



蚕豆水提取物及维生素 C 和 E 对草鱼肌肉质构、营养成分以及氧化应激的影响

郑鑫禹^{1,2}, 张峻铭^{1,2}, 谢骏², 王广军²,
田晶晶², 刘利平¹, 罗敏意³, 郁二蒙^{2*}

(1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 农业农村部亚热带热带水产资源利用与
养殖重点实验室, 广东 广州 510380;

3. 中山市小榄镇农业服务中心, 广东 中山 528415)

摘要: 为探究高浓度蚕豆水提取物、维生素 C 和 E (V_C/V_E) 提升草鱼肌肉品质 (质构特性等) 的效果, 实验以普通配合饲料为对照, 30% 蚕豆水提取物、30% 蚕豆水提取物+ V_C/V_E (400 mg/kg V_C + 200 mg/kg V_E)、蚕豆配合饲料为处理组, 分别饲喂 (250±20) g 草鱼 120 d。在 40、80 和 120 d 3 个时间点测定草鱼的肌肉和肠道中活性氧 (ROS) 含量及 ROS 消除和生成相关酶活性、肌肉细胞中线粒体膜通透性转换孔和线粒体膜电位水平的变化。在 120 d 时分析草鱼的生长特性和肌肉及肠道的显微结构。结果显示, 与蚕豆组相比, 30% 蚕豆水提取物和 30% 蚕豆水提取物+ V_C/V_E 两组草鱼的生长增加、饲料系数和腹腔脂肪水平显著下降, 但蚕豆水提取物+ V_C/V_E 组草鱼肌肉质构特性高于 30% 蚕豆水提取物组。30% 蚕豆水提取物和 30% 蚕豆水提取物+ V_C/V_E 两组草鱼肌肉和肠道的活性氧含量较蚕豆组显著下降、活性氧生成相关酶活性下降、消除相关酶活性上升。显微结构观察显示, 30% 蚕豆水提取物组和蚕豆水提取物+ V_C/V_E 组的草鱼肌纤维密度增高、直径降低, 肠道损伤程度较蚕豆组明显下降。研究表明, 在饲料中同时添加一定量的蚕豆水提取物和 V_C/V_E 可有效提升草鱼肌肉质构, 在淡水鱼品质改良方面具有较大应用前景。

关键词: 草鱼; 蚕豆水提取物; 肉质; 维生素 C/E; 活性氧

中图分类号: S 963.31

文献标志码: A

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 是我国重要的淡水养殖品种, 2021 年草鱼产量达 575.5 万 t^[1], 但集约化养殖的草鱼存在肉质松软、口感欠佳等问题, 品质提升一直是草鱼养殖产业难题。脆肉鲩是近年来草鱼品质提升的典型产品, 普通草鱼摄食天然植物蚕豆 (*Vicia faba*) 90~120 d 后肉质紧实、口感爽脆、质构特性 (硬度、弹性等) 增加,

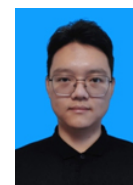
品质显著提升^[2], 被选为“中国地理标志产品”, 并远销海外^[3]。然而长时间摄食蚕豆会导致脆肉鲩生长速率下降、肠道炎症等问题的产生^[4-5], 严重制约了脆肉鲩产业发展。为了解决上述问题, 本团队前期从蚕豆中分离出蚕豆水提取物, 发现蚕豆水提取物不仅可提升草鱼肌肉质构特性, 而且还可缓解脆肉鲩生长受限和肠炎发生^[6-7]。但与单

收稿日期: 2022-07-12 修回日期: 2022-11-15

资助项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2021XT03); 中山市社会公益与基础研究项目 (2021B2013)

第一作者: 郑鑫禹 (照片), 从事淡水鱼品质提升研究, E-mail: xinyu_zheng@foxmail.com

通信作者: 郁二蒙, 从事淡水鱼品质提升研究, E-mail: yem@prfi.ac.cn



纯摄食蚕豆的脆肉鲩肌肉质构特性相比, 蚕豆水提取物提升草鱼肌肉质构特性的效果仍有一定差距, 可能是由于前期研究中蚕豆水提取物添加量不足导致。

维生素 C 和 E (V_C/V_E) 作为饲料添加剂添加到动物饲料中能够改善肌肉品质。饲料中添加 V_E 不仅能够改善大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 的生长性能、饲料利用率, 而且可显著增加肌纤维密度、降低肌纤维直径, 促进肌纤维的增殖和分化^[8]。在卵形鲳鲹 (*Trachinotus ovatus*) 幼鱼的饲料中添加不同水平的 V_C , 能够不同程度地改善其肌肉的蒸煮损失和滴水损失, 提升肉质品质和生长性能^[9]。在草鱼饲料中添加 V_C/V_E 能够提高草鱼肌肉的蛋白和脂肪含量, 提升肌肉剪切力以及羟脯氨酸含量, 有效改善草鱼肌肉品质^[10-11]。由此可见, V_C/V_E 作为饲料添加剂加入水产动物饲料中能够起到改善肌肉品质的作用, 在蚕豆水提取物中添加 V_C/V_E 可促进草鱼肌肉质构特性进一步提升, 但相关研究尚未见报道。

为进一步探讨高浓度蚕豆水提取物, 以及 V_C/V_E 添加剂对提升草鱼肌肉质构特性的效果, 实验设置了 30% 蚕豆水提取物配合饲料 (FBW)、30% 蚕豆水提取物+维生素 C/E 配合饲料 (FBW+ V_C/V_E)、蚕豆组 (FB) 及普通配合饲料组, 测定草鱼肌肉质构水平以及胶原蛋白含量、生长指标、营养成分, 检测草鱼肌肉和肠道的活性氧 (ROS) 含量及 ROS 的消除和生成相关酶活性, 并观察肌肉和肠道的显微结构, 以期对草鱼品质提升及淡水鱼品质改良提供参考。

1 材料与方法

1.1 草鱼养殖

实验选择体格健壮, 无伤、无畸形、无疾病的草鱼 120 尾, 平均体重为 (250±25) g。养殖实验于珠江水产研究所的精准养殖基地进行, 养殖鱼池为 2.0 m×2.0 m×1.5 m 的水泥池。实验期间水温为 25~30 °C, pH 为 7.5~8.0, 溶解氧含量大于 5.0 mg/L。实验用鱼在池塘中驯化 2 周后正式开始实验。将实验鱼分为对照组、蚕豆组、30% 蚕豆水提取物组和 30% 蚕豆水提取物+ V_C/V_E 组共 4 组, 每组设置 3 个重复, 每个重复 10 尾。实验周期为 120 d。采用定时定量定点投喂的方法, 每日分别于 8:30 和 16:30 投喂, 日投饵量按照草鱼体重

的 3% 计算, 并根据每次采样的体重变化进行更改。实验过程中操作人员严格遵守实验动物相关伦理规范。

1.2 蚕豆水提取物及饲料的制备

蚕豆水提取物的提取过程参考 Ma 等^[7], 将蚕豆脱壳后进行粉碎, 过 60 目筛网, 得到蚕豆粉。按照蚕豆粉: 蒸馏水重量比为 1:12 的比例配置溶液, 并使用饱和氢氧化钙调 pH 至 9.0, 45 °C 超声波处理 1 h 后过滤, 滤液用 4 mol/L 盐酸调 pH 至 4.8, 4 °C 沉淀 12 h 后过滤, 滤渣加入 6 倍重量的蒸馏水继续 45 °C 超声波处理 1 h, 再在 4 °C 沉淀 12 h, 将 2 次处理的上清液置于旋转蒸发器中, 55 °C 浓缩至干, 所得干物质为蚕豆水提取物。

饲料配方如表 1 所示。使用粉碎机 (温岭创立药材器械) 粉碎蚕豆水提取物并过 60 目筛网, 各饲料原料混合均匀后, 以 2:1 的比例 (质量比) 与水搅拌均匀。使用电动饴烙机 (永康泰宝电器五金厂) 挤压成直径约 3 mm 的细条并晾干, 切成长 3 mm 的颗粒饲料。制作过程中避免高温, 避免影响提取物的生物活性。

1.3 样品采集

分别在 40、80 和 120 d 采样, 每个时间点在各实验组中随机采集 3 尾草鱼 ($n=3$), 经过 250 mg/L 三卡因麻醉后处死, 测量体重、体长、肝脏重量以及肠系膜脂肪含量, 采集样品遵循实验室相关动物使用和伦理规范。计算增重率、肥满度、内脏团指数、肝胰脏指数、腹腔脂肪指数、饲料系数和成活率。

