

doi: 10.7541/2015.32

## 大黄鱼幼鱼对饲料硒的需求量

曹娟娟<sup>1</sup> 张文兵<sup>1</sup> 徐 玮<sup>1</sup> 麦康森<sup>1</sup> 孙瑞健<sup>1,2</sup>

(1. 中国海洋大学水产动物营养与饲料农业部重点实验室, 海水养殖教育部重点实验室, 青岛 266003;

2. 通威股份有限公司技术中心, 成都 610041)

**摘要:** 为确定大黄鱼(*Larimichthys croceus*)对饲料硒的需求量, 以  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  为饲料硒源, 配制 6 种饲料, 硒的添加水平分别为 0(对照组)、0.05、0.2、0.4、0.6 和 0.9 mg/kg, 实测值分别为 0.08、0.16、0.27、0.44、0.66 和 0.96 mg/kg。在海水浮式网箱中养殖初始体重为  $(9.14 \pm 0.09)$  g 的大黄鱼幼鱼 10 周, 结果表明增重率(WG)、全鱼和骨骼中的硒含量随着饲料硒含量的升高而显著升高( $P < 0.05$ )。当饲料硒含量分别超过 0.27、0.66、0.66 mg/kg 时, 这些指标的变化趋于平稳。饲料硒含量对存活率(SR)、饲料效率(FE)、体组成、肝体比(HSI)、脏体比(VSI)和肥满度(CF)都没有显著影响( $P > 0.05$ )。在血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性和总抗氧化力(T-AOC)随着饲料硒含量的升高呈现先升高后稳定的趋势( $P < 0.05$ ), 并分别在饲料硒含量为 0.44、0.44、0.16 mg/kg 时达到最大值。肝脏中 GPX 活性、SOD 活性、T-AOC、过氧化氢酶(CAT)活性和谷胱甘肽还原酶(GR)活性与血清中相应酶的活性有相同的趋势。在肝脏中谷胱甘肽硫转移酶(GST)活性随着饲料硒含量的升高呈现先降低后升高的趋势( $P < 0.05$ ), 并在饲料硒含量最高(0.96 mg/kg)时其活力取得最大值。以 WG 为评价指标, 得出大黄鱼幼鱼对饲料中硒的需求量为 0.178 mg/kg。以全鱼和骨骼中硒含量、肝脏 GPX 活性为评价指标, 得出大黄鱼幼鱼对饲料中硒的最小需求量分别为 0.575、0.387 和 0.440 mg/kg。

**关键词:** 大黄鱼; 硒; 生长; 抗氧化; 需求量

中图分类号: S963.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2015)02-0241-09

硒是动物所必需的微量元素, 在生长、免疫、抗氧化和维持体内元素平衡等方面发挥着重要作用, 因而被广泛关注<sup>[1, 2]</sup>。硒的生物学活性、功能及作用机理在陆生脊椎动物上已有系统研究, 但在水生动物中的研究还很少, 只有少数水生动物的硒的营养需求和代谢反应有所报道, 包括虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[3]</sup>、斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*)<sup>[4]</sup>、石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)<sup>[2]</sup>、鲈(*Lateolabrax japonicus*)<sup>[5]</sup>、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)<sup>[6]</sup>和皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)<sup>[7]</sup>等。

大黄鱼(*Larimichthys croceus*)是我国特有的重要海水经济鱼类, 2012 年全国养殖产量达到  $0.95 \times 10^8$  kg, 位居我国海水养殖鱼类产量第三<sup>[8]</sup>。然而,

目前大黄鱼的养殖还主要依赖投喂冰鲜鱼, 这导致了资源浪费、环境污染和疾病频发等一系列问题, 配合饲料的普及率尚不足 20%。大黄鱼专用配合饲料的研制和推广亟需开展。营养均衡的配合饲料是建立在相关的营养研究基础上的, 近年来, 已有较多关于大黄鱼营养研究的报道, 主要涉及蛋白质和氨基酸<sup>[9-12]</sup>、脂肪<sup>[13, 14]</sup>等的营养需求。关于大黄鱼矿物元素营养的报道有磷、铁和锌, 其需求量分别 0.89%—0.91%<sup>[15]</sup>、101.2 mg/kg<sup>[16]</sup>、59.6—84.6 mg/kg<sup>[17]</sup>。本研究拟通过配制含不同梯度硒的饲料养殖大黄鱼, 结合生长和生理指标确定饲料硒的最适需求量, 为大黄鱼高效配合饲料的开发提供基础数据。

收稿日期: 2014-04-04; 修订日期: 2014-06-18

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项经费项目(编号: 201003020, 200903029)资助

作者简介: 曹娟娟(1986—), 女, 山东济宁人; 硕士; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: caojuan2010\_cool@126.com

通信作者: 张文兵, 教授; E-mail: wzhang@ouc.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

实验饲料配方及组成见表 1。以酪蛋白、明胶和鱼肉浓缩蛋白为蛋白源, 鱼油、卵磷脂为脂肪源, 糊精为糖源, 配制等氮(粗蛋白含量 47%)、等脂(粗脂肪含量 9%)的半精制饲料。以  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  (Ruibio) 为饲料硒源, 配制 6 种饲料。硒的添加水平分别为 0(对照组)、0.05、0.2、0.4、0.6 和 0.9 mg/kg, 实测值分别为 0.08、0.16、0.27、0.44、0.66 和 0.96 mg/kg。饲料制作前, 所有原料经粉碎后过 80 目筛网, 各原

料混合均匀后加入鱼油和卵磷脂搓匀, 随后加适量的水揉匀, 经 F(II)-26 型双螺杆挤条机(华南理工大学, 广州)加工制成粒径为 3 mm×5 mm 的颗粒饲料。然后置于 45 °C 鼓风烘箱烘干至水分含量 10% 以下, 并用塑料袋包装后保存于 -20 °C 冰箱中备用。

