

不同维生素 E 水平饲料对云纹石斑鱼幼鱼低盐胁迫 前后抗氧化和渗透压调节功能的比较

张晨捷¹, 张艳亮^{1,2}, 彭士明¹, 施兆鸿^{1,2*}, 高权新¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所,农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室,上海 200090;
2. 上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306)

摘要: 维生素 E(VE)在鱼类繁殖、生长代谢、抗氧化能力和免疫机能等方面有至关重要的作用。为探究饲料 VE 添加量对云纹石斑鱼低盐度胁迫下抗氧化和渗透压调节功能的作用,本实验设计 0、20、40、80 和 160 mg/kg 等 5 个 VE 水平饲料添加量,依次为 A、B、C、D、E 组,饲喂云纹石斑鱼幼鱼 56 d。然后进行 6 h 低盐度(12)胁迫实验,测试皮质醇(COR)、葡萄糖(GLU)、乳酸(LD)等血清生化指标,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)和丙二醛(MDA)等抗氧化指标,以及鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶(NKA)、 Ca^{2+} -ATP 酶活力等。结果显示,血清 COR 含量最高为盐度胁迫后 A (32.74 ± 1.53) ng/mL,最低为胁迫前 E (19.06 ± 3.88) ng/mL;GLU 含量最高为盐度胁迫后 A (16.46 ± 0.99) mmol/L,最低为养殖前 O (7.90 ± 0.34) mmol/L;LD 含量最高为低盐度胁迫前 C (1.94 ± 0.15) mmol/L,最低为胁迫后 E 组 (1.30 ± 0.06) mmol/L。说明 VE 的添加可以增强云纹石斑鱼抗应激的能力,且在 47.524 ~ 134.566 mg/kg (B ~ D) 的添加范围,效果较好。血清 SOD、CAT、GSH-Px 活力、T-AOC 和 MDA 含量与投喂饲料中 VE 水平密切相关,SOD 最高为胁迫前 C (105.29 ± 9.07) U/mL,最低为胁迫后 A (11.23 ± 2.30) U/mL;CAT 最高为养殖前 O (4.09 ± 0.17) U/mL,最低为胁迫后 A (0.35 ± 0.10) U/mL;GSH-Px 最高为胁迫前 E (972.58 ± 55.35) U,最低为胁迫后 A (47.90 ± 10.64) U;MDA 最低为胁迫前 D (33.48 ± 2.34) nmol/mL,最高为胁迫后 A (101.79 ± 7.79) nmol/mL。饲料中添加 91.378 ~ 178.924 mg/kg (C ~ E) 水平 VE 对其抗氧化能力有增强作用。VE 可增强 NKA 活力,当 VE 添加量为 91.378 mg/kg (C) 时,低盐度胁迫对 NKA 影响较小。而添加 91.378 ~ 178.924 mg/kg (C ~ E) 水平 VE 可增强云纹石斑鱼 Ca^{2+} -ATP 酶活力。研究表明,饲料中添加 91.378 ~ 134.566 mg/kg 范围的维生素 E,可以增强云纹石斑鱼的机体活力、抗应激及环境胁迫能力。

关键词: 云纹石斑鱼; 维生素 E; 盐度胁迫; 抗氧化; 渗透压调节

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)隶属鲷形目(Perciformes), 鲷科(Serranidae), 石斑鱼属(*Epinephelus*), 又叫电纹石斑鱼,真油斑,体侧有 6 条暗棕色斑带,为暖温性中下层鱼类,广泛分布于东海、南海以及台湾沿海^[1-2]。由于其生长较快,肉质鲜美,且比点带石斑鱼、龙胆石斑鱼以及

一些杂交石斑鱼种类更耐低温,养殖前景看好^[3]。自 20 世纪末期开始,国内陆续对云纹石斑鱼进行了各项科学研究,主要集中于繁育技术^[4]、仔鱼发育、形态比较^[3,5]、核型研究^[6]、典型疾病^[7]等方面,而在环境因子和抗应激方面研究不多。

收稿日期:2015-02-02 修回日期:2015-06-20

资助项目:国家科技支撑计划(2011BAD13B01)

通信作者:施兆鸿,E-mail:shizhh@sh163.net

随着集约化养殖的发展,人为因素对养殖水体盐度的影响日益凸显,再加上一些不稳定的自然因素,致使鱼类经常遭受盐度突变的胁迫^[8],造成机体生理机能紊乱,刺激机体产生过多的氧化自由基,氧化脂质和蛋白质,对细胞膜、遗传物质及其他细胞重要组分造成氧化伤害,抑制一些酶的活性^[9]。另外,盐度突变时,硬骨鱼类最直接反应即为渗透压调节,鳃的重要功能是离子调节,Na⁺/K⁺ - ATP 酶(NKA)和 Ca²⁺ - ATP 酶是鳃部重要的离子调节酶类^[10]。

维生素 E(VE)是细胞膜中主要的脂溶性抗氧化剂,是细胞膜和亚细胞结构中重要的脂质断链抗氧化剂与自由基清除剂,也与机体抗病功能密切相关,对特异和非特异性免疫系统的功能都有增强作用^[11];VE 还可有效地增强水产动物对密度和温度胁迫的抵抗能力^[12]。因此,在集约化养殖鱼类饲料中添加适量 VE 是十分必要的。除 VE 外,在鱼类抗氧化防御系统中还存在许多抗氧化酶类,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)是其代表^[13]。

本研究通过在饲料中添加 VE,探讨不同维生素 VE 水平饲喂云纹石斑鱼幼鱼后,血清生化、抗氧化指标和渗透压调节能力在低盐度胁迫下的变化情况,旨在为云纹石斑鱼抵抗外界环境应激与饲料 VE 添加量提供理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及饲料制备

云纹石斑鱼幼鱼由课题组 2013 年在福建东山岛繁育获得,从养殖池中挑选平均体质量为(23.6 ± 0.3) g,体表无伤、体色正常的云纹石斑鱼作为实验对象。饲料以 VE 醋酸酯(罗氏公司提供)作为 VE 添加源,设 5 个不同的 VE 水平,0(A)、35(B)、80(C)、125(D)和 170 mg/kg(E),实测 VE 有效含量依次为 11.091(A)、47.524(B)、91.378(C)、134.566(D)和 178.924 mg/kg(E),以微晶纤维素为填充剂,使各实验组饲料其他营养水平保持一致。所有饲料经过 60 目筛,且充分混匀后用颗粒机制作成直径为 2 mm 的颗粒饲料,置于 -20 ℃ 冰箱保存备用。实验饲料中的粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、水分含量分别采用 GB/T6432 - 1994、GB/T643 - 1994、GB/T6438 -

