

饲料中不同水平维生素 A 对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能及后代质量的影响

肖登元^{1,2} 梁萌青^{1*} 王新星¹ 郑珂珂¹ 赵敏^{1,2} 李庆华³

(¹ 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(² 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

(³ 海阳黄海水产有限公司, 烟台 261418)

摘要 在饲料中分别添加0、20、100 IU/g的维生素A(视黄醇乙酸酯形式)配制成Ac、Al和Ah 3种试验饲料饲喂3龄半滑舌鲷亲鱼[雌性(1.58±0.18) kg/尾、雄性(0.20±0.05) kg/尾]70 d,探讨饲料中不同水平的V_A对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能的影响。结果显示,Al组和Ah组雌鱼性腺成熟率均要高于Ac组;相对产卵量Al组最高,Ac组最低;Al和Ah组的受精率和孵化率均显著高于Ac组($P < 0.05$);Al组的卵上浮率、初孵仔鱼长度、仔鱼的成活率和仔鱼生存活力指数(SAI)均显著高于Ac组和Ah组($P < 0.05$);随饲料中V_A的增加仔鱼畸形率虽有增加趋势,但无显著性差异($P > 0.05$);而卵巢、肝脏和卵子中V_A的含量和血清中SOD的活性均随饲料中V_A的增加而显著提高($P < 0.05$)。此外,Al组和Ah组卵子中维生素C的含量以及卵子脂肪酸中n-3HUFA、n-6PUFA和PUFA的含量均要高于Ac组。综上所述,饲料中添加适量V_A可促进半滑舌鲷亲鱼性腺的发育,提高产卵量,改进卵子和仔鱼的质量;本研究中Al组(20 IU/g)亲鱼的繁殖性能要优于Ac组(0 IU/g)和Ah组(100 IU/g)。

关键词 半滑舌鲷;亲鱼;维生素A;繁殖性能;卵子质量

中图分类号 X503.225 **文献标志码** A **文章编号** 1000-7075(2014)03-0050-10

Effects of dietary vitamin A supplementation on the reproduction and offspring quality of tongue sole *Cynoglossus semilaevis*

XIAO Deng-yuan^{1,2} LIANG Meng-qing^{1*} WANG Xin-xing¹
ZHENG Ke-ke¹ ZHAO Min^{1,2} LI Qing-hua³

(¹ Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(² College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

(³ Haiyang Huanghai Aquatic Ltd Corp, Yantai 261418)

ABSTRACT This study evaluated the effects of vitamin A supplementation on the reproduction and offspring quality of tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. Broodstock (females, average weight 1.58 kg; males, average weight 0.2 kg) were fed with one of the three diets (Ac, control, no vitamin A supplementation; Al, 20 IU/g vitamin A as retinol acetate; and Ah, 100 IU/g vitamin A as retinol acetate) for 10 weeks at water temperature of 19 – 25°C. Results showed that female gonad mature

鲆鲽类产业技术体系研究专项经费(CARS-50-G08)资助

* 通讯作者。E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn

收稿日期:2013-06-08;接受日期:2013-07-09

作者简介:肖登元(1988-),男,硕士研究生,主要从事水产营养与饲料研究。E-mail: xiaodengyuan@yahoo.cn

rates (GMA) in the Al and Ah groups were higher than that of the Ac group. The relative fecundity in the Al group was the highest (1.57×10^5 ind./kg), while that in the Ac group was the lowest (1.00×10^5 ind./kg). Hatching and fertilization rate in the Al and Ah groups were significantly higher than those in the Ac group ($P < 0.05$). Buoyant eggs rate, larvae length, larvae survival rate and survival activity index of larvae (SAI) were the highest in the Al group. The dietary vitamin A supplementation increased the abnormal larvae ratio, but the effect was not significant ($P > 0.05$). Vitamin A content in the tissues and eggs and activity of the superoxide dismutase (SOD) in serum were significantly increased with the increasing dietary vitamin A level ($P < 0.05$). In addition, compared to those in the control group, vitamin C levels in the eggs were significantly higher in the two treatment groups ($P < 0.05$); and the oxidation resistance of the eggs increased in the two treatment groups. The levels of n-3HUFA, n-6PUFA and PUFA in the eggs in the Al and Ah groups were all higher than those in the Ac group. These results demonstrated that the proper amount of vitamin A supplemented in the diet may promote the development of broodstock gonads and improve the quality of the eggs and larvae. The broodstock in the Al group (20 IU/g) had the best reproductive performance compared to those in the Ac and Ah groups.

KEY WORDS *Cynoglossus semilaevis*; Broodstock; Vitamin A; Reproductive performance; Egg quality

半滑舌鳎 *Cynoglossus semilaevis* (Gunther 1873) 属鲽形目 Pleuronectiformes、舌鳎科 Cynoglossidae、舌鳎属 *Cynoglossus*, 俗称牛舌头、鳎目、鳎米等, 主要分布于渤海、黄海, 是我国重要的名贵海水鱼类, 也是近海增养殖对象(李思忠等 1995)。自 2002-2003 年首次完成半滑舌鳎规模化人工繁育技术的研究以来, 半滑舌鳎鱼苗的获取由野外捕捞转向人工育苗, 半滑舌鳎被广泛用于人工工厂化养殖, 是我国北方海水养殖重点品种(柳学周等 2006a; 马静等 2012; 吕庆凯等 2012)。近年来, 在半滑舌鳎人工育苗过程中亲鱼的繁殖性能较差, 以及仔稚鱼质量降低的问题越来越严重, 人工育苗出苗率仅在 30% 左右(刘振华等 2007; 柳学周等 2006a; 朱丽华等 2011), 并且苗质较差, 成为制约其养殖业进一步发展的瓶颈。到目前为止, 我国半滑舌鳎亲鱼养殖所用的饵料主要是冰鲜杂鱼, 目前还没有专门的半滑舌鳎亲鱼饲料。

亲鱼作为鱼类生理的特殊阶段, 其营养需求相比其他生理阶段存在着较大差异, 例如: 虹鳟亲鱼对维生素 C 的需要量是其幼鱼的 9 倍(王吉桥等 2002)。此外, 亲鱼营养状况好坏会直接影响到繁殖性能和仔鱼的质量, 在繁殖季节前对亲鱼进行为期几周或更长时间的营养强化有助于提高亲鱼的繁殖性能和苗种质量(Izquierdo *et al.* 2001)。维生素 A (V_A) 作为维持动物正常生理机能必不可少的有机物质, 对亲鱼的繁殖能力的影响巨大; 在繁殖季节前对亲本进行 V_A 的营养强化有助于性腺发育、提高产卵量和卵中 V_A 含量、增强卵子和仔鱼质量(Furuita *et al.* 2001, 2003; Izquierdo *et al.* 2001; Fontagne-Dicharry *et al.* 2010; Linan-Cabello *et al.* 2003)。与此同时饲料中过低水平或过高水平的 V_A 均不利于亲鱼的繁殖, 尤其是受精卵在胚胎期发育期间(Furuita *et al.* 2001, 2003; Fontagne-Dicharry *et al.* 2010), 亲鱼饲料中适当、合理的 V_A 添加量对亲鱼培育尤为重要。