### 1.2 养殖管理

实验用大黄鱼幼鱼购自福建宁德市富发水产有限公司, 采用当年孵化的同一批鱼苗, 在海水浮式网箱中进行养殖实验。养殖实验开始前, 所有大黄鱼暂养在尺寸为 3.0 m×3.0 m×3.0 m 网箱中, 用商业饲料饲养 2 周, 使实验鱼适应颗粒饲料和养殖环境。

表 1 实验饲料配方(%干重)  
Tab. 1 The composition of the experimental diets (% dry matter)

饲料成分 Ingredient	饲料编号 Diet number					
	饲料-1	饲料-2	饲料-3	饲料-4	饲料-5	饲料-6
酪蛋白(不含维生素) Casein, vitamin-free <sup>a</sup>	30	30	30	30	30	30
明胶 Gelatin	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
鱼肉浓缩蛋白 Fish protein concentrate	10	10	10	10	10	10
糊精 Dextrin	25	25	25	25	25	25
鱼油 Fish oil	9	9	9	9	9	9
卵磷脂 Lecithin	3	3	3	3	3	3
多维 Vitamin premix <sup>b</sup>	2	2	2	2	2	2
多矿(不添加硒)Mineral premix, Se-free <sup>c</sup>	1	1	1	1	1	1
诱食剂 Attractant	1	1	1	1	1	1
牛磺酸 Taurine	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
丙酸钙 Calcium propionate	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate	1	1	1	1	1	1
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	9.85	9.85	9.85	9.85	9.85	9.85
<b>饲料成分分析 Proximate composition</b>						
粗蛋白 Crude protein (%)	47.6	47.2	47.8	47.7	47.3	47.9
粗脂肪 Crude lipid (%)	9.8	9.5	9.9	9.8	9.6	9.4
水分 Moisture (%)	8.8	8.0	8.1	7.9	7.5	7.5
灰分 Ash (%)	2.6	2.5	2.6	2.3	2.4	2.3
硒 Selenium (mg/kg)	0.08	0.16	0.27	0.44	0.66	0.96

注: <sup>a</sup>酪蛋白(不含维生素): 粗蛋白 92.24%, 粗脂肪 0.84% (Sigma Chemical, St. Louis, MO., USA); <sup>b</sup>多维(mg/kg 饲料): 维生素 A 醋酸酯, 32; 维生素 D<sub>3</sub>, 5; 甲基萘醌亚硫酸氢钠, 5.1;  $\alpha$ -生育酚, 120; 维生素 B<sub>1</sub>, 25; 核黄素, 36.7; 维生素 B<sub>6</sub>, 20; 维生素 B<sub>12</sub>, 0.1; D-泛酸钙, 60; 盐酸, 200; 叶酸, 20; 生物素, 1.2; 肌醇, 792; 维生素 C, 2000; 氯化胆碱, 4000; 微晶纤维素, 12683; <sup>c</sup>多矿(不添加硒) (mg/kg 饲料):  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1826;  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 9.8;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 119;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 76;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 44;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 2;  $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 2.35; 微晶纤维素, 7920

Note: <sup>a</sup>Casein, vitamin-Free: crude protein 92.24%, crude lipid 0.84% (Sigma Chemical, St. Louis, MO., USA); <sup>b</sup>Vitamin premix (mg/kg diet): retinol acetate, 32; cholecalciferol, 5; menadione sodium bisulfite, 5.1;  $\alpha$ -tocopherol, 120; thiamin-HCl, 25; riboflavin, 36.7; pyridoxine-HCl, 20; vitamin B<sub>12</sub>, 0.1; D-pantothenic acid calcium, 60; niacin acid, 200; folic acid, 20; biotin, 1.2; inositol, 792; ascorbic acid, 2000; choline chloride, 4000; microcrystalline cellulose, 12683; <sup>c</sup>Mineral premix, selenium-free (mg/kg diet):  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1826;  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 9.8;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 119;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 76;  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 44;  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 2;  $\text{Ca}(\text{IO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 2.35; microcrystalline cellulose, 7920

实验开始前, 所有大黄鱼饥饿 24h, 然后称重, 随机挑选规格相似[平均初始重量: (9.14±0.09) g]、体格健壮的大黄鱼随机分配到 18 个尺寸为 1.5 m×1.5 m×2.0 m 的网箱中, 每个网箱放养 60 尾, 每个处理组设 3 个重复。在实验过程中, 每天饱食投喂 2 次, 投喂时间分别是 05:00 和 17:30, 养殖周期是 10 周。在整个养殖过程中, 海水温度是 22—29.5℃, 盐度 25‰—28‰, 溶解氧在 7 mg/L 左右。定期取海水样测其中硒含量, 没有检测到硒。

### 1.3 样品收集和分析

在养殖实验结束后, 所有的实验鱼饥饿 24h, 然后对每个网箱中的鱼计数、称重, 计算增重率(WG)和存活率(SR)。每个网箱中随机取 5 尾鱼保存在-20℃冰箱中, 用于测定全鱼体组成(水分、灰分、粗脂肪、粗蛋白)和鱼体中硒含量。另从每个网箱中随机取 12 尾鱼, 测量体长、体重, 用于计算肥满度。随后立即从尾静脉取血放置在 4℃冰箱中静置过夜, 随后 3000 r/min 离心 15min, 将所得血清分装到 0.5 mL 离心管中, 用于测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活性和总抗氧化力(T-AOC)。取血后的鱼分别取肝脏和内脏并称重, 计算肝体比(HSI)和脏体比(VSI)。另从每个网箱中随机取 6 尾鱼, 测定肝脏中 SOD、GPX、谷胱甘肽硫转移酶(GST)、谷胱甘肽还原酶(GR)和过氧化氢酶(CAT)活性, 以及 T-AOC。取肝脏后的鱼保存于-20℃, 用来测定骨骼中硒含量。

