添加量过多 (10%) 会影响其生长<sup>[13]</sup>。刘均等<sup>[14]</sup>在模式生物斑马鱼 (*Danio rerio*) 上比较研究了桑叶和绞股蓝叶水提取物的降糖作用, 发现在同等剂量下, 桑叶水提取物的降糖效果显著强于绞股蓝。吴春艳<sup>[15]</sup>在胭脂鱼 (*Myxocyprinus asiaticus*) 幼鱼基础饲料中添加不同比例桑叶粉 (3%、6%、9%) 发现, 添加 9% 的桑叶粉能显著降低其血脂, 提高机体抗氧化能力。综上, 桑叶在水产饲料中的应用因多种因素而异, 如养殖对象、加工处理方式及添加形式等, 但饲料中添加加工处理过的桑叶取得了较好效果<sup>[16]</sup>。因此, 将桑叶应用于水产饲料前, 仍需进行更多深入的实验和研究, 以明确桑叶添加剂的最佳添加量和应用范围, 确保其安全可靠, 从而

更好地推动其应用。

黑斑侧褶蛙 (*Pelophylax nigromaculatus*) 属蛙科 (Ranidae) 侧褶蛙属 (*Pelophylax*), 是我国分布最广的两栖动物之一, 其生性凶猛, 跳跃能力极强, 是捕食害虫的能手, 具有巨大的生态效益和经济效益<sup>[17]</sup>。黑斑侧褶蛙具有食用与药用价值。其肉蛋白质丰富, 肉味鲜美, 其药用效果在《本草纲目》和《中国药用动物志》中均有记载<sup>[18]</sup>。近年来, 由于受环境污染、捕杀的影响, 黑斑侧褶蛙的数量急剧减少。我国许多地区有食用黑斑侧褶蛙的习惯, 市场需求大, 黑斑侧褶蛙养殖的逐渐兴起成为保护和利用黑斑侧褶蛙的有效途径之一, 也成为适应市场需求和帮助农民创收的新项目<sup>[17]</sup>。本实验将桑叶提取物添加至黑斑侧褶蛙基础饲料中, 研究桑叶提取物对黑斑侧褶蛙生长性能、胴体成分、血液生化指标的影响, 探讨桑叶提取物在黑斑侧褶蛙人工配合饲料中的适宜添加量, 为黑斑侧褶蛙健康养殖提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

本实验所用基础饲料为禾丰食品股份有限公司生产的膨化蛙类配合饲料, 干燥球状小颗粒, 其营养水平见表 1。本实验所用桑叶提取物为西南大学资源昆虫高效养殖与利用全国重点实验室提供的桑叶提取物干样粉料。在其基础上, 以 70% 乙醇为溶剂、料液比 (质量体积比 g/mL) 1 : 10 超声提取 2 次, 合并 2 次浸提液过滤后经旋转蒸发仪 80 °C 蒸发浓缩得实验所用醇提物, 制备的桑叶提取物终浓度为 0.2 g/mL。其微生物污染物和无机污染物均低于国家标准 (GB 13078—2017 饲料卫生标准) 的限量值, 桑叶提取物活性物质含量及饲料卫生检测见表 2。将不同体积的桑叶提取物用蒸馏水稀释至相同体积拌于基础饲料中 (表 1), 即分别向每千克基础饲料中添加 0、3、6、9 g 桑叶提取物, 分别为对照组 C 和 3 个实验组 M03、M06、M09, 自然阴干后密封储存在 -20 °C 冰箱备用。

### 1.2 实验蛙与饲养管理

实验在重庆市铜梁区壹叁零柒水产养殖场进行, 实验所用黑斑侧褶蛙为该养殖场提供的

表 1 黑斑侧褶蛙基础饲料营养水平及无机污染物检测 (风干基础)

Tab. 1 Nutrient level and inorganic contaminant detection of *P. nigromaculatus* basal feed (air-dried basis)

营养成分 chemical composition	含量/% content
水分 moisture content	8.210
粗脂肪 crude lipid	4.020
粗蛋白 crude protein	44.180
粗纤维 crude fiber	2.930
粗灰分 crude ash	8.650
钙 calcium	3.690
总磷 total phosphorus	1.560

无机污染物检测 inorganic pollutant detection			
项目 item	测量值/(mg/kg) measurement value	限量 limit	实验方法 method
总砷 total arsenic	1.642	≤4.000	GB/T 13079—2022
总铅 total lead	5.730	≤30.000	GB/T 13080—2018
总汞 total mercury	0.005	≤0.100	GB/T 13081—2022

注: 营养水平和无机污染物检测值均为计算值。

Notes: The nutritional level and inorganic pollutant detection values are all calculated.

同一批孵化的黑斑侧褶蛙, 经 5% 的食盐消毒, 暂养于养殖池 (3 m×4 m) 中, 投喂基础饲料, 使之逐渐适应实验环境。暂养 5 d 后, 将黑斑侧褶蛙饥饿 24 h, 挑选体格健壮、大小均匀, 初始体重 (2.7±0.2) g 的黑斑侧褶蛙 396 只, 随机分配到室外 12 个实验池, 每个实验池包含 1.0 m×0.8 m 的水域和 1.0 m×1.2 m 的陆地区域, 用 1 m 高尼龙网隔开, 条件一致, 编号为 1~12, 以 0.4 m×0.6 m 的长方形尼龙网做饲料盘。每个养殖池 33 只黑斑侧褶蛙。随机投喂 4 组饲料, 每组投喂 3 个池。养殖实验持续 8 周, 养殖期间, 水温为 (25±2) °C, 水位为 15~20 cm, 每天投喂 2 次。分别在日出后 1 h 左右以及傍晚太阳落山前 2 h 投喂, 使其达到表观饱食状态。投喂后 1 h 对各养殖池进行换水和清理粪便残饵。实验期间记录各池黑斑侧褶蛙每日摄食和病死情况。实验过程中操作人员严格遵守西南大学实验动物福利伦理审查委员会伦理规范, 并按

照西南大学实验动物福利伦理审查委员会规章制度进行。

### 1.3 样品的制备与分析

**样品采集** 养殖实验结束后, 实验蛙停喂 1 d, 对各组剩余饵料进行称量以计算总食量。采样时, 统计各池黑斑侧褶蛙数量并称量总重。每组每个重复随机取 6 只黑斑侧褶蛙, 每只测量体重、体长。用双毁髓法处死后迅速冰上解剖, 取出内脏并分离出肝脏和脂肪体, 称重。随后取解剖的 3 只黑斑侧褶蛙从躯干与后肢交接处切断, 称量后腿的重量。将上述数据做好记录, 便于生长性能和形体指标的计算。将胴体、肝脏、脂肪体分装取样袋, 装入带有碎冰的保温箱运回实验室, -20 °C 冰箱保存以备胴体和肝脏常规成分分析。取 1% 肝素钠溶液润湿 2 mL 无菌注射器管壁备用。每组每个重复 6 只, 用准备好的注射器进行腿部动脉采血, 血样装入灭菌离心管中, 置于冰上, 静置 1 h 后, 4 000 r/min 离心 15 min, 取上清液得黑斑侧褶蛙血浆, 每个重复中每 3 只黑斑侧褶蛙的血浆合并成一管, -80 °C 冰箱贮存以备血浆生化指标分析。采血后取出内脏, 迅速分离出肝脏, 按每个重复中每 3 只黑斑侧褶蛙的肝脏组织合并成一个样品, 用 0.65% 无菌生理盐水冲洗, 液氮冷冻后置于 -80 °C 冰箱中以备肝脏消化酶和抗氧化能力相关指标的检测。

