

饲料 Vc 对异育银鲫的生理效应及其适宜添加量

宋学宏, 蔡春芳, 赵林川, 潘新法, 吴康, 张 建

(苏州大学 农业科学与技术学院, 江苏 苏州 215006)

摘 要: 在精制饲料中分别添加不同剂量 Vc(0、37.5、75、150、300、600 和 1 200 mg/kg), 连续投喂异育银鲫(方正银鲫♀×兴国红鲤♂)(*Carassius auratus gibelio*)8 周。结果显示, 当饲料中缺乏 Vc 时异育银鲫虽没有出现明显的缺乏症状, 但日增重率、血红蛋白含量和血清 POD 酶活性均低于 Vc 添加组, 而红细胞脆性极显著地高于高剂量 Vc 添加组($P < 0.01$); 同时, 经新复极差检验, 在适宜范围内随着饲料 Vc 含量增加, 异育银鲫日增重率、血红蛋白含量、POD 活性等指标显著提高, 而红细胞脆性明显下降($P < 0.05$)。综合以上指标的非线性回归分析结果, 建议生产上异育银鲫饲料 Vc 适宜添加量为 300~500 mg/kg。

关键词: 异育银鲫; Vc; 生理效应; 适宜添加量

中图分类号: S963.731

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737(2002)04-0359-04

在机体内自由基产生和清除的平衡过程中, Vc 作为天然的自由基清除剂可以直接或间接清除自由基, 从而可保护生物膜免遭过氧化物的损伤^[1]。许多研究表明, 多数鱼类体内不能或很少合成 Vc, 因而其生存与生长所需的 Vc 主要来源于饲料^[2-3], 因此在饲料中添加 Vc, 提高鱼体整体抗病能力已为越来越多的研究工作者及生产者所重视。国内外有关鱼类对饲料 Vc 适宜含量的研究报道较少, 黄忠志等以肝脏中维生素最大蓄积量为评定指标认为草鱼饲料中 Vc 适宜质量比为 600 mg/kg^[2]。Sealey^[4]与 Aguirre^[5]根据杂种条纹狼鲈与红拟石首鱼的鱼体增重率判定鱼对饲料中 Vc 的最低需要量。本研究首次以异育银鲫为实验对象, 利用日增重率、血红蛋白含量、红细胞脆性、POD 酶活性等生长及生理指标综合评价异育银鲫饲料中 Vc 需要量, 旨在生产上提供更客观、更合理的 Vc 添加量。

1 材料与方 法

1.1 实验用精制饲料

收稿日期: 2002-03-27。

资助项目: 苏州大学青年教师基金资助(Q3114810); 苏州市农业科技发展基金资助(SNZ 0117)。

作者简介: 宋学宏(1963-), 女, 讲师, 主要从事水产动物营养与疾病防治的教学和研究。

根据 Lovell 的配方^[2]改进配制精制饲料(干酪素 32%、明胶 8%、糊精 28%、纤维素 19%、羧甲基纤维素钠 2%、精制豆油 3%、鱼肝油 3%、混合无机盐 4%、混合维生素 1%)。其各种组分(分析纯)购于上海生化试剂公司。制成的基础精制饲料营养成分分别为: 粗蛋白 33.32%、粗脂肪 5.86%、灰分 6.53%、水分 11.30%。在基础饲料中添加 Vc-多聚磷酸酯(Vc 质量分数为 9.4%, 由北京营养源研究所提供), 制成含 Vc 分别为 0、37.5、75、150、300、600、1 200 mg/kg 的 7 组异育银鲫适口饲料, 风干, 4℃保存备用。

