

饲料中添加谷胱甘肽对草鱼组织中谷胱甘肽沉积和抗氧化能力的影响

朱选, 曹俊明, 赵红霞, 张海涛

(广东省农业科学院 畜牧研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 在基础饲料中分别添加还原型谷胱甘肽 (GSH) 至 0 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg、300 mg/kg、400 mg/kg 和 500 mg/kg, 分别投喂草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 幼鱼 8 周, 草鱼幼鱼体质量 (4.09 ± 0.01) g, 观察 GSH 在草鱼组织中沉积以及对草鱼抗氧化功能的影响。结果表明, 饲料中添加外源 GSH 对草鱼生长影响不显著 ($P > 0.05$), 实验组肌肉中 GSH 含量显著高于对照组 ($P < 0.05$), 肝脏中 GSH 含量在 GSH 添加水平为 200 mg/kg 时显著高于对照组 ($P < 0.05$), 肝脏和肌肉中丙二醛 (MDA) 在 GSH 添加水平为 300 mg/kg 组达到最低, 显著低于对照组 ($P < 0.05$)。添加 GSH 对血清中 GSH 和 MDA 影响不显著 ($P > 0.05$)。草鱼肝脏中谷胱甘肽还原酶 (GR) 活力在 400 mg/kg 组显著高于对照组 ($P < 0.05$), 肌肉中 GR 活力有增高趋势但差异不显著 ($P > 0.05$); 肝脏和肌肉中 γ -谷氨酰转氨酶 (γ -GT) 均高于对照组, 分别在 300 mg/kg 组和 200 mg/kg 组达到显著水平 ($P < 0.05$); 肝脏中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活力、总抗氧化能力 (T-AOC) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 能力不同程度升高, 均在 200 mg/kg 组达到最高, 显著高于对照组 ($P < 0.05$); 血清 GSH-PX 活力和 T-AOC 有增高趋势但与对照组差异不显著 ($P > 0.05$); 血清和肝脏中活性氧 (ROS) 含量分别在 400 mg/kg 和 300 mg/kg 组达到最低, 显著低于对照组 ($P < 0.05$)。结果提示, 饲料中添加 GSH 能够促进草鱼肝脏和肌肉中 GSH 的沉积, 提高肝脏及肌肉中 GR 和 γ -GT 活力, 以及肝脏中 GSH-PX 和 SOD 活力与总抗氧化能力, 减少肝脏中 MDA 含量, 降低肝脏及血清中 ROS 含量, 因此 GSH 在水产饲料中具有广泛的应用前景。[中国水产科学, 2008, 15 (1): 160-166]

关键词: 草鱼; 谷胱甘肽; 谷胱甘肽沉积; 抗氧化能力

中图分类号: S963.7

文献标识码: A

文献编号: 1005-8737-(2008)01-0160-07

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 为低等脊椎动物, 免疫系统发育水平极其低下。研究表明, 水生生物的健康状况与其组织中氧自由基的产生密切相关^[1]。当鱼类暴露于杀虫剂、重金属离子、药物、高温、组织缺氧、氨氮 (包括离子铵氮和非离子铵氮)、亚硝酸盐和营养失衡的环境时, 机体需氧量增加, 代谢异常, 引起氧化应激, 最终会造成机体的氧化损伤、生长速度降低甚至死亡。因此, 为防止氧化引起的疾病和死亡, 机体必须具备一套有效的氧化防御机制来调节氧自由基的平衡^[2]。

谷胱甘肽 (glutathione, 简称 GSH) 是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的含有巯基的天然三肽, 作为真核细胞内普遍存在的小分子抗氧化剂, 在消除机体内的氧自由基时起关键作用。作为抗氧化剂或促生长剂, 已有谷胱甘肽在仔猪^[3]、黄羽肉鸡^[4]应用效果的报道。在水产养殖上, 大多是研究 GSH 的解毒及抗氧化作用, 张甬元等^[5]发现 GSH 可缓解草鱼因微囊藻毒素引起的中毒症,