1992、GB/T6435 - 1986 进行测定。实验饲料组分和测得的营养组成见表 1。

表 1 实验饲料组成

Tab. 1 Composition of the experimental diets %

饲料成分 component	百分率 percent	营养组成 nutritional compositio	水平(干重) Level (dry matter)
酪蛋白 casein	51	粗蛋白 crude protein	54.15
玉米淀粉 corn starch	25	粗脂肪 crude lipid	13.88
鱼油 fish oil	4.5	粗灰分 crude ash	7.41
大豆油 soybean oil	4.5		
复合维生素 ^a multi - vitamin ^a	2		
复合矿物质 ^b multi - mineral ^b	4		
羧甲基纤维钠 carboxymethy - lcellulose sodium	2		
纤维素 cellulose	1		
诱食剂 ^c attractant ^c	6		

注:a 复合维生素、b 复合矿物质、c 诱食剂参照文献[14]推荐的石斑鱼复合维生素、复合矿物质和诱食剂,略作修改。a 复合维生素(mg/g 混合物):VB1 2.5,VB2 10,VC 20,泛酸钙 25,烟酸 37.5,VB6 2.5,叶酸 0.75,肌醇 100,VK 2,VA 1,VD 0.002 5,生物素 0.25,VB12 0.05,加纤维素填充到 1 g;b 复合矿物质(mg/kg 饲料):乳酸钙 37 670,磷酸二氢钠 24 644,硫酸镁 5 480,柠檬酸铁 1 476,氯化钴 42,硫酸锰 22,碘化钾 6.8,氯化铝 7.2,硫酸铜 8.1,氯化钾 4 144,氯化胆碱 2 500,硒酸钠 0.66,纤维素 6 499;c 诱食剂(mg/100g 饲料):L - 天冬氨酸 18, L - 苏氨酸 44, L - 丝氨酸 33, L - 谷氨酸 53, L - 缬氨酸 36, L - 蛋氨酸 36, L - 异亮氨酸 29, L - 亮氨酸 55, L - 酪氨酸 22, L - 苯丙氨酸 29, L - 赖氨酸 29, L - 组氨酸 15, L - 脯氨酸 1 456, L - 丙氨酸 273, L - 精氨酸 228,牛磺酸 337,甘氨酸 892,甜菜碱 910

Notes;a vitamin mixture, b mineral mixture, c attractants were slightly modified the grouper feed formula which reference [14] recommended. a vitamin mixture (mg/g mixture): vitamin B1 2.5, vitamin B2 10, vitamin C 20, calcium pantothenate 25, nicotinic acid 37.5, vitamin B6 2.5, folic acid 0.75, inositol 100, vitamin K 2, vitamin A 1, vitamin D 0.002 5, biotin 0.25, vitamin B12 0.05, All ingredients were diluted with cellulose to 1g; b mineral mixture (mg/kg diet): calcium lactate 37 670, Na₂HPO₄ 24 644, MgSO₄ 5 480, ferric citrate 1 476, CoCl₂ · 7H₂O 42, MnSO₄ · 7H₂O 22, KI 6.8, AlCl₃ 7.2, CuSO₄ 8.1, KCl 4 144, choline chloride 2 500, sodium selenite 0.66, cellulose 6 499; c attractant (mg/100g diet): L - aspartic acid 18, L - threonine 44, L - serine 33, L - glutamic acid 53, L - valine 36, L - methionine 36, L - isoleucine 29, L - leucine 55, L - tyrosine 22, L - phenylalanine 29, L - lysine 29, L - histidine 15, L - proline 1 456, L - alanine 273, L - arginine 228, taurine 337, glycine 892, betain 910

1.2 实验条件与设计

实验在浙江省舟山市水产研究所养殖基地内进行。将 300 尾云纹石斑鱼幼鱼分别放入 15 个直径 1.0 m、深度 0.8 m 的网箱中,网箱置于 30 m³ 的圆形水泥池中,放养密度为 20 尾/网箱,每个 VE 水平设 3 个重复。正式实验开始前进行 14 d 的适应性饲养,适应期间所有网箱中的云纹石斑鱼统一饲喂同一种等量市售石斑鱼饲料。预饲 14 d 后开始进行实验,实验周期为 56 d。实验期间对云纹石斑鱼进行饱食投喂,具体方法为饲养实验前 4 周每天按照鱼体总重的 3.0% 投喂,后 4 周按 2.0% 投喂,同时参照前一天情况调整投喂量。每天投喂 2 次(9:30,16:30)。实验期间养殖用水为暗沉淀后沙滤处理的天然海水(盐度 24),24 h 不间断充气,水温为(27.8±0.5)℃,pH 为 7.8±0.3,溶氧量 7~8 mg/L,换水量为 50%/d。

养殖实验开始前随机选取 4 尾鱼作为初始样品($n=4$),作为养殖前 O 组,养殖实验结束后,停止投喂饵料,24 h 后从每个网箱中随机捞取 3 尾作为盐度胁迫前样品($n=9$)。低盐胁迫实验在玻璃纤维桶中进行,桶中海水体积为 214 L,用曝气后自来水配置 12 盐度海水。从每个网箱中随机捞取 3 尾云纹石斑鱼放入 12 盐度桶($n=9$),为验证网箱至纤维桶的环境转变是否影响实验结果,设置 24 盐度对照,每 VE 组 2 个重复,每组随机取 4 尾分别放入 2 个桶内($n=4$),作为盐度胁迫对照样品,每个桶盐度胁迫起始时间控制在 20 min 左右,以便与 6 h 后样品采集时胁迫时间一致。

1.3 样品采集

盐度胁迫前实验用鱼放入溶有丁香油(0.15 mL/L)的海水中短暂麻醉,随即在准备好的冰盘上进行样品采集工作。盐度胁迫后为避免捞取应激,直接滴入丁香油至实验桶中进行短暂麻醉,用 1 mL 无菌注射器尾静脉采血,置于无菌离心管中,4℃静置 12 h,4 000 r/min 离心 15 min,取其上清液,-70℃保存备用。取云纹石斑鱼幼鱼两侧第 2 鳃弓上的鳃丝放在有冰块的解剖盘上,用生理盐水润洗并用滤纸片吸干水分后-70℃保存备用,用于 Na⁺/K⁺-ATP 和 Ca²⁺-ATP 活性测定。

1.4 血清生化指标测定

皮质醇(COR)采用 RD Fish Cortisol Elisa 试

剂盒,取血清 40 μl 在华东电子 DG5033A 酶标仪上,450 nm 处测定 OD,根据制备的标准曲线,计算样本含量,单位为 ng/mL。葡萄糖(GLU)采用菲林法,取样 0.01 mL,加相应试剂,37℃水浴 15 min,蒸馏水调零,505 nm 波长,1 cm 光径 0.4 cm 内径比色皿测各管 OD 值,单位为 mmol/L。乳酸(LD)采用乳酸脱氢酶特异反应法,取血浆 20 μL,加入酶工作液,染色剂,终止剂后混匀,530 nm,1 cm 光径,双蒸水调零,测各管吸光度值,单位为 mmol/L。

