

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

黄利娜^{1,2} 梁萌青^{1*} 张海涛¹ 曲江波³ 王新星¹ 郑珂珂¹

(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, 201306)

(³烟台开发区天源水产有限公司, 264000)

摘要 以维生素 A 添加量为 0(对照组)、10 000IU/kg(1 万组)和 80 000IU/kg(8 万组)的 3 种人工配合饲料饲养大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 亲鱼 8 个月,通过比较各饲料组亲鱼平均相对产卵量、卵子上浮率、受精率、孵化率、卵子与仔稚鱼的大小等,研究不同添加水平的维生素 A 对亲鱼繁殖性能的影响。结果表明,8 万组卵子上浮率和孵化率显著高于对照组($P < 0.05$),与 1 万组差异不显著($P > 0.05$);8 万组初孵仔鱼体长 $2\,684.1 \pm 24.91\mu\text{m}$,显著高于对照组 $2\,562.3 \pm 30.00\mu\text{m}$ ($P < 0.05$),与 1 万组 $2\,484.2 \pm 56.16\mu\text{m}$ 差异不显著($P > 0.05$);卵子中 n-3HUFA、n-6HUFA 的含量和性腺中维生素 A 的含量随着饲料中维生素 A 添加量的增加而增加;8 万组血清中 SOD(超氧化物歧化酶, Superoxide dismutase)活力为 91.88U/ml,显著高于对照组 70.57U/ml($P < 0.05$)。

关键词 大菱鲆 亲鱼 维生素 A 繁殖性能

中图分类号 S963.8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2013)04-0062-09

The effect of dietary vitamin A level on reproductive performance of broodstock *Scophthalmus maximus*

HUANG Li-na^{1,2} LIANG Meng-qing^{1*} ZHANG Hai-tao¹
QU Jiang-bo³ WANG Xin-xing¹ ZHENG Ke-ke¹

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

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

(³ Tianyuan Aquaculture Limited Company of Yantai Development Area, 264000)

ABSTRACT The eight-month experiment was conducted to determine the effects of vitamin A supplementation (0, 10000, and 80000IU/kg diet) on the growth and reproductive performance of broodstock *Scophthalmus maximus*. Average relative fecundity, percentage of buoyant eggs, fertilization rate, hatching rate of eggs, size of eggs and length of fry were used to evaluate the performance of turbot. The results showed that the percentage of buoyant eggs and hatchability of eggs of the group fed with 80000IU/kg vitamin A were significantly higher than

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:2012-03-19;接受日期:2012-04-16

作者简介:黄利娜(1986-),硕士研究生,主要从事营养与饲料研究。E-mail: lina2772@yahoo.com.cn; Tel: (0532)85822914

those of the control group ($P < 0.05$). The body length of fry of the group fed with 80000IU/kg vitamin A was $2\,684.1 \pm 24.91 \mu\text{m}$, which was significantly higher than those of the control ($2\,562.3 \pm 30.00 \mu\text{m}$) ($P < 0.05$). The content of n-3HUFA and n-6HUFA in eggs and vitamin A in gonad increased with the increase of vitamin A supplementation levels in diet. SOD activity in serum of broodstock fed with 80000IU/kg vitamin A was 91.88U/ml, which was significantly higher than those of the control (70.57U/ml) ($P < 0.05$). This experiment demonstrated that vitamin A supplemented in the diets could improve the reproductive performance of turbot broodstock.

KEY WORDS *Scophthamus maximus* Broodstock feed Vitamin A
Reproductive performance

亲鱼的营养影响其繁殖性能和仔稚鱼的质量。在卵巢发育过程中,日粮和亲鱼贮备的营养被动员运输到卵母细胞以满足生长和胚胎的发育,所以亲鱼营养状况对卵子质量以及仔稚鱼发育尤为重要(常青等 2002;李远友等 2001、2004;马爱军等 2005)。

维生素 A 属脂溶性维生素,是一元不饱和醇类或具有醇类活性的化合物。作为动物生长发育过程中重要的营养素之一,维生素 A 尤其对维持动物生长、上皮组织分化、繁殖性能、视觉功能的正常以及提高疾病抵抗能力等有着重要作用(王平等 2011;李宝山等 2010)。有研究发现,维生素 A 能促进养殖亲虾性腺成熟并提高其繁殖成功率,在中国对虾、虹鳟等研究中也发现了类似的作用(梁萌青等 2004;Furuita *et al.* 2001、2003)。