惠天朝等^[6]的研究表明, GSH 可缓解重金属离子对罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 体毒性作用, 鱼体内 GSH 水平及以及和 GSH 密切相关的酶 (谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽硫转移酶) 是反应鱼体健康的敏感指标, GSH 作为饲料添加剂在水产饲料中应用的研究还非常少。刘晓华等^[7]对初始体质量约 1 g 的凡纳滨对虾 (*L. vannamei*) 的研究表明, GSH 可促进生长, 提高肝胰腺的抗氧化能力 (GSH-PX、GR、SOD) 及降低脂质过氧化物 (MDA) 含量, 梁春梅^[8]对平均体质量 3 g 左右的奥尼罗非鱼 (*O. niloticus* × *O. aureus*) 的实验结果表明, 在纯化饲料基础上添加一定量的 GSH 可提高特定生长率, 促进 IGF-I 分泌, 提高罗非鱼血清中 GSH-PX、GR 活力, 提高肝组织 GR 活力, 增强鱼体抗氧化能力, 焦彩虹^[9]对罗非鱼的实验也取得相似结论。何芬^[10]的研究表明, GSH 对鲢 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 幼鱼有一定促生长作用, 但添加水平要高达 0.5%。GSH 对草鱼仔稚鱼也有一定

收稿日期: 2007-03-28; 修订日期: 2007-08-03.

基金项目: 广东省科技攻关项目 (2006B20301029); 广东省农业科学院探索项目 (粤农科 [2004] 34 号)。

作者简介: 朱选 (1968-), 男, 研究员, 研究方向为水产动物营养与饲料加工。E-mail: zwz333@sohu.com

通讯作者: 曹俊明 (1962-), E-mail: junmcao@163.com

的促生长效果,添加量也较高(0.1%~0.5%)。至今,GSH在草鱼方面的抗氧化作用研究较少,为此,本研究以草鱼幼鱼为研究对象,探讨GSH在较经济的添加水平下对草鱼体内GSH的沉积、抗氧化能力以及脂质过氧化产物的影响。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

以豆粕、菜粕等为主要蛋白源,豆油为主要脂

肪源,次粉为主要糖源配制等氮等能的实用基础饲料,并作为对照饲料,其配方和营养组成如表1所示。在基础饲料中分别添加GSH至0 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg、300 mg/kg、400 mg/kg和500 mg/kg配制6种试验饲料。饲料原料经过40目筛粉碎,混合均匀后用SLX—80型挤压机制成直径为2.0 mm的饲料,在45℃烘干冷却后放入密封袋中于-15℃冰箱中保存待用。

表1 基础饲料配方及营养组成
Tab.1 Composition of the basal diet

		% DM	
成份 Ingredient	含量 Content	成份 Ingredient	含量 Content
鱼粉 Fish meal	3.0	豆油 Soybean oil	2.0
豆粕 Soybean meal	18.5	维生素预混料 Vitamin mix	0.1
菜粕 Rapeseed meal	20.0	矿物质预混料 Mineral mix	0.5
麦芽根 Root of malt	10.0	磷酸二氢钙 Calcium phosphate	1.2
棉粕 Cottonseed meal	12.0	纤维素 Cellulose	2.7
次粉 Wheat middlings	24.0	统糠 Crude rice bran	5.0
磷脂 Soybean lecithin	0.5	氯化胆碱 Choline chloride	0.5
粗蛋白 Crude protein	30.3	粗灰分 Crude ash	7.3
粗脂肪 Crude lipid	3.3	能量 Energy (kJ·g ⁻¹)	7.3

注:维生素预混料和矿物质预混料由广州飞禧水产科技公司提供。

Note: Vitamin mix and mineral mix from GuangZhou Fishtech Fisheries Science and Technology Co.Ltd.

1.2 实验鱼和饲养方法

草鱼幼鱼由中山大学鱼类研究室鱼场提供,饲养实验在本研究所室内循环水养殖系统中进行。实验鱼先在室外循环水泥池中驯养2周,然后选用720尾平均体质量约4.1 g草鱼幼鱼随机分箱,在300 L的循环流水过滤水族箱中进行养殖实验。每组饲料设4个重复,每个重复放鱼30尾。实验期间定量投喂,每日分别在8:30、11:30和16:30分3次投喂,日投喂量(以饲料干物质计算)为体质量的6%。每天观察鱼只健康状况,记录死亡情况,每2周称重1次,实验周期为8周。水温18~30℃,pH 7.5,溶氧>5 mg/L,氨氮<0.02 mg/L。试验结束时停饲24 h后称重,计算增重率、存活率、饲料系数。

1.3 样品采集

饲养实验结束时,每个重复随机取10尾草鱼,以无菌的10 mL注射器及5号针头自尾动脉取血,静置1 h后离心取血清,保存于-20℃备用。取抽过血的5尾草鱼,解剖,分别采集肝脏和肌肉组织