1.5 血清抗氧化指标、鳃 Na⁺/K⁺-ATP 和 Ca²⁺-ATP 活力测定

血清中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力、总抗氧化能力(T-AOC)以及丙二醛(MDA)含量采用南京建成生物研究所的试剂盒测定。SOD 活力采用黄嘌呤氧化酶法,CAT 活力采用 H₂O₂ 反应比色法,GSH-Px 活力检测采用 GSH 浓度降低反应比色法,T-AOC 采用氧化反应吸光法,MDA 采用硫代巴比妥酸缩合反应比色法。

鳃 Na⁺/K⁺-ATP 酶(NKA)与 Ca²⁺-ATP 酶活力测定:ATP 酶分解 ATP 生成 ADP 和无机磷,测定无机磷含量可判断 ATP 酶活力高低,无机磷测定采用钼蓝法,ATP 酶活力单位 U/mg prot:每毫克组织蛋白中 ATP 酶 1 h 分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量。同时,用考马斯亮蓝法测定鳃组织的蛋白质含量(g/L),以计算 ATP 酶比活力。

1.6 数据处理

数据以平均值±标准差(mean±SD)表示,采用 SPSS 13.0 软件对云纹石斑鱼幼鱼各项指标数据进行统计与分析,运用单因素方差分析(One-Way ANOVA),先进行方差齐性检验,不满足方差齐性时,对数据进行自然对数或平方根转换,采用 Duncan 氏进行多重比较,用 *t* 检测检验盐度胁迫前后的变化, $P < 0.05$ 为存在显著性差异。用 Excel 2007 绘制图表。

2 结果

2.1 血清皮质醇(COR)水平

低盐胁迫时,不同 VE 水平饲料喂养的云纹石斑鱼幼鱼血清 COR 含量变化情况如图 1 所示。实验中盐度胁迫后 A 组血清 COR 含量最高为

(32.74 ± 1.53) ng/mL, 盐度胁迫前 E 组血清 COR 含量最低为 (19.06 ± 3.88) ng/mL。COR 含量随饲料中 VE 添加量增加而呈降低趋势, 低盐胁迫前, A 组显著高于养殖前 O、D 和 E 组; 而盐度胁迫后 A 组显著高于 C、D、E 组 ($P < 0.05$)。较于养殖前 O 组, 各实验组值均有所升高, 各 VE 组在低盐胁迫 6 h 后, 血清 COR 含量都有所上升, 其中 A、E 组胁迫前后存在显著差异 ($P < 0.05$)。

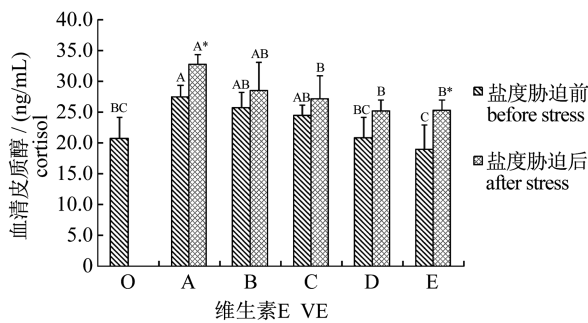


图1 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清皮质醇含量的影响

不同字母表示各组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 星号表示胁迫前后存在显著差异, 下同

Fig.1 The effects of low salinity on the serum cortisol concentration of juvenile *E. moara*

Different letters indicate significant difference from each other indexes ($P < 0.05$), the same as the following

2.2 血清葡萄糖 (GLU) 水平

不同 VE 水平的饲料饲养云纹石斑鱼幼鱼 56 d, 血清 GLU 含量在低盐胁迫 6 h 后变化情况参见图 2。盐度胁迫后 A 组血清 GLU 含量最高为 (16.46 ± 0.99) mmol/L, 养殖前 O 组含量最低为 (7.90 ± 0.34) mmol/L。在 56 d 不同水平 VE 饲养实验后, 云纹石斑鱼幼鱼血清 GLU 含量变化不明显 ($P > 0.05$); 低盐胁迫 6 h 后, A、B 和 C 组血清 GLU 含量显著增加 ($P < 0.05$), 三者含量随 VE 添加量增加而降低, 且三者间存在显著差异 ($P < 0.05$), 而 D、E 组变化不明显 ($P > 0.05$)。

2.3 血清乳酸 (LD) 水平

云纹石斑鱼幼鱼用不同 VE 水平饲料饲养 56 d, 低盐度胁迫 6 h 后, 血清 LD 含量变化如图 3 所示。低盐胁迫前 C 组血清 LD 含量最高为 (1.94 ± 0.15) mmol/L, 胁迫后 E 组含量最低为 (1.30 ± 0.06) mmol/L。在不同 VE 水平饲料饲养 56 d 后, C 和 D 组血清 LD 含量出现了显著增加, C 组

的增加程度最大 ($P < 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后, A 组血清 LD 含量出现显著上升, 而 C、D、E 组则出现显著下降 ($P < 0.05$); 此时, A、B 组显著高于 D、E 组 ($P < 0.05$)。

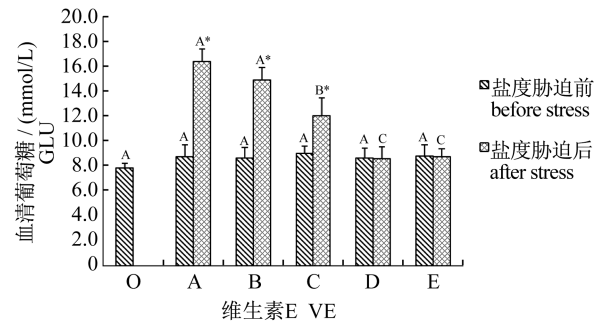


图2 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清葡萄糖含量的影响

Fig.2 The effects of low salinity on the serum glucose concentration of juvenile *E. moara*

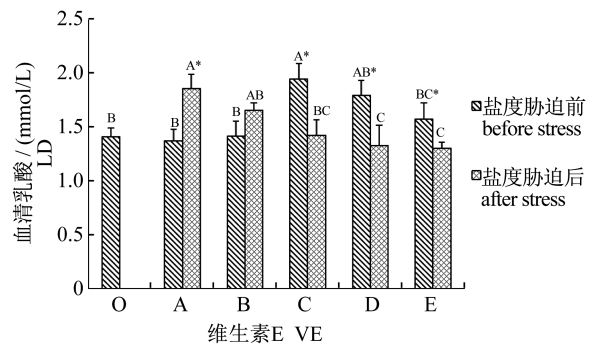


图3 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清乳酸含量的影响

Fig.3 The effects of low salinity on the serum lactic acid concentration of juvenile *E. moara*

2.4 血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活力

云纹石斑鱼幼鱼血清 SOD 活力在 56 d 不同水平 VE 饲喂以及 6 h 低盐胁迫后的变化情况如图 4 所示。盐度胁迫前 C 组血清 SOD 活力最高为 (105.29 ± 9.07) U/mL, 胁迫后 A 组含量最低为 (11.23 ± 2.30) U/mL。在不同 VE 水平饲料饲养 56 d 后, A 组血清 SOD 活力出现显著下降, C、D 和 E 组出现显著增强 ($P < 0.05$), C、D 和 E 3 组差异不大, 三者显著强于 B 组, B 组显著强于 A 组 ($P < 0.05$)。盐度胁迫对照与胁迫前血清 SOD 活力差异不显著 ($P > 0.05$), 低盐胁迫 6 h 后, C、D 和 E 组活力略有下降, 但变化不显著 ($P > 0.05$), 而 A、B 组出现显著减弱 ($P < 0.05$), 各 VE 组活力差异情况与胁迫前类似。