大菱鲆 *Scophthamus maximus* 属于鲆科 Bothidae、菱鲆属 *Scophthamus*,是原产于欧洲的一种名贵比目鱼,它是分批产卵鱼类,每一产卵季节可多次产卵,受精卵在 $12 \sim 14^\circ\text{C}$ 条件下,6d 左右即可孵化出膜(雷霖霖 2000)。大菱鲆亲鱼在繁殖过程中,需要耗费大量营养,满足其营养需求不仅可以提高其产卵量及产卵次数,同时对其卵子质量也会有积极作用。发展大菱鲆亲鱼营养,对大菱鲆人工养殖产业的发展尤为重要。迄今为止,未见维生素 A 对大菱鲆亲鱼繁殖性能影响的报道。本研究探讨了维生素 A 对大菱鲆亲鱼生长及繁殖性能的影响,以期为大菱鲆亲鱼配合饲料的合理配制提供参考技术依据。

1 材料与方 法

1.1 试验用 鱼

从山东烟台开发区天源水产有限公司选择 90 尾同一批次、规格相近的 30 月龄大菱鲆,平均体重 $1\,415.80 \pm 23.39\text{g}$ 。将其放入 $7\text{m} \times 7\text{m} \times 0.8\text{m}$ 的大棚流水养殖池中暂养。暂养 7d,将亲鱼随机分配到 3 个相同规格水池中,每池 30 尾,雌雄比例为 1:1。电子标记注射,确定每一尾的编号,并测定每一尾鱼的体重、体长和体高。

1.2 试验饲料及饲养管理

试验饲料分别以基础饲料添加不同水平的维生素 A(购自 Sigma 公司, $\geq 99.0\%$, $\sim 3\,100\text{IU}/\text{mg}$) 配制而成。基础饲料采用鱼粉、酪蛋白、高筋粉、鱼油、磷脂、胆碱及矿物质预混料等原料配制而成,试验用饲料组成和营养成分分析见表 1。在基础饲料中分别添加 0(对照组)、 $10\,000\text{IU}/\text{kg}$ (1 万组)及 $80\,000\text{IU}/\text{kg}$ (8 万组)维生素 A,充分混匀后制成配合饲料储存于 -18°C 备用。

试验用水为地下深井海水,盐度为 $30 \sim 31$,pH $7.2 \sim 7.5$,溶解氧含量 $6\text{ mg}/\text{L}$ 左右,试验周期为 8 个月(2010 年 9 月~2011 年 4 月),养殖期间水温为 $8 \sim 14^\circ\text{C}$,每天 5~6 个换水量。由于大菱鲆在车间摄食冰鲜鱼,2010 年 9 月开始驯化转饵,在驯化转饵的两个 月(2010 年 9 月~2010 年 10 月)期间两天投喂 1 次配合饲料,转饵成功后的 6 个月(2010 年 11 月~2011 年 4 月)每天投喂 1 次配合饲料,投喂 15 min 后换水排去残饵与粪便。

表1 试验饲料组成
Table 1 Composition of the experimental diets

饲料成分 Ingredient (%)	项目 Items	对照组 Control group	1万组 V _A 10 000IU	8万组 V _A 80 000IU
饲料成分 Ingredient (%)	鱼粉 Fish meal	70	70	70
	酪蛋白 Casein	4	4	4
	高筋粉 High-gluten flour	15	15	15
	鱼油 Fish oil	5.5	5.5	5.5
	磷脂 Phospholipid	2	2	2
	胆碱 Choline	1	1	1
	磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.5	1.5	1.5
	维生素混合物 Vitamin premix ¹	0.5	0.5	0.5
	矿物质混合物 Mineral premix ²	0.5	0.5	0.5
	总量 Total	100	100	100
主要营养成分分析 Nutrients analysis	维生素 A Vitamin A(IU/kg)	0	10 000	80 000
	粗蛋白 Crude protein	50.93	51.07	50.98
	粗脂肪 Crude lipid	10.93	10.96	10.98
	灰分 Crude ash	22.27	21.97	22.50
	能量 Gross energy(MJ/kg)	18.47	18.47	18.47
	实测维生素 A of V _A (IU/kg)	9 686.7	19 400.2	88 372.3

注:1:维生素混合物(mg 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 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 120 mg;磷酸二氢钙 3 000 mg;氯化钠 100 mg;沸石粉 15.51 g