增重率 (WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100%

肥满度 (CF, g/cm³)=体重/体长³×100

肝胰脏指数 (HSI, %)=肝胰脏重量/体重×100%

内脏团指数 (VSI, %)=内脏体重量/体重×100%

腹部脂肪指数 (AFI, %)=腹部脂肪重量/体重×100%

饲料系数 (FCR)=摄食饲料重量/(末期鱼体重-初始鱼体重)×100

成活率 (SR, %)=末期存活尾数/初始尾数×100%

1.4 肌肉质构特性及胶原蛋白含量检测

使用 Universal TA 质构仪 (上海腾拔仪器科技

表 1 实验饲料组成及成分

Tab. 1 Formulation and chemical composition of the experimental diets

原料 ingredients	对照组 control	30% 蚕豆水提取物组 FBW	30%蚕豆水提取物+ 维生素C和E组 FBW+V _C /V _E	蚕豆组(FB) faba bean
蚕豆水提取物/%(FBW) faba bean water extract	0	300	300	0
鱼粉/% fish meal	30	30	30	3
鸡肉粉/% chicken meal	30	30	30	3
豆粕粉/% soybean meal	250.0	37.5	37.5	25.0
菜粕粉/% rapeseed meal	220	220	220	22
细米糠粉/% rice bran	30	30	30	3
小麦粉/% wheat flour	360.0	272.5	271.9	36.0
豆油/% soybean oil	30	30	30	3
磷酸二氢钙/% Ca(H ₂ PO ₄) ₂	20	20	20	2
膨润土/% bentonite	20	20	20	2
混合维生素无机物/% ¹⁾ mixed vitamin inorganic	10	10	10	1
维生素C/% vitamin C	0	0	0.4	0
维生素E/% vitamin E	0	0	0.2	0
蚕豆/% faba bean	0	0	0	900
总计 total	1 000	1 000	1 000	1 000
粗蛋白/% crude protein	29.31	30.07	30.60	30.47
粗脂肪/% crude lipid	4.92	4.94	4.96	4.77
钙/% calcium	0.67	0.69	0.72	0.76
水分/% moisture	10.90	10.30	11.20	11.50
粗纤维/(g/kg) crude fiber	28	31	32	30

注: 1) 每kg混合维生素无机物含铁 5 g、铜100 mg、锌1.5 g、锰0.5 g、镁 20 g、碘 15 mg、钴 5 mg、硒 5 mg、维生素A 18 万国际单位, 维生素D₃ 4 万国际单位、维生素E 1.6 g、维生素K₃ 0.05 g、维生素B₁ 0.2 g、维生素B₂ 0.25 g、维生素B₆ 0.2 g、维生素B₁₂ 0.65 mg、维生素C 2.5 g、烟酸 0.65 g、泛酸钙 0.65 g、叶酸 0.03 g、肌醇 1 g、生物素 H 8.3 mg。

Notes: 1) each kg of mixture contains, 5 g of iron, 100 mg of copper, 1.5 g of zinc, 0.5 g of manganese, 20 g of magnesium, 15 mg of iodine, 5 mg of cobalt, 5 mg of selenium, and 180 000 IU of V_A, V_{D3} 40 000 IU, V_E 1.6 g, V_{K3} 0.05 g, V_{B1} 0.2 g, V_{B2} 0.25 g, V_{B6} 0.2 g, V_{B12} 0.65 mg, V_C 2.5 g, niacin 0.65 g, calcium pantothenate 0.65 g, folic acid 0.03 g, inositol 1 g, biotin H 8.3 mg.

有限公司)对草鱼背部肌肉进行全质构分析(TPA), 主要包括硬度、弹性、咀嚼性、黏性、黏聚性、回复性等。取 2.0 cm×2.0 cm×1.0 cm 的草鱼背部肌肉, 采用型号为 P35 的圆柱形探头进行检测, 测试前速度为 2 mm/s, 测试后速度为 5 mm/s, 测试速度为 1 mm/s, 2 次压缩间隔为 2 s, 压缩比为 25%。测试时每尾鱼取 6 个样品, 每个样品测 1 次。质构特性指标(硬度、弹性、咀嚼性、黏性、黏聚性、回复性)的数值由质构仪说明书中描述的软件读取和计算。胶原蛋白含量使用鱼胶原蛋白(Col) ELISA 试剂盒(YX-E21992F, 上海优选生物科技有限公司)进行检测。

1.5 草鱼肌肉和肠道显微切片

根据以往的研究^[12], 取不同实验组草鱼背鳍第五鳍条对应的侧线处白肌肌肉, 使用生理盐水

冲洗, 去掉鱼鳞, 样品厚度控制在约 3 mm, 先后进行固定、脱水、透蜡、包埋、切片和染色, 制成切片样品。使用 DP2-BSW.2.2 (Build 6212) 测量并统计不同区域内的肌纤维数量和面积, 根据 $S=\pi r^2$ (S 为肌纤维横切面面积, r 为肌纤维横切面半径) 计算肌纤维直径, 并计算出肌纤维密度。每个样品统计 300 条纤维。

使用与肌肉切片相同的方法对中肠组织进行苏木精-伊红(H.E)染色切片, 观察肠道的杯状细胞(GC)、固有层(LP)、嗜酸性粒细胞(EG)和黏膜褶皱(MF)。

1.6 饲料与肌肉营养成分检测

参照 GB 5009.5—2016 (凯氏定氮法)、GB 5009.6—2016 (索氏抽提法)、GB 5009.3—2016 (直接干燥法)、GB 5009.4—2016 (灰分测定法)、

GB 5009.92—2016 (电感耦合等离子体质谱法) 对草鱼肌肉的蛋白质、脂肪、水分、灰分和钙含量进行检测。参照 GB 6432—2018 (凯氏定氮法)、GB 6433—2006 (索氏抽提法)、GB 6436—2018 (高锰酸钾法)、GB 6435—2014 (直接干燥法)、GB 6434—2006 (过滤法) 分别对底料的粗蛋白、粗脂肪、钙离子、水分和粗纤维含量进行检测。

1.7 草鱼肌肉中 ROS

将草鱼肌肉样品加入适量生理盐水后采用自动样品研磨仪充分匀浆, 1 000×g 离心 20 min, 取上清液, 采用上海优选生物科技有限公司的双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试剂盒分别检测总 ROS (T-ROS)、过氧化氢 (H₂O₂)、超氧阴离子 (O₂⁻)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH)、过氧化氢酶 (CAT)、羟基自由基 (-OH)、氧自由基 (OFR)、细胞色素 C (Cyt-C)、线粒体呼吸链复合物 I (COX I)、线粒体呼吸链复合物 III (COX III)、线粒体呼吸链复合物 IV (COX IV)、还原型辅酶 II (NADPH)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G6PD)、线粒体膜通透性转换孔 (MPTP) 的含量。

1.8 线粒体膜电位 (ΔΨ) 检测

分别在脆化实验的 40、80 和 120 d 取新鲜肌肉样品, 使用组织线粒体分离试剂盒 (C3606, 碧云天生物技术公司) 从肌肉中分离线粒体。之后使用 JC-1 线粒体膜电位测定试剂盒 (C2003S, 碧云天生物技术公司) 进行膜电位的测定。

1.9 数据分析

数据采用平均值±标准差 (mean±SD) 表示,

使用 SPSS 22 软件对统计结果进行双因素方差分析, 对不同水平的质构和 ROS 数据进行主体间效应检验分析。 $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 投喂不同饲料对草鱼生长指标的影响

当养殖实验进行到 120 d 时, 对照组的 WGR 显著高于其他 3 组 ($P<0.05$), FB 组的 WGR 最低, 显著低于 FBW、FBW+V_C/V_E 组 ($P<0.05$)。4 个组的 CF 在 120 d 时没有显著差异。对照组的 VSI 显著高于其他 3 组 ($P<0.05$), FB 组 VSI 次之 (表 2)。FB 组的 HSI 在 120 d 时显著高于其他 3 组 ($P<0.05$)。FB 组 AFI 表现出较高水平, 显著高于其他 3 组 ($P<0.05$)。FB 组的 FCR 表现最差, 显著高于其他 3 组 ($P<0.05$)。

2.2 投喂不同饲料对草鱼营养成分的影响

对照组、FBW、FBW+V_C/V_E 组和 FB 组的粗蛋白质含量、粗脂肪含量、水分、灰分含量以及钙离子含量没有显著差异 ($P>0.05$)。3 个实验组的胶原蛋白含量均显著高于对照组 ($P<0.05$), 同时, FBW 组和 FB 组的胶原蛋白含量显著高于 FBW+V_C/V_E 组 ($P<0.05$) (表 3)。

2.3 肌肉相关指标分析

不同阶段肌肉质构特性分析 通过对养殖 40、80 和 120 d 的草鱼肌肉质构指标进行双因素方差分析, 发现不同的时间节点和实验组对草鱼背部肌肉的硬度、弹性、咀嚼性、黏聚性具有协同作用 ($P<0.05$), 并且除 40 d 外, 80 和 120 d

表 2 120 d 时投喂不同饲料对草鱼生长指标的影响

Tab. 2 Effects of feeding different feeds on growth index of *C. idella* at 120 d

项目 items	对照组 control	30%蚕豆水提取物组 FBW	30%蚕豆水提取物+维生素C和E组 FBW+V _C /V _E	蚕豆组(FB) faba bean
终末体重/g terminal body weight	641.50±45.00 ^a	535.60±7.50 ^b	537.03±9.87 ^b	462.27±16.41 ^c
增重率/% WGR	156.60 ± 18.20 ^a	114.24 ± 3.00 ^b	114.81 ± 3.95 ^b	84.90 ± 6.56 ^c
饱满度/(g/cm ³) CF	1.80 ± 0.29 ^a	2.04 ± 0.18 ^a	1.84 ± 0.16 ^a	2.17 ± 0.18 ^a
内脏团指数/% VSI	15.31 ± 0.49 ^a	11.62 ± 0.71 ^c	8.47 ± 0.41 ^d	12.89 ± 0.94 ^b
肝胰脏指数/% HSI	1.74 ± 0.01 ^b	1.87 ± 0.01 ^b	1.85 ± 0.06 ^b	2.67 ± 0.25 ^a
腹腔脂肪指数/% AFI	3.79 ± 0.84 ^b	3.97 ± 0.05 ^b	3.09 ± 0.29 ^b	5.04 ± 0.02 ^a
饲料系数 FCR	2.57 ± 0.17 ^c	3.50 ± 0.05 ^b	3.48 ± 0.06 ^b	4.73 ± 0.23 ^a
成活率/% SR	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

注: 同行数据上标不同字母表示组间存在显著差异 ($P<0.05$), 下同。

Notes: Values in each row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$), the same below.