1.2 异育银鲫的来源与处理

实验用异育银鲫鱼种由苏州大学水产养殖实习基地提供, 体重 41~43 g, 在 50 cm×60 cm×100 cm 的水族箱中用普通鱼用颗粒饲料 25℃下驯养 2 周。实验时随机将鱼分配到 21 个水族箱中, 15 尾/箱。将 7 个处理的饲料(每处理设 3 个重复)随机分配给每箱鱼。日投喂量为体重的 3%, 连续喂养 8 周。水源为曝气去氯自来水, 实验期间, 水体箱内过滤循环并充气增氧, 溶氧为(6±0.5) mg/L, 每天吸污并换水约 1/3, 氨氮(0.06±0.01) mg/L, 水温(25±1)℃, 每隔 2 周调整其投饲率。

1.3 血红蛋白量及红细胞脆性的测定

自尾静脉取血测定血红蛋白质量浓度及红细胞

脆性。血红蛋白采用血红蛋白试剂盒在 732 型分光光度计上于 540 nm 波长处比色测定,试剂盒购于上海伊华医学科技有限公司;红细胞脆性参照解景田等^[6]方法进行测定。

1.4 过氧化物酶(POD)活力测定

按 Worthington 法^[7]测定。POD 活力(U/mL) = $(E_{510} \times 3) / (6.58 \times 0.1)$ 。

1.5 数据处理

对所有实验数据经方差分析后进行邓肯氏新复极差检验,并对日增重率、血红蛋白含量、红细胞脆性、POD 活性等生长及血液生理指标的数据进行非线性回归分析,求出异育银鲫对饲料 Vc 的适宜添加量。

2 结果与分析

2.1 Vc 对日增重率及 POD 活性的作用

饲养 8 周后,各实验组异育银鲫的成活率均为 100%。测定结果显示,不加 Vc 的实验组异育银鲫的日增重率极显著地低于 Vc 质量比为 75~600 mg/kg 的实验组。随着饲料中 Vc 质量比的增加,使异育银鲫的日增重率显著提高(经新复极差检验, $P < 0.01$)(表 1),经鱼体增重非线性回归分析,饲料 Vc 的最适质量比为 213.33 mg/kg (图 1)。同时,经过测定发现 POD 活性也随着饲料 Vc 的增加而极显著的增加,经非线性回归分析得饲料 Vc 的最

适质量比为 231.17 mg/kg (图 2)。

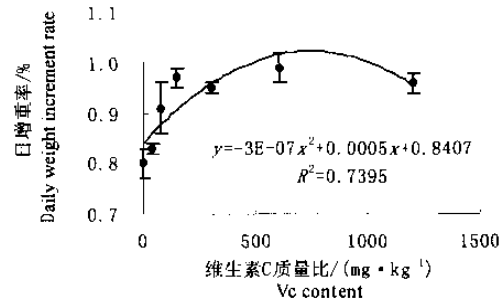


图 1 饲料 Vc 对日增重率的影响

Fig.1 Effects of dietary Vc level on daily weight increment rate

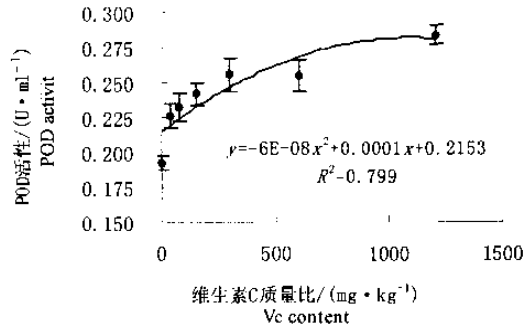


图 2 饲料 Vc 对血清 POD 活性的影响

Fig.2 Effects of dietary Vc on serum POD activities

表 1 饲料 Vc 含量对异育银鲫日增重率、血清 POD 活性、血红蛋白含量及红细胞脆性的影响

Table 1 Effects of dietary Vc on daily weight increase rate, serum POD activity, Hb content and osmotic hemocytolysis in *Carassius auratus gibelio*

