

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15170

银鲳卵黄发生期间组织中抗氧化水平的变化及饲料 n-3 LC-PUFA 对其的影响

彭士明, 施兆鸿, 高权新, 张晨捷, 王建钢

中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090

摘要: 研究了银鲳(*Papus argenteus*)肝及卵巢组织中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性、总抗氧化能力(T-AOC)及丙二醛(MDA)含量在整个卵黄发生过程中的变化情况, 并分析了饲料 n-3 LC-PUFA 对卵黄发生期间组织中抗氧化水平的影响。分别以 100%鱼油(FO 组)、70%鱼油和 30%大豆油(FSO 组)、30%鱼油和 70%大豆油(SFO 组)、100%大豆油(SO 组)为脂肪源, 配制了 4 组等氮、等能及等脂的试验饲料。以 1 年龄雌性银鲳为试验对象, 每组饲料设 3 重复, 试验周期 185 d。研究结果表明, 肝与卵巢组织 SOD、CAT 活性、T-AOC 水平及 MDA 含量在卵黄发生过程中均呈现逐渐升高的趋势, 且卵黄发生后期各指标水平均显著高于卵黄发生前期($P<0.05$)。肝 SOD(除 SO 饲料组外)、CAT 活性、T-AOC 水平及 MDA 含量在卵黄发生中期与前期之间未表现出显著性差异($P>0.05$), 而卵黄发生中期 FO 与 FSO 饲料组卵巢 SOD、CAT 活性及 T-AOC 水平则均显著高于卵黄发生前期($P<0.05$)。FSO 饲料组肝与卵巢 SOD、CAT 活性在卵黄发生过程中均为最高值, 且在卵黄发生中、后期均显著高于 SO 饲料组($P<0.05$), 但与 FO 饲料组无显著性差异($P>0.05$)。各饲料组间肝与卵巢 T-AOC 水平在卵黄发生前期均未表现出显著性差异($P>0.05$), 而在卵黄发生后期, FO 与 FSO 饲料组肝与卵巢 T-AOC 水平均显著高于 SO 饲料组($P<0.05$), 但 FO 与 FSO 饲料组间无显著性差异($P>0.05$)。肝与卵巢中 MDA 含量随着饲料 n-3 LC-PUFA 含量的升高而呈现出升高趋势, 且这种升高趋势在肝组织中表现更为明显, 卵巢组织 MDA 含量在卵黄发生中、后期仅 FO 饲料组表现出显著性升高趋势($P<0.05$), 其他各饲料组在卵黄发生各期均未表现出显著性差异($P>0.05$)。统计分析表明, 银鲳卵黄发生过程中组织中抗氧化水平逐渐升高, 适宜的饲料 n-3 LC-PUFA 含量(4.01%, FSO 饲料组)可明显改善银鲳卵黄发生中期与后期组织中的抗氧化水平。双因素方差分析结果表明, 试验饲料与卵黄发生时期对银鲳组织抗氧化水平均具有极显著性影响($P<0.01$), 且两者对肝 T-AOC 水平与 MDA 含量存在显著性的交互作用($P<0.05$)。

关键词: 银鲳; 卵黄发生; n-3 LC-PUFA; 抗氧化; 肝; 卵巢

中图分类号: S96

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)02-0263-11

鱼类抗氧化水平的高低是衡量鱼体健康状况的重要指标之一, 因而, 有关营养素与鱼类抗氧化水平之间的研究一直以来是水产动物营养学研究的重点内容之一^[1-4]。鱼类的卵黄发生是一个营养素快速转运、存储的过程, 用以保障繁殖期间胚胎及幼体早期阶段的营养来源。对于海水鱼类

而言, 脂类营养特别是必需脂肪酸(如 n-3 LC-PUFA)在机体的有效存储直接关系到其繁殖性能的高低^[5-6]。卵黄发生过程中, 不饱和脂肪酸的大量存储势必增加了鱼体组织中发生脂质过氧化的风险, 进而会影响到组织中抗氧化水平的相应变化。截至目前, 有关脂类营养与鱼类抗氧化之间

收稿日期: 2015-04-23; 修订日期: 2015-06-29.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31202009); 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字 2013-2-1); 中央级公益性科研院所基本科研业务费资助项目(东 2014Z02-2).

作者简介: 彭士明, 副研究员, 主要从事鱼类营养与繁育生物学研究. E-mail: shiming.peng@163.com

关系的研究已有诸多报道^[7-10], 但主要针对的是养殖幼体阶段, 涉及繁殖期间抗氧化水平变化及其脂类营养调控方面的研究则鲜有报道。

银鲳(*Pampus argenteus*)隶属鲳科(Stromateidae), 鲳属, 是中国东部沿海主要的经济种类, 具有较高的养殖开发潜力。自 21 世纪初以来, 国内陆续开始了针对银鲳人工繁育及养殖技术方面的研究, 尽管当前在银鲳人工繁育及养殖方面取得了一系列科技成果^[11-13], 但截止目前, 仍尚未实现其稳定且规模化的人工繁育及养殖推广。其中, 至关重要的一项限制因素则是人工养殖银鲳亲体性腺发育质量不佳, 最终导致人工育苗成活率较低, 规模化推广难度较大。因此, 有必要重点开展养殖银鲳亲体所需适宜人工饲料的研发攻关。目前, 针对养殖银鲳幼体阶段的营养饲料研究已有诸多报道^[14-19], 但对养殖亲体的研究尚未见有相关报道。本研究对银鲳卵黄发生期间组织中抗氧化水

平的变化进行观察, 并进一步分析探讨饲料 n-3 LC-PUFA 对卵黄发生期间组织抗氧化水平的影响, 旨在为进一步深入探讨 n-3 LC-PUFA 在鱼类性腺发育过程中的重要生理作用奠定基础, 也可作为养殖银鲳亲体人工配合饲料的研发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

分别以 100%鱼油(FO)、70%鱼油和 30%大豆油(FSO)、30%鱼油和 70%大豆油(SFO)、100%大豆油(SO)为脂肪源配制等氮、等能、等脂的 4 组饲料, 其饲料组成见表 1, 脂肪酸组成见表 2。饲料蛋白水平在 50%左右, 脂肪水平 16%左右, FO 组、FSO 组、SFO 组与 SO 组 n-3 LC-PUFA 含量依次为 5.18%, 4.01%, 3.02%与 2.22%。所有饲料原料经过充分混合后经绞肉机制成 2 mm 的颗粒, 于 25℃烘箱中风干后, 放于-20℃冰箱中保存备用。

