Zhang Z W, Liu H K, Han D, *et al*. Dietary inclusion of *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis on growth performance, feed utilization, and liver health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(12): 122511. [张志伟, 刘昊昆, 韩冬, 等. 饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈生长性能、饲料利用和肝脏健康的影响 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(12): 122511.]

饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈生长性能、饲料利用和肝脏健康的影响

张志伟[1,2] 刘昊昆[1] 韩 冬[1,2,3] 张志敏[1] 朱晓鸣[1] 金俊琰[1]
杨云霞[1] 解绶启[1,2,3]

(1. 中国科学院水生生物研究所鱼类生理生态实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 湖北省水产动物营养与饲料工程技术研究中心, 武汉 430072)

摘要: 研究旨在探究饲料中添加栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis)或栀子发酵豆粕对大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)的影响。以传统栀子豉汤为参考, 将栀子与豆粕按3∶10的质量比混合, 利用雅致放射毛霉(*Actinomucor elegans*)发酵48h, 制备得到栀子发酵豆粕。实验设置了对照组(CON, 不添加栀子); 栀子添加组(GD), 添加量为10 g/kg; 以及以栀子发酵豆粕形式添加等量栀子的组(GSPD)。在循环水系统中, 采用等氮等脂饲料对初始体重为(38.19±0.18) g的大口黑鲈开展为期7周的养殖实验。结果表明, 与CON组相比, GD和GSPD组的增重率(WGR)无显著差异(P>0.05), 然而GSPD组的饲料系数(FCR)显著降低(P<0.05)。从肝脏健康指标来看, GD组的血浆谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP)水平相比CON组显著升高(P<0.05), 肝体比显著上升(P<0.05), 肝脏出现细胞肿胀、细胞核萎缩等异常; 而GSPD组相比GD组, 血浆AST和ALP水平显著降低(P<0.05), 肝体比与CON组无显著差异(P>0.05)。在抗氧化能力方面, GSPD组的过氧化氢酶(CAT)活性、总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)活性显著高于GD组(P<0.05), 丙二醛(MDA)与活性氧(ROS)含量显著低于GD组(P<0.05), 且与CON组相比均无显著差异(P>0.05); 抗氧化相关基因检测表明, GSPD组*keap1*基因相对表达量显著低于CON组和GD组(P<0.05), *nqo-1*、*ho-1*、*sod*和*gpx*基因相对表达量显著高于GD组(P<0.05)。炎症相关基因检测显示, GSPD组促炎因子*nf-κb*、*il-1β*和*il-6*基因相对表达量显著低于GD组(P<0.05), 抗炎因子*il-10*基因相对表达量显著高于GD组(P<0.05), 且与CON组相比均无显著差异(P>0.05)。综上所述, 饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈生长无明显作用, 但栀子发酵豆粕可提升饲料利用效率; 10 g/kg的栀子会损害大口黑鲈肝脏, 而栀子发酵豆粕增强了机体的抗氧化与抗炎能力, 对肝脏健康起到保护作用。

关键词: 栀子; 栀子豉汤; 发酵豆粕; 饲料利用; 肝脏健康; 大口黑鲈

中图分类号: S965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)12-122511-12

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0122 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0122

栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis)属于茜草科, 在中国多个地区广泛种植[1]。作为《中国药典》首批记载的药食两用物质[2], 栀子在饮食烹饪及保健调理方面都扮演着极为重要的角色。栀子富含多种功能成分, 包括栀子苷、京尼平、西红花苷、挥发油、萜烯及有机酸等[3]。这些功能成分可参与机

收稿日期: 2025-04-13; **修订日期:** 2025-05-20

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2400600); 国家自然科学基金(32473179); 水产品种创制与高效养殖全国重点实验室(2024BBSA09); 湖南省重点研发计划(2024WK2015)资助 [Supported by the National Key R & D Program of China (2023YFD2400600); the National Natural Science Foundation of China (32473179); the Key Laboratory of Breeding Biotechnology and Sustainable Aquaculture (CAS) (2024BBSA09); Science and Technology Innovation Program of Hunan Province (2024WK2015)]

作者简介: 张志伟(2000—), 男, 硕士研究生; 主要从事鱼类营养与饲料学研究。E-mail: 3602542829@qq.com

通信作者: 刘昊昆(1984—), E-mail: liuhaokun@ihb.ac.cn

©The Author(s) 2025. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

体多种生理过程, 赋予栀子抗氧化、抗炎、降血糖、抗抑郁及改善睡眠质量等生物活性[4]。栀子可作为饲料添加剂, 对养殖动物的生长和健康等方面具有积极作用。研究显示, 在饲料中添加300 mL/kg的栀子提取物可以提高大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)的生长性能和体色黄度值, 并增加肌肉营养价值[5]。在湘黄鸡饲粮中添加100 mg/kg的栀子, 可改善蛋品质, 增强免疫功能[6]。此外, 在育肥期湘村猪的研究中, 饲料中添加50和100 g/kg的栀子提高了其抗氧化能力, 且对其生长性能和肉质均无负面影响[7]。然而栀子在水产饲料添加剂的实际应用中仍存在一定局限。栀子中含有栀子黄等天然化合物, 在使用剂量达到一定程度时, 存在毒性风险[8]。通过配伍使用, 不仅能够增加栀子活性成分, 还有望降低有害成分的含量, 甚至产生更多协同增效的有益作用[9]。

栀子豉汤源自《伤寒论》, 由栀子与淡豆豉两味中药配伍煎煮而成。该方具有清解胸中郁热之功效, 并对睡眠质量的改善颇有益处[10]。现代药物动力学研究揭示了栀子豉汤中成分的转化过程: 栀子中的活性成分栀子苷, 在淡豆豉中微生物所产生的β-葡萄糖苷酶催化作用下, 转化为京尼平; 然而京尼平化学性质不稳定, 会与淡豆豉中所含的氨基酸发生反应, 结合生成栀子蓝等复合物[11]。研究显示, 栀子豉汤煎煮过程中产生的复合物稳定性良好, 且毒性低于栀子苷和京尼平。其中的京尼平–酪氨酸复合物已被证实具备出色的抗抑郁作用[12]。然而按照栀子豉汤原方配伍煎煮时, 高温环境会致使淡豆豉中部分微生物失活, 同时降低β-葡萄糖苷酶的活性, 进而影响栀子苷后续的转化效率[13]。因此, 探寻一种既能保留栀子豉汤功效, 又能优化成分转化过程的方法显得尤为迫切。

豆粕在营养组成方面与淡豆豉相似[14]。鉴于此, 本研究以栀子豉汤为基础, 运用双向固体发酵技术, 将豆粕作为发酵基质与栀子共同发酵。这一思路可以为栀子豉汤在水产饲料领域的应用开辟新的可能性。该发酵方式可能具有特殊的优势: 一方面, 能够减轻栀子可能产生的负面影响, 充分发挥栀子豉汤的功效; 另一方面, 能促使原料发酵, 降低抗营养因子含量。已有研究表明, 经发酵处理的饲料原料营养效率更高[15]。综上所述, 利用栀子与豆粕开展双向固体发酵模拟栀子豉汤发酵过程, 有望为水产饲料领域开辟较具价值的创新路径。

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)隶属鲈形目、太阳鱼科、黑鲈属[16]。自20世纪80年代引入我国以来, 凭借其生长迅速和适应力强的特性, 已逐步发展成为我国重要的淡水养殖品种之一[17]。然而近年来, 一系列问题逐渐凸显, 如养殖密度过高[18]、过度投喂、水质恶化[19]及疾病控制不力[20]等。这些问题的协同作用显著加剧了肝胆综合征等疾病的发生风险与传播速度, 严重制约着大口黑鲈养殖产业的健康发展。功能性饲料添加剂的应用为解决这些常见问题提供了有效策略, 因此, 深入开展关于功能性饲料添加剂的研究显得尤为必要。在本研究中, 以大口黑鲈作为研究对象, 将传统的栀子豉汤与豆粕进行组合, 旨在探究饲料中添加栀子以及栀子发酵豆粕对大口黑鲈的生长性能、饲料利用和肝脏健康的影响, 为开发栀子配伍型水产饲料功能性添加剂提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 栀子发酵豆粕的制备