Vc 质量比/ (mg·kg ⁻¹) Vc content	始重/g Original weight	末重/g Final weight	日增重率/% Daily weight increment rate	POD 活性/ (U·mL ⁻¹) POD Activity	血红蛋白 质量浓度 (g·L ⁻¹) Hb content	红细胞脆性 Osmotic hemocytolysis	
						最大脆性/NaCl % Maximum osmotic hemocytolysis	最小脆性/NaCl % Minimum osmotic hemocytolysis
0	41.8 ± 0.2	60.5 ± 0.5	0.80 ± 0.003c	0.193 ± 0.005c	81.01 ± 0.94b	0.4167 ± 0.014A	0.5333 ± 0.009A
37.5	40.9 ± 0.3	59.9 ± 0.6	0.83 ± 0.01bc	0.226 ± 0.009c	82.12 ± 1.63b	0.3833 ± 0.014ab	0.5167 ± 0.013ab
75	43.1 ± 0.1	65.1 ± 0.2	0.91 ± 0.05abc	0.233 ± 0.010bc	88.52 ± 3.57A	0.4000 ± 0.025a	0.5083 ± 0.014ab
150	42.7 ± 0.4	65.9 ± 0.3	0.97 ± 0.02ab	0.242 ± 0.008b	89.91 ± 4.63a	0.4000 ± 0.000a	0.5000 ± 0.012b
300	41.8 ± 0.1	64.0 ± 0.5	0.95 ± 0.01A	0.256 ± 0.012ab	90.67 ± 2.48A	0.3233 ± 0.011c	0.4938 ± 0.013bc
600	43.1 ± 0.2	67.1 ± 0.4	0.99 ± 0.03A	0.255 ± 0.011ab	87.76 ± 1.90a	0.3583 ± 0.014ab	0.4500 ± 0.011d
1200	41.8 ± 0.2	64.3 ± 0.3	0.96 ± 0.02A	0.284 ± 0.007A	85.30 ± 1.84b	0.3500 ± 0.025b	0.4583 ± 0.014cd

注:小写英文字母表示 $\alpha = 0.05$ 显著水平,大写英文字母表示 $\alpha = 0.01$ 显著水平。

Note: The small letters mean the significant level $\alpha = 0.05$, while the capital letters mean the significant level $\alpha = 0.01$.

2.2 Vc 对血红蛋白含量及脆性的作用

异育银鲫的血红蛋白含量及红细胞脆性在实验

组之间存在差异(表 1),血红蛋白含量随着饲料 Vc 质量比的增加而极显著地增高($P < 0.01$),经非线

性回归分析, 饲料 Vc 与血红蛋白的相关系数为 0.453 7, 说明其相关性不是很大 (图 3)。同时, 综合红细胞最大脆性与最小脆性可见, 高剂量组 (300~1 200 mg/kg) 的红细胞脆性极显著地小于对照组及低剂量组 (37.5 mg/kg) ($P < 0.01$), 经非线性回归分析, 饲料 Vc 适宜添加量分别为 506.5 mg/kg (最小脆性), 饲料 Vc 含量与血细胞最大脆性的相关系数为 0.598 2, 证明其相关性也不很大 (图 4)。