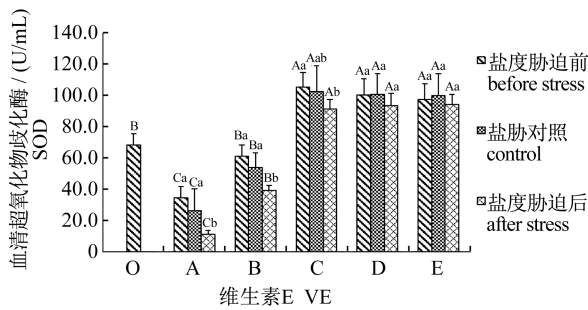


图 4 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清超氧化物歧化酶活力的影响

不同大写字母表示胁迫前后不同添加水平组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 不同小写字母表示同一添加水平下胁迫前后存在显著差异 ($P < 0.05$), 下同

Fig. 4 The effects of low salinity on the serum SOD activity of juvenile *E. moara*

Different uppercase letters indicate significant difference from each other at the same time ($P < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same VE group ($P < 0.05$), the same as the following

2.5 血清过氧化氢酶 (CAT) 活力

不同 VE 水平的饲料饲养云纹石斑鱼幼鱼 56 d, 以及低盐胁迫 6 h 后, 血清 CAT 活力变化情况参见图 5。

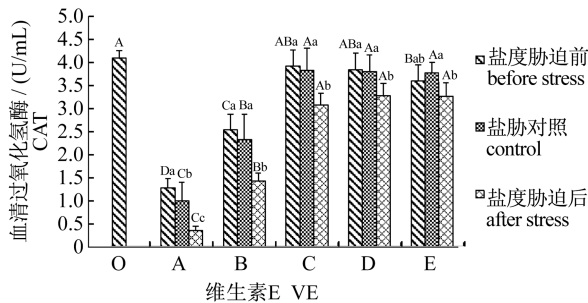


图 5 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清过氧化氢酶活力的影响

Fig. 5 The effects of low salinity on the serum CAT activity of juvenile *E. moara*

血清 CAT 最高值为养殖前 O 组: (4.09 ± 0.17) U/mL, 最低值为盐度胁迫后 A 组: (0.35 ± 0.10) U/mL。不同 VE 水平饲喂 56 d 后, 血清 CAT 活力都有所下降, VE 添加量较多的 C、D、E 组 CAT 活力下降较少, 而 VE 水平较低的 A、B 组下降较显著, C、D 组下降不显著 ($P > 0.05$), 养殖前 O 组、E、B、A 组依次递减, 且相互之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。除 A 组外, 盐度

胁迫对照与胁迫前血清 CAT 活力差异不显著 ($P > 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后, 各 VE 组血清 CAT 活力都出现了显著下降, 其中 C、D、E 显著高于 A、B 组 ($P < 0.05$)。

2.6 血清谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力

不同 VE 水平饲料喂养 56 d 以及低盐胁迫 6 h 后, 云纹石斑鱼幼鱼血清 GSH-Px 活力变化情况如图 6 所示。实验中, 血清 GSH-Px 活力最高值为胁迫前 E 组: (972.58 ± 55.35) U, 最低值为胁迫后 A 组: (47.90 ± 10.64) U。以不同 VE 水平饲喂云纹石斑鱼幼鱼 56 d 后, VE 水平较高的 C、D、E 组血清 GSH-Px 活力有所增强, 其中 E 组增强显著 ($P < 0.05$); VE 水平较低的 A、B 组血清 GSH-Px 活力则有显著减弱, 且 A 组减弱程度比 B 组更显著 ($P < 0.05$)。各组胁迫对照与胁迫前血清 GSH-Px 活力间没有显著差异 ($P > 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后, 血清 GSH-Px 活力均有所下降, 其中 A、B、E 组下降显著 ($P < 0.05$), 此时 C、D、E 组显著高于 B、A 组 ($P < 0.05$)。

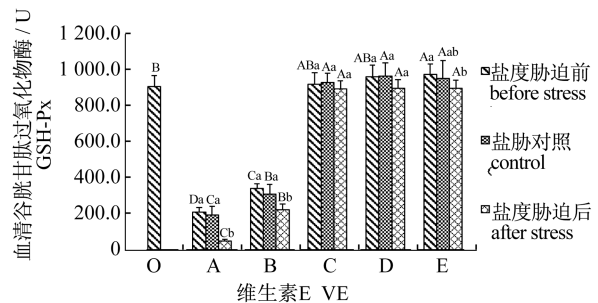


图 6 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清谷胱甘肽过氧化物酶活力的影响

Fig. 6 The effects of low salinity on the serum GSH-Px activity of juvenile *E. moara*

2.7 血清总抗氧化能力 (T-AOC)

经过 56 d 不同水平 VE 饲喂以及 6 h 低盐度胁迫后, 云纹石斑鱼幼鱼血清 T-AOC 的变化情况参见图 7。本实验血清 T-AOC 最高值为胁迫前 E 组: (3.76 ± 0.23) U/mL, 最低值为盐度胁迫后 A 组: (0.30 ± 0.10) U/mL。不同 VE 水平饲喂 56 d 后, B、C、D、E 组血清 T-AOC 都出现了显著增强, 而 A 组则显著减弱 ($P < 0.05$)。各组胁迫对照与胁迫前血清 T-AOC 均无显著差异 ($P > 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后, 各组血清 T-AOC 都出现了显著下降, C、D、E 组显著高于

B、A 组 ($P < 0.05$)。

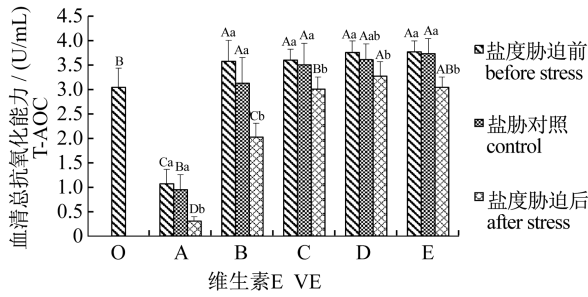


图 7 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清总抗氧化能力的影响

Fig. 7 The effects of low salinity on the serum T-AOC of juvenile *E. moara*

2.8 血清丙二醛(MDA)含量

不同 VE 水平饲料喂养云纹石斑鱼幼鱼 56 d,并在低盐度下胁迫 6 h,血清 MDA 含量变化情况如图 8 所示。实验血清 MDA 含量最低值为胁迫前 D 组:(33.48 ± 2.34) nmol/mL,最高值为胁迫后 A 组:(101.79 ± 7.79) nmol/mL。血清 MDA 含量在不同 VE 水平饲料饲喂 56 d 后,VE 水平较低的 A、B 组出现了显著上升($P < 0.05$);VE 水平较高的 C、E 组变化不显著($P > 0.05$),而 D 组显著下降($P < 0.05$)。各组胁迫对照与胁迫前血清 MDA 含量差异均不显著($P > 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后,A、B、C 和 D 组血清 MDA 含量显著增加($P < 0.05$),而 E 组增加不显著($P > 0.05$),其中以 A、B 组增加最多,与各组均有显著差异($P < 0.05$)。

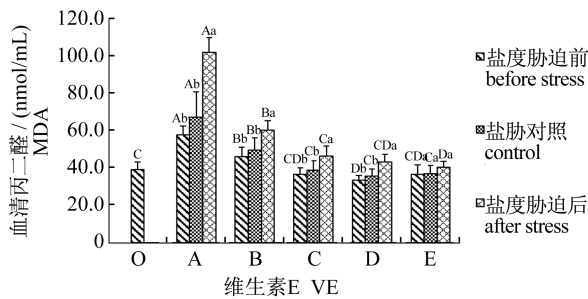


图 8 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼血清丙二醛含量的影响

Fig. 8 The effects of low salinity on the serum MDA of juvenile *E. moara*

2.9 鳃 Na⁺/K⁺ - ATP 酶(NKA)活力

经过不同 VE 水平饲料饲养 56 d,以及低盐

胁迫 6 h,云纹石斑鱼幼鱼鳃 NKA 活力变化如图 9 所示。本实验鳃 NKA 活力最高值为胁迫前 E 组:(15.27 ± 1.96) U/mg prot,最低值为胁迫后 A 组:(5.36 ± 0.99) U/mg prot。不同水平 VE 饲料饲养 56 d 后,云纹石斑鱼幼鱼鳃 NKA 活力随 VE 水平升高呈逐渐升高的变化趋势,A 组显著高于养殖前 O 组,而 E 组显著高于 A 组($P < 0.05$)。盐度胁迫对照组 NKA 活力变化情况与胁迫前类似,且各组二者差异均不显著($P > 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后,各组鳃 NKA 活力均有所下降,除 C 组外,其余各组活力有显著减弱($P < 0.05$);此时 NKA 活力呈倒 U 型变化,C 组显著高于其他组,而 A 组显著低于其他组($P < 0.05$)。

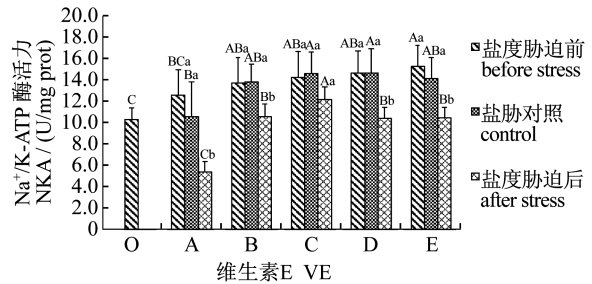


图 9 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼鳃 Na⁺/K⁺ - ATP 酶活力的影响

Fig. 9 The effects of low salinity on the gill NKA activity of juvenile *E. moara*

2.10 鳃 Ca²⁺ - ATP 酶活力

以不同 VE 水平饲料饲养云纹石斑鱼幼鱼 56 d,并在低盐胁迫 6 h,云纹石斑鱼幼鱼鳃 Ca²⁺ - ATP 酶活力变化情况参见图 10。

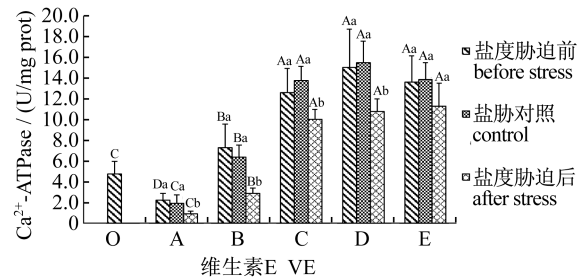


图 10 低盐胁迫对云纹石斑鱼幼鱼鳃 Ca²⁺ - ATP 酶活力的影响

Fig. 10 The effects of low salinity on the gill Ca²⁺ - ATPase activity of juvenile *E. moara*

实验中,鳃 Ca²⁺ - ATP 酶活力最高值为盐胁迫

对照 D 组: (15.49 ± 2.06) U/mg prot, 最低值为胁迫后 A 组: (0.91 ± 0.23) U/mg prot。以不同 VE 水平饲料饲养云纹石斑鱼幼鱼 56 d 后, 鳃 Ca^{2+} - ATP 酶活力随 VE 水平升高呈倒 U 型变化, 其中 A 组显著低于养殖前 O 组, B 组显著高于养殖前 O 组, 而 C、D、E 组又显著高于 B 组 ($P < 0.05$)。盐度胁迫对照组 Ca^{2+} - ATP 酶活力变化则是 VE 水平较低的 A、B 组有所降低, 而 VE 水平较高的 C、D、E 组有所增加, 但各组与盐度胁迫前的差异均不显著 ($P > 0.05$)。低盐胁迫 6 h 后, 各组鳃 Ca^{2+} - ATP 酶活力均有显著下降 ($P < 0.05$), 各组活力随 VE 水平上升而增高。

3 讨论

盐度骤变会干扰鱼类的渗透压调节, 引起多种生理应激反应, 对机体造成氧化压力^[15]。饲料中的 VE 能够影响鱼类体内脂类氧化物质的水平, 保护器官免受脂类过氧化反应的伤害^[16]。VE 在维护鱼类正常的生理功能与生长发育性能中具有重要作用。

3.1 不同 VE 水平饲喂与低盐胁迫对云纹石斑鱼血清生化指标的影响

COR 不仅对应激反应和糖代谢有调控功能, 对渗透压也有调节作用, 能增加氯细胞数量和 NKA 活力, 提高耐盐性, 鱼类受到外界环境刺激后, 血液中 COR 含量会明显升高^[17-18]。注射皮质醇后, 无论淡水或海水培养的金头鲷 (*Sparus aurata*), NKA 酶活力都显著提高, 且海水金头鲷血浆渗透压和离子浓度也显著降低^[19]。饲料中 50 ~ 400 mg/kg 维生素 E 可有效降低团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 血液 COR 含量, 增强抗应激能力, 减轻应激对鱼体的伤害^[20]。GLU 是活细胞的能量来源和新陈代谢中间产物, 也可以糖原形式贮存于肝脏, 能促进肝脏的解毒功能, 对肝脏有保护作用, 其浓度与鱼类机体状态密切相关, 并受皮质醇、肾上腺素等应激激素调控, 诸如摄食、麻醉、胁迫等外界环境刺激会使血清 GLU 含量增高^[21-22]。新陈代谢和运动不断产生 LD, 必需的维生素和供氧不足时, LD 处理不畅、造成堆积, 从而影响细胞顺利吸收营养和氧气, 削弱细胞的正常功能。这 3 种血清生化组分作为多种鱼类的受胁迫程度指标已被广泛应用^[23]。

本实验中, 血清 COR 含量随饲料中 VE 添加

量增加而呈降低趋势, 而在低盐胁迫后各组血清 COR 含量都有所增加, 其中 A、E 组增加显著, 说明 VE 的添加量在 47.524 ~ 134.566 mg/kg (B ~ D) 可以增强云纹石斑鱼抗应激的能力。血清 GLU 含量在饲喂实验中各组差距不大, 而在低盐度胁迫后 A、B、C 显著增高, 且 VE 含量越低其增高越显著, 也部分验证了血清 COR 的结果, 并说明在一定范围中, VE 添加量越多越好。在饲喂实验中 C、D、E 组血清 LD 含量增高, 低盐度胁迫后 A、B 组 LD 含量上升, 而 C、D、E 组下降。推测二者增高原因不同, C、D、E 组可能为添加 VE 后机体新陈代谢加快, 并增强胁迫抵抗力, A、B 组则是代谢不畅导致的 LD 积累。根据本实验结果可推测出 COR 增加可刺激 GLU 增高, 而 GLU 代谢不畅又会导致 LD 积累并对机体健康造成危害。

3.2 不同 VE 水平饲喂与低盐胁迫对云纹石斑鱼抗氧化功能的影响

鱼类抗氧化系统分为酶促与非酶促两大部分, SOD、CAT 和 GSH - Px 是抗氧化酶类的重要成员^[24]。SOD 与 CAT 能有效清除体内的超氧阴离子自由基 (O_2^-)、游离氧 (O)、羟自由基 ($-\text{OH}$) 和 H_2O_2 等活性氧物质^[13]。点篮子鱼 (*Siganus guttatus*) 各组织中 CAT 活力随盐度降低而增强, 鳃 SOD 活力在盐度降到 5 时显著增强^[25]。而 GSH - Px 能催化 GSH 与有害物质结合, 降低其毒性, 对各种外源 (如重金属) 和内源性的物质 (如活性氧) 对细胞的损害都有保护作用^[26]。低盐胁迫会使条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*) 肝脏 GSH - Px 活力减弱^[8]。T - AOC 则包含了组织或体液中非酶和酶促反应所产生的总抗氧化水平。MDA 是机体脂质过氧化作用产物, 当生物体内氧化自由基与多不饱和脂肪酸等抗氧化脂类反应时, 会引发脂质过氧化, 并最终降解产生 MDA^[27-28]。盐度升高或降低都会使管海马 (*Hippocampus kuda*) 组织 MDA 含量显著增加^[29]。抗氧化酶活性、MDA 含量和总抗氧化能力的变化可以反映机体内自由基的代谢、过氧化压力情况^[30]。

本实验中, SOD、CAT 和 GSH - Px 活力与投喂饲料中 VE 水平密切相关, 无论是否存在低盐胁迫, A、B 组活力都显著低于 C、D、E 组, 并且除了 E 组 CAT 活力, C、D、E 组 3 种酶活力差异都

不显著。而在低盐胁迫后 3 种酶的活力出现下降,除 CAT 外,另 2 种酶活力下降不显著,且 C、D、E 组依然显著高于 A、B 组。说明饲料中添加 91.378 ~ 178.924 mg/kg (C ~ E) 水平 VE 对云纹石斑鱼的抗氧化酶活性有增强作用。

B、C、D、E 组 T - AOC 在饲喂实验后都有显著上升,而 A 组显著下降,低盐胁迫后各组 T - AOC 均显著下降,其中 B 组下降程度最大,并低于养殖前 O 组。说明 47.524 mg/kg (B) VE 添加量虽能提高抗氧化能力,但面对低盐胁迫略显不足。各取样点 MDA 含量 A、B 组显著高于 C、D、E 组,饲喂实验后 A、B 组 MDA 含量显著增加,而 D 组显著减少,低盐胁迫使除 E 组外各组 MDA 含量均显著增加。

从盐度胁迫前后指标变化情况看,各组抗氧化指标在受到盐度胁迫后有所下降,而氧化产物 MDA 则有所增加。C、D、E 组抗氧化能力下降后依然处于较高水平,而 VE 低添加量 A、B 组抗氧化能力下降显著,而 MDA 的积累在 A 组已到了很高程度,对机体损害程度将增加,因此饲料中添加 VE 对云纹石斑鱼的养殖有重要意义。

3.3 不同 VE 水平饲喂与低盐胁迫对云纹石斑鱼鳃 NKA 和 Ca^{2+} - ATP 酶活力的影响

硬骨鱼类具有高效的渗透压调节能力以维持体内水分及液体动态平衡,离子调节酶 NKA 和 Ca^{2+} - ATP 酶在渗透压调节中具有重要作用。条石鲷 NKA 活力在盐度 8 和 38 时都高于盐度 28^[31];大底鲮 (*Fundulus grandis*) 幼鱼鳃 NKA 基因表达最高点出现在盐度 0.5,最低点为盐度 12^[32];Tsai 等^[33]认为 Ca^{2+} 对维持渗透压调节的离子流和细胞离子浓度有重要影响。因此,盐度突变对鱼类离子调节酶的活性有显著影响,调节功能随酶活性增加而增强。

本实验中,在饲喂不同水平 VE 后,云纹石斑鱼鳃 NKA 活力随 VE 增高而增强,说明 VE 可增强 NKA 活力;低盐胁迫后,各组 NKA 活力减弱,呈倒 U 型排列,低盐胁迫对 C 组 (91.378 mg/kg) NKA 影响较小。 Ca^{2+} - ATP 酶在饲喂实验后,呈倒 U 型排列,而低盐胁迫后,则随 VE 增加而增强。说明饲料中添加 91.378 ~ 178.924 mg/kg (C ~ E) 水平 VE 可增强云纹石斑鱼 Ca^{2+} - ATP 酶活力。鱼类渗透压调节时需要消耗机体能量和物质储备,而 NKA 和 Ca^{2+} - ATP 酶活力与鱼体

渗透压调节的活跃度有关,添加 VE 可增强鱼体抗氧化和免疫力,使鱼体保持良好状态,使鱼体的渗透压调节功能处于活跃状态,因此高添加组酶活力能维持较高水平,并在盐度胁迫渗透压调节活动增强一段时间后仍维持较高水平,以维持体液平衡。

4 结论

根据本实验云纹石斑鱼幼鱼生化指标、抗氧化以及离子调节功能对低盐胁迫的响应情况,判断饲料中添加 VE 可以增强云纹石斑鱼的机体活力、抗氧化及盐度胁迫能力。饲料中 VE 的添加量在 91.378 ~ 134.566 mg/kg (C ~ D) 时,效果最为明显,可有效提高其代谢和抗氧化能力,减少代谢产物 LD 和氧化产物 MDA 的积累,维持离子调节酶活性,保护机体健康。

