

# 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼谷胱甘肽-硫-转移酶, 谷胱甘肽过氧化物酶和 DNA 完整性的影响

董宏坡<sup>1</sup>, 陈彦<sup>1</sup>, 谢仰杰<sup>2</sup>, 王重刚<sup>1</sup>

(1. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005; 2. 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 采用不同卵磷脂添加量的配合饲料投喂花尾胡椒鲷(*Plectorhynchus cinctus*)幼鱼, 同步测定幼鱼的谷胱甘肽-硫-转移酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性以及 DNA 完整程度。结果表明, 谷胱甘肽-硫-转移酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性随着饲料中卵磷脂含量的增加而提高, 而 DNA 单链断裂程度随着饲料中卵磷脂含量的增加而减少。这提示卵磷脂能够提高鱼体的抗氧化防御系统的机能。

**关键词:** 卵磷脂; 谷胱甘肽-硫-转移酶; 谷胱甘肽过氧化物酶; DNA 完整性, 花尾胡椒鲷 (*Plectorhynchus cinctus*)

中图分类号: Q55; O624 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)04-0025-04

磷脂改善生长、存活的作用在许多不同的鱼类和甲壳类中都已经得到证实<sup>[1,2]</sup>。用添加大豆磷脂和二十二碳六烯酸(DHA)的饲料投喂真鲷(*Pagrosomus major*)仔鱼和黄盖鲷(*Limanda yokohamae*)稚鱼, 发现其对水温变化、盐度变化、低氧甚至离开水体等多种环境变化的敏感性降低, 表现出更强的生存能力<sup>[3]</sup>。Kanazawa 早在 1981 年的研究就发现, 卵磷脂降低鱼类幼体的畸形率<sup>[4]</sup>, 而这些生长的改善与一些酶的活性有关, 如细胞的渗透压调节就是靠 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶来完成的, 而渗透压调节能力对于大眼幼蟹发育到 III 期仔蟹的影响是相当关键的<sup>[5]</sup>。Chapelle 等<sup>[6]</sup>发现中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)鳃中磷脂酰丝胺酸(PS)的含量对鳃中 Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶活性调节有重要作用, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性受到饲料卵磷脂的调节<sup>[7]</sup>。饲料卵磷脂在影响鱼类幼体生长的同时, 对幼鱼的解毒酶活性是否有影响, 对鱼体防御水体污染是否有帮助尚未见报道。而在哺乳类已有许多报道, 近年来, 国内外报道了不少脂类对于抗氧化酶活性的影响, 如 Xi 和 Chen<sup>[8]</sup>的研究指出: 鱼油能有效阻止用 LP-BM5 鼠类白血病病毒感染的小鼠的谷胱甘肽过氧化物酶[Glutathione peroxidase (GPx)]活性的下降, 鱼油还提高了肝、心、肾的过氧化氢酶[Catalase (CAT)]的活性<sup>[8]</sup>。为此, 作者以花尾

胡椒鲷 (*Plectorhynchus cinctus*) 为实验对象, 用含不同卵磷脂添加量的配合饲料投喂花尾胡椒鲷幼鱼, 观察卵磷脂对其幼体相关指标的影响, 以探讨卵磷脂对幼鱼生长影响的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验用鱼

实验用花尾胡椒鲷是 2000 年 6 月在集美大学水产学院海水养殖场中人工培育的鱼苗。选用鱼苗为 65 日龄幼鱼, 体质量 466.1 mg ± 120.0 mg; 体长 33.3 mm ± 5.2 mm。

### 1.2 配合饲料喂养

共设 5 组, 每组 200 尾幼鱼, 于 400 L 水体中培养, 用充氧机充氧。分别投喂不同卵磷脂含量的配合饲料, L0, L1, L2, L3, L4 组基础成分均为 100 g

收稿日期: 2003-03-15; 修回日期: 2003-06-10

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目(139910007)

作者简介: 董宏坡(1979-), 男, 安徽宿州人, 厦门大学生物学系研究生, 专业方向: 海洋动物生物学, E-mail: Donghongpo2001@sina.com; 王重刚(1963-), 通讯作者, 副教授, 博士, 目前研究方向: 鱼类生理学和生态毒理学, E-mail: cgwang@xmu.edu.cn