全鱼和饲料中常规成分的测定方法采用 AOAC<sup>[18]</sup>的标准方法。全鱼和骨骼中的硒含量采用

氢化物原子荧光光谱法(HG-AFS)测定。采用相应的试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定血清和肝脏中上述酶的活性和 T-AOC。

### 1.4 计算和统计分析

增重率(WG, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100

存活率(SR, %)=(实验鱼终末尾数/实验鱼初始尾数)×100

饲料效率(FE)=(终末体重-初始体重)/摄食饲料重量

肝体比(HSI, %)=(肝脏重量/鱼体重量)×100

脏体比(VSI, %)=(内脏重量/鱼体重量)×100

肥满度(CF, %)=(鱼体重量/鱼体体长<sup>3</sup>)×100

所有数据采用平均值±标准差( $n=3$ )表示。运用 SPSS 17.0 分析软件进行单因素方差分析(ANOVA), 当达到差异显著( $P<0.05$ )时, 用 Tukey 检验比较不同处理组间差异。利用折线模型对 WG、全鱼、骨骼中硒含量和肝脏 GPX 活性进行分析<sup>[19]</sup>, 以确定大黄鱼对饲料中硒的需求量。

## 2 结果

### 2.1 生长和饲料利用

大黄鱼生长状况和饲料利用情况见表 2。饲料中硒含量对大黄鱼的终末体重和 WG 有显著影响( $P<0.05$ )。当饲料硒含量从 0.08 mg/kg 上升到 0.27 mg/kg 时, WG 逐渐升高, 之后趋于稳定。对 WG 进行折线模型回归分析, 得出大黄鱼饲料中最适硒含量为 0.178 mg/kg (图 1)。

表 2 饲料硒对大黄鱼增重率、存活率和饲料效率的影响

Tab. 2 Effects of dietary Se on the weight gain ratio, survival rate and feed efficiency of juvenile large yellow croaker

饲料硒含量 Dietary Se levels (mg/kg)	鱼体初重 Initial body weight IBW (g)	鱼体末重 Final body weight FBW (g)	增重率 Weight gain rate WG (%)	存活率 Survival rate SR (%)	饲料效率 Feed efficiency ratio FE
0.08	9.18±0.04	29.82±0.83 <sup>a</sup>	225.48±9.84 <sup>a</sup>	75.24±5.77	0.76±0.04
0.16	9.15±0.01	32.79±0.47 <sup>b</sup>	255.51±7.02 <sup>ab</sup>	82.38±4.36	0.80±0.07
0.27	9.17±0.02	33.50±1.23 <sup>b</sup>	265.41±12.65 <sup>b</sup>	78.10±3.60	0.80±0.02
0.44	9.15±0.03	33.09±0.69 <sup>b</sup>	261.72±13.23 <sup>b</sup>	79.52±4.59	0.78±0.04
0.66	9.15±0.01	32.91±1.34 <sup>b</sup>	259.71±14.91 <sup>b</sup>	76.67±4.36	0.81±0.03
0.96	9.17±0.01	33.17±0.43 <sup>b</sup>	261.71±4.27 <sup>b</sup>	76.19±5.41	0.80±0.10
单因素方差分析 ANOVA					
F 值	1.380	4.480	4.228	0.941	0.334
P 值	0.299	0.021	0.025	0.504	0.833

注: 平均值±标准差,  $n=3$ ; 同一列有相同上标字母的数值表示差异不显著( $P>0.05$ ); 下同

Note: Mean±SD,  $n=3$ ; Values in the same column sharing a common superscript letter were not significantly different ( $P>0.05$ ); the same applies below

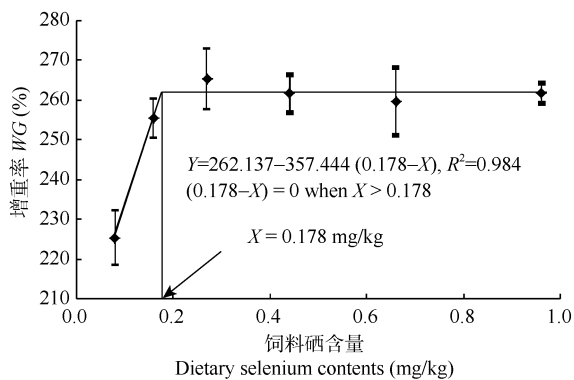


图1 饲料硒含量与增重率(WG)之间关系的折线模型分析

Fig. 1 The broken-line analysis of the relationship between dietary selenium contents and weight gain rate (WG)

饲料中硒含量对大黄鱼的SR和FE没有显著影响( $P>0.05$ )。SR的值为75.24%—82.38%, FE的值为0.76—0.81。

## 2.2 体组成

大黄鱼体组成情况见表3。饲料硒含量对大黄鱼全鱼水分、粗蛋白、粗脂肪和灰分都没有显著影响( $P>0.05$ )。全鱼水分含量为72.66%—73.55%, 全鱼

粗蛋白含量为16.25%—16.94%, 全鱼粗脂肪含量为7.76%—8.07%, 全鱼灰分含量为3.42%—3.58%。

## 2.3 形体指标

鱼体肝体比、脏体比和肥满度等形体指标没有受到饲料硒含量的显著影响( $P>0.05$ ) (表4)。肝体比的数值为1.24%—1.36%, 脏体比的数值为3.04%—3.57%, 肥满度的数值为1.61—1.66。

