

暂养过程中亚硒酸钠对 斑点叉尾鮰免疫应激的缓解作用

钼晓艳¹, 李海蓝¹, 赵雅静², 刘舒彦¹, 李湃¹, 廖涛¹, 熊光权¹

(1. 湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064)

(2. 兰州理工大学石油化工学院, 甘肃兰州 730000)

摘要: 为阐明暂养过程中亚硒酸钠对斑点叉尾鮰血液指标的影响, 本研究将斑点叉尾鮰随机分为4组(每组20条, 鱼水比130 g:1 L), 添加亚硒酸钠(Na_2SeO_3)至水中初始浓度分别为0(对照组)、0.1、0.2、0.5 mg/L, 禁食暂养4 d, 每天取样检测鮰鱼肝脏代谢、能量代谢、免疫蛋白及氧化应激等相关血清生化指标。结果表明, 暂养初期, 0.1 mg/L Na_2SeO_3 组血清中谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)指标值显著($p<0.05$)低于0.2 mg/L组和0.5 mg/L组。随着暂养天数增加, Na_2SeO_3 组血清ALT活力和AST活力总体呈下降趋势; 其中0.1 mg/L Na_2SeO_3 组暂养2 d时, ALT和AST活力跟对照组相比均显著降低($p<0.05$), 最大降幅分别达75.39%和170.13%。随暂养时间延长, 0.1 mg/L Na_2SeO_3 组MDA浓度大部分显著($p<0.05$)低于0.2 mg/L组和0.5 mg/L组; 血糖先显著升高($p<0.05$)后显著降低($p<0.05$), 与对照组趋势相反, 延缓了血糖下降速率。以上结果表明, 鱼水比130 g:1 L时, Na_2SeO_3 在水中初始浓度0.1 mg/L暂养2 d左右, 可缓解斑点叉尾鮰的应激反应、延缓禁食导致的血糖降低过程并提高其抗氧化能力。

关键词: 斑点叉尾鮰; 短期暂养; 亚硒酸钠; 血液生化指标

文章编号: 1673-9078(2020)11-147-153

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.11.0439

Alleviating Action of Sodium Selenite on Immunological Stress in *Ictalurus punctatus* during Temporary Cultivation

ZU Xiao-yan¹, LI Hai-lan¹, ZHAO Ya-jing², LIU Shu-yan¹, LI Pai¹, LIAO Tao¹, XIONG Guang-quan¹

(1. Institute of Agricultural Products Processing and Nuclear Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

(2. College of Petrochemical, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730000, China)

Abstract: To determine the effect of sodium selenite (Na_2SeO_3) on blood indexes of *Ictalurus punctatus* during the process of temporary cultivation, in this study, the *Ictalurus punctatus* were randomly divided into four groups ($n=20$ with fish water ratio of 130 g: 1 L in each group), the Na_2SeO_3 was added to the water, and the initial concentrations were 0 (control group), 0.1, 0.2, 0.5 mg/L, respectively. Temporary cultivation for 4 days with fasting, the related serum biochemical indexes such as liver metabolism, energy metabolism, immune protein and oxidative stress were detected every day. The results showed that, at the initial stage of cultivation, the alanine aminotransferase (ALT) and glutamic oxaloacetic transaminase (AST) in serum of 0.1 mg/L Na_2SeO_3 group were significantly lower than that of 0.2 mg/L group and 0.5 mg/L group ($p<0.05$). With the increase of cultivation days, ALT and AST activities in serum in the Na_2SeO_3 groups were decreased. And the activities of ALT and AST in serum of 0.1 mg/L Na_2SeO_3 group were significantly reduced in the 2 days of temporary cultivation ($p<0.05$) compared with the control group, amounted to 75.39% and 170.13% respectively. With the prolongation of cultivation time, the concentration of MDA in the 0.1 mg/L

引文格式:

钼晓艳,李海蓝,赵雅静,等.暂养过程中亚硒酸钠对斑点叉尾鮰免疫应激的缓解作用[J].现代食品科技,2020,36(11):147-153

ZU Xiao-yan, LI Hai-lan, ZHAO Ya-jing, et al. Alleviating action of sodium selenite on immunological stress in *Ictalurus punctatus* during temporary cultivation [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(11): 147-153

收稿日期: 2020-05-11

基金项目: 现代农业产业技术体系专项资金(CARS-46); 湖北省农业科技创新中心项目(2020-620-000-001-036)

作者简介: 钼晓艳(1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 水产品保鲜与加工

通讯作者: 熊光权(1965-), 男, 研究员, 研究方向: 水产品保鲜与加工

Na₂SeO₃ group was significantly lower than that in the 0.2 mg/L and 0.5mg/L groups. Moreover, the blood glucose in the 0.1 mg/L Na₂SeO₃ group increased significantly ($p<0.05$) at first and then decreased significantly ($p<0.05$) with the increase of cultivation time, which was contrary to the trend of the control group, delaying the rate of blood glucose decline. The above results showed that when the fish water ratio was 130 g:1 L, the initial concentration of Na₂SeO₃ in water was 0.1 mg / L for about 2 days, which could alleviate the stress response, delay the process of blood glucose reduction caused by fasting, and improve the antioxidant capacity of *Ictalurus punctatus*.