**饲料常规营养成分测定** 凯氏定氮法 (GB/T 6432—2018) 测粗蛋白、105 °C 烘箱干燥法 (GB/T 6435—2014) 测水分、索氏抽提法 (GB/T 2479—2003) 测粗脂肪、550 °C 灼烧法 (GB/T 6438—2007) 测粗灰分、分光光度法 (GB/T 6437—2018) 测总磷量、乙二胺四乙酸二钠络合滴定法 (GB/T 6436—2018) 测总钙。无机污染物检测送西南大学资源环境学院, AA-6800F 和 GFA6880 原子吸收分光光度计测定总砷 (GB/T 13079—2022) 和总铅 (GB/T 13080—2018) 含量、上海华光仪器仪表厂 F732-VJ 型冷原子吸收测汞仪测定总汞 (GB/T 13081—2022) 含量。

**生长及形体指标测定** 根据测定的数据计算实验黑斑侧褶蛙的增重率 (weight gain rate, WGR)、特定生长率 (specific growth rate, SGR)、饲料系数 (feed conversion ratio, FCR)、肥满度 (condition factor, CF)、摄食率 (feed rate, FR)、

表 2 桑叶提取物的活性物质含量及饲料卫生检测

Tab. 2 Active ingredient content and feed hygiene testing of mulberry leaf extract

活性物质 active substance	含量/(mg/g) content	
1-脱氧野尻霉素 1-deoxyojirimycin	34.390	
总生物碱 total alkaloid	49.810	
总黄酮 total flavonoids	55.560	
总多糖 total polysaccharides	284.710	
总多酚 total polyphenols	46.860	

饲料卫生检测 feed hygiene testing			
项目 items	测量值 measurement values	限量 limit	实验方法 methods
<b>微生物污染物检测 microbial pollutant detection</b>			
沙门氏菌(25 g中) <i>Salmonella</i>	无	不得检出 not detectable	GB/T 13091—2018
霉菌(CFU/g) mould	无	<4×10 <sup>4</sup>	GB/T 13092—2006
细菌(CFU/g) bacterium	无	<2×10 <sup>5</sup>	GB/T 13093—2006
<b>无机污染物 inorganic pollutants</b>			
总砷(mg/kg) total arsenic	0.005	≤4.000	GB/T 13079—2022
总铅(mg/kg) total lead	0.199	≤30.000	GB/T 13080—2018
总汞(mg/kg) total mercury	0.026	≤0.100	GB/T 13081—2022

注: RP-HPLC法测定-脱氧野尻霉素含量, 雷氏盐比色检测法测定总生物碱含量, 氯化铝比色法测定总黄酮含量, 苯酚-硫酸法测定多糖, Folin-Ciocalteu法测定总多酚含量。HE、BS琼脂培养基检测沙门氏菌(GB/T 13091—2018)含量, 马铃薯葡萄糖琼脂(含氯霉素)琼脂检测霉菌(GB/T 13092—2006)含量, 营养琼脂检测细菌(GB/T 13093—2006)含量。MLE送西南大学资源环境学院, AA-6800F和GFA6880原子吸收分光光度计测定总砷(GB/T 13079—2022)和总铅(GB/T 13080—2018)含量, 上海华光仪器仪表厂F732-VJ型冷原子吸收测汞仪测定总汞(GB/T 13081—2022)含量。表中数值均为计算值。

Notes: The 1-deoxyojirimycin content is measured by RP-HPLC method, total alkaloid content is determined by the Reinecke salt colorimetric method, total flavonoid content is measured by the aluminum chloride colorimetric method, polysaccharides are determined by the phenol-sulfuric acid method, and total polyphenol content is measured by the Folin-Ciocalteu method. HE and BS agar media are used to detect *Salmonella* (GB/T 13091-2018) content, potato glucose agar (containing chloramphenicol) is used to detect fungal (GB/T 13092-2006) content, and nutrient agar is used to detect bacterial (GB/T 13093-2006) content. MLE is sent to the School of Resources and Environment at Southwest University for detection. The total arsenic (GB/T 13079-2022) and total lead (GB/T 13080-2018) contents are determined by the AA-6800F and GFA6880 atomic absorption spectrophotometers, and the total mercury content (GB/T 13081-2022) is determined by the F732-VJ cold atomic absorption mercury analyzer from Shanghai Huaguang Instrument Co., Ltd.. All values in the table are calculated.

胴体比 (carcass rate, CR)、后腿指数 (hind leg index, HLI)、肝体指数 (hepatosomatic index, HSI)、脏体指数 (viscerosomatic index, VSI), 脂肪体比 (fat body index, FI) 根据统计的实验黑斑侧褶蛙死亡情况计算成活率 (survival rate, SR)。

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

$$\text{特定生长率(SGR, \% / d)} = 100\% \times (\ln H_e - \ln H_i) / T$$

$$\text{饲料系数(FCR)} = F / (H_t - H_0)$$

$$\text{肥满度(CF, g / cm}^3\text{)} = H_b / L^3 \times 100$$

$$\text{摄食率(FR, \%)} = H_d / (H_t / 2 + H_0 / 2) / T \times 100\%$$

$$\text{胴体比(CR, \%)} = H_d / H_b \times 100\%$$

$$\text{后腿指数(HLI, \%)} = H_t / H_b \times 100\%$$

$$\text{肝体指数(HSI, \%)} = H_h / H_b \times 100\%$$

$$\text{脏体指数(VSI, \%)} = H_v / H_b \times 100\%$$

$$\text{脂肪体比(FI, \%)} = H_f / H_b \times 100\%$$

$$\text{存活率(SR, \%)} = N_t / N_i \times 100\%$$

式中,  $N_t$  为末蛙数 (只),  $N_i$  为初蛙数 (只),  $H_i$  和  $H_e$  分别表示黑斑侧褶蛙初始均重 (g) 和末均重 (g),  $H_t$  为黑斑侧褶蛙终末总重 (g),  $H_0$  为黑斑侧褶蛙初始总重 (g);  $T$  为实验天数 (d), 黑斑侧褶蛙后腿重为  $H_t$  (g), 黑斑侧褶蛙重  $H_b$  (g), 黑斑侧褶蛙肝脏重为  $H_h$  (g), 内脏重为  $H_v$  (g), 胴体重为  $H_d$  (g), 总摄食量为  $F$  (g), 脂肪体重  $H_f$ , 蛙体长  $L$  (cm)。

**胴体成分测定** 胴体为黑斑侧褶蛙去除内脏团后的部分。凯氏定氮法 (GB/T 6432—

2018)测粗蛋白、105 °C烘箱干燥法(GB/T 6435—2014)测水分、索氏抽提法(GB/T 2479—2003)测粗脂肪、550 °C灼烧法(GB/T 6438—2007)测粗灰分。

**血清生化指标测定** 血浆生化指标包括高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)。抗氧化指标包括总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA),均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定。

#### 1.4 数据处理

用Excel对数据进行初步整理,用SPSS 26.0软件进行One-Way ANOVA单因素方差分析,用Duncan氏法进行组间差异比较,差异显著水平为0.05,结果以平均值±标准误(mean±SE)表示。

## 2 结果

### 2.1 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙生长性能的影响

桑叶提取物各组成活率、末均重、增重率和特定生长率均随其添加水平增加呈先升后降趋势。M03组末均重较对照组提高4.18%( $P>0.05$ ),M09组显著降低14.95%( $P<0.05$ )。与对照组相比,M03组增重率显著提高6.98%,特定生长率显著提高2.86%( $P<0.05$ );M09组增重率、特定生长率显著降低14.2%、5.95%( $P<0.05$ )。各组摄食率、饵料系数均随桑叶提取物水平升高呈先降后升趋势。M03、M06组摄食率分别