表 1 试验饲料的组成
Tab. 1 Ingredient and proximate composition of the experimental diets

成分 composition	饲料 experimental diets			
	FO	FSO	SFO	SO
组成/(g·kg ⁻¹) ingredient				
鱼粉 ^a fish meal ^a	610	610	610	610
豆粕 ^a soybean meal ^a	160	160	160	160
面粉 ^a wheat flour ^a	100	100	100	100
鱼油 anchovy oil	100	70	30	0
大豆油 soybean oil	0	30	70	100
复合维生素 ^b vitamin premix ^b	20	20	20	20
复合矿物质 ^c mineral premix ^c	10	10	10	10
常规成分/% proximate composition				
粗蛋白 crude protein	49.62	49.95	49.73	50.14
粗脂肪 crude fat	16.29	16.36	16.46	16.02
灰分 ash	10.43	9.98	10.12	10.01
n-3 LC-PUFA ^d	5.18	4.01	3.02	2.22

注: a: 蛋白与脂肪含量(%干物质): 鱼粉, 粗蛋白 67%, 粗脂肪 10%; 粗豆粕, 粗蛋白 43%, 粗脂肪 1.9%; 面粉, 粗蛋白 12%, 粗脂肪 1.6%。b: 每 kg 饲料含肌醇 400 mg, 烟酸 150 mg, 泛酸钙 44 mg, VB₂ 20 mg, VB₆ 12 mg, VK₃ 10 mg, VB₁ 10 mg, VA 7.3 mg, 叶酸 5 mg, 生物素 1 mg, VD₃ 0.06 mg, VB₁₂ 0.02 mg, VC 400 mg, VE 500 mg。c: 每 kg 饲料含 KH₂PO₄, 22 g; FeSO₄·7H₂O, 1.0 g; ZnSO₄·7H₂O, 0.13 g; MnSO₄·4H₂O, 52.8 mg; CuSO₄·5H₂O, 12 mg; CoSO₄·7H₂O, 2 mg; KI, 2 mg。d: 依据饲料脂肪含量×总 n-3 LC-PUFA 百分比。

Note: a: Proximate composition as % dry weight. Fish meal: 67% crude protein, 10% crude lipid; soybean meal: 43% crude protein, 1.9% crude lipid; wheat flour: 12% crude protein, 1.6% crude lipid. b: Supplied (mg·kg⁻¹ diet): myo-inositol, 400; nicotinic acid, 150; calcium pantothenate, 44; riboflavin, 20; pyridoxine hydrochloride, 12; menadione, 10; thiamine hydrochloride, 10; retinyl acetate, 7.3; folic acid, 5; biotin, 1; cholecalciferol, 0.06; cyanocobalamin, 0.02; L-ascorbic acid, 400; DL- α -tocopherol acetate, 500. c: Supplied (kg⁻¹ diet): KH₂PO₄, 22 g; FeSO₄·7H₂O, 1.0 g; ZnSO₄·7H₂O, 0.13 g; MnSO₄·4H₂O, 52.8 mg; CuSO₄·5H₂O, 12 mg; CoSO₄·7H₂O, 2 mg; KI, 2 mg. d: Calculated from lipid content × Σ n-3 LC-PUFA(%).

表 2 饲料脂肪酸组成
Tab. 2 Fatty acid composition of the experimental diets

脂肪酸 fatty acids	试验饲料 experimental diets			
	FO	FSO	SFO	SO
饱和脂肪酸 saturated	29.10	28.86	27.01	25.06
单不饱和脂肪酸 Σ MUFAs	28.94	28.19	28.08	27.36
C _{18: 2n6}	7.41	11.15	20.75	27.71
C _{18: 3n6}	0.18	0.24	0.28	0.30
C _{20: 4n6}	3.13	1.69	0.71	0.63
n-6 多不饱和脂肪酸 Σ n-6 PUFAs	10.72	13.08	21.74	28.64
C _{18: 3n3}	1.23	1.94	2.94	3.62
C _{20: 3n3}	0.23	0.20	0.16	0.14
C _{20: 5n3}	14.92	12.06	8.65	5.97
C _{22: 5n3}	1.81	1.51	1.18	0.92
C _{22: 6n3}	12.82	10.75	8.34	6.82
n-3 多不饱和脂肪酸 Σ n-3 PUFAs	31.00	26.45	21.27	17.46
n-3/n-6	2.89	2.02	0.98	0.61
Σ n-3 LC-PUFAs	29.78	24.51	18.33	13.84

1.2 试验设计

240 尾 1 年龄雌性银鲳随机分入 12 个 16 m³ 的水泥池中, 每个饲料组设 3 重复。饲养试验自 2013 年 10 月开始, 于 2014 年 4 月结束, 共计 185 d。饲养期间, 连续充气增氧, 每天饱食投喂 2 次 (09:00 和 17:00), 日换水量为 30%。冬季采用加温措施保障试验水温不低于 16℃, 维持银鲳的基本摄食, 整个试验期间水温变化范围为 16~23℃, 盐度 25~28。

1.3 样品采集及分析

分别于 2013 年 11 月 20 日(卵巢 II 期)、2014 年 2 月 15 日(卵巢 III 期)以及 2014 年 4 月 8 日(卵巢 IV 期)分 3 次取样, 每个水泥池每次取 3 尾鱼, 经 100 mg/L MS222 麻醉后解剖取其肝与卵巢样品, 于-80℃中保存备用。

SOD 活性采用邻苯三酚自氧化法进行测定, 25℃ 条件下每分钟抑制邻苯三酚自氧化率达到 50%时所需酶量定义为 1 个酶活力单位。CAT 活性的测定采用徐镜波等^[20]的方法, 25℃ 下, 100 s 内使过氧化氢分解一半时的酶蛋白量为 1 个 CAT 活性单位。T-AOC 的测定采用南京建成生物公司提供的检测试剂盒, 具体操作步骤按照试剂盒说

明书进行。MDA 的测定采用硫代巴比妥酸法, 利用 MDA 可与硫代巴比妥酸反应生成红色物质, 并于光密度(OD)532 nm 处具有最大吸收峰。组织匀浆液的蛋白含量以福林-酚试剂法测定。