Key words: *Ictalurus punctatus*; temporary cultivation; sodium selenite; blood biochemical indexes

斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*) 又称为沟鲶、钳鱼, 属于鲶形目 (*Siluriformes*), 鮰科 (*Ictaluridae*) 鱼类, 原产于北美洲, 1984 年从美国引进后在我国大规模养殖^[1]。斑点叉尾鮰由于肉质细嫩深受消费者喜爱, 并且因其具有抗病、适应能力强、易饲养、产量高等优点^[2], 现已成为我国重要的经济鱼类之一。

暂养是水产品保鲜活运过程中预防鱼体应激损伤和提高存活率不可或缺的一环^[3]。在鱼体应激时, 由于肝脏和肾脏组织细胞膜的通透性变大, 谷丙转氨酶 (Alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶 (Aspartate aminotransferase, AST)、尿素 (Urea)、肌酐 (Creatinine, Crea) 等会释放进入血液^[4-7]; 血糖 (Glucose, GLU) 是鱼体能量代谢的主要指标^[3]; 谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione peroxidase, GSH-Px)、总超氧化物歧化酶 (Total superoxide dismutase, T-SOD) 和丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 是机体重要的抗氧化和脂质过氧化指标^[8]。以上血液生化指标可一定程度上反映暂养过程中, 鮰鱼的肝脏和肾脏功能、能量代谢水平及氧化应激水平。

硒是人和动物体不可缺少的微量元素, 具有抗氧化和提高免疫力等特性^[9], 可作为活性位点控制 GSH-Px 合成, 阻断自由基对机体损伤, 提高机体抗氧化能力^[10]。硒可以促进 mRNA 翻译蛋白质的过程, 维护细胞膜结构完整性, 防止过氧化物在细胞内蓄积, 保护细胞免受损伤^[11]。硒还可以促进淋巴细胞增殖, 提高动物体免疫力^[12]。有研究表明, 石斑鱼 (*Epinephelus*) 的亚硒酸钠 (Na₂SeO₃) 最佳添加量为 0.90 mg/L^[13], 军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 为 0.90 mg/kg^[14], 大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 幼鱼为 0.18 mg/kg^[15], 鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*) 为 0.40 mg/kg^[16], 不同种类的鱼对 Na₂SeO₃ 添加量表现出不同的适应程度。

目前, 尚未发现 Na₂SeO₃ 在斑点叉尾鮰暂养中应用的研究报道。因此, 本文以斑点叉尾鮰为研究对象, 探讨不同浓度 Na₂SeO₃ 和暂养时间对鮰鱼血液中肝脏代谢、能量代谢、免疫蛋白及氧化应激等相关指标的影响, 确定其最佳添加浓度和时间, 以期提高鮰鱼血液生化指标调控的机理性认识, 并为斑点叉尾鮰的暂

养恢复、应激预防和保鲜活运提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

斑点叉尾鮰由湖北嘉鱼县三湖渔业有限责任公司提供; GSH-PX、T-SOD 和 MDA 试剂盒由南京建成生物工程研究所公司提供; Na₂SeO₃ 由成都蜀星饲料有限公司提供; 乌拉坦等分析纯试剂由国药集团化学试剂有限公司提供。

UH5300 紫外-可见分光光度计, 日本株式会社日立高新技术公司; TGL-16M 离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; BS-220 型全自动血液生化分析仪, 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; HH-1 数显恒温水浴锅, 江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 暂养

斑点叉尾鮰随机分配为 4 组, 每组 20 条 (体重 0.65±0.05 kg/条), 鱼水比 130 g: 1 L, 水温 20~22 °C (夏季暂养)、溶解氧 5~6 mg/L, 禁食暂养 4 d。分别向水中添加 Na₂SeO₃, 使水中 Na₂SeO₃ 初始浓度分别为 0 (对照组)、0.1、0.2、0.5 mg/L, 即每组鮰鱼对 Na₂SeO₃ 的初始占有量约为 0、1.54、3.08、7.69 mg/kg。水中 Na₂SeO₃ 被鱼体摄取, 1 d 吸收利用率约为 5%。暂养 2 d 后换水一次, 并添加 Na₂SeO₃ 至换水前浓度。

1.2.2 血液生化指标测定

试验周期中每天取样, 不同组别的鮰鱼用乌拉坦 (200 g/L) 快速麻醉后尾椎取血, 血液样品 4 °C 冰箱静置 4 h, 3500 r/min 离心 10 min 后取血清, 过 0.45 μm 滤膜, 备用。使用全自动血液生化分析仪测定 Urea、Crea、GLU、白蛋白 (Albumin, ALB) 和球蛋白 (Globulin, GLB) 含量, 并计算白球比 (A/G)。ALT、AST、碱性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, ALP)、乳酸脱氢酶 (Lactate dehydrogenase, LDH) 采用南京建成生物工程研究所相关试剂盒测定。