降低7.73%、8.00%,均显著优于对照( $P<0.05$ ),饵料系数分别降低12.32%、10.14%,均显著优于对照( $P<0.05$ )。桑叶提取物组初重和成活率与对照组均无显著差异( $P>0.05$ )(表3)。

当桑叶提取物添加水平在0~0.9%范围时,采用二次回归分析增重率( $Y_1$ )(图1)、饵料系数( $Y_2$ )(图2)和桑叶提取物水平( $X$ )之间的关系,得到以下2个曲线方程: $Y_1=-655.37X^2+440.18X+951.08(R^2=0.8966)$ 和 $Y_2=1.0132X^2-0.8467X+0.79(R^2=0.8742)$ ,得到桑叶提取物适宜添加量为0.34%~0.42%。

### 2.2 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙形体指标的影响

与对照组相比,各组肥满度随桑叶提取物水平升高呈下降趋势,M09组肥满度、肝体比均显著低于对照( $P<0.05$ ),分别降低13.92%、25.10%,M03、M06组均无显著差异( $P>0.05$ )。M06组脏体比和酮体比显著低于M09组( $P<0.05$ )(表4)。

### 2.3 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙胴体成分的影响

**桑叶提取物对黑斑侧褶蛙胴体水分、蛋白质和脂肪的影响** 胴体成分中,桑叶提取物组胴体水分值均显著高于对照( $P<0.05$ ),分别提高0.93%、1.68%、2.46%,且随桑叶提取物水平升高呈先升后降趋势。随桑叶提取物水平升高,粗蛋白和粗脂肪呈减小趋势。M09组粗蛋白和粗脂肪均显著低于对照( $P<0.05$ ),分别下降4.11%、14.03%,M03、M06组均无显著差异( $P>0.05$ )。桑叶提取物组胴体粗灰分与对照相比均无显著差异( $P>0.05$ )(表5)。

表3 饲料中桑叶提取物水平对黑斑侧褶蛙生长性能的影响

Tab. 3 Effects of mulberry leaf extract levels in feed on growth performance of *P. nigromaculatus*

指标 index	组别 group			
	C	M03	M06	M09
初均重/g initial body weight	2.69±0.02	2.68±0.01	2.66±0.03	2.67±0.02
末均重/g final body weight	28.96±1.29 <sup>a</sup>	30.17±1.19 <sup>a</sup>	28.97±1.23 <sup>a</sup>	24.63±1.25 <sup>b</sup>
增重率/% WGR	951.67±25.94 <sup>b</sup>	1 022.36±19.55 <sup>a</sup>	981.04±10.93 <sup>ab</sup>	815.8±14.32 <sup>c</sup>
特定生长率/(%/day) SGR	4.20±0.04 <sup>b</sup>	4.32±0.03 <sup>a</sup>	4.25±0.02 <sup>b</sup>	3.95±0.03 <sup>c</sup>
成活率/% SR	71.00±1.53	81.00±5.21	75.00±2.65	73.00±1.53
摄食率/% FR	3.75±0.07 <sup>a</sup>	3.46±0.04 <sup>b</sup>	3.45±0.03 <sup>b</sup>	3.78±0.06 <sup>a</sup>
饵料系数 FCR	1.38±0.03 <sup>a</sup>	1.21±0.02 <sup>b</sup>	1.24±0.01 <sup>b</sup>	1.43±0.03 <sup>a</sup>

注: C为对照, M03、M06、M09代表桑叶提取物水平0.3%、0.6%、0.9%组; 同列肩标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 下同。

Notes: C is the control, M03, M06 and M09 represent 0.3%, 0.6% and 0.9% groups of mulberry leaf extract; different small letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ), the same below.

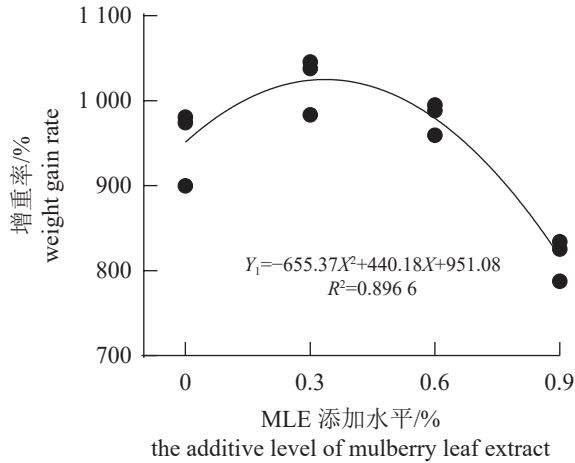


图 1 二次回归分析增重率对桑叶提取物添加水平的影响

0 为对照组, M03、M06、M09 代表桑叶提取物水平 0.3%、0.6%、0.9% 组, 下同。

Fig. 1 Effects of weight gain rate on the additive level of mulberry leaf extract were analyzed by quadratic regression

0 is the control group, M03, M06, M09 represent the mulberry leaf extract level 0.3%, 0.6%, 0.9% groups, the same below.

**桑叶提取物对黑斑侧褶蛙脂肪体及肝脂的影响** 桑叶提取物组脂肪体比与对照均无显著差异 ( $P>0.05$ ), 但随桑叶提取物水平升高呈先升后降趋势。肝脏粗脂肪随桑叶提取物水平升高呈先降后升趋势, 其中 M03、M06 组肝脏粗脂肪均显著低于对照 ( $P<0.05$ ), M09 组显著高于对照 ( $P<0.05$ )(表 6)。

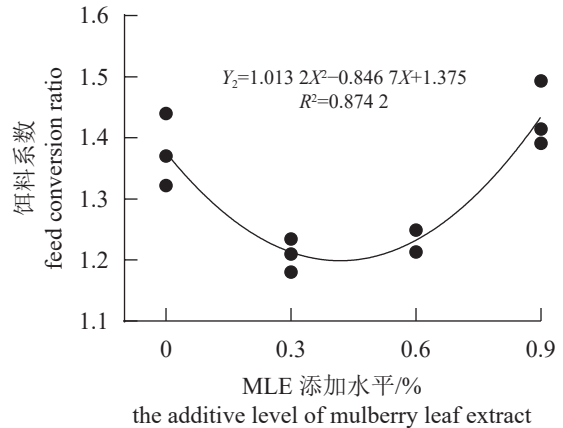


图 2 二次回归分析饵料系数对桑叶提取物添加水平的影响

Fig. 2 Effects of feed conversion ratio on the additive level of mulberry leaf extract was analyzed by quadratic regression

### 2.4 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙血清生化指标的影响

**桑叶提取物对黑斑侧褶蛙血清生化指标的影响** 桑叶提取物组 TC 和 LDL 随其添加水平升高呈现先降后升趋势, 各组均低于对照, 且 M03 组显著低于对照 ( $P<0.05$ )。M03、M06 组 TC 分别降低 35.23%、18.65%, M03、M06 组 LDL 分别降低 53.12%、17.71%。桑叶提取物组 TG 和 HDL 与对照均无显著差异 ( $P>0.05$ )。M06 组 ALT 显著高于对照 ( $P<0.05$ ), 增加 105.69%,

表 4 饲料中桑叶提取物水平对黑斑侧褶蛙形体指标的影响

Tab. 4 Effects of mulberry leaf extract level in feed on body index of *P. nigromaculatus*

