

文章编号: 1004-7271(2008)02-0238-04

· 研究简报 ·

对硫磷胁迫下不同硒源对中华米虾超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的影响

王宏伟, 杨丽坤, 赵建华, 姜玉梅, 李玲, 张兰军

(河北大学生命科学学院, 河北保定 071002)

摘要:研究了在对硫磷胁迫下饲料中添加不同硒源对中华米虾(*Caridina denticulata sinensis*)超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明,饲料中添加等量无机硒和有机硒,有机硒组米虾的SOD和CAT活性均高于无机硒组($P < 0.05$)。对硫磷对中华米虾的24 h、48 h、72 h和96 h的半致死浓度分别为15.40、8.73、4.59和1.09 $\mu\text{g/L}$ 。中华米虾在1.09 $\mu\text{g/L}$ 以下不同浓度对硫磷胁迫24 h,随着对硫磷浓度的升高,无机硒和有机硒组虾的SOD和CAT活性变化趋势一致,均是先升后降,有机硒组米虾的SOD和CAT活性均高于无机硒组($P < 0.05$)。可见,中华米虾对饲料中添加有机硒的吸收效果好于无机硒。

关键词:硒; 对硫磷; 超氧化物歧化酶; 过氧化氢酶; 中华米虾

中图分类号: S 963 文献标识码: A

Effects of dietary selenium supplementation on the activities of two antioxidant enzymes in *Caridina denticulata sinensis* exposed to ambient parathion

WANG Hong-wei, YANG Li-kun, ZHAO Jian-hua, JIANG Yu-mei, LI Ling, ZHANG Lan-jun
(College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: The effects of dietary selenium supplementation on superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) of *Caridina denticulata sinensis* exposed to ambient parathion were investigated. The shrimps were fed with inorganic selenium or organic selenium in the diet. Results showed that the 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC_{50} values of parathion were 15.40, 8.73, 4.59 and 1.09 $\mu\text{g/L}$. The activities of SOD and CAT were observed after 24 h of exposure to parathion with series concentration less than 1.09 $\mu\text{g/L}$. The activities of SOD and CAT fluctuated with the increasing of parathion concentration. Compared with the shrimps fed with inorganic selenium, the shrimps fed with organic selenium had a higher index of SOD and CAT activity. According to the results, there is a higher absorptance of *Caridina denticulata sinensis* to proper organic selenium than inorganic selenium.

Key words: selenium; parathion; superoxide dismutase (SOD); catalase (CAT); *Caridina denticulata sinensis*

收稿日期: 2007-06-18

基金项目: 河北省动物学重点学科资助(200706); 河北大学首届大学生创新项目资助(Q2007)

作者简介: 王宏伟(1970-), 女, 河北张家口人, 副教授, 博士, 主要从事水生生物学方面的研究。E-mail: whw6688@126.com

近年来,由于部分农药随地表径流进入湖泊与河流,对水产养殖业造成了重大损失。通过营养免疫途径增强水产动物的免疫力,从而提高水产品质量和产量的研究受到一定的关注。微量元素硒对虾体免疫具有重要的意义,但由于过量硒会产生毒性,以及无机硒的低利用率,限制了无机硒在饲料中的应用^[1],而有机硒是一类安全高效的硒添加剂。试验通过研究在饲料中添加等量(0.45 μg/g)的有机硒与无机硒,在对硫磷胁迫下对中华米虾(*Caridina denticulata sinensis*)肌肉中SOD和CAT活性的影响,来探讨有机硒与无机硒在提高虾体的免疫机能及抗病能力方面的效果,为水产养殖过程中合理利用微量元素硒提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验用虾的养殖

中华米虾采于河北白洋淀,选择体长相近(2.6~3.0 cm),体重相似(0.30~0.40 g)的健康虾,饲养在水族箱(60 cm×60 cm×30 cm)中,每缸放虾150尾,共6缸。将虾分为两组,实验所用饲料添加硒的量根据文献[2],均为0.45 μg/g,有机硒的来源为富硒酵母(含硒量300 μg/g);无机硒的来源为亚硒酸钠(Na₂SeO₃)。养殖持续100 d,挑选生长良好的中华米虾进行对硫磷胁迫试验。