1.2.3 血清中 GSH-Px 活力的测定

按照南京建成 GSH-Px 测试盒说明书加入试剂,

经过 5 min 预温和 5 min 反应后, 3500 r/min 离心 10 min, 取 1 mL 上清液作显色反应。按说明书加入显色反应试剂, 混匀后室温放置 15 min, 于波长 412 nm 处测定吸光值, 蒸馏水调零。规定每 0.1 mL 血清在 37 °C 反应 5 min, 扣除非酶促反应作用, 使反应体系中 GSH 浓度降低 1 μmol 为一个活力单位, GSH-Px 活力计算公式如下:

$$\text{GSH-Px (U)} = \frac{\text{对照OD值} - \text{测定OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times C \times n \times n_0$$

式中, C: 标准品浓度; n: 稀释倍数; n_0 : 样品测定前稀释倍数。

1.2.4 血清中 T-SOD 活力的测定

按照南京建成 T-SOD 测试盒说明书加入试剂, 用旋涡混匀器充分混匀, 置于 37 °C 恒温水浴 40 min, 加入显色剂, 混匀室温放置 10 min, 于波长 550 nm 处进行吸光度值测定, 蒸馏水调零。规定每 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50 时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位(U), T-SOD 活力计算公式如下:

$$\text{T-SOD (U/mL)} = \frac{\text{对照OD值} - \text{测定OD值}}{\text{对照OD值}} \div 50\% \times C \times n \times n_0$$

式中, C: 标准品浓度; n: 反应体系稀释倍数; n_0 : 样品

测定前稀释倍数。

1.2.5 血清中 MDA 含量的测定

按照南京建成 MDA 测试盒说明书加入试剂, 用旋涡混匀器混匀, 试管口用保鲜薄膜扎紧, 用针头刺小孔, 95 °C 水浴 40 min, 取出后流水冷却, 然后 3500~4000 r/min 离心 10 min。取上清液于波长 532 nm 处测各管吸光度值, 蒸馏水调零。血清中 MDA 含量计算公式如下:

$$\text{MDA(nmol/mL)} = \frac{\text{对照OD值} - \text{测定OD值}}{\text{标准OD值} - \text{空白OD值}} \times C \times n_0$$

式中, C: 标准品浓度; n_0 : 样品测定前稀释倍数。

1.3 数据统计与处理

应用 Microsoft Excel 2010 和 SAS System 8.0 软件对实验数据进行整理及统计, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。运用单因素 Anova 法 Duncan's 程序进行多组间显著性分析, 不同大写或小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 肝脏应激指标分析

表 1 添加不同浓度 Na_2SeO_3 鲟鱼血清中肝脏应激指标的变化

指标	Na_2SeO_3 /(mg/L)	暂养时间/d			
		1	2	3	4
ALT/(U/L)	0.0	27.67±1.53 ^{Cd}	63.37±1.53 ^{Aa}	46.17±1.53 ^{Cb}	28.70±1.73 ^{Bc}
	0.1	21.18±2.06 ^{Bc}	36.13±2.89 ^{Cb}	58.67±2.31 ^{Aa}	34.10±2.65 ^{Ab}
	0.2	51.23±2.52 ^{Aa}	52.10±2.65 ^{Ba}	30.83±1.53 ^{Db}	25.13±1.53 ^{Cc}
	0.5	50.17±2.31 ^{Ab}	21.73±1.53 ^{Dc}	52.47±1.53 ^{Ba}	22.57±1.53 ^{Dc}
AST/(U/L)	0.0	538.80±41.61 ^{Bb}	937.44±36.30 ^{Aa}	484.77±42.51 ^{Bb}	155.80±52.63 ^{Cc}
	0.1	449.68±34.46 ^{Ca}	347.03±32.76 ^{Db}	354.53±25.83 ^{Cb}	360.13±32.46 ^{Ab}
	0.2	718.93±32.23 ^{Ab}	601.70±42.99 ^{Bc}	844.10±40.44 ^{Aa}	324.20±58.67 ^{ABd}
	0.5	725.27±53.81 ^{Aa}	515.90±38.70 ^{Cb}	774.47±55.20 ^{Aa}	286.90±58.46 ^{Bc}
LDH/(U/L)	0.0	9484.90±261.48 ^{Aa}	2223.53±370.20 ^{Ab}	1186.90±282.91 ^{Ac}	1081.47±259.03 ^{Bc}
	0.1	829.73±48.57 ^{Cc}	821.30±42.43 ^{Bc}	1238.90±177.44 ^{Ab}	1466.93±169.25 ^{Aa}
	0.2	3286.31±388.39 ^{Ba}	1326.50±124.09 ^{Bb}	1388.87±375.22 ^{Ab}	1124.63±215.65 ^{Bb}
	0.5	3676.10±404.68 ^{Ba}	2493.50±369.55 ^{Ab}	934.13±132.77 ^{Bc}	1349.43±308.08 ^{Ac}