指标 index	组别 group			
	C	M03	M06	M09
肥满度/(g/cm <sup>3</sup> ) CF	10.63±0.23 <sup>a</sup>	10.34±0.23 <sup>a</sup>	10.20±0.28 <sup>a</sup>	9.15±0.22 <sup>b</sup>
肝体比/% HSI	5.02±0.26 <sup>a</sup>	5.12±0.22 <sup>a</sup>	5.16±0.27 <sup>a</sup>	3.76±0.24 <sup>b</sup>
后腿指数/% HLI	34.62±1.10	34.91±1.11	34.07±0.93	37.08±0.84
脏体比/% VSI	28.42±0.53 <sup>ab</sup>	29.57±0.60 <sup>ab</sup>	30.06±0.86 <sup>a</sup>	27.64±0.44 <sup>b</sup>
胴体比/% CR	71.58±0.53 <sup>ab</sup>	70.43±0.60 <sup>ab</sup>	69.94±0.86 <sup>b</sup>	72.36±0.44 <sup>a</sup>

表 5 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙胴体常规成分的影响

Tab. 5 Effects of mulberry leaf extract on the routine composition of the carcass of *P. nigromaculatus*

指标 index	组别 group			
	C	M03	M06	M09
水分 moisture content	72.78±0.14 <sup>d</sup>	73.46±0.19 <sup>c</sup>	74.01±0.18 <sup>b</sup>	74.57±0.14 <sup>a</sup>
粗蛋白 crude protein	19.46±0.37 <sup>a</sup>	19.25±0.16 <sup>ab</sup>	19.05±0.06 <sup>ab</sup>	18.66±0.09 <sup>b</sup>
粗脂肪 crude lipid	2.78±0.05 <sup>a</sup>	2.81±0.03 <sup>a</sup>	2.72±0.05 <sup>a</sup>	2.39±0.03 <sup>b</sup>
粗灰分 crude ash	4.18±0.04	4.17±0.06	4.04±0.06	4.14±0.09

但 M03、M09 组均无显著差异 ( $P>0.05$ )。桑叶提取物组 AST 与对照均无显著差异 ( $P>0.05$ ) (表 7)。

**桑叶提取物对黑斑侧褶蛙肝脏氧化应激的影响** 桑叶提取物组肝脏 MDA、肝脏 T-AOC 与对照均无显著差异 ( $P>0.05$ )。桑叶提取物组肝脏 SOD 均高于对照, 其中 M03、M06 组显著高于对照 ( $P<0.05$ ) 分别提高 18.59%、9.67%, M09 组与对照无显著差异 ( $P>0.05$ )。肝脏 MDA 与对照均无显著差异 ( $P>0.05$ ), 但随桑叶提取物水平升高呈先降后升趋势。肝脏 T-AOC 和 SOD 值均随桑叶提取物水平升高呈先升后降趋势, 且各组值均高于对照 (表 8)。

### 3 讨论

#### 3.1 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙生长性能和形体指标的影响

近年来, 桑叶提取物在水产动物上的应用

研究迅速增长, 其在水产动物中主要作为饲料添加剂。周东来等<sup>[19]</sup>研究发现, 在鳊 (*Siniperca chuatsi*) 饲料中添加 1~10 g/kg 桑叶提取物, 不影响其生长性能, 但能提高成活率, 且桑叶提取物添加水平为 10 g/kg 时脏体指数显著低于对照组。王梦华等<sup>[20]</sup>发现, 在大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 饲料中添加 0.1%、0.2% 由桑叶黄酮、栗木单宁和桑叶多糖组成的复合植物提取物能显著提高其生长性能并改善肝脏健康。卢桦等<sup>[21]</sup>发现, 在大鲵 (*Andrias davidianus*) 基础饲料中分别添加 7.5 g/kg 桑叶提取物和 0.04 g/kg 1-脱氧野尻霉素均能改善其生长性能。在鲫 (*Carassius auratus*) 的研究发现, 饲料中添加 15~60 g/kg 的桑叶提取物可显著促进鲫的生长, 最适的桑叶提取物添加水平为 46.93 g/kg, 超过 101.06 g/kg 后会抑制鲫的生长<sup>[22]</sup>。也有研究表明, 在饲料中添加少量的桑叶粉或发酵桑叶粉不影响动物的生长, 但添加量过高会抑制动

表 6 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙脂肪体比及肝脂的影响

Tab. 6 Effects of mulberry leaf extract on fat body and liver lipid of *P. nigromaculatus*

指标 index	组别 group			
	C	M03	M06	M09
脂肪体比/% FS	6.47±0.21 <sup>ab</sup>	7.20±0.15 <sup>a</sup>	6.18±0.22 <sup>b</sup>	6.24±0.31 <sup>ab</sup>
肝脂/% ASI	22.92±0.28 <sup>b</sup>	20.59±0.18 <sup>c</sup>	20.49±0.22 <sup>c</sup>	24.29±0.17 <sup>a</sup>

表 7 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙血清生化指标的影响

Tab. 7 Effects of mulberry leaf extract on plasma biochemical indexes of *P. nigromaculatus*

指标 index	组别 group			
	C	M03	M06	M09
总胆固醇/(mmol/L) TC	1.93±0.12 <sup>a</sup>	1.25±0.13 <sup>b</sup>	1.57±0.07 <sup>ab</sup>	1.68±0.14 <sup>ab</sup>
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.46±0.15	0.22±0.10	0.67±0.37	0.25±0.04
低密度脂蛋白/(mmol/L) LDL	0.96±0.14 <sup>a</sup>	0.45±0.08 <sup>b</sup>	0.79±0.11 <sup>ab</sup>	0.92±0.09 <sup>a</sup>
高密度脂蛋白/(mmol/L) HDL	0.34±0.09	0.15±0.02	0.24±0.00	0.27±0.03
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	111.17±11.75 <sup>b</sup>	130.83±10.44 <sup>b</sup>	228.67±21.20 <sup>a</sup>	109.50±8.48 <sup>b</sup>
谷草转氨酶/(U/L) AST	288.33±47.79	359.00±113.60	612.00±100.55	475.33±125.96

表 8 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙肝脏氧化应激的影响

Tab. 8 Effects of mulberry leaf extract on oxidative stress in the liver of *P. nigromaculatus*

指标 index	组别 group			
	C	M03	M06	M09
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	2.81±0.22 <sup>ab</sup>	2.25±0.31 <sup>b</sup>	2.80±0.20 <sup>ab</sup>	3.14±0.18 <sup>a</sup>
总抗氧化能力/(mmol/g) T-AOC	0.27±0.01	0.27±0.01	0.30±0.02	0.28±0.01
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	17.48±0.43 <sup>c</sup>	20.73±0.13 <sup>a</sup>	19.17±0.33 <sup>b</sup>	18.65±0.66 <sup>bc</sup>

物的生长<sup>[23-24]</sup>。本研究表明, 黑斑侧褶蛙饲料中添加一定量桑叶提取物对生长性能影响显著 ( $P<0.05$ )。添加量为 0.3% 时, 生长性能最佳, 添加水平超过 0.3% 时, 末均重、增重率、特定生长率和成活率逐渐降低, 而摄食率和饵料系数升高; 添加水平 0.9% 时生长性能和饲料利用率显著下降 ( $P<0.05$ )、肥满度和脏体比显著降低 ( $P<0.05$ )。究其原因, 可能是随桑叶提取物添加水平增加, 其活性物质含量也增加, 因此对黑斑侧褶蛙的生理作用由积极影响变为负作用, 也可能是桑叶提取物中的抗营养因子单宁与蛋白质或酶形成复合物, 难以消化, 增强了抗营养作用<sup>[25]</sup>。