实验用菌株分离自市售豆豉发酵用菌粉, 采用马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基进行分离、马铃薯葡萄糖肉汤(PDB)培养基进行培养。预实验筛选得到一株具有较强产β-葡萄糖苷酶的菌株, 鉴定结果显示该菌为雅致放射毛霉(*Actinomucor elegans*)。栀子由福鼎市栀子协会提供。豆粕来自益海(连云港)粮油工业有限公司生产的丰苑牌大豆粕。制备过程参考《伤寒论》原方“栀子十四个, 香豉四合”, 对配方进行改进。预先准备质量比为3∶10的栀子与豆粕。首先, 将栀子打碎成粉末状, 加入10倍量的水, 以1h/次的时长, 进行两次煎煮, 煎煮完成后冷却备用。接着, 使用过滤棉对栀子煎煮液进行过滤, 将滤液合并后加入已准备好的豆粕中, 并充分搅拌均匀。随后, 向混合物料中加入菌株, 在避光、透气和室温条件下发酵48h。

1.2 实验饲料

本实验设计了3种等氮等脂饲料: 以豆粕为原料且不添加栀子的组别作为对照组(CON); 以豆粕为原料, 并添加10 g/kg栀子的组别设定为栀子添加组(GD); 以同等剂量的栀子, 通过栀子发酵豆粕形式添加的组别作为栀子发酵豆粕组(GSPD; 表 1)。在饲料原料选用上, 主要蛋白源为鱼粉、鸡肉粉、豆粕及棉籽浓缩蛋白, 主要脂肪源则为鱼油。额外添加蛋氨酸和赖氨酸, 使其含量达到大口黑鲈的营养需求水平。在饲料制备环节, 先将各类原料进行粉碎处理, 粉碎后的原料通过80目筛子过筛。随后, 将过筛后的原料与适量水混合, 利用双螺杆膨化饲料机(济南鼎润机械设备有限公司)进行加工, 制成粒径约为3 mm的膨化饲料。制得的饲料在65℃条件下烘干至水分含量约5%, 最终存放于4℃冰箱中保存备用。

1.3 实验鱼及实验条件

实验所用的大口黑鲈购自湖北正豪水产养殖公司(中国湖北)。在正式实验开展前, 先使用对照饲料对大口黑鲈进行为期1周的投喂驯化。在正式实验开始前24h, 停止对大口黑鲈喂食。随后, 挑选个体大小较为一致、体重为(38.19±0.18) g的实验鱼, 用于开展为期7周的养殖实验。在实验开始时, 将初始体重相近的实验鱼随机分配至9个养殖缸中, 每个养殖缸内投放15尾实验鱼。实验设置3个处理组, 每个处理组设置3个平行。在实验期间, 每天8:30和16:30进行2次表观饱食投喂, 养殖水体的水温维持在24.5—27℃, 溶氧水平保持在5.0 mg/L以上, pH控制在6.0—7.5。

表 1　实验饲料配方及化学组成(%干物质)

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

原料组成Ingredient (%)	CON	GD	GSPD
鱼粉Fish meal	32.00	32.00	32.00
鸡肉粉Chicken powder	11.80	11.80	11.80
豆粕Soybean meal	6.00	6.00	0
栀子*Gardenia jasminoides* Ellis	0	1.00	0
栀子发酵豆粕Fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis	0	0	7.00
菜粕Rapeseed meal	6.00	6.00	6.00
棉籽浓缩蛋白Cottonseed protein concentrate	12.00	12.00	12.00
谷朊粉Wheat gluten	5.00	5.00	5.00
木薯淀粉Cassava starch	12.00	12.00	12.00
鱼油Fish oil	5.00	5.00	5.00
纤维素Cellulose	5.68	4.68	4.68
多维多矿预混物 Multivitamin and multimineral premix[1]	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙Monocalcium phosphate	1.50	1.50	1.50
氯化胆碱Choline chloride	0.40	0.40	0.40
赖氨酸Lysine	0.43	0.43	0.43
蛋氨酸Methionine	0.19	0.19	0.19
化学组成Chemical composition (%)			
粗蛋白Crude protein	47.56	47.82	47.88
粗脂肪Crude lipid	9.56	9.45	9.48
水分Moisture	4.72	4.85	4.49
灰分Ash	13.56	14.02	13.69

注: [1]多维多矿预混物: 七水硫酸镁. 205.39 mg/kg; 七水硫酸铁. 198.57 mg/kg; 七水硫酸锰. 50.36 mg/kg;碘化钾. 0.07 mg/kg; 五水硫酸铜. 98.30 mg/kg; 七水硫酸锌. 442.46 mg/kg; 亚硒酸钠. 0.66 mg/kg; 七水硫酸钴. 1.67 mg/kg; 维生素A. 1800 IU/kg; 维生素D3. 390 IU/kg; 维生素E. 30 mg/kg; 维生素K3. 2.8 mg/kg; 维生素B1. 6 mg/kg; 维生素B2. 6 mg/kg; 维生素B6. 6 mg/kg; 维生素B12. 0.04 mg/kg; 维生素C. 70 mg/kg; 泛酸钙. 15 mg/kg; 烟酰胺. 45 mg/kg; 叶酸. 2 mg/kg; d-生物素. 0.05 mg/kg; 肌醇. 40 mg/kg; 填充物. 4500 mg/kg

Note: [1]Multivitamin and multimineral premix: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. 205.39 mg/kg; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. 198.57 mg/kg; $MnSO_4 \cdot 7H_2O$. 50.36 mg/kg; KI. 0.07 mg/kg; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. 98.30 mg/kg; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$. 442.46 mg/kg; Na_2SeO_3. 0.66 mg/kg; $CoSO_4 \cdot 7H_2O$. 1.67 mg/kg; Vitamin A. 1800 IU/kg. Vitamin D_3. 390 IU/kg Vitamin E. 30 mg/kg; Vitamin K_3. 2.8 mg/kg; Vitamin B_1. 6 mg/kg; Vitamin B_2. 6 mg/kg; Vitamin B_6. 6 mg/kg; Vitamin B_{12}. 0.04 mg/kg; Vitamin C. 70 mg/kg; Calcium pantothenate. 15 mg/kg; Nicotinamide. 45 mg/kg; Folic acid. 2 mg/kg; D-biotin. 0.05 mg/kg; Myo-inositol. 40 mg/kg; Filler. 4500 mg/kg

1.4 样品采集

将各养殖缸内的所有实验鱼捞出, 采用MS-222进行麻醉处理, 随后分批称重。从每个鱼缸中随机挑选2尾鱼, 存放于–20℃的冰箱内作为末样, 以备后续进行体成分分析。接着, 在每缸中随机选取2尾鱼, 精确测量其体长, 完成测量后进行解剖, 仔细称量内脏团和肝脏的重量, 进而计算各脏器重量与体重的比值。另外, 在每缸内随机选取3条鱼, 经麻醉后, 使用预先用肝素钠配制的抗凝剂浸润过的2 mL注射器, 从鱼的尾部静脉采集血液, 并将血液装入经抗凝剂浸润过的1.5 mL离心管中。随后, 将装有血液的离心管以3500 r/min的转速离心10min, 分离出血浆。同时, 取肝组织样品放入装有RNA保存液(货号: R0118, 碧云天)的1.5 mL离心管内, 保存于–80℃环境下, 用于后续相关分析。除此之外, 将部分肝组织保存在4%多聚甲醛固定液中, 以便开展后续的组织学分析。针对取样后剩余的实验鱼, 遵循动物伦理和环保要求, 对其进行无害化处理。

1.5 测定指标

饲料与体成分分析　　将实验饲料和末样进行随机取样, 在105℃烘箱中干燥至恒重, 以测定水分含量。灰分含量则采用高温灼烧法, 在马弗炉中检测。使用全自动凯氏定氮仪(FOSS Tecator, Haganas, Sweden)测定粗蛋白质含量。粗脂肪含量通过使用索氏抽提仪(SOXTEC™2005, FOSS Tecator, Haganas, Sweden)的乙醚萃取法进行测定。

生化分析　　肝脏中的过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)和丙二醛(MDA)用检测试剂盒测定(南京建成生物工程研究所; 货号: A015-2-1、C009-2-1、C010-2-1、A003-1和A001-3, 中国江苏)。肝脏活性氧(ROS)含量通过检测试剂盒(MSKBIO; 货号: 69-86537; 中国湖北)进行测定。血浆谷草转氨酶(AST, 紫外-苹果酸脱氢酶法, 货号: 105-000443-00)、谷丙转氨酶(ALT, 紫外-乳酸脱氢酶法, 货号: 105-000442-00)、碱性磷酸酶(ALP, AMP缓冲液法, 货号: 105-000444-00)、总胆固醇(TC, 氧化酶法, 货号: 105-000448-00)、甘油三酯(TG, 氧化酶法, 货号: 105-000449-00)、葡萄糖(Glu, 氧化酶法, 货号: 105-000949-00)、白蛋白(ALB, 溴