1.4 数据处理

数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 试验结果用 SPSS 软件进行统计与分析, 采用 Duncan 氏检验进行多重比较, 同时采用双因素方差分析方法确定饲料与卵黄发生时期对组织中抗氧化指标的交互作用。 $P < 0.05$ 即认为有显著性差异, $P < 0.01$ 即认为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 银鲳卵黄发生期间组织中抗氧化水平的变化

图 1 示卵黄发生期间组织 SOD 活性的变化。由图 1 可以看出, 肝与卵巢 SOD 活性在整个卵黄发生过程中均呈现出逐渐升高的趋势, 且卵黄发生后期 SOD 活性均显著高于卵黄发生前期 ($P < 0.05$)。卵黄发生中期肝 SOD 活性除 SO 饲料组外, 与卵黄发生前期之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。而卵黄发生中期各饲料组卵巢 SOD 活性均显著高于卵黄发生前期 ($P < 0.05$)。

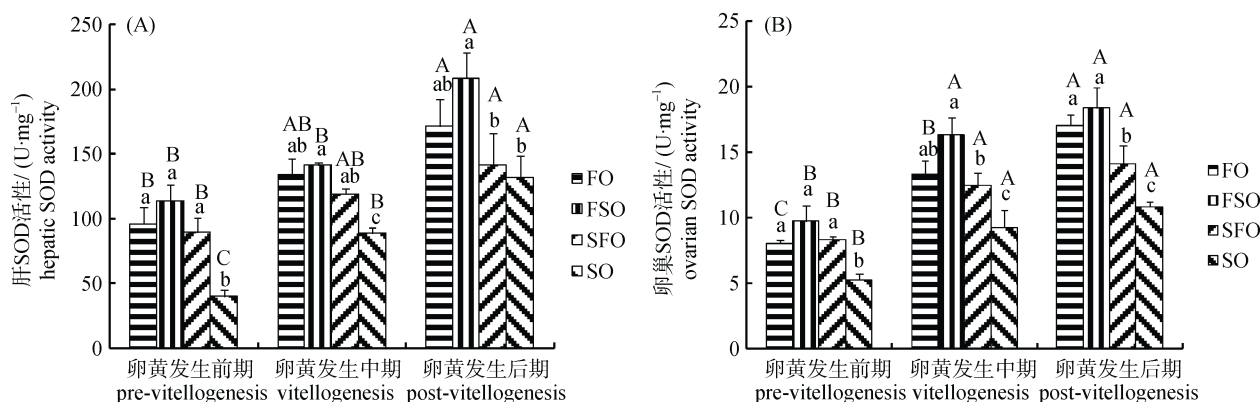


图 1 饲料 n-3 LC-PUFA 对银鲈卵黄发生期间肝(A)与卵巢(B)中 SOD 活性的影响

不同小写字母表示在同一卵黄发生期内不同饲料组间具有显著性差异($P < 0.05$); 不同大写字母表示在相同饲料组内不同卵黄发生时期具有显著性差异($P < 0.05$).

Fig. 1 Effect of dietary n-3 LC-PUFA on SOD activities in liver (A) and ovary (B) of silver pomfret during vitellogenesis. Different lowercase letters represent significant differences among diet groups at the same vitellogenesis stage ($P < 0.05$); different uppercase letters represent significant differences among vitellogenesis stages within the same diet group ($P < 0.05$).

图 2 示卵黄发生期间组织 CAT 活性的变化。由图 2 可以得出, 在卵黄发生期间, 肝与卵巢 CAT 活性均呈现逐渐升高的趋势, 且在卵黄发生后期 CAT 活性均显著性高于卵黄发生前期($P < 0.05$)。各饲料组肝 CAT 活性在卵黄发生中期与前期之间均无显著性差异($P > 0.05$), 但卵黄发生中期 FO 与 FSO 饲料组卵巢 CAT 活性则显著高于卵黄发生前期($P < 0.05$)。

图 3 示卵黄发生期间 T-AOC 水平的变化。由

图 3 可以看出, 肝与卵巢组织 T-AOC 水平在卵黄发生过程中呈现逐渐升高的趋势, 且在卵黄发生后期各饲料组 T-AOC 水平均显著高于卵黄发生前期($P < 0.05$)。尽管肝 T-AOC 水平在卵黄发生中期较前期有所升高, 但并未表现出显著性差异($P > 0.05$)。而卵巢 T-AOC 水平(除 SFO 饲料组外)在卵黄发生中期相比较前期则表现出了显著性的升高趋势($P < 0.05$)。

图 4 示卵黄发生期间 MDA 含量的变化。由

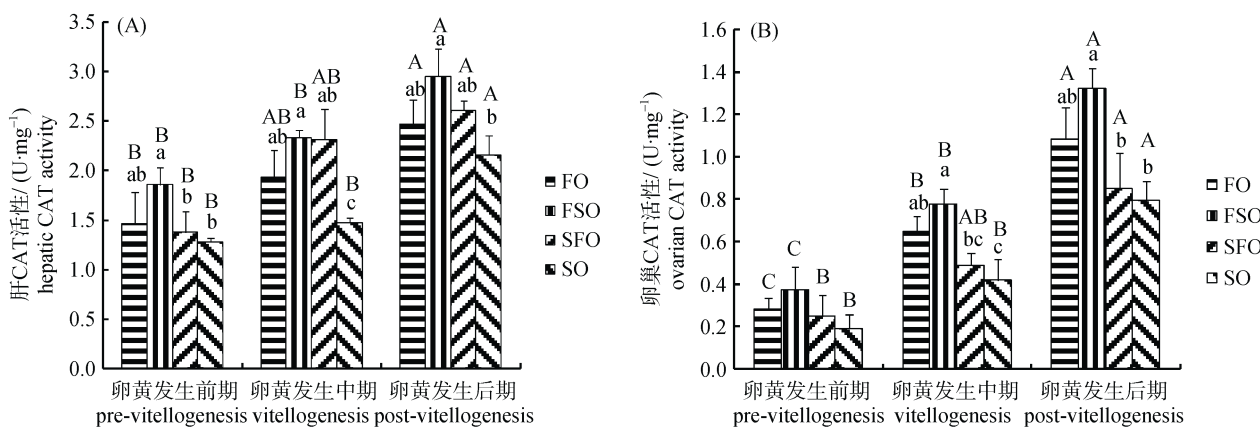


图 2 饲料 n-3 LC-PUFA 对银鲈卵黄发生期间肝(A)与卵巢(B)中 CAT 活性的影响

不同小写字母表示在同一卵黄发生期内不同饲料组间具有显著性差异($P < 0.05$); 不同大写字母表示在相同饲料组内不同卵黄发生时期具有显著性差异($P < 0.05$).