0.2~1.0 g在预冷的匀浆介质(W/V=1/9)中匀浆,在4℃以3 000~4 000 r/min离心10~15 min,取上清液,分装,保存于-20℃备用。

1.4 样品测定

组织匀浆液的蛋白测定使用南京建成生物工程研究所蛋白试剂盒,基于Bradford染色过程,以牛血清蛋白作为标准;GSH采用722可见分光光度计进行比色定量测定,使用南京建成生物工程研究所试剂盒;丙二醛(Malondialdehyde, MDA)根据硫代巴比妥酸法(TBA)进行比色定量测定,使用南京建成生物工程研究所试剂盒;γ-谷氨酰转移酶(γ-glutamyl transferase, γ-GT)采用可见分光光度计进行比色定量测定,使用南京建成生物工程研究所试剂盒;谷胱甘肽还原酶(Glutathionereductase, GR):采用722可见分光光度计进行比色定量测定,使用南京建成生物工程研究所试剂盒;谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathioneperoxidase, GSH-PX):采用二硫代硝基苯甲酸法(DTNA),使用南京建成生物工程研究所成试剂盒;

超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 使用黄嘌呤氧化酶法, 使用南京建成生物工程研究所试剂盒; 总抗氧化能力 (Total antioxidant competence, T-AOC) 采用 722 可见分光光度计进行比色定量测定, 使用南京建成生物工程研究所试剂盒测定; 活性氧 (ROS) 根据 Fenton 反应测定, 使用南京建成生物工程研究所试剂盒。

1.5 数据分析

实验结果用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm SD$) 表示, 采用 SPSS 软件进行数据分析和统计, 先对数据作单因素方差分析 (ANOVA), 若处理间差异显著, 再用 Duncan's 多重比较, 显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 GSH对草鱼增重率、饲料系数、存活率的影响

经过 8 周时间实验表明, 饲料中添加不同剂量 GSH 对草鱼幼鱼的生长及饲料系数无显著影响, 各

组均有较高的存活率, 无显著性差异 ($P > 0.05$), 具体结果如表 2 所示。

2.2 草鱼组织中GSH和MDA含量

从表 3 可以看出, 实验组草鱼肌肉中 GSH 含量在本实验添加剂量范围内均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 肝脏中 GSH 含量在 GSH 添加量 200 mg/kg 时显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其余添加水平, 差异不显著但有增加的趋势。饲料中 GSH 添加水平在 300 mg/kg、400 mg/kg 和 500 mg/kg 时, 肝脏中 MDA 含量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 其中在 300 mg/kg 组达到最低值, 添加水平在 100 mg/kg、200 mg/kg 时, 肝脏中 MDA 含量有降低趋势但差异不显著。肌肉中 MDA 含量在饲料中 GSH 添加水平分别为 100 mg/kg 和 300 mg/kg, 显著低于对照组, 其余 GSH 添加水平时, 有降低趋势但差异不显著。饲料中添加 GSH 对草鱼血清中 GSH 和 MDA 含量影响不显著。

表 2 GSH 对草鱼幼鱼生长、存活及饲料系数的影响

Tab.2 Effects of dietary GSH on growth, survival rate and FCR of *Ctenopharyngodon idella*

$n=4; \bar{X} \pm SE$

GSH 添加量 / (mg · kg ⁻¹) Level of GSH in diet	增重率 / % Weight gain	饲料系数 FCR	存活率 / % Survival rate
0	478.14 ± 10.87	2.35 ± 0.07	97.50
100	499.91 ± 10.07	2.35 ± 0.07	98.88
200	500.401 ± 11.70	2.18 ± 0.16	98.33
300	464.911 ± 27.27	2.50 ± 0.11	99.16
400	478.24 ± 18.59	2.44 ± 0.10	97.50
500	482.18 ± 17.23	2.50 ± 0.09	97.50

