

饲料中添加不同水平的维生素 E 对半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis*) 亲鱼繁殖性能及 后代质量的影响*

肖登元^{1,2} 梁萌青^{1①} 王新星¹ 郑珂珂¹ 赵敏^{1,2}

(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)

摘要 在饲料中分别添加 0、200、1200 mg/kg 的维生素 E (DL- α -生育酚乙酸酯形式) 配制成 Ec、E1 和 E2 三种试验饲料, 饲喂 3 龄半滑舌鲷亲鱼(雌性 1.58±0.19 kg/尾、雄性 0.20±0.05 kg/尾) 70 d, 探讨饲料中添加不同水平的维生素 E 对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能的影响。结果显示, 饲料中添加 1200 mg/kg 的维生素 E (E2 组) 不仅可以促进亲鱼性腺的发育, 提高亲鱼产卵量、浮卵率、受精率、孵化率以及初孵仔鱼长度, 而且影响仔鱼质量, 仔鱼的成活率、12 d 仔鱼长度、生存活力等方面均要高于对照组。而饲料中添加 200 mg/kg 的维生素 E (E1 组) 只对亲鱼性腺的发育和初孵仔鱼长度有一定的促进作用, 对亲鱼产卵量、浮卵率、受精率、孵化率没有显著影响($P>0.05$)。随饲料中维生素 E 的增加, 血清中 SOD 的活性显著升高($P<0.05$), MDA 含量则显著下降($P<0.05$)。此外, E1 和 E2 试验组卵中干物质、维生素 C 的含量, 以及卵子脂肪酸中 PUFA、n-3PUFA、n-3HUFA 和 n-6PUFA 的含量均要高于 Ec 组, E1 和 E2 试验组之间的没有显著性差异($P>0.05$)。结果表明, 在半滑舌鲷亲鱼饲料中添加适量维生素 E 会亲鱼促进性腺的发育, 增加产卵量, 提高卵子和仔鱼的质量。在本试验中 E2 组(1200 mg/kg) 亲鱼的繁殖性能要优于 Ec 组(0 mg/kg) 和 E1 组(200 mg/kg)。

关键词 半滑舌鲷; 亲鱼; 维生素 E; 繁殖性能; 卵子质量

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)02-0125-08

亲鱼繁殖性能与亲鱼自身的营养状况是密切相关的, 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; 常青等, 2002)。我国在亲鱼营养需求方面的研究才刚刚起步, 没有专门针对亲鱼阶段营养需求的营养饲料。目前, 国内海水亲鱼养殖所用的饲料主要是冰鲜杂鱼或者是简单加工的湿颗粒饲料, 这些饵料既不能完全满足亲鱼的营养需求, 还会引起环境污染和资源的浪费等问题。维生素 E 是天然生物抗氧化剂, 对动物性腺中类固醇类激素合成以及机体新陈代谢都有显著的调节作用, 与水生动物的

性腺发育和繁殖性能有关(盛晓洒等, 2007; Emata *et al.*, 2000)。亲鱼饲料中添加维生素 E 可改善亲鱼的繁殖性能, 促进亲鱼的性腺发育, 提高产卵量和孵化率, 改善受精卵和仔鱼质量(Fernandez-Palacios *et al.*, 1998; Fernández-Palacios *et al.*, 1997; 肖伟平等, 2003; 谢嘉华等, 2006; 张国辉等, 2007; Lee *et al.*, 2004)。

半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*) 主要分布于渤海、黄海等地, 其肉味鲜美、经济价值很高, 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; 肖登元等, 2014)。半滑舌鲷雌雄个体差异较大; 雄性个体远小于雌鱼, 生殖能力差, 并且自然海域中

* 鲆鲽类产业技术体系研究专项经费(CARS-50-G08)资助。肖登元, E-mail: xiaodengyuan@yahoo.cn

① 通讯作者: 梁萌青, 研究员, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2014-04-23, 收修改稿日期: 2014-06-12

数量也少于雌鱼,导致了半滑舌鲷的野生资源较少(邓景耀等, 1988)。加上近些年的过度捕捞,目前市场供应的半滑舌鲷主要来源于人工养殖,野生半滑舌鲷几乎没有。近年来,随着相关研究的深入,我国半滑舌鲷人工繁育技术也越来越成熟,但是由于亲鱼的繁殖性能较差,在人工育苗中出苗率仅有30%左右(刘振华等, 2007; 柳学周等, 2006b; 朱丽华等, 2011),并且苗质较差,严重制约半滑舌鲷养殖业进一步发展。到目前为止,有关半滑舌鲷亲鱼营养方面的研究仅在脂肪营养需求上有一定的研究成果(吕庆凯等, 2012)。

本试验以3龄半滑舌鲷亲鱼为试验对象,研究在饲料中添加不同水平的维生素E对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能以及后代质量的影响,为半滑舌鲷人工育苗和亲鱼饲料的配制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及实验饲料

