

饲料中硒的添加量与中华米虾肌肉中 SOD 的活性

王宏伟 赵建华 崔爽 徐长源 姜玉梅 霍艳高 门金闪 陈立军

(河北大学生命科学学院 保定 071002)

摘要:研究了饲料中添加量为 0、0.15、0.30、0.45、0.60、0.75 $\mu\text{g/g}$ 的硒,对中华米虾(*Caridina denticulata sinensis*)体内超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。结果表明,硒对中华米虾体内 SOD 的激活作用显著,并表现出明显的时间效应和剂量效应。随着养殖时间的延长,各实验组虾体内 SOD 的活性会相应地降低。饲料中添加硒浓度为 0.45 $\mu\text{g/g}$ 时,虾体 SOD 的活性最高。

关键词:SOD 硒 中华米虾

中图分类号 S963.734 文献标识码:A 文章编号 0250-3263(2005)05-91-04

The Effect of Dietary Selenium on the Activity of Superoxide Dismutase(SOD) in Muscle of *Caridina denticulata sinensis*

WANG Hong-Wei ZHAO Jian-Hua CUI Shuang XU Chang-Yuan JIANG Yu-Mei

HUO Yan-Gao MEN Jin-Shuan CHEN Li-Jun

(College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract:The effects of selenium supplementation in diet on the activity of SOD in *Caridina denticulata sinensis* were studied. The optimal concentration of Na_2SeO_3 was determined by the activity of SOD. When Na_2SeO_3 was added in the diet, the activity of SOD changed significantly in a dose- and time-dependent manner. Our results showed that suitable concentration of selenium in the diet significantly enhances the activity of SOD in *C. d. sinensis*. The activity of SOD decreases with the elongation of breeding time.

Key words:*Caridina denticulata sinensis*; Selenium; Superoxide dismutase(SOD)

微量元素硒的生物效能引起人们的注意,主要是他与某些疾病的防治密切相关^[1]。硒也是动物机体所必需的微量营养素,在动物营养中已逐步得到广泛的研究和应用^[2]。本实验以中华米虾(*Caridina denticulata sinensis*)为研究对象,以超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性为指标,目的在于探讨硒元素在虾饲料中的最适添加量,从而增强虾体的免疫力和抗病力,减少虾病的发生,实现健康养殖。

1 材料与方法

1.1 材料 中华米虾采于河北白洋淀。在实验前驯养 1 周,然后选择体长相近(1.7~2.1 cm)的健康虾随机分组,分别养殖于 12 只玻璃

基金项目 河北省动物学重点学科项目(No. 200506),河北大学自然科学基金青年项目资助(No. Q200407);

第一作者介绍 王宏伟,女,博士研究生,研究方向 水生生物学;E-mail:whw6688@126.com

收稿日期 2004-12-13,修回日期 2005-07-13

缸(60 cm × 60 cm × 30 cm)内,每缸 70 只。实验期间每天早 9:00 时、晚 19:00 时各投饵 1 次,投喂量为虾体重的 5%,每次投饵前清除缸底的残饵和排泄物,并记录死亡和蜕皮虾数。实验中所用饲料分别添加不同浓度的硒,制成直径为 1.5 mm,长为 2 mm 左右的颗粒,于低温干燥处保存。每种处理设 5 个浓度梯度和 1 个空白对照(表 1),每个梯度设 2 个平行,共 12 缸。饲料配方为鱼粉、面粉、豆粉、玉米面、豆油,再添加维生素预混物和无机盐预混物。

养殖 2 个月和养殖 3 个月后,每缸分别随机取 10 只虾,5 只虾为一个样品,每个样品平行测定 2 次,分别测定虾的体长增长、体重增长和肌肉中 SOD 活性。

1.2 酶活性的测定

1.2.1 生长指标的测定

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

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

1.2.2 超氧化物歧化酶活力的测定 取虾肌肉 0.100 g,加入 20 倍体积的磷酸钠缓冲液(pH 6.5),冰浴下超声波匀浆,低温高速离心,取上清液备用。参照 Marklund^[3]、静天玉和赵晓瑜^[4]等报道的方法,在 9 ml Tris-HCl 缓冲液中预先加入 200 μl 待测样品的 SOD 酶液,测定其酶活力。

1.2.3 蛋白含量的测定 蛋白质含量的测定参照王重庆^[5]的方法。

抑制率 = $(A_0 - A_s) / A_0 \times 100\%$

SOD 单位活力(U/ml) = $[(A_0 - A_s) / A_0] \times$

$(N/V) \times 18$

SOD 比活力(U/mg) = SOD 单位活力/蛋白(mg)

式中, V 加样体积(ml); N 样品稀释倍数; A_0 测定邻苯三酚自氧化率时 420 nm 处的吸光度; A_s 加入样品后测定邻苯三酚自氧化率时 420 nm 处的吸光度。