本研究以 3 龄半滑舌鳎亲鱼为研究对象, 研究饲料中添加不同水平 V_A 对半滑舌鳎亲鱼繁殖性能以及仔鱼质量的影响, 为半滑舌鳎人工育苗和亲鱼饲料配制提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及实验饲料

本研究在海阳市黄海水产有限公司进行, 试验用的 3 龄半滑舌鳎亲鱼也来源于该公司。在亲鱼繁殖产卵

季节前2-3月(7月初)从亲鱼培育池中随机选出33尾性腺未明显发育的雌性亲鱼(1.58 ± 0.18) kg和33尾雄性亲鱼(0.20 ± 0.05) kg,随机分配到3个水泥池中($3.0 \text{ m} \times 2.5 \text{ m} \times 1.2 \text{ m}$),每个水泥池中雌鱼和雄鱼各11尾,亲鱼培育时间自2012年7月18日-2012年9月27日。

亲鱼基础饲料以鱼粉、酪蛋白为蛋白源,鱼油、豆油为脂肪源,基础饲料配方及营养组成见表1。本次试验分为3个试验组:Ac组(对照组)、Al组(V_A 低添加量)、Ah组(V_A 高添加量)。Ac组直接采用基础饲料,Al组和Ah组通过在基础饲料中添加不同水平 V_A 制成两种试验饲料;Al试验饲料添加20 IU/g V_A ,Ah试验饲料添加100 IU/g V_A 。饲料中的 V_A 以视黄醇乙酸脂的形式先混匀到鱼油中,再与鱼油一起添加到饲料中,添加的视黄醇乙酸脂来源于阿拉丁试剂(上海)有限公司,规格是USP/EP,产品中视黄醇乙酸脂含量在99%以上。饲料在制备前固体原料均过60目筛,所有原料充分混合均匀后,压制直径为6 mm的颗粒饲料,烘干后储存在冰箱中备用。

表1 试验饲料配方组成及营养组成

Table 1 Diet formulation and proximate composition

| 成分组成 | Ingredients | Ac(对照组 Control) | Al (20 IU/g) | Ah (100 IU/g) | 成分组成 | Ingredients | Ac(对照组 Control) | Al (20 IU/g) | Ah (100 IU/g) |
|-------|--|--------------------|-----------------|------------------|--------|-----------------------------|--------------------|-----------------|------------------|
| 鱼粉 | Fish meal(%) | 70.0 | 70.0 | 70.0 | 复合维生素 | Vitamin premix(%) | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 酪蛋白 | Casein(%) | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 复合矿物质 | Mineral premix(%) | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 高筋粉 | Wheat gluten meal(%) | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 维生素A | Vitamin A(IU/g) | - | 20.0 | 100.0 |
| 磷脂 | Phospholipid(%) | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 营养成分分析 | Proximate composition(% DM) | | | |
| 鱼油 | Fish oil(%) | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 粗蛋白 | Protein(% DM) | 57.47 | 58.16 | 57.72 |
| 大豆油 | Soybean oil(%) | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 粗脂肪 | Lipid(% DM) | 11.75 | 11.97 | 11.75 |
| 胆碱 | Choline(%) | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 灰分 | Ash(% DM) | 18.21 | 17.27 | 17.65 |
| 磷酸二氢钙 | Ca(H ₂ PO ₄) ₂ (%) | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 能量 | Energy(MJ/kg) | 19.54 | 19.83 | 19.78 |
| 维生素C | Vitamin C(%) | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 维生素A | Vitamin A(IU/g) | 46.38 | 64.13 | 135.61 |

注:复合维生素(mg/kg or g/kg 饲料):硫胺素25 mg;核黄素45 mg;盐酸吡哆醇20 mg;维生素B₁₂ 0.1 mg;维生素K₃ 10 mg;肌醇800 mg;泛酸60 mg;烟酸200 mg;叶酸20 mg;生物素1.20 mg;维生素A 32 mg;维生素D 5 mg;维生素E 120 mg;次粉18.67 g
复合矿物质(mg/kg or g/kg 饲料):氟化钠2 mg;碘化钾0.8 mg;氯化钴50 mg;硫酸铜10 mg;硫酸铁80 mg;硫酸锌50 mg;硫酸镁1200 mg;磷酸二氢钙3000 mg;氯化钠100 mg;沸石粉15.51 g

Note: Vitamin premix (mg/kg or g/kg diet): thiamine 25 mg, riboflavin 45 mg, pyridoxine 20 mg, vitamin B₁₂ 0.1 mg, menadione 10 mg, inositol 800 mg, pantothenate 60 mg, tocopherol acetate 200 mg, folic acid 20 mg, biotin 1.2 mg, vitamin A 32 mg, vitamin D 5 mg, vitamin E 120 mg, wheat flour 18.67 g

Mineral premix (mg/kg or g/kg diet): NaF 2 mg; KI 0.8 mg; CoCl₂ · 6H₂O 50 mg; CuSO₄ · 5H₂O 10 mg; FeSO₄ · 7H₂O 80 g; ZnSO₄ · 7H₂O 50 mg; MgSO₄ · 4H₂O 1200 mg; Ca (H₂PO₄)₂ · H₂O 3000 mg; NaCl 100 mg; Mordenzo 15.51 g

1.2 饲养管理以及样品收集

1.2.1 亲鱼饲养管理

亲鱼池培育水深80 cm,培育用水为砂滤海水;流水培育,日换水量为培育水体的2-5倍,连续充气,培育盐度30-33,pH值7.6-8.2,溶解氧保持在6 mg/L以上,总氨氮含量 ≤ 0.2 mg/L,水温控制在19-25℃;用遮光布和白炽灯调控光照强度和光照节律,光照时间由8 h逐渐变长至12 h(柳学周等 2006b)。试验开始前先暂养7 d,暂养期间各实验组均投喂Ac组饲料,暂养结束后分别投喂对应试验饲料,初期投喂量为体重的2%-3%(柳学周等 2006b),随后观察亲鱼实际摄食量后确定最终的投喂量。试验期间每天饱食投喂两次(06:00、19:00),投食结束0.5 h后排水1/2,再加入砂滤海水继续流水培育,亲鱼培育期持续70 d(7月18日-9月26日)。待亲鱼培育期结束,统计出各试验组亲鱼的存活率和雌鱼性腺成熟率。

