

# 饲料中维生素 C 对大菱鲆繁殖性能的影响

张海涛<sup>1,2</sup> 梁萌青<sup>2\*</sup> 郑珂珂<sup>2</sup> 王新星<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>中国海洋大学, 青岛 266100)

(<sup>2</sup>中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘 要** 在基础饲料中分别添加 0、800 和 4 800mg/kg 的维生素 C 饲养大菱鲆亲鱼 240d, 通过比较各处理组亲鱼的生长、性腺指数、相对产卵量、上浮卵率、孵化率、卵径以及各组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量, 研究维生素 C 对大菱鲆亲鱼繁殖性能的影响。实验结果表明, 各处理组亲鱼生长无显著差异( $P>0.05$ ), 但随着饲料中维生素 C 添加量的增加, 亲鱼的生长呈上升趋势。800 和 4 800mg/kg 组亲鱼相对产卵量显著高于对照组( $P<0.05$ )。随着饲料中维生素 C 添加量的增加, 亲鱼性腺指数、产卵次数、上浮卵率、受精率和孵化率均显著提高( $P<0.05$ ), 亲鱼卵和组织中维生素 C 含量反映了饲料中的维生素 C 含量。虽然各处理组亲鱼的卵径和油球径差异均不显著( $P>0.05$ ), 但随着饲料中维生素 C 添加量的增加, 亲鱼卵径和油球径呈上升的趋势。肝脏、卵巢和血清中 SOD 活性随饲料中维生素 C 添加量的增加而显著升高( $P<0.05$ ), 而 MDA 含量则显著下降( $P<0.05$ )。综上所述, 大菱鲆亲鱼饲料中添加维生素 C, 能有效改善大菱鲆的繁殖性能。

**关键词** 大菱鲆 亲鱼 饲料 维生素 C 繁殖性能

中图分类号 S917 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2013)02-0073-09

## Impact of dietary vitamin C on the reproductive performance of turbot *Scophthalmus maximus*

ZHANG Hai-tao<sup>1,2</sup> LIANG Meng-qing<sup>2\*</sup> ZHENG Ke-ke<sup>2</sup> WANG Xin-xing<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Ocean University of China, Qingdao 266100)

(<sup>2</sup>Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** An eight-month feeding experiment was conducted to determine the impact of dietary vitamin C on the reproductive performance of turbot *Scophthalmus maximus*. The basal diet was supplemented with 0, 800 and 4 800 mg/kg vitamin C to formulate three experimental diets. Results showed that the growth of turbot broodstock was improved with the increasing dietary vitamin C, but no significant difference was observed between control and vitamin C supplementation treatments. The egg production of female broodstock fed vitamin C supplemented diets was significantly ( $P<0.05$ ) higher than those fed the basal diet. The gonadosomatic index (GSI), number of spawns, percentage of buoyant egg, fertilization rate and hatching rate of 800 mg/kg and 4 800 mg/kg treatments were significantly higher with the increase of vitamin C ad-

鲆鲽类产业技术体系科研专项经费(nycytx-50-G07)资助

\* 通讯作者。E-mail: liangmq@ysfri. ac. cn

收稿日期: 2012-03-11; 接受日期: 2012-04-12

作者简介: 张海涛(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事营养与饲料研究。E-mail: haitao54611234@yahoo. com. cn, Tel: (0532)85822914

dition in diets ( $P < 0.05$ ). Vitamin C concentrations in eggs reflected dietary vitamin C addition. The egg diameter and oil globule diameter of turbot broodstock was improved with the increasing dietary vitamin C, but no significant difference was observed between control and vitamin C supplementation treatments. With the increase of dietary vitamin C, the activities of superoxide ismutase (SOD) in tissues were significantly reduced ( $P < 0.05$ ), but malonaldehyde (MDA) contents were significantly increased ( $P < 0.05$ ). So, it is concluded that vitamin C supplement in the diets can improve the reproductive performance of turbot broodstock.

**KEY WORDS** Turbot *Scophthalmus maximus* Broodstock Diet Vitamin C  
Reproductive performance

随着我国水产养殖生产规模的不断扩大, 苗种日益受到人们的重视。为了获得大量的优质苗种, 亲鱼的培育显得尤为重要, 已有研究表明, 亲鱼的营养状况影响亲鱼的繁殖性能(常青等 2002; Izquierdo *et al.* 2001; Watanabe *et al.* 2003)。然而亲鱼营养是鱼类营养研究涉及最少的领域之一, 人们对大部分鱼类繁殖营养需求缺乏了解, 这阻碍了亲鱼全价配合饲料的研制。迄今为止, 关于蛋白质(马爱军等 2005; Gunasekera *et al.* 1995, 1997; Santiago *et al.* 1983)和脂肪酸(马爱军等 2005; Li *et al.* 2005; Furuita *et al.* 2000, 2002; Rainuzzo *et al.* 1997)对亲鱼繁殖性能影响的探讨较多, 而有关维生素对亲鱼繁殖性能影响的研究较少。