注: 不同大写英文字母代表同时间不同浓度组差异显著 ($p < 0.05$), 不同小写英文字母代表同浓度不同时间组差异显著 ($p < 0.05$)。下表同。

ALT 和 AST 主要分布在肝细胞浆和肝细胞线粒体中^[4]。LDH 在机体内可催化乳酸和氧化性辅酶, 生成丙酮酸和还原性辅酶参与机体代谢^[17]。当鱼体应激时, ALT、AST 和 LDH 会从肝细胞中释放进入血液, 因此通常把这三者作为肝功能是否正常的判断指标^[4,7]。根据表 1 结果, 暂养 1 d 时, 随着水中 Na_2SeO_3

浓度的增加, 鱼体血液中 ALT 和 AST 活力总体呈上升趋势, 且 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 组指标值显著 ($p < 0.05$) 高于对照组和 0.1 mg/L 组, 说明高浓度 Na_2SeO_3 对鱼体有一定的刺激作用, 会在暂养初期增加鱼体应激。随着暂养时间延长, Na_2SeO_3 组血清 ALT 活力和 AST 活力波动较大, 但总体呈下降趋势。与对

照组相比, 0.1 mg/L 加硒组第 1~2 d ALT 活力显著降低 ($p<0.05$), 第 1~3 d 血清中 AST 含量显著降低 ($p<0.05$), 最大降幅分别达 75.39% 和 170.13%。随着暂养天数增加, 除 0.1 mg/L 加硒组外各组血清 LDH 活力均呈下降趋势, 0.1~0.2 mg/L 加硒组在暂养 1~2 d 时血清 LDH 活力显著低于对照组 ($p<0.05$)。说明, 暂养初期鱼体应激较强, 肝脏组织细胞结构和通透性可能发生改变^[6], 低浓度 Na_2SeO_3 可以缓解暂养初期鲟鱼肝脏应激反应, 减缓细胞膜通透性变化, 有利于血液中 ALT、AST 和 LDH 的稳定。

2.2 肾脏应激指标分析

Urea 是蛋白质和氨基酸分解代谢产物, 在鱼体内含量较高, 能维持血液渗透压^[5]。Crea 是肌酸代谢产

物, 可反应肾小球滤过功能的损伤情况, 正常情况下 Crea 指标稳定, 是常用的肾功能指标^[17]。表 2 中, 在暂养初期 (1 d), 随着水中 Na_2SeO_3 浓度的增加, 各组 Urea 和 Crea 浓度大部分无显著性差异 ($p>0.05$), 说明 Na_2SeO_3 对鱼体肾脏应激指标影响较小。随暂养时间的延长, 各组血清中 Urea 和 Crea 浓度均呈现先降低后升高的趋势。其中, 0.1 mg/L Na_2SeO_3 组暂养 1~3 d 时, 血清 Urea 和 Crea 含量无显著性差异 ($p>0.05$), 第 4 d 时各组 Urea 和 Crea 含量跟前 3 d 相比均显著升高 ($p<0.05$), 增加约 1 倍。可能是由于代谢进入水体的 Urea 和 Crea 经鲟鱼摄取重新参与代谢, 血液中 Urea 和 Crea 的积累速率超过鱼体自身代谢速率, 导致含量升高^[18,19]。

表 2 添加不同浓度 Na_2SeO_3 鲟鱼血清中肾脏应激指标的变化

Table 2 Changes of renal stress indexes in serum of *Ictalurus punctatus* with different concentration of Na_2SeO_3

指标	Na_2SeO_3 /(mg/L)	暂养时间/d			
		1	2	3	4
Urea/(mmol/L)	0.0	1.88±0.10 ^{Ab}	1.32±0.23 ^{Cc}	1.12±0.12 ^{Cd}	2.72±0.11 ^{Ca}
	0.1	1.63±0.28 ^{Ab}	1.43±0.36 ^{Bb}	1.44±0.14 ^{Ab}	2.96±0.29 ^{Aa}
	0.2	1.44±0.15 ^{Ab}	1.50±0.23 ^{ABb}	1.28±0.17 ^{Bc}	2.80±0.29 ^{Ba}
	0.5	1.33±0.10 ^{Ac}	1.53±0.27 ^{Ab}	1.14±0.11 ^{Cd}	2.83±0.26 ^{Ba}
Crea/($\mu\text{mol/L}$)	0.0	18.10±2.65 ^{Ab}	12.40±2.65 ^{ABc}	11.37±2.52 ^{Cc}	29.27±2.31 ^{Ba}
	0.1	17.38±1.19 ^{Ab}	16.13±2.08 ^{Ab}	14.47±2.52 ^{Bb}	30.47±1.53 ^{Ba}
	0.2	12.70±1.00 ^{Bc}	13.90±2.65 ^{ABc}	18.43±2.52 ^{Ab}	29.53±2.08 ^{Ba}
	0.5	14.60±2.00 ^{ABb}	11.13±2.52 ^{Bc}	12.30±1.73 ^{BCc}	34.60±2.00 ^{Aa}