1.2.2 仔鱼培育

亲鱼培育期结束后,每个试验组选取发育良好的雌性亲鱼5尾注射LRH-A₂(促黄体素释放激素A₂)人工催产,统计所有产卵亲鱼的相对产卵量。将人工催产的卵子人工受精后加入海水静置10-15 min待卵子上下

分层后,取上浮卵入大水泥池中孵化网箱中孵化(柳学周等 2005)。孵化时采用静水培育,24 h 连续充气,水温控制在 22 - 24℃,盐度 30 - 33, pH 值 8.0 - 8.2,溶氧量 5 mg/L 以上,总氨氮 ≤ 0.1 mg/L,光照强度 100 - 500 lx(柳学周等 2005)。孵化期间每 12 h 吸底 1 次,清除沉卵。在孵化网箱中孵化 30 h 后,每个试验组取上浮卵 100 ml 布入 4 个圆形玻璃缸(直径 180 cm、高 125 cm)中,每个缸布 25 ml。圆形玻璃缸中培育水为砂滤海水,水深 60 cm,微充气,水温控制在 22 - 24℃,盐度 30 - 32, pH 值 7.9 - 8.2,溶氧量 6 mg/L 以上,总氨氮 ≤ 0.1 mg/L;光照强度控制在 500 lx 以内,光线均匀、柔和(柳学周等 2005)。再经过 3 - 4 h 后仔鱼开始破膜而出。出苗后前 5 天逐渐加水至满,以后采取流水方式换水,并随鱼苗的生长逐渐增大换水量,10 日龄时换水率为 50%,20 日龄时增至 100%(柳学周等 2006b)。开口前加入小球藻保持浓度为 3×10^8 cell/L 左右(刘振华等 2007);3 - 15 日龄,投喂轮虫,每次投喂量 10 个/ml 左右;12 - 20 日龄,投喂卤虫无节幼体,每次投喂量 0.5 - 1.0 个/ml,每日投喂 3 次(柳学周等 2005)。

1.2.3 样品收集

亲鱼培育期结束后,每个试验组分别取 3 尾雌性亲鱼和 3 尾雄性亲鱼称重后,每尾雌性亲鱼采集 3 ml 血清;再将所选亲鱼解剖取性腺,称重后,采集卵巢、精巢和雌鱼肝脏与血清一起保存在 -80℃ 用于分析试验。人工催产期间每组分别取每尾亲鱼产出卵 1 ml 于培养皿,加海水测定卵子上浮率,重复 3 次;同时每组分别取每尾亲鱼产出卵 30 ml 存储液氮中用于分析试验。待卵子受精 2 h 后(杨景峰等 2010),分 3 次从孵化网箱 3 个不同区域采集上浮卵测定卵子受精率和卵径,每次取 100 粒上浮卵统计受精率和 20 粒卵测量卵径。在仔鱼出膜前,从每个试验组的孵化网箱中取 1 ml 上浮卵,加入到盛有海水的烧杯(1 L)中,每个试验组 3 个重复,待仔鱼完全出膜后统计每个烧杯中孵化率和初孵仔鱼畸形率。初孵仔鱼畸形是指尾部弯曲、脊柱弯曲的个体。育苗期间统计每个圆形玻璃缸中仔鱼的 3 d 成活率和 7 d 成活率;同时每个试验组选取 100 尾正常初孵仔鱼放入塑料桶中加水 5 L,3 个重复,每天换水 1/3,不加温、不投喂,测定每天死亡数,直到所有仔鱼全部死亡,计算 SAI(生存活力指数)值(Zakeri *et al.* 2011)。仔鱼孵出后,在每个圆形玻璃缸中每天随机选取 10 尾仔鱼测体长(每隔 24 h 测 1 次),连续测量 12 d。

1.3 分析方法

1.3.1 饲料常规分析

饲料样品在 105℃ 烘干至恒重,通过失重法测定干物质含量,参照国家标准 GB/T 6435-1986;粗蛋白参照国家标准 GB/T 6432-1994,采用凯式定氮法(VELP, UDK142 automatic distillation unit);粗脂肪参照国家标准 GB/T 6433-1994,采用索氏抽提法,以石油醚为抽提液进行测定(丹麦 FOSS 脂肪测定仪 SOXTEC 2050);灰分参照国家标准 GB/T 6438-1992,在马福炉中 550℃ 燃烧 3 h 测定;能量的测定方法采用美国 PARR 氧弹量热仪(PARR 6100)。

1.3.2 脂肪酸分析

使用 Agilent 7890A 型气相色谱仪分析测定脂肪酸的组成。色谱柱为 DB-FFAP(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m)毛细管色谱柱,分析采用程序升温控制。70℃ 初始化 3 min,然后以 3℃/min 的速度提升到 220℃,保持 33 min。检测器的温度设置为 280℃,样品进样口温度 220℃。根据标准脂肪酸(购自 Supelco, Lot No. LA-98232)保留时间确定样品脂肪酸种类,峰面积采用归一法进行定量测定。测定结果以每种脂肪酸分别占总脂肪酸的百分比表示。

1.3.3 维生素 A、维生素 C 分析

饲料中 V_A 含量的测定参照国家标准 GB/T 17817-2010,采用高效液相色谱法(HPLC)。组织中的 V_A 含量参照谭青松等(2007)的测量方法,采用高效液相色谱法。卵中 V_C 含量测定参照 Ai 等(2004)组织中 V_C 含量的测量方法,采用高效液相色谱法。

1.4 计算公式及数据分析

相对产卵量 = 总产卵量 / 亲鱼体重

上浮卵率 = 上浮卵量/总产卵量 × 100%

受精率 = 受精卵/受精 2 h 后的上浮卵量 × 100%

孵化率 = 初孵仔鱼数/受精卵数 × 100%

3 d 成活率 = 3 龄仔鱼存活数/仔鱼总数 × 100%

7 d 成活率 = 7 龄仔鱼存活数/仔鱼总数 × 100%

仔鱼畸形率 = 畸形仔鱼数/仔鱼总数 × 100%

雌鱼性指数 = 卵巢质量/亲鱼体重

雄鱼性指数 = 精巢质量/亲鱼体重

GMR(性腺成熟率, *Gonad Mature Rate*): 雌性亲鱼体长与性腺长之比达到 0.51 以上, 即性腺发育到达 5 期或 5 期以后的雌性亲鱼所占比例。

$$SAI(\text{生 存 活 力 指 数, Survival Activity Index}) = \sum_{i=1}^k (N - h_i) \times i/N$$