Fig. 2 Effect of dietary n-3 LC-PUFA on CAT activities in liver (A) and ovary (B) of silver pomfret during vitellogenesis. Different lowercase letters represent significant differences among diet groups at the same vitellogenesis stage ($P < 0.05$); different uppercase letters represent significant differences among vitellogenesis stages within the same diet group ($P < 0.05$).

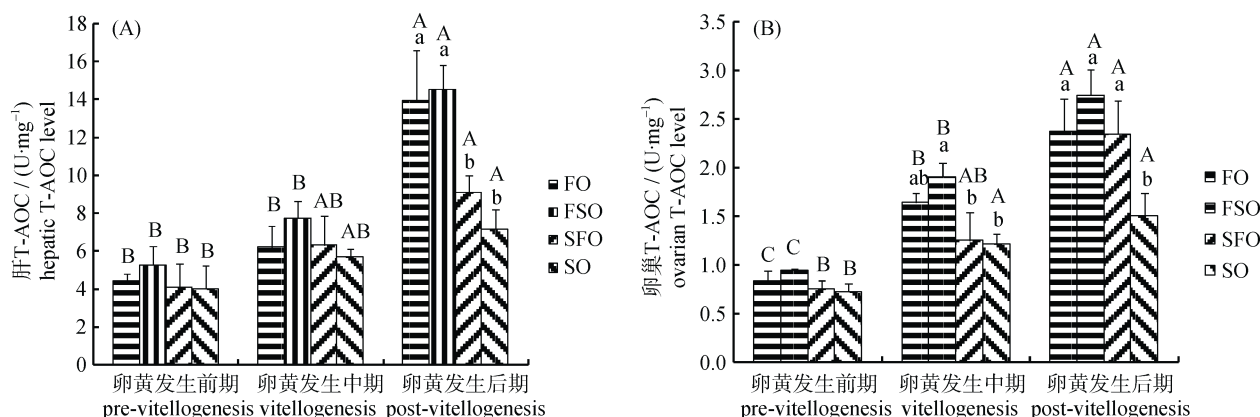


图3 饲料 n-3 LC-PUFA 对银鲳卵黄发生期间肝(A)与卵巢(B)中 T-AOC 水平的影响

不同小写字母表示在同一卵黄发生期内不同饲料组间具有显著性差异($P<0.05$); 不同大写字母表示在相同饲料组内不同卵黄发生时期具有显著性差异($P<0.05$).

Fig. 3 Effect of dietary n-3 LC-PUFA on T-AOC levels in liver (A) and ovary (B) of silver pomfret during vitellogenesis. Different lowercase letters represent significant differences among diet groups at the same vitellogenesis stage ($P<0.05$); different uppercase letters represent significant differences among vitellogenesis stages within the same diet group ($P<0.05$).

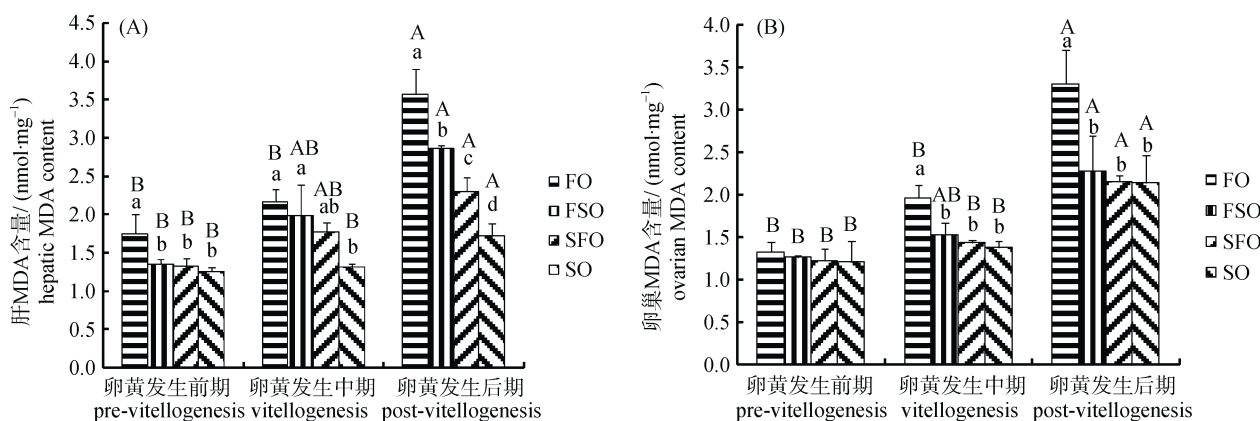


图4 饲料 n-3 LC-PUFA 对银鲳卵黄发生期间肝(A)与卵巢(B)中 MDA 含量的影响

不同小写字母表示在同一卵黄发生期内不同饲料组间具有显著性差异($P<0.05$); 不同大写字母表示在相同饲料组内不同卵黄发生时期具有显著性差异($P<0.05$).

Fig. 4 Effect of dietary n-3 LC-PUFA on MDA contents in liver (A) and ovary (B) of silver pomfret during vitellogenesis. Different lowercase letters represent significant differences among diet groups at the same vitellogenesis stage ($P<0.05$); different uppercase letters represent significant differences among vitellogenesis stages within the same diet group ($P<0.05$).

图4可以得出, 组织中MDA含量在卵黄发生过程中均呈现逐步升高的趋势, 且卵黄发生后期组织MDA含量均显著高于卵黄发生前期($P<0.05$), 但卵黄发生中期与前期间并未表现出显著性($P>0.05$).