大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 是我国著名的海水养殖良种和国际市场公认的高价值食用鱼类之一(雷霖霖等 2008; 王远红等 2003)。在大菱鲆的苗种培育过程中, 发现卵质差、受精卵发育不好、仔稚鱼死亡率高, 影响了苗种的产量和质量, 究其原因是对亲鱼营养的重视不够。亲鱼常常单一投喂鲜杂鱼, 营养满足不了亲鱼繁育的要求(朱建新等 2004)。因此, 大菱鲆亲鱼培育的饲料亟待改进, 急需大菱鲆亲鱼专用配合饲料。

本研究以大菱鲆为实验对象, 着重探讨了维生素 C (Vitamin C,  $V_c$ ) 对其生长、性腺系数、产卵量和孵化率等的影响, 以期了解维生素 C 对大菱鲆亲鱼繁殖性能的影响, 并为研制大菱鲆亲鱼全价配合饲料提供科学依据, 同时, 也为大菱鲆繁殖营养学积累基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验用鱼及条件

实验大菱鲆亲鱼取自山东省烟台天源水产有限公司同一培养池, 挑选的亲鱼为 30 月龄, 个体均匀, 平均体重  $1\ 444.10 \pm 50.29\text{g}$ , 体长  $31.95 \pm 0.35\text{cm}$ 。实验在烟台开发区天源水产公司水泥池 ( $7\text{m} \times 7\text{m} \times 1\text{m}$ ) 中进行, 养殖用水为地下海水经砂滤后使用, 并用充气泵增氧, 实验周期内水质条件变化情况为: 溶氧大于  $6.0\text{mg/L}$ , pH 为  $7.2 \sim 7.5$ , 盐度为  $30 \sim 32$ , 温度为  $8 \sim 14^\circ\text{C}$ 。

### 1.2 实验饲料

以鱼粉、酪蛋白为蛋白源, 鱼油为脂肪源, 高筋粉为糖源配制基础饲料(表 1)。在基础饲料中分别添加相当于抗坏血酸含量为 0、800、4 800mg/kg 的维生素 C 多聚磷酸酯(LAPP), 配制成 3 种实验饲料。各饲料组实际维生素 C 含量见表 2。维生素 C 多聚磷酸酯购自金海力公司, 有效含量为 30%。所有原料均经过粉碎并过 60 目筛, 将每组所有原料充分混匀, 制成粉料, 于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱内保存备用。

### 1.3 实验管理

#### 1.3.1 亲鱼饲喂和条件调控

实验设 3 个处理, 即 0mg/kg 维生素 C 组、800mg/kg 维生素 C 组、4 800mg/kg 维生素 C 组, 每个处理 30

尾亲鱼,雌雄比例为 1:1。每尾亲鱼体内通过标志枪植入编码金属标(CWT),并记录每枚金属标编码。饲养实验开始前,测定实验鱼体重、体长、体宽。实验从 2010 年 8 月开始用饲料进行营养强化。实验初期驯化转饵,在此期间每 2d 饱食投喂 1 次配合饲料,转饵 60 d 后每天饱食投喂 1 次配合饲料,投喂 15 min 后换水排去残饵与粪便。实验期间每天均保持投喂,持续 240d(2010 年 8 月~2011 年 4 月)。

表 1 基础饲料配方及化学成分

Table 1 Formulation and chemical composition of the basal diet

		项目 Item	含量 Content(%)
组成 Ingredients		鱼粉 Fish meal	70.00
		酪蛋白 Casein	4.00
		高筋粉 High-gluten flour	15.00
		磷脂 Phospholipid	2.00
		胆碱 Choline	1.00
		鱼油 Fish oil	5.50
		磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.50
		维生素混合物 Vitamin premix <sup>1</sup>	0.50
		矿物质混合物 Mineral premix <sup>2</sup>	0.50
		总量 Total	100
营养组成 Nutrient composition(% dry matter)		粗蛋白 Crude protein	50.98
		粗脂肪 Crude lipid	10.96
		能量 Gross energy(MJ/kg DM)	18.48

<sup>1</sup>维生素混合物(mg/kg or g/kg 饲料): 硫胺素, 25mg; 核黄素, 45mg; 盐酸吡哆醇, 20mg; 维生素 B<sub>12</sub>, 0.1mg; 维生素 K<sub>3</sub>, 10mg; 肌醇, 800mg; 泛酸, 60mg; 盐酸, 200mg; 叶酸, 20mg; 生物素, 1.20mg; 维生素 A, 32mg; 维生素 D, 5mg; 维生素 E, 120mg; 次粉, 18.67g