1.2 对硫磷胁迫试验

先进行预试验,将中华米虾暂养一段时间后,挑选90尾体质健壮、规格一致的虾,实验在2 L玻璃缸内进行。对硫磷浓度分别为0、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0和17.5 μg/L,每缸放入10尾虾,每个梯度共设2个平行,试验过程中充气,每隔24 h计数一次,去除死亡个体,试验进行96 h。根据试验数据拟合方程,计算对硫磷对中华米虾24、48、72和96 h半致死浓度。

从上述1.1中养殖的中华米虾中挑选120尾体质健壮,大小均匀的虾进行试验。在2 L玻璃缸中,每缸放10尾中华米虾。以对硫磷96 h半致死浓度1.09 μg/L为最大浓度,设为6个浓度梯度,分别为0、0.2、0.4、0.6、0.8和1.0 μg/L,每个浓度设平行试验。胁迫持续24 h,测定虾体的超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化氢酶(CAT)活性。

1.3 指标的测定

1.3.1 生长指标的测定

特定体长生长率 = (试验结束时体长 - 试验开始时体长) / 试验开始时体长 × 100%

特定体重生长率 = (试验结束时体重 - 试验开始时体重) / 试验开始时体重 × 100%

1.3.2 超氧化物歧化酶(SOD)(EC1.15.1.1)活性的测定

参照 Marklund^[3]、静天玉和赵晓瑜^[4]报道的方法。

1.3.3 过氧化氢酶(CAT)(EC1.11.1.6)活性的测定

采用社忠斌用钼酸铵间接测定过氧化氢的方法^[5]。

1.3.4 蛋白含量的测定

蛋白质含量的测定参照王重庆^[8]的方法。

1.4 数据处理

采用SPSS 11.5进行数据处理和分析,用Origin 6.0作图。

2 结果

2.1 生长指标

养殖100 d后,有机硒组的平均体长生长率和平均体重生长率均略高于无机硒组的,且差异显著($P < 0.05$)(表1)。

表1 饲料中不同硒源对中华米虾平均体长生长率、平均体重生长率的影响
Tab.1 The effect of dietary selenium on body length and body weight rates of *C. d. sinensis*

Se含量 (0.45 μg/g)	平均体长生长率 (%)	平均体重生长率 (%)
有机硒组	32.0 ± 6.1	20.3 ± 3.3
无机硒组	21.0 ± 4.2	18.9 ± 2.3

2.2 半致死浓度的测定

对硫磷浓度分别为0、1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0和17.5 $\mu\text{g/L}$,每缸放10尾虾,在5L的玻璃缸中进行急性毒性试验。经24 h、48 h、72 h和96 h分别记数,计算中华米虾死亡率(表2)。

参照周永欣和章宗涉的方法^[7]根据以上数据,拟合出线性关系,计算半致死浓度,得到对硫磷对中华米虾24 h、48 h、72 h和96 h的半致死浓度分别为15.4、8.73、4.59和1.09 $\mu\text{g/L}$ 。

2.3 对硫磷胁迫下中华米虾抗氧化酶的活性

2.3.1 对硫磷胁迫下中华米虾 SOD 的活性

无机硒组和有机硒组的中华米虾在不同浓度的对硫磷胁迫下的 SOD 活性(表3),随着对硫磷浓度的增加先升高后降低,两组虾在对硫磷胁迫浓度为0.6 $\mu\text{g/L}$ 时 SOD 活性最高,而有机硒组 SOD 的活性明显高于无机硒组($P < 0.05$)。