本研究在山东海阳市黄海水产有限公司进行,试验中的养殖设备均由该公司提供,试验用的3龄半滑舌鲷亲鱼也来源于该公司。在亲鱼繁殖产卵季节前60-90 d从亲鱼池中随机选出33尾性腺未明显发育雌性亲鱼(1.58±0.19) 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 m×2.5 m×1.2 m),每个水泥池中雌、雄鱼各11尾。

亲鱼基础饲料中的蛋白源以鱼粉、酪蛋白为主,脂肪源以鱼油、豆油为主,基础饲料配方及营养组成如表1。本试验分为3个试验组: Ec组(对照组)、E1组(维生素E低添加量)、Eh组(维生素E高添加量)。Ec组直接采用基础饲料, E1组和Eh组通过在基础饲料中添加不同水平维生素E制成两种试验饲料; E1组试验饲料添加200 mg/kg维生素E, Eh组试验饲料添加1200 mg/kg维生素E。饲料中的维生素E以DL- α -生育酚乙酸酯的形式先混匀到维生素预混料中,再与维生素预混料一起添加到饲料中。DL- α -生育酚乙酸酯购买于上海蓝季科技发展有限公司,其有效成分为50%。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成直径为6 mm的颗粒饲料,60℃烘干后储存在冰箱和冷库的中备用。

1.2 饲养管理及样品收集

1.2.1 亲鱼饲养管理 培育期间,亲鱼池水深为80 cm,用砂滤海水流水培育,日换水量为培育水体的2-5倍;培育水温控制在19-25℃,盐度为30-33, pH为7.6-8.2;采用气石连续充气,溶解氧保持在6 mg/L

表1 试验饲料配方组成及营养组成
Tab.1 Diet formulation and proximate composition (%)

成分组成 Ingredients	Ec (对照组)	E1 (200 mg/kg)	Eh (1200 mg/kg)
鱼粉 Fishmeal	70.0	70.0	70.0
酪蛋白 Casein	6.0	6.0	6.0
高筋粉 Wheat gluten meal	10.0	10.0	10.0
磷脂 Phospholipid	2.0	2.0	2.0
鱼油 Fish oil	7.0	7.0	7.0
大豆油 Soybean oil	1.0	1.0	1.0
胆碱 Choline	1.0	1.0	1.0
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5
维生素 C Vitamin C	0.5	0.5	0.5
¹ 维生素混合物 Vitamin mix	0.5	0.5	0.5
² 矿物质混合物 Mineral mix	0.5	0.5	0.5
维生素 E Vitamin E(mg/kg)	-	200.0	1200.0
营养成分分析 (%DM) Proximate composition			
蛋白质 Crude protein	57.47	59.80	59.91
脂肪 Crude lipid	11.75	11.98	11.82
灰分 Ash	18.21	16.14	15.60
能量 Energy(MJ/kg)	19.54	20.02	20.04
实测维生素 E Vitamin E (mg/kg)	84.12	278.25	1285.53

注: ¹ 维生素混合物(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

² 矿物质混合物(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: ¹ 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

² 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 mg; ZnSO₄·7H₂O 50 mg; MnSO₄·4H₂O 1200 mg; Ca (H₂PO₄)₂·H₂O 3000 g; NaCl 100g; Mordenzeo 15.51 g

以上,总氮含量≤0.2 mg/L;用白炽灯和遮光布调控光强和光照节律,光照强度控制在300 lx左右,光

照时间由每天 8 h 逐渐增加到 12 h(柳学周等, 2006a)。试验开始前先暂养 7 d, 暂养期间各实验组均投喂 Ec 组饲料, 暂养结束后, 分别投喂相应的试验组饲料, 初期投喂量为 2%–3%(柳学周等, 2006a), 随后采取饱食投喂, 根据亲鱼实际摄食量确定投喂量。亲鱼培育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性性腺成熟率; 同时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。鱼卵人工授精后, 取上浮卵布入筛绢为 80 目的孵化网箱中孵化(柳学周等, 2005), 孵化网箱放置在大大的水泥池中。

1.2.2 仔鱼培育 孵化时采用静水培育, 水温保持在 22–24℃, 盐度为 30–33, pH 为 8.0–8.2, 用气石 24 h 连续微充气, 溶解氧 5 mg/L 以上, 总氨氮 NH₄⁺ ≤ 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(直径为 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℃, 盐度为 30–32, pH 为 7.9–8.2, 溶氧量 6 mg/L 以上, 总氨氮 ≤ 0.1 mg/L; 光强控制在 100–500 lx(柳学周等, 2005; 孙中之等, 2007), 再经过 3–4 h 后仔鱼开始破膜而出。前 5 d 每天添加适量的海水, 直至加满, 之后采用流水培育; 根据仔鱼的生长情况合理的控制换水率, 第 10 天换水率约为 50%, 到 20 d 时达到 100%, 最终换水量控制在 3–5 倍(柳学周等, 2005)。投喂安排: 开口前加入小球藻保持浓度为 3×10⁸ 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; 孙中之等, 2007)。