(干酪素 50 g, 糊精 30 g, CMC 3 g, 复合维生素 10 g, 复合矿物质 5 g, 复合氨基酸 2 g), 大豆卵磷脂分别为 0, 2, 4, 6, 8 g。卵磷脂为 Serva 公司产品, 纯度为 98%, 各组分别设两个平行组。试验期间水温 30~32 °C, 盐度 16~17, 每天投饵 3 次, 日换水 2 次, 每次换水量为 70%, 并吸去底污及死鱼。试验进行 10 d。

### 1.3 酶液制备

幼鱼整体匀浆。用预冷的双蒸水将实验材料在玻璃匀浆器中匀浆。匀浆液于 15 000 r/min 离心 10 min, 取上清液测定酶活性。

### 1.4 酶活性测定

#### 1.4.1 酶促反应

谷胱甘肽-硫-转移酶 GST 活性的测定采用毛德寿等<sup>[9]</sup>的方法, 定义 25 °C 下, 每分钟每毫克蛋白生成 1 μmol/L 的谷胱甘肽结合物为一个 GST 活性单位。GPx 的测定方法采用荣征星等<sup>[10]</sup>1994 年的方法。定义 25 °C 下, 每分钟每毫克蛋白使谷胱甘肽下降的浓度为一个 GPx 活性单位。

#### 1.4.2 蛋白质含量的测定

采用郭敏亮等<sup>[11]</sup>1996 年报道的考马斯亮蓝显色法测定蛋白质含量。

#### 1.4.3 DNA 单链断裂程度的测定

采用 Shugart<sup>[12]</sup>1988 年的方法。提取幼鱼整体 DNA 进行测定。 $F$  表示解旋后存留的双链 DNA 比例,  $F = (X_{\text{sample}} - X_{\text{ssDNA}}) / (X_{\text{dsDNA}} - X_{\text{ssDNA}})$ ,  $X_{\text{sample}}$  为样品解旋后的荧光值,  $X_{\text{ssDNA}}$  为样品单链 DNA 的荧光值,  $X_{\text{dsDNA}}$  为样品双链 DNA 的荧光值。 $F$  值越小, 损伤程度越大。