2.2 饲料 n-3LC-PUFA 对卵黄发生期间组织抗氧化水平的影响

图1-图4示饲料 n-3LC-PUFA 对卵黄发生期间组织抗氧化水平的影响。由图可以看出, 在卵

黄发生前期与中期, FO、FSO 与 SFO 饲料组肝SOD活性均显著高于SO饲料组($P<0.05$), 但FO、FSO 与 SFO 饲料组间并无显著性差异($P>0.05$)。在卵黄发生后期, FSO 饲料组肝SOD活性显著高于SFO 与 SO 饲料组($P<0.05$), 但与FO 饲料组间无显著性差异($P>0.05$)。在卵黄发生的前期、中期及后期, FO、FSO 与 SFO 饲料组卵巢SOD活性均显著高于SO 饲料组($P<0.05$), 但FO 与 FSO 饲料组间未表现出显著性差异($P>0.05$)。在卵黄发生前期, FO、FSO

与 SFO 饲料组间卵巢 SOD 活性无显著性差异 ($P>0.05$), 而在卵黄发生中期与后期, FSO 饲料组卵巢 SOD 活性均显著高于 SFO 饲料组($P<0.05$)。

在卵黄发生前期, FSO 饲料组肝 CAT 活性显著高于 SFO 与 SO 饲料组($P<0.05$), 但与 FO 饲料组并无显著性差异($P>0.05$)。在卵黄发生中期与后期, FO、FSO 与 SFO 饲料组间肝 CAT 活性无显著性差异($P>0.05$), 且在卵黄发生中期 3 组饲料组肝 CAT 活性均显著高于 SO 饲料组($P<0.05$)。卵巢 CAT 活性在卵黄发生前期各饲料组间无显著性差异($P>0.05$), 而在卵黄发生中期与后期 FSO 饲料组卵巢 CAT 活性均为最高值且均显著高于 SFO 与 SO 饲料组($P<0.05$), 但与 FO 饲料组间无显著性差异($P>0.05$)。

在卵黄发生前期与中期, 各饲料组间肝 T-AOC 水平均未表现出显著性差异, 但在卵黄发生后期, FO 与 FSO 饲料组肝 T-AOC 水平则显著高于 SFO 与 SO 饲料组($P<0.05$)。卵巢 T-AOC 水平在卵黄发生前期各饲料组间也无显著性差异($P>0.05$), 而在卵黄发生中期与后期, FSO 饲料组卵巢 T-AOC 水平均显著性高于 SO 饲料组($P<0.05$), 但与 FO 饲料组并无显著性差异($P>0.05$)。

饲料中 n-3 LC-PUFA 含量越高, 其对应的肝及卵巢组织中 MDA 的含量则越高。在卵黄发生

前期, FO 饲料组肝 MDA 含量显著高于 FSO、SFO 及 SO 饲料组($P<0.05$), 但后 3 组饲料组间并未有显著性差异($P>0.05$)。在卵黄发生中期, FO 与 FSO 饲料组肝 MDA 含量均显著高于 SO 饲料组($P<0.05$), 但 FO、FSO 及 SFO 组间则无显著性差异($P>0.05$)。在卵黄发生后期, 各饲料组间肝 MDA 含量均表现出了显著性差异($P<0.05$)。各饲料组卵巢 MDA 含量在卵黄发生前期均无显著性差异($P>0.05$), 而在卵黄发生中期与后期, FO 饲料组卵巢 MDA 含量则显著性高于 FSO、SFO 及 SO 饲料组($P<0.05$), 但 FSO、SFO 及 SO 饲料组间并未表现出显著性差异($P>0.05$)。

试验饲料与卵黄发生期时期对银鲈组织中抗氧化水平的交互作用分析结果见表 3。由表 3 可以得出, 仅从单一因子而言, 试验饲料与卵黄发生时期对肝及卵巢中 SOD、CAT 活性、T-AOC 水平及 MDA 含量均具有极显著影响($P<0.01$), 但试验饲料与卵黄发生时期两者的交互作用则仅在肝 T-AOC 水平与 MDA 含量两个指标上表现出了显著性($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 卵黄发生期间组织中抗氧化水平的变化
鱼类的卵黄发生是一个能量积累的过程, 在

表 3 饲料与卵黄发生期时期对银鲈组织中抗氧化水平的双因素分析
Tab. 3 Results of two-way ANOVA analysis used to study the effects of diet and stages of vitellogenesis on tissue antioxidant levels in silver pomfret

项目 item	饲料 diet		发生期时期 stage		饲料×发生期时期 diet × stage	
	F	P	F	P	F	P
肝 liver						
SOD	25.165	0.000**	63.536	0.000**	1.416	0.286
CAT	11.893	0.001**	45.784	0.000**	1.013	0.461
T-AOC	9.714	0.002**	59.899	0.000**	4.057	0.019*
MDA	28.288	0.000**	69.468	0.000**	4.799	0.010*
卵巢 ovary						
SOD	34.712	0.000**	89.717	0.000**	1.599	0.230
CAT	15.430	0.000**	111.318	0.000**	1.490	0.262
T-AOC	13.061	0.000**	98.475	0.000**	2.949	0.052
MDA	6.115	0.009**	38.117	0.000**	1.605	0.228

注: * $P<0.05$; ** $P<0.01$.
Note: * $P<0.05$; ** $P<0.01$.

此期间大量的营养素(如脂类)经过在肝组织中的代谢与合成后,最终转运至卵巢组织中存储下来,以保障卵子的最终发育成熟。研究发现,鱼类在卵子发育成熟过程中,卵巢中会积累大量的脂肪酸营养,特别是多不饱和脂肪酸^[21]。众所周知,组织中脂类营养特别是多不饱和脂肪酸的大量聚集必然会在一定程度上引发脂质过氧化物的发生,因此,换言之,多不饱和脂肪酸的含量及不饱和程度决定了组织中可能发生的脂质过氧化程度^[22-23]。MDA 作为脂质过氧化反应最重要的产物之一,它的产生能加剧细胞膜的损伤,因此,MDA 含量的检测常用于衡量组织中脂质过氧化程度以及细胞受损程度的常用指标之一^[24]。本研究结果显示,银鲳卵黄发生过程中(即性腺快速发育阶段),肝与卵巢组织 MDA 含量呈现逐渐升高的趋势,表明在性腺快速发育过程中其组织中脂质过氧化程度亦明显增加。张晓雁等^[25]在对中华鲟(*Acipenser sinensis*)的研究中同样发现,性腺进入快速发育阶段时会引发其血清 MDA 含量的升高。分析已有的研究报道发现,鱼类在其组织发生脂质氧化的过程中,其机体会通过自身的抗氧化系统产生相应的抗氧化物质,用于抵消脂质过氧化产物对机体细胞的攻击^[22-24]。鱼类的抗氧化系统主要由酶系统(SOD、CAT 等)和非酶系统(维生素、氨基酸等)组成,而 T-AOC 则反映的是这两者的综合体现^[23]。在银鲳卵黄发生过程中,组织中 SOD、CAT 活性以及 T-AOC 水平的变化趋势与 MDA 含量的变化趋势基本一致,即均呈现逐步升高的趋势。这表明,银鲳进入性腺快速发育阶段过程中,其组织抗氧化能力亦明显增强,以消除组织中随之而来的由于脂质过氧化所造成的细胞损伤,确保性腺的正常发育成熟。这可能是鱼类繁殖过程中的一种自我保护方式,具体的生理机制仍需要进一步的研究探讨。