表 3 草鱼血清、肝脏、肌肉中 GSH 和 MDA 含量

Tab.3 Contents of GSH and MDA in hepatopancreas, muscle and serum of *Ctenopharyngodon idella*

juveniles at different dietary GSH levels

$n=4; \bar{X} \pm SE$

项目 Item	GSH 添加量 / (mg · kg ⁻¹) Level of GSH in diet					
	0	100	200	300	400	500
肝脏 Liver						
GSH	32.44 ± 2.14 ^a	38.95 ± 3.46 ^a	52.42 ± 2.84 ^b	36.73 ± 0.41 ^a	35.21 ± 6.64 ^a	38.12 ± 7.78 ^a
MDA	21.41 ± 4.00 ^a	12.33 ± 5.66 ^{ab}	10.91 ± 1.18 ^{ab}	6.49 ± 1.40 ^b	9.99 ± 0.84 ^b	9.17 ± 2.24 ^b
肌肉 Muscle						
GSH	17.19 ± 1.31 ^a	30.07 ± 3.24 ^b	33.05 ± 2.77 ^b	34.01 ± 3.94 ^b	32.98 ± 2.75 ^b	34.63 ± 0.48 ^b
MDA	3.44 ± 0.71 ^a	1.59 ± 0.21 ^b	2.67 ± 0.44 ^{ab}	1.57 ± 0.20 ^b	2.61 ± 0.46 ^{ab}	2.14 ± 0.54 ^a
血清 Serum						
GSH	176.07 ± 6.25	175.17 ± 17.78	176.54 ± 19.57	201.54 ± 12.54	177.32 ± 17.96	191.38 ± 25.17
MDA	10.82 ± 1.14	10.62 ± 0.79	9.55 ± 0.59	9.84 ± 0.94	10.92 ± 0.21	10.38 ± 0.29

注: 表中同一行内右上角标有不同英文字母的数据之间具有显著差异 ($P < 0.05$). GSH 单位为 mg · g⁻¹ prot; MDA 单位为 nmol · mg⁻¹ prot.
Note: Values with different superscripts in the same line are significantly different ($P < 0.05$). The unit of GSH is mg · g⁻¹ prot; the unit of MDA is nmol · mg⁻¹ prot.

2.3 草鱼肝脏和肌肉中谷胱甘肽还原酶(GR)和γ-谷氨酰转移酶(γ-GT)活力

从表4可以看出,饲料中添加GSH后,肝脏中GR有增加趋势,其中在添加水平为400 mg/kg时达到显著性水平,肌肉中GR活力有增高趋势但无显著性差异。肝脏和肌肉中γ-GT活力均有提高趋势,其中,肝脏γ-GT活力在GSH添加水平为300 mg/kg时与对照组相比有显著差异 ($P<0.05$),肌肉中γ-GT活力在添加量为200 mg/kg时与对照组相比有显著差异 ($P<0.05$)。

2.4 草鱼肝脏GSH-PX活力、SOD活力、T-AOC和ROS含量

如表5所示,与对照组相比,饲料中添加GSH后,草鱼肝脏GSH-PX均有不同程度升高,其中在

添加剂量为100 mg/kg和200 mg/kg时达到显著升高水平 ($P<0.05$),肝脏SOD活力均显著高于对照组 ($P<0.05$),在添加水平为200 mg/kg组达到最高值,实验组T-AOC均高于对照组,在200 mg/kg时达到最高,并有显著性差异,其余各组差异不显著。饲料中添加GSH后,肝脏ROS含量均显著低于对照组,在添加水平为300 mg/kg时达到最低值。

2.5 草鱼血清GSH-PX活力、T-AOC和ROS含量

如表6所示,饲料中添加GSH后血清GSH-PX活力均有不同程度升高,在200 mg/kg组达到最高,但与对照组相比差异不显著,血清T-AOC则在添加水平为300 mg/kg时显著高于对照组 ($P<0.05$),血清ROS含量均低于对照组,在400 mg/kg组达到最低,显著低于对照组 ($P<0.05$)。

表4 草鱼幼鱼肝脏和肌肉中GR和γ-GT活力
Tab.4 GR and γ-GT activities of hepatopancreas and muscle in *Ctenopharyngodon idella* juveniles at different dietary GSH levels $n=4; \bar{X} \pm SE$

项目 Item	GSH添加量/(mg·kg ⁻¹) Level of GSH in diet					
	0	100	200	300	400	500
谷胱甘肽还原酶 GR						
肝脏 liver	18.42±0.78 ^a	17.39±1.17 ^a	22.52±1.79 ^{ab}	21.68±2.90 ^{ab}	25.59±2.24 ^b	20.98±0.32 ^{ab}
肌肉 muscle	3.02±0.31	3.10±0.46	3.07±0.72	3.84±0.33	4.08±0.07	4.92±0.93
γ-谷氨酰转移酶 γ-GT						
肝脏 liver	28.64±2.43 ^a	56.42±4.24 ^a	45.72±1.23 ^a	150.32±15.83 ^b	85.80±8.74 ^{ab}	31.79±7.08 ^a
肌肉 muscle	6.28±2.17 ^a	8.01±1.49 ^{ab}	16.39±2.71 ^b	10.69±4.68 ^{ab}	9.91±0.40 ^{ab}	11.25±1.26 ^{ab}