表 3 120 d 时投喂不同饲料对草鱼营养成分的影响

Tab. 3 Effects of feeding different feeds on the nutritional components of *C. idella* at 120 d

项目 items	对照组 control	30%蚕豆水提取物组 FBW	30%蚕豆水提取物+维生素C和E组 FBW+VC/VE	蚕豆组(FB) faba beam
粗蛋白/% crude protein	19.80±0.20 ^a	19.47±0.38 ^a	19.77±0.55 ^a	19.90±0.86 ^a
粗脂肪/% crude lipid	2.70±0.17 ^a	2.83±0.21 ^a	2.53±0.06 ^a	2.63±0.31 ^a
水分/% moisture	76.73±0.45 ^a	76.73±0.75 ^a	76.87±1.09 ^a	76.67±0.91 ^a
灰分/% ash	1.10 ^a	1.10 ^a	1.17±0.05 ^a	1.13±0.05 ^a
钙/(mg/kg) calcium	405.67±49.17 ^a	397.33±86.93 ^a	459.33±49.33 ^a	406.33±30.86 ^a
胶原蛋白/(μg/g) collagen	8 812.44±54.83 ^c	10 619.14±249.83 ^a	9 518.37±191.44 ^b	10 762.72±93.45 ^a

时 FBW、FBW+V_C/V_E 和 FB 组均显著高于对照组 ($P<0.05$)。在 80 和 120 d 时, FBW+V_C/V_E 和 FB 组的硬度、弹性、咀嚼性、黏聚性之间没有显著差异 ($P>0.05$), FBW+V_C/V_E 和 FB 组的硬度和

咀嚼性在 120 d 时均显著高于 FBW ($P<0.05$)。不同时间节点和实验组对草鱼背部肌肉的弹性没有协同作用 ($P>0.05$), 且 80 和 120 d 时 FBW、FBW+V_C/V_E 和 FB 组均显著高于对照组 ($P<0.05$) (图 1)。

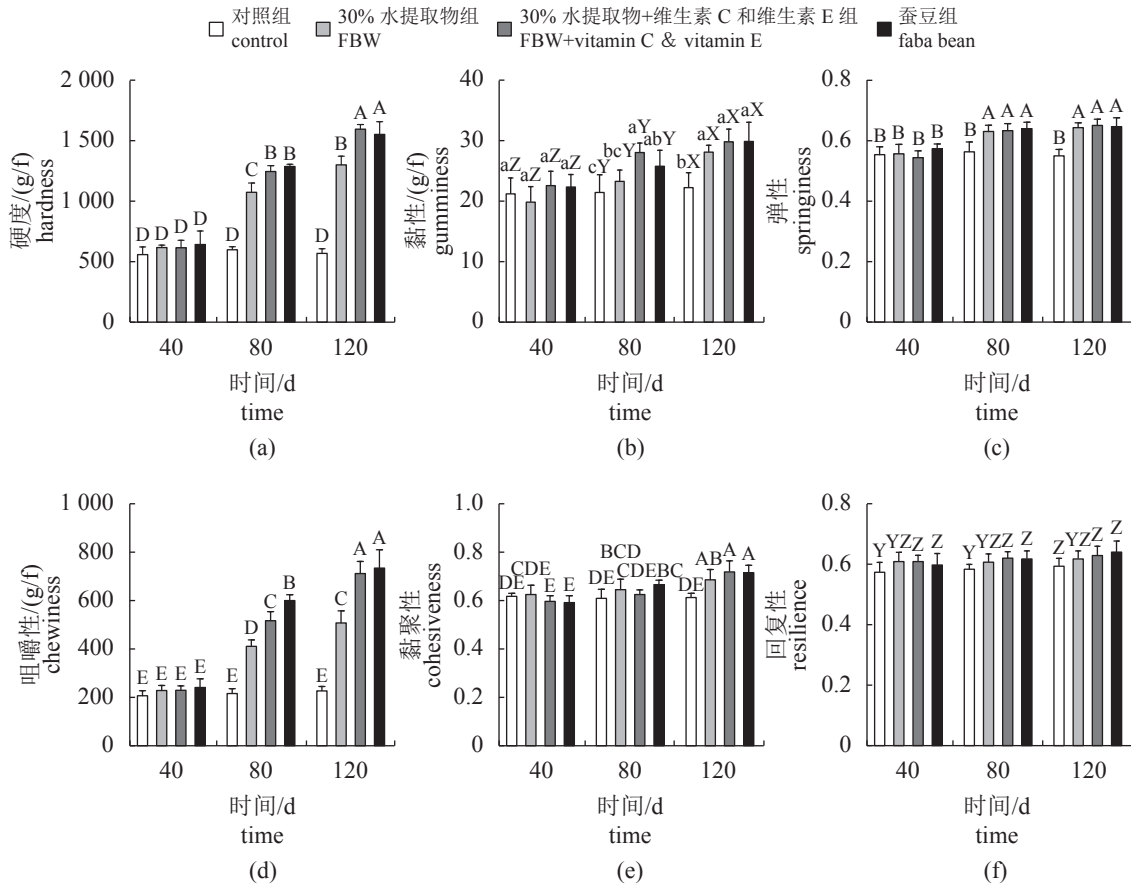


图 1 40、80 和 120 d 草鱼肌肉质地双因素方差分析

不同小写字母表示不同实验组数据间有显著的统计学差异 ($P<0.05$); 不同正序大写字母 (A, B) 表示不同实验组和不同时间节点有协同作用, 代表各组之间存在显著的统计学差异 ($P<0.05$); 不同倒序大写字母 (Z, Y) 表示不同时间节点的实验结果存在显著的统计学差异 ($P<0.05$), 下同。

Fig. 1 Two-factor analysis of variance on muscle texture of *C. idella* at 40, 80 and 120 d

Different lowercase letters indicate that there is a significant statistical difference between the data of different experimental groups ($P<0.05$); different positive sequence capital letters (A, B) indicate that different experimental groups and different time nodes have synergistic effects, representing there are significant statistical differences between groups ($P<0.05$); different reverse capital letters (Z, Y) indicate significant statistical differences in experimental results at different time points ($P<0.05$), the same below.

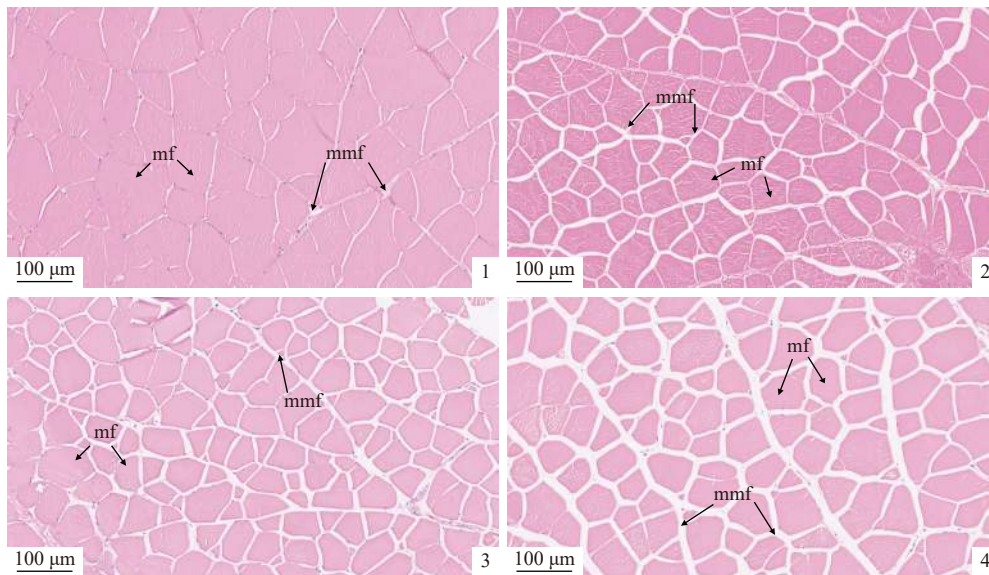
不同处理组草鱼肌肉显微结构的比较 对照组草鱼肌肉的肌纤维密度为 (113.6±3.62) 根/mm², FBW 组为 (197.2±5.70) 根/mm², FBW+V_C/V_E 组为 (249.3±14.11) 根/mm²; FB 组为 (241.1±12.85) 根/mm² (图版 I, 表 4)。3 个实验组的肌纤维密度均显著高于对照组 ($P<0.05$)。同时, FBW+V_C/V_E 和 FB 组的肌肉纤维密度没有显著差异 ($P>0.05$), 但均显著高于 FBW 组 ($P<0.05$) (图版 I)。

肌肉中 ROS 含量变化 对 40、80 和 120 d 不同处理组草鱼肌肉中 ROS 含量进行双因素方差分析, 发现不同时间节点和不同实验组对草鱼背部肌肉的 H₂O₂、O₂⁻、·OH、OFR 和 T-ROS 具有协同作用 ($P<0.05$), 并且除 40 d 外, 在 80 和 120 d 时 FBW、FBW+V_C/V_E 和 FB 组均显著高于对照组 ($P<0.05$)。120 d 时, FBW+V_C/V_E 的 O₂⁻、OFR 和 T-ROS 显著高于 FBW 组 ($P<0.05$), 并且 FBW+V_C/V_E 的 OFR 和 T-ROS 水平与 FB 组并无显著差异 ($P>0.05$) (图 2)。