本研究结果还发现,银鲳肝组织中 SOD、CAT 活性及 T-AOC 水平均高于卵巢组织数倍,表明肝是消除机体自由基与过氧化物的主要组织器官。许治冲等^[26]在对松浦镜鲤(*Cyprinus carpio*)的研究中同样发现,肝胰腺中的 SOD 与 CAT 活性均明显高于脾组织。这些研究结果进一步证明,

肝作为鱼体最大的消化腺,不仅承担着各种营养素的合成与代谢功能,还承担着对外源性及内源性毒物解毒的功能。

3.2 饲料 n-3LC-PUFA 对卵黄发生期间组织抗氧化水平的影响

已有的研究发现,LC-PUFA 可通过特定的生理代谢途径直接作用于机体抗氧化系统的组成因子,进而提高机体的抗氧化能力^[27]。本研究中,饲料中较高的 n-3 LC-PUFA 含量明显提高了银鲳卵黄发生期间组织中的抗氧化能力。岳彦峰等^[22]在对褐菖鲈(*Sebastiscus marmoratus*)的研究中得出,饲料中适宜的 n-3 LC-PUFA 含量可显著提高其机体的抗氧化能力,但饲料中过高和过低的 n-3 LC-PUFA 含量则均显著降低了机体的抗氧化能力。在对草鱼的研究中也发现,饲料中添加 LC-PUFA 可有效提高其总抗氧化能力^[23]。同样,研究发现饲料中适宜的 LC-PUFA 含量可有效提高矛尾复虾虎鱼(*Synechogobius hasta*)的 SOD 与 CAT 活性,但过高的 LC-PUFA 含量则在一定程度上抑制了 CAT 的活性^[24]。以上研究结果均证明,适量的 LC-PUFA 可在一定程度上提高鱼体的抗氧化能力。然而,在对许氏平鲈(*Sebastes schlegeli*)^[28]、细点牙鲷(*Dentex dentex*)^[29]以及真鲷(*Sparus aurata*)^[30]的研究中则发现,LC-PUFA 对鱼体组织中主要抗氧化酶活性的影响并不显著。分析上述研究结果间的差异,其原因可能有两点:一是由试验所用饲料组成不同所导致,二是 LC-PUFA 在改善鱼体抗氧化能力方面可能存在种间差异。LC-PUFA 由于其含有多个不饱和键,因而极易受到自由基的攻击,进而易诱发组织脂质过氧化反应的发生。本研究中发现,随着饲料中 n-3 LC-PUFA 含量的升高,银鲳组织中 MDA 含量也呈现出随之升高的趋势,这表明,饲料中较高的 n-3 LC-PUFA 含量一定程度上提高了银鲳组织中脂质氧化的程度。在对褐菖鲈^[22]及许氏平鲈^[24]的研究中也均得出,组织中 MDA 含量随着饲料中 LC-PUFA 含量的升高而升高。综合分析已有的研究报道,在鱼体健康的前提条件下,机体抗氧化与组织脂质过氧化之间实则处于一个动态平衡

状态,适宜的 n-3 LC-PUFA 含量虽然一定程度上诱发了组织脂质过氧化物的发生,但同时也有有效改善了鱼体的抗氧化能力,从而避免了机体的氧化损伤。然而,针对过量 n-3 LC-PUFA 在一定程度上降低了鱼体抗氧化能力的现象,其原因可能是过量 n-3 LC-PUFA 引发组织中脂质过氧化反应大幅度升高,并最终导致机体抗氧化与组织脂质过氧化之间平衡状态失调的结果。从本文的研究结果来看,在卵黄发生中、后期饲料中 n-3 LC-PUFA 含量最高的饲料组(FO),其组织中的 SOD、CAT 活性以及 T-AOC 水平虽与饲料 n-3 LC-PUFA 含量略低的饲料组(FSO)并无显著性差异,但却均低于后者,这在一定程度上表明,对于银鲳而言,饲料中 n-3 LC-PUFA 也并非是越高越好,FO 饲料组抗氧化能力略有降低的原因可能跟组织中 MDA 含量的升高有关。此外,本研究还发现,饲料中 n-3 LC-PUFA 含量对银鲳肝与卵巢组织中 MDA 含量的影响不尽相同,卵巢组织中 MDA 含量受饲料中 n-3 LC-PUFA 含量的影响程度要明显小于肝组织。众所周知,鱼类繁殖期间卵巢组织会存储大量的营养素(包括脂类)以保障卵子的发育、成熟,并繁衍后代。由此可以推测,鱼类卵巢在发育成熟过程中,可能存在某种特殊的自我保护机制,以避免存储于卵巢中的大量脂类营养发生脂质过氧化的连锁反应,具体的原因仍待进一步的研究分析。

4 结论

在卵黄发生过程中,银鲳组织抗氧化水平相应逐步提升,饲料中适宜的 n-3 LC-PUFA 可有效提高组织的抗氧化水平,组织中 MDA 含量随饲料 n-3 LC-PUFA 含量的升高而升高,但卵巢组织中 MDA 含量受饲料中 n-3 LC-PUFA 含量的影响程度要明显小于肝组织。双因素方差分析表明,试验饲料与卵黄发生时期对银鲳组织抗氧化水平均具有显著性影响,且两者对肝 T-AOC 水平与 MDA 含量存在显著性的交互作用。

参考文献:

[1] Wu F, Wen H, Jiang M, et al. Effect of dietary vitamin C on growth performance, flesh quality and antioxidant function

in genetically improved farmed tilapia[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(1): 79–87. [吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料维生素 C 水平对吉富罗非鱼生长性能、肌肉品质和抗氧化功能的影响[J]. 中国水产科学, 2015, 22(1): 79–87.]