Note:1:Vitamin premix(mg or g/kg diet):Thiamine 25mg,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 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 · 4 H₂O 1 200 mg,Ca(H₂PO₄)₂ · H₂O 3 000 mg,NaCl 100 mg,Mordenzeo 15.51 g

2010年11月开始控制光照周期,光照时间由12 h/d逐级增加到16 h/d,期间每3d增加0.5 h光照时间。待增加到16 h/d后,保持16 h/d的光照时间至试验结束。

1.3 卵子的孵化

大菱鲆人工授精后加入一定量海水,静置10~15 min,待卵子吸水膨胀后,清水冲洗1~2次,放入2 000 ml量筒中,加海水使上浮卵和沉淀卵分离,记录上浮卵数。每个处理选取5尾发育较好的大菱鲆亲鱼用于产卵试验,每尾鱼产卵4~8批次,分别取4个批次所产卵子测定产卵量与上浮率。每组获得的上浮卵平均分成3份,分别转移至孵化网箱内孵化,每天及时吸底保持水质,孵化用水盐度为30~31,pH值7.2~7.5,溶解氧含量为6 mg/L左右,水温为13℃左右,保持2~3个换水量。放入孵化网箱8h后,吸出沉卵,记录沉卵量,计算得出卵子受精率;仔稚鱼出膜后,记录总沉卵量,计算得出孵化率。试验过程中共进行3批上浮卵孵化,每批每组3个重复。

1.4 样品的采集

采卵时,将各组未受精卵用吸水纸处理后收集到50 ml离心管,用锡箔纸包住离心管遮光,-20℃冰箱保存。每组另取1 g左右的卵子,在显微镜(40倍)下观察测量卵子和卵子油球径尺寸,每组测定10粒卵子,共取3批次,求得30个数值的平均数。孵化出的仔稚鱼,也在显微镜(40倍)下观察测量其体长,每组共取3批次,

每批测得10尾仔稚鱼体长的数值,求得30个数值的平均数。

试验结束时,测量各组每尾鱼的体重、体长与体高。另外每组选出两尾已发育而未产卵的雌鱼解剖,分离获取肝脏、性腺、肌肉和眼睛,准确称取肝脏与性腺重量,将上述样品放于 -20°C 冰箱保存,以备生化分析。

采用尾静脉抽血法,每组随机选5尾鱼取血,置于1.5 ml离心管中, 4°C 静置2 h后,经冷冻高速离心机离心,吸出血清,存放于 -80°C 冰箱内待测。

1.5 分析和检测方法

饲料营养成分以干重百分比表示,饲料经 105°C 烘干至恒重,通过失重法测定干物质含量,然后进行生化测定。粗蛋白采用凯氏定氮法(VELP,UDK142 automatic distillation unit);粗脂肪采用索氏抽提仪,以石油醚为抽提液进行测定;能量采用能量仪(Parr 6100 Calorimeter)测定;灰分在马福炉中 550°C 燃烧3h,失重法测定;饲料中维生素A含量的测定采用高效液相色谱法(HPLC法),参照国家标准GB/T17817-2010。

卵子脂肪酸分析使用Agilent 7890A型气相色谱仪分析测定脂肪酸的组成和含量。色谱柱为DB-FFAP($30\text{m}\times 0.32\text{mm}\times 0.25\mu\text{m}$)毛细管色谱柱,分析采用程序升温控制。 70°C 初始化3 min,然后以 $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度提升到 220°C ,保持33min。检测器的温度设置为 280°C ,样品进样口温度 220°C 。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,峰面积归一法进行定量测定。

超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性及丙二醛(Malonaldehyde, MDA)含量测定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。

1.6 计算及统计分析方法

相对产卵量=总产卵量/亲鱼体重;

上浮率(%)=100×(产卵量-沉性卵量)/产卵量;

受精率(%)=100×(上浮卵量-8h后沉性卵量)/上浮卵量;

孵化率(%)=100×(受精卵量-受精后出膜前总的沉性卵量)/受精卵量;

增重率(%)=100×(终末体重-初始体重)/初始体重;

增长率(%)=100×(终末体长-初始体长)/初始体长;