甲酚绿法, 货号: 105-000452-00)和总蛋白(TP, 双缩脲法, 货号: 105-000451-00)水平采用深圳迈瑞BS-460全自动生化分析仪测定。

组织学分析 取新鲜肝脏组织, 用4%多聚甲醛溶液固定24h以上。将固定好的组织依次经过不同浓度的酒精进行脱水, 脱水后的组织用二甲苯进行透明处理, 将透明后的组织放入融化的石蜡中进行浸蜡, 将浸蜡后的组织放入包埋模具中, 倒入融化的石蜡, 用显微切片机将其切成4 μm厚的切片。切片用苏木精和伊红(HE)染色, 将细胞核染成蓝色, 细胞质染成红色。在光学显微镜下随机选择至少3个视野进行观察。

实时荧光定量PCR 依据操作说明, 采用TRIzol试剂(TaKaRa, 大连)进行RNA提取; 使用PrimeScript RT试剂盒(Yeasen, 上海)完成cDNA合成。实时荧光定量PCR检测使用Unique Aptamer™ qPCR SYBR® Green Master Mix试剂盒(Novogene, 天津), 在Light Cycler 480 Ⅱ荧光定量仪(Roche, 瑞士)上开展。具体参数设置: 先于95℃预孵育5min, 随后进行40个循环, 每个循环包括95℃持续10s、60℃持续20s及72℃持续10s。实时荧光定量PCR所使用的引物详见表 2 (*keap1*. Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1; *nrf2*. 核因子E2相关因子2; *ho-1*. 血红素加氧酶1; *nqo-1*. 醌氧化还原酶1; *sod*. 超氧化物歧化酶; *gpx*. 谷胱甘肽过氧化物酶; *nf-κb*. 核因子κB; *il-1β*. 白细胞介素1β; *il-6*. 白细胞介素6; *il-10*. 白细胞介素10)。在实验过程中, 以*β-actin* (β-肌动蛋白)作为内参进行归一化处理。目标基因的相对表达水平采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行计算。

表 2 本研究qPCR分析的基因引物序列

Tab. 2 Primers used in qPCR analysis of the present study

基因 Gene	基因序列 Primer direction and sequence (5′—3′)	Genbank登录号 Accession No.
keap1	TATTTCCGTCAGTCCCTCAG GGCAGCCAGCAGTTGTTC	XM_046046447.1
nrf2	CTGGTCCGAGACATACGC CTCAGCAGACGCTCCTTC	XM_046054808.1
ho-1	AACAGAGACTGCGGAAGGTG CAGCCCGAGGGATTTCTGAG	XM_038694281.1
nqo-1	GGATTTGTTTGGACGCTCTGA GGCGCTGGCTTTGAAGTTC	XM_038701508.1
sod	CCACCAGAGGTCTCACAGCA CCACTGAACCGAAGAAGGACT	MK614712.1
gpx	ATACCAAGTCTCCTTCCCTCTGT CGTCCACCACTTTGCCATT	XM_038715030.1
nf-κb	TGATGATAACTGGCTTCGG TCAAACCTGGACCCTACCT	XM_038699793.1
il-1β	CGTGACTGACAGCAAAAAGAGG GATGCCCAGAGCCACAGTTC	XM_046034892.1
il-6	TTGAAGACGGAAGTGTGGCA TGGTGCTCAAACGCTTTCTC	XM_005728540.1
il-10	CGGCACAGAAATCCCAGAGC CAGCAGGCTCACAAAATAAACA TCT	XM_038696252.1
β-actin	AAAGGGAAATCGTGCGTGAC AAGGAAGGCTGGAAGAGGG	KJ669298.1

1.6 数据处理

增重率(Weight gain rate, WGR, %)=100×(终末体重–初始体重)/初始体重;

饲料系数(Feed conversion ratio, FCR)=干物质摄入量(g)/增重(g);

蛋白质效率(Protein efficiency ratio, PER)=体增重/蛋白摄入量;

存活率(Survival rate, SR, %)=100×最终鱼数/初始鱼数;

肝体比(Hepatopancreas index, HSI)=100×肝脏重/体重;

使用IBM SPSS 23.0统计软件对数据进行正态性及方差齐性检验, 采用单因素方差分析及Duncan's多重比较。当$P<0.05$时表示处理组间具有显著性差异, 所有数据均以平均值±标准误(mean±SE)表示。

2 结果

2.1 栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈生长性能和饲料利用的影响

大口黑鲈的生长性能和饲料利用情况见表 3。与CON组相比, GSPD组WGR呈现升高趋势, 但未呈现出显著差异($P>0.05$)。饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈的FBW、PER和SR均未产生显著影响($P>0.05$)。然而, 相较于CON和GSPD组, FCR出现了显著降低($P<0.05$)。

2.2 栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈体成分的影响

对各处理组的大口黑鲈体成分进行测定(表 4)。GSPD组粗蛋白和粗脂肪略高于其余两组, 但未呈现出显著差异($P>0.05$)。各组间鱼体水分和灰分均

表 3 饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈生长性能和饲料利用的影响(平均值±标准误, *n*=6)

Tab. 3 Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on growth performance and feed utilization of largemouth bass (mean±SE, *n*=6)

指标Index	CON	GD	GSPD
初重IBW (g)	38.20±0.17	38.18±0.19	38.17±0.18
末重FBW (g)	73.07±1.48	76.29±7.27	79.15±2.18
增重率WGR (%)	91.25±3.78	99.82±19.01	102.35±5.63
饲料系数FCR	1.27±0.04^{a}	1.24±0.06^{ab}	1.16±0.01^{b}
蛋白质效率PER	1.68±0.16	1.64±0.24	1.68±0.05
存活率SR (%)	95.55±2.22	88.89±2.22	91.11±2.22

注: 表中数据为6个重复的平均值; 表中同一行数字上标字母不同表示差异具有显著性($P<0.05$); 下同

Note: Data are means of 6 replicates. Different superscript letters in the same row indicate significant differences ($P>0.05$); The same applies below

未呈现出显著差异(P>0.05)。

2.3　栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈血浆生化的影响

为了评价饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏健康的影响, 测定了相关的血浆生化指标。结果如图 1所示, GD组相比CON组, AST、ALT和ALP水平显著升高(P<0.05)。GSPD组相比GD组, AST和ALP水平显著降低(P<0.05); GSPD组相比CON组, AST、ALT和ALP水平均无显著差异(P>0.05)。各组之间TC、TG、Glu、ALB和TP均无显著差异(P>0.05)。

表 4　饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈体成分的影响(平均值±标准误, *n*=6)

Tab. 4　Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on body composition of largemouth bass (mean±SE, n=6)

指标Index	CON	GD	GSPD
粗蛋白Crude protein	16.58±0.37	16.79±0.65	16.85±0.21
粗脂肪Crude lipid	5.56±0.54	5.49±0.42	5.61±0.58
水分Moisture	72.25±0.28	73.12±0.09	72.89±0.23
灰分Ash	3.71±0.23	3.65±0.26	3.66±0.33

2.4　栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏形态和组织学的影响

为进一步探究不同处理组大口黑鲈肝脏的变化, 从肝脏形态和组织学层面展开评价(图 2)。在肝体比方面, 相较于CON与GSPD组, 饲料中添加10 g/kg栀子的GD组肝体比显著上升(P<0.05)。这一结果表明, 饲料中添加10 g/kg栀子会致使大口黑鲈肝脏肿大, 质量增加, 而栀子发酵豆粕则能减轻这种异常的肝体比上升现象。从外观形态图和组织结构图中, 可直观观察到类似变化。与CON组相比, GD组肝脏体积明显增大, 且肝脏细胞呈现出肿胀、细胞边界模糊及细胞核萎缩等异常情况。反观GSPD组, 其肝体比与CON组相比无显著差异(P>0.05), 肝脏外观形态呈现盈润、饱满状态, 肝脏细胞的形态结构也保持完好。这些结果进一步表明饲料中添加10 g/kg栀子会对大口黑鲈肝脏组织形态造成损伤, 而添加栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏组织形态无不良影响。