肌肉中 ROS 相关酶含量变化 对 40、80

和 120 d 时不同处理组草鱼肌肉中的 ROS 生成和消除相关酶活性进行双因素方差分析, 发现不同时间节点和不同实验组对草鱼背部肌肉的 SOD、COX I、COX III、COX IV、G6PD、NADPH、GSH 和 CAT 生成和消除相关酶具有协同作用 ($P<0.05$)。120 d 时, FBW、FBW+V_C/V_E 和 FB 组草鱼肌肉的 SOD、G6PD、NADPH、GSH 和 CAT 水平均显著低于对照组 ($P<0.05$), 而 COX I、COX III 和 COX IV 的含量显著高于对照组 ($P<0.05$)。120 d 时, FBW+V_C/V_E 的 SOD、COX I 和 COX IV 的含量显著高于 FBW 组 ($P<0.05$), 其余指标 2 组没有显著差异 ($P>0.05$)。FBW+V_C/V_E 的 COX I、COX III、COX IV 含量与 FB 组无显著差异 ($P>0.05$) (图 3)。

肌肉中线粒体凋亡因子水平的变化 对 40、80 和 120 d 时不同处理组的草鱼肌肉中凋亡因子水平进行双因素方差分析, 发现不同时间节点和不同实验组对草鱼背部肌肉的 MPTP 开放程度、Cyto-C 含量和线粒体膜电位水平具有协同作用 ($P<0.05$)。在 80 和 120 d, FBW、FBW+V_C/V_E



图版 I 120 d 时草鱼肌肉组织显微结构

1. 对照组, 2. 30% 蚕豆水提取物组, 3. 30% 蚕豆水提取物+V_C/V_E 组, 4. 蚕豆组; mf. 肌纤维, mmf. 肌纤维间质。

Plate I Microstructure of *C. idella* muscle tissue at 120 d

1. control, 2. FBW, 3. FBW+V_C/V_E, 4. FB; mf. muscle fiber, mmf. matrix between muscle fibers.

表 4 120 d 时投喂不同饲料草鱼背部肌肉纤维的直径和密度

Tab. 4 Diameter and density of back muscle fibers of *C. idella* fed with different feeds for 120 days

项目 items	对照组 control	30%蚕豆水提取物组 FBW	30%蚕豆水提取物+维生素C和E组 FBW+VC/VE	蚕豆组(FB) faba bean
直径/μm diameter	109.30±1.10 ^c	85.90±1.80 ^b	75.60±4.30 ^a	78.10±4.00 ^a
密度/(根/mm ²) density	113.60±3.62 ^c	197.20±5.70 ^b	249.30±14.11 ^a	241.10±12.85 ^a

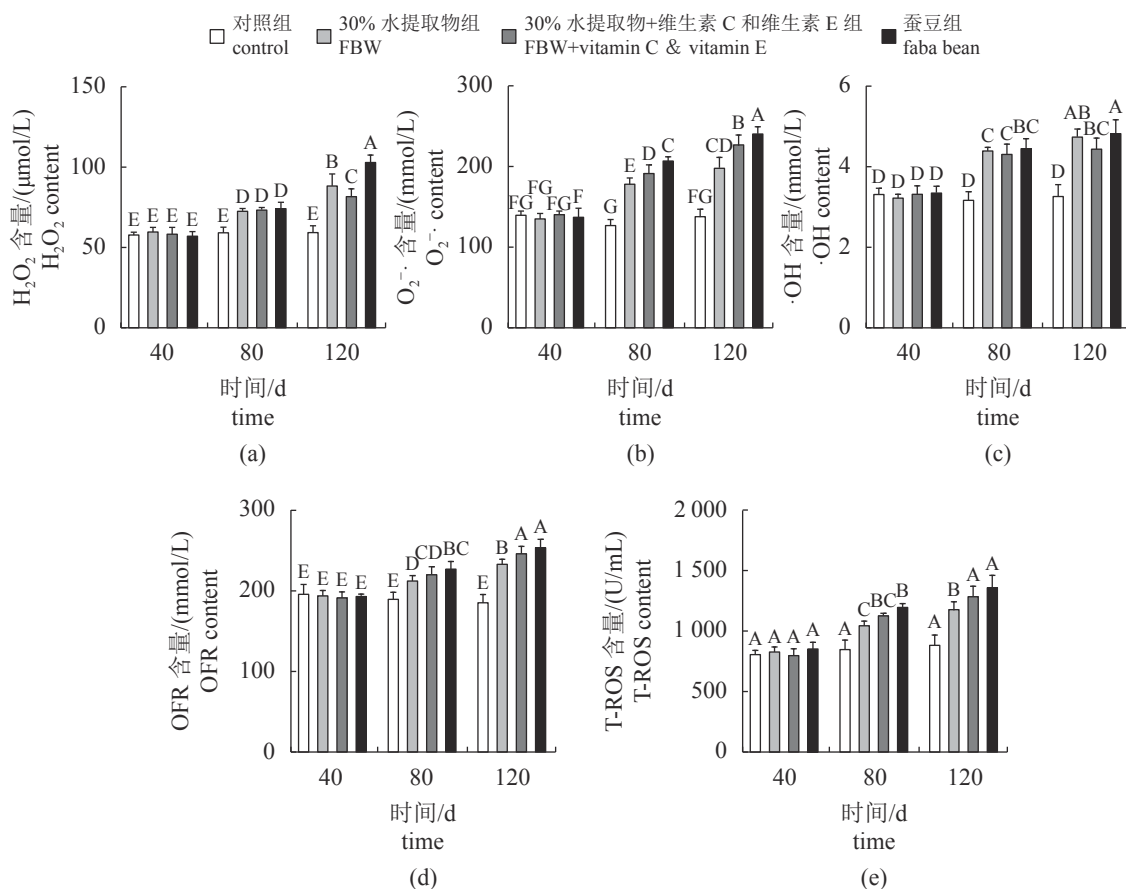


图 2 40、80 和 120 d 时不同处理组草鱼肌肉中 ROS 含量变化

Fig. 2 Changes in ROS content in *C. idella* muscle at 40, 80 and 120 d in different treatment groups

和 FB 组草鱼背部肌肉的 MPTP 开放程度、Cyto-C 含量显著高于对照组，线粒体膜电位水平显著低于对照组 ($P < 0.05$)。120 d 时，FBW、FBW+V_C/V_E 和 FB 组草鱼背部肌肉的 MPTP 开放程度无显著差异，FBW+V_C/V_E 和 FB 组的线粒体膜电位水平无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4)。

2.4 肠道相关指标分析

不同处理组肠道显微结构观察 从 120 d 时草鱼肠道的显微结构中可以看出，与对照组相比，FB 和 FBW 组的肠道绒毛变短，肠道 MF 和 EG 致密。FB 组草鱼肠道绒毛表面光滑，肠绒毛发生了融合与脱落，并且 GC 细胞数量大幅下降。推测 FB 组草鱼肠道损伤最为严重，其次为 FBW，而 FBW+V_C/V_E 草鱼肠道损伤程度不高 (图版 II)。

肠道中 ROS 含量 对 3 个时间段不同处理组草鱼肠道中的 ROS 含量进行双因素方差分析，发现不同的时间节点和不同实验组对草鱼肠道的 H₂O₂、O₂^{·-}、·OH、OFR 和 T-ROS 具有协同作用 ($P < 0.05$)。在 80 和 120 d，FBW、FBW+V_C/V_E 和

FB 组草鱼肠道的 H₂O₂、O₂^{·-}、·OH、OFR 和 T-ROS 的含量均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。120 d 时，FBW 和 FBW+V_C/V_E 组草鱼肠道的 H₂O₂、O₂^{·-}、·OH、OFR 和 T-ROS 含量没有显著差异，FBW+V_C/V_E 和 FB 组的·OH、OFR 和 T-ROS 含量没有显著差异 ($P > 0.05$) (图 5)。

肠道中 ROS 生成及消除相关酶的含量变化不同的时间节点和不同实验组对草鱼肠道的 SOD、COX I、COX III、COX IV、G6PD、NADPH、GSH 和 CAT 生成和消除相关酶具有协同作用 ($P < 0.05$)。120 d 时，FBW、FBW+V_C/V_E 和 FB 组草鱼肠道的 SOD、G6PD、NADPH、GSH 和 CAT 含量均显著低于对照组 ($P < 0.05$)，而 COX I、COX III、COX IV 的含量显著高于对照组 ($P < 0.05$)。120 d 时，FBW+V_C/V_E 的 SOD 和 COX I 的含量显著高于 FBW ($P < 0.05$)，其余指标 2 组没有显著差异 ($P > 0.05$)。FBW+V_C/V_E 的 COX I、COX III、COX IV、G6PD、NADPH 含量与 FB 组无显著差异 ($P > 0.05$)。FBW 的 COX I、COX III 和 COX IV 含