增高率(%)=100×(终末体高-初始体高)/初始体高。

试验所得数据用平均值±标准差(Mean±SD)来表示,采用SPSS 16.0软件包进行方差分析,并进行Duncan多重比较,显著性水平为 $P<0.05$ 。

2 试验结果

2.1 饲料中添加不同水平维生素A对大菱鲆亲鱼生长的影响

用添加不同水平维生素A的饲料饲喂8个月后,大菱鲆体重、体长和体高的变化见表2。由表2可以看出,8万组大菱鲆亲鱼增重率显著低于其他两组($P<0.05$),8万组增长率和增高率与其他两组无显著性差异($P>0.05$)。

表2 饲料中添加不同水平维生素A对大菱鲆亲鱼生长的影响(平均值±标准差)

Table 2 Effect of different vitamin A levels in diet on growth of turbot (Mean ± SD)

组别 Group	增重率 Weight gain (%)	增长率 Length gain (%)	增高率 Height gain (%)
对照组 Control	24.87±7.31 ^a	7.06±0.14	5.63±0.15
1万组 V _A 10 000IU	25.51±2.78 ^a	7.26±0.21	4.47±0.17
8万组 V _A 80 000IU	16.94±3.66 ^b	6.84±0.15	4.82±0.16

注:同一列中数据中具有不同上标表示差异显著($P<0.05$)

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

2.2 饲料中添加不同水平维生素 A 对大菱鲆亲鱼产卵性能和卵子质量的影响

表 3 为饲料中添加不同水平维生素 A 对大菱鲆亲鱼平均相对产卵量、所产卵子上浮率、受精率和孵化率的影响。由表 3 可见,摄食对照组饲料的亲鱼平均相对产卵量为 2.95×10^5 粒/kg,摄食 1 万组饲料的亲鱼产卵量为 3.05×10^5 粒/kg,两组无显著性差异($P > 0.05$),而摄食 8 万组饲料的亲鱼产卵量为 5.39×10^5 粒/kg,显著高于其他两组($P < 0.05$)。摄食 8 万组饲料的亲鱼所产卵子上浮率为 82.78%,摄食 1 万组饲料的亲鱼所产卵子上浮率为 81.98%,8 万组与 1 万组差异不显著($P > 0.05$),对照组卵子上浮率为 70.91%,显著低于添加维生素 A 两组的上浮率($P < 0.05$)。摄食 8 万组饲料的亲鱼所产卵子受精率为 60.09%,摄食 1 万组饲料的亲鱼所产卵子受精率为 51.37%,8 万组与 1 万组差异不显著($P > 0.05$),对照组卵子受精率为 48.81%,显著低于添加维生素 A 两组的受精率($P < 0.05$)。三组卵子的孵化率随着饲料中维生素 A 添加量的增加有增加趋势,但是三组之间无显著差异($P > 0.05$)。

表 3 饲料中添加不同水平维生素 A 对大菱鲆亲鱼平均产卵量、卵子上浮率、受精率和孵化率的影响(平均值±标准差)

Table 3 Effect of different vitamin A levels in diet on fecundity, egg quality and fertilization and hatching rate of turbot (Mean ± SD)

组别 Group	平均相对产卵量(粒/kg) Average relative fecundity	上浮率(%) Percentage of buoyant eggs	受精率(%) Fertilization rate	孵化率(%) Hatching rate
对照组 Control	$2.95 \times 10^5 \pm 38.31^b$	70.91 ± 17.12^b	48.81 ± 3.75^b	43.57 ± 3.20
1 万组 V_A 10 000IU	$3.05 \times 10^5 \pm 21.08^b$	81.98 ± 9.45^a	51.37 ± 3.74^a	43.69 ± 1.43
8 万组 V_A 80 000IU	$5.39 \times 10^5 \pm 47.11^a$	82.78 ± 8.71^a	60.09 ± 2.77^a	44.49 ± 1.91

注:同一列中数据中具有不同上标表示差异显著($P < 0.05$)

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

显微镜下测量卵子、卵径及初孵仔鱼大小结果见表 4。由表 4 可以看出,饲料中添加维生素 A 对卵子卵径无显著影响($P > 0.05$);卵子油球径随着饲料中维生素 A 添加量的增加而呈现增加的趋势,但是各组没有显著性差异($P > 0.05$)。8 万组初孵仔鱼的长度为 $2\ 684.1 \mu\text{m}$,显著高于对照组 $2\ 563.3 \mu\text{m}$ ($P < 0.05$),1 万组 $2\ 484.2 \mu\text{m}$,与对照组差异不显著($P > 0.05$)。