注:表中同一行内,右上角标有不同英文字母的数据之间具有显著差异 ($P<0.05$)。GR活性单位为U·g⁻¹ prot; γ-GT活性单位为IU·L⁻¹。
Note: The different letters in the same line show significant difference ($P<0.05$). The unit of GR activity is U·g⁻¹ prot; the unit of γ-GT activity is IU·L⁻¹.

表5 草鱼肝脏中GSH-PX活力、SOD活力、T-AOC和ROS含量
Tab.5 GSH-PX and SOD activities, T-AOC and ROS contents in hepatopancreas of *Ctenopharyngodon idella* juveniles at different dietary GSH levels $n=4; \bar{X} \pm SE; U \cdot mg^{-1} \text{ prot}$

项目 Item	GSH添加量/(mg·kg ⁻¹) Level of GSH in diet					
	0	100	200	300	400	500
GSH-PX	6.77±1.14 ^a	11.51±1.48 ^{bc}	13.91±1.12 ^c	8.12±1.18 ^{ab}	8.53±0.85 ^{ab}	9.61±1.43 ^{ab}
SOD	16.91±3.02 ^a	32.08±1.80 ^{bc}	37.92±3.49 ^c	27.60±1.59 ^b	27.67±2.75 ^b	27.70±1.66 ^b
T-AOC	1.74±0.54 ^a	1.75±0.07 ^a	2.59±0.12 ^b	1.94±0.30 ^{ab}	2.19±0.18 ^{ab}	1.83±0.14 ^a
ROS	236.87±24.63 ^a	125.67±25.67 ^b	103.44±8.65 ^b	80.63±7.73 ^b	121.38±19.17 ^b	139.37±10.32 ^b

注:表中同一行内,右上角标有不同英文字母的数据之间具有显著差异 ($P<0.05$)。
Note: Values with different letters in the same line are significantly different ($P<0.05$).

表 6 实验草鱼血清中 GSH-PX 活力、T-AOC 和 ROS 含量
Tab.6 GSH-PX activity, T-AOC and ROS contents in serum of *Ctenopharyngodon idella juveniles*
at varying dietary GSH levels $n=4; \bar{X} \pm SE; U \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$

项目 Item	GSH 添加量 / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Level of GSH in diet					
	0	100	200	300	400	500
GSH-PX	312.15 $\pm$ 5.94	321.07 $\pm$ 12.93	341.85 $\pm$ 26.30	326.68 $\pm$ 4.44	315.12 $\pm$ 11.48	323.05 $\pm$ 18.63
T-AOC	7.63 $\pm$ 0.01	7.93 $\pm$ 0.16	8.04 $\pm$ 0.10	8.08 $\pm$ 0.06 ^a	7.49 $\pm$ 0.23	7.33 $\pm$ 0.43
ROS	494.10 $\pm$ 28.94 ^a	422.23 $\pm$ 0.98 ^{ab}	410.47 $\pm$ 6.65 ^{ab}	375.41 $\pm$ 23.78 ^{ab}	319.42 $\pm$ 27.95 ^b	395.28 $\pm$ 36.57 ^{ab}

注: 表中同一行内, 右上角标有不同英文字母的数据之间具有显著差异 ($P<0.05$).

Note: Values with different letters in the same line are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 饲料中添加外源GSH对草鱼生长的影响