参考文献:

- [1] Zhu Y D, Zhang C L, Cheng Q T. Fishes of East China Sea [M]. Beijing: Science Press, 1963. [朱元鼎, 张春霖, 成庆泰. 东海鱼类志. 北京: 科学出版社, 1963.]
- [2] Song Z X, Chen C, Wu L M, et al. Effects of salinity and pH on the embryonic development and larval activity of kelp bass *Epinephelus moara* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(6): 52 - 58. [宋振鑫, 陈超, 吴雷明, 等. 盐度与 pH 对云纹石斑鱼胚胎发育和仔鱼活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 52 - 58.]
- [3] Song Z X, Chen C, Zhai J M, et al. Embryonic development and morphological characteristics of larval, juvenile and young kelp bass, *Epinephelus moara* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33(3): 26 - 34. [宋振鑫, 陈超, 翟介明, 等. 云纹石斑鱼胚胎发育及仔、稚、幼鱼形态观察. 渔业科学进展, 2012, 33(3): 26 - 34.]
- [4] Li Y L, Wang Q Y, Chen C, et al. Embryonic and morphological development in larval, juvenile, young stages of F1 by *Epinephelus moara* (♀) × *E. septemfasciatus* (♂) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(5): 821 - 832. [李炎璐, 王清印, 陈超, 等. 云纹石斑鱼(♀) × 七带石斑鱼(♂) 杂交子一代胚胎发育及仔稚幼鱼形态学观察. 中国水产科学, 2012, 19(5): 821 - 832.]
- [5] Lu L J, Chen C, Ma A J, et al. Studies on the feeding behavior and morphological developments of

- Epinephelus moara* in early development stages[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2011, 42(6): 822-829. [陆丽君,陈超,马爱军,等.云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)早期发育阶段的摄食与生长特性.海洋与湖沼,2011,42(6):822-829.]
- [6] Guo F, Wang J, Su Y Q, *et al.* Study on the karyotype of *Epinephelus moara* [J]. *Marine Sciences*, 2006, 30(8): 1-3. [郭丰,王军,苏永全,等.云纹石斑鱼染色体核型研究.海洋科学,2006,30(8):1-3.]
- [7] Zhang Y J, Guo Q, Wu Z Y. Ultra structural histopathological study on lymphocystis of kelp bass *Epinephelus moara* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1997, 28(4): 406-410. [张永嘉,郭青,吴泽阳.云纹石斑鱼淋巴囊肿病变过程的超微研究.海洋与湖沼,1997,28(4):406-410.]
- [8] Sun P, Yin F, Peng S M, *et al.* Effects of salinity on the activity of antioxidant enzymes in livers of juvenile *Oplegnathus fasciatus* [J]. *Marine Fisheries*, 2010, 32(2): 154-159. [孙鹏,尹飞,彭士明,等.盐度对条石鲷幼鱼肝脏抗氧化酶活力的影响.海洋渔业,2010,32(2):154-159.]
- [9] Liu Y, Wang W N, Wang A L, *et al.* Effects of dietary vitamin E supplementation on antioxidant enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) exposed to acute salinity changes [J]. *Aquaculture*, 2007, 265(1-4): 351-358.
- [10] Rombough P. The functional ontogeny of the teleost gill: which comes first, gas or ion exchange? [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2007, 148(4): 732-742.
- [11] 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 thermo neutral or heat stress conditions [J]. *International Journal of Biometeorology*, 2014, 58(5): 741-752.
- [12] Wang G Q, Niu X T, Lu H M, *et al.* Effect of dietary Vitamin E and DHA Levels on growth and feed and differentiation of *Cyprinus carpio* var. *jian* Juvenile in different stocking density [J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2010, 32(5): 548-554. [王桂芹,牛小天,卢洪梅,等.饲料中添加 VE 和 DHA 对不同养殖密度建鲤生长、摄食和分化的影响.吉林农业大学学报,2010,32(5):548-554.]
- [13] Lu S Q, Liu S J, Liu H Y, *et al.* Effects of Cu^{2+} on activities of protecting enzymes SOD, CAT and GSH-PX in liver tissue of *Monopterus albus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2002, 9(2): 138-141. [鲁双庆,刘少军,刘红玉,等. Cu^{2+} 对黄鳍肝脏保护酶 SOD、CAT、GSH-Px 活性的影响.中国水产科学,2002,9(2):138-141.]
- [14] Lin Y H, Shiao S Y. Effects of dietary blend of fish oil with corn oil on growth and non-specific immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2007, 14(2): 137-144.
- [15] Yin F, Sun P, Peng S M, *et al.* Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the ATPase activities in its gill and kidney [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(4): 1059-1066. [尹飞,孙鹏,彭士明,等.低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响.应用生态学报,2011,22(4):1059-1066.]
- [16] Gao J, Koshio S, Ishikawa M, *et al.* Effects of dietary oxidized fish oil with vitamin E supplementation on growth performance and reduction of lipid peroxidation in tissues and blood of red sea bream *Pagrus major* [J]. *Aquaculture*, 2012, 356-357: 73-79.
- [17] Mancera J M, Laiz-Carrión R, Martín del Río M P. Osmoregulatory action of PRL, GH, and cortisol in the gilthead seabream (*Sparus auratus* L.) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2002, 129(2): 95-103.
- [18] Hu Y, Huang Y, Zhong L, *et al.* Effects of ammonia stress on the gill $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$, microstructure and some serum physiological-biochemical indices of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(4): 538-545. [胡毅,黄云,钟蕾,等.氨氮胁迫对青鱼幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、组织结构及血清部分生理生化指标的影响.水产学报,2012,36(4):538-545.]
- [19] Ma H, Liu S F, Ma Q, *et al.* Endocrine Hormone Adjustment Mechanism of Osmotic Pressure in Teleost [J]. *Fisheries Science*, 2012, 31(1): 55-59. [马慧,柳淑芳,马骞,等.硬骨鱼类渗透压的内分泌激素调节机制.水产科学,2012,31(1):55-59.]
- [20] Zhou M, Liu B, Ge X P, *et al.* Effects of vitamin E on serum biochemical indexes and antioxidant capacity of *Megalobrama amblycephala* under acute high temperature stress and recovery [J]. *Journal of*