1.2.3 样品收集及仔稚鱼质量评价 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, 每组分别取每尾雌鱼产出卵 30 ml 存储液氮中用于分析试验。人工催产期间, 每组分别取每尾产卵亲鱼产出卵 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雌鱼产出卵 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。在仔鱼出膜前从孵化网箱中分别取 1 ml 上浮卵于加有海水的烧杯(1L)中, 3 个重复, 待所有仔鱼完全出膜后统计出每个烧杯中孵化率和初孵仔鱼长度, 每个烧杯随机挑选 10 尾初孵仔鱼测量体长。育苗期间, 统计出每个圆形玻璃缸 3 d 和 7 d 成活率; 同时, 各试验组选取 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)。在仔鱼孵出的第 12 天, 在每个圆形玻璃缸中随机选取 10 尾仔鱼测体长。此外, 在育苗期间, E1 组由于天气突变水温突降, 造成 E1 组出初孵仔鱼大量死亡, 致使 E1 组仔鱼的部分数据缺失。

1.3 分析方法

1.3.1 常规分析 干物质含量的测定参照国家标准(GB/T 6435-1986), 饲料样品在 105℃下烘干至恒重, 采用失重法测定干物质含量; 粗蛋白含量测定参照国家标准(GB/T 6432-1994), 采用凯式定氮法, 用意大利 VELP 半自动凯氏定氮仪—UDK129 测定; 粗脂肪含量测定参照国家标准(GB/T 6433-1994), 以石油醚为抽提液, 用丹麦 FOSS 脂肪测定仪 SOXTEC 2050 测定; 灰分的测定参照国家标准(GB/T6438-1992), 在 550℃马福炉中灼烧至恒重后测定; 能量的测定直接采用美国 PARR 氧弹量热仪(PARR 6100)以燃烧放热形式测定。

1.3.2 脂肪酸分析 采用 Agilent 7890A 型气相色谱仪分析测定卵中脂肪酸组成的测定。用 DB-FFAP (30 m×0.32 mm×0.25 μm)毛细管色谱柱, 样品在 70℃初始化 3 min, 再以 3℃/min 将温度升到 220℃, 并保持 33 min, 其中, 样品进样口温度 220℃, 检测器的温度设置为 280℃; 样品脂肪酸种类根据标准脂肪酸(购自 Supelco, Lot No. LA-98232)保留时间来确定, 采用归一法定量测定峰面积, 测定结果以百分比含量表示(吕庆凯等, 2012)。

1.3.3 维生素 E、C 的测定 饲料中维生素 E 含量的测定参照国家标准(GB/T17812-2008), 采用高效液相色谱法(HPLC)。卵中维生素 C 含量测定参照 Ai 等(2006)组织中维生素 C 含量的测量方法, 采用高效液相色谱法(HPLC)。

1.4 计算公式及数据分析

相对产卵量(105 粒/kg)=总产卵量/亲鱼体重
性指数(%)=性腺重/亲鱼体重×100

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

仔鱼畸形率(%)=畸形仔鱼数/仔鱼总数×100

GMR(性腺成熟率 Gonad Mature Rate): 雌性亲鱼性腺长与体长之比达到 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(生存活力指数 Survival Activity Index)

$$= \sum_{i=1}^k (N - h_i) \times i / N$$

式中, 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 SPSS17.0 软件包分析数据, 做单因素方差分析(One-way ANOVA), 若差异显著, 则用 Duncan 分析进行多重比较, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 维生素 E 对半滑舌鲷亲鱼成活和性腺发育的影响

通过 70 d 的饲养后, 半滑舌鲷亲鱼的存活率、性

腺成熟率、性指数以及亲鱼的相对产卵量如表 2。从表 2 可以看出, 试验用鱼都是采用人工饲料培育, 试验期间, 亲鱼对饲料的适应性较好, 但由于倒鱼过程中对亲鱼的刺激, 引起应激反应造成亲鱼死亡。各试验组雌鱼存活率均在 90% 以上, 其中 E1 组的亲鱼和 Eh 组的雌亲鱼存活率达到了 100%; 试验中用两个维生素 E 强化的试验组(E1 组、Eh 组)雌性亲鱼的性腺成熟率(GMR: gonad mature rate)达到了 80% 以上, 而对照组(Ec 组)仅有 54.55%; 3 个组的雌性亲鱼的性指数之间均无显著差异($P > 0.05$), Eh 组雌性亲鱼的性指数要显著高于其余两试验组外($P < 0.05$); 各试验组的相对产卵量差异较大, 最大值在 Eh 组, 达到了 1.58×10^5 粒/kg, 显著高于 Ec 组和 E1 组($P < 0.05$); Ec 组与 E1 组之间无显著差异($P > 0.05$), 但 E1 组要高于 Ec 组。