## 2 结果

### 2.1 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼谷胱甘肽-硫-转移酶活性的影响

如图 1 所示, 幼鱼谷胱甘肽-硫-转移酶活性随着卵磷脂水平的提高而增加, L4 组最高, 为对照组的 2.28 倍。

### 2.2 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响

如图 2 所示, 幼鱼谷胱甘肽过氧化物酶活性随着卵磷脂水平的提高而增加, L4 组最高, 为对照组的 5.6 倍。

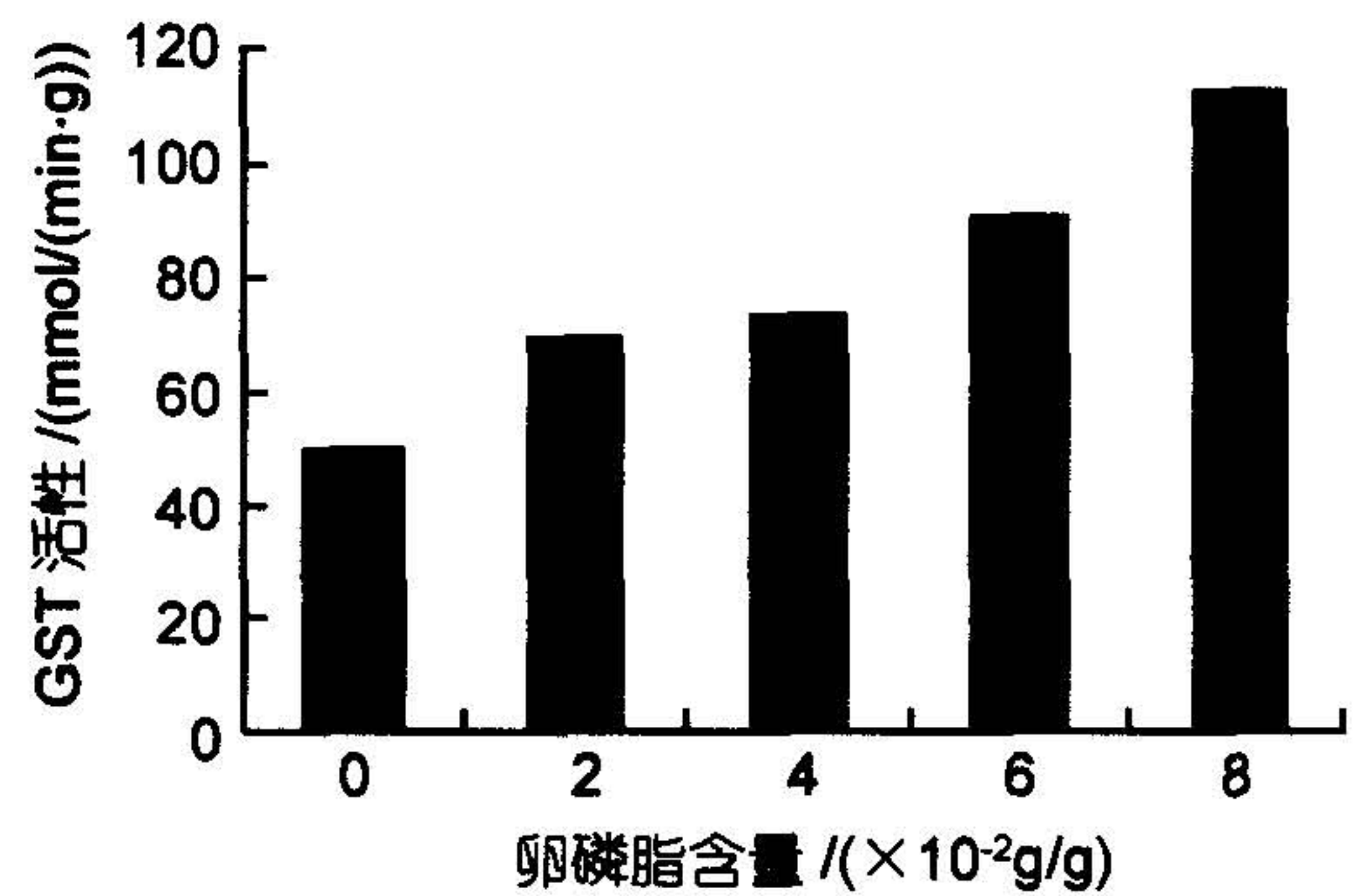


图 1 投喂卵磷脂饲料的花尾胡椒鲷幼鱼谷胱甘肽-硫-转移酶的活性

Fig.1 The glutathione s-transferases activity of juvenile *Plectorhynchus cinctus* fed a basal diet containing supplemental soy lecithin