表 4 饲料中添加不同水平维生素 A 对卵子及初孵仔鱼大小的影响(平均值±标准差)

Table 4 Effect of different vitamin A levels in diet on size of eggs and turbot fry (Mean ± SD)

组别 Group	卵子直径 Egg diameter(μm)	卵子油球直径 Oil droplet diameter(μm)	初孵仔鱼长度 Length of fry(μm)
对照组 Control	937.16 ± 12.86	211.80 ± 4.75	$2\ 562.3 \pm 30.00^b$
1 万组 V_A 10 000IU	910.99 ± 13.79	216.72 ± 10.33	$2\ 484.2 \pm 56.16^b$
8 万组 V_A 80 000IU	940.99 ± 15.38	217.53 ± 4.36	$2\ 684.1 \pm 24.91^a$

注:同一列中数据中具有不同上标表示差异显著($P < 0.05$)

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

表 5 为不同饲料组大菱鲆亲鱼所产卵子的脂肪酸组成,可以看出,随着饲料中维生素 A 添加量的增加,亲鱼所产卵子中 DHA、EPA、AA 的含量逐渐增加,卵子中 n-3 HUFA、n-6 HUFA 的总含量、脂肪酸总量也逐渐增加。各组卵子中 n-3HUFA 占全部脂肪酸含量的 34.04%~35.33%,DHA 含量最高,占全部脂肪酸含量的 23.82%~24.77%。

表 5 饲料中添加不同水平维生素 A 对卵子脂肪酸组成的影响
Table 5 Effect of different vitamin A levels in diet on fatty acid composition of eggs of turbot (mg/g)

脂肪酸 Fatty acid	对照组 Control	1 万组 V _A 10 000IU	8 万组 V _A 80 000IU
饱和脂肪酸 SFA			
14 : 00	2.51	3.71	4.24
16 : 00	21.60	25.99	27.30
18 : 00	5.20	6.02	5.64
20 : 00	0.08	0.12	0.11
单不饱和脂肪酸 MUFA			
16 : 1 ω 9	0.14	0.17	0.15
16 : 1 ω 7	11.35	11.60	12.78
16 : 1 ω 5	0.40	0.42	0.46
18 : 1 ω 9	24.64	24.43	24.28
18 : 1 ω 7	7.13	7.16	7.40
20 : 1 ω 11	0.20	0.24	0.25
20 : 1 ω 9	1.33	1.65	1.79
20 : 1 ω 7	0.42	0.45	0.49
多不饱和脂肪酸 PUFA			
16 : 2 ω 4	1.16	1.58	1.67
18 : 2 ω 4	0.24	0.29	0.32
16 : 4 ω 3	0.30	0.31	0.40
18 : 4 ω 3	0.82	0.91	1.03
18 : 3 ω 3	0.97	1.10	1.22
20 : 4 ω 3	0.83	0.93	1.08
20 : 5 ω 3(EPA)	10.70	10.89	12.44
22 : 6 ω 3(DHA)	31.95	32.94	35.40
18 : 2 ω 6	3.34	3.39	3.97
20 : 2 ω 6	0.37	0.46	0.49
20 : 3 ω 6	0.18	0.15	0.24
20 : 4 ω 6(AA)	3.14	3.39	3.93
Σ n-3 HUFA	45.57	47.08	51.58
Σ n-6 HUFA	7.04	7.39	8.63
DHA/EPA	2.99	3.03	2.84
EPA/AA	3.41	3.21	3.17
n-3/n-6	6.48	6.37	5.98
总量 Total	128.99	138.29	147.09

2.3 饲料中添加不同水平维生素 A 对大菱鲆亲鱼各个组织中维生素 A 含量的影响

表 6 为不同饲料组大菱鲆亲鱼所产卵子、性腺、肝脏和肌肉中维生素 A 含量。由表 6 可以看出,随着饲料中维生素 A 添加水平的增加,大菱鲆亲鱼所产卵子、性腺和肌肉中维生素 A 含量均呈现逐渐增加的趋势;大菱鲆亲鱼肝脏中维生素 A 含量远远高于其他组织中维生素 A 的含量。

表6 饲料中添加不同水平维生素A对亲鱼所产卵子、性腺、肝脏和肌肉中维生素A含量的影响

Table 6 Effect of different vitamin A levels in diet on the content of vitamin A in eggs, gonad, liver, and muscle of turbot broodstock ($\mu\text{g}/100\text{g}$ dry matter)