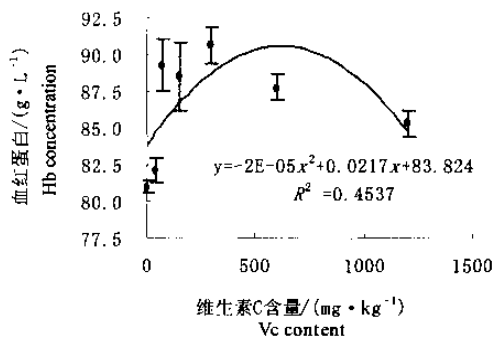


图3 Vc 对血红蛋白质量浓度的影响

Fig.3 Effect of dietary Vc on Hb concentration

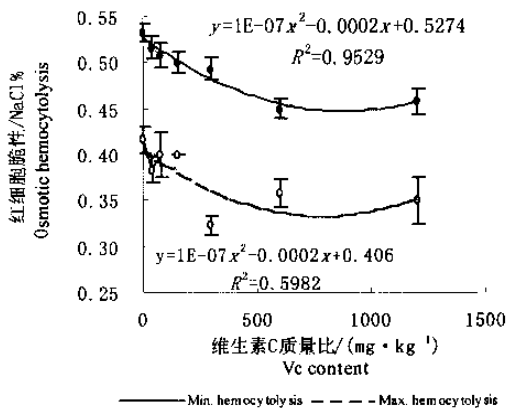


图4 Vc 对红细胞脆性的影响

Fig.4 Effect of dietary Vc on osmotic hemocytolysis

3 讨论

3.1 饲料 Vc 对异育银鲫血液生理的影响

鱼类血红蛋白含量及红细胞脆性是很重要的血液生理指标, 它们随鱼种类、年龄、性别、性周期、营养及健康状况、季节变化以及鱼类本身的活动性等因素有所变化。Vc 是一种具有广泛生理功能的

营养素, 对鱼类的血液学指标具有明显的作用, Lim 等^[8]发现, 饲料中高剂量 Vc 对大西洋鲑血细胞总数(TCC)、血红细胞数(RBC)、血细胞比容(HCT)和血红蛋白(Hb)等指标具有明显的增强作用。本研究发现, 异育银鲫饲养 8 周后, 饲料 Vc 缺乏组的鱼虽然其体表未出现明显的 Vc 缺乏症状, 仅有少数鱼出现轻微出血现象, 但其血红蛋白含量低、红细胞脆性极显著地高于高剂量饲料 Vc 处理组, 生长速度也明显低于 Vc 高剂量组。随着饲料中 Vc 量的增加, 实验鱼的体表光滑, 色泽好, 生长速度加快。对不同指标进行非线性回归分析, 其生长速率、红细胞最小脆性等指标与饲料 Vc 量的相关系数大于 0.739 5, 尤其是红细胞最小脆性与 Vc 量的相关系数高达 0.952 9, 这为生产上发现异育银鲫常因饲料中缺乏 Vc 而易遭嗜水气单胞菌的侵袭呈现出出血症状找到了理论依据。血红蛋白质量浓度也随饲料 Vc 的增加而显著增加, 但其与 Vc 量的相关性不大, 其相关系数只有 0.453 7, 这说明异育银鲫出血的主要原因是由于 Vc 缺乏使红细胞膜渗透性发生改变引起的。因此, 血液生理指标, 尤其是血细胞最小脆性能间接地反映饲料 Vc 的添加量。在生产上, 尤其养殖名贵水产品时, 在饲料中添加适量的 Vc, 可有效地抗感染, 预防出血病的发生。

3.2 饲料 Vc 与异育银鲫抗氧化能力的关系

Vc 为水溶性维生素, 是血浆中有效的抗氧化剂, 对脂质过氧化反应(LP)具有阻断作用, 被称为细胞外液抗氧化防御体系的第一道防线, 同时在细胞内也有清除氧自由基(OFR)和抗 LP 的作用^[9]。过氧化物酶(POD) 是血浆中防御自由基毒害的关键酶类之一^[1], 有研究表明, 豚鼠体内尽管有其他抗氧化剂(包括 POD), 但如果 Vc 缺乏, 其肝组织依然有渐进性丙二醛(MDA)的积累, 补充 Vc 后 MDA 消失^[9]。本文分析了饲喂 Vc 添加饲料后异育银鲫 POD 活性的变化, 发现随着饲料 Vc 量的提高, 血浆 POD 活性也显著提高, 从而降低了自由基对生物膜的毒害作用。这也证实了 POD 活性与异育银鲫饲料 Vc 含量呈正相关, 可间接地反映饲料 Vc 的添加量。

3.3 异育银鲫饲料 Vc 的适宜添加量

研究鱼类对 Vc 的需要量, 采用的评判标准不同, 结果也不同。前人^[10]研究鱼类 Vc 需要量通常以生长速度、相关酶活性、肝脏饱和度及是否出现缺乏症作为评判标准。近年来, 人们也开始用非特异