2.3.2 对硫磷胁迫下中华米虾 SOD 的活性

饲料中添加有机硒组和无机硒组中华米虾在不同浓度的对硫磷胁迫下的 CAT 活性(表4),均是先升后降。无机硒组在对硫磷胁迫浓度为0.6 $\mu\text{g/L}$ 时的 CAT 活性最高,有机硒组在对硫磷胁迫浓度为0.8 $\mu\text{g/L}$ 时的 CAT 活性最高。在相同胁迫浓度下,有机硒组虾的 CAT 活性明显高于无机硒组虾的 CAT 活性($P < 0.05$)。

表3 不同浓度对硫磷胁迫下
中华米虾 SOD 活性的影响

Tab.3 The SOD activity of *C. d. sinensis* exposed to different concentrations of parathion (mean \pm s, n=4)

对硫磷的浓度 ($\mu\text{g/g}$)	SOD 的活性(U/mg Protein)	
	无机硒组(0.45 $\mu\text{g/g}$)	有机硒组(0.45 $\mu\text{g/g}$)
0	16.49 \pm 2.62 ^A	16.78 \pm 2.51 ^a
0.2	30.59 \pm 3.00 ^B	40.87 \pm 3.09 ^b
0.4	44.67 \pm 3.51 ^C	45.70 \pm 3.14 ^c
0.6	62.98 \pm 3.29 ^D	66.18 \pm 3.55 ^c
0.8	44.70 \pm 5.58 ^C	48.15 \pm 0.78 ^b
1.0	38.87 \pm 2.58 ^{BC}	41.06 \pm 1.75 ^b

注:表中数字的肩标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

表4 不同浓度对硫磷胁迫下
中华米虾 CAT 的活性

Tab.4 The CAT activity of *C. d. sinensis* exposed to different concentrations of parathion

对硫磷浓度 ($\mu\text{g/L}$)	中华米虾 CAT 的活性(U/mg Protein)	
	无机硒组(0.45 $\mu\text{g/g}$)	有机硒组(0.45 $\mu\text{g/g}$)
0	1.43 ^A \pm 0.06	1.90 ^a \pm 0.04
0.2	2.02 ^B \pm 0.04	2.39 ^b \pm 0.08
0.4	3.22 ^C \pm 0.07	4.03 ^c \pm 0.06
0.6	4.23 ^D \pm 0.06	4.67 ^d \pm 0.07
0.8	4.02 ^D \pm 0.05	4.84 ^d \pm 0.11
1.0	3.03 ^C \pm 0.11	4.28 ^c \pm 0.11

注:表中数字的肩标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

3 讨论

动物机体代谢过程中产生大量超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)是必需的,但同时又对生物体造成损伤,所以必须及时清除机体内多余的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 。在试验中,当受到对硫磷胁迫时,随着虾体肌肉中的 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的增加, SOD 活性增加,结果是导致虾肌肉中 H_2O_2 的大量增加和积累,而 CAT 可以催化 H_2O_2 形成 H_2O ,清除 H_2O_2 的毒性^[8]。随着胁迫浓度的升高,两试验组的中华米虾肌肉中的 SOD 和 CAT 活性变化趋势一致,均是先升后降。当对硫磷胁迫浓度较低时,虾本身的免疫应激反应启动,所以在对硫磷浓度为0.2~0.6 $\mu\text{g/L}$ 时,虾肌肉中 SOD 和 CAT 的活性逐渐升高。但如果继续加大胁迫浓度或延长胁迫时间,虾的免疫反应超过一定限度,会使抗氧化酶钝化。当对硫磷胁迫浓度大于0.6 $\mu\text{g/L}$ 后,虾体 SOD 和 CAT 活性逐步下降。

有研究表明,在饲料中添加适量的硒(0.44 $\mu\text{g/g}$)有利于中国对虾的生长^[9]。笔者曾报道,饲料中添加 0.45 $\mu\text{g/g}$ 硒可提高中华米虾 SOD 酶活性^[2]。说明饲料中添加适量的硒可以提高抗氧化酶的活性,进而与超氧阴离子浓度达到新的平衡。惠天朝曾报道,在镉对罗非鱼的慢性中毒实验中 SOD 和 CAT 活性明显下降,但在水体中经加入 0.01 mg/L 的硒处理后,SOD 和 CAT 活性有了明显的提高^[10]。华雪铭等在异育银鲫饵料中添加不同浓度的硒酵母,结果发现硒酵母可不同程度地促进异育银鲫生长,相对增重率比对照组增加 16%~31%,抗感染能力显著增强^[11]。