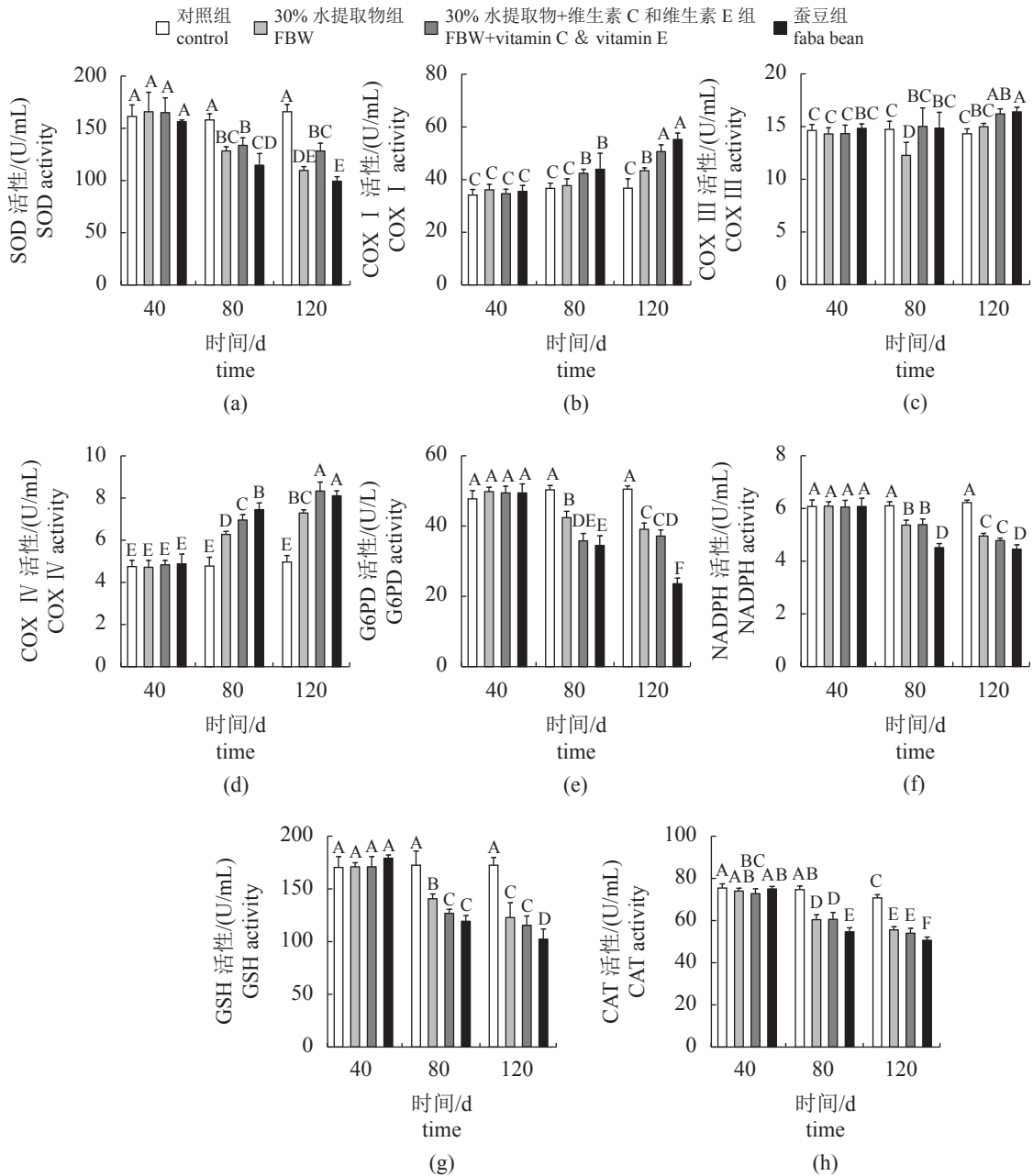


图 3 40、80 和 120 d 时不同处理组草鱼肌肉中 ROS 生成、消除相关酶活性变化

Fig. 3 Changes of ROS generation and elimination related enzymes activities in *C. idella* muscle of different treatment groups at 40, 80 and 120 d

量均显著低于 FB 组 ($P < 0.05$) (图 6)。

3 讨论

很多研究表明, 使用蚕豆投喂草鱼, 能够改善草鱼的肌肉品质, 但会导致草鱼生长性能下降, 肠道和肝脏发生一定程度的病变, 导致草鱼生长性能下降, 这些问题可能是蚕豆中的抗营养因子或促氧化剂产生的活性氧引起的。为了减轻这类

现象, 有研究者使用水、乙醇等溶剂对蚕豆进行提取, 结果表明蚕豆水提取物在改良草鱼肌肉质的同时, 能够改善草鱼的生长性能^[7]。除此之外, Chen 等^[13]的研究发现, 添加 V_C/V_E 也能够对鱼的肌肉品质进行调控。但是蚕豆水提取物和 V_C/V_E 是否存在协同作用尚不清楚。因此, 本研究开展了相关研究, 探索了蚕豆水提取物及维生素 C 和维生素 E 添加剂是否有潜力成为水产动物肉质品质改良剂。

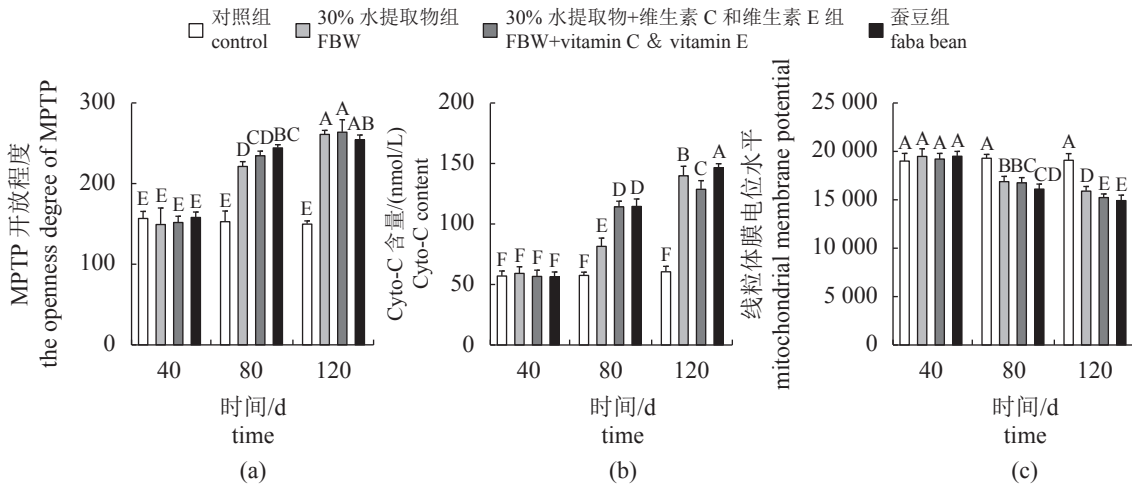
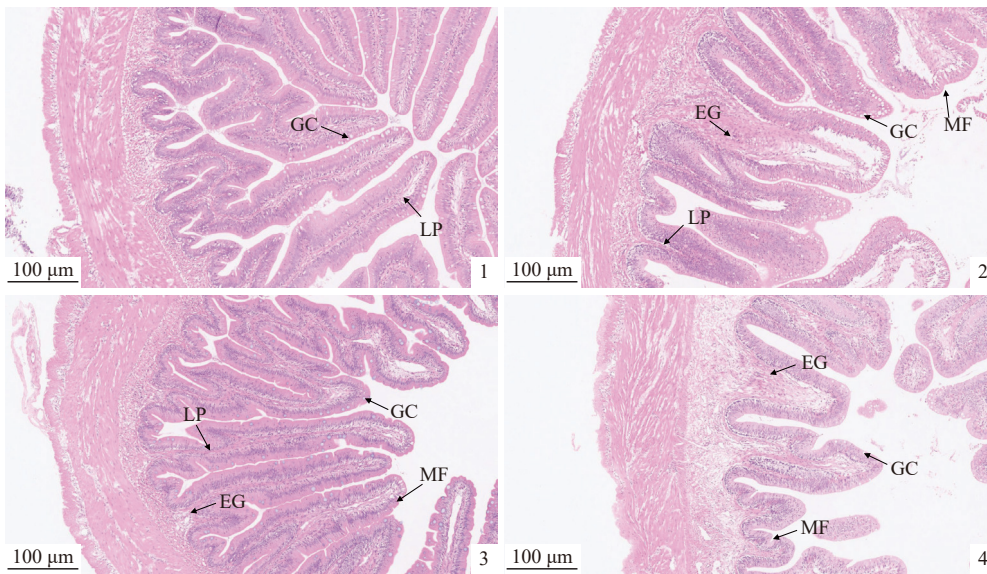


图 4 40、80 和 120 d 时不同处理组草鱼肌肉中凋亡因子水平变化

Fig. 4 Changes of apoptosis factors in muscle of *C. idella* in different treatment groups at 40, 80 and 120 d



图版 II 120 d 时草鱼肠道的显微结构

1. 对照组, 2. 30% 蚕豆水提取物组, 3. 30% 蚕豆水提取物+V_C/V_E 组, 4. 蚕豆组; GC. 杯状细胞, LP. 固有层, EG. 嗜酸性粒细胞, MF. 黏膜褶皱。

Plate II Microstructure of the gut of *C. idella* at 120 d

1. control, 2. FBW, 3. FBW+V_C/V_E, 4. FB; GC. goblet cel, LP. lamina propria, EG. eosinophilic granulocytes, MF. mucosal folds.