Vitamin premix(mg/kg or g/kg diet): Thiamine 25mg; Riboflavin 45mg; Pyridoxine 20mg; Vitamin B<sub>12</sub> 0.1mg; Menadione 10mg; Inositol 800mg; Pantothenate 60mg; Tocopherol acetate 200mg; Folic acid 20mg; Biotin 1.2mg; Vitamin A 32mg; Vitamin D 5mg; Vitamin E 120mg; Wheat flour 18.67g

<sup>2</sup>矿物质混合物(mg/kg or g/kg 饲料): 氟化钠, 2mg; 碘化钾, 0.8mg; 氯化钴, 50mg; 硫酸铜, 10mg; 硫化铁, 80mg; 硫化锌, 50mg; 硫化镁, 1200mg; 磷酸二氢钙, 3 000mg; 氯化钠, 100mg; 沸石粉, 15.51g

Mineral premix(mg/kg or g/kg diet): NaF 2mg; KI 0.8mg; CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 50mg; CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 10mg; FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 80mg; ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 50mg; MnSO<sub>4</sub> · 4H<sub>2</sub>O 1 200mg; Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O 3 000 mg; NaCl 100mg; Mordenzo 15.51g

表 2 各实验组饲料实际维生素 C 含量

Table 2 Ascorbic acid concentration in different experimental diets

组别 Treatment	维生素 C 添加量 Supplemental vitamin C in diets(mg/kg)		
	0	800	4 800
维生素 C 实际含量 Real content of vitamin C( $\mu\text{g/g DM}$ )	47.27±1.73	772.93±32.19	4 572.83±73.20

2010 年 8 月~2010 年 12 月,每天光照时间均保持在 8 h;从 2010 年 12 月~2011 年 1 月光照时间,由每天 8 h 逐渐增至每天 16 h。然后再经过连续 90d 的人工调控,使亲鱼充分成熟,获得优质卵子。大菱鲆雌亲鱼的排卵间隔多数在 80~90 h 之间。对于整个繁殖群体的排卵亲鱼,每天进行 1 次挤卵。产卵期温度控制在 13~14 °C,每天光照时间 16 h。

### 1.3.2 亲鱼繁育实验和样品采集

大菱鲆雌亲鱼卵巢完全发育成熟时,准确测量每尾成熟雌亲鱼的体重、体长、体高,并开始进行人工采卵。

每实验组选取5尾发育成熟的雌亲鱼,记录下每尾亲鱼金属标编码。每天对这5尾亲鱼进行观察,需要排卵的,挤卵1次,记录每尾亲鱼的产卵次数和产卵量。

每实验组各取3批产卵盛期刚产出未受精的卵子,统计每批卵子的沉卵量和上浮卵量,计算上浮率,每批3个重复,并计算3次的平均值;每批卵子受精后,取50g受精卵置于孵化网箱中,8h后统计沉卵量和上浮卵量,计算受精率,每批3个重复,计算3次的平均值。保持孵化池海水循环流动,每个孵化箱中央置充气石1枚,保持水流,使受精率在水体中呈均匀分布,水温保持在12~15℃之间,盐度在30~32之间,溶氧大于6.0 mg/L,pH在7.2~7.5之间,光照在100~1000Lx之间;孵化池每天水循环量保持在2~3个量程,每天及时吸出沉卵,统计沉卵量,待卵孵化后,计算孵化率。每批另取30粒卵子,在显微镜下通过目镜测微尺测定卵细胞直径和油球直径。另取150g未受精上浮卵贮存于液氮罐中,后转入-80℃超低温冰箱中保存,用于成分分析。

各组取出4尾成熟亲鱼,记录每尾亲鱼的金属标编码,取以下样品:从大菱鲆尾椎两侧取血,经离心后,取血清;取亲鱼的肝脏、卵巢和部分肌肉,并准确称取卵巢重量。将上述4种组织贮存于液氮罐中,后转入-80℃超低温冰箱中保存。测定卵巢、肝脏和血清中超氧化物歧化酶(Superoxide ismutase,SOD)活性及丙二醛(Malonaldehyde,MDA)含量,同时测定卵巢、肌肉、肝脏中的维生素C含量。

### 1.3.3 样品分析及测定方法

饲料中粗蛋白、粗脂肪、粗灰分含量的测定参照AOAC(1995)的方法。

血清中SOD活性和MDA含量测定均采用南京建成生物有限公司生产的试剂盒,操作步骤按试剂盒中的说明书进行。

组织和饲料中维生素C含量的测定采用高压液相色谱法(HPLC)。卵中维生素C含量测定参照Nelis等(1997)的方法。饲料中实际维生素C含量按Ai等(2004)的方法,肝脏、肌肉和性腺中的维生素C含量的测定参照Wang等(2003)的方法。