## 2.4 组织硒含量

饲料硒含量对大黄鱼体内组织中硒含量的影响结果见表5。饲料硒含量为0.08—0.66 mg/kg时, 全鱼硒含量随着饲料硒含量的升高而升高。在饲料硒含量为0.66—0.96 mg/kg时, 全鱼硒含量趋于平稳, 并在饲料硒含量为0.66 mg/kg时取得最大值。骨骼中硒含量与饲料硒含量之间的关系和全鱼硒含量有相同的趋势, 也在饲料硒含量为0.66 mg/kg时取得最大值。对全鱼中硒含量和骨骼中硒含量进行折线回归模型分析, 得出大黄鱼幼鱼对饲料硒的最小需求量分别为0.575 mg/kg (图2)和0.387 mg/kg (图3)。

表3 饲料硒对大黄鱼体组成的影响

Tab. 3 Effects of dietary Se on the whole-body compositions of juvenile large yellow croaker

饲料硒含量 Dietary Se levels (mg/kg)	水分 Moisture (%)	粗蛋白 Crude protein (%)	粗脂肪 Crude lipid (%)	灰分 Ash (%)
0.08	72.66±1.32	16.94±0.60	7.76±0.90	3.58±0.14
0.16	73.50±0.77	16.62±0.10	8.07±0.68	3.44±0.09
0.27	73.48±1.30	16.25±0.32	7.84±0.64	3.42±0.11
0.44	73.55±0.87	16.78±0.63	8.05±0.85	3.42±0.07
0.66	73.54±0.88	16.33±0.20	7.95±0.46	3.47±0.12
0.96	73.54±1.58	16.84±0.53	7.99±1.17	3.55±0.07
单因素方差分析 ANOVA				
F 值	0.516	2.332	0.137	2.900
P 值	0.792	0.068	0.982	0.300

表4 饲料硒对大黄鱼形体指标的影响

Tab. 4 Effects of dietary Se on the body indexes of juvenile large yellow croaker

饲料硒含量 Dietary Se levels (mg/kg)	肝体比 Hepatosomatic index HSI (%)	脏体比 Viscerosomatic index VSI (%)	肥满度 Condition factor CF (%)
0.08	1.28±0.18	3.40±0.65	1.61±0.14
0.16	1.24±0.25	3.04±0.50	1.62±0.14
0.27	1.36±0.21	3.57±0.59	1.66±0.13
0.44	1.34±0.28	3.57±0.56	1.62±0.13
0.66	1.29±0.19	3.45±0.45	1.65±0.13
0.96	1.31±0.18	3.48±0.49	1.65±0.17
单因素方差分析 ANOVA			
F 值	0.426	2.006	0.738
P 值	0.828	0.086	0.596

表 5 饲料硒对大黄鱼体内硒含量的影响  
Tab. 5 Effects of dietary Se on the Se concentrations in juvenile large yellow croaker

饲料硒含量 Dietary Se levels (mg/kg)	全鱼中硒含量 Whole-body Se concentration (mg/kg)	骨骼中硒含量 Vertebrae Se concentration (mg/kg)
0.08	1.32±0.15 <sup>a</sup>	1.20±0.20 <sup>a</sup>
0.16	1.66±0.34 <sup>a</sup>	1.58±0.26 <sup>a</sup>
0.27	1.76±0.32 <sup>ab</sup>	2.43±0.55 <sup>b</sup>
0.44	2.22±0.21 <sup>bc</sup>	3.01±0.39 <sup>bc</sup>
0.66	2.54±0.23 <sup>c</sup>	3.19±0.47 <sup>c</sup>
0.96	2.51±0.26 <sup>c</sup>	3.26±0.33 <sup>c</sup>

单因素方差分析 ANOVA

F 值	18.146	25.822
P 值	<0.001	<0.001

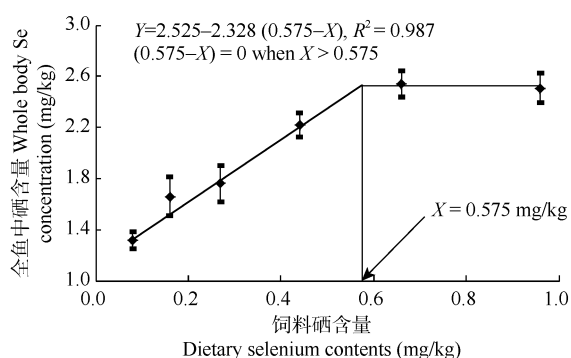


图 2 饲料硒含量和全鱼中硒含量之间关系的折线模型分析

Fig. 2 The broken-line analysis of the relationship between dietary selenium contents and the whole-body Se concentrations

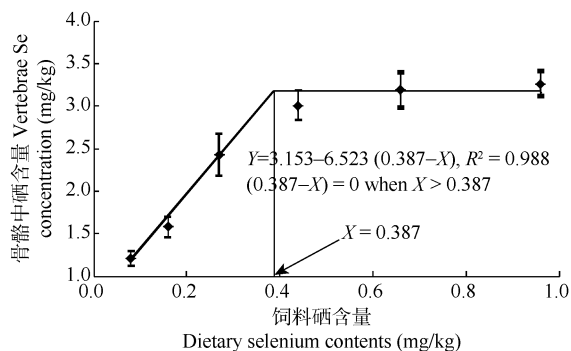


图 3 饲料硒含量和骨骼中硒含量之间关系的折线模型分析

Fig. 3 The broken-line analysis of the relationship between dietary selenium contents and the vertebrae Se concentrations