表 3 添加不同浓度 Na_2SeO_3 鲟鱼血清中能量代谢指标的变化

Table 3 Changes of energy metabolism indexes in serum of *Ictalurus punctatus* with different concentration of Na_2SeO_3

指标	Na_2SeO_3 /(mg/L)	暂养时间/d			
		1	2	3	4
GLU/(mmol/L)	0.0	3.05±0.26 ^{Ba}	2.88±0.40 ^{Cb}	1.64±0.17 ^{Dc}	3.10±0.20 ^{Aa}
	0.1	2.40±0.39 ^{Cc}	4.72±0.25 ^{Ba}	3.37±0.22 ^{Bb}	1.96±0.13 ^{Cd}
	0.2	3.30±0.21 ^{Ac}	6.59±0.57 ^{Aa}	5.80±0.24 ^{Ab}	1.43±0.19 ^{Bd}
	0.5	1.89±0.60 ^{Db}	1.81±0.11 ^{Db}	2.81±0.15 ^{Ca}	1.21±0.16 ^{Cc}
ALP/(U/L)	0.0	84.20±1.00 ^{Aa}	54.90±2.65 ^{Cb}	44.23±1.53 ^{Dc}	53.80±1.73 ^{Db}
	0.1	47.52±2.74 ^{Dc}	64.80±1.00 ^{Ab}	67.03±2.52 ^{Bb}	84.57±1.53 ^{Aa}
	0.2	69.90±1.73 ^{Cb}	57.53±1.15 ^{Bc}	71.40±2.65 ^{Ab}	78.47±0.58 ^{Ba}
	0.5	74.23±2.89 ^{Ba}	37.83±1.53 ^{Db}	57.47±2.08 ^{Cc}	65.47±2.52 ^{Cb}

2.3 能量代谢指标分析

GLU 是鱼体维持自身稳态的主要能量来源^[5]。ALP 是生物体内一种重要的代谢调控酶, 为 ADP 形成 ATP 提供所需的无机磷酸^[6]。根据表 3 结果, 暂养 1 d 时, 各浓度组 GLU 变化波动较大, 未表现出明显的 Na_2SeO_3 剂量效应。随暂养天数增加, 对照组 GLU

先显著降低 ($p<0.05$) 至 1.64 mmol/L 后显著升高 ($p<0.05$) 至 3.10 mmol/L。这主要由于受禁食影响, 鲟鱼先消耗 GLU 维持自身能量, 暂养至第 4 d 时, 鲟鱼通过分解肝糖原来提高 GLU 含量维持自身稳态^[20]。与对照组不同的是, Na_2SeO_3 组 GLU 先显著升高 ($p<0.05$) 后显著降低 ($p<0.05$), 延缓了禁食导致的 GLU 降低过程。这是由于硒可以减缓应激作用对鱼脑

垂体的刺激, 促进糖异生和糖原分解所需要的儿茶酚胺和皮质醇的生成^[21], 肝糖原大量分解进入血液, 因此 GLU 上升; 后期受禁食的影响, GLU 消耗迅速, 浓度下降。此外, 暂养过程中斑点叉尾鲴的血糖水平总体低于花鲈的血糖水平 (8.98~13.47 mmol/L)^[3], 可能因为未添加山梨糖醇等保护液的原因。0.1 mg/L Na₂SeO₃ 组血清 ALP 活力随暂养时间的增加呈升高趋势, 与对照组趋势相反。说明低浓度 Na₂SeO₃ 可以促进合成 ATP 所需 LDH 的释放, 有利于维持机体稳态。

2.4 免疫蛋白指标分析

ALB、GLB 和 A/G 这三个指标均可用来反映鱼体免疫力, 其中 GLB 作为鱼体的免疫成分, 数值增

高说明疾病抵抗力增加^[22]。根据表 4 结果, 加硒组 A/G 值稳定在 0.33~0.53, 跟对照组相比无显著性差异 ($p>0.05$); 但 0.1 mg/L 加硒组在暂养 1~3 d 时, 血清中 ALB 和 GLB 浓度与对照组相比大部分显著升高 ($p<0.05$), 提示添加低浓度 Na₂SeO₃ 可以一定程度上提高鲴鱼免疫力。

2.5 抗氧化指标分析

GSH-Px 活性位点是硒半胱氨酸, 它能特异性清除体内过氧化物并催化还原谷胱甘肽, 从而保护动物细胞免受氧化损伤^[23], 是机体最重要的抗氧化酶之一。T-SOD 可与还原型谷胱甘肽一起清除机体活性氧自由基和羟基自由基, 反映机体非特异性免疫能力^[24]。

表 4 添加不同浓度 Na₂SeO₃ 鲴鱼血清中免疫蛋白指标的变化

Table 4 Changes of immune protein indexes in serum of *Ictalurus punctatus* with different concentration of Na₂SeO₃