每毫克蛋白所具有的酶活力定义为该酶的比活力(U/mg)。

1.3 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 3 个月后,各实验组的特定体长生长率均略高于空白组的,除 2、3 组与空白对照组相比差异显著($P < 0.05$)外,其余各组与对照组无显著差异($P > 0.05$) (表 1)。

2.2 超氧化物歧化酶的活力 投喂 2 个月后,中华米虾体内 SOD 的活性随着饲料中硒添加量的不同而不同。第 1、2、3、4 组与空白组相比 SOD 活力均有提高,且 2、3、4 实验组与空白组差异显著($P < 0.05$)。第 5 组中华米虾的 SOD 酶活力低于空白组($P < 0.05$) (表 2)。添加量为 0.45 μg/g 的第 3 组虾的 SOD 比活最高。

投喂 3 个月后,各组酶活均有不同程度的下降,但变化趋势与投喂 2 个月的基本一致。第 1、2、3、4 组虾的 SOD 活力仍高于空白组,第 5 组仍低于空白组。除第 3 组与空白组的差异显著($P < 0.05$)外,其余各组与空白组的差异均不显著($P > 0.05$)。饲料中添加硒浓度为 0.45 μg/g 时,虾体 SOD 的活性也是最高(表 2)。

表 1 饲料中硒对中华米虾特定体长生长率、特定体重生长率、死亡数和蜕皮数的影响

组别	Se 含量(μg/g)	平均体长生长率(%)	平均体重生长率(%)	死亡数(只)	蜕皮数(只)
空白	0	17.008 ± 6.832	4.181 ± 5.205	3.0 ± 1.0	15.5 ± 5.5
1	0.15	32.012 ± 9.166	3.193 ± 6.301	2.5 ± 0.5	18.0 ± 6.0
2	0.30	35.480 ± 11.739	10.388 ± 2.727	1.0 ± 1.0	21.0 ± 2.0
3	0.45	41.065 ± 6.292	8.918 ± 6.360	0.5 ± 0.5	23.5 ± 5.5
4	0.60	30.778 ± 7.715	3.448 ± 1.786	2.0 ± 1.0	20.5 ± 3.5
5	0.75	25.845 ± 4.496	3.386 ± 1.349	2.0 ± 1.0	22.0 ± 5.0

表 2 饲料中硒对中华米虾肌肉中 SOD 活性的影响 ($n = 8$)

组别	Se 水平 ($\mu\text{g/g}$)	SOD 的比活(U/mg)	
		2 个月后	3 个月后
空白	0	14.824 ± 1.242	10.606 ± 3.184
1	0.15	16.039 ± 0.994	14.757 ± 2.084
2	0.30	18.896 ± 0.722	13.911 ± 2.993
3	0.45	34.698 ± 1.542	29.587 ± 5.585
4	0.60	20.023 ± 1.816	14.510 ± 2.605
5	0.75	10.570 ± 0.812	3.247 ± 1.578

3 讨 论

超氧化物歧化酶是一种具有特定生物催化功能的蛋白质,是一种重要的氧自由基清除剂,能催化超氧阴离子发生歧化反应,主要负责过氧化物和噬菌作用所造成的组织损伤的防御保护。SOD 活性越高,说明其清除自由基的能力越强^[6]。王雷等的研究也表明了 SOD 的活性与水生动物的免疫水平密切相关^[7]。硒是动物体必需的微量元素,在机体中主要是作为谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)的活性成分。GPX 是机体主要的过氧化物酶之一,能清除机体内脂质过氧化物,保护细胞膜免受自由基对膜上不饱和脂肪酸的伤害。硒还是脱磺酸酶的组分,能促进甲状腺的代谢,从而促进动物的生长^[8]。在异育银鲫基础饲料中添加硒和有机硒均可促进其生长^[9]。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,但当硒含量超过一定值时,则会抑制对虾生长^[10]。在一些淡水鱼和海产虾类中,硒可以拮抗汞、铬等有毒元素,对生物体起到保护作用^[11]。此外硒还可以通过影响过氧化物酶的活性对鱼的肉质、色素沉积及肌肉组织等起作用^[12]。Hamilton 等研究表明,当食物中的硒超过 $4.6 \mu\text{g/g}$ 时会影响到剃刀鲸幼体的存活率^[13]。一般认为,硒对虾体 SOD 活性没有直接作用,但是马小军等发现绵羊补充硒后,血浆 GSHPx 活性显著升高, SOD 活性也呈上升趋势^[14]。饲料中添加硒对皱纹盘鲍血清中过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、依赖硒的谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽转移酶