## 2.5 血液和肝脏指标

饲料硒含量对血清中各检测酶活性的影响结果见表 6。在饲料中不添加硒的处理组, GPX 活性和 T-AOC 最低。二者随着饲料硒含量的增加而显著升高( $P<0.05$ ), 随后保持稳定, 并分别在饲料硒含量为 0.44 mg/kg 和 0.27 mg/kg 时取得最大值。血清 SOD 活性随着饲料硒含量的升高呈现先升高后降低的趋势( $P<0.05$ ), 饲料硒含量最高(0.96 mg/kg)处理组中血清 SOD 活性最低。

由表 7 可知, 当饲料硒含量为 0.08—0.44 mg/kg 时, 肝脏中 GPX 和 GR 的活性随着饲料硒含量的增加而显著升高( $P<0.05$ )。当饲料硒含量达到 0.66 mg/kg 时, GPX 活性保持平稳, 而 GR 活性显著降低。当饲料硒含量为 0.08—0.27 mg/kg 时, 肝脏中 SOD、T-AOC 活性随着饲料硒含量的增加显著升高( $P<0.05$ )。当饲料硒含量 0.44—0.96 mg/kg 时, T-AOC 不再升高并出现平台期, SOD 活性先下降后达到平台期。肝脏中 GST 活性随着饲料硒含量的升高呈现先下降后上升的趋势( $P<0.05$ )。在饲料硒含量为 0.96 mg/kg 时, GST 活性取得最大值。肝脏中 CAT 活性随着饲料硒含量的升高呈现先上升后降低的趋势( $P<0.05$ ), 在硒含量为 0.16 mg/kg 时 CAT 活性有最大值。对肝脏中 GPX 活性进行折线回归模型分析, 得出大黄鱼幼鱼对饲料硒的最小需求量为 0.440 mg/kg (图 4)。

## 3 讨论

### 3.1 饲料中硒含量对大黄鱼幼鱼生长状况的影响

本研究结果表明, 在饲料中添加硒对养殖大黄鱼的生长和维持正常生理功能是必要的。以增重率为评价指标得出大黄鱼幼鱼对饲料硒的需求量为 0.178 mg/kg (图 1), 与在斑点叉尾鲷(0.25 mg/kg)<sup>[4]</sup>、虹鳟(0.28 mg/kg)<sup>[20]</sup>中的研究结果一致。然而石斑鱼、军曹鱼(*Rachycentron canadum* L.)和草鱼对饲料硒的需求量分别为 0.7<sup>[2]</sup>、0.788<sup>[21]</sup>和 0.631 mg/kg<sup>[6]</sup>, 比本研究中的需求量稍高。不同鱼类对饲料硒的耐受能力有差异, 当虹鳟<sup>[3]</sup>长时间投喂含硒量为 13 mg/kg 的饲料时, 会出现慢性中毒现象, 具体表现为生长减缓、饲料效率降低和死亡率升高等。根据 Gatlin 和 Wilson<sup>[4]</sup>、Tashjian 等<sup>[22]</sup>的报道, 鱼类对饲料中硒

表 6 饲料硒对大黄鱼血清中酶活性的影响  
Tab. 6 Effects of dietary Se on the activities of the enzymes in serum of juvenile large yellow croaker (mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ )

饲料硒含量 Dietary Se levels (mg/kg)	谷胱甘肽过氧化物酶 Glutathion peroxidase GPX (U/mL)	超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase OD (U/mL)	总抗氧化力 The total antioxidant capacity T-AOC (U/mL)
0.08	55.85 $\pm$ 10.96 <sup>a</sup>	134.42 $\pm$ 2.82 <sup>b</sup>	0.73 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
0.16	59.51 $\pm$ 8.73 <sup>ab</sup>	137.23 $\pm$ 3.56 <sup>b</sup>	2.35 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>
0.27	69.54 $\pm$ 8.59 <sup>ab</sup>	152.33 $\pm$ 4.87 <sup>d</sup>	2.66 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>
0.44	77.80 $\pm$ 5.96 <sup>b</sup>	144.68 $\pm$ 3.70 <sup>c</sup>	2.56 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>
0.66	76.59 $\pm$ 3.46 <sup>ab</sup>	132.65 $\pm$ 4.41 <sup>b</sup>	2.57 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>
0.96	76.83 $\pm$ 6.38 <sup>ab</sup>	124.08 $\pm$ 4.91 <sup>a</sup>	2.53 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>
单因素方差分析 ANOVA			
<i>F</i> 值	4.610	34.344	77.798
<i>P</i> 值	0.014	<0.001	<0.001

表 7 饲料硒对大黄鱼肝脏中酶活性的影响  
Tab. 7 Effects of dietary Se on the activities of the enzymes in liver of juvenile large yellow croaker