- [2] Niu H X, Lei J L, Chang J, et al. Effect of a vitamin E-supplemented high-fat diet on the growth, lipid metabolism and antioxidant function of turbot (*Scophthalmus maximus* L.)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(2): 291–299. [牛化欣, 雷霖霖, 常杰, 等. 维生素 E 对高脂饲料养殖大菱鲆生长、脂类代谢和抗氧化性能的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(2): 291–299.]
- [3] Wang J Y, Jiang K J, Xia B, et al. Effects of small dietary peptides on digestive enzyme activity, antioxidative capability, and biochemical composition in tissues of juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 21(6): 1154–1164. [王际英, 姜柯君, 夏斌, 等. 小肽对星斑川鲷幼鱼消化酶活性、抗氧化能力和生化组成的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(6): 1154–1164.]
- [4] Zhang C N, Wang A M, Liu W B, et al. Effects of dietary lipid levels on fat deposition, lipid metabolize enzyme and antioxidant activities of *Chelon haematocheilus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(1): 108–115. [张春暖, 王爱民, 刘文斌, 等. 饲料脂肪水平对梭鱼脂肪沉积、脂肪代谢酶及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2013, 20(1): 108–115.]
- [5] Watanabe T, Vassallo-Agius R. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan[J]. Aquaculture, 2003, 227(1–4): 35–61.
- [6] Martin M V, Rodriguez C, Cejas J R, et al. Body lipid and fatty acid composition in male gilthead seabream broodstock at different stages of the reproductive cycle: effects of a diet lacking n-3 and n-6 HUFA[J]. Aqu Nutr, 2009, 15(1): 60–72.
- [7] Shi Z H, Yue Y F, Peng S M, et al. Effects of dietary lipid levels on serum biochemistry indices, immunity, and antioxidant activity in *Sebastiscus marmoratus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(1): 101–107. [施兆鸿, 岳彦峰, 彭士明, 等. 饲料脂肪水平对褐菖鲉血清生化指标、免疫及抗氧化酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2013, 20(1): 101–107.]
- [8] Pan Y, Mao S H, Guan Y, et al. Effects of different lipid sources in diets on growth performance, lipid metabolism and antioxidant ability of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(7): 1368–1375. [潘瑜, 毛述宏, 关勇, 等. 饲料中不同脂肪源对鲤鱼生长性能、脂质代谢和抗氧化能力的影响[J]. 动物

- 营养学报, 2012, 24(7): 1368–1375.]
- [9] Han Y Z, Jiang Z Q, Ren T J, et al. Effects of oxidized fish oil blended with palm oil on antioxidant capacity and histology of Japanese sea bass (*Lateolabrax maculatus*) juvenile[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(4): 798–806. [韩雨哲, 姜志强, 任同军, 等. 氧化鱼油与棕榈油对花鲈肝脏抗氧化酶及组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(4): 798–806.]
- [10] Lin S M, Luo L. Effects of dietary lipid level and compound lipotropic agent on growth performance and metabolic and antioxidant indices in hepatopancreas of tilapia[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(6): 1585–1591. [林仕梅, 罗莉. 饲料脂肪水平和复合降脂因子对罗非鱼生长性能和肝胰脏代谢、抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(6): 1585–1591.]
- [11] Shi Z H, Ma L B, Gao L J, et al. Feeding habits and growth characteristics of larva and juvenile of *Pampus argenteus* under artificial rearing condition[J]. Marine Fisheries Research, 2007, 28(4): 540–549. [施兆鸿, 马凌波, 高露姣, 等. 人工育苗条件下银鲳仔稚幼鱼摄食与生长特性[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(4): 540–549.]
- [12] Shi Z H, Zhao F, Wang J G, et al. Artificial insemination and incubation of silver pomfret (*Pampus argenteus*) from Zhoushan fishing ground[J]. Fishery Modernization, 2009, 36(1): 18–21. [施兆鸿, 赵峰, 王建刚, 等. 舟山渔场银鲳人工授精及孵化[J]. 渔业现代化, 2009, 36(1): 18–21.]
- [13] Shi Z H, Peng S M, Wang J G, et al. Observation of embryonic, larval and juvenile development in *Pampus argenteus* offspring[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 267–274. [施兆鸿, 彭士明, 王建钢, 等. 人工养殖银鲳子代的胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 267–274.]
- [14] Peng S M, Shi Z H, Sun P, et al. Effects of breeding density on the growth and tissues biochemical indices of juvenile silver pomfret (*Pampus argenteus*)[J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(7): 1371–1376. [彭士明, 施兆鸿, 孙鹏, 等. 养殖密度对银鲳幼鱼生长及组织生化指标的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(7): 1371–1376.]
- [15] Peng S M, Yin F, Sun P, et al. Effects of different diets on weight gain, hepatic lipase and antioxidant enzyme of juvenile silver pomfret (*Pampus argenteus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(6): 769–774. [彭士明, 尹飞, 孙鹏, 等. 不同饲料对银鲳幼鱼增重率、肝脏脂酶及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 769–774.]
- [16] Almatar S M, James C M. Performance of different types of commercial feeds on the growth of juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*, under tank culture conditions[J]. J World Aqu Soc, 2007, 38(4): 550–556.
- [17] Hossain M A, Almatar S M, James C M. Optimum dietary protein level for juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus* (Euphrasen)[J]. J World Aqu Soc, 2010, 41(5): 710–720.
- [18] Peng S M, Shi Z H, Fei Y, et al. Effect of high-dose vitamin C supplementation on growth, tissue ascorbic acid concentrations and physiological response to transportation stress in juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*[J]. J Appl Ichthyol, 2013, 29(6): 1337–1341.
- [19] Peng S M, Shi Z H, Yin F, et al. Selection of diet for culture of juvenile silver pomfret, *Pampus argenteus*[J]. Chin J Oceanol Limnol, 2012, 30(2): 231–236.
- [20] Xu J B, Yuan X F, Lang P Z. The determination of enzymic activity and its inhibition on catalase by ultraviolet spectrophotometry[J]. Environmental Chemistry, 1997, 16(1): 73–76. [徐镜波, 袁晓凡, 郎佩珍. 过氧化氢活性及活性抑制的紫外分光光度测定[J]. 环境化学, 1997, 16(1): 73–76.]
- [21] Wassef E A, Wahbi O M, Shalaby S H. Effects of dietary vegetable oils on liver and gonad fatty acid metabolism and gonad maturation in gilthead seabream (*Sparus aurata*) males and females[J]. Aquac Int, 2012, 20(2): 255–281.
- [22] Yue Y F, Peng S M, Shi Z H, et al. Effects of dietary n-3HUFA levels on serum biochemistry indices, main lipid metabolism enzyme activities and antioxidant ability of *Sebastes marmoratus*[J]. Marine Fisheries, 2013, 35(4): 460–467. [岳彦峰, 彭士明, 施兆鸿, 等. 饲料 n-3HUFA 水平对褐菖鲉血清生化指标、主要脂代谢酶活力及抗氧化能力的影响[J]. 海洋渔业, 2013, 35(4): 460–467.]
- [23] Ji H, Cao Y Z, Liu P, et al. Effect of dietary HUFA on the lipid metabolism in grass carp *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(5): 881–889. [吉红, 曹艳姿, 刘品, 等. 饲料中 HUFA 影响草鱼脂质代谢的研究[J]. 水生生物学报, 2009, 33(5): 881–889.]
- [24] Luo Z, Tan X Y, Li S D, et al. Effect of dietary arachidonic acid levels on growth performance, hepatic fatty acid profile, intermediary metabolism and antioxidant responses for juvenile *Synechogobius hasta*[J]. Aqu Nutr, 2012, 18(3): 340–348.
- [25] Zhang X Y, Li L X, Zhang Y Z, et al. Effects of gonad development and age on the antioxidant defenses of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2013, 22(8): 1049–1054. [张晓雁, 李罗新, 张燕珍, 等. 性腺发育及年龄对养殖中华鲟抗氧化力的影响[J]. 长江流域资源与环境, 2013, 22(8): 1049–1054.]
- [26] Xu Z C, Liu H, Xu Q Y, et al. Effects of dietary lipid levels on immunity and antioxidant function in Songpu mirror carp at different temperatures[J]. Journal of Dalian Ocean Univer-