指标	Na ₂ SeO ₃ /(mg/L)	暂养时间/d			
		1	2	3	4
ALB/(g/L)	0.0	11.43±1.15 ^{Bb}	14.27±2.31 ^{ABa}	11.73±2.08 ^{Bb}	11.93±2.52 ^{Ab}
	0.1	13.33±2.52 ^{ABb}	15.53±2.89 ^{Aa}	14.63±2.08 ^{Aab}	9.47±2.31 ^{Bc}
	0.2	14.03±2.08 ^{Aa}	10.07±0.58 ^{Cb}	13.60±1.00 ^{Aa}	10.33±2.89 ^{ABb}
	0.5	13.00±2.00 ^{ABa}	12.1±2.00 ^{B^{Ca}}	11.40±2.00 ^{Ba}	10.90±2.00 ^{ABa}
GLB/(g/L)	0.0	25.67±2.52 ^{Db}	32.50±2.65 ^{Aa}	26.67±2.08 ^{Bb}	32.97±1.53 ^{Aa}
	0.1	37.07±1.53 ^{Aa}	31.30±2.00 ^{ABb}	32.27±0.58 ^{Ab}	27.77±2.52 ^{Bc}
	0.2	28.33±2.08 ^{Ccb}	30.33±1.53 ^{Bab}	32.67±2.08 ^{Aa}	27.13±2.08 ^{Bc}
	0.5	30.30±2.65 ^{Ba}	27.27±2.52 ^{Cb}	28.13±1.53 ^{Bb}	31.37±0.58 ^{Aa}
A/G	0.0	0.52±0.10 ^{Aa}	0.40±0.02 ^{Bb}	0.45±0.05 ^{ABab}	0.37±0.06 ^{Ab}
	0.1	0.33±0.03 ^{Cbc}	0.48±0.07 ^{Aa}	0.40±0.00 ^{Bb}	0.32±0.04 ^{Ac}
	0.2	0.53±0.05 ^{Aa}	0.31±0.02 ^{Cc}	0.43±0.02 ^{ABb}	0.32±0.05 ^{Ac}
	0.5	0.42±0.03 ^{Ba}	0.43±0.03 ^{A^{Ba}}	0.47±0.06 ^{Aa}	0.36±0.06 ^{Ab}

表 5 添加不同浓度 Na₂SeO₃ 鲴鱼血清中抗氧化指标的变化

Table 5 Changes of antioxidant indexes in serum of *Ictalurus punctatus* with different concentration of Na₂SeO₃

指标	Na ₂ SeO ₃ /(mg/L)	暂养时间/d			
		1	2	3	4
GSH-Px/(U/mL)	0.0	173.68±1.09 ^{Dd}	379.46±21.59 ^{Cc}	589.52±3.24 ^{Bb}	607.44±2.37 ^{Ca}
	0.1	464.58±2.96 ^{Cb}	309.803±1.22 ^{Dd}	395.86±1.90 ^{Dc}	661.68±1.94 ^{Ba}
	0.2	559.94±2.91 ^{Bc}	593.62±2.60 ^{Bb}	464.05±2.41 ^{Cd}	914.28±1.55 ^{Aa}
	0.5	588.46±1.96 ^{Ad}	756.27±1.89 ^{Ab}	888.35±4.54 ^{Aa}	660.48±1.43 ^{Bc}
T-SOD/(U/mL)	0.0	143.78±1.70 ^{Aa}	56.95±1.51 ^{Dc}	117.99±1.64 ^{Bb}	118.83±1.07 ^{Bb}
	0.1	129.09±2.87 ^{Bb}	133.97±1.42 ^{Aa}	126.79±1.27 ^{Ab}	133.62±2.70 ^{Aa}
	0.2	115.82±1.74 ^{Db}	184.20±1.60 ^{Cc}	115.96±0.18 ^{Bb}	133.95±0.71 ^{Aa}
	0.5	119.99±1.45 ^{Ca}	111.88±1.72 ^{Bb}	87.86±1.50 ^{Cd}	97.20±1.30 ^{Cc}
MDA/(nmol/mL)	0.0	12.46±0.46 ^{Aa}	11.58±0.34 ^{Ba}	12.11±0.25 ^{Ba}	10.64±0.33 ^{Bb}
	0.1	9.46±0.25 ^{Bc}	10.05±0.29 ^{Cb}	12.11±0.45 ^{Ba}	10.34±0.45 ^{Bb}
	0.2	9.52±0.37 ^{Bd}	15.7±0.30 ^{Aa}	11.99±0.17 ^{Bb}	10.29±0.24 ^{Bc}
	0.5	8.64±0.39 ^{Cc}	11.42±0.31 ^{Bb}	13.58±0.28 ^{Aa}	13.70±0.06 ^{Aa}