投喂蚕豆是改善草鱼质构的重要手段^[14], 但由于蚕豆中含有丹宁、植酸等多种抗营养因子, 导致生长水平下降、脂肪肝、肠道炎症等问题, 影响了草鱼的健康^[4, 15-16]。鱼类的健康程度和肠道结构的完整性有关^[4, 17-18]。研究表明, 投喂蚕豆会导致草鱼发生肠道损伤, 严重影响草鱼的生长速率^[4-5, 19]。通过显微切片分析发现, FB 组草鱼肠道受损最严重, 同时生长速率也最低, FBW 组和 FBW+V_C/V_E 组草鱼肠道的损伤程度相比于 FB 组较轻, 此外生长速率相较于 FB 组也有一定程度的上升。研究发现, 在饲料中添加植酸盐会导致

大鳞大麻哈鱼 (*Oncorhynchus tshawytscha*) 甲状腺、肾脏和消化道形态异常^[20]。饲料中高剂量的皂苷会对鱼鳃的上皮细胞造成损害^[21], 并且会造成大西洋鲑 (*Salmo salar*) 远端肠道生长迟缓、肠道形态和黏膜酶活性降低^[22]。缩合单宁显著降低了草鱼的饲料表观消化系数, 同时抑制了肠道生长发育, 并破坏了肠道组织形态。上述研究表明, 单宁、植酸等抗营养物质会对鱼的肠道及生理健康造成负面影响。Li 等^[6] 研究发现, 在尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 饲料中添加蚕豆水提取物会导致肠道消化酶 (胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶)

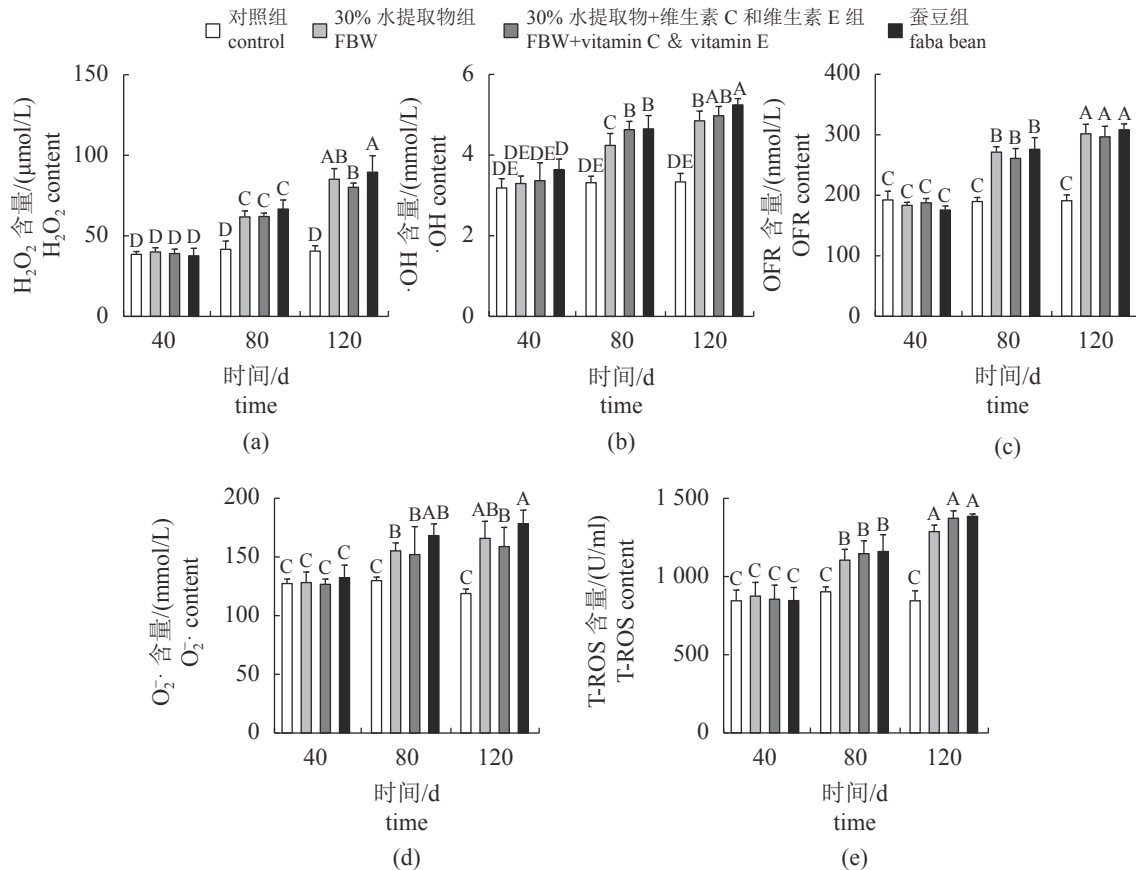


图 5 40、80 和 120 d 时不同处理组草鱼肠道中 ROS 含量变化

Fig. 5 Changes in ROS content in the intestine of *C. idella* in different treatment groups at 40, 80 and 120 d

含量下降, 同时导致肠道损伤。Ma 等^[7]的研究发现, 投喂蚕豆水提取物之后, 草鱼肠道发生损伤, 肠道酶活性下降, 但相比于蚕豆组, 肠道损伤和消化酶活性降低的情况有所缓解。对比不同实验组肠道 ROS 含量发现, 与饲喂蚕豆的草鱼相比, 饲喂蚕豆水提取物的草鱼氧化损伤和肠道损伤得到改善, 表明蚕豆和蚕豆水提取物虽然都会对草鱼肠道造成氧化损伤, 但蚕豆水提取物的损伤程度更低。这可能是由于在蚕豆水提取物的提取过程中, 单宁、植酸等抗营养物质大部分被清除, 同时配合饲料的制作改善了蚕豆适口性差的缺点, 最终导致投喂含蚕豆水提取物饲料后, 草鱼肌肉质构水平上升, 同时减弱了对生长性能影响的效果。

研究表明, 肌肉质构水平的提高与肌纤维密度增加呈正相关, 与肌纤维直径呈负相关^[12]。同时, 有研究也发现, TGF-β/Smads4 信号通路调控的胶原蛋白含量的增加也与肌肉质构水平的增长有非常大的关系^[23-24]。这些结果表明, 肌肉质构的变化与鱼的肌纤维情况和胶原蛋白含量密切相关。本研究发现, 相较于对照组, 3 个实验组的

肌纤维直径显著减小, 肌纤维密度显著提高, 同时胶原蛋白含量也有了显著提高, 与上述观点相符。肌肉的质构特性是影响水产品价值的重要指标之一, 肉质提升在水产养殖行业中广受关注^[3, 25]。有研究发现, 投喂蚕豆后, 草鱼肌肉质构显著提升, 口感得到改善, 提高了草鱼的可接受度^[26-27]。此外, 喂食蚕豆后肌肉质地的改善不是草鱼的特有现象, 在斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)、鲤(*Cyprinus carpio*)和吉富罗非鱼(*O. niloticus*, GIFT)中也发现了相似的现象^[28-30]。研究表明, 肌肉的硬度、咀嚼性、黏性越高, 肌肉口感越紧实; 而弹性越高, 肉质越爽脆^[3, 27]。本团队前期研究发现, 分别投喂草鱼含 15% 的蚕豆水提取物、蚕豆醇提取物和蚕豆蛋白的配合饲料, 蚕豆水提取物组草鱼的肌肉质构水平显著提高^[6-7]。投喂罗非鱼含 10% 的蚕豆水提取物配合饲料, 罗非鱼肌肉质构水平显著提高, 但上述实验中蚕豆水提取物组的质构水平与单独投喂蚕豆组相比仍有较大差距。在本研究中发现, 喂食 30% 蚕豆水提取物饲料、30% 蚕豆水提取物+V_C/V_E 以及蚕豆的草鱼, 肌肉

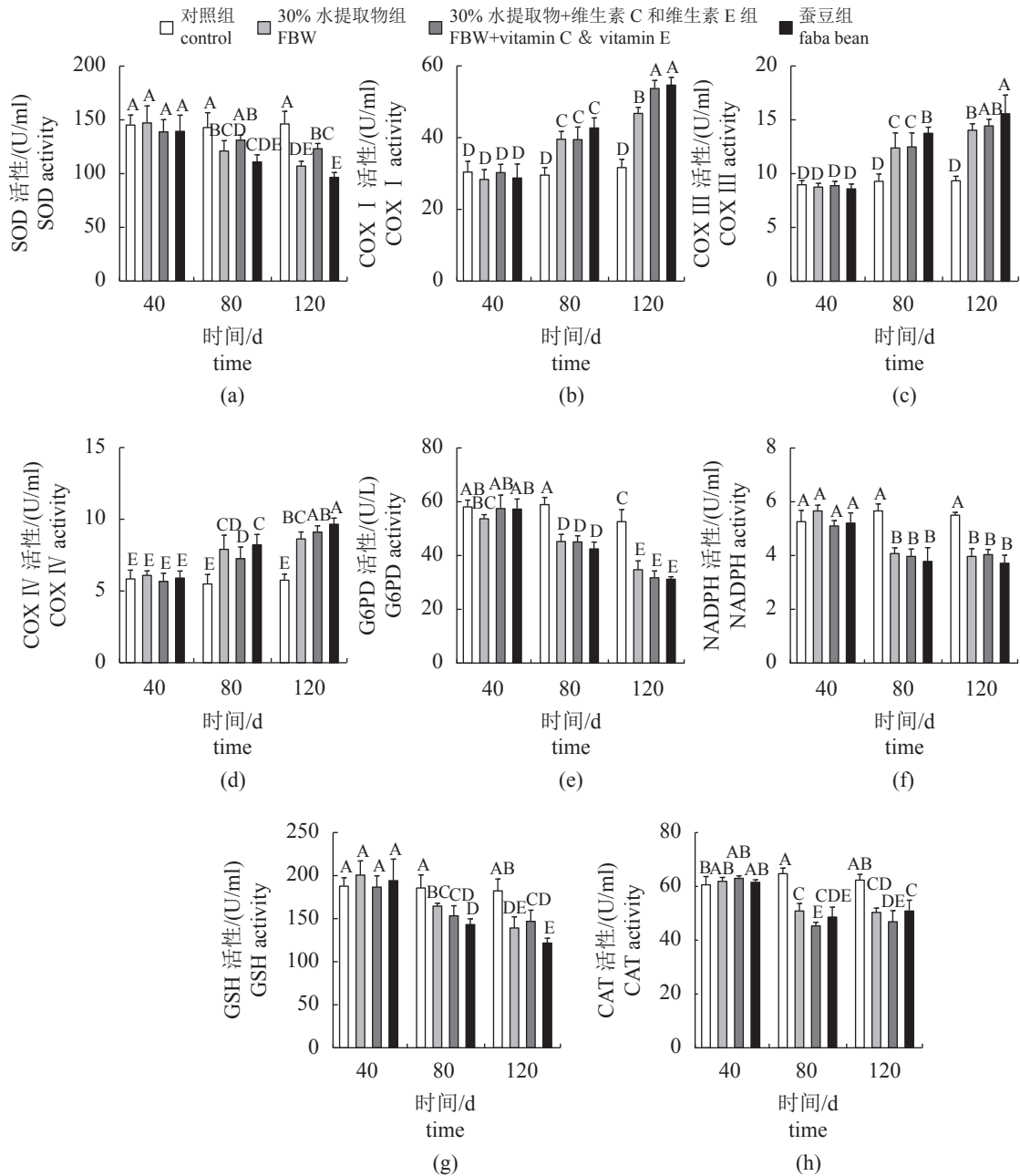


图 6 40、80 和 120 d 时不同处理组草鱼肠道中 ROS 生成、消除相关酶含量变化

Fig. 6 Changes in ROS production and elimination-related enzymes in the intestine of *C. idella* at 40, 80 and 120 d in different treatment groups

