

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

周 明^{1,2}, 刘 波^{2,3}, 戈贤平^{2,3*}, 谢 骏^{2,3}, 陈汝丽^{2,3},
崔彦婷^{2,3}, 万金娟^{2,3}, 崔素丽^{2,3}, H. Michael Habte-Tsion^{2,3}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;

3. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

摘要: 为研究饲料中添加不同水平的维生素 E (V_E) 对急性热应激及常温恢复条件下团头鲂血清生理生化、激素及肠道抗氧化指标的影响, 实验挑选 180 尾健康、规格一致的团头鲂 (45.00 ± 0.50) g, 分成 3 组, 每组 4 个平行, 每组分别添加不同量维生素 E (0、50 和 400 mg/kg 饲料)。饲养 90 d 后, 对团头鲂进行 32 °C 应激 1 d, 并在 25 °C 常温恢复 7 d。结果表明: 应激前, 50 mg/kg V_E 组显著提高了肠道谷胱甘肽的活性 ($P < 0.05$); 高温应激后, 与对照组相比, 50 mg/kg V_E 组在高温应激 1 d 后显著降低了谷丙转氨酶和皮质醇含量, 常温恢复 7 d 后显著降低了谷草转氨酶、皮质醇的含量 ($P < 0.05$), 显著提高了碱性磷酸酶、谷胱甘肽和超氧化物歧化酶活性 ($P < 0.05$); 与对照组比, 400 mg/kg V_E 添加组在 32 °C 应激 1 d 及 25 °C 恢复 1 d 后显著降低了谷丙转氨酶活性 ($P < 0.05$), 常温恢复 7 d 后显著降低了皮质醇浓度, 在应激 1 d 及恢复 7 d 后均显著降低了丙二醛浓度 ($P < 0.05$), 400 mg/kg V_E 添加组在高温应激 1 d 后显著提高了碱性磷酸酶活性和三碘甲腺原氨酸含量, 常温恢复 7 d 后显著提高了碱性磷酸酶活性 ($P < 0.05$)。因此, 添加适量的维生素 E (50 ~ 400 mg/kg) 有利于调节血脂变化, 提高团头鲂肠道抗氧化能力, 并且可缓解高温应激对团头鲂血液指标波动的影响, 减轻脂质过氧化水平, 对团头鲂起到一定保护作用。

关键词: 团头鲂; 维生素 E; 热应激; 生化指标; 抗氧化

中图分类号: S 965

文献标志码: A

鱼类在养殖过程中经常受到温度、盐度变化, 病原的侵扰, 更换网箱、运输等因素的应激。温度是一个重要的胁迫因子, 直接影响到鱼类的生长、发育、摄食、代谢、存活以及分布等。对温度的变化鱼类具有一定的适应能力, 但都有耐受限度, 研究表明过高与过低的温度能引起水产动物血液生理生化指标^[1-2]及血液激素^[3-4]产生一定的变化, 对机体抗氧化系统也会产生一定的影响^[5-8]。

维生素 E (V_E) 是维持机体生理机能必不可

少的物质, 是一种重要且有效的生物抗氧化剂。实验表明, 在饲料中添加维生素 E, 能够清除过量自由基, 减缓应激对机体造成的危害^[9-10]。

团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*), 又称武昌鱼, 隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes), 鲤形目 (Cypriniformes), 鲤科 (Cyprinidae), 鲃亚科 (Abramidinae), 鲃属 (*Megalobrama*)。肉质鲜美、生长快、经济价值高, 为我国主要的淡水养殖品种之一。相对于鲤、鲫等鱼类, 团头鲂不耐低氧和运输, 因此在养殖生产过程中经常受到外界不

收稿日期: 2013-01-08 修回日期: 2013-03-31

资助项目: 公益性行业 (农业) 科研专项 (201003020); 现代农业技术体系建设专项 (CARS-46); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (2012A0602)

通信作者: 戈贤平, E-mail: gexp@ffrc.cn

利因素的影响产生应激,造成受伤、死亡,影响了团头鲂的生长^[11]。目前维生素 E 对机体的热应激的研究主要集中在畜禽上^[10,12-13],有关维生素 E 在高温应激及恢复后对团头鲂的影响还未见报道。鉴于此,实验旨在探讨在高温应激及常温恢复后维生素 E 对团头鲂血清生化指标、血清激素、肠道抗氧化指标的影响,为维生素 E 在缓解水产养殖动物应激提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

团头鲂由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心实验场提供。实验选择体质健壮,规格和重量基本一致的团头鲂鱼种,初始体质量为 (45 ± 0.5) g,随机分为3组,分别为0、50和400 mg/kg V_E 添加组,每组4个重复,放入12个可控温循环流水圆形蓄养槽($\phi 820$ mm \times 700 mm)内进行养殖,每个蓄养槽放养15尾。

以酪蛋白和明胶为蛋白源,豆油为脂肪源,设计了3组等氮等能的饲料,维生素 E 的添加水平分别为0、50和400 mg/kg 饲料。维生素 E 购买自上海国药集团化学有限公司,有效含量为50%。基础饲料组成和主要营养成分见表1。饲料原料经粉碎,0.3 mm 孔径分筛,按表1配比混合均匀,少量的组分采用逐级扩大法混合。加20%的水揉匀,用SLP-45型颗粒机(中国水产科学研究院渔业机械仪器研究所)制成粒径2.0 mm 的沉性颗粒饲料,50 °C 烘干后于4 °C 冰柜中保存备用。