组别 Group	卵子 Egg	性腺 Gonad	肝脏 Liver	肌肉 Muscle
对照组 Control	5.20	10.22	11 879.64	17.05
1万组 V_A 10 000IU	5.43	11.70	4 158.61	23.98
8万组 V_A 80 000IU	8.68	18.68	9 291.65	69.11

2.4 饲料中添加不同水平维生素A对大菱鲆亲鱼血清抗氧化性能的影响

表7为不同饲料组大菱鲆亲鱼血清中SOD活力、MDA(丙二醛, Malonaldehyde)含量。由表7可以看出,随着饲料中维生素A添加量的增加,大菱鲆亲鱼血清SOD活力逐渐提高,8万组亲鱼血清SOD活力显著高于对照组($P < 0.05$);与1万组亲鱼血清SOD活力差异不显著($P > 0.05$)。而不同维生素A添加水平也影响各组亲鱼血清中MDA含量,1万组亲鱼血清中MDA含量20.87nmol/ml,显著低于对照组29.40nmol/ml($P < 0.05$);与8万组亲鱼血清中MDA含量22.61nmol/ml差异不显著($P > 0.05$)。

表7 饲料中添加不同水平维生素A对大菱鲆亲鱼血清中SOD、MDA的影响(平均值±标准差)

Table 7 Effect of different vitamin A levels in diet on the SOD,MDA in the serum of turbot broodstock (Mean \pm SD)

组别 Group	对照组 Control	1万组 V_A 10 000IU	8万组 V_A 80 000IU
SOD活力 SOD activity (U/ml)	70.57 \pm 5.39 ^b	90.25 \pm 2.35 ^a	91.88 \pm 2.29 ^a
MDA含量 MDA content (nmol/ml)	29.40 \pm 2.35 ^b	20.87 \pm 1.20 ^a	22.61 \pm 0.97 ^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: Data within the same with different superscripts row are significantly different ($P < 0.05$)

3 讨论

维生素A在机体内主要有促进生长、发育和繁殖的作用,是维持上皮组织健全、构成视觉细胞内感光物质的成分(王平等 2011;李宝山等 2010)。Hernandez等(2005)提出牙鲆幼鱼维生素A的最适需要量为9 000IU/kg,此时达到最高生长率。Hilton等(1983)的研究表明日粮中过量添加维生素A会影响虹鳟的生长性能,本研究中8万组大菱鲆亲鱼体重增加显著低于对照组,但是1万组的增重与对照组无显著差异。出现上述结果的可能原因是饲料中10 000IU/kg维生素A的添加量未达到最佳需求量,而80 000IU/kg维生素A的添加量超过了生长最佳需求,对大菱鲆的增重产生了消极影响,与Hilton等(1983)对虹鳟鱼的研究结果相近。

陆生动物繁殖和胚胎发育对维生素A的需求已有很多报道(Zile *et al.* 1998;Clagett *et al.* 2002),但是关于水生动物对维生素A需求的研究较少(Furuita *et al.* 2001、2003;Alsop *et al.* 2008),Linan等(2003)研究发现,维生素A能促进养殖凡纳滨对虾性腺的成熟并提高繁殖成功率。已有研究表明,亲鱼的营养状况影响亲鱼的繁殖性能(Izquierdo *et al.* 2001),鳙鱼饲料中棕榈酸维生素A含量达到10 000IU/kg可显著提高其繁殖性能(丁丽敏等 2004)。Furuita等(2003)研究发现饲料中缺乏维生素A会使牙鲆亲鱼产卵期缩短,产卵量、浮性卵和正常仔鱼的比例降低。本研究中8万组亲鱼产卵量显著高于1万组和对照组,说明饲料中添加80 000IU/kg维生素A能有效提高大菱鲆亲鱼的产卵量。8万组卵子的上浮率、受精率显著高于对照组,推测饲料中添加维生素A促进了卵子的呼吸作用,有助于提高卵子质量,8万组卵子上浮率和受精率与1万组差异不显著,由此可知当饲料中添加10 000IU/kg维生素A即可提高大菱鲆卵子质量。在显微镜下观察卵子大小与初孵仔鱼大小发现,维生素A未能显著影响卵子大小与其油球径大小;但是8万组初孵仔鱼体长显著高于对照组,对照组与1万组初孵仔鱼体长差异不显著,说明在亲鱼配合饲料中适量添加维生素A

能对其稚鱼质量的提高起到一定的积极作用。

评价鱼卵的质量,传统的方法是计算受精率和孵化率,通过分析卵子中脂肪酸含量和组成也可以间接反映卵子质量(马爱军等 2011)。在大多数海水鱼研究中,卵的主要脂肪酸是 n-3HUFA,通常比其他组织的脂肪酸含量高,这可能表现为在鱼卵中磷脂占主要优势(Rainuzzo *et al.* 1993)。试验中通过对各组大菱鲆卵子的脂肪酸分析,看到 n-3HUFA 占全部脂肪酸含量的 34.04%~35.33%,与上述结果一致。Rainuzzo 等(1993)提出,高不饱和脂肪酸在海水鱼胚胎和早期卵的发生阶段作为重要的能量资源被利用。由此推测,海水鱼卵子质量随卵子内高不饱和脂肪酸的含量的增加而提高。本研究中,随着饲料中维生素 A 添加水平的增加,卵子中 DHA、EPA、AA、n-3 HUFA、n-6 HUFA 等高不饱和脂肪酸的总含量、脂肪酸总量有逐渐增加的趋势,表明饲料中添加一定量维生素 A 可有效提高大菱鲆卵子中脂肪酸含量。出现此现象可能与维生素 A 的抗氧化作用有关。维生素 A 分子中具有双烯共轭键,可清除自由基和过氧化物,因此饲料中添加适量的维生素 A 可以减少脂质的过氧化反应,从而增加脂肪酸的含量。当维生素 A 缺乏时,机体的抗氧化屏障缺失,细胞膜上的多不饱和脂肪酸和自由基及活性氧发生链式反应,被氧化生成饱和脂肪酸,不仅导致胚胎或卵子可利用的能量资源减少,还造成其细胞膜破坏,影响胚胎及卵子质量。韩磊等(2004)研究表明,适量补充维生素 A 可以提高机体维生素 A 的储存水平,增强机体抗氧化能力,降低烷化损伤。另有研究表明,大鼠完全或者轻度缺乏维生素 A,可使其脂质过氧化反应明显增强,抗氧化能力明显减弱。在本研究中,两个试验组亲鱼血清的 SOD 活力均显著高于对照组,而对对照组亲鱼血清的 MDA 含量显著高于两个试验组。生物体内重要抗氧化酶 SOD 活力增高及脂质氧化终产物 MDA 的降低,同样验证了饲料中添加适量维生素 A 可提高亲鱼抗氧化能力、有效降低不饱和脂肪酸被氧化程度。

Furuita 等(2001)指出牙鲆亲鱼饲料中维生素 A 含量为仔鱼需求量的 6 倍时,能相应提高卵子中维生素 A 水平,且过量的维生素 A 主要储存在亲鱼肝脏中,所以不会影响卵子质量,但摄食高维生素 A 组牙鲆的卵子中,维生素 A 的含量明显高于低维生素 A 组,二者卵子中维生素 A 含量之差没有肝脏中的差别幅度大。也有研究表明,增加虹鳟亲鱼日粮中维生素 A 的含量可以提高其卵子中维生素 A 的含量,而且试验组肝脏中维生素 A 含量显著高于对照组(Fontagne *et al.* 2010)。王吉桥等(2002)提出,大菱鲆性腺成熟期间,随着日照的延长,肝中维生素 A 的含量增加,而其在性腺中的含量降低。本研究中 8 万组亲鱼所产卵子、性腺、肌肉中维生素 A 含量高于 1 万组与对照组,说明添加维生素 A 能提高卵子、性腺和肌肉中维生素 A 水平;而各种组织中维生素 A 含量以肝脏含量最高,远高于卵子和性腺中的含量,表明大菱鲆肝脏同样起到贮存维生素 A 的作用。与 Furuita 等(2001)和王吉桥等(2002)的研究结果一致。本研究还发现各饲料组在亲鱼肝脏中维生素 A 的含量是对照组>8 万组>1 万组,出现这个结果的原因有待进一步探讨。

由本研究结果可以看出,在亲鱼配合饲料中添加维生素 A 可以显著改善亲鱼的产卵量、卵子上浮率、受精率及初孵仔稚鱼体长;提高亲鱼机体的抗氧化能力及卵子中不饱和脂肪酸的含量。在本研究条件下,建议大菱鲆亲鱼饲料维生素 A 的添加量为 10 000~80 000IU/kg 饲料,更为确切的添加量有待进一步研究。

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
- 马爱军,陈超,雷霖霖,陈四清,庄志猛. 2005. 饲料蛋白质含量和 n-3HUFA 水平对大菱鲆亲鱼产卵的影响. 海洋水产研究, 26(1):7-12
- 马爱军,雷霖霖,王新安,黄智慧,丁福红. 2011. 大菱鲆亲鱼、配子和仔稚鱼的质量评价. 海洋科学, 1:98-104
- 王平,杨维仁,杨在宾,张崇玉,姜淑贞,张桂国,荆元强. 2011. 不同水平维生素 A 对妊娠后期济宁青山羊血液指标及初生羔羊生长性能的影响. 动物营养学报, 23(1):66-72
- 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
- 李英哲,黄连珍,周丽玲. 2001. 维生素 A 缺乏对大鼠脂质过氧化和抗氧化系统的影响. 营养学报, 23(1):1-5
- 李宝山,王际英,王世信,黄炳山,张利民. 2010. 维生素 A、C、E 对海水鱼类繁殖及仔稚鱼质量的影响. 饲料工业, 31(6):29-30
- 李远友,孙泽伟,陈伟洲,林学群,杨宇峰. 2001. 海水养殖亲鱼的营养研究动态. 海洋科学, 25(1):20-22
- 李远友,陈伟洲,孙泽伟,陈洁辉,吴克刚. 2004. 饲料中 n-3HUFA 含量对花尾胡椒鲷亲鱼的生殖性能及血浆性类固醇激素水平季节变化的影响. 动物学研究, 25(3):249-255

- 张国辉,何瑞国,张世萍,曹克驹,高红梅. 2007. 维生素E对黄鳝繁殖性能的影响. 水生生物学报, 31(2): 196-200
- 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
- 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
- 雷霖霖. 2000. 海水养殖新品种介绍——大菱鲆. 中国水产, 4: 38-39
- Alsop D, Matsumoto J, Brown S, Van Der Kraak G. 2008. Retinoid requirements in the reproduction of zebrafish. *General and Comparative Endocrinology* 156(1): 51-62
- Clagett-Dame M, DeLuca HF. 2002. The role of vitamin A in mammalian reproduction and embryonic development. *Annual Review of Nutrition* 22: 347-381
- Furuita H, Tanaka H, Yamamoto T and 2 others. 2003. Supplemental effect of vitamin A in diet on the reproductive performance and egg quality of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (T&S). *Aquaculture Research* 34(6): 461-468
- 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*. *Fisheries Science* 67(4): 606-613
- 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
- Hernandez LHH, Teshima SI, Ishikawa M and 2 others. 2005. Dietary vitamin A requirements of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture Nutrition* 11(1): 3-9
- Hilton JW. 1983. Hypervitaminosis A in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): toxicity signs and maximum tolerable level. *Journal of Nutrition* 113(9): 1737-1745
- Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H, Tacon AGJ. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197(1-4): 25-42
- Kanazawa A, Estevez A. 1996. Fatty acid composition of neural tissues of normally pigmented and unpigmented juveniles of Japanese flounder using rotifer and Artemia enriched in n-3HUFA. *Fisheries Science* 62(1): 88-93
- Linan-Cabello MA, Paniagua-Michel J, Zenteno-Savin T. 2003. Carotenoids and retinal levels in captive and wild shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 9(6): 383-389
- Liang MQ, Ji WJ, Chang Q, Wang JL. 2004. The effect of vitamin A supplementation in broodstock feed on reproductive performance and larval quality in *Penaeus chinensis*. *Aquaculture Nutrition* 10(5): 295-300
- Olson JA. 1994. Needs and sources of carotenoids and vitamin A. *Nutrition Reviews* 52(2): 567-573
- Rainuzzo JR. 1993. Fatty acid and lipid composition of fish egg and larvae. In: *Fish Farming Technology* (Reineitsen H, Dahle L A, Jorgensen L & Tvonnereim K eds), pp. 43-49, Balkema, Rotterdam
- Reitan KI, Bolla S, Olsen Y. 1994. A study of the mechanism of algal uptake in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Journal of Fish Biology* 44(2): 303-310
- Zile MH. 1998. Vitamin A and embryonic development: an overview. *Journal of Nutrition* 128(12): 455S-458S