- sity, 2012, 27(5): 429–435. [许治冲, 刘晖, 徐奇友, 等. 温度和饲料脂肪水平对松浦镜鲤免疫及抗氧化能力的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(5): 429–435.]
- [27] Frenoux J M R, Prost E D, Belleville J L, et al. A polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats[J]. J Nutr, 2001, 131(1): 39–45.
- [28] Aminikhoei Z, Choi J, Lee S M. Effects of different dietary lipid sources on growth performance, fatty acid composition, and antioxidant enzyme activity of juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*[J]. J World Aqu Soc, 2013, 44(5): 716–725.
- [29] Mourente G, Tocher D R, Diaz-salvago E, et al. Study of the n-3 highly unsaturated fatty acids requirement and antioxidant status of *Dentex dentex* larvae at the Artemia feeding stage[J]. Aquaculture, 1999, 179(1–4): 291–307.
- [30] Mourente G, Diza-salvago E, Tocher D R, et al. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid/vitamin E (PUFA/tocopherol) ratio on antioxidant defence mechanisms of juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Osteichthyes, Sparidae)[J]. Fish Physiol Biochem, 2000, 23(4): 337–351.

Changes in tissue antioxidant levels in silver pomfret (*Pampus argenteus*) during vitellogenesis and the response to dietary n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids

PENG Shiming, SHI Zhaohong, GAO Quanxin, ZHANG Chenjie, WANG Jiangang

East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China

Abstract: Changes in hepatic and ovarian superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities, total antioxidant capacity (T-AOC) and malonyldialdehyde (MDA) contents in silver pomfret (*Pampus argenteus*) during vitellogenesis and the responses of their levels to dietary n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) were investigated. Four iso-nitrogenous, iso-energetic and iso-lipidic experimental diets were formulated: (1) 100% fish oil (FO); (2) 70% fish oil and 30% soybean oil (FSO); (3) 30% fish oil and 70% soybean oil (SFO); and (4) 100% soybean oil (SO). Female silver pomfrets (1 year old) were assigned to one of the four diets (with three replicates each) for 185 d. The results showed that there was an increase in SOD and CAT activities, T-AOC levels and MDA contents in the liver and ovary during vitellogenesis, and that the levels of all the indices in the post-vitellogenesis stage were significantly higher than those in the pre-vitellogenesis stage ($P < 0.05$). No significant differences in hepatic SOD (except in the SO diet group) and CAT activities, T-AOC levels and MDA contents were found between the vitellogenesis and pre-vitellogenesis stages ($P > 0.05$). However, ovarian SOD and CAT activities, and T-AOC levels in the FO and FSO diet groups at the vitellogenesis stage, were significantly higher than those at the pre-vitellogenesis stage ($P < 0.05$). The highest levels of hepatic and ovarian SOD and CAT activities during vitellogenesis were found in the FSO diet group. At the post-vitellogenesis stage, hepatic and ovarian SOD and CAT activities in the FSO group were significantly higher than those in the SO group, respectively ($P < 0.05$); however, there was no significant difference between the FSO and FO groups ($P > 0.05$). No significant difference was found in hepatic and ovarian T-AOC levels among the diet groups at the pre-vitellogenesis stage ($P > 0.05$); however, at the post-vitellogenesis stage, the hepatic and ovarian T-AOC levels in the FO and FSO groups were significantly higher than those in the SO group ($P < 0.05$), while there was no significant difference between the FO and FSO groups ($P > 0.05$). The MDA contents in the liver and ovary increased with increasing dietary n-3 LC-PUFA, and this trend was more apparent in the liver tissue. There was no significant difference in ovarian MDA contents among the diet groups during vitellogenesis ($P > 0.05$), except for the FO group, which showed a significant increase at the vitellogenesis and post-vitellogenesis stages ($P < 0.05$). Statistical analysis showed that tissue antioxidant levels increased gradually during vitellogenesis, and the optimum dietary n-3 LC-PUFA content (4.01%, FSO group) could promote the tissue antioxidant levels in silver pomfret at the vitellogenesis and post-vitellogenesis stages. The results of two-way ANOVA indicated that statistically significant effects of both diets and stages were observed for the tissue antioxidant levels ($P < 0.01$). Meanwhile, the significant effects of interactions of diets and stages on the hepatic T-AOC levels and MDA content were also recorded ($P < 0.05$).

Key words: *Pampus argenteus*; vitellogenesis; n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid (n-3 LC-PUFA); antioxidant; liver; ovary

Corresponding author: PENG Shiming. E-mail: shiming.peng@163.com