1.2 饲养管理

团头鲂在养殖桶驯化15 d 后正式开始投喂实验饲料。每天投喂3次,在8:00~9:00投喂适量,11:00~12:00、15:00~16:00各再投喂一次。日投饵量为鱼体质量2%~4%,并根据摄食和生长情况作适当调整,以每次投饲后无残饵为宜。饲养期间水温27.5 °C 左右,pH 为7.2~7.8,溶解氧 >5 mg/L,氨氮 <0.01 mg/L,硫化氢 <0.01 mg/L。减少人为干扰,保持安静,防止额外应激,每日观察鱼摄食及死亡情况,发现死鱼及时捞出称重记数,并检查死亡原因。

表1 基础饲料配方及营养水平(风干基础%)

Tab.1 Formulation and nutrition levels of basal diet (air-dry basis %)

| 原料 ingredients | 含量 content |
|---|---------------|
| 酪蛋白(不含 V_E) casein (vitamin E free) | 27.50 |
| 明胶 gelatin | 6.50 |
| 磷酸二氢钙 calcium dihydrogen phosphate | 2.75 |
| 豆油 soybean oil | 6.00 |
| 大豆磷脂 soy lecithin | 1.00 |
| 氯化胆碱(50%) choline chloride (50%) | 0.15 |
| 维生素预混料(不含 V_E) ¹ vitamin premix (vitamin E free) | 0.50 |
| 矿物质预混料 ² mineral premix | 0.50 |
| 糊精 dextrin | 10.00 |
| α -淀粉 α -starch | 25.00 |
| 微晶纤维素 microcrystalline cellulose | 9.05 |
| 羧甲基纤维素 carboxyl-methy cellulose | 11.00 |
| 乙氧基喹啉 ethoxyquin | 0.05 |
| 营养成分 chemical composition | |
| 粗蛋白 crude protein | 32.12 |
| 粗脂肪 crude lipid | 6.68 |
| 总能(kJ/g) ³ gross energy | 15.23 |
| 赖氨酸 lysine | 2.26 |
| 蛋氨酸 methionine | 0.79 |

注:1. 维生素预混料:维生素 A,900 000 IU;维生素 D,250 000 IU;维生素 C,5 000 mg;维生素 K_3 ,220 mg;维生素 B_1 ,320 mg;维生素 B_2 ,1 090 mg;维生素 B_6 ,5 000 mg;维生素 B_{12} ,116 mg;生物素,50 mg;泛酸盐,1 000 mg;叶酸,165 mg;胆碱,60 000 mg;肌醇,15 000 mg;烟酸,2 500 mg。2. 矿物添加剂: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$,2.5 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$,28 g; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$,22 g; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$,9 g; Na_2SeO_3 ,0.045 g;KI,0.026 g; $CoC_{12} \cdot 6H_2O$,0.1 g。3. 总能(kJ/g) = 23.64 粗蛋白 + 39.54 粗脂肪 + 17.15 糖类。

Notes:1. Vitamin premix (mg per kg premix): Vitamin A,900 000 IU;Vitamin D,250 000 IU;Vitamin C,5 000 mg;Vitamin K_3 ,220 mg;Vitamin B_1 ,320 mg;Vitamin B_2 ,1 090 mg;Vitamin B_6 ,5 000 mg;Vitamin B_{12} ,116 mg;biotin,50 mg;Pantothenate,1 000 mg;Folic acid,165 mg;Choline,60 000 mg;Inositol,15 000 mg;Niacin acid,2 500 mg。2. Mineral premix (per kg premix): $CuSO_4 \cdot 5H_2O$,2.5 g; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$,28 g; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$,22 g; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$,9 g; Na_2SeO_3 ,0.045 g;KI,0.026 g; $CoC_{12} \cdot 6H_2O$,0.1 g。3. GE (kJ/g) = 23.64 CP + 39.54 EE + 17.15 CARB.

1.3 高温应激和常温恢复实验

饲养实验结束后,采取加冷暖气调节温度的方式进行快速升温,每小时升温 2°C ,在3 h内升温到 32°C 后,利用室内控温循环流水系统保持水温在 $(32 \pm 1)^{\circ}\text{C}$,应激1 d。随后实验预先做好预备实验,摸索出最佳加冰量,采取加碎冰调节温度的方式进行急速降温,在30 min内降至水体温度 $(25 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 进行恢复实验,恢复时间为7 d。整个实验期间,每天早上投喂一次饲料,并保证充足的氧气,减少人为干扰,保持安静,防止额外应激。

1.4 样品采集及指标分析

样品采集 在应激前, 32°C 应激1 d, 32°C 应激1 d恢复1 d, 32°C 应激1 d恢复2 d, 32°C 应激1 d恢复7 d随机采样,每次每缸随机采样2尾,每组共8尾鱼。采样时将鱼迅速捞起并立即投入浓度为200 mg/L的MS-222中做快速深度麻醉,尾静脉采血,在 4°C 条件下10 000 r/min离心5 min制备血清。血清移入 -20°C 保存。采血后解剖,适量肠道(前中肠)用于抗氧化酶活性测定。