(GST) 种抗氧化酶活力都有显著影响^[15]。但是,还未见有关硒元素对虾体内 SOD 活性影响的报道。

本实验表明饲料中补硒后,中华米虾肌肉中 SOD 活性有升高的现象。实验通过在饲料中添加不同含量的硒对中华米虾生长和体内超氧化物歧化酶的影响,反映出饲料中硒的最适添加量应在 $0.45 \mu\text{g/g}$ 左右,而当饵料中硒的添加量为 $0.75 \mu\text{g/g}$ 时,中华米虾肌肉中 SOD 活性低于空白对照组,说明添加硒的浓度应控制在一定范围内。分析原因,可能是由于饲料中硒过量在组织内阻断-SH 基酶而引起的中毒反应;或者是由于饲料中的高含量硒使虾体内的硒含量降低,而使虾体自身抗毒、抗有毒元素的能力降低的结果。这种推测有待进一步的实验证明。投喂含硒饲料 3 个月后第二次测定,各实验组中华米虾肌肉中 SOD 活性低于相应各组投喂含硒饲料 2 个月后第一次测定的结果,说明随着养殖时间的延长,各实验组虾体 SOD 的活性会相应降低,反映出饲料中的硒对中华米虾肌肉中 SOD 活性具有明显的时间效应。中华米虾对硒元素的内在最佳需求量,包括维持正常生长发育、提高抗氧化系统功能和增强免疫力等方面的综合需求。实验表明,硒元素作为中华米虾生长不可缺少的营养因子,饲料中添加适量的硒可以提高虾体内 SOD 的活力,增强免疫力。本研究可为虾类的营养免疫学研究提供参考,从而为实现健康养殖创造有效途径。

王鸿泰等对鲤血液 GSH-Px 的活性进行了初步研究。在细菌感染前,在饵料中添加一定量的硒制剂,对预防某些细菌性感染也能起到关键作用^[16]。至于含有硒化合物的鱼、虾及其他水产动植物,人类食用后对人类各种疾病将产生多大的治疗价值,也有探讨的必要,值得进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Zhou Z G, Liu Z L, Chu H J. The influence of selenium on the antioxidation in *Spiralinaxima*. In: Phycological Society of America ed. 1995 Meet of the Phycological Society of

- America. Brecken Ridge, CO (USA), 1995, 6 ~ 10.
- [2] 杨凤主编. 动物营养学. 北京: 北京出版社, 1993, 20 ~ 28.
- [3] Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*, 1974, **47**: 469 ~ 474.
- [4] 静天玉, 赵晓瑜. 一种改进的临苯三酚法测定 SOD 活性的方法. *生物化学与生物物理进展*, 1995, **1**: 13 ~ 15.
- [5] 王重庆主编. 高级生化实验教程. 北京: 北京大学教育出版社, 1994, 76 ~ 79.
- [6] Munoz M, Cedeno R. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 2000, **191**: 89 ~ 107.
- [7] 王雷, 李光友, 毛远兴. 口服免疫药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究. *海洋与湖沼*, 1994, **25**(5): 486 ~ 488.
- [8] 吕社民. 硒与甲状腺和甲状腺激素代谢. 国外医学医学地理分册, 1994, **15**(3): 97 ~ 101.
- [9] 魏文志主编. 饲料中添加有机硒对异育银鲫生长的影响. *淡水渔业*, 2001, **31**(3): 45 ~ 46.
- [10] 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. *水产学报*, 1994, **18**(3): 245 ~ 248.
- [11] Lan W G, Wong M K, Chen N, *et al.* Effect of combined copper, zinc, chromium and selenium by orthogonal array design on alkaline phosphatase activity in liver of the red sea bream, *Chrysophrys major*. *Aquaculture*, 1995, **131**(3-4): 219 ~ 230.
- [12] Mariana H G. Organic selenium as a supplement for Atlantic salmon. Effects for meat quality. *The Application of Biotechnology in Feed Stuffs*, 1992, **13**: 505 ~ 507.
- [13] Hamilton S J, Holley K M, Buhl K J, *et al.* Toxicity of selenium and other elements in food organisms to razorback sucker larvae. *Aquatic Toxicology* 2002, **59**(3-4): 253 ~ 281.
- [14] 马小军, 张小丽, 张德寿. 镉硒对绵羊血液抗氧化酶活性和特定体重生长率的影响. *中国兽医科技*, 2003, **33**(9): 49 ~ 51.
- [15] 万敏, 麦康森, 马洪明等. 硒和维生素 E 对皱纹盘鲍血清抗氧化酶活力的影响. *水生生物学报*, 2004, **28**(5): 496 ~ 503.
- [16] 王鸿泰, 姚爱琴, 何力等. 鲤血液谷胱甘肽过氧化物酶的测定. *湖北农学院学报*, 1999, **19**(1): 28 ~ 30.