饲料硒含量 Dietary Se levels (mg/kg)	谷胱甘肽 过氧化物酶 Glutathion peroxidase GPX (U/mg prot.)	超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase SOD (U/mg prot.)	总抗氧化力 The total antioxidant capacity T-AOC (U/mg prot.)	谷胱甘肽-S 转移酶 Glutathione S-transferase GST (U/mg prot.)	谷胱甘肽还原酶 Glutathione reductase GR (U/g prot.)	过氧化氢酶 Catalase CAT (U/mg prot.)
0.08	1.93 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	59.75 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>	0.49 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	29.04 $\pm$ 6.21 <sup>ab</sup>	16.79 $\pm$ 3.01 <sup>a</sup>	76.18 $\pm$ 2.82 <sup>ab</sup>
0.16	2.87 $\pm$ 0.73 <sup>ab</sup>	70.18 $\pm$ 3.14 <sup>bc</sup>	0.52 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	23.71 $\pm$ 3.67 <sup>a</sup>	18.00 $\pm$ 1.87 <sup>ab</sup>	97.92 $\pm$ 3.56 <sup>b</sup>
0.27	3.56 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	71.75 $\pm$ 3.15 <sup>c</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	23.34 $\pm$ 3.54 <sup>a</sup>	19.22 $\pm$ 1.27 <sup>ab</sup>	91.88 $\pm$ 4.87 <sup>b</sup>
0.44	6.53 $\pm$ 0.55 <sup>c</sup>	65.96 $\pm$ 2.82 <sup>b</sup>	0.53 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	27.10 $\pm$ 8.11 <sup>ab</sup>	23.37 $\pm$ 2.76 <sup>b</sup>	65.41 $\pm$ 3.70 <sup>ab</sup>
0.66	6.06 $\pm$ 0.88 <sup>c</sup>	68.34 $\pm$ 2.24 <sup>bc</sup>	0.53 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	28.52 $\pm$ 0.65 <sup>ab</sup>	14.13 $\pm$ 1.04 <sup>a</sup>	56.19 $\pm$ 4.41 <sup>a</sup>
0.96	5.77 $\pm$ 0.82 <sup>c</sup>	67.78 $\pm$ 1.79 <sup>bc</sup>	0.54 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	38.61 $\pm$ 6.16 <sup>c</sup>	17.83 $\pm$ 0.96 <sup>a</sup>	81.61 $\pm$ 4.91 <sup>ab</sup>
单因素方差分析 ANOVA						
<i>F</i> 值	68.178	15.910	3.864	3.286	7.052	6.610
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	0.008	0.042	0.030	0.020

毒性的阈值是 10—20 mg/kg。由此可以看出, 鱼类对饲料硒的敏感度不同, 再加上养殖模式、管理方式和生活状态等的不同, 导致不同鱼类对饲料硒的需求量有所差异。

### 3.2 饲料硒含量对大黄鱼体内硒含量的影响

动物机体中营养元素的含量, 是估计机体需要量的一个重要指标<sup>[23]</sup>。在本研究中, 随着饲料硒含量的增加, 全鱼和骨骼中硒含量也随之增加(图 3、图 4)。虹鳟<sup>[3]</sup>的肾脏、肝脏和全鱼的硒含量, 以及斑点叉尾鲴<sup>[4]</sup>肌肉中的硒含量均随着饲料硒含量的增加出现显著升高的趋势, 和本研究结果一致。Elia 等<sup>[24]</sup>对鲤(*Cyprinus carpio*)的研究发现, 在投喂硒含量为 0.25 和 1 mg/kg 的饲料 60d 后, 硒含量为 1 mg/kg 的饲料对应鲤肾脏中有最高的硒累积量。在肾脏、肝脏和肌肉这三个组织中累积硒的能力依次为: 肾脏 > 肝脏 > 肌肉。这与 Hamilton<sup>[25]</sup>报道的肝

脏和肾脏是硒的主要累积位点的研究结果一致。在其他鱼类的研究中也发现了这种现象。Lin 和 Shiau<sup>[2]</sup>对石斑鱼的研究表明, 当饲料硒含量为 4 mg/kg 时, 肝脏中硒含量最高, 其次是硒含量为 2.02 mg/kg 的饲料组, 然后是硒含量为 1.38 mg/kg 的饲料组, 基础饲料组中(0.21 mg/kg)肝脏硒含量最低。以全鱼和骨骼中硒含量为评价指标, 通过折线模型分析, 大黄鱼幼鱼对饲料中硒的最小需求量分别为 0.575 mg/kg (图 2)和 0.387 mg/kg(图 3)。

### 3.3 饲料硒含量对大黄鱼血清和肝脏中抗氧化酶活性的影响

硒对体内抗氧化酶活性的影响在其他鱼类的研究中已有报道, 主要包括罗非鱼(*Oreochromis spp.*)<sup>[26]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio* L.)<sup>[27]</sup>、石斑鱼<sup>[2]</sup>、石脂鲤(*Brycon cephalus*)<sup>[28]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[29]</sup>和鲫(*Carassius auratus gibelio*)<sup>[30]</sup>等。SOD 可以催化超氧

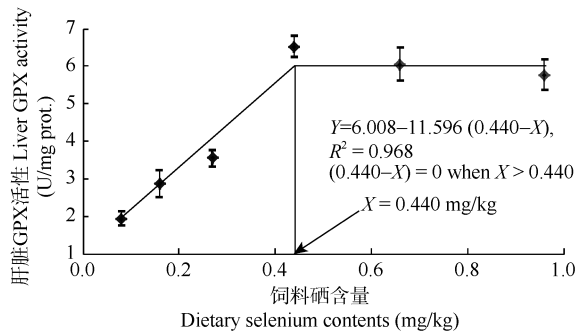


图4 饲料硒含量和肝脏中 GPX 活性之间关系的折线模型分析  
Fig. 4 The broken-line analysis of the relationship between dietary selenium contents and the GPX activity in liver