N 为实验开始时的仔鱼数; h_i 为第 i 天的仔鱼死亡累积数量, k 为生存尾数为 0 时的天数。

数据以平均值 ± 标准差表示, 采用 SPSS 17.0 软件包处理数据, 做单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 差异显著后进行 Tukey 多重比较, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 V_A 对半滑舌鲷亲鱼成活率和性腺发育的影响

V_A 对半滑舌鲷亲鱼性腺发育的影响见表 2。由于试验用鱼一直采用人工饲料喂养, 所以试验期间亲鱼对饲料的适应性较好。亲鱼喂养期结束时各试验组雌鱼存活率在 80% 以上, 其中 Ac 和 Ah 组存活率在 90% 以上; 雄鱼存活率则均在 90% 以上, 其中 Ah 组存活率达到了 100%。培育期亲鱼的死亡主要源于倒鱼过程中对

表 2 维生素 A 对半滑舌鲷亲鱼成活率和性腺发育的影响

Table 2 Effects of dietary vitamin A on the survival rate and gonad development of *Cynoglossus semilaevis* broodstocks

| 项目 Items | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 雌鱼存活率 Female survival rate(%) | 90.91 | 81.82 | 90.91 |
| 雄鱼存活率 Male survival rate(%) | 90.91 | 90.91 | 100.00 |
| 性腺成熟率 Gonad mature rate(%) | 54.55 | 70.00 | 72.73 |
| 雌鱼性指数 Female sex index(%) | 27.82 ± 2.40 | 28.93 ± 2.52 | 31.85 ± 1.12 |
| 雄鱼性指数 Male sex index(%) | 0.35 ± 0.03 ^a | 0.41 ± 0.07 ^{ab} | 0.49 ± 0.04 ^b |

注: 同一行中数据中具有不同上标表示差异显著 ($P < 0.05$), 下表同

Note: Data within the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$), Same in the following tables

亲鱼的刺激, 引起应激反应造成。两个 V_A 强化的试验组 (Al 组、Ah 组) 雌性亲鱼的 *GMR* 达到了 70% 以上, 而对照组 (Ac 组) 仅有 54.55%。此外, 亲鱼的性指数随着饲料中 V_A 添加量的增加呈上升趋势, 雌亲鱼性指数并没有显著性差异 ($P > 0.05$), 雄亲鱼性指数在 Ah 组和 Ac 组之间有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 饲料中 V_A 对半滑舌鲷卵子及仔鱼质量的影响

饲料中添加不同水平 V_A 对半滑舌鲷卵子及仔鱼质量的影响见表 3。3 个试验组中亲鱼相对产卵量最大值出现在 Al 组, 达到 1.57×10^5 粒/kg, 显著高于 Ac 组和 Ah 组 ($P < 0.05$), Ah 组则显著高于 Ac 组 ($P < 0.05$); 与此同时, Al 组的卵子的上浮率也是最高, 显著高于 Ac 组和 Ah 组 ($P < 0.05$), Ah 组的卵子上浮率也要显著高于 Ac 组 ($P < 0.05$); Ac 组和 Al 组的卵径无显著性差异 ($P > 0.05$), 但显著高于 Ah 组 ($P < 0.05$); 各试验组的受精率均在 80% 以上, 其中 Ah 组最高为 93.67%, Ac 组则最低也达到了 80.49%, 各试验组之间差异显著 ($P < 0.05$); 孵化率最高的是 Ah 组, 达到了 91.05%, Al 组次之, 也达到了 84.27%; Ac 组最低只有 76.52%, 显著低于 Al 组和 Ah 组 ($P < 0.05$)。此外, 3 个试验组在仔鱼畸形率上虽无显著性差异 ($P > 0.05$),

但随着饲料 V_A 量的增加有上升的趋势,Ah 组达到最大值;Al 组的初孵仔鱼全长最长为 3.32 mm,Ah 组次之,为 3.20 mm,Ac 组最小为 2.92 mm,各试验组之间差异显著($P < 0.05$);Al 组的 3 d 和 7 d 成活率分别达到了 79.00% 和 56.28%,显著高于 Ac 组和 Ah 组($P < 0.05$),Ac 组和 Ah 组两组之间无显著性差异($P > 0.05$);仔鱼的 SAI Al 组最大为 16.49,显著高于 Ac 组的 14.27 和 Ah 组的 13.25($P < 0.05$),Ac 组和 Ah 组两组之间则无显著性差异($P > 0.05$)。

表 3 不同水平维生素 A 对半滑舌鲷卵子及仔鱼质量的影响

Table 3 Effects of different levels of vitamin A on the quality of egg and larvae of tongue sole

| 项目 | Items | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|--------|------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 相对产卵量 | Relative fecundity(10^5 ind/kg) | 1.00 \pm 0.09 ^c | 1.57 \pm 0.10 ^a | 1.30 \pm 0.21 ^b |
| 上浮卵率 | Buoyant egg ratio(%) | 48.03 \pm 3.13 ^c | 80.15 \pm 2.62 ^a | 61.43 \pm 2.48 ^b |
| 卵径 | Egg diameter (mm) | 1.29 \pm 0.03 ^a | 1.27 \pm 0.02 ^a | 1.19 \pm 0.02 ^b |
| 受精率 | Fertilization rate(%) | 80.49 \pm 2.66 ^c | 85.84 \pm 0.83 ^b | 93.67 \pm 0.79 ^a |
| 孵化率 | Hatching rate(%) | 76.52 \pm 4.17 ^b | 84.27 \pm 2.58 ^a | 91.05 \pm 4.35 ^a |
| 仔鱼畸形率 | Abnormal larvae ratio(%) | 7.52 \pm 0.38 | 7.62 \pm 0.91 | 8.62 \pm 0.83 |
| 初孵仔鱼长度 | Larvae length(mm) | 2.92 \pm 0.08 ^c | 3.32 \pm 0.09 ^a | 3.20 \pm 0.06 ^b |
| 3 天成活率 | Survival rate of 3 DPH larvae(%) | 65.04 \pm 5.11 ^b | 79.00 \pm 6.63 ^a | 59.95 \pm 4.79 ^b |
| 7 天成活率 | Survival rate of 7 DPH larvae(%) | 38.76 \pm 1.65 ^b | 56.28 \pm 4.73 ^a | 36.77 \pm 3.23 ^b |
| 生存活力指数 | SAI | 14.27 \pm 0.45 ^b | 16.49 \pm 0.38 ^a | 13.25 \pm 0.91 ^b |