### 1.3.4 数据计算和统计方法

有关指标计算方法如下:

$$\text{性腺指数 GSI}(\%) = \text{性腺重} / \text{体重} \times 100\%$$

$$\text{相对产卵量} = \text{总产卵量} / \text{亲鱼体重}$$

$$\text{上浮率}(\%) = \text{上浮卵量} / \text{产卵量} \times 100\%$$

$$\text{受精率}(\%) = (\text{上浮卵量} - \text{孵化8h后沉卵量}) / \text{上浮卵量} \times 100\%$$

$$\text{孵化率}(\%) = \text{孵出鱼苗数} / \text{受精卵数} \times 100\%$$

$$\text{增重率 WGR}(\%) = (\text{末体重} - \text{初体重}) / \text{初体重} \times 100\%$$

$$\text{增长率 LGH}(\%) = (\text{末体长} - \text{初体长}) / \text{初体长} \times 100\%$$

$$\text{增高率 HGH}(\%) = (\text{末体高} - \text{初体高}) / \text{初体高} \times 100\%$$

数据以平均值±标准误(Mean±S.E)表示,采用SPSS 17.0 for Windows对所有数据进行单因子方差分析(ANOVA),若差异达到显著,则进行Tukey多重比较(Tukey HSD test),显著水平为 $P < 0.05$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 饲料中添加维生素C对大菱鲆亲鱼生长的影响

本研究中,饲料中添加维生素C对大菱鲆亲鱼的增重率、增长率和增高率有一定的提高作用,但与对照组差异均不显著( $P > 0.05$ )(表3)。

### 2.2 饲料中添加维生素C对大菱鲆亲鱼繁殖性能的影响

试验期间,通过记录每尾大菱鲆亲鱼产卵次数发现,随着饲料中维生素C添加量的增加,亲鱼产卵次数显著升高(表4)。

表 3 饲料中维生素 C 含量对大菱鲆雌亲鱼生长的影响

Table 3 The effect of dietary vitamin C on the growth of female turbot broodstock

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	初始体重(g) Initial weight	初始体长(cm) Initial body length	初始体高(cm) Initial body height	增重率(%) WGR	增长率(%) LGH	增高率(%) HGH
0	1 415.80±38.65	31.57±0.27	24.73±0.27	26.93±0.69	6.17±0.11	4.40±0.05
800	1 476.48±29.45	32.29±0.25	24.77±0.28	27.54±0.88	7.82±0.09	4.60±0.08
4 800	1 440.02±40.75	31.98±0.27	23.91±0.19	31.06±0.51	7.96±0.07	4.86±0.07
ANOVA						
F 值(F value)	1.338	2.640	2.531	2.394	1.994	0.112
P 值(P value)	0.962	0.163	0.100	0.188	0.195	0.938

对照组大菱鲆亲鱼的相对产卵量为 265.22±27.48 粒/g,显著低于 800 和 4 800mg/kg 组( $P<0.05$ ) (表 4);虽然 800 和 4 800mg/kg 组亲鱼的相对产卵量没有显著性差异( $P>0.05$ ),但 4 800mg/kg 组要高于 800mg/kg 组。

饲料中添加维生素 C 可以显著提高大菱鲆亲鱼的性腺指数(表 4)、上浮卵率、受精率和孵化率(表 5),在 800 组和 4 800mg/kg 组,亲鱼的性腺指数、上浮卵率、受精率和孵化率均显著高于对照组( $P<0.05$ );当饲料维生素 C 添加量为 4 800mg/kg 时,大菱鲆亲鱼的性腺指数、上浮卵率、受精率和孵化率达到最高,均显著高于 800mg/kg 组( $P<0.05$ )。

表 4 不同含量的维生素 C 对亲鱼相对产卵量、产卵次数、性腺指数的影响

Table 4 The effect of dietary vitamin C on fecundity, number of spawns, and GSI of turbot broodstock

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	相对产卵量(粒/g) Relative fecundity	产卵次数(次) Number of spawns per fish	性腺指数(%) GSI
0	265.22±27.48 <sup>a</sup>	4.60±0.40 <sup>a</sup>	10.86±0.23 <sup>a</sup>
800	436.23±39.93 <sup>b</sup>	6.00±0.32 <sup>b</sup>	12.39±0.18 <sup>b</sup>
4 800	533.70±28.11 <sup>b</sup>	7.40±0.24 <sup>c</sup>	15.18±0.04 <sup>c</sup>
ANOVA			
F 值(F value)	17.650	18.375	34.662
P 值(P value)	0.001	0.000	0.000