2.5　栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏抗氧化酶的影响

为深入探究饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕

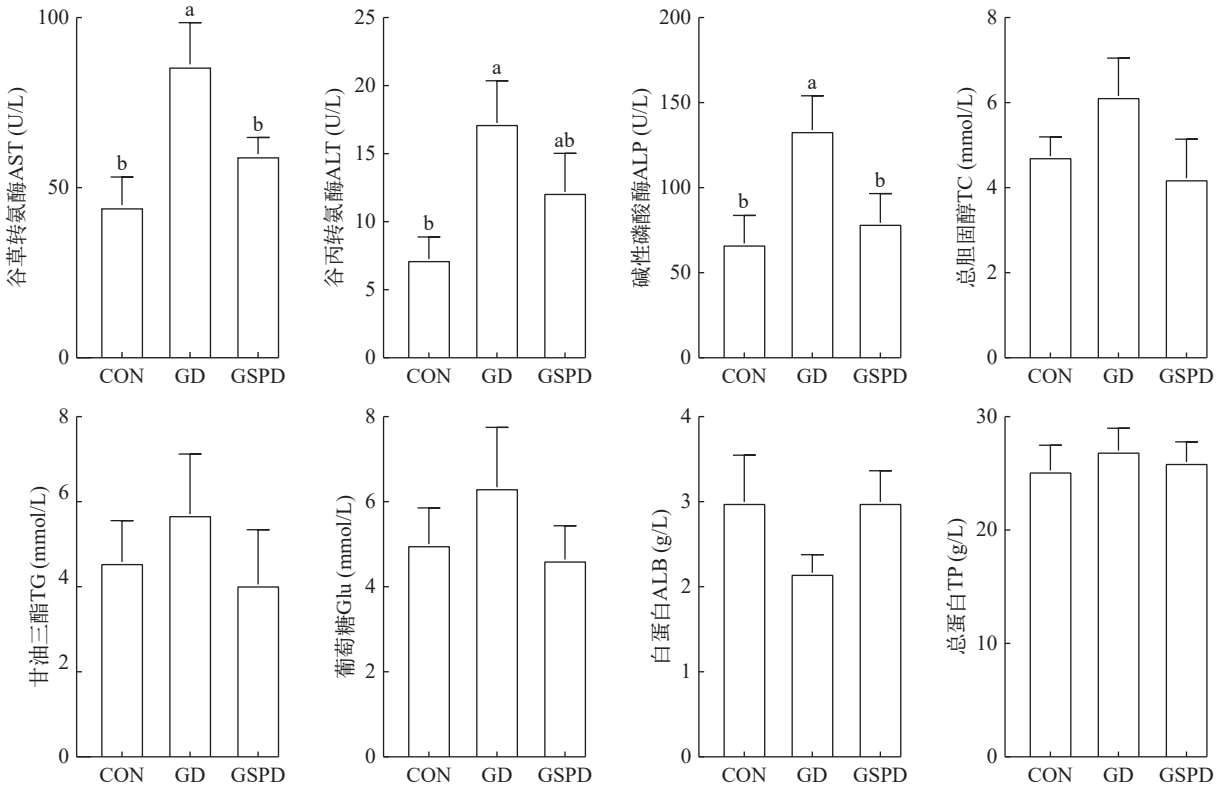

图 1　饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈血浆生化的影响

Fig. 1　Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on plasma biochemistry of largemouth bass

不同字母表示各处理组之间存在显著性差异(P<0.05); 下同

Different letters indicate significant differences among various treatments (P<0.05); the same applies below

影响大口黑鲈肝脏健康的内在机制, 本研究对肝脏抗氧化相关的酶活性展开检测(图 3)。在肝脏抗氧化酶活性层面, GD组的CAT活性与T-AOC显著低于CON和GSPD组(P<0.05); 且SOD活性方面, GD组显著低于GSPD组(P<0.05)。与之形成对比的是, GSPD组的各项抗氧化酶活性指标与CON组相比, 均未呈现出显著差异(P>0.05)。此外, 各组间GSH-Px活性无显著差异(P>0.05)。在肝脏氧化损伤相关产物方面, GD组的MDA与ROS含量显著高于CON和GSPD组(P<0.05); 而GSPD与CON组相比, 在这两项指标上无显著差异(P>0.05)。综合酶活性检测结果可知, 饲料中添加10 g/kg的栀子会对大口黑鲈肝脏造成氧化损伤; 而以栀子发酵豆粕形式添加的栀子, 能够有效降低单独添加栀子对肝脏抗氧化相关酶系统的有害影响。

2.6 栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏抗氧化相关基因的影响

肝脏抗氧化相关基因mRNA相对表达量如图 4所示。GD组相比CON和GSPD组, *keap1*基因的相对表达量显著升高, 而*nqo-1*基因的相对表达量显著降低(P<0.05); GD组相比GSPD组, *ho-1*、*sod*和*gpx*基因的相对表达量显著降低(P<0.05)。此外, GSPD组*keap1*基因的相对表达量相较于CON组也显著降低(P<0.05)。而在各组中, *nrf2*基因的相对表达量均未出现显著差异(P<0.05)。与酶活检测结果一致, 基因相对表达量数据表明饲料中添加10 g/kg的栀子可通过调控肝脏抗氧化相关基因的表达, 导致肝脏氧化损伤。与之相反, 在饲料中添加栀子发酵豆粕, 能够缓解因添加10 g/kg的栀子对抗氧化基因所造成的损害, 进而提升大口黑鲈的抗氧化能力。

2.7 栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏炎症相关基因的影响

为了探究饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏炎症的影响, 对相关的炎症基因进行检测(图 5)。相比CON和GSPD组, GD组的促炎因子*nf-kb*、*il-1β*的基因相对表达量显著升高(P<0.05); 相比CON和GSPD组, GD组的抗炎因子*il-10*的基因相对表达量显著降低(P<0.05)。此外, 相比GD组, GSPD组的促炎因子*il-6*的基因相对表达量显著降低(P<0.05)。而相比CON组, GSPD组的各项基因的相对表达量均未呈现出显著差异(P<0.05)。总体而言, 饲料中添加10 g/kg的栀子会破坏大口黑鲈肝脏的炎症平衡; 而饲料中添加栀子发酵豆粕, 则可调节肝脏炎症相关基因的表达, 维持肝脏抗炎能力。

3 讨论

3.1 栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈生长性能和饲料利用的影响

在水产养殖过程中, WGR和FCR是评价水产动物生长性能和饲料利用的重要指标[21, 22]。本实验结果表明, GD和GSPD组大口黑鲈的WGR与CON组相比, 均无显著差异。然而, 值得注意的是, GSPD

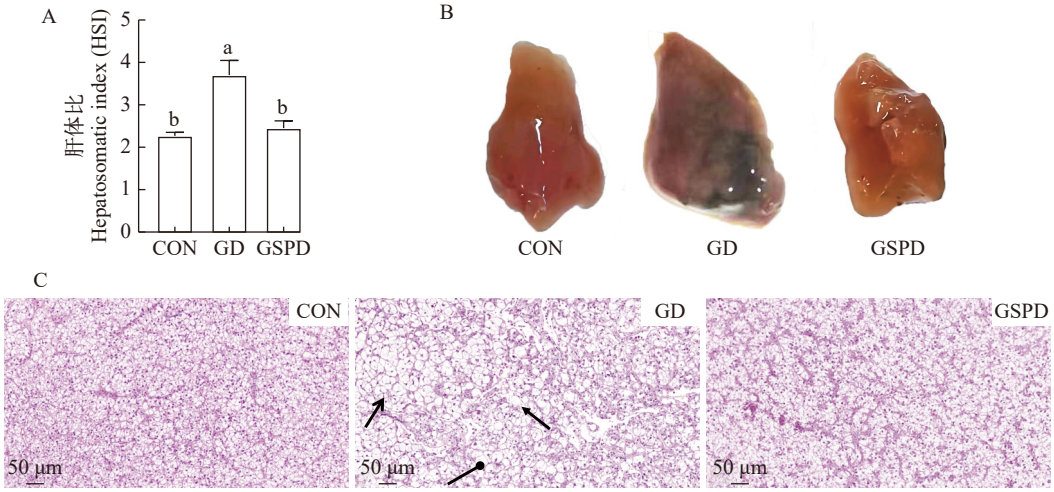

图 2 饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏形态和组织结构的影响

Fig. 2 Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on liver morphology and organizational structure of largemouth bass

A. 各处理组肝体比统计图; B. 各处理组肝脏外观形态图; C. 各处理组HE染色切片图(圆形箭头指示细胞肿胀; 实心箭头指示细胞边界消失; 开放箭头指示细胞核萎缩)

A. Statistical chart of the hepatosomatic index in each treatment group; B. Appearance morphology diagram of the liver in each treatment group; C. H & E staining section diagram of each treatment group (The circular arrow indicates cell swelling; the solid arrow indicates the disappearance of cell boundaries; the open arrow indicates nuclear atrophy)