性免疫力作为更为科学的评判标准来确定饲料 Vc 的适宜含量。我们曾用生长与非特异性免疫力作为评判标准,得出异育银鲫饲料 Vc 的适宜添加量为 300 mg/kg。现用血液生理指标及生长速度对异育银鲫 Vc 适宜需要量进行综合评定,对不同指标进行非线性回归分析,发现这些指标与饲料 Vc 含量的相关系数均大于 0.739 5,尤其是血细胞最小脆性与其饲料 Vc 含量的相关系数高达 0.952 9,依据回归方程计算 Vc 适宜添加量分别为:231.17(POD)、506.52(最小脆性)、213.33(生长速度)mg/kg。而当饲料中 Vc 质量比达到 600 mg/kg 时,生长速度不再加大,血红蛋白质量浓度反而降低,红细胞脆性也增大,这表明,饲料中必须添加一定量的 Vc,但添加量并非越多越好。因而,综合以上分析,我们建议生产上异育银鲫饲料 Vc 的适宜添加量为 300~500 mg/kg。

参考文献:

- [1] 陈国胜,蔡辉益.维生素 C 在家禽应激中的作用研究进展[J].动物营养学报,1997,9(4):1-13.
- [2] 李爱杰.水产动物营养与饲料学[M].北京:中国农业出版社,1996.52-53,96-97.
- [3] Carr A C, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in human[J]. Am J Clin Nutr, 1999, 69(6):1 086 - 1 107.
- [4] Sealey W M, Gatlin D M. Dietary vitamin C requirement of hybrid striped bass *Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂ [J]. J World Aquac Soc, 1999, 30(3):297-301.
- [5] Aguirre P, Gatlin D M. Dietary vitamin C requirement of red drum *Sciaenops ocellatus* [J]. Aquac Nutr, 1999, 5(4):247-249.
- [6] 解景田,谢申玲.生理学实验[M].北京:高等教育出版社,1987.59-61.
- [7] 施特马赫·B[德].酶的测定方法[M].北京:中国轻工出版社,1992.276-278.
- [8] Lim C, Klesius P H, Li M H, et al. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge[J]. Aquaculture, 2000, 185:313-327.
- [9] 张晓岚,姚希贤,刘永春,等.大剂量 Vc 对肝硬化患者脂质过氧化损伤的保护作用[J].临床消化病杂志,2001,13(1):3-5.
- [10] Fournier V, Gouillou-Coustans M F, Kaushik S J. Hepatic ascorbic acid saturation is the most stringent response criterion for determining the vitamin C requirement of juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. J Nutr, 2000, 130(3):617-620.

Physiological effects of dietary vitamin C on allogynetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* *Bloch* ♀ × *Cyprinus carpio* var. *singonensis* ♂) and the optimal supplementation

SONG Xue-hong, CAI Chun-fang, ZHAO Lin-chuan, PAN Xin-fa, WU Kang, ZHANG Jian
(School of Agricultural Science and Technology, Suzhou University, Suzhou 215006, China)

Abstract: The refined diets were added with Vc at a gradient of 0, 37.5, 75, 150, 300, 600 and 1 200 mg/kg diet. The allogynetic silver crucian carp, body weight 41-43 g, were cultured in a recirculation filtered water system and fed for 8 weeks at water temperature (25 ± 1)℃. The analyzed data show that the fish fed no-Vc diets do not show any symptom of Vc-deficiency, but the daily weight increment rate, hemoglobin level and serum peroxidase activity are all lower than those of the Vc-diet groups ($P < 0.01$), while the osmotic hemocytolysis is higher than that of the Vc-diets groups. With the increase of Vc in diets within 37.5 to 600 mg/kg, the fish grow better and better with the decrease of osmotic hemocytolysis and increase of hemoglobin content and POD activity significantly ($P < 0.05$) as evidenced from Duncan's LSR test. From the comprehensive results by non-linear regression analysis, the conclusion is that the maximum Vc level in diets are 300-500 mg/kg for allogynetic silver crucian carp.

Key words: allogynetic silver crucian carp; Vc; physiological effects; optimum supplementation