阴离子形成  $H_2O_2$  和  $O_2$ , 随后  $H_2O_2$  在 GPX 和 CAT 的作用下分解生成水和氧气。在本研究中肝脏 SOD 和 CAT 活性随着饲料中硒含量的升高而升高, 当饲料中硒含量超过 0.27 mg/kg 时两者都达到平台期, 这可能是由于肝脏中这两种酶活性的升高, 抵消了高含量的硒诱导的促氧化反应<sup>[24]</sup>。硒是 GPX 的重要组成部分, 在  $H_2O_2$  和脂质过氧化物的分解中有着重要的作用。在本研究中肝脏 GPX 活性随着饲料硒含量的升高而升高, 组织中高水平的硒能诱导 GPX 的活性, 增强解毒能力, 能抵抗  $H_2O_2$  带来的损害<sup>[24]</sup>。维持 GPX 的最佳活性需要在饲料中添加硒, 然而硒含量过高或者过低都会导致脂质过氧化物水平增加。Wang 等<sup>[30]</sup>对鲫的研究发现, 在饲料中添加 0.5 mg/kg 的硒可以促进其生长、提高 GPX 活性和肌肉中硒含量。在对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[31]</sup>的研究发现, 在缺硒处理组, GPX 活性降低、GST 活性升高。但是在对大西洋鲑(*Salmo solar*)<sup>[32]</sup>的研究中发现, 添加 1 mg/kg 的硒对肝脏中 GPX 活性没有显著影响。GR 可以将 GSSG 转换为 GSH。在本研究中, 投喂高硒饲料显著降低大黄鱼肝脏 GR 活性, 这可能是由于高含量硒促进了机体氧化作用, 这一结果和 Lin 和 Shiau<sup>[2]</sup>的研究结果一致。后者在投喂硒含量为 0.77 mg/kg 的饲料后, 石斑鱼肝脏中 GR 活性显著下降。GST 可以参与肝脏的解毒功能。在本研究中, 随着饲料硒含量的升高 GST 的活性也升高, 这与 Elia 等<sup>[24]</sup>对鲫的研究结果一致。T-AOC 也是机体抗氧化效果的一个重要指标。在本研究中随着饲料硒含量的升高, T-AOC 先升高后达到一个平台期。综合以上研究结果可以看出, 饲料硒含量在一定范围内升高可以提高大黄鱼机体的抗氧化能力。但是过高含量的硒会影响机体抗氧

化能力, 导致抗氧化酶活性下降, 并可能引起体内氧化压力的增加。以肝脏中 GPX 活性为评价指标, 通过折线模型分析, 大黄鱼幼鱼对饲料中硒的最小需求量为 0.440 mg/kg (图 4)。

总的来说, 硒对大黄鱼幼鱼的生长和抗氧化功能至关重要。以 WG 为评价指标, 得出大黄鱼幼鱼对饲料硒需求量为 0.178 mg/kg。分别以全鱼和骨骼中硒含量、肝脏 GPX 活性为评价指标, 得出大黄鱼幼鱼对饲料硒的最小需求量分别为 0.575、0.387 和 0.440 mg/kg。

#### 参考文献:

- [1] National Research Council. Nutrient Requirements of Fish [M]. National Academy Press, Washington DC, USA. 1993, 144
- [2] Lin Y H, Shiau S Y. Dietary selenium requirements of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus* [J]. *Aquaculture*, 2005, **250**: 356—363
- [3] Hilton J W, Hodson P V, Slinger S J. The requirement and toxicity of selenium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *Journal of Nutrition*, 1980, **110**: 2527—2535
- [4] Gatlin III D M, Wilson R P. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish [J]. *Journal of Nutrition*, 1984, **114**: 627—633
- [5] Liang M Q, Wang J L, Mai K S, et al. Effects of dietary Se on growth performance and activities of related enzymes in juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicus* [J]. *Journal of Fishery Science of China*, 2006, **13**: 1017—1022 [梁萌青, 王家林, 麦康森, 等. 饲料中硒的添加水平对鲈鱼生长性能及相关酶活性的影响. *中国水产科学*, 2006, **13**: 1017—1022]
- [6] Su C F. Studies on dietary selenium requirements of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon ideelus* [D]. Chongqing: Southwest University. 2008 [苏传福. 草鱼幼鱼硒的营养需要研究. 重庆: 西南大学. 2008]
- [7] Wang W F, Mai K S, Zhang W B, et al. Dietary selenium requirement and its toxicity in juvenile abalone *Haliotis discus hannai Ino* [J]. *Aquaculture*, 2012, **330**: 42—46
- [8] China Fishery Statistical Yearbook, Fishery Bureau, Ministry of Agriculture. China Agriculture Press, Beijing, China. 2013 [中国渔业统计年鉴, 农业部渔政局. 中国农业出版社, 中国北京. 2013]
- [9] Sun R J, Zhang W B, Xu W, et al. Effects of dietary protein level and feeding frequency on the growth performance, body composition and protein metabolism of juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(2): 281—289 [孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响. *水生生物学报*, 2013, **37**(2):