注:同一行数据中具有不同字母的表示差异显著( $P<0.05$ )

Note: Data within the same row with different superscripts are significantly different( $P<0.05$ )

表 5 不同含量的维生素 C 对亲鱼上浮率、受精卵和孵化率的影响

Table 5 The effect of dietary vitamin C on buoyant egg, fertilization, and hatching rate of turbot broodstock

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	上浮率(%) Buoyant egg	受精率(%) Fertilization rate	孵化率(%) Hatching rate
0	72.55±2.54 <sup>a</sup>	48.81±2.61 <sup>a</sup>	43.57±1.43 <sup>a</sup>
800	83.87±1.41 <sup>b</sup>	68.84±1.91 <sup>b</sup>	53.92±1.10 <sup>b</sup>
4 800	90.93±1.36 <sup>c</sup>	80.60±1.47 <sup>c</sup>	60.93±1.77 <sup>c</sup>
ANOVA			
F 值(F value)	24.995	56.317	51.144
P 值(P value)	0.000	0.000	0.000

注:同一行数据中具有不同字母的表示差异显著( $P<0.05$ )

Note: Data within the same row with different superscripts are significantly different( $P<0.05$ )

在本实验条件下大菱鲆亲鱼卵径在 895~930 $\mu\text{m}$  之间,油球径在 195~211 $\mu\text{m}$  之间(表 6)。虽然各组亲鱼卵径和油球径差异均不显著( $P>0.05$ ),但随着饲料中维生素 C 添加量的增加,卵径和油球径有上升的趋势。

表 6 不同含量的维生素 C 对亲鱼卵径和油球径的影响

Table 6 The effect of dietary vitamin C on egg diameter and oil globule diameter of turbot broodstock

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	卵径( $\mu\text{m}$ ) Egg diameter	油球径( $\mu\text{m}$ ) Oil globule diameter
0	895.55 $\pm$ 12.35	195.61 $\pm$ 6.71
800	919.39 $\pm$ 10.93	210.28 $\pm$ 5.38
4 800	929.53 $\pm$ 11.36	210.51 $\pm$ 5.94
ANOVA		
F 值(F value)	2.276	2.000
P 值(P value)	0.119	0.151

### 2.3 饲料中添加维生素 C 对大菱鲆亲鱼卵和组织中维生素 C 含量的影响

各处理组大菱鲆亲鱼的卵、卵巢、肝脏和肌肉等组织中维生素 C 含量的测定结果见表 7。结果表明,卵、卵巢、肝脏和肌肉等组织中维生素 C 含量随着饲料中维生素 C 添加量的增加而显著上升( $P<0.05$ );此外,同一处理组亲鱼卵和各组织中维生素 C 含量不同,从小到大依次为肌肉<肝脏<卵巢<卵巢。

### 2.4 饲料中添加维生素 C 对大菱鲆亲鱼各组织中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

表 8、表 9 分别为不同处理对大菱鲆亲鱼肝脏、卵巢和血液等组织中 SOD 活性和 MDA 含量的影响。结果表明,随着饲料中维生素 C 添加量的增加,大菱鲆亲鱼肝脏、卵巢和血清中的 SOD 活性均显著升高( $P<0.05$ );而大菱鲆亲鱼的肝脏、卵巢和血清中的 MDA 含量(表 9)随饲料中维生素 C 添加量的增加而显著降低( $P<0.05$ )。此外,800mg/kg 组和 4 800mg/kg 组亲鱼各组织中 SOD 活性大小为血清<卵巢<肝脏,MDA 含量则相反;对照组亲鱼肝脏 SOD 活性最小,其次是血清,最大的为卵巢,MDA 含量则相反。

表 7 不同含量的维生素 C 对大菱鲆亲鱼卵、性腺、肝脏、肌肉中维生素 C 的影响

Table 7 Ascorbic acid concentrations in egg, ovary, liver and muscle of turbot broodstock fed the experimental diet

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	卵(mg/kg) Ascorbic acid concentrations in egg	性腺(mg/kg) Ascorbic acid concentrations in ovary	肝脏(mg/kg) Ascorbic acid concentrations in liver	肌肉(mg/kg) Ascorbic acid concentrations in muscle
0	165.14 $\pm$ 18.05 <sup>a</sup>	552.99 $\pm$ 23.05 <sup>a</sup>	9.00 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	5.48 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>
800	547.13 $\pm$ 30.88 <sup>b</sup>	833.62 $\pm$ 31.75 <sup>b</sup>	69.12 $\pm$ 5.90 <sup>b</sup>	22.75 $\pm$ 1.75 <sup>b</sup>
4 800	803.63 $\pm$ 27.92 <sup>c</sup>	1 022.80 $\pm$ 46.06 <sup>c</sup>	182.74 $\pm$ 8.99 <sup>c</sup>	83.57 $\pm$ 2.89 <sup>c</sup>
ANOVA				
F 值(F value)	100.642	73.820	82.971	52.770
P 值(P value)	0.000	0.001	0.000	0.000

注:同一行中数据中具有不同字母的表示差异显著( $P<0.05$ )

Note: Data within the same row with different superscripts are significantly different( $P<0.05$ )

表 8 不同含量的维生素 C 对大菱鲆亲鱼各组织中 SOD 活性的影响

Table 8 SOD activities in different tissues of turbot broodstock fed the experimental diet

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	卵巢(U/mg prot) SOD activities in ovary	肝脏(U/mg prot) SOD activities in liver	血清(U/mg prot) SOD activities in serum
0	80.58±1.36 <sup>a</sup>	67.25±1.14 <sup>a</sup>	70.57±2.56 <sup>a</sup>
800	93.19±1.18 <sup>b</sup>	95.29±2.20 <sup>b</sup>	89.24±1.69 <sup>b</sup>
4 800	105.33±2.25 <sup>c</sup>	109.01±1.84 <sup>c</sup>	103.19±2.46 <sup>c</sup>
ANOVA			
F 值(F value)	53.732	48.283	59.803
P 值(P value)	0.000	0.000	0.000

注:同一行中数据中具有不同字母的表示差异显著( $P<0.05$ )

Note:Data within the same row with different superscripts are significantly different( $P<0.05$ )

表 9 不同含量的维生素 C 对大菱鲆亲鱼各组织中 MDA 含量的影响

Table 9 MDA content in different tissues of turbot broodstock fed the experimental diet

维生素 C 添加(mg/kg) Supplemental vitamin C in diets	卵巢(nmol/mg prot) MDA content in ovary	肝脏(nmol/mg prot) MDA content in liver	血清(nmol/mg prot) MDA content in serum
0	22.86±1.30 <sup>a</sup>	32.95±1.53 <sup>a</sup>	27.26±1.15 <sup>a</sup>
800	13.72±1.76 <sup>b</sup>	12.95±1.90 <sup>b</sup>	15.95±1.93 <sup>b</sup>
4 800	7.88±0.44 <sup>c</sup>	6.20±0.52 <sup>c</sup>	9.37±0.69 <sup>c</sup>
ANOVA			
F 值(F value)	34.391	40.251	44.246
P 值(P value)	0.001	0.000	0.000

注:同一行中数据中具有不同字母的表示差异显著( $P<0.05$ )

Note:Data within the same row with different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ )

### 3 讨论

维生素 C 是鱼类正常生长所必需的营养元素之一,在饲料中添加适量的维生素 C 对鱼类生长有促进作用(谢嘉华等 2006;Thompson *et al.* 1993;Henrique *et al.* 1998;Ai *et al.* 2006)。本研究中随着饲料中维生素 C 添加量的升高,大菱鲆亲鱼的生长呈现逐渐上升的趋势,但在统计学上各组间没有显著差异,这可能是由于大菱鲆亲鱼初始组织中维生素 C 积累量比较大,在实验周期内足以维持大菱鲆的正常生理功能。

已有大量研究表明,维生素 C 能促进亲体性腺成熟和调控胚胎发育,进而改善亲体生殖性能(Cahu *et al.* 1991;Ciereszko *et al.* 1999;Eskelimen *et al.* 1989;Dabrowski *et al.* 2001;Sandnes *et al.* 1984)。Wouters 等(1999)研究证实,将维生素 C 强化后的卤虫成体投喂给南美白对虾,能促进其性腺的成熟,增加其产卵频率;艾春香等(2003)研究表明,饵料中添加维生素 C 对中华绒螯蟹的产卵力和 GSI 有较明显的改善;饲料中适量添加维生素 C 可提高遮目鱼(Emata *et al.* 2000)、日本鳗鱼(Furuita *et al.* 2009)和莫桑比克罗非鱼(Soliman *et al.* 1986)的受精率、孵化率及仔鱼的成活率;Sandnes 等(1984)在虹鳟亲鱼饲料中添加 115mg/kg 维生素 C,显著提高了虹鳟亲鱼的浮卵率。本研究结果与上述研究结果相似,随着饲料中维生素 C 添加量的升高,大菱鲆亲鱼的 GSI 和产卵次数均显著升高( $P<0.05$ );虽然 4 800mg/kg 组相对产卵量与 800mg/kg 组没显著性差异,但有升高的趋势,且均显著高于对照组( $P<0.05$ ),故饲料中添加维生素 C 对大菱鲆亲鱼性腺的发育有明显的改善作用。同时还发现,大菱鲆亲鱼的上浮卵率、受精率和孵化率随饲料中维生素 C 添加量增加而显著提高( $P<0.05$ ),卵径和油球径也有上升的趋势。因此,饲料中添加维生素 C 对大菱鲆亲鱼卵的质量也有显著性的提高。

Dabrowski 等(2001)研究认为,亲体的繁殖性能与其性腺中维生素 C 的含量密切相关。本研究结果表明,亲体饲料中维生素 C 的添加,促进了卵巢、卵和组织中维生素 C 的积累。维生素 C 是赖氨酸和脯氨酸羟化的辅助因子,而赖氨酸和脯氨酸的羟基化反应是原胶原形成胶原所必需的(Padh *et al.* 1991),在缺乏维生素 C 的鱼体中,羟赖氨酸和羟脯氨酸含量较低(Sata *et al.* 1982)。因此,维生素 C 能促进大菱鲆亲鱼的生殖性能,可能的原因是,发育的亲鱼卵母细胞中存储有高浓度的维生素 C,在胚胎发育过程中维生素 C 促进了羟基赖氨酸和羟基脯氨酸的生成,从而促进胶原蛋白的合成,进而改善亲体的繁殖性能。本研究还发现,同一处理组卵和各组织中维生素 C 含量不同,从小到大依次为肌肉<肝脏<卵<卵巢,同时对对照组卵巢中维生素 C 含量(552.99±23.05mg/kg)也不是很低。作者认为,在亲鱼性腺快速发育时,卵中需要较多的维生素 C,同时肝脏作为亲鱼新陈代谢的中心也需要大量维生素 C,造成维生素 C 在亲体各组织中分布不均衡;对照组饲料中维生素 C 添加量较低,卵中积累的维生素 C 不能满足其繁殖需要,引起亲鱼肝脏中的维生素 C 大量被转移到卵巢中,造成对照组亲鱼卵巢中具有一定的维生素 C 蓄积量。

若干研究表明,维生素 C 之所以能有效改善亲鱼的繁殖性能,原因可能是:维生素 C 作为一种强抗氧化剂和自由基清除剂,能够保护亲鱼细胞免受氧化损伤,特别是保证亲鱼卵膜结构的完整性,保护卵中 DNA 不被氧化损坏,进而改善亲鱼性腺的发育和提高卵的质量,从而显著改善亲鱼的繁殖性能(艾春香等 2003; Bromage *et al.* 1992)。本试验对大菱鲆亲鱼各组织中的 SOD 活性和 MDA 含量的测定,反映了维生素 C 在大菱鲆亲鱼机体内较好地发挥了抗氧化作用的生理功能。在亲鱼体内有较高维生素 C 含量时,肌体氧化压力减小,使得诱导性酶 SOD 活性升高,从而维持亲鱼体内自由基的产生和清除的动态平衡。另外,800mg/kg 组和 4800mg/kg 组亲鱼各组织中 SOD 活性大小为是血清<卵巢<肝脏,MDA 含量则相反;对照组亲鱼肝脏 SOD 活性最小,其次是血清,最大的为卵巢,MDA 含量则相反。这充分说明,维生素 C 在亲鱼各组织中分布不均衡,为了调节机体的新陈代谢及促进亲鱼卵巢的正常发育,肝脏和卵巢中积累较多的维生素 C,有效预防或阻止了肝脏和卵巢脂质过氧化,进而减少组织脂质过氧化反应中 MDA 的产生;同时由于对照组饲料维生素 C 含量较低,在亲鱼繁殖、性腺快速发育时,卵中需要大量的维生素 C,它能在卵巢中积累,此时肝脏中的维生素 C 也大量转移到卵巢中,造成对照组亲鱼肝脏 SOD 活性较小,MDA 含量较高。

综上所述,饲料中添加维生素 C 能显著提高大菱鲆亲鱼的性腺指数、相对产卵量、受精率和孵化率等;能显著提高大菱鲆亲鱼组织中维生素 C 的积累量;显著降低大菱鲆亲鱼组织中 SOD 活性,防止组织中脂质过氧化反应,从而显著降低亲鱼组织中 MDA 含量,进而改善大菱鲆亲鱼的繁殖性能。但由于实验条件限制,大菱鲆亲鱼营养强化期间,饲料中维生素 C 的最佳添加量,尚需进一步研究。