2.2 维生素 E 对半滑舌鲷卵子及仔鱼质量的影响

半滑舌鲷在人工育苗期间, 在亲鱼饲料中添加不同水平维生素 E 对半滑舌鲷卵子及仔鱼质量的影响情况见表 3。从表 3 中可看出, Eh 组的卵子的上浮率要显著高于 E1 组和 Ec 组($P < 0.05$), 其卵子的上浮率高达 79.55%, 而 Ec 和 E1 组分别为 48.04% 和 47.35%; E1 组的卵径要显著低于 Ec 和 Eh 组($P < 0.05$), Ec 和

表 2 维生素 E 对半滑舌鲷亲鱼性腺发育的影响

Tab.2 Effects of dietary vitamin E on the gonads development of *C. semilaevis* broodstocks

项目 Items	Ec(对照组)	E1(200 mg/kg)	Eh(1200 mg/kg)
雌鱼存活率 Female survival rate(%)	90.91	100.00	100.00
雄鱼存活率 Male survival rate(%)	90.91	100.00	90.91
性腺成熟率 Gonad mature rate(%)	54.55	90.92	81.82
雌鱼性指数 Female sex index(%)	27.82±2.40	27.51±5.85	26.19±0.32
雄鱼性指数 Male sex index(%)	0.35±0.03 ^b	0.35±0.02 ^b	0.41±0.03 ^a
相对产卵量 Relative fecundity(10^5 ind/kg)	1.00±0.09 ^b	1.20±0.10 ^b	1.58±0.15 ^a

注: 同一行中数据中具有不同上标表示差异显著($P < 0.05$)

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

表 3 不同水平维生素 E 对半滑舌鲷卵子及仔鱼质量的影响

Tab.3 Effects of different levels of vitamin E on the quality of egg and larvae of tongue sole

项目 Items	Ec(对照组)	E1(200 mg/kg)	Eh(1200 mg/kg)
上浮率 Buoyant egg ratio(%)	48.04±3.13 ^b	47.35±2.16 ^b	79.55±1.01 ^a
卵径 Egg diameter(mm)	1.28±0.01 ^a	1.20±0.02 ^b	1.25±0.03 ^a
受精率 Fertilization rate(%)	80.49±2.66 ^b	76.09±3.00 ^b	94.91±2.38 ^a
孵化率 Hatching rate ratio(%)	76.52±4.17 ^b	81.01±4.08 ^b	92.77±2.55 ^a
初孵仔鱼长度 Larvae length (mm)	2.92±0.08 ^b	3.11±0.07 ^a	3.13±0.09 ^a
3 d 成活率 Survival rate at 3 DPH larvae(%)	65.04±5.11	—	87.45±1.90
12 d 仔鱼长度 Larvae length 17 DPH(mm)	5.99±0.06	—	6.17±0.04
生存活力指数 SAI	14.27±0.45	—	22.60±1.92

注: 同一行中数据中具有不同上标表示差异显著($P < 0.05$)

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

Eh 组之间无显著差异($P>0.05$); 在受精率和孵化率上, Eh 组均达到 90%以上, 显著高于 Ec 和 E1 组($P<0.05$), Ec 和 E1 组之间无显著差异($P>0.05$)。两个维生素 E 强化试验组的初孵仔鱼长度分别达到了 3.11 mm(E1 组)和 3.13 mm(Eh 组)要显著大于 Ec 组的 2.92 mm($P<0.05$), 而 E1 组与 Eh 组之间无显著差异($P>0.05$)。此外, 由于 E1 组的仔鱼 3 d 成活率、12 d 体长和生存活力指数(SAI)缺失无法方差分析, 但 Eh 组的仔鱼 3 d 成活率、12 d 体长和生存活力指数等均要高于 Ec 组; 特别是 SAI, Eh 组是 Ec 组的 1.5 倍。

2.3 维生素 E 对半滑舌鲷雌性亲鱼血清中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

不同试验组半滑舌鲷雌性亲鱼血清中 SOD 活性和 MDA 含量见表 4。从表 4 可以看出, 半滑舌鲷雌性亲鱼血清中 SOD 活性随饲料中维生素 E 的增加而

增加, 其中两个维生素 E 营养强化组(E1 和 Eh)要显著高于 Ec 组($P<0.05$), 而 E1 组与 Eh 组之间无显著性差异($P>0.05$)。MDA 含量则正好相反, 随饲料中维生素 E 的增加而显著降低($P<0.05$), 在 Eh 组有最小值, 为 10.93 nmol/ml。

2.4 维生素 E 对半滑舌鲷卵子质量的影响

不同试验组半滑舌鲷卵子营养成分组成和卵子中脂肪酸组成见表 5 和表 6。从表 5 可以看出, 不同试验组半滑舌鲷卵子中干物质、粗蛋白、粗脂肪和维生素 C 含量。两个维生素 E 营养强化组卵子的干物质和维生素 C 含量显著高于 Ec 组($P<0.05$), 而 E1 组与 Eh 组之间的则无显著性差异($P>0.05$)。卵子的干物质虽显著增加, 但粗蛋白和粗脂肪的含量在 3 个试验组相对稳定, 粗蛋白含量约为 59%, 粗脂肪含量约为 19%。