血清生化指标测定方法 谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)采用IFCC法,碱性磷酸酶(ALP)采用AMP缓冲液法,在迈瑞BS-400全自动生化分析仪上测定,试剂盒均购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。皮质醇(cortisol)、三碘甲腺原氨酸(T_3)、甲状腺素(T_4)利用化学发光免疫竞争法,在MAGLUMI 1000全自动化学发光免疫分析仪上检测,试剂盒均购自深圳新产业生物医学工程有限公司。

肠道抗氧化指标测定 肠道样品解冻后,用 4°C 生理盐水冲洗干净并用滤纸吸干后称重,饲料与匀浆介质(pH 7.4)按1:9(w:v)的比例冰浴匀浆,制成10%匀浆液。匀浆液在 4°C ,4 000 r/min离心10 min,上清液保存于 -70°C 冰箱。肝脏上清液蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定;肝脏上清液超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA),分别采用黄嘌呤氧化酶法、比色法和硫代巴比妥酸法测定,所用试剂盒购自于南京建成生物

工程研究所。

1.5 数据处理

数据用SPSS(Ver. 11.5)软件Duncan氏多重比较检验在同一时间点各组间的差异;用独立t检验检测应激前后的变化, $P < 0.05$ 表示差异显著。所有的结果均以平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)表示。

2 结果

2.1 高温应激及常温恢复下维生素E对团头鲂血清谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和碱性磷酸酶(ALP)的影响

由图1-a可知,高温应激前,各组间谷草转氨酶(AST)活性的差异不显著($P > 0.05$)。高温应激后,50 mg/kg V_E 添加组在常温恢复7 d后AST活性显著低于对照组($P < 0.05$)。

由图1-b可知,高温应激前各组团头鲂血清谷丙转氨酶(ALT)活性没有显著性差异($P > 0.05$)。应激后,50和400 mg/kg V_E 添加组在应激1 d及常温恢复1 d后ALT活性均显著低于对照组,常温恢复7 d后50 mg/kg V_E 添加组ALT活性显著低于对照组($P < 0.05$)。应激前后相比,对照组在应激1 d及恢复2 d后均显著提高了ALT活性($P < 0.05$)。

由图1-c可知,应激前,各组间碱性磷酸酶(ALP)活性在应激前差异也不显著($P > 0.05$)。应激后,与对照组相比,400 mg/kg V_E 添加组在高温应激1 d后,50和400 mg/kg V_E 添加组在常温恢复7 d后均显著提高了ALP活性($P < 0.05$)。应激前后相比,在常温恢复7 d后对照组显著降低了ALP活性($P < 0.05$)。

2.2 高温应激及常温恢复下维生素E对团头鲂血清三碘甲腺原氨酸(T_3)、甲状腺素(T_4)、皮质醇(COR)的影响

由图2-a可知,无论应激前还是应激后,与对照组比,添加组对 T_4 含量没有显著性影响($P > 0.05$)。应激前后相比,对照组在常温恢复1、2和7 d后显著提高了 T_4 含量,400 mg/kg V_E 添加组在常温恢复1 d后显著提高 T_4 含量($P < 0.05$),其它各组无明显差异($P > 0.05$)。

由图 2-b 可知,高温应激前,各组间 T_3 含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。高温应激后,与对照组相比,400 mg/kg V_E 添加组在应激 1 d 后显著提高了 T_3 含量 ($P < 0.05$),50 mg/kg V_E 添加组在常温恢复 7 d 后显著降低了 T_3 含量 ($P < 0.05$)。应激前后相比,400 mg/kg V_E 添加组在高温应激 1 d、常温恢复 1 和 2 d 后、对照组在常温恢复 1 d 后均显著提高了 T_3 含量 ($P < 0.05$)。

由图 2-c 可知,应激前,各组间血清 COR 水

平无显著性差异 ($P > 0.05$)。应激后,与对照组相比,50 mg/kg V_E 添加组在应激 1 d 后显著降低了 COR 水平,50 和 400 mg/kg V_E 添加组在常温恢复 7 d 后显著降低了 COR 水平 ($P < 0.05$)。应激前后相比,对照组和 400 mg/kg V_E 添加组在高温应激 1 d 后显著提高了 COR 水平,400 mg/kg V_E 添加组在常温恢复 2 d 后显著提高了 COR 水平 ($P < 0.05$),其它无显著性差异 ($P > 0.05$)。