- 281—289]
- [10] Yu H R, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of dietary protein levels on the growth, survival, amylase and trypsin activities in large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R., larvae [J]. *Aquaculture Research*, 2012, **43**: 178—186
- [11] Xie F J, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Dietary lysine requirement of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*, Richardson 1846) larvae [J]. *Aquaculture Research*, 2012, **43**: 917—928
- [12] Mai K S, Wan J L, Ai Q H, *et al.* Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. *Aquaculture*, 2006a, **253**: 564—572
- [13] Zhang F. Lipid requirement and fishmeal replacement in diets of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012 [张帆. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea* R.) 脂类营养生理和饲料替代蛋白源的研究, 青岛: 中国海洋大学. 2012]
- [14] Zhang W, Xu S L, Shen Q, *et al.* Fatty acid composition in muscle and liver of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *Fisheries Science*, 2009, 117—121 [张薇, 徐善良, 沈勤, 等. 大黄鱼鱼种阶段脂肪酸组成研究. 水产科学, 2009, 117—121]
- [15] Mai K S, Zhang C X, Ai Q H, *et al.* Dietary phosphorus requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R [J]. *Aquaculture*, 2006b, **251**: 346—353
- [16] Zhang J M. Studies on nutritional physiology of Zinc and Iron for Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*, and large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. [D]. Qingdao: Ocean University of China. 2007 [张佳明. 鲈鱼和大黄鱼微量元素—锌, 铁的营养生理研究, 青岛: 中国海洋大学. 2007]
- [17] Zhang J M, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Dietary zinc requirement of juvenile large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, **32**: 417—424 [张佳明, 艾庆辉, 麦康森, 等. 大黄鱼幼鱼对饲料中的锌需要量. 水产学报, 2008, **32**: 417—424]
- [18] Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [M]. Official Methods of Analysis, 16th ed, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA. 1995
- [19] Robbins K R, Norton H W, Baker D H. Estimation of nutrient requirements from growth data [J]. *Journal of Nutrition*, 1979, 109: 1
- [20] Wang C, Lovell R T. Organic selenium sources, selenomethionine and seleno yeast, have higher bioavailability than an inorganic selenium source, sodium selenite, in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Aquaculture*, 1997, **152**(1): 223—234
- [21] Liu K, Wang X J, Ai Q H. Dietary selenium requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L [J]. *Aquaculture Research*, 2010, **41**: e594—e601
- [22] Tashjian D H, Teh S J, Sogomonyan A, *et al.* Bioaccumulation and chronic toxicity of dietary l-selenomethionine in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, **79**: 401—409
- [23] Baker D H. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients [J]. *Journal of Nutrition*, 1986, **116**: 2239—2249
- [24] Elia A C, Prearo M, Pacini N, *et al.* Effects of selenium diets on growth, accumulation and antioxidant response in juvenile carp [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, **7**: 166—173
- [25] Hamilton S J. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, **326**: 1—21
- [26] Abbas H H H, Authman M M N. Effects of accumulated selenium on some physiological parameters and oxidative stress indicators in Tilapia fish (*Oreochromis* spp.) [J]. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 2009, **5**: 219—22
- [27] Jovanovic A, Grubor-Lajsic G, Djukic N, *et al.* The effect of selenium on antioxidant system in erythrocytes and liver of the carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 1997, **37**: 443—448
- [28] Monteiro D A, Rantin F T, Kalinin A L. The effects of selenium on oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) exposed to organophosphate insecticide Folisuper 600 BR (methyl parathion) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2009, **149**: 40—49
- [29] Orun I, Talas Z S, Ozdemir I, *et al.* Antioxidative role of selenium on some tissues of (Cd<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>)-induced rainbow trout [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, **71**: 71—75
- [30] Wang Y, Hanb J, Lia W, *et al.* Effect of different selenium source on growth performances, glutathione peroxidase activities, muscle composition and selenium concentration of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Animal Feed Science Technology*, 2007, **134**: 243—251
- [31] Gatlin III D M, Poe W E, Wilson R P. Effects of singular and combined dietary deficiencies of selenium and vitamin E on fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Journal of Nutrition*, 1986, **116**: 1061—1067
- [32] Lorentzen M, Maage A, Julshamn K. Effects of dietary selenite or selenomethionine on tissue selenium levels of Atlantic salmon (*Salmo solar*) [J]. *Aquaculture*, 1994, **121**: 359—367



## DIETARY SELENIUM REQUIREMENT OF JUVENILE LARGE YELLOW CROAKER *LARIMICHTHYS CROCEUS*

CAO Juan-Juan<sup>1</sup>, ZHANG Wen-Bing<sup>1</sup>, XU Wei<sup>1</sup>, MAI Kang-Sen<sup>1</sup> and SUN Rui-Jian<sup>1,2</sup>

(1. The Key Laboratory of Aquaculture Nutrition and Feeds, Ministry of Agriculture; the Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education; Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Tongwei Co., LTD., Chengdu 610041, China)

**Abstract:** To study the effects of selenium to the juvenile large yellow croaker *Larimichthys croceus*, six experimental diets were formulated to contain the following diets with increment levels of selenium 0 (control), 0.05, 0.2, 0.4, 0.6 and 0.9 mg/kg, respectively. The final content of selenium in each diet was 0.08, 0.16, 0.27, 0.44, 0.66, and 0.96 mg/kg, respectively. Each diet was randomly assigned to triplicate groups of 60 large yellow croaker juveniles [initial body weight:  $(9.14 \pm 0.09)$  g]. Fish were fed twice daily (5:00 and 17:30) to satiation for 10 weeks. The results showed that the weight gain rate (*WG*), whole-body, and vertebrae Se concentration significantly increased with the increased dietary selenium levels ( $P < 0.05$ ), and no further increases when the dietary Se concentration was 0.27 mg/kg or higher in the diet. No significant differences were found in the survival rate (*SR*), feed efficiency (*FE*), body compositions, hepatosomatic index (*HSI*), viscerosomatic index (*visi*), and condition factor (*CF*) cross the 6 treatment groups ( $P > 0.05$ ). The serum glutathione peroxidase (*GPX*) activity, superoxide dismutase (*SOD*) activity and total antioxidant capacity (*T-AOC*) significantly increased with the increasing of dietary selenium levels ( $P < 0.05$ ) with the highest activities at 0.44 mg/kg and 0.16 mg/kg of dietary selenium, respectively. The *GPX* activity, *SOD* activity, *T-AOC*, catalase (*CAT*) activity, and glutathione reductase (*GR*) activity in liver had a similar trend with serum enzyme activity. The liver glutathione S-transferase (*GST*) activity significantly decreased with the increasing of dietary selenium levels ( $P < 0.05$ ), and then increased ( $P < 0.05$ ). The highest activity was found in the highest Se level (0.96 mg/kg). Based on *WG*, the dietary Se requirement of juvenile large yellow croaker was 0.178 mg/kg. Based on the whole-body and vertebrae Cu concentration, liver *GPX* activity, the minimum dietary Se requirements were 0.575, 0.387 and 0.440 mg/kg, respectively.

**Key words:** Large yellow croaker; Selenium; Growth; Antioxidation; Requirement