表 4 不同水平维生素 E 对半滑舌鲷亲鱼血清中 SOD 活性和 MDA 含量的影响

Tab. 4 Effects of different levels of vitamin E on SOD activities and MDA contents in serum of tongue sole

项目 Items	Ec(对照组)	E1(200 mg/kg)	Eh(1200 mg/kg)
SOD 活性 SOD activity (U/ml)	134.92±3.99 ^b	207.33±7.53 ^a	215.48±16.17 ^a
MDA 含量 MDA content (nmol/ml)	34.20±4.69 ^a	20.98±2.88 ^b	10.93±1.69 ^c

注: 同一行中数据中具有不同上标表示差异显著($P<0.05$)

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

表 5 不同水平维生素 E 对半滑舌鲷卵子化学成分组成及维生素 C 含量的影响

Tab. 5 Effects of different levels of vitamin E on chemical composition and vitamin C content of eggs in tongue sole

卵子 Eggs	Ec(对照组)	E1(200 mg/kg)	Eh(1200 mg/kg)
干物质 Dry matter(%)	4.90±0.41 ^b	7.82±0.36 ^a	7.30±0.89 ^a
粗蛋白 Crude protein(%)	57.91±0.75	59.26±1.31	59.19±1.86
粗脂肪 Crude lipid(%)	20.15±0.52	18.91±1.78	19.57±0.71
维生素 C vitamin C(μg/g)	7.43±1.42 ^a	17.19±3.71 ^b	16.97±2.60 ^b

注: 同一列中数据中具有不同字母的表示差异显著($P<0.05$)

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

表 6 不同水平维生素 E 对半滑舌鲷卵子脂肪酸组成的影响

Tab. 6 Effects of different levels of vitamin E on fatty acid composition of eggs in tongue sole

脂肪酸 Fatty acid	Ec(对照组)	E1(200 mg/kg)	Eh(1200 mg/kg)
饱和脂肪酸 Total saturated fatty acid	20.99	20.43	20.13
单不饱和脂肪酸 Total monounsaturated fatty acid	26.30	24.44	24.31
油酸 C18:1n-9	16.42	15.40	15.16
亚油酸 C18:2n-6	5.91	7.03	7.31
亚麻酸 C18:3n-3	0.81	0.77	0.88
花生四烯酸(AA) C20:4n-6	0.23	1.20	1.14
二十碳五烯酸 (EPA) C20:5n-3	5.85	5.59	6.95
二十二碳六烯酸 (DHA) C22:6n-3	14.76	18.17	15.83
n-3PUFA 总量 Total n-3PUFA	22.95	25.72	25.08
n-3HUFA 总量 Total n-3HUFA	6.53	8.55	8.86
n-6PUFA 总量 Total n-6PUFA	23.00	25.75	25.15

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

饲料中不同水平维生素 E 半滑舌鲷卵子中脂肪酸组成的影响见表 6。由表 6 可以看出,除油酸随饲料中维生素 E 的增加有下降趋势和亚油酸随饲料中维生素 E 的增加有上升趋势外,其余并没有明显的变化规律。随饲料中维生素 E 水平的上升,卵子脂肪酸中多不饱和脂肪酸呈上升趋势,并且两个维生素 E 强化试验组卵子中的 n-3PUFA、n-3HUFA 总量和 n-6PUFA 总量等均要高于 Ec 组 2%以上。