质构水平相较于对照组均有显著增长, 与上述实验结果相似, 并且蚕豆水提取物+V_C/V_E组的肌肉质构水平较蚕豆组没有显著差异。虽然维生素 C 是一种抗氧化剂, 但高剂量的维生素 C 可能作为促氧化剂损伤体内的 DNA^[31], 研究报道, 添加到 EDTA 螯合溶液中的大量维生素 C 具有促氧化作用^[32]。在马氏沼虾 (*Macrobrachium malcolmsonii*) 中会影响抗氧化酶的含量并影响生长性能^[33]。本研究中添加的维生素 C 和 E 含量分别为草鱼最佳

添加量的 4 倍^[10], 远远超过草鱼的对维生素 C 和 E 的需求, 并造成了 ROS 水平的上升, 虽然促进了氧化应激的发生, 但对草鱼肌肉质构水平的提升起到了促进作用。同时, 相较于蚕豆组, 蚕豆水提取物组和蚕豆水提取物+V_C/V_E组的生长性能得到了一定程度的改善, 这与 Ma 等^[7]的研究结果相似。因此可以得出, 添加了 400 mg/kg 维生素 C 和 200 mg/kg 维生素 E 的 30% 蚕豆水提取物饲料能够使草鱼背部肌肉质构水平接近甚至达到

饲喂蚕豆的水平, 有效提高了草鱼肌肉的品质。

前期研究发现, 喂食蚕豆和促氧化剂后, 草鱼线粒体电子传递链中的复合物 I、III 和 IV 含量升高, 并通过电子传递链产生过量的 $O_2^{\cdot-}$, 导致了 MPTP 的打开, 同时使膜电位下降^[33-34]。而在本研究中, 检测到 MPTP 水平和膜电位降低, 这可能是由于蚕豆和蚕豆水提取物中的一些抗营养因子和促氧化剂, 导致线粒体中 ROS 的生成量上升, 破坏了膜电位和 MPTP 的稳态。同时, 可能由于蚕豆和蚕豆水提取物中的某些物质导致了草鱼产生 G6PD 缺乏症^[12], 进而引发 NADPH 生成量的不足, 导致 GSH 和 CAT 等抗氧化酶生成不足^[35-36]。本研究中, 3 个实验组的草鱼肌肉中的 NADPH、CAT 和 GSH 的水平均低于对照组草鱼, 从而进一步促进了 ROS 的积累。而 ROS 的过量积累会激活 Caspase-3 调控的线粒体凋亡途径^[37-38]。近期的研究发现, Caspase 途径除了具有调控细胞凋亡的作用外, 同样具有许多非凋亡的生理功能。Caspase-3 介导的 MST1 (哺乳动物不育系 20 样激酶 1, mammalian sterile 20-like kinase 1) 激活了小鼠原代成肌细胞的分化能力^[39]。活化的 Caspase-3 切割 ICAD (半胱氨酸蛋白酶激活的 DNA 酶抑制剂 inhibitor of caspase-activated DNase) 释放出 CAD (半胱氨酸蛋白酶激活的 DNA 酶, Caspase-Activated DNase), 抑制细胞周期进程中必不可少的 CDK (周期蛋白依赖性激酶, cyclin-dependent kinases) 的活性, 促进细胞分化^[40]。在肌源性分化程序的早期阶段, Caspase-3 的激活会导致 Pax7 (肌肉细胞自我更新的主要调节因子, Paired Box 7) 蛋白的裂解, 通过抑制 Pax7 的表达来促进成肌细胞的分化^[41]。在线粒体凋亡途径中, Caspase-9、细胞色素 C 和 Apaf-1 均会参与细胞分化的过程, 可能通过影响 Pax7 的活性, 激活成肌细胞的分化^[42-43]。在本实验结果中, 肌肉细胞色素 C 含量上升, 肌纤维密度上升, 这很可能与 ROS 上升导致线粒体凋亡途径引发的细胞分化有关。此外, 细胞色素 C 含量的上升会导致胶原蛋白更新中断, 发生胶原蛋白的积累^[42], 而本研究中 3 个实验组肌肉中胶原蛋白含量均显著高于对照组, 支持了这一观点。因此, 草鱼肌肉品质的提升可能与 ROS 的积累引发的氧化应激有关。然而, ROS 的积累导致肌肉质构变化的具体调节机制仍需进一步研究。

4 结论

含蚕豆水提取物的饲料能够有效降低蚕豆对

草鱼肠道造成的氧化损伤, 并提升草鱼肌肉品质, 但相较饲喂蚕豆, 饲喂蚕豆水提取物饲料在提升草鱼肌肉质构方面还有差距。而将蚕豆水提取物和 400 mg/kg 维生素 C 和 200 mg/kg 维生素 E 相结合之后, 不仅减弱了肠道损伤, 还能有效提高草鱼的肌肉质构特性。本研究推测, 在饲料中同时添加一定量的蚕豆水提取物和 V_C/V_E 在脆肉鲩养殖乃至淡水鱼品质改良中都将具有很大的潜力。另外, 肌肉品质的提升可能主要是由于蚕豆中某些抗营养因子和促氧化剂导致 ROS 积累所引起的。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2021 China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press (in Chinese).
- [2] 林婉玲, 杨贤庆, 李来好, 等. 脆肉鲩质构与感官评价的相关性研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 1-7.
Lin W L, Yang X Q, Li L H, et al. Research of relationship between texture and sensory evaluation of crisp grass carp[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(1): 1-7 (in Chinese).
- [3] Yang S L, Li L H, Qi B, et al. Quality evaluation of crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. ET V) based on instrumental texture analysis and cluster analysis[J]. *Food Analytical Methods*, 2015, 8(8): 2107-2114.
- [4] Li Z F, Yu E M, Wang G J, et al. Broad bean (*Vicia faba* L.) induces intestinal inflammation in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) by increasing relative abundances of intestinal gram-negative and flagellated bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1913.
- [5] 张振男, 郁二蒙, 谢骏, 等. 不同脆化阶段草鱼肠道菌群动态变化、血清酶指标及生长性能[J]. 农业生物技术学报, 2015, 23(2): 151-160.
Zhang Z N, Yu E M, Xie J, et al. Intestinal microflora dynamic change, serum enzyme and growth performance of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) at different stages of feeding broad bean (*Vicia faba*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2015, 23(2): 151-160 (in Chinese).
- [6] Li Y C, Zhang J M, Fu B, et al. Textural quality, growth parameters and oxidative responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed faba bean water extract diet[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e13048.