根据表 5 结果, 暂养 1 d 时, 随着 Na_2SeO_3 浓度的增加, 各浓度组血清 GSH-Px 活力呈上升趋势, T-SOD 活力呈下降趋势, 其中加硒组血清 GSH-Px 活力跟对照组相比显著提高 ($p < 0.05$), 提高幅度 167.49%~238.81%。暂养 3~4 d 时, 0.1 mg/L 加硒组血清 T-SOD 活力最高可达 133.62 U/mL, 显著高于对照组 ($p < 0.05$), 而 0.5 mg/L 加硒组血清 T-SOD 活力显著低于对照组 ($p < 0.05$), 最低可达 87.86 U/mL。推测原因为添加 Na_2SeO_3 含量较高, 鱼体自身可以合成大量含有硒半胱氨酸活性位点的 GSH-Px, 与 T-SOD 竞争还原型谷胱甘肽^[25], 从而降低血清 T-SOD 活力。

MDA 是鱼体脂质过氧化反应的代谢产物, 血液的 MDA 浓度能够反应过氧化程度和活性氧自由基的水平^[26]。暂养 1 d 时, 加硒组 MDA 浓度均显著 ($p < 0.05$) 低于对照组, 且随水中 Na_2SeO_3 浓度的增加而降低。但随暂养时间延长, 0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 加硒组 MDA 浓度大部分显著 ($p < 0.05$) 高于 0.1 mg/L 加硒组, 说明高浓度 Na_2SeO_3 组鱼体清除活性氧自由基的持续能力不如低浓度组。 Na_2SeO_3 添加量为 0.1 mg/L 暂养 1~2 d 时, 血清中 MDA 含量与对照组相比降低 15.22%~31.71% ($p < 0.05$), 这与纳米硒对半滑舌鳎幼鱼血清中 MDA 的抑制结果相似^[27]。以上结果表明, 添加低浓度 Na_2SeO_3 (0.1 mg/L) 可以提高 GSH-Px 和 T-SOD 活力, 降低暂养初期鲈鱼应激而产生的过氧化物 MDA 含量, 提高鱼体抗氧化能力。

3 结论

添加低浓度 Na_2SeO_3 可以缓解斑点叉尾鲴的氧化应激反应, 减缓暂养过程中斑点叉尾鲴 GLU 下降速率, 增强鱼体免疫力和抗氧化能力; 在斑点叉尾鲴暂养过程中 Na_2SeO_3 添加剂量为 0.1 mg/L, 添加天数为 2~3 d 较为适宜。该结果可为斑点叉尾鲴的保鲜活运和应激预防提供参考。

参考文献

[1] 马玲巧. 水库网箱养殖与池塘养殖斑点叉尾鲴形体特征和肌肉品质的比较分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2015
MA Ling-qiao. Comparative study on body characteristics and muscle texture profile and nutritional value of channel catfish *Ictalurus punctatus* reared in pond and reservoir cages [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015

[2] XU De-hai, ZHANG Dun-hua, Craig S, et al. Immune response of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) against *Ichthyophthirius multifiliis* post vaccination using DNA vaccines encoding immobilization antigens [J]. Fish &

Shellfish Immunology, 2019, 94: 308-317

[3] 张玉晗, 谢晶. 保护液结合暂养工艺对花鲈无水活运效果的影响[J]. 食品科学, 2019, 40(23): 262-268
ZHANG Yu-han, XIE Jing. Effect of protective liquid combined with temporary culture process on waterless transportation of *Lateolabrax maculatus* [J]. Food Science, 2019, 40(23): 262-268

[4] 许霄霄. 高糖饲料对吉富罗非鱼生长性能、糖脂代谢、肠道健康以及免疫性能的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017
XU Xiao-xiao. Effects of high carbohydrate levels in the dietary on growth properties, glucose and lipid metabolisms, intestinal health and immune performance of GIFT, *Oreochromis niloticus* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017

[5] Fournier V, Gouillou-Coustans M F, Métaillerr R, et al. Excess dietary arginine affects urea excretion but does not improve N utilisation in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and turbot *Psetta maxima* [J]. Aquaculture, 2003, 217(1): 559-576

[6] Toffaletti J G, Catherine H S, Handel E A. Effect of beef ingestion by humans on plasma concentrations of creatinine, urea, and cystatin C [J]. Clinical Biochemistry, 2018, 5(16): 26-31

[7] 胡利双. 低氧对鲢生理生化指标和心肌细胞凋亡的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2017
HU Li-shuang. Effects of hypoxia on physiological and biochemistry indexes and cardiomyocyte apoptosis in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [D]. Chongqing: Southwest University, 2017

[8] 聂小宝, 吴波, 侯梦然, 等. 无水保活条件下不同温度对鲟鱼生理生化指标的影响[J]. 食品科技, 2017, 42(12): 147-152
NIE Xiao-bao, WU Bo, HOU Meng-ran, et al. Effects of different temperatures on physiological and biochemical indexes of sturgeon under no water preservation [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(12): 147-152

[9] Vinceti M, Filippini T, Cilloni S, et al. The epidemiology of selenium and human cancer [J]. Advances in Cancer research, 2017, 136: 1-48

[10] Rotruck J T, Pope A L, Ganther H E, et al. Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase [J]. Science, 1973, 179(4073): 588-590

[11] Köhrle J, Brigelius-Flohé R, Böck A, et al. Selenium in biology: facts and medical perspectives [J]. Biological Chemistry, 2000, 381(9-10): 849-864