3 讨论

维生素 E 是一种酚类的化合物,是生物体内合成前列腺素和免疫球蛋白的前体物质,能调节机体中类固醇激素的合成,促进亲体性腺和胚胎发育,改善繁殖性能(张国辉等, 2007)。维生素 E 对鱼类繁殖性能的影响已被广泛的研究证实。将金头鲷饲料中维生素 E 含量由 22 mg/kg 提升到 125 mg/kg 时,亲鱼产卵量以及正常卵子的含量均显著提升,亲鱼的繁殖性能增强(Fernandez-Palacios *et al*, 1998);当进一步提升到 190 mg/kg 时,亲鱼的产卵量、卵的孵化率和仔鱼成活率均显著提高(Fernandez-Palacios *et al*, 1998、1997);而在真鲷饲料中添加 2 g/kg 维生素 E 时,可显著提高卵的上浮卵率、孵化率和降低出孵仔鱼畸形率(Watanabe *et al*, 2003)。在饲喂斜带石斑鱼亲鱼的新鲜杂鱼中添加 0.2%的维生素 E 时,可明显改善受精卵的质量和仔鱼质量,增加卵径、油球直径和仔鱼体长(肖伟平等, 2003);当黄鳢饲料中添加 200 mg/kg 维生素 E 时能有效地改善黄鳢的繁殖性能、性腺系数、产卵力和孵化率(张国辉等, 2007)。此外,在黄鲈(Lee *et al*, 2004)、鲤鱼(王吉桥等, 2000)、遮目鱼(Emata *et al*, 2000)、金鲫(谢嘉华等, 2006)等鱼类上的研究也均发现,维生素 E 有改善亲鱼的繁殖性能、提高亲鱼繁殖力的功效。本研究中,半滑舌鲷亲鱼经过 70 d 的营养强化,两个维生素 E 添加组亲鱼性腺的发育情况要明显优于对照组,并且高添加量组(1200 mg/kg)的相对产卵量得到了显著提高,低添加量组(200 mg/kg)的相对产卵量也要高于对照组。此外,高添加组的上浮率、受精率、孵化率、初孵仔鱼长度、仔鱼 3 d 成活率、12 d 仔鱼长度、生存活力指数等指标也均显示优于对照组;低添加组的卵子的受精率和孵化率以及初孵仔鱼长度也有了一定程度的提高。在卵径方面,并没有像在斜带石斑鱼亲鱼中观察到维生素 E 提高鱼卵卵径(肖伟平等, 2003)。本研究 3 个试验组的半滑舌鲷卵子的卵径无明显变化规律,各组之间的差距也不是很大,卵径在 1.20–1.30 mm 之间,但要高于杨景峰

等(2010)测定的(1.02±0.13) mm,与吕庆凯等(2012)测定的结果相近。这种测定结果的差异可能与亲鱼的来源、培育管理方式和不同年份气候变化有关。本研究中,低添加组饲料中添加 200 mg/kg 的维生素 E 虽然从卵径、出孵仔鱼体长和抗氧化性的方面对亲鱼的繁殖性能和后代质量有了一定的促进作用,但饲料中 200 mg/kg 维生素 E 的添加量显然不能满足亲鱼在繁殖期对维生素 E 的需求,而高添加组饲料中 1200 mg/kg 的添加量对半滑舌鲷亲鱼的繁殖性能有显著改善,3 个试验组相比之下,饲料中添加 1200 mg/kg 维生素 E 更有利于改善半滑舌鲷亲鱼的繁殖性能。

维生素 E 的抗氧化性是众所周知的(覃希等, 2014),有学者认为,维生素 E 之所以能改善亲本的繁殖性能,主要原因在于其抗氧化功能,它能有效的去除体内各种有害自由基,保证卵膜结构的完整性和卵中 DNA 不被氧化破坏,保护好受精卵在胚胎过程的发育,提高孵化率,从而改善亲鱼的繁殖性能(Waagbø *et al*, 1989; Huang *et al*, 2004)。超氧化物歧化酶(SOD)的活性和丙二醛(MDA)含量被广泛用于评价生物体的抗氧化性的强弱,本研究在对半滑舌鲷亲鱼血清中的 SOD 活性和 MDA 含量测定结果显示,随饲料中维生素 E 含量的增加,血清中的 SOD 活性呈上升趋势,而 MDA 含量则呈下降趋势,分别在高添加组达到最高值和最小值,即 Eh 组表现出最强的抗氧化性。可见在饲料中添加维生素 E 对提高机体的抗氧化性和清除体内有害自由基有非常重要影响。

在对卵子的成分分析中发现,添加维生素 E 的试验组卵中的维生素 C 含量和多不饱和脂肪酸(PUFA)含量明显增加趋势,特别是 n-3 系列和 n-6 系列的多不饱和脂肪酸添加量提高了 2%以上,而卵子维生素 C 和 n-3 系列、n-6 系列高不饱和脂肪酸含量又是评价卵子的评价指标(Fernández *et al*, 2008; Dabrowski *et al*, 2001)。维生素 C 与维生素 E 之间存在交互作用,饲料中维生素 E 的增加会引起组织中维生素 C 的含量相应提高,但这种变化也要依靠机体组织中两种维生素的含量(Lee *et al*, 2004、2003)。因此,本研究中只有在维生素 E 低添加组观察到卵中维生素 C 含量显著提高,而高添加组相对低添加组并无显著提高。由于饲料中维生素 C 的添加水平相同,对照组由于维生素 E 的缺乏,组织中有害自由基加速对卵中维生素 C 的利用而导致对照组最终维生素 C 的量显著降低,这也体现出维生素 C 对维生素 E 的节约作用;随着饲料中维生素 E 的添加,卵中维生素 E 的含量也会相应的提升,相应的卵中维生素 C 的含量也相对的提升。但组织储存的维生素 C 含量有限,因此当饲料中