2.3 饲料中添加不同水平 V_A 对半滑舌鲷亲鱼组织 V_A 含量的影响

不同试验组的半滑舌鲷亲鱼组织中 V_A 含量测定结果见表 4。半滑舌鲷亲鱼各组织中 V_A 的含量与饲料中 V_A 量成正相关;肝脏和卵巢中 V_A 含量在各试验组之间差异显著($P < 0.05$),而精巢中 V_A 含量在 Ac 组和 Ah 组之间差异显著($P < 0.05$),Ac 组与 Al 组无显著差异($P > 0.05$),Ah 组与 Al 组无显著差异($P > 0.05$);半滑舌鲷亲鱼组织中 V_A 的存储量次序为肝脏 > 卵巢 > 精巢,肝脏中 V_A 存储量要远远高于卵巢和精巢,可见肝脏是半滑舌鲷亲鱼鱼体 V_A 主要存储部位。

表 4 饲料中维生素 A 对半滑舌鲷亲鱼卵巢、精巢和肝脏中维生素 A 含量影响

Table 4 Effects of dietary vitamin A on its concentration in ovary, testicle and liver of tongue sole broodstocks

| 项目 | Items | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|----|----------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 卵巢 | Ovary(IU/g) | 4.05 \pm 0.28 ^c | 5.19 \pm 0.35 ^b | 6.91 \pm 0.47 ^a |
| 精巢 | Testicle(IU/g) | 2.12 \pm 0.60 ^b | 2.63 \pm 0.35 ^{ab} | 3.63 \pm 0.52 ^a |
| 肝脏 | Liver(IU/g) | 837.26 \pm 109.77 ^c | 1273.39 \pm 165.07 ^b | 1715.81 \pm 223.28 ^a |

表 5 饲料中维生素 A 对半滑舌鲷亲鱼血清中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

Table 5 Effects of dietary vitamin A on the SOD activity and MDA content in serum of tongue sole broodstocks

| 血清 | Serum | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|-----|-----------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| SOD | (U/ml) | 134.92 \pm 3.99 ^b | 184.59 \pm 10.52 ^a | 198.32 \pm 9.53 ^a |
| MDA | (nmol/ml) | 34.20 \pm 4.69 ^a | 21.64 \pm 2.62 ^b | 15.09 \pm 2.44 ^b |

2.4 饲料中不同水平 V_A 对半滑舌鲷雌性亲鱼血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的影响

不同试验组的半滑舌鲷雌性亲鱼血清中 SOD 活性和 MDA 含量见表 5。数据显示,半滑舌鲷雌性亲鱼血清中 SOD 活性随饲料中 V_A 的增加而增加,Ah 组最高,为 198.32 U/ml;MDA 含量则正好相反,随饲料中 V_A 的增加而降低,Ah 组最小,为 15.09 nmol/ml,Ac 组最高,为 34.20 nmol/ml。血清中 SOD 活性和 MDA 含量在 Ac 组与两个 V_A 营养强化组(Al 组和 Ah 组)之间均差异显著($P < 0.05$),而两个营养强化组之间无显著性差异($P > 0.05$)。

2.5 饲料中添加不同水平 V_A 对半滑舌鲷卵子生化成分的影响

不同试验组半滑舌鲷卵子主要营养成分和 V_A 、 V_C 含量见表6、表7。由表6可见,干物质、粗蛋白和粗脂肪随饲料中 V_A 含量增加而增加,其中 Ah 组的干物质含量显著高于 Ac 组和 Al 组 ($P < 0.05$), Ac 组和 Al 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$); 而粗蛋白和粗脂肪

各组之间差异显著 ($P < 0.05$)。表7为各组卵子 V_A 和 V_C 的含量。 V_A 含量随饲料中 V_A 的增加而增加, Ah 组值最大,为 0.77 IU/g, 显著高于 Ac 组和 Al 组 ($P < 0.05$), 而 Ac 组和 Al 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$); V_C 在对照组 (Ac 组) 和 V_A 营养强化组 (Al 组和 Ah 组) 之间差异显著 ($P < 0.05$), 两个营养强化组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), Al 组值最大 (17.04 $\mu\text{g/g}$)。

表6 饲料中维生素 A 对半滑舌鲷卵子化学成分的影响

Table 6 Effects of dietary vitamin A on the chemical composition of eggs

| 项目 Items | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|-----------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 干物质 Dry matter (%) | 4.90 \pm 0.41 ^b | 5.48 \pm 0.84 ^b | 6.99 \pm 0.51 ^a |
| 粗蛋白 Crude protein (%) | 2.84 \pm 0.04 ^c | 3.21 \pm 0.07 ^b | 4.08 \pm 0.04 ^a |
| 粗脂肪 Crude fat (%) | 0.99 \pm 0.03 ^c | 1.07 \pm 0.03 ^b | 1.33 \pm 0.16 ^a |

表7 饲料中维生素 A 对半滑舌鲷卵子中维生素 A 和 C 含量的影响

Table 7 Effects of dietary vitamin A on the concentrations of vitamin A and C in eggs

| 卵子 Eggs | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|--|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 维生素 A 含量 V_A concentration (IU/g) | 0.31 \pm 0.05 ^b | 0.43 \pm 0.09 ^b | 0.77 \pm 0.14 ^a |
| 维生素 C 含量 V_C concentration ($\mu\text{g/g}$) | 7.43 \pm 1.42 ^b | 17.04 \pm 2.91 ^a | 14.78 \pm 2.89 ^a |

表8 饲料中维生素 A 对半滑舌鲷卵子脂肪酸组成的影响(占脂肪酸总量%)

Table 8 Effects of dietary vitamin A on the fatty acid composition of eggs(% of total fatty acids)

| 脂肪酸 Fatty acid | Ac(对照组 Control) | Al(20 IU/g) | Ah(100 IU/g) |
|--|-----------------|-------------|--------------|
| 饱和脂肪酸 Total saturated fatty acid | 20.99 | 18.19 | 18.50 |
| 单不饱和脂肪酸 Total monounsaturated fatty acid | 26.30 | 22.82 | 23.92 |
| 亚油酸 C18:2n-6 | 5.91 | 7.86 | 7.70 |
| 亚麻酸 C18:3n-3 | 0.81 | 0.93 | 0.90 |
| 花生四烯酸 C20:4n-6(AA) | 0.23 | 1.14 | 1.11 |
| 二十碳五烯酸 C20:5n-3(EPA) | 5.85 | 7.42 | 6.94 |
| 二十二碳六烯酸 C22:6n-3(DHA) | 14.76 | 16.91 | 16.45 |
| n-3PUFA 总量 Total n-3PUFA | 22.95 | 26.90 | 25.77 |
| n-3HUFA 总量 Total n-3HUFA | 23.00 | 26.97 | 26.44 |
| n-6PUFA 总量 Total n-6PUFA | 6.53 | 9.40 | 9.24 |
| n-3/n-6PUFA | 3.51 | 2.86 | 2.79 |
| EPA/DHA | 0.40 | 0.44 | 0.42 |
| EPA/AA | 25.43 | 6.51 | 6.25 |