### 3.2 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙胴体成分的影响

**桑叶提取物对黑斑侧褶蛙胴体水分、蛋白质和脂肪的影响** 桑叶中的活性成分可以降低动物血糖和血脂, 改善动物的肉质和风味, 提高养殖效益。蛙营养价值的高低主要取决于胴体成分中蛋白质和脂肪的含量<sup>[26]</sup>。黄泰来等<sup>[27]</sup>研究发现, 饲料中添加 400、800 和 1 200 mg/kg 的桑叶提取物可以降低爱拔益加 (Arbor Acres) 肉鸡腹脂沉积, 发挥降脂功效, 这与本实验结果相似。唐佳希等<sup>[24]</sup>发现, 在猪 (*Sus*) 的基础饲料中添加 0.05%、0.10%、0.15% 桑叶提取物, 随其添加水平升高, 肌肉蛋白质含量先降后升, 脂肪含量先增后降, 与本实验结果相反。或因物种、桑叶提取物提取条件和添加水平等不同导致。卢桦等<sup>[21]</sup>研究发现, 在饲料中分别添加桑叶提取物和 1-脱氧野尻霉素, 大鲵肌肉和肝脏粗脂肪含量显著低于对照组, 而肌肉粗蛋白质含量显著高于对照组。本研究发现, 添加不同水平桑叶提取物导致黑斑侧褶蛙胴体成分和肝脏体含量变化, 增加了胴体水分含量, 降低粗脂肪、肌肉蛋白含量。其中, 脂肪含量降低与其他关于桑叶提取物的降脂研究结果相似, 王玲等<sup>[28]</sup>研究发现, 1-脱氧野尻霉素导致肥胖小鼠 (*Mus musculus*) 体重下降的机制主要是通过调节脂肪细胞因子的分泌来抑制脂肪合成、加速脂肪氧化, 达到调控血脂、减少脂肪积累。黑斑侧褶蛙相比其他水产动物水分含量高, 脂肪含量低, 添加桑叶提取物能增加黑斑侧褶蛙胴体水分, 机体蛋白占比有所下降。在本实验中, 随桑叶提取物添加水平增加,

胴体脂肪、蛋白质含量呈下降趋势, 综上, 桑叶提取物添加水平在 0.3%~0.6%, 胴体粗蛋白、粗脂肪无显著变化, 但肝脏粗脂肪含量显著降低。

**桑叶提取物对黑斑侧褶蛙脂肪体及肝脂的影响** 黑斑侧褶蛙的脂肪体是体内的生殖腺前端, 通常位于腹腔、肝脏周围和肾脏等部位, 是一对黄色、指状的脂肪体结构<sup>[29]</sup>。脂肪体的主要作用是贮存能量、调节代谢和保护内脏等<sup>[30]</sup>。在蛙的生殖过程中, 脂肪体起到辅助调节生殖腺发育和繁殖的作用, 其大小在不同季节变化很大<sup>[31]</sup>。春季生殖之前, 脂肪体的体积很大, 随着生殖腺的迅速增长而逐渐萎缩甚至消耗殆尽<sup>[32]</sup>。因此, 在蛙的饲养和研究过程中, 脂肪体的研究有重要意义。脂肪肝综合征是水产养殖中常见的营养代谢疾病, 会影响动物肝脏的正常功能, 导致脂肪在体内堆积, 形成脂肪肝, 影响机体健康, 导致各种疾病的发生。

王祖文等<sup>[33]</sup>在小鼠饲料中添加不同水平的桑叶生物碱, 对高脂饮食小鼠和正常对照小鼠均有降低体重、降低脂肪含量和改善肝脏脂肪变性等效果。王玲等<sup>[28]</sup>发现, 在正常小鼠的饲料中添加桑叶 1-脱氧野尻霉素具减脂作用。与对照相比, 雌雄小鼠的体重、腹腔脂肪和肝脂率均下降。本研究发现, 桑叶提取物组脂体比与对照相比均无显著差异 ( $P>0.05$ ), M03、M06 组肝脏粗脂肪含量均显著低于对照 ( $P<0.05$ ), M09 组则显著高于对照 ( $P<0.05$ ), 表明在黑斑侧褶蛙饲料中适量添加桑叶提取物能在一定程度上调节肝脏内脂肪的代谢, 促进肝脏粗脂肪含量降低, 减轻肝脏负荷有利于黑斑侧褶蛙机体健康。黑斑侧褶蛙饲料中桑叶提取物添加水平为 0.3%~0.6% 时, 能显著降低黑斑侧褶蛙肝脂水平, 脂肪体重量则在桑叶提取物组适宜添加范围内无显著变化, 有利于机体健康和生殖保护。

### 3.3 桑叶提取物对黑斑侧褶蛙血清生化指标的影响

肝脏是机体最重要的实质性器官, 功能繁多。主要担任代谢功能, 能够进行合成、降解、储存肝糖和脂质, 在脂质代谢中扮演着重要角色<sup>[34]</sup>。MDA、SOD 和 T-AOC 都是与氧化应激相关的生物指标。其中, MDA 是氧化损伤的代表性指标, 可反映细胞膜脂质过氧化的程度;



SOD 是重要的抗氧化酶, 可清除自由基, 保护细胞免受氧化应激的损伤; 而 T-AOC 是一个综合指标, 可反映生物体内所有抗氧化物质和酶的总量, 该数值越高, 则表示生物体对氧化应激的抵御能力越强。综合这三个指标的结果可评价机体的氧化应激状态, 了解机体的抗氧化水平和自由基损伤情况。

周东来等<sup>[19]</sup>研究表明, 适量添加桑叶提取物可提高鳊的抗氧化能力, 减少自由基产生和损伤, 有助于增强机体免疫力和抗病能力, 但最佳的添加剂量和应用范围需要进一步研究。宋敏等<sup>[23]</sup>在断奶仔猪饲料添加桑叶提取物可显著提高其血浆中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性、总抗氧化能力 (T-AOC) 以及肝脏中超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性 ( $P < 0.05$ ), 其中添加 1 000 g/t 的桑叶提取物效果最佳。本研究显示, 在黑斑侧褶蛙饲料中添加适量桑叶提取物, 可提高肝脏 SOD 活性, 降低 MDA 的含量, 当添加水平为 0.3% 时, 效果最佳。本实验得出的结果与前人在断奶仔猪和鳊的研究结论一致, 显示桑叶提取物在提高饲养动物的肝脏抗氧化能力方面有共同性。

肝脏的主要功能是合成、降解、储存脂质, 特别是在脂质代谢中有重要作用<sup>[34]</sup>。研究表明, 桑叶提取物中的活性物质黄酮、多糖和多酚均具有调节脂质代谢的功能<sup>[35-36]</sup>, 改善肝组织损伤<sup>[37]</sup>。谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST) 存在于肝脏细胞质中, 生理作用是催化氨基酸与酮酸之间氨基转移。正常情况下血清中 ALT 和 AST 含量很低, 当肝细胞遭受损伤时, ALT 和 AST 会大量进入血液中, 因此二者是肝细胞受损的敏感指标。

周东来等<sup>[19]</sup>研究发现, 在饲料中适量添加桑叶提取物, 鳊血清 AST 和 ALT 活性显著降低 ( $P < 0.05$ )。Noh 等<sup>[38]</sup>研究桑叶水提物治疗高脂饮食所致的血脂紊乱、肝脏脂肪变性和脂肪因子失衡的效果, 结果显示, 桑叶水提物显著降低了小鼠血清 ALT 和 AST 活性。Jing 等<sup>[4]</sup>研究发现, 大口黑鲈日粮中添加 0.5% 桑叶提取物可显著降低血清中丙氨酸转氨酶 (ALT) 和天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 活性。Zhang 等<sup>[39]</sup>研究发现, 日粮中添加 0.4%~1.2% 桑叶提取物可提高鸡 (*Gallus domesticus*) 血清 AST 活性。本实