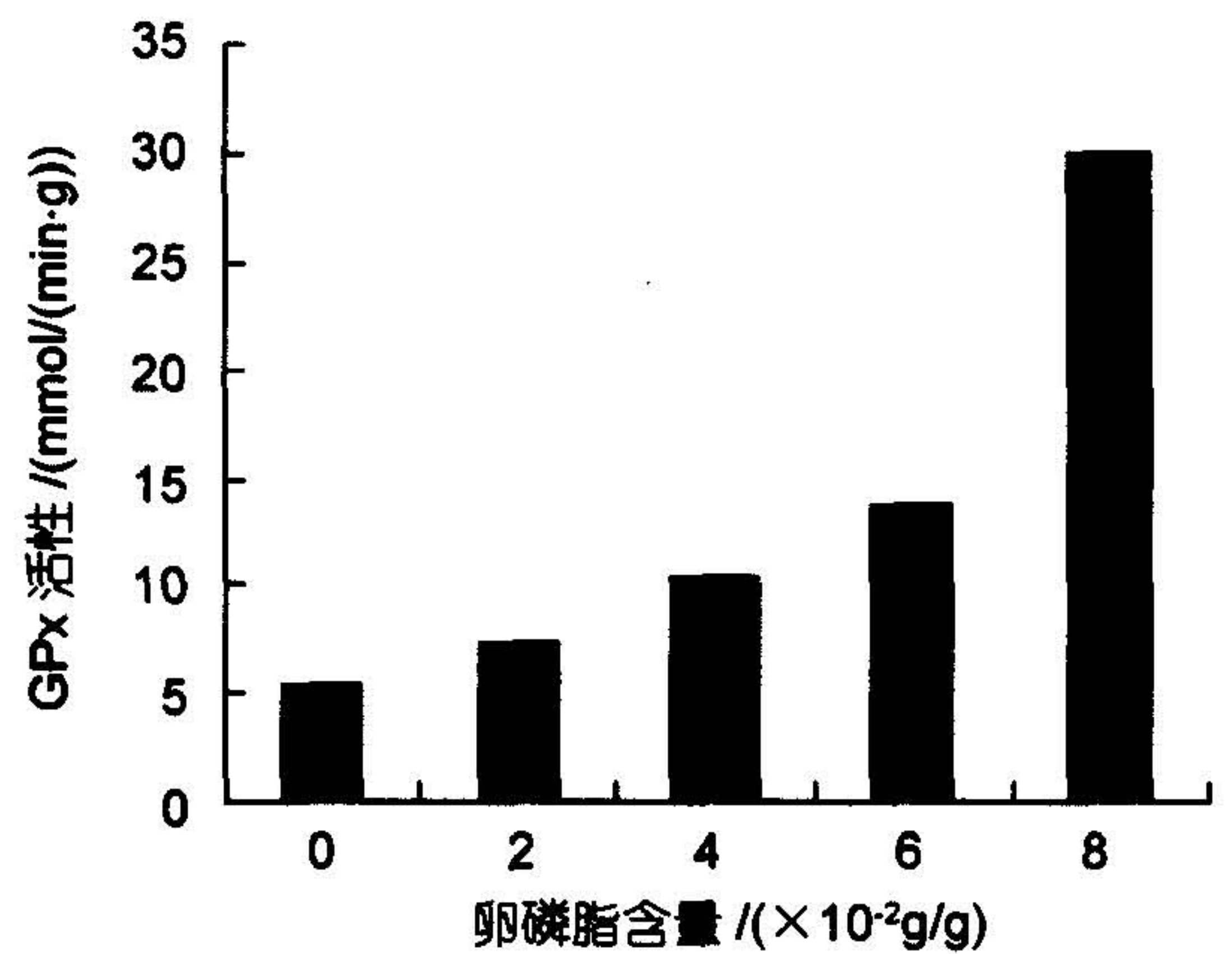


图 2 投喂添加卵磷脂人工饲料的花尾胡椒鲷幼鱼谷胱甘肽过氧化物酶的活性

Fig.2 The glutathione peroxidase activity of juvenile *Plectorhynchus cinctus* fed a basal diet containing supplemental soy lecithin

### 2.3 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼 DNA 单链断裂程度的影响

如图 3 所示, 随着卵磷脂水平的提高, 幼鱼 DNA 损伤程度下降。

## 3 讨论

GST 和 GPx 都是重要的抗氧化酶, GST 可催化 GSH 与有毒化学物结合, 成为水溶性化合物排出体外, 还可清除脂类过氧化物, 起到解毒作用。GPx 能把过氧化有机物和过氧化氢分解为乙醇和水, 在

保护组织免受氧化损伤中起重要作用。这些抗氧化酶活性可以因为化学污染物、脂质代谢和某些病理情况下被诱导升高。有关食物中脂类成分对抗氧化酶活性的影响在哺乳类中有报道,在鱼类中尚未见报道。Dolores 等<sup>[13]</sup>在控制条件下,给糖尿病的小鼠分别喂 5% 的橄榄油、向日葵油和鱼油,肠中 GST 活性出现增加<sup>[13]</sup>。用 5% 的鱼油、椰子油和玉米油分别饲喂大鼠,结果表明鱼油能有效地提高 GST 和 GPx 的活性<sup>[14]</sup>。在作者的实验中,花尾胡椒鲷幼鱼的 GST 和 GPx 活性随着饲料卵磷脂水平的提高而提高,这与在哺乳类的实验结果相似。作者同时测定幼鱼的 DNA 损伤水平。生物体在正常情况下由于水体中不可避免的污染物和体内代谢产生的自由基、光化学反应<sup>[15]</sup>等原因,表现出一定的 DNA 单链断裂水平,这一数值可以通过改变碱解旋的温度和时间而使其明显。在该实验中,幼鱼 DNA 损伤程度随饲料中卵磷脂水平的提高而减少,说明大豆卵磷脂有助于 DNA 损伤的修复。DNA 损伤程度的减少,显然与卵磷脂提高了抗氧化酶活性有关。这些结果提示卵磷脂能够提高鱼体的抗氧化防御系统的机能,有助于机体抵御化学物的污染。