已有研究表明, GSH 作为促生长剂可提高仔猪^[3]、黄羽肉鸡^[4]的生产性能。梁春梅^[8]发现, 在奥尼罗非鱼(平均体质量 3 g 左右)纯化饲料中添加 200 mg/kg GSH, 可显著提高特定生长率; 何芬^[10]在鲢仔稚鱼阶段(19 日龄至 49 日龄)添加 0.5% GSH 对生长无显著影响, 但能显著提高幼鱼的特定生长率; GSH 对草鱼仔稚鱼也有一定的促生长效果, 但添加量较高(0.1%~0.5%); 刘晓华等^[7]在凡纳滨对虾(初始体质量约 1 g)纯化日粮中添加 200 mg/kg GSH 对生长有显著的促进作用。上述研究结果基本都是以纯化日粮为基础配方进行的, 因此这些结果有可能和在纯化日粮中添加 GSH 能较显著提高水产动物的摄食率有关。在本研究中, 以实用饲料配方为基础时, 添加 GSH 没有发现对草鱼有明显的促生长效果, 也许和实用配方原料来源较多, 影响因素较复杂有关, 也有可能和本实验所研究的添加剂量范围有关, GSH 在实用饲料中的促生长作用还要进一步探讨。

3.2 饲料中添加外源GSH对草鱼肝脏、肌肉、血清中GSH含量的影响

谷胱甘肽是体内 GSH-PX 分解过氧化物必需的底物, 是衡量机体抗氧化能力的重要指标。饲料中添加外源 GSH 对 GSH 在体内组织沉积的影响方面, 文献报道较不一致, 何芬^[10]在鲢仔稚鱼阶段(19 日龄至 49 日龄)添加 GSH (0.1%~2.5%) 对仔稚鱼体及幼鱼背肌中 GSH 含量均无显著影响, 但刘平祥^[3]在仔猪日粮中添加 GSH 可提高仔猪血清、肝脏和肌肉组织中的 GSH 含量, 焦彩虹^[9]在罗非鱼日粮中添加 GSH 可以使罗非鱼幼鱼背肌、肝脏中 GSH 含量显著提高, 但梁春梅^[8]在罗非鱼

中的实验表明, 外源 GSH 对罗非鱼背肌、肝脏、血清、全肠的 GSH 含量无显著影响。本研究表明, 草鱼肝脏和肌肉中 GSH 随着饲料中谷胱甘肽水平上升而呈现出上升趋势, 并可呈现显著性差异, 但对血清中 GSH 含量无明显影响。提示饲料中添加 GSH 能够促进草鱼机体中某些组织的 GSH 代谢, 促进 GSH 在体内沉积, 有可能提高机体抗氧化能力。GR 主要维持体内还原型谷胱甘肽的正常水平, GR 活性的增强有利于促进组织中氧化型谷胱甘肽 GSSG 的还原, 提高组织中 GSH 水平。本实验中添加 GSH 后各实验组草鱼肝脏和肌肉中的 GR 活力均高于对照组, 提示组织中 GSH 水平上升似乎和 GR 活性的增强有关, 但梁春梅^[8]对罗非鱼的研究表明, 外源 GSH 可提高肝脏 GR 活力, 但对肝脏中 GSH 含量无显著影响, 因此 GR 对 GSH 沉积的调节作用还要进一步研究。此外, 文献研究表明, 肌肉中 GSH 水平很大程度上取决于 γ -GT 从血液获得的 GSH 产物^[11], 本实验中摄食 GSH 饲料草鱼的肌肉中 γ -GT 活力均高于对照组, 相应的肌肉中 GSH 水平也较高。

3.3 饲料中添加外源GSH对草鱼肝脏、肌肉、血清的抗氧化能力的影响

GSH-PX、SOD、GR 是动物体内重要的与谷胱甘肽相关的抗氧化酶, 在机体抗氧化应激中起重要作用, 这些抗氧化活性物质的提高有助于缓解 PUFA 氧化^[12]、亚硝酸盐应激^[13]、饥饿产生的氧化应激^[14]、感染^[15]和化学污染^[16]。体内抗氧化酶的缺乏会导致无机或有机氢过氧化物的积累, 引起脂质过氧化, 影响机体的物质代谢、能量代谢和信息传递, 危及正常的生命活动^[17], 产生醛、酮、醇和环氧化物, 典型的代表产物是 MDA, 可导致生物膜结构和功能异常, MDA 既可以衡量机体的抗氧化状态又间接反应细胞损伤水平。