验发现, 在黑斑侧褶蛙饲料中添加桑叶提取物水平为 0.3% 时, 对黑斑侧褶蛙血清中 AST 和 ALT 无显著差异, 但随饲料中桑叶提取物水平增加, 血清中 AST 和 ALT 呈上升趋势。表明桑叶提取物适宜添加量为 0.3%, 过高添加水平对肝脏功能有负影响。该实验结果与前人研究结果有差异, 推测是本实验所用桑叶提取物中活性物质含量较高以及饲养动物种类不同所致。因此, 在动物饲料中添加桑叶提取物要考虑活性物质含量、动物类型、年龄等因素以及结合血脂生化指标来考虑, 才能得到适宜的添加量。

TC、TG、HDL、LDL 是机体血脂代谢水平的常用指标<sup>[40]</sup>。高水平的总胆固醇和低密度脂蛋白会增加心血管疾病的风险, 而高密度脂蛋白可以清除血管内的低密度脂蛋白, 降低心血管疾病的风险<sup>[41]</sup>。当机体内脂肪代谢出现问题时, 这些指标就会显示异常水平<sup>[42]</sup>。高胆固醇血症<sup>[43]</sup>、高三酰甘油血症<sup>[44]</sup>等疾病就是由于脂类代谢异常引起的。研究发现, 对腹腔蛋黄致高脂小鼠模型分别灌胃 5、10、20 g/kg 的桑叶水提物, 显著降低了小鼠血液中 TC 和 TG 含量、提高 HDL-C 含量, 且具有剂量依赖性, 其中高剂量降脂效果最明显<sup>[45]</sup>。贺燕等<sup>[46]</sup>研究桑叶水提物对高脂饮食小鼠粪便中胆固醇代谢产物的影响, 发现桑叶水提物高剂量组小鼠粪固醇、胆汁酸、SCFAs 分别升高 22.31%、22.31%、36.76%, 表明桑叶水提物能改善高脂饮食小鼠肠道环境, 促进胆汁酸、粪固醇代谢排出, 有助于降血脂作用。文晋等<sup>[47]</sup>给饲喂高脂饲料的小鼠灌胃不同剂量的桑叶生物碱粗提液, 结果发现, 桑叶生物碱粗提液可以使食用高脂饲料的小鼠肝脏基本恢复正常状态。以上动物实验表明, 桑叶水提物、桑叶总黄酮和桑叶生物碱粗提液等均能够显著降低小鼠的 TC 和 TG 含量, 提高 HDL 含量, 调节胆固醇代谢, 有助于降血脂, 改善肝脏功能。本实验结果显示, 添加 0.3% 桑叶提取物能显著降低黑斑侧褶蛙血浆中 TC、TG 和 LDL 含量, 对 HDL 无显著影响。当添加水平增加, TC、TG、LDL 的值升高, HDL 无显著变化, 这与前人在养殖动物的研究结果基本一致, 表明桑叶提取物对肝脏功能的改善需要适宜的添加量。

综上所述, 黑斑侧褶蛙人工配合饲料中桑叶提取物的适宜添加量为 0.34%~0.42%。添加

桑叶提取物可显著提高黑斑侧褶蛙生长性能及饲料利用率, 增强肝脏组织抗氧化能力, 改善肝脏脂代谢, 从而促进蛙的生长。

### 参考文献 (References):

- [ 1 ] Hassan F U, Arshad M A, Li M W, *et al.* Potential of mulberry leaf biomass and its flavonoids to improve production and health in Ruminants: mechanistic insights and prospects[J]. *Animals*, 2020, 10(11): 2076.
- [ 2 ] Cai M, Mu L, Wang Z L, *et al.* Assessment of mulberry leaf as a potential feed supplement for animal feeding in P. R. China[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2019, 32(8): 1145-1152.
- [ 3 ] 唐延天, 陈卫东, 马现永, 等. 桑叶的营养价值及其在单胃动物生产中的应用 [J]. 饲料研究, 2020, 43(1): 77-80.  
Tang Y T, Chen W D, Ma X Y, *et al.* The nutritional value of mulberry leaves and the application in monogastric animals production[J]. *Feed Research*, 2020, 43(1): 77-80 (in Chinese).
- [ 4 ] Jing T S, Luo H, Huang J W, *et al.* Mulberry leaf extract improves non-specific immunity and antioxidant capacity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed a high-starch diet[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 1029360.
- [ 5 ] He X R, Fang J C, Ruan Y L, *et al.* Structures, bioactivities and future prospective of polysaccharides from *Morus alba* (white mulberry): a review[J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 899-910.
- [ 6 ] Li R L, Zhou J N, Zhang X Y, *et al.* Isolation, structural characterization and cholesterol-lowering effects of a novel polysaccharide from mulberry (*Morus alba* L.) leaf[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 202: 117010.
- [ 7 ] Wan J Q, Liao Y Z, Liu J, *et al.* Screening, cloning and functional characterization of key methyltransferase genes involved in the methylation step of 1-deoxynojirimycin alkaloids biosynthesis in mulberry leaves[J]. *Planta*, 2022, 255(6): 121.
- [ 8 ] Wang Z J, Tang C M, Dai F W, *et al.* HPLC determination of phenolic compounds in different solvent extracts of mulberry leaves and antioxidant capacity of extracts[J]. *International Journal of Food Properties*, 2021, 24(1): 544-552.
- [ 9 ] Chen Q P, Chan K C, He H H, *et al.* Mulberry polyphenol extracts attenuated senescence through inhibition of Ras/ERK via promoting Ras degradation in VSMC[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2022, 19(1): 89-97.
- [ 10 ] Cheng Y C, Sheen J M, Hu W L, *et al.* Polyphenols and oxidative stress in atherosclerosis-related ischemic heart disease and stroke[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 8526438.
- [ 11 ] Ma Q Q, Santhanam R K, Xue Z H, *et al.* Effect of different drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activities of mulberry leaves polysaccharides[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 119: 1137-1143.
- [ 12 ] Hu L, Wang C, Guo X, *et al.* Flavonoid levels and antioxidant capacity of mulberry leaves: effects of growth period and drying methods[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 684974.
- [ 13 ] 钱文春, 孙丽慧, 陈建明, 等. 饲料中添加桑叶粉对草鱼生长、体组成及血清生化指标的影响 [J]. 蚕业科学, 2022, 48(5): 443-449.  
Qian W C, Sun L H, Chen J M, *et al.* Effect of mulberry leaf powder addition in diets on the growth performance, body composition and serum biological indexes of grass carp[J]. *Science of Sericulture*, 2022, 48(5): 443-449 (in Chinese).
- [ 14 ] 刘均, 李强, 谭蓉. 采用斑马鱼生物模型对桑叶和绞股蓝叶水提取物降糖作用的比较研究 [J]. 中国茶叶加工, 2021(4): 74-82.  
Liu J, Li Q, Tan R. Comparison of the hypoglycemic effect of the aqueous extract of *Morus folium* and *Gynostemma pentaphyllum* leaves of zebrafish as a model[J]. *China Tea Processing*, 2021(4): 74-82 (in Chinese).
- [ 15 ] 吴春艳. 桑叶对胭脂鱼幼鱼的生长性能及抗病力的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(12): 12-15.  
Wu C Y. Effects of mulberry leaf on growth performance and disease resistance of *Myxocyprinus asiaticus*[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018(12): 12-15 (in Chinese).
- [ 16 ] 黄静, 邝哲师, 刘吉平, 等. 桑叶在动物饲料的应用研究现状与发展策略 [J]. 蚕业科学, 2014, 40(6): 1114-1121.  
Huang J, Kuang Z S, Liu J P, *et al.* Current status and development strategy of using mulberry leaf as animal forage[J]. *Science of Sericulture*, 2014, 40(6): 1114-1121 (in Chinese).
- [ 17 ] Chang L M, Zhao T, Zhao C L, *et al.* Microbiomic and transcriptomic insight into the pathogenesis of meningitis-like disease in cultured *Pelophylax nigromaculatus*[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735736.
- [ 18 ] 钟为铭, 彭芳, 陈康勇, 等. 黑斑蛙蝌蚪出血病原菌的分离鉴定及药物敏感性 [J]. 水产学报, 2022, 46(1): 107-115.  
Zhong W M, Peng F, Chen K Y, *et al.* Isolation, identification and drug sensitivity of the pathogen causing hemorrhagic disease of *Rana nigromaculatus* tadpole[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2022, 46(1): 107-115 (in Chinese).
- [ 19 ] 周东来, 刘凡, 汪福保, 等. 桑叶提取物对鳊鱼生长性能、血清免疫指标、抗氧化能力及肝脏和肠道健康的影响 [J]. 动物营养学报, 2023, 35(2): 1147-1159.  
Zhou D L, Liu F, Wang F B, *et al.* Effects of mulberry leaf extract on growth performance, serum immune indices, antioxidant ability and liver and intestinal health of *Siniperca chuatsi*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(2): 1147-1159 (in Chinese).
- [ 20 ] 王梦华, 李国立, 黄文庆, 等. 饲料中添加复合植物提取物对大口黑鲈生长性能、血清生化指标和肝脏、肠道健康的影响