维生素E进一步增加组织中维生素C含量也不会显著增加。本试验观察到维生素E营养强化组卵中高中多不饱和脂肪酸含量的增加趋势,与肖伟平等(2003)在斜带石斑亲鱼上的研究结果一致;在斜带石斑亲鱼亲鱼饵料中添加0.2%的维生素E时,受精卵中n-3PUFA和n-6PUFA的含量以及PUFA/SFA(饱和脂肪酸)的比值均显著高于对照组。卵中高中多不饱和脂肪酸含量的增加与维生素E的抗氧化作用也有着直接的关系,卵子脂肪酸的来源于卵巢的转运,添加维生素E的亲鱼机体的抗氧化性增强,将机体内过量的自由基清除,防止卵巢中不饱和脂肪酸被氧化(Ohkatsu *et al.*, 2001),从而提升卵子不饱和脂肪酸的含量。在印度对虾(Cahu *et al.*, 1995)和红螯螯虾(文罗等, 2005)的研究上还提到卵中维生素E和维生素C均对卵中高度不饱和脂肪酸起到了一定的保护作用。随着卵中不饱和脂肪酸的增加,如果卵中维生素E和维生素C含量下降,卵中的抗氧化屏障缺失,导致卵中自由基增加,过量的自由基诱发卵中高度不饱和脂肪酸和细胞膜上的多不饱和脂肪酸过氧化,会破坏细胞膜结构的完整,同时还会减少受精卵可利用的营养元素(黄利娜等, 2013)。卵子不饱和脂肪酸和维生素C的增加,不仅提高仔鱼营养物质的储备,同时增强了仔鱼对外界环境的适应能力,有利于仔鱼初期的生长和成活,提高仔鱼的质量(Dabrowski *et al.*, 2001; 常青, 2006¹⁾)。在本试验中Eh组受精卵的质量要高于其余两组,其仔鱼的质量也明显优于对照组,充分的体现了饲料中的维生素E对提高卵子和仔鱼质量的作用。

综上所述,在半滑舌鳎亲鱼饲料中添加适量的维生素E,显著提高半滑舌鳎亲鱼的繁殖性能和后代质量。在本研究条件下,3个试验组中维生素E高添加量(1200 mg/kg)试验组半滑舌鳎亲鱼表现出最佳的繁殖性能。

参 考 文 献

王吉桥, 赵兴文. 鱼类增养殖学. 大连: 大连理工大学出版社, 2000
 文罗, 群王, 赵云龙, 等. 维生素E对红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)繁殖性能的影响. 海洋与湖沼, 2005, 36(1): 93-96
 邓景耀, 孟田湘, 任胜民, 等. 渤海鱼类种类组成及数量分布. 海洋水产研究, 1988, 9(1): 11
 孙中之, 柳学周, 徐永江, 等. 半滑舌鳎工厂化人工育苗工艺技术研究. 中国水产科学, 2007, 14(2): 244-248
 刘振华, 马峰, 郑世竹. 半滑舌鳎人工育苗技术研究. 河北渔

业, 2007(9): 45-48
 朱丽华, 王君霞. 半滑舌鳎人工繁殖试验. 河北渔业, 2011(5): 51-52
 吕庆凯, 梁萌青, 郑珂珂, 等. 饲料中添加不同脂肪源对半滑舌鳎亲鱼繁殖性能和仔鱼质量的影响. 2012, 渔业科学进展, 33(6): 44-52
 李思忠, 王惠民. 中国动物志硬骨鱼纲 鲽形目. 北京: 科学出版社, 1995
 肖伟平, 刘永坚, 田丽霞, 等. 维生素E和维生素C对斜带石斑鱼亲鱼产卵质量的影响. 中山大学学报(自然科学版), 2003, 42(z2): 214-217
 肖登元, 梁萌青, 王新星, 等. 饲料中不同水平维生素A对半滑舌鳎亲鱼繁殖性能及后代质量的影响. 渔业科学进展, 2014, 35(3): 50-59
 张国辉, 何瑞国, 张世萍, 等. 维生素E对黄鳍繁殖性能的影响. 水生生物学报, 2007, 31(2): 196-200
 杨景峰, 陈松林, 翟介明, 等. 半滑舌鳎人工催产技术研究. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2010, 25(2): 185-190
 柳学周, 孙中之, 马爱军, 等. 半滑舌鳎亲鱼培育及采卵技术研究. 海洋水产研究, 2006a, 27(2): 25-32
 柳学周, 庄志猛, 马爱军, 等. 半滑舌鳎苗种生产技术的开发研究. 海洋水产研究, 2006b, 27(2): 17-24
 柳学周, 庄志猛, 马爱军, 等. 半滑舌鳎繁殖生物学及繁育技术研究. 海洋水产研究, 2005, 26(5): 7-14
 常青, 梁萌青, 薛华, 等. 亲鱼营养的研究进展. 海洋水产研究, 2002, 23(2): 65-71
 黄利娜, 梁萌青, 张海涛, 等. 饲料中添加不同水平维生素A对大菱鲆亲鱼繁殖性能的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(4): 62-70
 盛晓洒, 黄颖颖, 李育培, 等. 维生素E对水产动物繁殖性能的影响. 饲料博览(技术版), 2007(11): 40-42
 覃希, 黄凯, 刘康, 等. 维生素E和硒对吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼生长及血清抗氧化酶活性的影响. 渔业科学进展, 2014, 35(4): 77-84
 谢嘉华, 杨儒明, 陈雅瑜. 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, 2006, 24(4): 84-90
 Ai Q, Mai K, Tan B, *et al.* Effects of dietary vitamin C on survival, growth, and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. Aquaculture, 2006, 261(1): 327-336
 Cahu CL, Cuzon G, Quazuguel P. Effect of highly unsaturated fatty acids, α -tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. Comp Biochem Physiol, Part A: Mol Integr Physiol, 1995, 112(3): 417-424
 Dabrowski K, Ciereszko A. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. Aquac Res, 2001, 32(8): 623-638
 Emata AC, Borlongan IG, Damaso JP. Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. Aquac Res, 2000, 31(7): 557-564
 Fernández I, Hontoria F, Ortiz-Delgado JB, *et al.* Larval performance and skeletal deformities in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed with graded levels of Vitamin A