- Fisheries of China, 2013, 37 (9): 1369 – 1377. [周明, 刘波, 戈贤平, 等. 不同水平维生素 E 对高温应激及常温恢复后团头鲂血清生化指标、肠道抗氧化能力的影响. 水产学报, 2013, 37 (9): 1369 – 1377.]
- [21] de Andrade J I A, Ono E A, de Menezes G C, *et al.* Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters [J]. Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 146(4): 576 – 580.
- [22] López – Olmeda J F, Egea – Álvarez M, Sánchez – Vázquez F J. Glucose tolerance in fish: Is the daily feeding time important? [J]. Physiology & Behavior, 2009, 96(4 – 5): 631 – 636.
- [23] Roohi Z, Imanpoor M R. The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles [J]. Aquaculture, 2015, 437: 327 – 332.
- [24] Kanak E G, Dogan Z, Eroglu A, *et al.* Effects of fish size on the response of antioxidant systems of *Oreochromis niloticus* following metal exposures [J]. Fish physiology and biochemistry, 2014, 40 (4): 1083 – 1091.
- [25] Wang Y, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of salinity on survival, growth and antioxidant defense system of *Siganus guttatus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35 (1): 66 – 73. [王妤, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度对点篮子鱼的存活、生长及抗氧化防御系统的影响. 水产学报, 2011, 35(1): 66 – 73.]
- [26] Hui T C, Wang J G, Zhu Y M. Effects of Cd on hepatic GSH metabolism in *T. nilotics*. [J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Sciences), 2001, 27 (5): 575 – 578. [惠天朝, 王家刚, 朱荫湄. 镉对罗非鱼肝组织中 GSH 代谢的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2001, 27 (5): 575 – 578.]
- [27] Wang Q, Fan C P, Chen K C, *et al.* Effects of three typical sulfonamides Oil GST activity and MDA content in liver tissue of *Oreochromis niloticus* [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19 (5): 1014 – 1019 [王奇, 范灿鹏, 陈锟慈, 等. 三种磺胺类药物对罗非鱼肝脏组织中谷胱甘肽转移酶 (GST) 和丙二醛 (MDA) 的影响. 生态环境学报, 2010, 19(5): 1014 – 1019]
- [28] Nie F H, Kong Q B, Liu L P, *et al.* Effects of Two DLCs on Hepatic MDA, SOD and GST in Zebrafish [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2008, 28(2): 210 – 213. [聂芳红, 孔庆波, 刘连平, 等. 两种二噁英类化合物对斑马鱼肝脏 MDA、SOD 和 GST 的影响. 食品与生物技术学报, 2008, 28 (2): 210 – 213.]
- [29] Xu Y J, Sun B. Effect of salinity stress on the growth, body composition and enzyme activities of juvenile *Hippocampus kuda* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(6): 1279 – 1285. [徐永健, 孙彬. 盐度胁迫对大海马 (*Hippocampus kuda*) 幼体生长、组分及酶活力的影响. 海洋与湖沼, 2012, 43(6): 1279 – 1285.]
- [30] Martinez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors [J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2005, 15(1 – 2): 75 – 88.
- [31] Su P, Peng S M, Yin F, *et al.* Effects of salinity on activity of Na^+/K^+ – ATPase in juvenile *Oplegnathus fasciatus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34 (8): 1204 – 1209. [孙鹏, 彭士明, 尹飞, 等. 盐度对条石鲷幼鱼 Na^+/K^+ – ATP 酶活力的影响. 水产学报, 2010, 34(8): 1204 – 1209.]
- [32] Patterson J, Bodinier C, Green C. Effects of low salinity media on growth, condition, and gill ion transporter expression in juvenile Gulf killifish, *Fundulus grandis* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology – Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2012, 161(4): 415 – 421.
- [33] Tsai J C, Hwang P P. Effects of wheat germ agglutinin and colchicines on microtubules of the mitochondria – rich cells and Ca^{2+} uptake in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae [J]. The Journal of Experimental Biology, 1998, 201 (15): 2263 – 2271.

Effect of dietary vitamin E on physiological and antioxidant functions in juvenile *Epinephelus moara* under low salinity stress

ZHANG Chenjie¹, ZHANG Yanliang^{1,2}, PENG Shiming¹, SHI Zhaohong^{1,2*}, GAO Quanxin¹

(1. Key Laboratory of East China Sea & Oceanic Fishery Resources Exploitation and Utilization, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Vitamin E (VE) plays a key role in reproduction, metabolism, antioxidant function and immunity of fish. For the research of effects of dietary VE on tolerance of *Epinephelus moara* for low salinity stress, five levels of VE supplementation were designed as 0, 20, 40, 80 and 160 mg/kg (A, B, C, D, E in turn) in this experiment. Juvenile *E. moara* were fed for 56 days, and the real supplementation of VE was tested. Then, low salinity (12) stress experiment lasted for 6 h, different indexes of experimental fish were tested, serum biochemical indexes: cortisol (COR), glucose (GLU), lactic acid (LD); serum antioxidant: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH - Px) activities, total antioxidant capacity (T - AOC) and malondialdehyde (MDA); as well as gill $\text{Na}^+/\text{K}^+ - \text{ATPase}$ (NKA), $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ activities. The results showed that serum COR concentration was increased by supplementing VE in diet. And after low salinity stress, serum COR concentration in every groups increased. There was no huge difference among serum GLU concentration in different groups. And after low salinity stress, serum GLU concentration in groups A, B, C increased significantly. Serum LD concentration in groups C, D, E increased in feeding experiment, then it increased in groups A, B and decreased in groups C, D, E after low salinity stress. Maximum of serum COR concentration was after stress A (32.74 ± 1.53) ng/mL, minimum was before stress E (19.06 ± 3.88) ng/mL; maximum of GLU concentration was after stress A (16.46 ± 0.99) mmol/L, minimum was before culture O (7.90 ± 0.34) mmol/L; maximum of LD concentration was before stress C (1.94 ± 0.15) mmol/L, minimum was after stress E (1.30 ± 0.06) mmol/L. The results of serum COR, GLU, and LD suggested that supplementation of VE would enhance anti-stress ability of *E. moara*, and the best range of supplementation of VE was 47.524 - 134.566 mg/kg (B - D). Maximum of SOD activity was before stress C (105.29 ± 9.07) U/mL, minimum was after stress A (11.23 ± 2.30) U/mL; maximum of CAT was before culture O (4.09 ± 0.17) U/mL, minimum was after stress A (0.35 ± 0.10) U/mL; maximum of GSH - Px was before stress E (972.58 ± 55.35) U, minimum was after stress A (47.90 ± 10.64) U; minimum of MDA was before stress D (33.48 ± 2.34) nmol/mL, maximum was after stress A (101.79 ± 7.79) nmol/mL. The supplementation of VE were close relative to serum SOD, CAT, and GSH - Px activities, T - AOC, MDA concentration, of which range was 91.378 - 178.924 mg/kg (C - E) that could strengthen antioxidant function of *E. moara*. VE can enhance the NKA activity. When the supplementation of VE was 91.378 mg/kg (C), low salinity stress had little effect on NKA activity. The range of supplementary VE which was 91.378 - 178.924 mg/kg (C - E), appeared to result in the activation of the $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$ activity. This study suggested that diets supplemented with VE can enhance vitality and anti-stress ability of body. In summary, analysis of biochemical, antioxidant and ion-regulatory indicators estimated that the best range of supplementation of VE was 91.378 - 134.566 mg/kg (C - D).

Key words: *Epinephelus moara*; Vitamin E; salinity stress; serum; antioxidant

Corresponding author: SHI ZhaoHong. E-mail: shizhh@sh163.net

Funding projects: National Key Technology R & D Program(2011BAD13B01)