- 响[J]. 水产学报, 2022, 46(10): 1892-1901.
- Wang M H, Li G L, Huang W Q, *et al.* Effects of plant extract compound on growth performance, serum biochemical indices, liver and intestinal health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(10): 1892-1901 (in Chinese).
- [21] 卢桦, 李战福, 黄先智, 等. 桑叶提取物和 1-脱氧野尻霉素对大鲵生长性能、肝脏功能及免疫能力的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(1): 584-593.
- Lu H, Li Z F, Huang X Z, *et al.* Effects of mulberry leaf extract and 1-deoxynojirimycin on growth performance, liver function and immune ability of giant salamander (*Andrias davidianus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(1): 584-593 (in Chinese).
- [22] Li H T, Lu L, Wu M, *et al.* The effects of dietary extract of mulberry leaf on growth performance, hypoxia-reoxygenation stress and biochemical parameters in various organs of fish[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 18: 100494.
- [23] 宋敏, 王超普, 邓盾, 等. 桑叶提取物对断奶仔猪生长性能、养分表观消化率、抗氧化能力和免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2022, 34(6): 3537-3546.
- Song M, Wang C P, Deng D, *et al.* Effects of mulberry leaf extract on growth performance, nutrient apparent digestibility, antioxidant ability and immune function of weaned piglets[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(6): 3537-3546 (in Chinese).
- [24] 唐佳希, 喻国均, 崔清明, 等. 桑叶提取物对生长猪生长性能、养分表观消化率及血清生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2022, 34(5): 2862-2871.
- Tang J X, Yu G J, Cui Q M, *et al.* Effects of mulberry leaf extract on growth performance, nutrient apparent digestibility and serum biochemical indexes of growing pigs[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(5): 2862-2871 (in Chinese).
- [25] 刘纯铭, 张红, 陈玉连, 等. 饲料桑加工工艺、生物学活性及对动物生产应用的研究进展[J]. 饲料工业, 2023, 44(8): 30-34.
- Liu C M, Zhang H, Chen Y L, *et al.* Research progress on processing technology, biological activity and application to animal production of feed mulberry[J]. *Feed Industry*, 2023, 44(8): 30-34 (in Chinese).
- [26] 高倩茵. 桑叶水提物和醇提物对罗非鱼生长、抗氧化能力和免疫性能的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2019.
- Gao Q N. Effects of distilled water and ethanol extract of mulberry leaves on the growth performance, antioxidant and immunity of GIFT genetic improvement of farmed tilapia[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [27] 黄泰来, 金睿, 温建崇, 等. 桑叶提取物对爱拔益加肉鸡腹脂沉积及其相关脂质代谢指标的影响[J]. 动物营养学报, 2022, 34(11): 7072-7081.
- Huang T L, Jin R, Wen J C, *et al.* Effects of mulberry leaf extract on abdominal fat deposition and related lipid metabolism indexes in broilers[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(11): 7072-7081 (in Chinese).
- [28] 王玲, 曾艺涛, 丁晓雯, 等. DNJ 对正常小鼠脂代谢的影响及作用机理初探[J]. 现代食品科技, 2017, 33(4): 6-12.
- Wang L, Zeng Y T, Ding X W, *et al.* Effect of 1-deoxynojirimycin on lipid metabolism in normal mice and preliminary exploration of the underlying mechanism[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(4): 6-12 (in Chinese).
- [29] 王荣华, 孟丽峰, 魏俏红, 等. 蜜蜂脂肪体的形态和功能研究进展[J]. 昆虫学报, 2022, 65(10): 1374-1388.
- Wang R H, Meng L F, Wei Q H, *et al.* Research progress in the morphology and function of honeybee fat body[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2022, 65(10): 1374-1388 (in Chinese).
- [30] 李玉莹, 金莉莉, 王秋雨. 低温胁迫下北方林蛙冷冻保护剂系统研究进展[J]. 野生动物学报, 2021, 42(3): 903-908.
- Li Y Y, Jin L L, Wang Q Y. Research progress on cryoprotectant system of rana under low temperature stress[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(3): 903-908 (in Chinese).
- [31] 范宁. 东北林蛙越冬期生殖腺及生殖内分泌变化的相关研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2015.
- Fan N. A study on the changes of reproductive gland and reproductive endocrinology during the wintering period in *Rana dybowskii*[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015 (in Chinese).
- [32] 孟菲. 高原林蛙低温耐受能力的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2022.
- Meng F. A study on the cold tolerance in *Rana kukunoris*[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2022 (in Chinese).
- [33] 王祖文, 杨忠敏, 杨敏, 等. 桑叶生物碱对高脂饮食诱导小鼠肝损伤的改善作用及机理[J]. 食品科学, 2019, 40(19): 210-216.
- Wang Z W, Yang Z M, Yang M, *et al.* Effect and mechanism of mulberry leaf alkaloids on the improvement of high-fat diet induced liver injury in mice[J]. *Food Science*, 2019, 40(19): 210-216 (in Chinese).
- [34] 张慧, 宋明明, 张雯翔, 等. 限时进食与代谢综合征的研究进展[J]. 生命科学, 2022, 34(4): 376-384.
- Zhang H, Song M M, Zhang W X, *et al.* Research progress on time-restricted feeding and metabolic syndrome[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2022, 34(4): 376-384 (in Chinese).
- [35] 王明珠, 丰源, 李涛, 等. 桑叶多糖的提取纯化及在动物养殖生产中的应用研究进展[J]. 饲料研究, 2022, 45(17): 134-137.
- Wang M Z, Feng Y, Li T, *et al.* Research progress on extraction and purification of mulberry leaf polysaccharide and its application in animals breeding and production[J]. *Feed Research*, 2022, 45(17): 134-137 (in Chinese).