与CON组相比, FCR显著降低。这些结果表明, 由10 g/kg剂量栀子制备的栀子发酵豆粕, 虽在大口黑鲈生长方面未展现出明显促进作用, 但在提升饲料利用效率上发挥了积极功效。这可能与发酵后饲料原料的营养成分变化有关。发酵饲料原料因含有细菌、真菌益生元和合生元等, 能够利用原料中不易为机体所消化利用的物质, 从而提高饲料原料的品质[23]。对发酵型豆粕的类似研究也证实了这一点, 发酵豆粕替代10%的鱼粉可以降低银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)的FCR[24]。以发酵乳杆菌(*Lactobacillus fermentum*)、纳豆芽孢杆菌(*Bacillus natto*)和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)发酵的豆粕直接替代饲料中5%的豆粕喂养尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*), 也具有类似的效果[25]。除发酵豆粕的有益作用外, 栀子发酵豆粕中栀子成分的转化, 也可能是影响大口黑鲈饲料利用的因素之一。在饲料中添加250和500 mg/kg的栀子与其他4味中草药的混合物, 用于喂养大黄鱼(*Larimichthys*

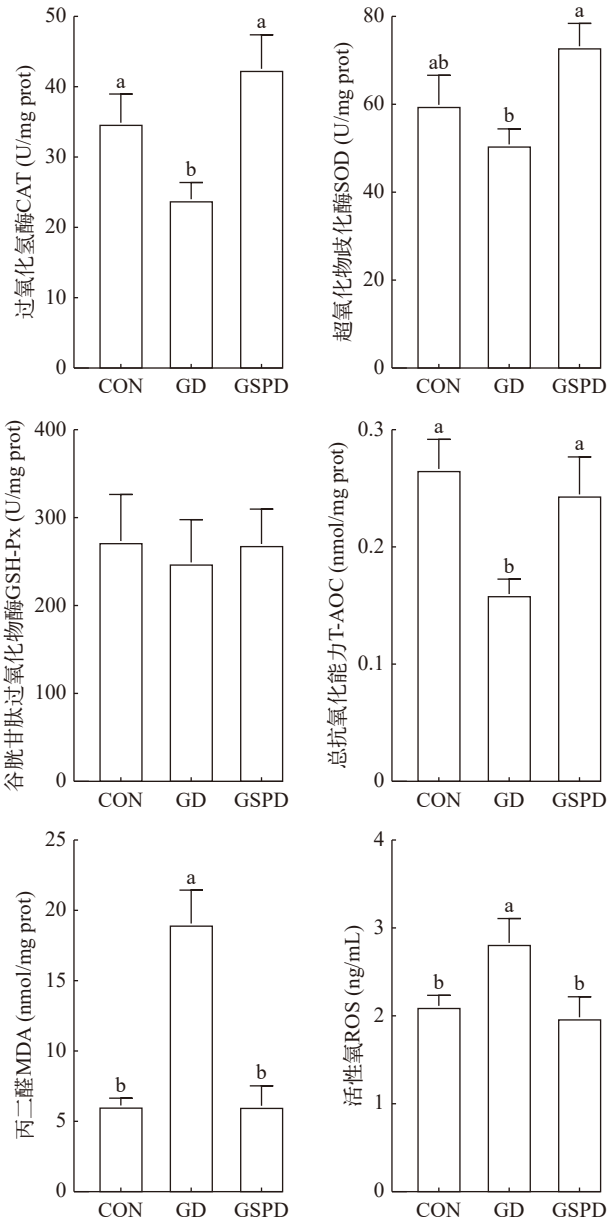

图 3　饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏抗氧化酶的影响

Fig. 3　Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on antioxidant enzymes in the liver of largemouth bass

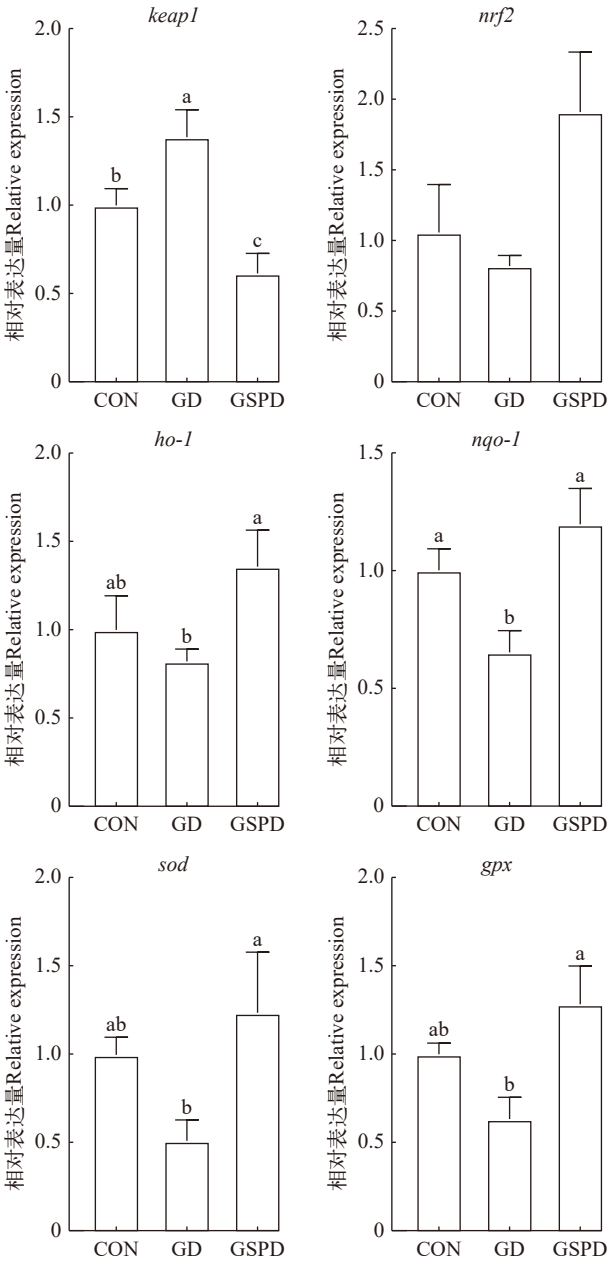

图 4　饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏抗氧化相关基因相对表达量的影响

Fig. 4　Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on relative expression levels of antioxidant-related genes in the liver of largemouth bass

crocea)幼鱼, 能够提高饲料效率[26]。总之, 本研究发现, 饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕, 对大口黑鲈的生长性能均无显著影响, 而添加栀子发酵豆粕降低了饲料系数, 这一发现为将栀子豉汤与饲料原料发酵相结合的产品, 应用于水产饲料添加剂领域提供了潜在可能性。

3.2 栀子发酵豆粕缓解高剂量栀子对大口黑鲈肝脏健康的损害

血浆生化指标常被用于评估鱼类健康水平[27]。在本研究中, 与CON组相比, GD组大口黑鲈体内的AST、ALT和ALP水平显著上升, 这一变化指示其肝脏功能受损。进一步对肝体比进行测定, 并对肝脏HE染色切片展开细致观察与分析, 清晰可见肝脏出现明显异常变化。这些结果确凿表明, 饲料中添加10 g/kg的栀子会对大口黑鲈的肝脏造成实质性损伤。在一项针对大鼠灌胃给药栀子的研究里, 10和30 g/kg剂量组在喂养7d、14d或28d时, 均出现肝细胞肥大、小叶间胆管增生、炎性细胞浸润等组织病理学改变。其中, 30 g/kg剂量组在7d便出现进食量受影响的情况, 且血浆中ALT、AST、ALP、TBA、TBIL和GLDH显著高于正常对照组; 在14d和28d, ALT含量依旧显著升高[28]。由此可见, 长期使用10 g/kg的栀子, 对鱼类和小鼠都可能产生肝毒性。这主要是因为栀子中富含大量诸如栀子黄之类的天然化合物, 其中相当一部分难以被机体完全代谢并排出体外[29]。肝脏作为多数动物体内极为重要的毒素代谢器官, 那些无法及时代谢的天然化合物会在肝脏中不断积累, 致使肝脏所受损伤日益严重[30]。

然而, 本研究发现, 当以栀子发酵豆粕形式添加10 g/kg的栀子时, 上述负面效应显著减轻, 甚至近乎消除。这一积极转变得益于发酵过程中, 栀子所含的大量栀子苷、绿原酸和西红花苷等化合物及其转化产物[31]。这些源自栀子的化合物及其转化产物, 在与发酵豆粕中的营养成分协同作用时, 极有可能发挥着关键功效[32]。鉴于这些化合物的特性与功能存在相似之处, 彼此相互作用, 从而实现增强药理活性的效果[33]。在将栀子应用于类似方剂时, 也观察到了相似的肝脏保护效果。例如, 含有栀子的茵陈蒿汤能够显著抑制高脂饮食诱导的小鼠体重增加, 同时改善其肝脏脂质代谢[34]; 栀子大黄汤则可有效缓解大鼠酒精性脂肪肝病变[35]。

上述研究结果说明, 在栀子与豆粕混合发酵过程中, 栀子所含天然化合物经微生物分解与转化, 化学结构发生改变, 进而使这些物质的药用特性发生变化, 最终实现保护肝脏健康、减少毒副作用的功效[36]。

3.3 栀子发酵豆粕通过提高抗氧化能力保护大口黑鲈肝脏健康

抗氧化能力是衡量肝脏健康状况的关键指标之一[37]。基于此, 本研究进一步探究肝脏抗氧化相关指标的变化, 旨在明确栀子或栀子发酵豆粕影响大口黑鲈肝脏健康的机制。研究结果显示, 饲料中添加10 g/kg的栀子时, 大口黑鲈抗氧化防御能力受损, 具体表现为抗氧化酶SOD、CAT活性与T-AOC降低, 抗氧化相关基因*keap1*相对表达量升高, 而*ho-1*、*nqo-1*、*sod*和*gpx*相对表达量降低。抗氧化酶作为机体第一道抗氧化防线[38], 在整个防御体系中至关重要且不可或缺, 尤其与线粒体能量产生途径(MEPP)产生的超氧阴离子自由基清除过程紧密相关[39]。在生物体内, 线粒体是产生ROS的主要场所, 当细胞呼吸电子传递链发生电子泄漏, 电子会直接与氧气结合生成超氧阴离子(一种ROS)[40]。MDA是过氧化指标之一, 其产生受抗氧化相关酶抑制[41]。有研究表明, 大鼠口服574 mg/kg的栀子成分栀子苷, 会引发肝脏氧化应激, 抗氧化相关基因和酶均

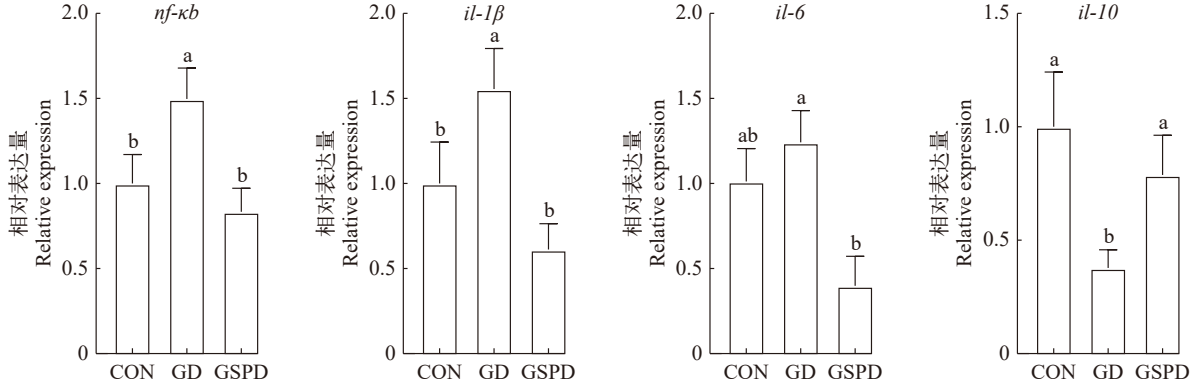

图 5 饲料中添加栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈肝脏炎症相关基因相对表达量的影响

Fig. 5 Effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the feed on relative expression levels of genes related to liver inflammation of largemouth bass

受影响, 且MDA含量升高[42]。这表明GD组大口黑鲈的氧化损伤, 可能与大量天然化合物诱导细胞内ROS产生有关。

然而, 在添加栀子发酵豆粕时, 这种氧化损伤得到显著缓解, 这极有可能与栀子和豆粕的抗氧化特性相关。豆类产品富含多种天然抗氧化剂与增效剂, 且彼此间存在相互作用[43], 例如大豆异黄酮苷及其衍生物、磷脂、生育酚、氨基酸和肽等抗氧化化合物。与此同时, 其中的芳香胺和巯基化合物, 很可能也发挥着一定抗氧化功效[44]。并且, 在豆粕发酵后, 还展现出了额外的抗氧化功能。以育肥猪为例, 在其饲料中添加发酵豆粕, 能提高CAT活性及T-AOC, 显著增强育肥猪抗氧化能力[45]。在水产动物方面, 饲料中用发酵豆粕替代15%鱼粉, 可有效增强石斑鱼(*Sebastes schlegeli*)抗氧化能力[46]; 扣囊复膜孢酵母(*Saccharomycopsis fibuligera*)、特基拉芽孢杆菌(*Bacillus tequilensis*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和阿氏芽孢杆菌(*Bacillus aryabhattai*) 4种菌株发酵的豆粕, 替代34.32%未发酵豆粕, 能显著提升大菱鲆幼鱼(*Scophthalmus maximus* L.)抗氧化能力[47]。此外, 栀子中的环烯醚萜类化合物同样具备抗氧化能力[48]。有研究发现, 这些化合物可通过激活PI3K-Akt信号通路, 促使*sod*和*cat*等抗氧化基因相对表达量升高, 进而防止H_2O_2诱导的黑色素细胞氧化损伤[49]。本研究运用双向固体发酵技术, 以豆粕为发酵基质与栀子协同发酵。栀子和豆粕中的抗氧化物质之间或存在协同增效, 从而在一定程度上展现出较强抗氧化能力。综合来看, 饲料中添加10 g/kg的栀子会造成大口黑鲈肝脏氧化损伤, 而添加栀子发酵豆粕则能提升抗氧化能力、缓解氧化应激, 对肝脏健康起保护作用。

3.4　栀子发酵豆粕通过提高抗炎能力保护大口黑鲈肝脏健康

除抗氧化能力外, 抗炎能力与肝脏健康亦紧密相关, 对维持肝脏正常生理功能至关重要[50]。细胞因子在炎症的诱发与抑制进程中扮演着关键角色[51]。常见的促炎细胞因子有TNF-α、IL-1β和IL-6[52]。NF-κB能够响应包括促炎细胞因子在内的多种刺激而被激活, 其中TNF-α是最为典型的激活剂[53]。IL-10作为一种抗炎细胞因子, 可抑制TNF-α、IFN-γ和IL-6等促炎因子的生成[54]。当饲料中添加10g/kg的栀子时, 大口黑鲈肝脏中*NF-κB*、*IL-1β*和*IL-6*的基因相对表达量上升, 而*IL-10*的基因相对表达量下降, 这意味着此时大口黑鲈肝脏的炎症水平提高, 抗炎能力下降。

值得注意的是, 饲料中添加栀子发酵豆粕却逆转了这一状况, 与前文所述的抗氧化作用呈现出相似趋势。这极有可能是因为栀子与豆粕的混合物在发酵过程中, 某些具有抗炎特性的成分得以保留, 甚至重新生成。研究显示, 栀子中的活性成分, 尤其是栀子苷和京尼平, 具备显著的抗炎活性[55]。在与豆粕共同发酵时, 这些抗炎成分不仅得以留存, 还转化为其他具有类似活性的物质。与此同时, 豆粕所含的抗炎物质, 如多酚类, 进一步增强了栀子发酵豆粕整体的抗炎效能[56]。

上述研究结果说明, 当以栀子发酵豆粕形式在饲料中添加10 g/kg的栀子时, 能够有效缓解高剂量栀子引发的炎症反应, 提升肝脏抗炎能力, 进而保护肝脏健康。

4　结论

本研究以传统栀子豉汤为参考并进行改进, 制备得到栀子发酵豆粕; 并且围绕栀子或栀子发酵豆粕对大口黑鲈的影响开展研究。结果显示, 饲料中添加栀子发酵豆粕能够提升饲料利用效率。在肝脏健康方面, 饲料中添加10 g/kg的栀子会导致大口黑鲈肝脏氧化应激与炎症水平上升, 引发实质性损伤。而饲料中添加栀子发酵豆粕可通过调控相关酶活性与基因表达, 增强肝脏抗氧化与抗炎能力, 有效缓解高剂量栀子所致的氧化损伤及炎症反应, 对大口黑鲈肝脏健康起到保护作用, 为其在水产饲料添加剂领域提供了新的应用策略。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

[1] Xiao W, Li S, Wang S, *et al*. Chemistry and bioactivity of *Gardenia jasminoides* [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2017, **25**(1): 43-61.

[2] Chen L, Li M, Yang Z, *et al*. *Gardenia jasminoides* Ellis: Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological and industrial applications of an important traditional Chinese medicine [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020(**257**): 112829.

[3] Phatak R S. Phytochemistry, pharmacological activities and intellectual property landscape of *Gardenia jasminoides* Ellis: a review [J]. *Pharmacognosy Journal*, 2015, **7**(5): 254-265.

[4] Wang M, Li S, Lange K W, *et al*. Focusing on the pharmacological effects of iridoids and crocetin and its ester derivatives of *Gardenia jasminoides* [J]. *Current Pharmacology Reports*, 2019, **5**(3): 150-162.

[5] Zhang Y. Effect of *Gardenia jasminoides* Ellis extract on body color, growth and muscle nutrition of *Larimichthys crocea* [J]. *Feed Research*, 2023, **46**(19): 41-46. [张艺. 黄栀子提取液对大黄鱼体色、生长和肌肉营养的影响

[J]. 饲料研究, 2023, **46**(19): 41-46.]

[6] Hu S M, Gong Z X, Wen J, *et al*. Effects of dried fruit powder of *Gardenia jasminoides* Ellis on egg quality and serum immune indexes of Xianghuang hens [J]. *China Feed*, 2023(4): 132-135. [胡松梅, 龚泽修, 文健, 等. 黄栀子果实干粉对湘黄鸡蛋品质和免疫功能的影响 [J]. 中国饲料, 2023(4): 132-135.]

[7] Zou S, Sun C, Li F, *et al*. Effect of *Gardenia pomace* supplementation on growth performance, blood metabolites, immune and antioxidant indices, and meat quality in Xiangcun pigs [J]. *Animals*, 2022, **12**(17): 2280.

[8] Tang X, Wang Y, Yang W, *et al*. Acute and subchronic oral toxicity study of *Gardenia* yellow E500 in sprague-dawley rats [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, **17**(2): 531.

[9] Yu A Q, Wang X X. Clinical significance of compatibility of Chinese herbal medicine [J]. *Tianjin Pharmacy*, 1994, **6**(4): 3-5. [于爱群, 王新现. 浅谈中草药配伍的临床意义 [J]. 天津药学, 1994, **6**(4): 3-5.]

[10] Guo M Y, Zhang X L, Sun Y. Exploration on Zhizichi decoction and its derived formulas' evolutionary rule in the way of "formula-pattern element correspondence" [J]. *World Chinese Medicine*, 2019, **14**(6): 1590-1593. [郭梦莹, 张鑫蕾, 孙燕. 从 "方-证要素对应" 探讨栀子豉汤及其衍化方的演化规律 [J]. 世界中医药, 2019, **14**(6): 1590-1593.]

[11] Dai Y J, Wang Y, Zhang X, *et al*. Research progress of quality control methods and pharmacokinetics of gardeniae fructus and its related compounds [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2017, **23**(24): 208-216. [戴业佳, 王云, 张雪, 等. 栀子及其相关复方的质控方法及药代动力学研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, **23**(24): 208-216.]

[12] Li R, Hou G F, Song Z H, *et al*. Nutritional value of enzyme-treated soybean meal, concentrated degossypolized cottonseed protein, dried porcine solubles and fish meal for 10-to-20 kg pigs [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2019(252): 23-33.

[13] Chen L Y, Xing Y, Mi Y G, *et al*. Preparation and main components content change of solid-state fermentation product of Zhizichi decoction [J]. *China Brewing*, 2021, **40**(3): 101-105. [陈丽艳, 邢怡, 宓月光, 等. 栀子豉汤固体发酵菌质的制备及主要成分含量变化 [J]. 中国酿造, 2021, **40**(3): 101-105.]

[14] Yang X J, Wang J S, Guan J J, *et al*. Nutritional value of soybean meal and its influencing factors [J]. *Cereal & Feed Industry*, 2013(3): 44-46. [杨小佳, 王金水, 管军军, 等. 豆粕的营养价值及影响因素 [J]. 粮食与饲料工业, 2013(3): 44-46.]

[15] Dawood M A O, Koshio S. Application of fermentation strategy in aquafeed for sustainable aquaculture [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, **12**(2): 987-1002.

[16] Fu X, Luo M, Zheng G, *et al*. Determination and characterization of a novel birnavirus associated with massive mortality in largemouth bass [J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, **10**(2): e0171621.

[17] Hu Y, Zhou Y, Shan L, *et al*. Combination therapy with *Polygala tenuifolia* Willd and *Phellodendron chinense* Schneid extracts provides effective protection against *Micropterus* Salmoides Rhabdovirus in largemouth bass [J]. *Aquaculture*, 2024(579): 740246.

[18] Pei C, Song H, Zhu L, *et al*. Identification of *Aeromonas veronii* isolated from largemouth bass *Micropterus salmoides* and histopathological analysis [J]. *Aquaculture*, 2021(540): 736707.

[19] Nie Z, Zheng Z, Zhu H, *et al*. Effects of submerged macrophytes (*Elodea nuttallii*) on water quality and microbial communities of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) ponds [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022(13): 1050699.

[20] Yu P, Chen H, Liu M, *et al*. Current status and application of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) germplasm resources [J]. *Reproduction and Breeding*, 2024, **4**(2): 73-82.

[21] Cai W, Fu L, Liu C, *et al*. Dietary ribose supplementation improves flesh quality through purine metabolism in gibel carp (*Carassius auratus* Gibelio) [J]. *Animal Nutrition*, 2023(**13**): 50-63.

[22] Bai R X, Hua L H, Liu H K, *et al*. Dietary extraction of *Atractylodes macrocephala* koidz on growth performance, health and disease resistance of *Macrobrachium nipponense* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2024, **48**(1): 86-98. [白茹雪, 花罗海, 刘昊昆, 等. 饲料中添加白术提取物对日本沼虾生长、健康和抗病力的影响 [J]. 水生生物学报, 2024, **48**(1): 86-98.]

[23] Polyorach S, Nampukdee R, Wanapat M, *et al*. Microbial fermented liquid supplementation improves nutrient digestibility, feed intake, and milk production in lactating dairy cows fed total mixed ration [J]. *Animals*, 2023, **13**(5): 933.

[24] Zhang Q, Guo M, Li F, *et al*. Evaluation of fermented soybean meal to replace a portion fish meal on growth performance, antioxidant capacity, immunity, and mTOR signaling pathway of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2023(2023): 2558173.

[25] Li L, Song J, Peng C, *et al*. Co-occurrence network of microbes linking growth and immunity parameters with the gut microbiota in Nile *Tilapia* (*Oreochromis niloticus*) after feeding with fermented soybean meal [J]. *Aquaculture Reports*, 2022(**26**): 101280.

[26] Zhang H, Wang X, Qu P, *et al*. Herbs mixture improves growth performance, intestine and liver histology, and immunity of juvenile large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. *Aquaculture Reports*, 2024(**36**): 102136.

[27] Meng X L, Li S, Qin C B, *et al*. Intestinal microbiota and lipid metabolism responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) following copper exposure [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018(**160**): 257-264.

[28] Wang Q R, Zhou B, Zhang Z A, *et al*. Time-and dose-effect of *Gardenia Jasminoides* extract on hepatoxicity in

rats [J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2017, **39**(4): 689-694. [王清然, 周斌, 张泽安, 等. 栀子水提物致大鼠肝脏毒性的时效与量效关系 [J]. 中成药, 2017, **39**(4): 689-694.]

[29] Fang S, Wang T, Li Y, *et al*. *Gardenia jasminoides* Ellis polysaccharide ameliorates cholestatic liver injury by alleviating gut microbiota dysbiosis and inhibiting the TLR4/NF-κB signaling pathway [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022(205): 23-36.

[30] Franco-Bourland R E, Méndez-Sánchez N. The liver is the key organ for the development of metabolic syndrome [J]. *Annals of Hepatology*, 2011, **10**(2): 216-217.

[31] Hu Y, Lei X Y, Li H G, *et al*. Determination of effective components of *Gardenia jasminenoides* [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2023, **39**(28): 126-130. [胡瑶, 雷星宇, 李宏告, 等. 不同产地栀子主要成分含量的测定 [J]. 中国农学通报, 2023, **39**(28): 126-130.]

[32] Wang S, Hu Y, Tan W, *et al*. Compatibility art of traditional Chinese medicine: from the perspective of herb pairs [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, **143**(2): 412-423.

[33] Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow [J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2006, **27**(1): 1-93.

[34] Xu L, Cui H. Yinchenhao Tang alleviates high fat diet induced NAFLD by increasing NR1H4 and APOA1 expression [J]. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2023, **13**(4): 325-336.