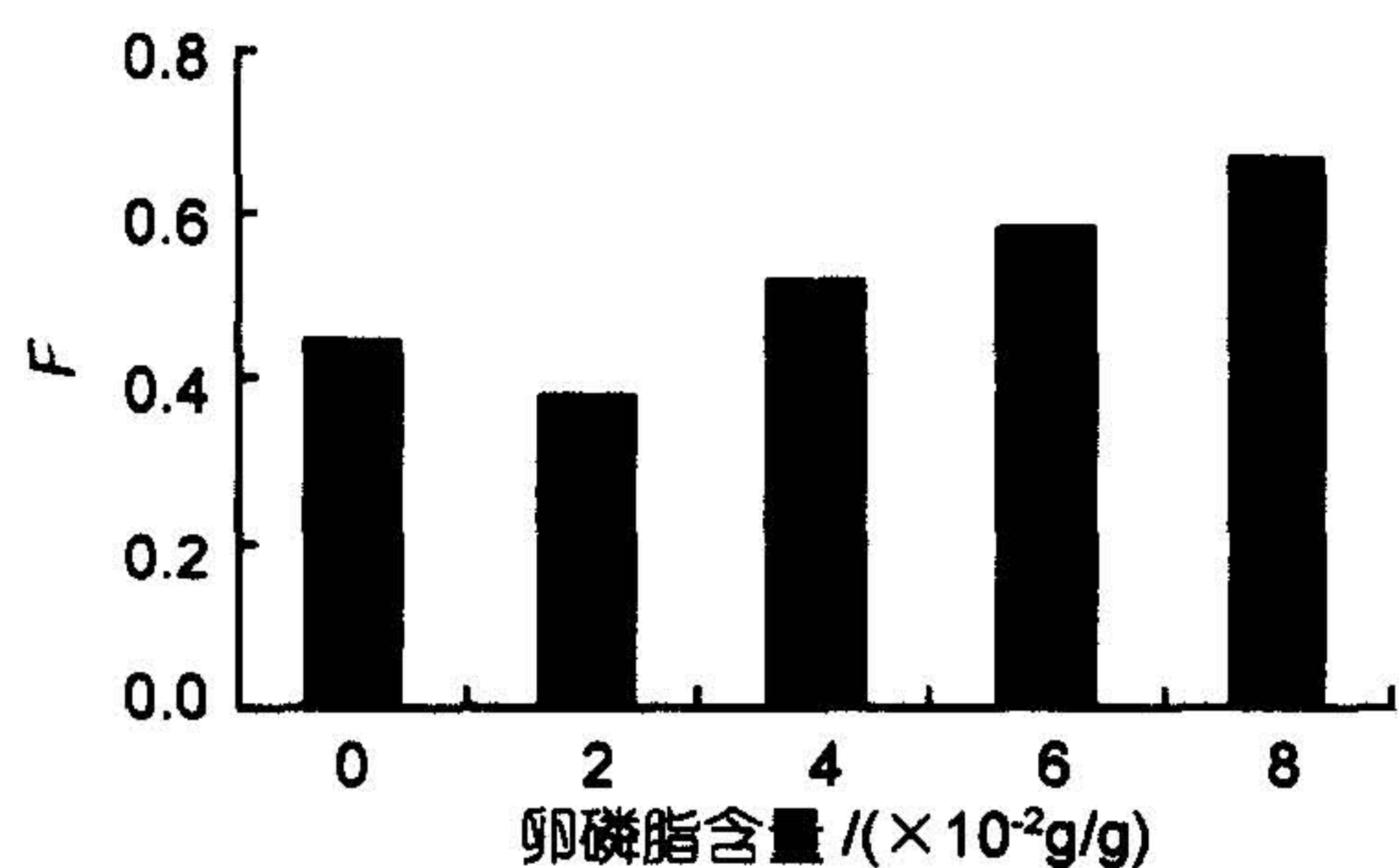


图3 投喂添加卵磷脂人工饲料的花尾胡椒鲷幼鱼 DNA 单链断裂的程度

Fig.3 The DNA damage of juvenile *Plectorhynchus cinctus* fed a basal diet containing supplemental soy lecithin

参考文献:

[1] 刘镜格. 国外仔稚幼鱼卵磷脂需要的研究[J]. 海洋科学, 1997(1): 22-24.  
 [2] Coutteau P, Geurden I, Camara M R, *et al.* Review on the

dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture[J]. *Aquaculture*, 1997, 155: 149-164.