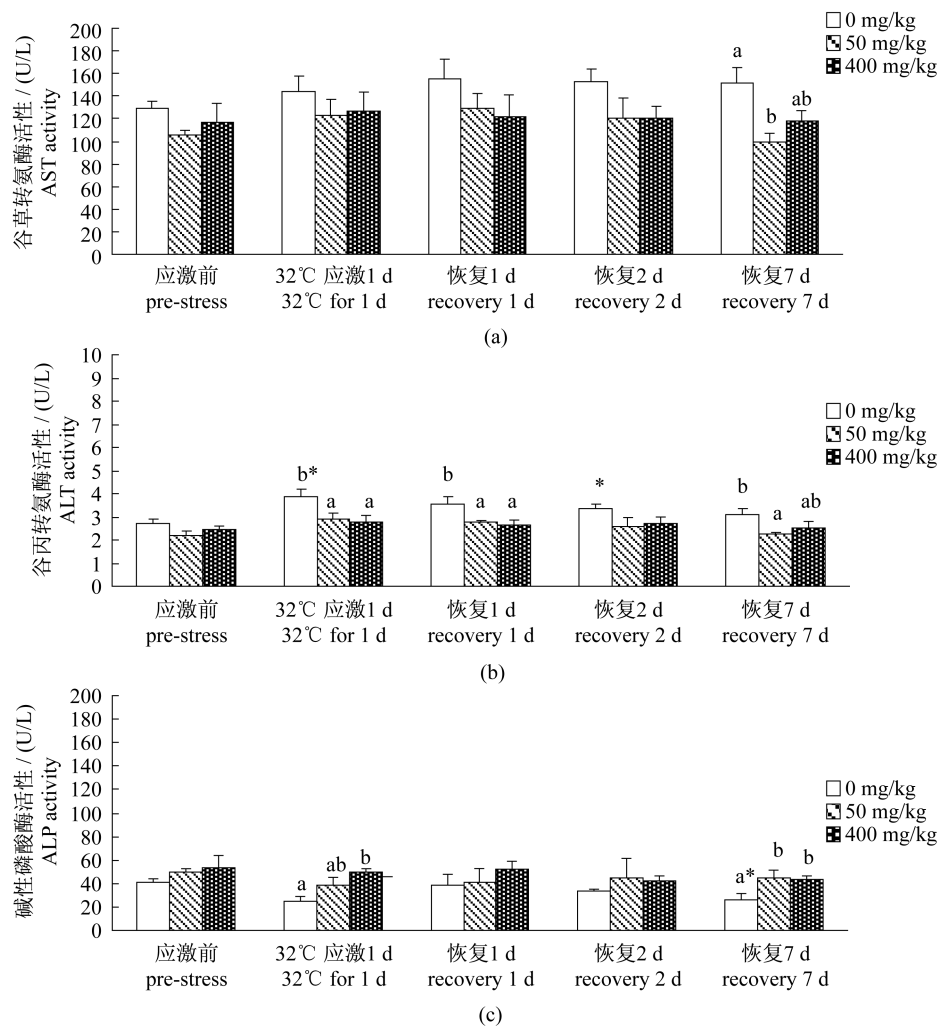


图 1 高温应激及常温恢复下维生素 E 对团头鲂谷草转氨酶 (a)、谷丙转氨酶 (b) 和碱性磷酸酶 (c) 的影响
图中值为平均值 \pm 标准误, $n = 3$; * 表示同一组应激前后 t 检验差异显著 ($P < 0.05$); 不同小写字母表示不同组在同一时间点 Duncan 氏多重比较的差异显著 ($P < 0.05$)。以下同此。

Fig. 1 Effects of V_E on serum AST (a), ALT (b) and ALP (c) levels of juvenile *M. amblycephala* under high temperature stress and recovery

Data are expressed as means \pm SE ($n = 8$); Significant differences ($P < 0.05$) between values obtained before and after stress are marked by asterisks in t -tests; Different small letters above the bars indicate significant differences ($P < 0.05$) in different groups of the same time point in Duncan's test. The same as the following.

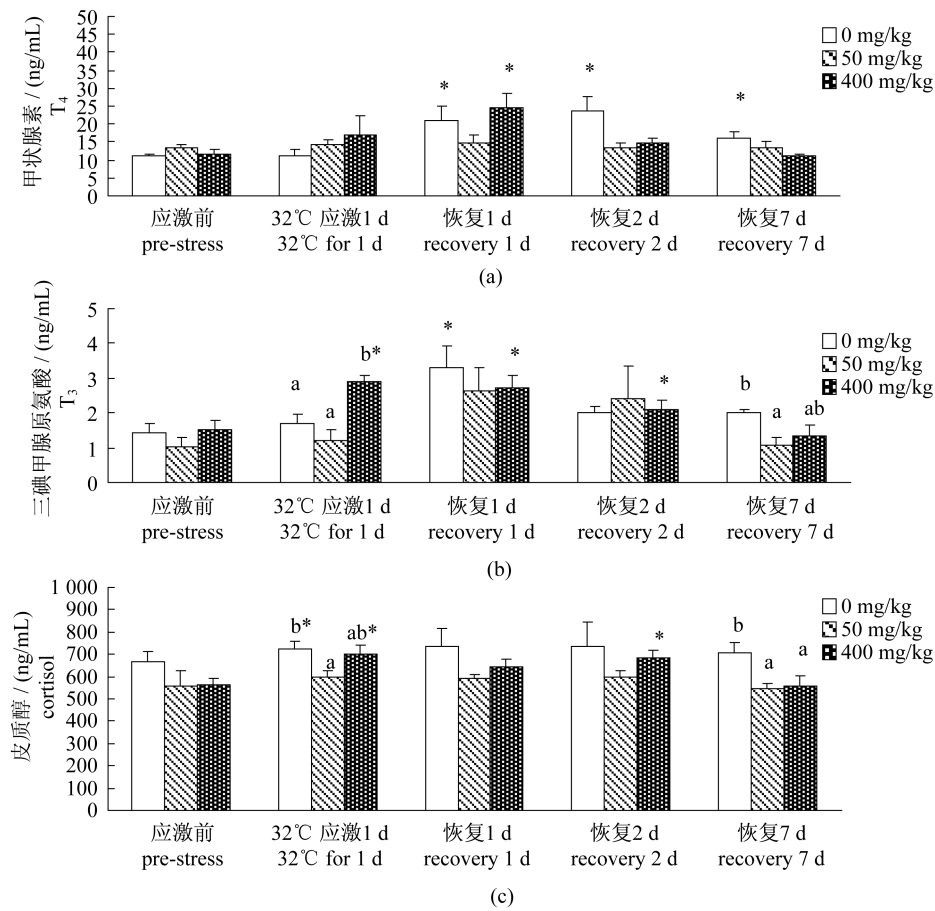


图2 高温应激及常温恢复下维生素 E 对团头鲂甲状腺素 (a)、三碘甲腺原氨酸 (b)、皮质醇 (c) 的影响
Fig. 2 Effects of V_E on serum T₄ (a), T₃ (b) and cortisol (c) levels of juvenile *M. amblycephala* under high temperature stress and recovery

2.3 高温应激及常温恢复下维生素 E 对团头鲂肠道超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 的影响

由图 3-a 可知, 高温应激前, 各组间丙二醛 (MDA) 含量无显著性差异 ($P > 0.05$)。高温应激后, 与对照组相比, 400 mg/kg V_E 添加组在应激 1 d 及恢复 7 d 后均显著降低了 MDA 含量 ($P < 0.05$)。应激前后相比, 对照组在高温应激 1 d 后显著提高了 MDA 含量 ($P < 0.05$), 其它组差异不显著 ($P > 0.05$)。

由图 3-b 可知, 高温应激前, 50 mg/kg V_E 添加组团头鲂肠道 GSH 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$)。高温应激后, 与对照组相比, 50 mg/kg V_E 添加组在常温恢复 1 和 7 d 后显著提高了 GSH 水平 ($P < 0.05$)。应激前后相比, 对照组和 400 mg/kg V_E 添加组在常温恢复 1 d 后显著降低

了 GSH 水平 ($P < 0.05$), 其它各组无显著性差异 ($P > 0.05$)。

由图 3-c 可知, 高温应激前, 各组间超氧化物歧化酶 (SOD) 水平无显著性差异 ($P > 0.05$)。应激后, 与对照组相比, 50 mg/kg V_E 添加组在常温恢复 7 d 后显著提高了 SOD 水平 ($P < 0.05$)。应激前后相比, 实验各组无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 高温应激及常温恢复后维生素 E 对团头鲂血液生化指标的影响