- [12] Sheffy B E, Schultz R D. Influence of vitamin E and selenium on the immune response mechanism [J]. Federation proceedings, 1979, 28: 2139-2143
- [13] LIN Yu-hung. Effects of dietary organic and inorganic selenium on the growth, selenium concentration and meat quality of juvenile grouper *Epinephelus malabaricus* [J]. Aquaculture, 2014(430): 114-119
- [14] LIU Kang, WANG Xiao-jie, AI Qing-hui, et al. Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. L [J]. Aquaculture Research, 2010, 41(10): 594-601
- [15] 曹娟娟,张文兵,徐玮,等. 大黄鱼幼鱼对饲料硒的需求量[J]. 水生生物学报,2015,39(2):241-248
CAO Juan-juan, ZHANG Wen-bing, XU Wei, et al. Dietary selenium requirement of juvenile large yellow croaker *Larimichthys croceus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(2): 241-248
- [16] 梁萌青,王家林,常青,等. 饲料中硒的添加水平对鲈鱼生长性能及相关酶活性的影响[J]. 中国水产科学,2006,13(6): 1017-1021
LIANG Meng-qing, WANG Jia-lin, CHANG Qing, et al. Effects of dietary Se on growth performance and activities of related enzymes in juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicus* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13 (6): 1017-1021
- [17] 戴五洲,胡晓龙,郑云林,等. 饲料中添加甘氨酸纳米硒对肥育猪血清和组织器官抗氧化能力及硒含量的影响[J]. 动物营养学报,2018,30(3):929-937
DAI Wu-zhou, HU Xiao-long, ZHENG Yun-lin, et al. Effects of glycine nanoselenium supplementation on antioxidant capacity and selenium content in serum, tissue and organs of finishing pigs [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(3): 929-937
- [18] 林浩然. 鱼类生理学第 2 版[M]. 广州:广东高等教育出版社,2007
LIN Hao-ran. Fish physiology, 2nd Edition [M]. Guangzhou: Guangdong Higher Education Press, 2007
- [19] 吴永胜,董国忠,王立常,等. 饲料中添加铬-烟酸复合物对肉鸭生产性能、胴体成分及血液生化指标的影响[J]. 动物营养学报,2000,12(2):20-25
WU Yong-sheng, DONG Guo-zhong, WANG Li-chang, et al. Effect of chromium-niacin complex supplementation on performance, carcass composition, and blood biochemical parameters in meat-type ducks [J]. Acta Zootrimenta Sinica, 2000, 12(2): 20-25
- [20] 于淼. 拥挤胁迫对鲤生长和生理指标的影响[D]. 武汉:华中农业大学,2005
YU Miao. Effect of crowding stress on growth and physiological parameters of common carp (*Cyrinus carpio* L.) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2005
- [21] 姜丹莉. 四种不同食性的温水鱼类应激反应及其对糖代谢的影响[D]. 杭州:浙江大学,2017
JIANG Dan-li. Stress response in four warm water fish species with different food habits and its effect on glycometabolism [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017
- [22] Chen Y, Xuan Y N, Chen Y J, et al. Correlation of albumin globulin ratio with DAS28 and ESR levels in rheumatoid arthritis patients [J]. Journal of Jinan University (Natural Science & Medicine Edition), 2019, 40(5): 373-382
- [23] Habibian M, Ghazi S, Moeini M M, et al. Effects of dietary selenium and vitamin E on immune response and biological blood parameters of broilers reared under thermoneutral or heat stress conditions [J]. International Journal of Biometeorology, 2014, 58(5):741-752
- [24] 朱云海,王跃斌,胡则辉,等. 日本黄姑鱼幼鱼对过氧化氢的生理反应[J]. 水产科学,2014,33(4):227-230
ZHU Yun-hai, WANG Yue-bin, HU Ze-hui, et al. Physiological responses of juvenile Japanese croaker *Nibea japonica* to hydrogen peroxide [J]. Fisheries Science, 2014, 33(4): 227-230
- [25] 曹谨玲,陈剑杰,王俊东,等. 氟对鲤鱼脑抗氧化系统及细胞凋亡的影响[J]. 环境科学学报,2013,33(3):861-866
CAO Jin-ling, CHEN Jian-jie, WANG Jun-dong, et al. The effects of fluorine on antioxidant system and apoptosis of brain tissue in carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(3): 861-866
- [26] 张清雯. 微量元素镧和硒对条纹锯鲷生长及相关酶活性的影响研究[D]. 上海:上海海洋大学,2018
ZHANG Qing-wen. Study on growth and activities of related enzymes of lanthanum and selenium for *Centropristis striata* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018
- [27] 陈春秀,马超,戴媛媛,等. 纳米硒对半滑舌鳎幼鱼抗氧化水平的影响[J]. 饲料研究,2019,25(1):25-29
CHEN Chun-xiu, MA Chao, DAI Yuan-yuan, et al. Effect of dietary nano-Se on oxidation resistance of juvenile tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. Feed Research, 2019, 25(1): 25-29