注:n-3PUFA:18:3n-3、16:4n-3、18:4n-3、20:5n-3、22:6n-3;n-3HUFA:20:5n-3、22:6n-3;n-6PUFA:C18:2n-6、C20:4n-6

不同试验组半滑舌鲷卵子中主要脂肪酸组成见表8。对照组 (Ac 组) 中饱和脂肪酸 (20.99%) 和单不饱和脂肪酸 (26.30%) 高于两个营养强化组 (Al 组和 Ah 组), 反之, 则 Al 组和 Ah 组中卵子的多不饱和脂肪酸 (PUFA) 占脂肪总量的百分比要高于 Ac 组。对于亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸 (AA)、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA), 随着饲料 V_A 的添加有增加趋势。

2.6 不同水平 V_A 对半滑舌鲷仔鱼生长的影响

图1为各实验组半滑舌鲷仔鱼从初孵仔鱼、1日龄、3日龄、7日龄和12日龄体长的生长情况。从初孵仔

鱼-3日龄仔鱼生长较快,在此期间仔鱼体长为Al组>Ah组>Ac组,各组之间的体长差增大;3日龄-7日龄仔鱼生长减慢,此期间仔鱼体长仍然是Al组>Ah组>Ac组,但Ah组和Ac组仔鱼体长差异逐渐减小;7日龄-12日龄仔鱼生长有所加快,Ac组仔鱼生长速度超过Ah组,在12日龄仔鱼体长是Al组>Ac组>Ah组。

3 讨论

V_A 是陆生动物繁殖和胚胎发育过程中不可缺少的微量营养元素 (Clagett-Dame *et al.* 2002), 对亲鱼繁殖性能和亲鱼需求量方面的研究较少。本研究中3个试验组经过70 d的营养强化后,两个 V_A 营养强化试验组亲鱼性腺成熟率和性指数等方面均优于对照组,这一结果与Linan-Cabello等(2003)在凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 上研究结论一致,表明 V_A 可促进半滑舌鲷性腺的发育、提高繁殖性能。两个 V_A 营养强化试验组除了性腺的发育优于对照组(0 IU/g)外,其亲鱼相对产卵量也高于对照组,并且 V_A 的低添加组(20 IU/g)相对产卵量高达 1.57×10^5 粒/kg,显著高于对照组和 V_A 高添加组(200 IU/g) ($P < 0.05$)。这与Furuita等(2001、2003)前后两次牙鲆亲鱼的研究结果一致,在牙鲆亲鱼饲料中添加18.2 mg/kg V_A 醋酸盐(53 IU/g)时,亲鱼的产卵量有大幅度提高,从 47×10^6 粒提升到 102×10^6 粒,而当饲料中 V_A 由110 IU/g提升到3370 IU/g时,其产卵量并没有增加,反而有所下降。但与Fontagné-Dicharry等(2010)在虹鳟亲鱼的研究结果有一定的差别,在虹鳟亲鱼饲料中添加20 IU/g的 V_A ,其产卵量相对对照组无差异($P > 0.05$),而当添加量增加到200 IU/g时,虹鳟亲鱼的产卵量有显著增加($P < 0.05$)。这种差异与鱼的种类有关,不同鱼类对 V_A 的需求、敏感度和耐受能力不同,对半滑舌鲷亲鱼而言,饲料中添加20 IU/g更有利于提高亲鱼产卵量。

亲鱼营养的好坏会直接影响卵子质量,饲料中营养成分也会影响卵子质量(Furuita *et al.* 2001、2003; Fontagne-Dicharry *et al.* 2010)。本研究对卵质参数的统计发现,两个 V_A 营养强化试验组卵子的上浮率、受精率和孵化率等参数均显著高于对照组($P < 0.05$),与Furuita等(2001)在牙鲆亲鱼上的研究结果一致,均显示 V_A 可促进卵子的上浮和受精卵孵化。而在斑马鱼(Herrmann 1995)、虹鳟(Fontagne-Dicharry *et al.* 2010)和陆生动物(Akase *et al.* 2003)的研究中,却观察到饲料中高水平 V_A 会造成受精卵在胚胎期大量死亡的现象,在本研究中 V_A 高添加组中并没发现孵化率降低,反而随饲料中 V_A 添加量的增加有上升趋势。此外,在受精卵卵径的测量中还发现,饲料中添加高水平 V_A 会降低受精卵卵径,而对虹鳟亲鱼的研究结果却显示,饲料中 V_A 含量对其卵子的卵径并无影响(Fontagne-Dicharry *et al.* 2010)。卵子质量的好坏与卵中营养物质的组成密切相关,在对各试验组卵子营养成分测定中发现,亲鱼饲料中 V_A 可提高卵子干物质、粗蛋白和粗脂肪的含量。卵中蛋白质和脂肪是受精卵在胚胎发育期和仔鱼开口前期营养源的唯一来源,对提高受精卵和仔鱼发育至关重要(Izquierdo *et al.* 2001)。卵中 V_C 沉积量是评价鱼卵质量的重要指标(Dabrowski *et al.* 2001),本研究中两个 V_A 添加试验组中 V_C 含量均要高于对照,尤其是低添加组。关于 V_A 与 V_C 在生物机体内的相互作用关系在陆生动物上有一定的研究成果(丁丽敏等 2004),但 V_A 可提高鱼卵中干物质和 V_C 的含量在之前的研究中并未提及,至于作用机理还有待进一步研究。此外, V_A 不仅提高了卵中粗脂肪含量,而且影响卵中脂肪酸的组成。从对卵中脂肪酸组成分析来看,亲鱼饲料中添加除了 V_A 增加卵子中PUFA总含量外,还使卵子中AA、EPA、DHA、n-3PUFA总量和n-6PUFA总量均有所增加。亲鱼营养需求的研究已明确指出,卵中AA、EPA、DHA、n-3HUFA和n-6PUFA对于提高海水鱼精卵质量和仔鱼的发育起着重要作用(Dabrowski *et al.* 2001; Izquierdo *et al.* 2001; Fernández *et al.* 2008)。卵中PUFA的增加与卵中 V_C 和 V_A 含量的增加有关(韩磊等 2004;唐黎等 2011)。 V_C 具有较强的抗氧化性,能清除机体内自由基,阻止PUFA的脂质过氧化(唐黎等 2011),从而保证卵中PUFA含量。另外, V_A 分子中具有双烯共轭键,也可以清除自由基和过氧化物(韩磊等