- [7] Ma L L, Kaneko G, Wang X J, *et al.* Effects of four faba bean extracts on growth parameters, textural quality, oxidative responses, and gut characteristics in grass carp[J]. *Aquaculture*, 2020, 516: 734620.
- [8] Zhang Z Y, Yuan J, Tian S J, *et al.* Effects of dietary vitamin E supplementation on growth, feed utilization and flesh quality of large yellow croaker *Larimichthys crocea* fed with different levels of dietary yellow mealworm *Tenebrio molitor* meal[J]. *Aquaculture*, 2022, 551: 737954.
- [9] Zhang G R, Wang S Q, Chen C Y, *et al.* Effects of dietary vitamin C on growth, flesh quality and antioxidant capacity of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*[J]. *Aquaculture Research*, 2019, 50(10): 2856-2866.
- [10] 李小勤, 胡斌, 冷向军, 等. VC对草鱼成鱼生长、肌肉品质及血清非特异性免疫的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(6): 787-791.
Li X Q, Hu B, Leng X J, *et al.* Effects of supplemental vitamin C on growth, meat quality and serum non-specific immunity of adult grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2010, 19(6): 787-791 (in Chinese).
- [11] 李小勤, 胡斌, 冷向军, 等. VE对草鱼成鱼肌肉品质和抗氧化性能的影响[J]. 水生生物学报, 2009, 33(6): 1132-1139.
Li X Q, Hu B, Leng X J, *et al.* Effect of supplemental VE on meat quality and anti-oxidant capacity of adult grass carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(6): 1132-1139 (in Chinese).
- [12] Yu E M, Zhang H F, Li Z F, *et al.* Proteomic signature of muscle fibre hyperplasia in response to faba bean intake in grass carp[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 45950.
- [13] Chen L J, Kaneko G, Li Y C, *et al.* Reactive oxygen species (ROS)-mediated regulation of muscle texture in grass carp fed with dietary oxidants[J]. *Aquaculture*, 2021, 544: 737150.
- [14] Yu E M, Fu B, Wang G J, *et al.* Proteomic and metabolic basis for improved textural quality in crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) fed with a natural dietary pro-oxidant[J]. *Food Chemistry*, 2020, 325: 126906.
- [15] 郑小淼, 李小勤, 魏静, 等. 蚕豆及其提取物对草鱼生长、肌肉成分和血清生化指标的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(1): 173-180.
Zheng X M, Li X Q, Wei J, *et al.* Effects of broad bean and its extract on growth, muscle composition and serum biochemical indices of grass carp[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(1): 173-180 (in Chinese).
- [16] 付兵, 郁二蒙, 王广军, 等. 投喂蚕豆对草鱼肝脏脂肪蓄积及脂肪代谢的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(1): 45-54.
Fu B, Yu E M, Wang G J, *et al.* Effects of feeding broad bean on fat accumulation and metabolism in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) liver[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2020, 29(1): 45-54 (in Chinese).
- [17] De Santis C, Martin S A M, Dehler C E, *et al.* Influence of dietary inclusion of a wet processed faba bean protein isolate on post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 2016, 465: 124-133.
- [18] Jin Y, Tian L X, Xie S W, *et al.* Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Aquaculture*, 2015, 437: 75-83.
- [19] Gan L, Li X X, Pan Q, *et al.* Effects of replacing soybean meal with faba bean meal on growth, feed utilization and antioxidant status of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(1): 192-200.
- [20] Richardson N L, Higgs D A, Beames R M, *et al.* Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *The Journal of Nutrition*, 1985, 115(5): 553-567.
- [21] Price K R, Griffiths N M, Curl C L, *et al.* Undesirable sensory properties of the dried pea (*Pisum sativum*): the rôle of saponins [J]. *Food Chemistry*, 1985, 17(2): 105-115.
- [22] Bureau D P, Harris A M, Cho C Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquaculture*, 1998, 161(1-4): 27-43.
- [23] Yu E M, Ma L L, Ji H, *et al.* Smad4-dependent regulation of type I collagen expression in the muscle of grass carp fed with faba bean [J]. *Gene*, 2019, 685: 32-41.
- [24] Xia Y, Yu E M, Li Z F, *et al.* Both TGF- β 1 and Smad4 regulate type I collagen expression in the muscle of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2021, 47(4): 907-917.
- [25] Lin W L, Zeng Q X, Zhu Z W, *et al.* Relation between protein characteristics and TPA texture characteristics of crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Journal of Texture Studies*, 2012, 43(1): 1-11.
- [26] Yu E M, Liu B H, Wang G J, *et al.* Molecular cloning of type I collagen cDNA and nutritional regulation of type I collagen mRNA expression in grass carp [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2014, 98(4): 755-765.
- [27] Lin W L, Zeng Q X, Zhu Z W. Different changes in mastication between crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2014, 98(4): 755-765.

- lus) after heating: the relationship between texture and ultrastructure in muscle tissue[J]. *Food Research International*, 2009, 42(2): 271-278.
- [28] 朱耀强, 李道友, 赵思明, 等. 饲喂蚕豆对斑点叉尾鲷生长性能和肌肉品质的影响[J]. *华中农业大学学报*, 2012, 31(6): 771-777.
- Zhu Y Q, Li D Y, Zhao S M, *et al.* Effect of feeding broad bean on growth and flesh quality of channel catfish[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2012, 31(6): 771-777 (in Chinese).
- [29] Song D Y, Yun Y H, He Z J, *et al.* Effects of faba bean (*Vicia faba* L.) on fillet quality of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*) via the oxidative stress response[J]. *Food Chemistry*, 2022, 388: 132953.
- [30] 陈度煌, 李学贵, 樊海平, 等. 不同蚕豆和大豆提取物对罗非鱼生长和肉质脆化的影响[J]. *福建农业学报*, 2014, 29(1): 12-16.
- Chen D H, Li X G, Fan H P, *et al.* Effects of different broad bean and soybean extracts on growth and crisping muscle quality of tilapia[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 29(1): 12-16 (in Chinese).
- [31] Podmore I D, Griffiths H R, Herbert K E, *et al.* Does vitamin C have a pro-oxidant effect?[J]. *Nature*, 1998, 395(6699): 232.
- [32] Hininger I, Waters R, Osman M, *et al.* Acute prooxidant effects of vitamin C in EDTA chelation therapy and long-term antioxidant benefits of therapy[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2005, 38(12): 1565-1570.
- [33] Asaikkutti A, Bhavan P S, Vimala K, *et al.* Effect of different levels dietary vitamin C on growth performance, muscle composition, antioxidant and enzyme activity of freshwater prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*[J]. *Aquaculture Reports*, 2016, 3: 229-236.
- [34] Zorov D B, Juhaszova M, Sollott S J. Mitochondrial ROS-induced ROS release: an update and review[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2006, 1757(5-6): 509-517.
- [35] Zhu L, Wang X Q, Wei Z Y, *et al.* Myostatin deficiency enhances antioxidant capacity of bovine muscle via the SMAD-AMPK-G6PD pathway[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022: 3497644.
- [36] Firat Ö, Kargin F. Effects of zinc and cadmium on erythrocyte antioxidant systems of a freshwater fish *Oreochromis niloticus*[J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2010, 24(4): 223-229.
- [37] Circu M L, Aw T Y. Glutathione and modulation of cell apoptosis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 2012, 1823(10): 1767-1777.
- [38] Redza-Dutordoir M, Averill-Bates D A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 2016, 1863(12): 2977-2992.
- [39] Fernando P, Kelly J F, Balazsi K, *et al.* Caspase 3 activity is required for skeletal muscle differentiation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(17): 11025-11030.
- [40] Baena-Lopez L A, Arthurton L, Xu D C, *et al.* Non-apoptotic Caspase regulation of stem cell properties[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2018, 82: 118-126.
- [41] Bentzinger C, Von Maltzahn J, Rudnicki M A. Extrinsic regulation of satellite cell specification[J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2010, 1(3): 27.
- [42] Dehkordi M H, Tashakor A, O'Connell E, *et al.* Apoptosome-dependent myotube formation involves activation of caspase-3 in differentiating myoblasts[J]. *Cell Death & Disease*, 2020, 11(5): 308.
- [43] Dick S A, Chang N C, Dumont N A, *et al.* Caspase 3 cleavage of Pax7 inhibits self-renewal of satellite cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(38): E5246-E5252.

Effects of faba bean water extract and vitamin C/E on muscle texture, nutrition composition and oxidative stress in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

ZHENG Xinyu^{1,2}, ZHANG Junming^{1,2}, XIE Jun², WANG Guangjun²,
TIAN Jingjing², LIU Liping¹, LUO Minyi³, YU Ermeng^{2*}

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

3. Agricultural Service Center of Xiaolan Town, Zhongshan City, Zhongshan 528415, China)

Abstract: Faba bean water extract could improve the muscle textural quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), but would cause oxidative stress, intestinal damage and decrease growth performance. In order to study whether there is a synergistic effect between vitamin C/vitamin E and faba bean water extract to jointly promote the change of *C. idella* muscle quality, reducing oxidative stress and improving growth performance, this study took ordinary compound feed as a control, 30% of faba bean water extract group, 30% of faba bean water extract + 400 mg/kg of vitamin C+ 200 mg/kg of vitamin E group and faba bean group were the experimental groups, fed (250±20) g *C. idella* for 120 days. The weight gain rate, condition factor, visceral somatic index, hepatopancreas somatic index, abdominal fat index, feed conversion ratio and survival rate, muscle and intestinal microstructure of *C. idella* at 120 days were detected. The content of reactive oxygen species (hydrogen peroxide, superoxide anion, hydroxyl radical, oxygen radical, total reactive oxygen species) in the muscles and intestines of *C. idella*, the activities of enzymes related to the generation and elimination of reactive oxygen species (SOD, CAT, GSH, G6PD, NADPH, COX I, COX III, COX IV), the changes of mitochondrial membrane permeability transition pore and the level of mitochondrial membrane potential in muscle cells were detected at 40, 80 and 120 d. The results showed that the growth performance of *C. idella* in the faba bean water extract group (FBW) and faba bean water extract+V_C/V_E group (FBW+V_C/V_E) was significantly improved compared with the faba bean group, and the muscle texture was significantly improved compared with the control group ($P<0.05$). The activity of enzymes related to reactive oxygen species (ROS) generation was significantly decreased, and the activities of enzymes related to ROS elimination increased in the faba bean water extract group and the faba bean water extract+V_C/V_E group. In addition, the faba bean water extract+V_C/V_E group showed better antioxidant capacity. Through the observation of microstructure, the muscle fiber density of *C. idella* in faba bean water extract group and faba bean water extract+V_C/V_E group was significantly increased, the diameter was significantly decreased, and the degree of intestinal injury was significantly lower than that in faba bean group. The present study demonstrated that V_C/V_E play an important role with being added into faba bean water extract in improving texture quality and growth performance of *C. idella*, and they would have a high potential for quality improving of aquatic products.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; faba bean extracts; flesh quality; vitamin C/E; reactive oxygen species (ROS)

Corresponding author: YU Ermeng. E-mail: yem@prfri.ac.cn

Funding projects: Basic Scientific Research Business Expenses of Chinese Academy of Fishery Sciences (2021XT03); Zhongshan Social Welfare and Basic Research Project (2021B2013)