[3] Kanazawa A. Effects of DHA and phospholipids on stress tolerance of fish[J]. *Aquaculture*, 1997, 155: 129-134.  
 [4] Kanazawa A, Teshima S, Inamori S, *et al.* Effects phospholipids on growth, survival rate and incidence of malformation in the larval ayu[J]. *Mem Fac Fish Kagoshima Univ*, 1981, 30: 301-309.  
 [5] 成永旭, 王武, 谭玉均. 盐度与钙镁离子对中华绒螯蟹大眼幼体育成III期仔蟹的成活率和生长的影响[J]. 水产学报, 1997, 21(1): 84-88.  
 [6] Chapells S, Zwingelstein G. Phospholipids composition and metabolism of crustacean gills as related to changes in environmental salinities: relationship between Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity and phospholipids[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1984, 78B: 363-372.  
 [7] 陈彦, 王重刚, 陈品健, 等. 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼 Ca<sup>2+</sup>-ATP酶和Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATP酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2002, 26(8): 54-57.  
 [8] Xi S, Chen L H. Effects of dietary fish oil on tissue Glutathione and antioxidant defense enzymes in mice with murine aids[J]. *Nutrition Research*, 2000, 20(9): 1287-1299.  
 [9] 毛德寿, 周宗灿, 王志远, 等. 环境生化毒理学[M]. 沈阳: 辽宁大学出版社, 1986. 151.  
 [10] 荣征星, 刘慧中, 鲍景奇, 等. 小鼠全血中谷胱甘肽过氧化物酶活力的微量测定法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1994, 21(4): 362-366.  
 [11] 郭敏亮, 姜涌明. 考马斯亮蓝显色液组分对蛋白质测定的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 558-561.  
 [12] Shugart L R. Quantitation of chemically induced damage to DNA of aquatic organisms by alkaline unwinding[J]. *Aquatic Toxicology*, 1988, 13: 43-52.  
 [13] Girón M D, Salto R, González Y, *et al.* Modulation of hepatic and intestinal glutathione s-transferases and other antioxidant enzymes by dietary lipids in streptozotocin diabetic rats[J]. *Chemosphere*, 1999, 38(13): 3003-3013.  
 [14] Kaur M, Kaur J, Ojha S, *et al.* Ethanol effects on lipid peroxidation and glutathione-mediated defense in rat small intestine: role of dietary fats[J]. *Alcohol*, 1998, 15(1): 65-69.  
 [15] Kohn H W. The significance of DNA-damage assays in toxicity and carcinogenicity assessment[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1983, 407: 106-118.

## **Effect of lecithin on the glutathione S-transferase, glutathione peroxidase activities and DNA integrity of juvenile *Plectorhynchus cinctus***

DONG Hong-po<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, XIE Yang-jie<sup>2</sup>, WANG Chong-gang<sup>1</sup>

(1. School of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. School of Aquaculture, Jimei University, Xiamen 361027, China)

**Received:** Mar., 15, 2003

**Key words:** lecithin; glutathione S-transferase; glutathione peroxidase; DNA integrity; *Plectorhynchus cinctus*

**Abstract:** The experiment was conducted to determine the effects of supplemental lecithin in the diet on juvenile *Plectorhynchus cinctus*. Five isocaloric diets were formulated by the addition of different levels (0,2,4,6,8g/100g diet) of soybean lecithin. The diets were fed to the five groups of juvenile *Plectorhynchus cinctus* for ten days. The glutathione S-transferase (GST) and glutathione peroxidase (GPx) activities, DNA integrity of juvenile *Plectorhynchus cinctus* were assayed simultaneously.

The results indicated that the GST and GPx activities were elevated with increasing of lecithin levels in the diets, the extent of DNA single breaks decreased with the increasing of lecithin levels in the diets. This suggested that lecithin would enhance the function of the antioxidant defend system in the fish.

(本文编辑: 张培新)