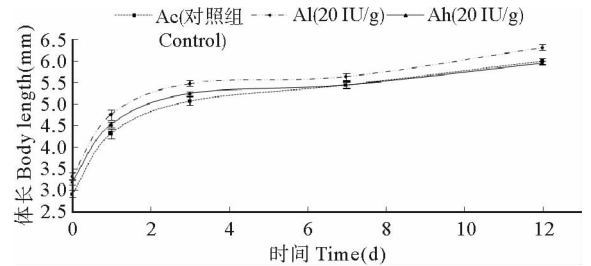


图1 半滑舌鲷仔鱼生长情况

Fig. 1 Growth of tongue sole larvae

2004)。本研究中对亲鱼血清的 SOD 活性和 MDA 含量测定显示,血清的 SOD 活性随饲料中 V_A 的增加而提升,而 MDA 则正好相反,这一结果也说明了 V_A 可增强机体和卵子的抗氧化性。卵中的抗氧化性提升,则从亲本中转运的不饱和脂肪酸的量也会随之增加。此外,在陆生动物中还证实 V_A 与机体中脂肪的含量和 DHA 的合成有关。研究表明, V_A 可以通过促进机体脂肪组织中核受体的表达来提高机体脂肪含量(Bainas *et al.* 2005);而 V_A 在机体内的代谢产物可以调控与 DHA 合成有关酶的目的基因的表达,影响机体 DHA 的合成(Zhou *et al.* 2004)。至于 V_A 其他 PVFA 之间的作用机理还有待更进一步的研究。卵子中 V_C 、PUFA 和必需脂肪酸的增加势必增强了卵子在发育过程中对外界环境的适应力和补充胚胎发育过程营养需求,从而相应地改善其卵子质量。

饲料中 V_A 除影响卵子质量外,还与仔鱼畸形有关,对仔稚鱼成骨作用及骨骼形成非常重要(Fernández *et al.* 2008)。在金头鲷仔稚鱼(Fernández *et al.* 2008)和牙鲆仔稚鱼(Dedi *et al.* 1995)的研究中,均发现仔稚鱼饲料中高剂量的 V_A 会使仔稚鱼畸形。但在牙鲆亲鱼(Furuita *et al.* 2001)和虹鳟亲鱼(Fontagne-Dicharry *et al.* 2010)的研究中,均没有发现亲鱼饲料中高水平 V_A 导致仔鱼畸形率显著升高($P < 0.05$)。这一研究结果与本研究统计结果一致,3 个试验组的仔鱼畸形率之间无显著差异($P > 0.05$)。此外,在本研究中还发现,仔鱼畸形率随饲料中 V_A 添加量的增加稍有上升趋势,Ah 组表现出最高畸形率,这与 Furuita 等(2003)在对牙鲆亲鱼的进一步研究中发现低水平的 V_A 更有利于日本牙鲆仔鱼骨骼发育的结果一致。仔鱼的畸形与卵子中 V_A 的含量有着直接相关,饲料中 V_A 的含量会同时影响亲鱼自身组织和卵子中 V_A 的含量(Furuita *et al.* 2001、2003;Fontagne-Dicharry *et al.* 2010)。 V_A 在鱼体内的主要沉积部位是肝脏,卵巢中的 V_A 来源于肝脏的转运(Furuita *et al.* 2001;王吉桥等 2002)。对亲鱼组织中 V_A 含量的测定结果显示,肝脏中 V_A 要远远高于卵巢和精巢,并且随饲料中 V_A 含量变化较大;而卵巢和精巢 V_A 含量虽然随饲料中 V_A 的增加显著增加($P < 0.05$),但其增加量被肝脏限制,增加量较小,即使是高水平添加(200 IU/g)并未引起卵巢和精巢中 V_A 大量增加。卵中 V_A 来源于卵巢,卵巢中 V_A 的含量直接影响卵中 V_A 的含量。试验中测定结果显示,卵中 V_A 的变化与卵巢一致,随饲料中 V_A 的增加显著增加($P < 0.05$),其增加量也较低。这与 Fontagné-Dicharry 等(2010)在虹鳟和 Furuita 等(2001)在牙鲆亲鱼上的研究结果一致,均指出提高亲鱼饲料中 V_A 含量,能相应提高卵子中 V_A 水平,且过量的 V_A 主要储存在亲鱼肝脏中,所以不会在卵子中大量沉积。卵中 V_A 的水平受肝脏限制,使受精卵在孵化过程中处在合理 V_A 水平下,从而保证受精卵和仔鱼的发育,因此在亲鱼 V_A 营养需求的研究中并没有观察到初孵仔鱼畸形率显著变化($P < 0.05$);但仔稚鱼中的 V_A 是直接从饵料中获取,饵料 V_A 含量过高会导致仔稚鱼机体内 V_A 沉积过高,从而使畸形率增加(Dedi *et al.* 1995;Fernández *et al.* 2008)。

海水鱼类的仔鱼从出膜到完全依赖外源性营养前,其生长和发育所需要的营养物质均来源于亲本产出的卵,因此仔鱼质量同样会受到亲鱼饲料的影响(Izquierdo *et al.* 2001)。本研究对仔鱼质量评估中发现 V_A 低添加组中仔鱼的 3 d、7 d 成活率和生存活力指数(SAI)要显著高于对照组($P < 0.05$),而 V_A 高添加组与对照组无显著差异($P > 0.05$)。仔鱼的 SAI 值的高低与仔鱼的质量有关,其值反映仔鱼活力,是育苗过程中评价仔鱼质量的重要指标(Mushiake *et al.* 1993)。Furuita 等(2001)在牙鲆研究中均发现,牙鲆仔鱼成活率和 SAI 与亲鱼饲料中 V_A 的水平有关,指出亲鱼饲料中添加 V_A 有利于提高仔鱼的成活率和活力。而在本研究中只观察到了 V_A 低添加有利于提高半滑舌鲷仔鱼的成活率和活力,高添加并未表现出积极的促进作用。