血液生化指标在血液中保持相对稳态, 且对环境应激的敏感性较低。因此, 通过检测鱼体内血液生化指标的变化可以对其生理状态进行很好的分析与预测^[14-15]。

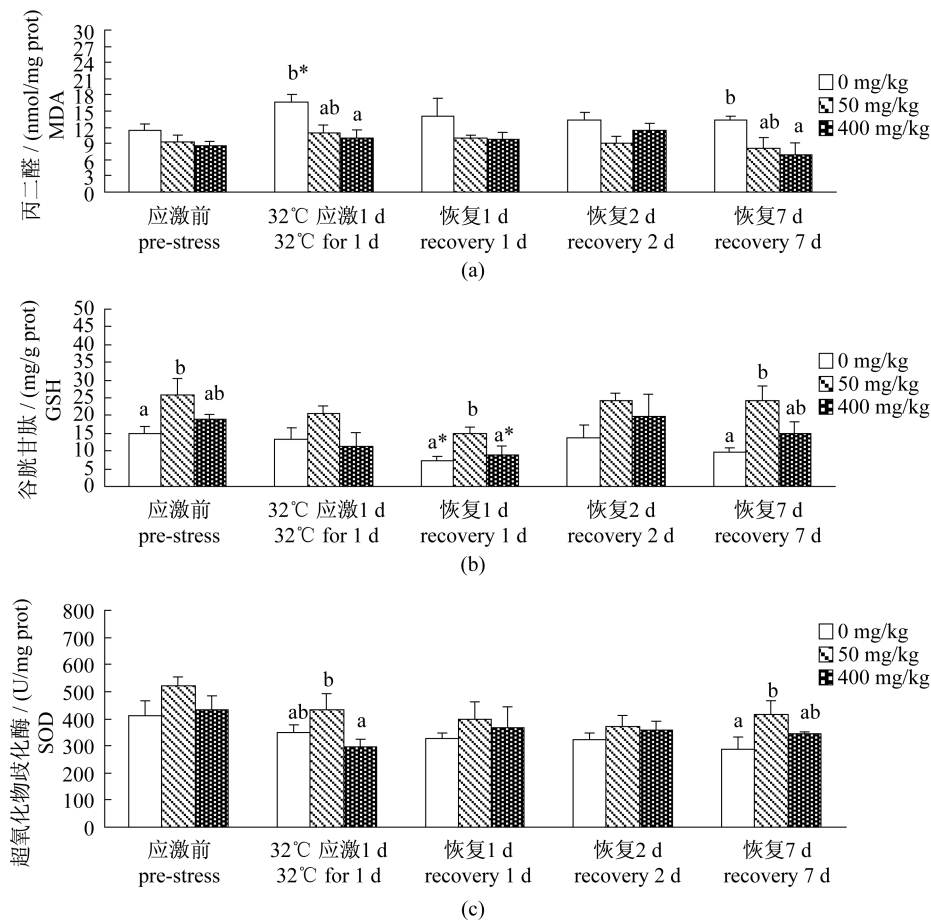


图3 高温应激及常温恢复下维生素E对团头鲂丙二醛(a)、谷胱甘肽(b)、超氧化物歧化酶(c)的影响

Fig. 3 Effects of V_E on serum MDA (a), GSH (b) and SOD (c) levels of juvenile *M. amblycephala* under high temperature stress and recovery

一般认为,AST 活性增加,说明心脏或肌肉组织发生障碍;而 ALT 活性增加,说明肝脏发生障碍^[16]。桂丹等^[17]研究表明,与常温相比,热应激 24 h 后异育银鲫 ALT 活性升高,而添加维生素 E 有助于从不同代谢途径来缓解热应激对异育银鲫血液生理生化指标造成的不利影响。鱼类应对外界应激时,血清碱性磷酸酶(ALP)水平也可以作为重要的考察指标^[18]。金丽等^[19]报道胭脂鱼在饥饿 5、10 和 20 d 其血清 ALP 水平均显著低于对照组。实验也发现,高温应激后各组 AST 和 ALT 均不同程度的上升,而 ALP 均出现下降的趋势,而 V_E 添加组 ALT 含量显著低于对照组,表明添加适量维生素 E 有抑制其升高的作用。常温恢复 7 d 后, V_E 添加组 AST、ALT 和 ALP 水平基本恢复到应激前水平,而对照组 AST 和 ALT 仍处于较高水平,且 AST 含量显著高于 50 mg/kg V_E 添加组,ALP 含量显著低于 50 和 400 mg/kg V_E 添加组,这说明应激状态下,维生素 E 能在一定

程度上降低血清 ALT 和 AST 的水平、提高血清 ALP 水平,这有助于增强鱼体抗应激的能力,对鱼类应激起到一定的保护作用。

3.2 高温应激及恢复后维生素 E 对团头鲂血液激素指标的影响

皮质醇(COR)是由于应激产生的一类激素,正常情况下 COR 含量维持在一定的水平上,当捕捉、惊吓、拥挤、温度和盐度等剧烈变化的情况下,下丘脑-垂体功能紊乱引起肾上腺皮质增生使 COR 分泌过量,血清中 COR 水平呈上升趋势^[20-21],所以 COR 可以作为鱼类应激的重要指标。许源剑等^[22]研究指出,应激后鱼类血液 COR 水平迅速升高。周显青等^[23]研究指出,饲料中添加高剂量的 V_E 可降低中华鳖幼鳖血清的 COR 含量。本实验中,高温应激前,各组间 COR 含量差异不显著,表明饲料中维生素 E 对团头鲂血浆 COR 无显著性影响。高温应激 1 d 后,各组 COR 含量均不同程度的升高,这与前人研究结果

一致,而50 mg/kg V_E 添加组COR浓度显著低于对照组,表明添加适量维生素E有助于降低COR含量。常温恢复7 d后,对照组COR仍处于较高水平,而50和400 mg/kg V_E 添加组基本恢复到应激前水平,且显著低于对照组。表明50和400 mg/kg 维生素E可有效降低血液COR含量,增强抗高温应激能力,减轻应激对鱼体的影响。

应激条件下,甲状腺激素(三碘甲腺原氨酸- T_3 和甲状腺素- T_4)的合成和分泌增多,释放到血液中作用于靶细胞,调节机体糖、蛋白、脂类及水盐代谢^[24]。本实验中也发现,高温应激1 d后,各血清 T_3 和 T_4 浓度均不同程度的提高,经过常温恢复7 d后 V_E 添加组 T_3 和 T_4 浓度基本恢复到应激前水平,而对照组仍处于较高水平。这与刘波^[11]在高温应激及常温恢复中的实验结果基本一致。说明饲料中添加适量维生素E(50和400 mg/kg V_E)能减轻热应激对 T_3 和 T_4 浓度的影响,维持受热应激及恢复后团头鲂血清 T_3 和 T_4 浓度的相对稳定,从而减少由于激素水平失衡造成的代谢紊乱。这与孙长勉等^[12]和刘铀等^[25]在对鸡的热应激研究中结论相一致,但维生素E对鱼类与畜禽动物激素影响的作用机理是否一致有待进一步研究。