- [36] 裴河欢, 张美凤, 覃洋琛, 等. 多酚类化合物药理作用研究进展 [J]. 中国药业, 2022, 31(23): 124-127.  
Pei H H, Zhang M F, Qin Y C, *et al.* Research progress on pharmacological effects of polyphenolic compounds[J]. China Pharmaceuticals, 2022, 31(23): 124-127 (in Chinese).
- [37] 陈淑莹, 侯小涛, 黄显婷, 等. 桑叶化学成分、药理作用及应用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(4): 207-220.  
Chen S Y, Hou X T, Huang X T, *et al.* Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and applications of Sangye (Mori foliifm)[J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2023, 25(4): 207-220 (in Chinese).
- [38] Noh D J, Yoon G A. Mulberry (*Morus alba* L.) ethanol extract attenuates lipid metabolic disturbance and adipokine imbalance in high-fat fed rats[J]. *Nutrition Research and Practice*, 2022, 16(6): 716-728.
- [39] Zhang B, Wang Z B, Huang C X, *et al.* Positive effects of Mulberry leaf extract on egg quality, lipid metabolism, serum biochemistry, and antioxidant indices of laying hens[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2022, 9: 1005643.
- [40] 张大平, 段晓冉, 薄亚聪, 等. 铁代谢标志物与血脂水平的关系: 基于中国健康与营养调查的横断面研究 [J]. 郑州大学学报 (医学版), 2023, 58(02): 158-162.  
Zhang D P, Duan X R, Bo Y C, *et al.* Relationship between iron metabolism markers and blood lipid levels: a cross-sectional study based on China health and nutrition survey[J]. Journal of Zhengzhou university (Medical science), 2023, 58(02): 158-162 (in Chinese).
- [41] 杨晋勃, 蒙温露儿, 胡丹丹, 等. 天然产物通过调节自噬功能改善动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(11): 1991-2002.  
Yang J B, Meng W L E, Hu D D, *et al.* Research progress of natural products improving atherosclerosis by regulating autophagy[J]. Natural Product Research and Development, 2023, 35(11): 1991-2002 (in Chinese).
- [42] 姚轶俊, 鞠兴荣, 王立峰. 荞麦多酚干预对高脂膳食诱导小鼠的降脂作用及其调控机制 [J]. 中国农业科学, 2023, 56(5): 981-994.  
Yao Y J, Ju X R, Wang L F. Lipid-lowering effects and its regulation mechanism of buckwheat polyphenols in high-fat diet-induced obese mice[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2023, 56(5): 981-994 (in Chinese).
- [43] 郑华, 姜思捷, 林立龙. 家族性高胆固醇血症的诊断及治疗研究进展 [J]. 南方医科大学学报, 2023, 43(1): 153-156.  
Zheng H, Jiang S J, Lin L L. Advances in diagnosis and treatment of familial hypercholesterolemia[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2023, 43(1): 153-156 (in Chinese).
- [44] 曹宁, 李乐慧, 张楠, 等. 内蒙古儿童青少年高三酰甘油腰围表型与高尿酸血症的关系 [J]. 中国学校卫生, 2022, 43(7): 1075-1078.  
Cao N, Li L H, Zhang N, *et al.* Association between hyperuricemia and hypertriglyceridemic-waist phenotype in children and adolescents in Inner Mongolia[J]. Chinese Journal of School Health, 2022, 43(7): 1075-1078 (in Chinese).
- [45] 梁璐, 黄慧学, 陈路, 等. 桑叶降血脂作用的研究进展 [J]. 广西中医药, 2021, 44(2): 74-76.  
Liang L, Huang H X, Chen L, *et al.* Research progress on the effect of mulberry leaf in lowering blood lipid[J]. *Guangxi Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 44(2): 74-76 (in Chinese).
- [46] 贺燕, 邹莉芳, 黄先智, 等. 桑叶水提取物对高脂饮食小鼠粪便中胆固醇代谢产物的影响 [J]. 现代食品科技, 2019, 35(5): 37-45,295.  
He Y, Zou L F, Huang X Z, *et al.* Effects of mulberry leaves water extract on cholesterol metabolites in feces of high-fat diet fed mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(5): 37-45,295 (in Chinese).
- [47] 文晋, 邹莉芳, 王玲, 等. 桑叶生物碱粗提液对高脂饮食小鼠胆固醇合成代谢的影响 [J]. 蚕业科学, 2019, 45(3): 377-385.  
Wen J, Zou L F, Wang L, *et al.* Effect of crude alkaloids extract from mulberry leaf on cholesterol anabolism in mice fed with high-fat diet[J]. *Acta Sericologica Sinica*, 2019, 45(3): 377-385 (in Chinese).

## Effects of mulberry leaf extract on growth performance, carcass composition and serum biochemical indices of *Pelophylax nigromaculatus*

CHEN Xiang<sup>1</sup>, LIU Donghua<sup>1</sup>, GENG Linye<sup>2</sup>, SHEN Shijie<sup>2</sup>, WANG Qianru<sup>2</sup>,  
SHEN Yihong<sup>2</sup>, HUANG Xianzhi<sup>2</sup>, DUAN Biao<sup>1\*</sup>

1. College of Fisheries, Southwest University, Chongqing 400716, China;

2. National Key Laboratory for Efficient Breeding and Utilization of Resource Insects,  
Southwest University, Chongqing 400716, China

**Abstract:** This study designed gradient concentration of 0 (control), 3, 6, and 9 g/kg mulberry leaf extract (MLE) added to the essential diet and the initial weight of  $(2.7 \pm 0.2)$  g healthy *Pelophylax nigromaculatus* was fed for 56 days to investigate the effects of MLE at different levels on growth performance, carcass composition, and serum biochemical indices. The gradient concentration experiment were labelled as C control group, M03 group, M06 group and M09 group, respectively. Survival rate, final body weight (FBW), weight gain rate (WGR), and specific growth rate (SGR) initially increased and then decreased with rising MLE levels. The M03 group showed significantly higher FBW, WGR, and SGR by 4.18%, 6.98%, and 2.86%, respectively, compared to the control group ( $P < 0.05$ ). Feed intake rate (FR) and feed conversion ratio (FCR) initially decreased and then increased, with the M03 group exhibiting a significant reduction of 7.73% and 12.32% in FR and FCR ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, the M09 group showed no significant difference from the control group ( $P > 0.05$ ). Compared to the control, carcass crude protein and crude lipid in the M03 and M06 groups remained unchanged ( $P > 0.05$ ). The hepatic lipid content significantly decreased by 10.17% and 10.60% ( $P < 0.05$ ). However, carcass protein in the M09 group declined significantly by 4.11% ( $P < 0.05$ ). Serum total cholesterol (TC) and low-density lipoprotein (LDL) in the M03 group decreased significantly by 35.23% and 53.12% ( $P < 0.05$ ). Hepatic superoxide dismutase (SOD) activity in the M03 and M06 groups increased significantly by 18.59% and 9.67% ( $P < 0.05$ ), whereas no significant difference was observed in the M09 group ( $P > 0.05$ ). Hepatic total antioxidant capacity (T-AOC) and malondialdehyde (MDA) levels were higher than the control group but not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Dietary MLE supplementation improves feed utilization efficiency, antioxidant capacity and growth performance in *P. nigromaculatus*. Based on a comprehensive evaluation, the optimal MLE inclusion level in the basal diet was recommended to be 0.34%-0.42%. This study provides a theoretical foundation for the green and healthy aquaculture of *P. nigromaculatus*.

**Key words:** *Pelophylax nigromaculatus*; mulberry leaf extract; growth performance; carcass composition; serum biochemical indices

**Corresponding author:** DUAN Biao. E-mail: 635335983@qq.com

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-18)