## 参 考 文 献

- 马爱军,陈超,雷霖霖,陈四清,庄志猛. 2005. 饲料蛋白质含量和 n-3 HUFA 水平对大菱鲆亲鱼产卵的影响. 海洋水产研究, 26(1): 7-12
- 王远红,吕志华,郑桂香,赵建民,范文斌. 2003. 大菱鲆的营养成分分析. 营养学报, 25(4): 438-440
- 艾春香,陈立侨,周忠良, Deng Glenn Y, 江洪波. 2003. 维生素 C、E 对中华绒螯蟹生殖性能的影响. 水产学报, 27(1): 62-68
- 朱建新,王印庚,刘慧,刘元刚,雷霖霖. 2004. 我国大菱鲆苗种生产现状及存在问题. 科学养鱼, 9: 1-2
- 常青,梁萌青,薛华,王爱波. 2002. 亲鱼营养的研究进展. 海洋水产研究, 23(2): 65-71
- 谢嘉华,杨儒明,陈雅瑜. 2006. 维生素 C 和 E 对金鲫生长及繁殖的影响. 泉州师范学院学报(自然科学), 24(4): 84-90
- 雷霖霖,梁萌青,刘新富,孟振. 2008. 大菱鲆营养成分与食用价值研究概述. 海洋水产研究, 29(4): 112-115
- Ai QH, Mai KS, Tan BP and 4 others. 2006. Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture 261(1): 327-336
- Ai QH, Mai KS, Zhang CX and 4 others. 2004. Effects of dietary vitamin C on survival, growth and immune response of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). Aquaculture 242(1-4): 489-500
- Bromage N, Jones J, Randall C and 5 others. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 100(1-3): 141-166
- Cahu CL, Gonilou-Coustans MF, Fakhfah M. 1991. The effect of ascorbic acid concentration in broodstock feed on reproduction of *Penaeus indicus*. ICES, Mariculture Committee Paper, 40



- Ciereszko A, Dabrowski K, Lin F, Liu L. 1999. Protective role of ascorbic acid against damage to male germ cells in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 56(2): 178-183
- Dabrowski K, Ciereszko A. 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish; endocrine regulation and gamete quality. Aquaculture Research 32: 623-638
- Emata AC, Borlongan IG, Damaso JP. 2000. Dietary vitamin C and E supplementation reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. Aquaculture Research 31(7): 557-564
- Eskelimen P. 1989. Effects of different diets on egg production and egg quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture, 79(1-4): 275-281
- Furuita H, Ishida T, Suzuki T and 3 others. 2009. Vitamin content and quality of eggs produced by broodstock injected with vitamins C and E during artificial maturation in Japanese eel *Anguilla japonica*. Aquaculture 289(3-4): 334-339
- Furuita H, Yamamoto T, et al. 2002. Effects of high levels of n-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 210: 323-333
- Furuita H, Tanaka H, Yamamoto T and 2 others. 2000. Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 187: 387-398
- Gunasekera KF, Lam J. 1997. Influence of dietary protein level on ovarian recrudescence in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*(L.). Aquaculture 149: 57-69
- Gunasekera KF, Shim T, Lam J. 1995. Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus*(L.). Aquaculture 134: 169-183
- Henrique MMF, Gomes EF, Gouillou-Coustans MF. 1998. Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture 161(1-4): 415-426
- Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H, Tacon AGJ. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197: 25-42
- Li YY, Chen WZ, Sun ZW. 2005. Effects of n-3 HUFA content in broodstock diet on spawning performance and fatty acid composition of eggs and larvae in *Plectorhynchus cinctus*. Aquaculture 245: 263-272
- Nelis HJ, De Leenheer AP, Merchie G and 2 others. 1997. Liquid chromatographic determination of vitamin C in aquatic organisms. Journal of Chromatography Science 35: 337-341
- Padh H. 1991. Vitamin C: Newer insights into its biochemical functions. Nutrition Reviews 9(3): 65-70
- Rainuzzo J R, Reitan KI, Olsen Y. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. Aquaculture 155: 103-115
- Sandnes K, Ulgenes Y, Braekkan OR, Utne F. 1984. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture 43: 167-177
- Santiago CB, Aldaba MB, Laron MA. 1983. Effect of varying dietary crude protein levels on spawning frequency and growth of *Sarotherodon niloticus* breeders. Fish Res J Philipp 8: 9-18
- Soliman AK, Jauncey K, Roberts RJ. 1986. The effects of dietary ascorbic acid supplementation on hatch ability survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus*(Peters). Aquaculture 59: 197-208
- Thompson P, White A, Fletcher TC and 2 others. 1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. Aquaculture 114: 1-18
- Waagbo R, Thorsen T, Sandnes K. 1998. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture International 6: 357-367
- Wang XJ, Kim KW, Bai SC and 2 others. 2003. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). Aquaculture 215(1-4): 21-36
- Watanabe T, Vassallo-Aglius R. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. Aquaculture 227: 35-61
- Wouters R, Gomez L, Lavens P, et al. 1999. Feeding enriched *Artenia* biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: its effect on reproductive performance and larval quality. Journal of Shellfish Research 18(2): 651-656