3.3 高温应激及恢复后维生素E对团头鲂肠道抗氧化能力的影响

研究表明,动物遭到热应激时,体内儿茶酚胺分泌增多,细胞能量分解大于合成,氧自由基增多,造成脂质过氧化(LOP)^[26]。组织中的丙二醛(MDA)含量常用来表示LOP含量的高低,并可间接反映出体内自由基水平的变化。实验发现,对照组在高温应激1 d后显著提高了MDA含量,表明应激可以升高血清MDA的量,这与前人研究结果相一致。而饲料中添加50 mg/kg V_E ,尤其是高剂量的 V_E (400 mg/kg V_E)后,团头鲂肠道MDA含量在应激1 d及恢复7 d后均显著低于对照组,并最终在常温恢复7 d后基本恢复到应激前水平。这表明适量的维生素E可有效缓解鱼体因热应激而导致的脂质过氧化物的产生,这也与李绍钰等^[27]报道一致。

超氧化物歧化酶(SOD)是抗氧化系统中最有代表性的一种酶,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,能消除超氧阴离子自由基(O_2^-)保护细胞免受损伤。谷胱甘肽(GSH)是一

种低分子消除剂,它也可消除 O_2^- 、 H_2O_2 等,两者有协同作用^[28]。实验发现 V_E 不仅本身具有抗氧化的能力,而且可以诱导机体提高抗氧化酶的作用^[29]。蔡中华等^[30]研究表明在高温环境下添加维生素E有利于降低肉鸡体内的脂质过氧化水平。周显青等^[23]研究指出在日粮中添加维生素E能增强机体抗应激与抗氧化能力,减少脂质过氧化损伤。实验中:高温应激前,50 mg/kg V_E 添加组肠道GSH的含量显著高于对照组,表明日粮中添加适量的维生素E有助于提高机体抗氧化能力;应激后,与对照组相比,50 mg/kg V_E 添加组在常温恢复1和7 d后显著提高了肠道GSH的含量,50 mg/kg V_E 添加组在常温恢复7 d后显著提高了SOD活性,并基本恢复到应激前水平。这说明添加适量维生素E(50 mg/kg V_E)能有效提高GSH含量,并抑制抗氧化酶活性的下降,减缓脂质过氧化,增强机体抗氧化能力。

因此,日粮中添加适量的维生素E(50和400 mg/kg V_E)有利于调节血脂变化,有效提高抗氧化能力,起到抗高温应激的作用,从而对机体起到一定的保护。

参考文献:

- [1] Hsieh S L, Chen Y N, Kuo C M. Physiological responses, desaturase activity and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation [J]. *Aquaculture*, 2003, 220 (1 - 4): 903 - 918.
- [2] 常玉梅,匡友谊,曹鼎臣,等. 低温应激对鲤血液学和血清生化指标的影响 [J]. *水产学报*, 2006, 30 (5): 701 - 706.
- [3] Law W Y, Chen W H, Song Y L, et al. Differential *in vitro* suppressive effects of steroids on leukocyte phagocytosis in two teleosts, tilapia and common carp [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2001, 121(2): 163 - 172.
- [4] 刘波,王美垚,谢骏,等. 低温应激对吉富罗非鱼血清生化指标及肝脏HSP70基因表达的影响 [J]. *生态学报*, 2011, 31(17): 4866 - 4873.
- [5] Tort L, Rotllant J, Roviva L. Immunological suppression in gilthead sea bream *Sparus aurata* of the north-west Mediterranean at low temperatures [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 1998, 120 (1): 175 - 179.