本研究饲料中添加 GSH 后,草鱼肝脏 GSH-PX 活性高于对照组,并呈现显著性差异。有研究表明,外源 GSH 能显著提高罗非鱼肝脏中 GSH-PX 活性^[8],在凡纳滨对虾纯化日粮中添加外源 GSH 也能显著提高肝胰腺中 GSH-PX 活性^[7]。本研究中,外源 GSH 除了能提高草鱼肝脏 GSH-PX 活性,还能显著提高草鱼肝脏中 SOD、GR 活力。焦彩虹^[9]、梁春梅^[8]报道,外源 GSH 能显著提高罗非鱼肝脏、血清 GR 活力,刘晓华等^[7]报道外源 GSH 能显著提高凡纳滨对虾肝胰腺 GR 活力。因此,草鱼饲料中添加外源 GSH 能通过提高肝脏中相关抗氧化酶活力显著增强草鱼肝脏的抗氧化功能,不仅表现在草鱼肝脏 T-AOC 增加了,相应的氧化代谢产物 MDA、ROS 和对照相比也有显著性的下降,在其他水产动物上也有类似报道,梁春梅^[8]发现尽管添加 GSH 没有对罗非鱼肝脏 GSH-PX 活力产生显著影响,但或许通过肝脏 GR 活力的提高,能显著降低对罗非鱼肝脏中 MDA 含量,焦彩虹^[9]的研究也表明外源 GSH 能显著降低罗非鱼肝脏中 MDA 的含量,刘晓华等^[7]在凡纳滨对虾上的研究也取得相似结论。

本研究中外源 GSH 对草鱼肌肉 GR 活性影响不明显,但可能通过提高 γ -GT 活性促进 GSH 代谢,提高 GSH 在肌肉组织中的沉积水平,而 GSH 上的巯基可以和体内氧自由基结合,使氧自由基还原,加速自由基清除,减少脂质过氧化发生^[18-19],因此显著降低了草鱼肌肉中 MDA 水平。刘平祥^[3]也发现在仔猪日粮中添加 200 mg/kg 的 GSH 能显著增加回肠黏膜 GSH 含量,而回肠黏膜 GSH 含量与 MDA 水平呈强的负相关 ($R=-0.954$)。

本研究中外源 GSH 对血清 GSH-PX 没有明显影响,但能提高血清 T-AOC 水平,因而使 ROS 水平显著下降,显示 GSH 对活性氧产生抑制作用或清除功能。梁春梅^[8]、焦彩虹^[9]、吴觉文^[4]的研究显示,外源 GSH 能提高罗非鱼、肉鸡血清 GSH-PX 活力,但梁春梅^[8]发现外源 GSH 对血清中 MDA 水平影响不显著,而焦彩虹^[9]结果显示,外源 GSH 能显著降低血清 MDA 含量,本研究中外源 GSH 对血清 MDA 水平影响不显著,因此有关外源 GSH 对草鱼血清 GSH-PX 活性及 MDA 含量的影响还需要进一步实验证实。

4 结论

草鱼饲料中添加 GSH 能够提高草鱼组织(肝脏、肌肉)中谷胱甘肽沉积、减少脂质过氧化产物(MDA、ROS),在一定程度降低了细胞的氧化损伤并增强了机体抗氧化能力,在水产饲料中具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Di Giulio R T, Washburn P C, Wenning R J, et al. Biochemical responses in aquatic animals: a review of determinants of oxidative stress[J]. Environ Toxicol Chem, 1989, 8: 1103-1123.
- [2] Mourente G, Diaz-Salvago E, Bell J G, et al. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L) fed dietary oxidized oil: attenuation by dietary vitamin E [J]. Aquaculture, 2002, 214: 343-361.
- [3] 刘平祥. 谷胱甘肽对断奶仔猪的促生长作用及其机制[D]. 广州: 华南农业大学, 2002.
- [4] 吴觉文. 谷胱甘肽对黄羽肉鸡的促生长作用及其机制[D]. 广州: 华南农业大学, 2003.
- [5] 张甬元, 徐立红, 周炳升, 等. 鱼体中谷胱甘肽对微囊藻毒素的解毒作用的初步研究[J]. 水生生物学报, 1996, 20(3): 284-286.
- [6] 惠天朝, 王家刚, 朱荫湄. 镉对罗非鱼肝组织中的 GSH 代谢的影响[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2001, 27(5): 575-578.
- [7] 刘晓华, 曹俊明, 吴建开, 等. 饲料中添加谷胱甘肽对凡纳滨对虾肝胰腺抗氧化指标和脂质过氧化物含量的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(2): 235-240.
- [8] 梁春梅. 还原型谷胱甘肽对奥尼罗非鱼幼鱼生长、免疫功能的影响及机理研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2006.
- [9] 焦彩虹. 谷胱甘肽对罗非鱼生长的影响及作用机理研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2003.
- [10] 何芬. 谷胱甘肽和蛋白酶解物对仔稚鱼生长及营养生理的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2006.
- [11] Griffith O W, Meister A. Glutathione: interorgan translocation, turnover, and metabolism[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5606-5610.
- [12] Bell J G, Cowey C B. Roles of vitamin E and selenium in the prevention of pathologies related to fatty acid oxidation in salmonids[M]//Nutrition and Feeding in Fish. London: Aca-