[35] Yang Z, LI X, Zhou B, *et al*. Protective effect of Zhi Zi Da Huang Tang on rats with alcoholic fatty liver [J]. *Journal of Jilin University Medicine Edition*, 2017, **43**(3): 555-560.

[36] Cao G, Ma F, Xu J, *et al*. Microbial community succession and toxic alkaloids change during fermentation of Huafeng Dan Yaomu [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2020, **70**(4): 318-325.

[37] Salehi-Sahlabadi A, Mokari A, Elhamkia M, *et al*. Dietary total antioxidant capacity and risk of non-alcoholic fatty liver disease: a case-control study [J]. *Journal of Research in Health Sciences*, 2020, **20**(3): e00486.

[38] Ighodaro O M, Akinloye O A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid [J]. *Alexandria Journal of Medicine*, 2018, **54**(4): 287-293.

[39] Alía M, Horcajo C, Bravo L, *et al*. Effect of grape antioxidant dietary fiber on the total antioxidant capacity and the activity of liver antioxidant enzymes in rats [J]. *Nutrition Research*, 2003, **23**(9): 1251-1267.

[40] Tabassum N, Kheya I S, Ibn Asaduzzaman S A, *et al*. A review on the possible leakage of electrons through the electron transport chain within mitochondria [J]. *Journal of Biomedical Research & Environmental Sciences*, 2020, **1**(4): 105-113.

[41] Rukmini M S, D'Souza B, D'Souza V. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients [J]. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 2004, **19**(2): 114-118.

[42] Ding Y, Zhang T, Tao J S, *et al*. Potential hepatotoxicity of geniposide, the major iridoid glycoside in dried ripe fruits of *Gardenia jasminoides* (Zhi-zi) [J]. *Natural Product Research*, 2013, **27**(10): 929-933.

[43] Wang S, Meckling K A, Marcone M F, *et al*. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, **59**(3): 960-968.

[44] Hayes R E, Bookwalter G N, Bagley E B. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives–a review [J]. *Journal of Food Science*, 1977, **42**(6): 1527-1532.

[45] Xie K, Dai Y, Zhang A, *et al*. Effects of fermented soybean meal on growth performance, meat quality, and antioxidant capacity in finishing pigs [J]. *Journal of Functional Foods*, 2022(94): 105128.

[46] Lee S M, Mohammadi Azarm H, Chang K H. Effects of dietary inclusion of fermented soybean meal on growth, body composition, antioxidant enzyme activity and disease resistance of rockfish (*Sebastes schlegeli*) [J]. *Aquaculture*, 2016(459): 110-116.

[47] Dan Z, Zhang W, Zheng J, *et al*. Effects of fishmeal substitution by four fermented soybean meals on growth, antioxidant capacity and inflammation responses of turbot juveniles (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *Aquaculture*, 2022(560): 738414.

[48] Debnath T, Park P J, Deb Nath N C, *et al*. Antioxidant activity of *Gardenia jasminoides* Ellis fruit extracts [J]. *Food Chemistry*, 2011, **128**(3): 697-703.

[49] Lu W, Zhao Y, Kong Y, *et al*. Geniposide prevents H_2O_2-induced oxidative damage in melanocytes by activating the PI3K–Akt signalling pathway [J]. *Clinical and Experimental Dermatology*, 2018, **43**(6): 667-674.

[50] Ambade A, Mandrekar P. Oxidative stress and inflammation: essential partners in alcoholic liver disease [J]. *International Journal of Hepatology*, 2012, **2012**(1): 853175.

[51] Muzamil A, Tahir H M, Ali S, *et al*. Inflammatory process and role of cytokines in inflammation: an overview [J]. *Punjab University Journal of Zoology*, 2022, **36**(2): 235-250.

[52] Cavalcanti Y V N, Brelaz M C A, de Andrade Lemoine Neves J K, *et al*. Role of TNF-alpha, IFN-gamma, and IL-10 in the development of pulmonary tuberculosis [J]. *Pulmonary Medicine*, 2012(2012): 745483.

[53] Ashall L, Horton C A, Nelson D E, *et al*. Pulsatile stimulation determines timing and specificity of NF-κB-dependent transcription [J]. *Science*, 2009, **324**(5924): 242-246.

[54] Li Q Y, Xu H Y, Yang H J. Effect of proinflammatory factors TNF-α, IL-1β, IL-6 on neuropathic pain [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2017, **42**(19): 3709-3712.

[55] Koo H J, Song Y S, Kim H J, *et al*. Antiinflammatory effects of genipin, an active principle of *gardenia* [J].

European Journal of Pharmacology, 2004, **495**(2/3): 201-208.

[56] Mahmoud S M, Mohamed A M, Attia N Y. Hydrolysis of soybean meal protein by pepsin and its effect as antimicrobial and anti-inflammatory [J]. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 2024, **62**(1): 67-76.

DIETARY INCLUSION OF *GARDENIA JASMINOIDES* ELLIS OR FERMENTED SOYBEAN MEAL WITH *GARDENIA JASMINOIDES* ELLIS ON GROWTH PERFORMANCE, FEED UTILIZATION, AND LIVER HEALTH OF LARGEMOUTH BASS (*MICROPTERUS SALMOIDES*)

ZHANG Zhi-Wei[1, 2], LIU Hao-Kun[1], HAN Dong[1, 2, 3], ZHANG Zhi-Min[1], ZHU Xiao-Ming[1], JIN Jun-Yan[1], YANG Yun-Xia[1] and XIE Shou-Qi[1, 2, 3]

(1. *State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology*, *Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences*, *Wuhan* 430072, *China*; 2. *University of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100049, *China*; 3. *Hubei Engineering Research Center for Aquatic Animal Nutrition and Feed*, *Wuhan* 430072, *China*)

Abstract: This study aimed to investigate the effects of adding *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the diet on largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Referring to the traditional Zhizichi Decoction, *Gardenia jasminoides* Ellis and soybean meal were mixed at a mass ratio of 3:10 and fermented with *Actinomucor elegans* for 48h to prepare fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis. The experiment included three groups: a control group (CON) without the addition of *Gardenia jasminoides* Ellis; a *Gardenia jasminoides* Ellis addition group (GD) with an addition amount of 10 g/kg; and a group (GSPD) with an equivalent amount of *Gardenia jasminoides* Ellis delivered via fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis. Isonitrogenous and isolipidic diets were fed to largemouth bass with an initial body weight of (38.19±0.18) g in a recirculating water system for a 7-week feeding trial. The results showed that there was no significant difference in weight gain rate (WGR) between the GD and the GSPD group compared with the CON group (P>0.05), however, the feed conversion ratio (FCR) of the GSPD group was significantly lower (P<0.05). In terms of liver health indicators, GD group exhibited significantly higher plasma aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), and hepatosomatic index (HSI) compared to CON group (P<0.05), with abnormalities such as cell swelling and nuclear atrophy in the liver. In contrast, compared with the GD group, the plasma AST and ALP levels in the GSPD group were significantly lower (P<0.05), and there was no significant difference in the HSI between the GSPD group and the CON group (P>0.05). Regarding the antioxidant capacity, the activities of catalase (CAT), total antioxidant capacity (T-AOC), and superoxide dismutase (SOD) in the GSPD group were significantly higher than those in the GD group (P<0.05), and the contents of malondialdehyde (MDA) and reactive oxygen species (ROS) were significantly lower than those in the GD group (P<0.05), with no significant differences compared with the CON group (P>0.05). The detection of antioxidant-related genes showed that the relative expression level of the *keap1* gene in the GSPD group was significantly lower than that in the CON and the GD group (P<0.05), and the relative expression levels of *nqo-1*, *ho-1*, *sod*, and *gpx* genes were significantly higher than those in the GD group (P<0.05). The detection of inflammation-related genes revealed that the relative expression levels of pro-inflammatory factor genes *nf-κb*, *il-1β*, and *il-6* in the GSPD group were significantly lower than those in the GD group (P<0.05), and the relative expression level of the anti-inflammatory factor gene *il-10* was significantly higher than that in the GD group (P<0.05), with no significant differences compared with the CON group (P>0.05). In conclusion, the addition of *Gardenia jasminoides* Ellis or fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis to the diet had no obvious effect on the growth of largemouth bass, but fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis could improve feed utilization efficiency. A dosage of 10 g/kg *Gardenia jasminoides* Ellis could damage the liver of largemouth bass, while fermented soybean meal with *Gardenia jasminoides* Ellis enhanced the antioxidant and anti-inflammatory abilities of the body, playing a protective role in liver health.

Key words: *Gardenia jasminoides* Ellis; Zhizichi Decoction; Fermented soybean meal; Feed utilization; Liver health; *Micropterus salmoides*