硒的存在形式包括无机硒和有机硒。动物对无机硒的吸收是靠肠道的被动扩散,而对有机硒的吸收则是通过主动运输的形式,因此对有机硒的吸收效率要高于无机硒。此外有机硒副作用小,因此水产养殖业应大力提倡使用有机硒,既提高了硒的利用率,又减少了对养殖水体的污染。Bell 和 Cowey^[12]报道红鲷对硒蛋氨酸的生物利用率可高达 91.6%,亚硒酸钠仅为 63.9%;Paripatanant 等^[13]在以豆粕为基础的鱼饲料中添加等硒量的硒蛋氨酸及亚硒酸钠,结果发现,前者的生物利用率显著高于后者($P < 0.05$)。魏文志等在异育银鲫饲料中添加 0.2 mg/kg 亚硒酸钠和 0.2 mg/kg 有机硒(含硒多糖和硒蛋白),发现有机硒组鱼增重率比对照组和无机硒添加组分别提高 15.29% 和 14.59%^[14]。试验在相同胁迫条件下,饲料中添加有机硒的试验组虾体 SOD 和 CAT 活性明显高于饲料中添加无机硒的试验组。表明有机硒更有利于虾体的吸收,可提高虾体抗氧化酶活性,增强对环境胁迫的耐受力。

参考文献:

- [1] Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs[J]. *Physiological Reviews*, 1979, 69(3): 527-605.
- [2] 王宏伟, 赵建华, 崔爽, 等. 饲料中硒的添加量与中华米虾抗氧化酶活性[J]. *动物学杂志*, 2005, 40(5): 91-94.
- [3] Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of perogallol and a convenient assay for superoxide dismutase[J]. *Eur J Biochem*, 1974, 47: 469-474.
- [4] 静天玉, 赵晓瑜. 用终止剂改进超氧化物歧化酶邻苯三酚测活法[J]. *生物化学与生物物理学进展*, 1995, (1): 13-15.
- [5] 社忠斌. 用钼酸铵间接测定细菌过氧化氢酶[J]. *中华医学检验杂志*, 1995, 18(2): 105.
- [6] 王重庆. 高级生化实验教程[M]. 北京: 北京大学教育出版社, 1994: 76-79.
- [7] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性实验方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1989: 109-132.
- [8] Wang W N, Wang A L, Zhang Y J, et al. Effects of nitrite on lethal and immune response of *Macrobrachium nipponense*[J]. *Aquaculture*, 2004, (232): 679-686.
- [9] 王安利, 王维娜. 饲料中硒含量对中国对虾生长及其体内含量的影响[J]. *水产学报*, 1994, 18(3): 245-248.
- [10] 惠天朝, 施明华, 朱荫涓. 硒对罗非鱼慢性镉中毒肝抗氧化酶及转氨酶的影响[J]. *中国兽医学报*, 2000, 20(3): 264-266.
- [11] 华雪铭, 周洪琪, 邱小琮. 饲料中添加芽孢杆菌和硒酵母对异育银鲫的生长及抗病力的影响[J]. *水产学报*, 2001, 25(5): 448-453.
- [12] Bell C, Cowey B. Digestibility and bioavailability of dietary selenium from fish meal, selenite, selenomethionine and selenocysteine in Atlantic salmon parr[J]. *Aquaculture*, 1989, 81: 61-68.
- [13] Paripatanant T, Lovell R T. Comparative digestibility of chelated and inorganic trace minerals in channalcat fish diet[C]//Proceedings of the VII international Symposium on Fish Nutrition and Feeding, 1996: 24.
- [14] 魏文志, 杨志强, 罗方妮. 饲料中添加有机硒对异育银鲫生长的影响[J]. *淡水渔业*, 2001, 31(3): 45-46.