- demic Press, 1985: 333-347.
- [13] Saeij J P J, Van Muiswinkel W B, Van de Meent M, et al. Different capacities of carp leucocytes to encounter nitric oxide-mediated stress: a role for the intracellular reduced glutathione pool[J]. Dev Comp Immunol, 2003, 27: 555-568.
- [14] Pascual P, Pedrajas J R, Toribio F, et al. Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*) [J]. Chem Biol Interact, 2003, 145: 191-199.
- [15] Bello A R, Fortes E, Bello -Klein A, et al. Lipid peroxidation induced by *Clinostomum detrunctum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen* [J]. Dis Aquat Org, 2000, 42: 233-236.
- [14] Zagarese H E, Williamson C E. The implications of solar UV radiation exposure for fish and fisheries[J]. Fish Fish, 2001, 2: 250-260.
- [16] Pena-Llopis S, Ferrando M D, Pena J B. Increased recovery of brain acetylcholinesterase activity in dichlorvosintoxicated European eels (*Anguilla anguilla*) by bath treatment with N-acetylcysteine[J]. Dis Aquat Org, 2003b, 55: 237-245.
- [17] Ranby B, Rabek J E. Singlet Oxygen[M]. Chichester: Wiley, 1978.
- [18] Winterbourn C C, Metodiowa D. Reaction of superoxide with glutathione and other thiols[J]. Meth Enzymol, 1995, 251: 81-86.
- [19] Hussain S, Jr W S, Ali S. Role of metallothionein and other antioxidants in scavenging superoxide radicals and their possible role in neuroprotection[J]. Neurochem Int, 1996, 29(2): 145-152.

Effects of dietary glutathione on tissue glutathione retention and anti-oxidative activities in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*

ZHU Xuan, CAO Jun-ming, ZHAO Hong-xia, ZHANG Hai-tao

(Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: An 8-week feeding experiment was conducted to study the effects of dietary glutathione on tissue GSH retention and anti-oxidative activities in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella* [initial body weight (4.09 ± 0.01)g]. Fish were fed with practical diets with different levels of GSH supplementation (0 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 300 mg/kg, 400 mg/kg, 500 mg/kg). GSH content in muscle showed significant increase with GSH supplementation ($P < 0.05$), but hepatopancreas GSH content in hepatopancreas only showed significant increase in the trial of 200mg/kg GSH diet ($P < 0.05$). Dietary GSH could decrease the malondialdehyde(MDA) contents in hepatopancreas and muscle significantly ($P < 0.05$), but had no obvious effects on GSH and MAD contents in serum ($P > 0.05$). The activity of glutathionereductase (GR) in hepatopancreas increased and reached the highest in the trial of 400 mg/kg GSH diet ($P < 0.05$), and increased significantly in muscle in all the trials compared with control ($P > 0.05$). The γ -glutamyl transferase(γ -GT) levels in hepatopancreas and muscle were increased significantly in trials of 300mg/kg and 200 mg/kg GSH diet ($P < 0.05$). Dietary GSH could improve total antioxidant competence (T-AOC) activity, glutathioneperoxidase (GSH-PX) and superoxide dismutase (SOD) levels in hepatopancreas. Those indicators showed significant increases at 200 mg/kg GSH supplementation ($P < 0.05$), but the levels of GSH-PX and T-AOC in serum didn't change significantly compared with control ($P > 0.05$). Supplementation of GSH at 300 mg/kg could significantly decrease hepatopancreas ROS content ($P < 0.05$) and with the addition at 400 mg/kg could decrease ROS content in serum too ($P < 0.05$). The results suggested that dietary GSH supplementation could increase GSH, GR and γ -GT levels in hepatopancreas and muscle, and improve GSH-PX, SOD and T-AOC activities in hepaopancreas, and the content of MDA or ROS in hepaopancreas, as well as the MDA content in serum decreased respectively due to GSH addition. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(1): 160-166]

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; GSH; GSH retention; anti-oxidative function