- [6] Watts M, Munday B L, Burke C M. Immune responses of teleost fish [J]. Australian Veterinary Journal, 2001, 79(8): 570 - 574.
- [7] Le Morvan C, Troutaud D, Deschaux P. Differential effects of temperature on specific and nonspecific immune defences in fish [J]. The Journal of Experimental Biology, 1998, 201: 165 - 168.
- [8] Ndong D, Chen Y Y, Lin Y H, et al. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 22(6): 686 - 694.
- [9] 张伟, 李彦芹, 秦应和, 等. 日粮添加维生素 E 对急性热应激环境下生长肉兔血液抗氧化指标的影响 [J]. 中国养兔杂志, 2007, 1(3): 19 - 22.
- [10] Ortuno J, Esteban M A, Meseguer J. The effect of dietary intake of vitamins C and E on the stress response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2003, 14(2): 145 - 156.
- [11] 刘波. 高温应激与大黄萘醌提取物对团头鲂生理反应及相关应激蛋白表达的影响 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [12] 孙长勉, 栾新红, 曹中赞, 等. 维生素 E 对热应激条件下肉鸡甲状腺激素分泌的影响 [J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(5): 360 - 362.
- [13] 王龙生, 陈国安. 维生素 C 和 E 在猪、鸡抗热应激中的研究和应用 [J]. 饲料工业, 2005, 26(20): 38 - 42.
- [14] Davis K B. Temperature affects physiological stress responses to acute confinement in sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2004, 139(4): 433 - 440.
- [15] Groff J M, Zinkl J G. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish, common carp and goldfish [J]. The Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, 1999, 2(3): 741 - 776.
- [16] 韩京成, 刘国勇, 梅朋森, 等. 温度对鲫血液生化指标和消化酶的影响 [J]. 水生态学杂志, 2010, 3(1): 87 - 92.
- [17] 桂丹, 刘文斌. 不同营养添加剂对热应激异育银鲫血液生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2008, 20(2): 228 - 233.
- [18] 强俊, 杨弘, 王辉, 等. 海豚链球菌感染对不同品系罗非鱼血液生化指标和肝脏 HSP70 mRNA 表达的影响 [J]. 水产学报, 2012, 36(6): 958 - 968.
- [19] 金丽, 赵娜, 周传江, 等. 饥饿对胭脂鱼血液指标及造血的影响 [J]. 水生生物学报, 2012, 36(4): 665 - 680.
- [20] Sun L T, Chen G R, Chang C F. Acute response of blood parameters and comatose effects in salt-acclimated tilapias exposed to low temperatures [J]. Journal of Thermal Biology, 1995, 20(3): 299 - 306.
- [21] Fevolden S E, Roed K H, Fjalestad K. A combined salt and confinement stress enhances mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high stress responsiveness [J]. Aquaculture, 2003, 216(1-4): 67 - 76.
- [22] 许源剑, 孙敏. 环境胁迫对鱼类血液影响的研究进展 [J]. 水产科技, 2010(3): 27 - 31.
- [23] 周显青, 牛翠娟, 孙儒泳. 维生素 C 和 E 混合饲喂对中华鳖幼鳖抗酸应激能力的影响 [J]. 动物学研究, 2004, 25(1): 37 - 42.
- [24] 沈同, 王镜岩. 生物化学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1991: 206 - 209.
- [25] 刘铀, 刘艳芬, 林红英, 等. 维生素 E 对热应激肉鸡免疫及内分泌功能的影响 [J]. 中国兽医科技, 1998, 28(9): 8 - 10.
- [26] Sun Y Y, Yin Y, Zhang J F, et al. Bioaccumulation and ROS generation in liver of freshwater fish, goldfish *Carassius auratus* under HC Orange No. 1 exposure [J]. Environmental Toxicology, 2007, 22(3): 256 - 263.
- [27] 李绍钰, 张敏红, 张子仪, 等. 维生素 E、C、B₂ 对高温环境下肉鸡生产性能脂质过氧化水平的影响 [J]. 河南农业科学, 2001, 1(14): 28 - 31.
- [28] 肖涛, 王维娜, 王安利, 等. 维生素 E 对水生动物抗氧化作用的研究进展 [J]. 科学视野, 2007, 31(5): 76 - 79, 89.
- [29] 何敏. 维生素 E 对斑点叉尾鲴生长性能、免疫功能及肉质影响的机理研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- [30] 蔡中华, 邢克智, 董双林. 维生素 E 对鲤鱼健康的影响 [J]. 动物学报, 2001, 47(专刊): 120 - 124.

Effects of vitamin E on serum biochemical indexes and antioxidant capacity of *Megalobrama amblycephala* under acute high temperature stress and recovery

ZHOU Ming^{1,2}, LIU Bo^{2,3}, GE Xianping^{2,3*}, XIE Jun^{2,3}, CHEN Ruli^{2,3},
CUI Yanting^{2,3}, WAN Jinjuan^{2,3}, CUI Suli^{2,3}, H. Michael Habte-Tsion^{2,3}

(1. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;

3. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of vitamin E (V_E) on serum biochemical indices and antioxidant capacity of juvenile *Megalobrama amblycephala* under acute high temperature stress and recovery. 180 healthy fish (45.00 ± 0.50) g were selected and randomly divided into three groups: a control group was fed with basal diet, and two treatment groups fed with basal diet supplemented with 50 and 400 mg/kg V_E , respectively. Each group has four replications. After 90 days' feeding trial, all fish were exposed to high temperature stress ($32\text{ }^\circ\text{C}$) for 1 day and recovered at $25\text{ }^\circ\text{C}$ for 7 days in a controlled temperature aquarium. The results showed that the diet supplemented with 50 mg/kg V_E significantly increased the activity of intestine glutathione compared with the control group ($P < 0.05$) prior to the stress. After high temperature stress, the diet supplemented with 50 mg/kg V_E significantly decreased the levels of serum aspartate aminotransferase (ALT) activity and cortisol (COR) content at 1 d after stress, reduced the levels of serum alanine aminotransferase (AST) activity, triiodothyronine (T_3) and COR content at 7 d recovery after stress ($P < 0.05$), and improved the serum alkaline phosphatase (ALP) activity, intestine glutathione (GSH) activity and superoxide dismutase (SOD) activity at 7 d recovery after stress ($P < 0.05$) compared with the control group ($P < 0.05$). The diet supplemented with 400 mg/kg V_E significantly reduced the levels of serum ALT and intestine malonaldehyde (MDA) content at 1 day after stress and 7 d recovery after stress, COR content at 7 d recovery after stress ($P < 0.05$) and increased the levels of serum ALP and T_3 at 1 day after stress concentration compared with the control group ($P < 0.05$). So it is suggested that ingestion of a basal diet supplemented with V_E (50–400 mg/kg diet) could help regulate the change of blood lipids, improve antioxidant capacity, alleviate the change of blood biochemical parameters in high temperature stress condition, reduce lipid peroxidation, and enhance resistance against high temperature stress in *Megalobrama amblycephala*.

Key words: *Megalobrama amblycephala*; vitamin E; high temperature stress; biochemical indices; antioxidant capacity

Corresponding author: GE Xianping. E-mail: gexp@ffrc.cn