Fontagne-Dicharry 等(2010)在研究 V_A 对虹鳟亲鱼繁殖性能影响中提到,虹鳟仔鱼的生长性能与亲鱼饲料中 V_A 的水平有关。本研究中仔鱼生长情况与柳学周等(2005)在半滑舌鲷仔鱼摄食与生长中的研究结果一致,半滑舌鲷仔鱼 3 日龄开始摄食外源性营养物质,6 日龄仔鱼完全依赖外源性营养;从初孵仔鱼到 3 日龄为内源性营养阶段的快速生长,3 日龄到 6 日龄为混合营养阶段的慢速生长。3 组试验组中两个 V_A 营养强化试验组的初孵仔鱼长度优于对照组,并且在低添加组表现出最佳。仔鱼从初孵到 12 日龄的生长过程中,低添加组仔鱼的生长情况要优于对照组和高添加组,仔鱼体长始终大于其余两组,表现出较高的生长性能。高添加组仔鱼从初孵到开口前也表现出较高的生长性能,开口后仔鱼生长速度减慢,生长性能较差。由此可见本研究中亲鱼饲料中 V_A 的低添加量(20 IU/g)更有利于仔鱼的成活与生长发育,高添加量(100 IU/g)对仔鱼生长发育有一定的促进作用,但同时也降低了仔鱼的成活率和开口后的生长性能。

综上所述,在饲料中添加一定量的 V_A 对半滑舌鲷亲鱼的繁殖性能有积极的促进作用,会促进半滑舌鲷亲

鱼性腺的发育,影响卵子和仔鱼的质量。在本研究的3个试验组中低添加组(20 IU/g)的亲鱼繁殖性能和卵子质量要优于对照组(0 IU/g)和高添加组(100 IU/g)。

参 考 文 献

- 丁丽敏,张日俊. 2004. 维生素A最适需要量的研究进展. 饲料工业, 25(10): 14-19
- 马静,秦帮勇,于朝磊. 2013. 卤虫无节幼体的营养强化对半滑舌鲷稚鱼生长、消化酶及相关激素水平的影响. 渔业科学进展, 33(5): 35-43
- 王吉桥,张欣,刘革利. 2002. 亲鱼营养状况对繁殖效果的影响. 现代渔业信息, 17(1): 23-27
- 朱丽华,王君霞. 2011. 半滑舌鲷人工繁殖试验. 河北渔业, (5): 51
- 刘振华,马峰,郑世竹. 2007. 半滑舌鲷人工育苗技术研究. 河北渔业, (9): 45-48
- 李思忠,王惠民, 1995. 中国动物志硬骨鱼纲 鲷形目. 北京:科学出版社, 68-334
- 吕庆凯,梁萌青,郑珂珂. 2013. 饲料中添加不同脂肪源对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能和仔鱼质量的影响. 渔业科学进展, 34(5): 44-52
- 杨景峰,陈松林,翟介明,田永胜,苏鹏志,孙丽娟. 2010. 半滑舌鲷人工催产技术研究. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 25(2): 185-190
- 柳学周,庄志猛,马爱军,陈四清,孙中之,梁友,刘寿堂,翟介明,曲建忠. 2006a. 半滑舌鲷苗种生产技术的开发研究. 海洋水产研究, 27(2): 17-24
- 柳学周,孙中之,马爱军,梁友,庄志猛,兰功刚. 2006b. 半滑舌鲷亲鱼培育及采卵技术研究. 海洋水产研究, 27(2): 25-32
- 柳学周,庄志猛,马爱军,陈四清,孙中之,梁友,徐永江. 2005. 半滑舌鲷繁殖生物学及繁育技术研究. 海洋水产研究, 26(5): 7-14
- 唐黎,李辉,牟洪民,姚俊杰,安苗. 2011. 鱼类维生素C营养的研究概况. 饲料工业, 32(12): 56-60
- 韩磊,马爱国,梁惠. 2004. 不同剂量维生素A摄入对大鼠DNA损伤的影响. 中国公共卫生, 20(8): 943-945
- 谭青松,付洁,何瑞国. 2007. 高效液相色谱法测定鱼样中的维生素A、维生素D₃和维生素E. 动物营养学报, 19(5): 636-640
- Akase T, Yamashina S, Onodera S and 2 others. 2003. Effects of liver supplemented food on the development of embryos in mice. Biol Pharmacol Bull 26: 553-556
- 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: 489-500
- Bairras C, Menard L, Redonnet A and 5 others. 2005. Effect of vitamin A content in cafeteria diet on the expression of nuclear receptors in rat subcutaneous adipose tissue. J Physiol Biochem 61(2): 353-361
- Clagett-Dame M, DeLuca HF. 2002. The role of vitamin A in mammalian reproduction and embryonic development. Annu Rev Nutr 22: 347-381
- Dabrowski K, Ciereszko A. 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. Aquacult Res 32(8): 623-638
- Dedi J, Takeuchi T, Seikai T, and 1 other. 1995. Hypervitaminosis and safe levels of vitamin A for larval flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed *Artemia nauplii*. Aquaculture 133(2): 135-146
- Fernández I, Hontoria F, Ortiz-Delgado JB and 4 others. 2008. Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with graded levels of Vitamin A enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*). Aquaculture 283(1-4): 102-115
- Fontagne-Dicharry S, Lataillade E, Surget A and 3 others. 2010. Effects of dietary vitamin A on broodstock performance, egg quality, early growth and retinoid nuclear receptor expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 303(1-4): 40-49
- Furuita H, Tanaka H, Yamamoto T and 2 others. 2001. Effects of high dose of vitamin A on reproduction and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Fish Sci 67(4): 606-613
- Furuita H, Yamamoto T, Shima T and 2 others. 2003. Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture 220(1-4): 725-735
- Herrmann K. 1995. Teratogenic effects of retinoic acid and related substances on the early development of the zebrafish (*Brachydanio rerio*) as assessed by a novel scoring system. Toxicol in Vitro 9(3): 267-283
- Izquierdo MS, Fernández-Palacios H, Tacon AGJ. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197(1-4): 25-42
- Linan-Cabello MA, Paniagua-Michel J, Zenteno-Savin T. 2003. Carotenoids and retinal levels in captive and wild shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquacult Nutr 9(6): 383-389
- Manicassamy S, Pulendran B. 2009. Retinoic acid-dependent regulation of immune responses by dendritic cells and macrophages. Semin Immunol 21(1): 22-27
- Mushiaki K, Fujimoto H, Shimma H. 1993. A trial of evaluation of activity in yellowtail, *Serola quinqueradiata* Larvae. Suisanzoshoku, 41: 339-344
- Zakeri M, Kochanian P, Marammazi JG and 3 others. 2011. Effects of dietary n-3 HUFA concentrations on spawning performance and fatty acids composition of broodstock, eggs and larvae in yellowfin sea bream, *Acanthopagrus latus*. Aquaculture 310(3-4): 388-394
- Zhou D, Zaiger G, Ghebremeskel K and 2 others. 2004. Vitamin A deficiency reduces liver and colon docosahexaenoic acid levels in rats fed high linoleic and low alpha-linolenic acid diet. Prostag Leukotr Ess 71(6): 383-389