1) 常青. 半滑舌鳎仔稚鱼营养生理与武器饲料的开发研究. 中国海洋大学博士学位论文, 2006, 67-87

- enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 2008, 283(1–4): 102–115
- Fernández-Palacios H, Izquierdo M, Robaina L, *et al.* The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg quality of broodstock for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 1997, 148(2): 233–246
- Fernandez-Palacios H, Izquierdo MS, Gonzalez M, *et al.* Combined effect of dietary α -tocopherol and n-3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 1998, 161: 475–476
- Huang CH, Huang SL. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture*, 2004, 237(1–4): 381–389
- Izquierdo MS, Fernández-Palacios H, Tacon AGJ. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 2001, 197(1–4): 25–42
- Lee KJ, Dabrowski K. Interaction between vitamins C and E affects their tissue concentrations, growth, lipid oxidation, and deficiency symptoms in yellow perch (*Perca flavescens*). *Br J Nutr*, 2003, 89(5): 589–596
- Lee KJ, Dabrowski K. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture*, 2004, 230(1–4): 377–389
- Ohkatsu Y, Kajiyama T, Arai Y. Antioxidant activities of tocopherols. *Polym Degrad Stab*, 2001, 72(2): 303–311
- Waagbø R, Thorsen T, Sandnes K. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 1989, 80(3): 301–314
- Watanabe T, Vassallo-Agius R. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture*, 2003, 227(1–4): 35–61
- Zakeri M, Kochanian P, Marammazi JG, *et al.* 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*, 2011, 310(3–4): 388–394

(编辑 陈严)

Effects of Different Levels of Dietary Vitamin E on the Reproductive Performance and Offspring Quality of Tongue Sole *Cynoglossus semilaevis*

XIAO Dengyuan^{1,2}, LIANG Mengqing¹①, WANG Xinxing¹, ZHENG Keke¹, ZHAO Min^{1,2}

(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)

Abstract In this study we investigated the effects of vitamin E on the reproduction and the egg quality of tongue sole *Cynoglossus semilaevis*. Broodstock were fed for 10 weeks with diet groups Ec, El and Eh that were supplemented with 0, 200 and 1200 mg/kg vitamin E (DL- α -tocopherol acetate) respectively. The results showed that subjects in the Eh group (1200 mg/kg Vitamin E) displayed advantageous development of gonad, and improvement in the relative fecundity, buoyant egg ratio, fertilization rate, hatching rate ratio and larvae length, as well as higher quality of larvae. The larvae survival rate, larvae length at 12 days post hatching and survival activity index of larvae (SAI) of the Eh group were higher than those in the Ec group ($P < 0.05$). The development of gonad and the larvae length in the El group (200 mg/kg vitamin E) were promoted, however the fecundity, buoyant egg ratio, fertilization rate and hatching rate ratio were not changed compared to those in the Ec group ($P > 0.05$). Along with the increase in dietary vitamin E, the activity of superoxide ismutase (SOD) in serum was significantly increased and the level of malonaldehyde (MDA) was reduced ($P < 0.05$). The levels of dry matter and vitamin C in eggs were significantly higher in the El and Eh groups (vitamin E supplementation groups) than in the Ec group ($P < 0.05$), but there was no difference between the El and Eh groups. Furthermore, the addition of vitamin E in the diet also increased the levels of PUFA, n-3PUFA, n-3HUFA and n-6PUFA in eggs and thus improved the egg quality. These results demonstrated that vitamin E supplemented in the diet could promote the development of gonad and improve the fecundity, the quality of eggs and larvae of tongue sole, and that 1200 mg Vitamin E per kg was optimal for the reproductive performance of tongue sole.

Key words *Cynoglossus semilaevis*; Broodstock; Vitamin E; Reproductive performance; Egg quality

① Corresponding author: LIANG Mengqing, E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn