

## 不同饲料维生素 C 水平对口黑鲈仔鱼生长、免疫、抗氧化能力的影响

王知行, 任兰兰, 韩潇宇, 高坚\*

(华中农业大学水产学院, 农业农村部淡水生物繁育重点实验室, 长江经济带大宗水生生物产业绿色发展教育部工程研究中心, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 为探究大口黑鲈仔鱼维生素 C 最适需求量, 实验通过研究不同饲料维生素 C (VC) 含量对大口黑鲈仔鱼生长、免疫和抗氧化能力的影响, 共设计 5 个实验组, 即 VC 添加量分别为 0 (VC0)、200 (VC200)、400 (VC400)、800 (VC800) 和 1 600 (VC1600) mg/kg。以出膜后 11 日 [体重 (1.2±0.3) mg] 的大口黑鲈仔鱼为对象, 在工厂化循环水系统进行为期 3 周的投喂实验。结果显示, 大口黑鲈仔鱼的终末体重、增重率、特定生长率均随饲料中维生素 C 添加水平的提高先升高, 其中 VC400 组数值最高。通过折线模型分析维生素 C 添加水平与增重率的关系, 大口黑鲈仔鱼饲料中维生素 C 最适添加水平为 421.2 mg/kg。各组生长激素和类胰岛素生长因子 1 的 mRNA 表达水平的变化趋势和生长性能基本一致。各维生素 C 添加组的补体浓度无显著差异, 但都显著高于 VC0 组, 补体 C3 与补体 C4 浓度均在 VC1600 组达到最大值。在溶菌酶含量中, VC400 组、VC800 组与 VC1600 组含量无显著差异, 显著高于 VC0 组与 VC200 组。各组过氧化氢酶活性、谷胱甘肽含量、超氧化物歧化酶活性均随添加水平的提高先升高, 均在 VC400 组取得最大值。各组的碱性磷酸酶活性和体内维生素 C 含量随饲料维生素 C 添加量的升高而升高, 丙二醛含量随饲料维生素 C 添加量的升高而降低。研究表明, 饲料中添加 420 mg/kg 维生素 C 可以有效提高大口黑鲈仔鱼的生长性能、免疫性能和抗氧化性。本研究为维生素 C 在大口黑鲈仔鱼饲料中的应用提供科学依据。

**关键词:** 大口黑鲈; 维生素 C; 仔鱼; 生长性能; 抗氧化能力

**中图分类号:** S963.73<sup>+1</sup>

**文献标志码:** A

维生素 C 属于水溶性维生素, 具有广泛的生理和免疫作用, 能够促进养殖鱼类快速生长, 缓解应激反应, 增强鱼体抵抗病原微生物感染能力及免疫功能<sup>[1]</sup>。大多数鱼类由于体内缺乏 L-古洛内酯氧化酶, 不能自主合成维生素 C, 因而必须从食物中获取<sup>[2]</sup>。现有研究表明, 尼罗罗非鱼

(*Oreochromis niloticus*) 缺乏维生素 C 会出现皮肤出血、尾鳍腐烂、伤口愈合缓慢的现象<sup>[3]</sup>。鲤 (*Cyprinus carpio*) 缺乏维生素 C 时会现体表出血、皮肤腐烂、鳃盖不平等症状<sup>[4]</sup>。斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 缺乏维生素 C 时, 会出现脊柱变形、内外出血、骨胶原减少等症状<sup>[5]</sup>。由此可

收稿日期: 2022-12-28 修回日期: 2023-05-15

资助项目: 淡水鱼工业化养殖技术与装备研发及应用 (70712210006)

第一作者: 王知行 (照片), 从事水产养殖学研究, E-mail: 138066311@qq.com

通信作者: 高坚, 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: gaojian@mail.hzau.edu.cn



见, 饲料中添加维生素 C 可以提高鱼类免疫性能及抗氧化能力, 从而增强鱼体抗逆性、提高鱼类成活率。

目前为止, 大量研究已经明确了多种鱼类对维生素 C 的需求量。团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 幼鱼饲料中维生素 C 的适宜添加量为 150 mg/kg<sup>[6]</sup>。青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 获得最好生长的饲料中有效维生素 C 添加量为 63.0 mg/kg<sup>[7]</sup>。泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 幼鱼饲料中维生素 C 适宜添加量为 95 mg/kg<sup>[8]</sup>。草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 成鱼饲料中维生素 C 的适宜添加量为 100 mg/kg<sup>[9]</sup>。吉富罗非鱼 (GIFT *O. niloticus*) 饲料中维生素 C 适宜添加量为 282 mg/kg<sup>[10]</sup>。由此可见, 不同鱼类对维生素 C 需求量存在差异。饲料添加过多维生素 C, 不仅起不到促进生长的作用, 反而可能抑制生长。在对杂交鲟的研究中发现, 添加 800 mg/kg 维生素 C 对杂交鲟幼鱼的生长性能没有显著影响, 但能增强鱼体的抗氧化性能<sup>[11]</sup>。对泥鳅幼鱼的研究表明, 饲料中适当添加维生素 C 可以显著提高泥鳅幼鱼的特定生长率, 过量添加维生素 C 则会抑制其生长<sup>[8]</sup>。因此, 不同鱼类在不同阶段的维生素 C 最适饲料添加量是非常必要的。

已有研究证明, 维生素 C 对维持仔鱼成活率有着重要作用。在罗非鱼的研究中, 用不含维生素 C 的饲料投喂罗非鱼, 21 周后其受精卵孵化率降低, 仔鱼畸形率高达 56.9%<sup>[12]</sup>。在牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 饲料中添加维生素 C 能显著提高牙鲆仔鱼的存活率以及高温应激后的存活率<sup>[13]</sup>。由此可见, 探讨仔鱼饲料中维生素 C 的含量以提高仔鱼成活率、生长率是十分必要的。

大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 俗称加州鲈, 肉食性温水鱼类, 因其肉质鲜嫩、无肌间刺等特点, 适应性强、生长迅速、容易起捕、养殖周期较短等优势, 已成为了我国水产养殖中的一种重要经济鱼类。随着大口黑鲈在水产养殖行业热度的不断升高, 集约化养殖逐渐发展, 养殖密度不断增大, 对大口黑鲈苗种的需求量也持续扩大。然而, 在加州鲈苗种培育过程中, 高死亡率制约加州鲈产业的进一步发展。尽管国内外对成长期大口黑鲈或大口黑鲈幼鱼的维生素 C 需求量开展了研究<sup>[14-16]</sup>, 但关于大口黑鲈仔鱼维生素 C 需求量的研究还鲜有报道。本实验通过投喂大口黑鲈仔鱼添加不同剂量维生素 C 的饲料, 研究其对大口黑鲈仔鱼生长性能及生长相关基因表达、溶菌

酶和补体含量、总超氧化物歧化酶等酶活性的影响, 明确大口黑鲈仔鱼饲料维生素 C 的最适添加量, 为提高大口黑鲈苗种培育成功率提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料的制备

本实验各组饲料配方及粗成分见表 1 所示。以秘鲁鱼粉、磷虾粉、酪蛋白、啤酒酵母为蛋白源, 鱼油、大豆油为脂肪源, 采用甲基纤维素调平不同维生素 C 水平。以维生素 C 磷酸酯镁的形式向基础饲料中分别添加 0(VC0)、200(VC200)、400(VC400)、800(VC800)、1 600(VC1600) mg/kg 维生素 C。微粒子饲料的制作方法参照 Gao 等<sup>[17]</sup>, 所有粉状原料经粉碎机粉碎后过 80 目筛网, 按设计的配比称重, 然后混匀, 微量组分采用逐级预混法, 混合均匀后挤压制成颗粒, 在 50 °C 下烘干后破碎, 用 60 目筛网和 80 目筛网筛出所需饲料 (60~80 目), 放入密封袋中, 于 -20 °C 冰箱中保存待用。实验饲料配制完成后, 采用标准方法测定饲料中的粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分的含量。

### 1.2 实验对象

大口黑鲈仔鱼购自中国广东省佛山市某水产养殖公司, 仔鱼在平游后被运至湖北省武汉市华中农业大学内水产养殖基地。本实验使用初始体重为 (1.2±0.26) mg 的大口黑鲈仔鱼约 30 000 尾, 将其随机分为 5 组, 每组 3 个平行, 每个平行约 2 000 尾。投喂实验共持续 30 d, 投喂时提前 30 min 开灯, 待鱼聚群后观饱投喂。前 5 天投喂卤虫无节幼体, 每日投喂 7 次, 每次投喂间隔 3 h (具体投喂时间: 7:00、10:00、13:00、16:00、19:00、22:00、1:00)。第 6 天开始进行驯食, 投喂卤虫无节幼体与 60~80 目的实验饲料, 每日投喂 6 次 (具体投喂时间: 7:30、11:00、15:00、19:00、21:00、0:00)。第 16 天开始投喂 60~80 目的实验饲料, 每日投喂 6 次 (具体投喂时间: 7:30、11:00、15:00、19:00、21:00、0:00)。本实验采用循环水养殖模式, 实验期间维持各项水体指标恒定 (水温 24.5~26.6 °C, 溶解氧 5~6 mg/L, 氨氮 <0.05 mg/L, 亚硝酸盐 <0.1 mg/L, pH7.0~8.2), 定期清理残饵、粪便和死鱼, 保持养殖水环境的清洁。

本研究获得了华中农业大学科学伦理委员会批准, 实验过程中操作人员严格遵守华中农业大

表 1 饲料配方与粗成分(干物质)

Tab. 1 Ingredient composition and proximate analysis of the experimental diet (dry matter)

项目 items	组别 groups				
	VC0	VC200	VC400	VC800	VC1600
<b>原料 ingredient</b>					
秘鲁鱼粉/% Peru fish meal	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
磷虾粉/% krill meal	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
酪蛋白/% casein	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
啤酒酵母/% beer yeast	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
鱼油/% fish oil	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
大豆油/% soy oil	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
$\alpha$ -淀粉/% $\alpha$ -starch	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
甲基纤维素/% methyl cellulose	1.80	1.78	1.76	1.72	1.64
复合维生素/% vitamin premix <sup>1)</sup>	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
氯化胆碱/% choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
复合矿物质/% mineral premix <sup>2)</sup>	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
维生素C磷酸酯镁/% magnesium ascorbyl phosphate	0.00	0.02	0.04	0.08	0.16
<b>营养组成 nutrient composition</b>					
粗蛋白/% crude protein	66.67	67.96	67.51	67.30	67.06
粗脂肪/% crude lipid	9.53	9.49	9.62	9.32	9.82
粗灰分/% crude ash	16.73	16.31	16.03	16.55	16.38
饲料中维生素C总添加量/(g/kg) total amount of vitamin C added in feed	0.015	0.215	0.415	0.815	1.615

注: 1) 复合维生素(mg/kg 干物质)为维生素A 110 500 IU; 维生素D<sub>3</sub> 129 600 IU; 维生素K<sub>3</sub> 46.00; 维生素B<sub>1</sub> 25.00; 维生素B<sub>2</sub> 26.85; 维生素B<sub>6</sub> 20.00; 维生素B<sub>12</sub> 0.04; 维生素E 160.00; 维生素C 1 000.00; 烟酰胺 770.00; 泛酸钙 13.47; 叶酸 4.24; 生物素 4.24; 肌醇 1500.00。2) 复合矿物质(mg/kg 干物质)为硫酸铜 313.00; 七水硫酸锌 4 117.00; 一水硫酸锰 300.00; 七水硫酸亚铁 2 914.00; 碘化钾 78.00; 亚硒酸钠 7.00; 七水硫酸钴 61.00; 硫酸镁 30.00; 氯化钾 500.00; 氯化钠 150.00。

Notes: 1) vitamin premix (mg/kg diet), vitamin A 110 500 IU, vitamin D<sub>3</sub> 129 600 IU, vitamin K<sub>3</sub> 46.00, vitamin B<sub>1</sub> 25.00, vitamin B<sub>2</sub> 26.85, vitamin B<sub>6</sub> 20.00, vitamin B<sub>12</sub> 0.04, vitamin E 160, vitamin C 1 000, niacinamide 770.00, calcium-pantothenate 13.47, folic acid 4.24, biotin 4.24, inositol 1500.00. 2) mineral premix (mg/kg diet), CuSO<sub>4</sub> 313.00, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 4 117.00, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 300.00, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2 914.00, KI 78.00, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> 7.00, CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 61.00, MgSO<sub>4</sub> 30.00, KCl 500.00, NaCl 150.00.

学科学伦理委员会伦理规范, 并按照华中农业大学科学伦理委员会制定的规章制度执行。

### 1.3 样品采集与测定

**生长指标的采集与测定** 在投喂实验期间, 每隔 4 天进行 1 次体长、体重的取样测定, 每个网箱取 9 尾, 每组取 27 尾, 使用直尺与电子天平来测定大口黑鲈仔鱼的体长、体重。投喂实验结束后, 大口黑鲈仔鱼禁食 24 h, 取样进行终末体长、体重的测定, 并根据公式计算增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR)。

生长指标的计算公式:

增重率 (WGR, %)=(终末体重-初始体重)/初始体重×100%

特定生长率 (SGR, %/d)=ln(终末体重/初始体重)/养殖天数×100%

**酶活性的测定** 投喂实验结束后, 禁食 24 h, 每个平行取 15 尾大口黑鲈仔鱼进行过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、碱性磷酸酶 (AKP) 活性, 以及谷胱甘肽 (GSH)、溶菌酶

(LZM)、丙二醛 (MDA) 和维生素 C 含量和补体浓度的测定。以上酶活性检测均按照试剂盒 (中国南京建成生物工程研究所) 说明书用酶标仪进行检测。先将样品按照 1 : 9 的体积比用磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 稀释, 利用组织研磨机充分破碎后离心 10 min, 冰上静置 5 min 后, 取上清液测量 BCA 蛋白浓度后备用, 相关酶活性检测步骤均按照试剂盒进行操作。

**基因表达水平的测定** 投喂实验结束后, 禁食 24 h, 每个平行取 3 尾仔鱼, 进行生长激素基因 (*gh*) 和类胰岛素生长因子 1 基因 (*igf-1*) 表达水平的测定。采用 TRIzol 法进行总 RNA 的处理, 提取过程中所用试剂及工具均为无 RNase 产品或经 DEPC 水处理。总 RNA 提取完成后进行 cDNA 的合成以及 PCR 扩增。

### 1.4 数据分析

本实验中数据采用 SPSS 23.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 用 Duncan 氏均值多重比较法对实验结果差异显著性进行分



析。P<0.05 认为有显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 饲料维生素 C 对大口黑鲈仔鱼生长性能的影响

生长指标 饲料中不同维生素 C 水平对大

口黑鲈仔鱼生长性能的影响如表 2 所示。饲料中添加维生素 C, 大口黑鲈仔鱼的终末体重、增重率和特定生长率随着饲料中维生素 C 含量的增大而升高 (P<0.05), 其中 VC400 组各项数值最高, 且显著高于 VC0、VC200 组 (P>0.05)。VC1600 组的终末体重、增重率和特定生长率较 VC400、VC800 组有所降低, 但各组之间无显著差异 (P>0.05)。

表 2 不同添加水平的维生素 C 对大口黑鲈仔鱼生长指标的影响

Tab. 2 Effects of different levels of vitamin C on growth indices of *M. salmoides*

项目 item	组别 groups				
	VC0	VC200	VC400	VC800	VC1600
初始体重/mg initial body weight	1.2±0.3 <sup>a</sup>	1.2±0.3 <sup>a</sup>	1.2±0.3 <sup>a</sup>	1.2±0.3 <sup>a</sup>	1.2±0.3 <sup>a</sup>
终末体重/mg final body weight	8.7±0.8 <sup>a</sup>	10.7±0.8 <sup>b</sup>	13.3±2.0 <sup>c</sup>	13.2±2.0 <sup>c</sup>	12.7±0.9 <sup>c</sup>
增重率/%WGR	626.7±64.9 <sup>a</sup>	790.0±63.6 <sup>b</sup>	1011.7±128.9 <sup>c</sup>	1006.7±147.0 <sup>c</sup>	960.0±76.9 <sup>c</sup>
特定生长率/(%/d) SGR	11.0±0.5 <sup>a</sup>	12.1±0.4 <sup>b</sup>	13.4±0.7 <sup>c</sup>	13.3±0.7 <sup>c</sup>	13.1±0.4 <sup>c</sup>

注: 同一行数值的不同上标表示差异显著 (P<0.05)。

Note: Different superscripts of the values in the same row are the differences in significance (P<0.05).

根据饲料中维生素 C 的添加量 (X) 与大口黑鲈仔鱼的增重率 (Y) 作折线图, 如图 1 所示, 当饲料维生素 C 添加水平为 0~400 mg/kg 时, 拟合折线模型为  $y=0.986 1x+591.675 2$ ,  $R^2=0.910 4$ 。当饲料维生素 C 添加水平在 400~1 600 mg/kg 时, 拟合折线模型为  $y=-0.046 1x+1 026.463 8$ ,  $R^2=0.986 3$ 。通过两个折线模型计算出, 大口黑鲈仔鱼获得最佳增重率时最低饲料维生素 C 添加水平为 421.2 mg/kg。

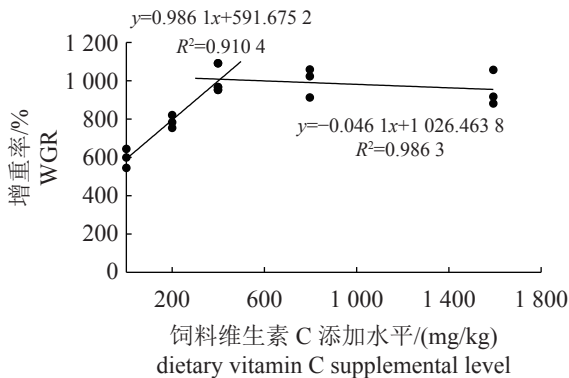


图 1 饲料维生素 C 水平与大口黑鲈仔鱼增重率的关系

Fig. 1 Relationship between diet vitamin C levels and weight gain rate of *M. salmoides*

生长相关基因的表达水平 饲料不同维生素 C 水平对大口黑鲈仔鱼 *igf-1* 和 *gh* 的 mRNA 相对表达水平的影响如图 2 所示。VC400 组的 *igf-1* 和 *gh* 的 mRNA 相对表达水平都显著高于其他各组 (P<0.05)。VC800 组的 *igf-1* 的 mRNA 相对表达水平显著低于 VC400 组, 显著高于 VC1600 组

(P<0.05), 而 VC1600 组显著高于 VC0 组和 VC200 组 (P<0.05)。当饲料中 VC 添加量在 0~400 mg/kg 时, 随着 VC 添加量的增多仔鱼的 *gh* 的 mRNA 相对表达水平呈上升趋势 (P<0.05)。VC1600 组的 *gh* 的 mRNA 相对表达水平显著高于 VC800 组, 显著低于 VC400 组 (P<0.05)。

### 2.2 饲料维生素 C 对大口黑鲈仔鱼免疫性能的影响

补体浓度 饲料不同维生素 C 水平对大口黑鲈仔鱼补体 C3 和补体 C4 浓度的影响如图 3 所示。VC0 组补体 C4 浓度显著低于各维生素 C 添加组 (P<0.05), 但是在各维生素 C 添加组之间补体 C4 浓度并无显著差异 (P>0.05)。VC0 组和 VC200 组补体 C3 浓度无显著差异, 但都显著低于其 3 个组 (P<0.05), 而 VC400 组、VC800 组和 VC1600 组之间均无显著差异 (P>0.05)。

相关酶活性 饲料不同维生素 C 水平对大口黑鲈仔鱼 LZM 和 AKP 浓度的影响如图 4 所示。当饲料中维生素 C 添加水平为 0~400 mg/kg 时, 大口黑鲈仔鱼体内 LZM 含量随着维生素 C 添加水平的提高而显著性提高, VC200 组显著高于 VC0 组, 但显著低于 VC400 组 (P<0.05)。当饲料维生素 C 添加水平超过 400 mg/kg 时, 鱼体内 LZM 含量最高, 但 VC400、VC800 和 VC1600 组间无显著差异 (P>0.05)(图 4-a)。VC0 组的 AKP 活性显著低于 VC1600 组 (P<0.05), 其他各组之间均无显著差异 (P>0.05)(图 4-b)。

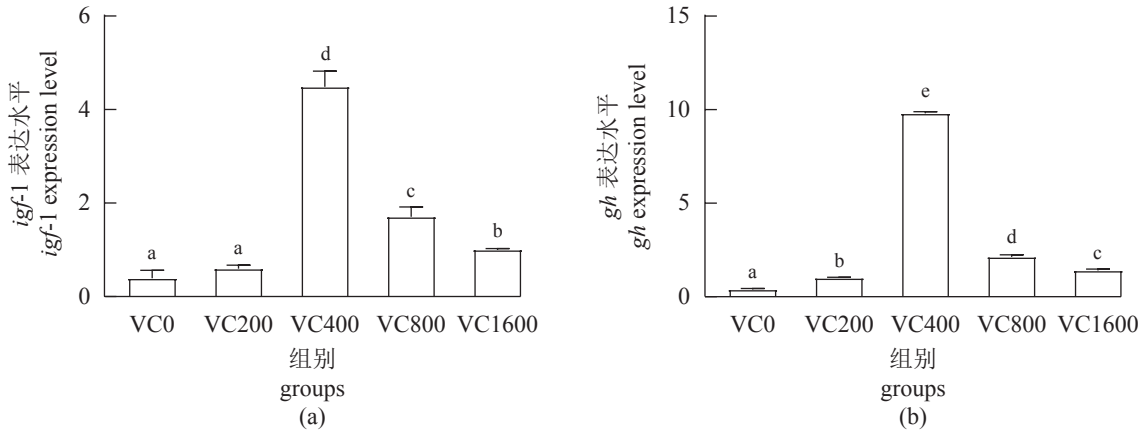


图 2 不同添加水平的维生素 C 对大口黑鲈仔鱼生长相关基因表达水平的影响

(a) *igf-1*, (b) *gh*; 不同字母表示各组间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 下同。

Fig. 2 Effects of different levels of vitamin C added on growth-related gene expression levels in *M. salmoides*

(a) *igf-1*, (b) *gh*; different letters indicate significant difference between different groups ( $P < 0.05$ ); the same below.

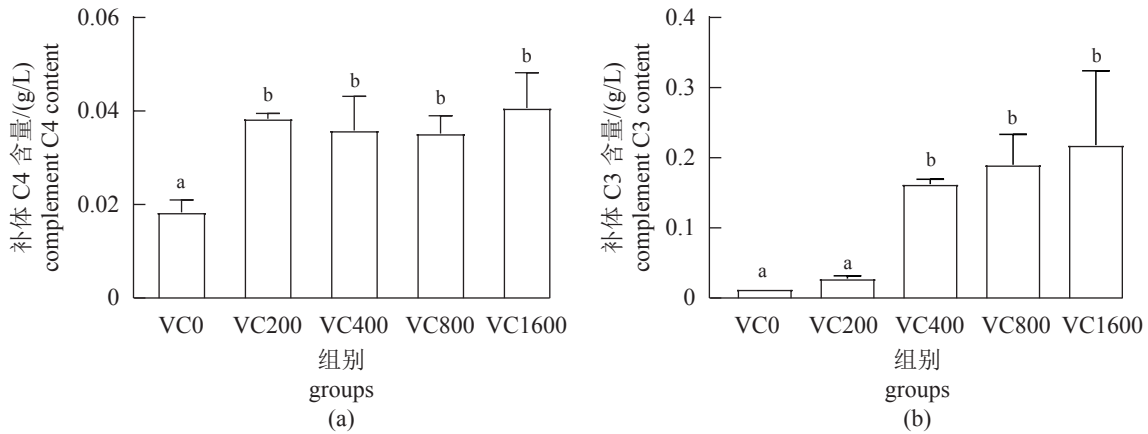


图 3 不同添加水平的维生素 C 对大口黑鲈仔鱼补体浓度的影响

Fig. 3 Effect of different levels of added vitamin C on complement concentrations in *M. salmoides*

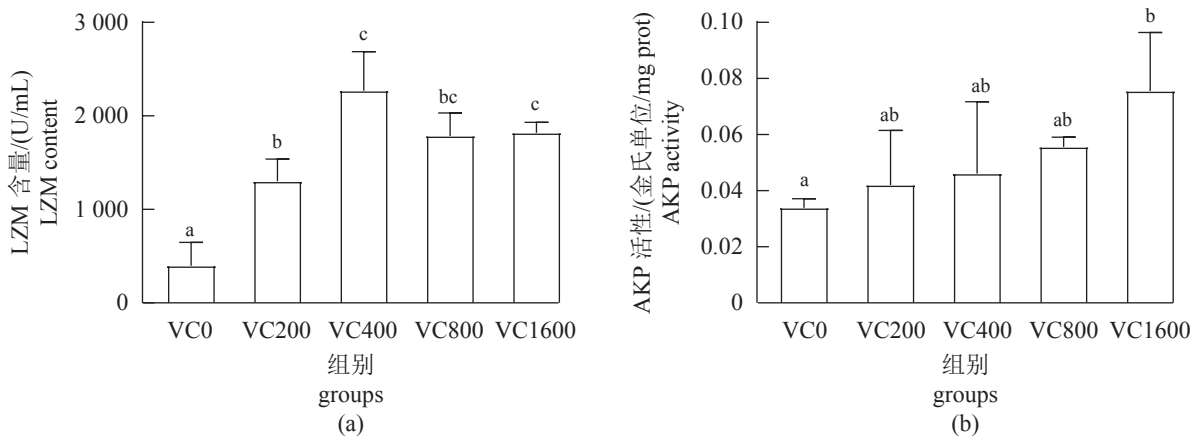


图 4 不同添加水平的维生素 C 对大口黑鲈仔鱼 LZM 含量与 AKP 活性的影响

Fig. 4 Effects of different levels of vitamin C on lysozyme content and alkaline phosphatase activity in *M. salmoides*

### 2.3 饲料维生素 C 对大口黑鲈仔鱼抗氧化性能的影响

饲料不同维生素 C 水平对大口黑鲈仔鱼抗氧化酶活性的影响如图 5 所示。VC0 组 GSH 含量显著低于维生素 C 添加组 ( $P < 0.05$ ), VC200、VC400、VC800 组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ), VC400 组 GSH 含量显著高于其他组 ( $P < 0.05$ )(图 5-a)。VC0 组和 VC200 组 CAT 活性显著低于 VC400 组、VC800 组和 VC1600 组 ( $P < 0.05$ ), 而 VC400 组、VC800 组、VC1600 组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ )(图 5-b)。VC0 组的 MDA 含量显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ), VC200 组和 VC400 组无显著差异, VC400、VC800 和 VC1600 组均无显著差异 ( $P > 0.05$ )(图 5-c)。VC400 组的 SOD 活性显著高于其他组外 ( $P < 0.05$ ), 且其余组间均无显著差异 ( $P > 0.05$ )(图 5-d)。

### 2.4 鱼体维生素 C 含量

饲料不同维生素 C 水平对大口黑鲈仔鱼体内维生素 C 含量的影响如图 6 所示。V0 组鱼体维生

素 C 含量显著低于其他组 ( $P < 0.05$ )。VC200 组与 VC400 组间无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 但都显著高于 VC0 组, 显著低于 VC800 组和 VC1600 组, 而 VC800 组和 VC1600 组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 饲料维生素 C 对大口黑鲈仔鱼生长性能的影响

饲料中添加维生素 C 可以提高鱼类的生长性能。在本实验中, 饲料中添加维生素 C 提高了大口黑鲈仔鱼的终末体重、增重率以及特定生长率, 这与维生素 C 作用于玛拉巴石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*)<sup>[18]</sup> 和条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*)<sup>[19]</sup> 的结果是一致的。这可能有两个原因: 其一, 维生素 C 可以促进水产动物骨骼的发育<sup>[20]</sup>。鲤鱼仔鱼在缺乏维生素 C 时会产生鳃弓、尾鳍等骨骼异常症状, 花鲈 (*Lateolabrax maculatus*) 在缺乏维生素 C 时会产生尾鳍缺刻现象在饲料中添加适量的维

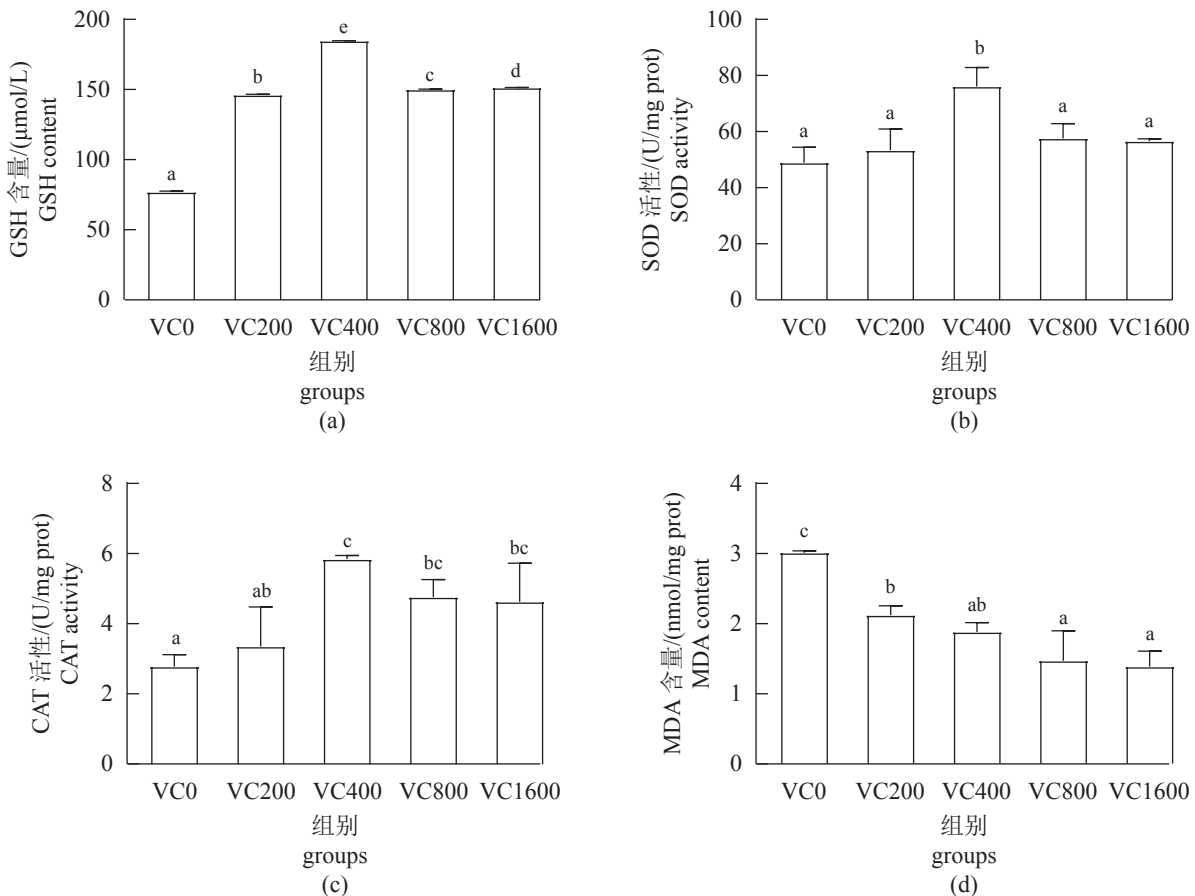


图 5 不同添加水平的维生素 C 对大口黑鲈仔鱼抗氧化指标的影响

Fig. 5 Effect of different levels of vitamin C on antioxidant indexes of *M. salmoides*

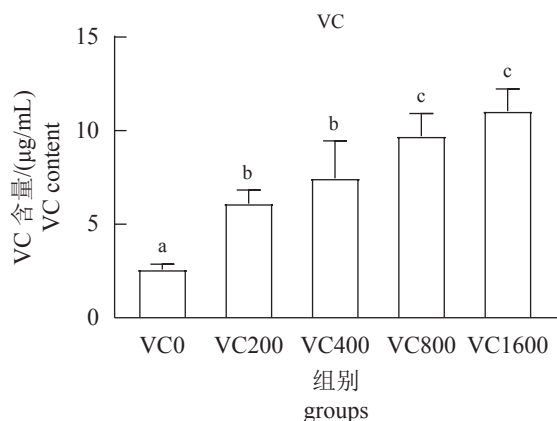


图6 不同添加水平的维生素C对大口黑鲈仔鱼体内维生素C含量的影响

Fig. 6 Effect of different levels of added vitamin C on vitamin C content in *M. salmoides*

生素C可以避免鱼类出现骨骼发育不良的问题、促进骨骼发育<sup>[21-22]</sup>。其二,维生素C可以调节鱼体内物质和能量的代谢<sup>[23]</sup>,增加营养物质在鱼体内的沉积。对草鱼的研究表明维生素C可以提高草鱼不饱和脂肪酸的积累,促进肝脏脂肪代谢<sup>[24]</sup>。

饲料中添加一定量的维生素C可促进鱼类生长,但添加过量的维生素C对鱼类生长有抑制作用。在对花鲢(*Hemibarbus maculatus*)的研究中,摄食含2857 mg/kg维生素C的饲料时鱼的生长速率较维生素C低添加组缓慢,表明高剂量维生素C对花鲢生长有抑制作用<sup>[25]</sup>。对点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的研究也是如此,饲料中添加维生素C超过70 mg/kg时,石斑鱼的增重率和特定增长率开始出现下降趋势<sup>[26]</sup>。本实验得到相似结论,饲料中添加0~400 mg/kg维生素,大口黑鲈仔鱼增重率呈升高趋势,而当维生素C添加量超过400 mg/kg时,其增重率无显著变化。通过折线模型分析得出,大口黑鲈仔鱼获得最大增重率时,维生素C的最适添加量为412.2 mg/kg。这个添加量高于尖齿胡鲶(*Clarias gariepinus*)幼鱼(维生素C最适添加量为150 mg/kg)<sup>[27]</sup>、青鱼幼鱼(维生素C最适添加量为63 mg/kg)<sup>[7]</sup>、翘嘴鲌(*Culter alburnus*)(维生素C最适添加量为53 mg/kg)<sup>[28]</sup>、草鱼(维生素C最适添加量为92.8 mg/kg)<sup>[29]</sup>,也高于初始体重为6.67±0.03 g的大口黑鲈的最适添加量(维生素C最适添加量为175 mg/kg)<sup>[16]</sup>,但明显低于花鲢的最适添加量(维生素C最适添加量为973 mg/kg)<sup>[25]</sup>,原因可能是不同鱼类对维生素C的需求量不同,又或是所用鱼处于生长发育阶段的初期,对维生素C的营养需求较大。

有关研究证明,维生素C在鱼体内参加多种氧化还原反应,可以提高鱼类抗免疫应激能力,且与组织胶原蛋白合成、维生素E的活性再生等过程密切相关<sup>[16,30]</sup>。鱼类在缺乏维生素C时会表现出一系列的不良症状,例如生长缓慢、脊柱畸形、鱼体出血、食欲不振、皮肤腐烂、鳞片脱落等<sup>[4]</sup>,但是在本实验中,未添加维生素C的对照组以及维生素C添加量较少的VC200组都没有出现类似的维生素C缺乏症,推测可能的原因是实验时间较短,鱼体的缺乏症状还未显现出来,也可能是基础饲料中有一定的维生素C,可以支持大口黑鲈幼鱼最基本的生长。

### 3.2 饲料维生素C对大口黑鲈仔鱼免疫性能的影响

补体作为重要的非特异性体液免疫因子,是免疫反应中不可或缺的一种物质。AKP也是一种评价鱼类免疫系统功能的重要指标<sup>[31]</sup>。本实验测出补体C3与C4浓度变化趋势基本一致,维生素C添加组的补体浓度基本显著高于未添加组,这说明饲料中添加维生素C可以有效提高鱼体的补体浓度,进而提高其免疫能力,这和研究人员对青石斑鱼(*E. awoara*)的研究结果是一致的<sup>[32]</sup>。维生素C提高补体浓度的作用机制可能与补体经典激活途径有关,维生素C在羟脯氨酸和羟赖氨酸的形成中起到了重要作用,而羟脯氨酸和羟赖氨酸是补体经典激活途径中的关键物质<sup>[33]</sup>。但是在本实验中,各维生素C添加组之间无显著差异,猜测可能的原因是对于补体浓度来说,本实验设置的维生素C浓度梯度差距较小且养殖时间较短,差异不明显。AKP活性随维生素C添加水平提高而提高,进一步证实了维生素C可以提高鱼类免疫性能的结论。

LZM是一种耐热的碱性蛋白质,主要来源于吞噬细胞,在免疫反应中起到十分重要的作用,是评价鱼类非特异性免疫的重要指标之一<sup>[34]</sup>。本实验的结果与研究者对眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus*)的研究结果一致<sup>[33]</sup>,LZM含量随维生素C添加水平的提高先升高后趋于平稳,但维生素C添加组间差异也不显著,猜测可能的原因是设置的维生素C浓度梯度差异较小以及养殖时间较短。

### 3.3 饲料维生素C对大口黑鲈仔鱼抗氧化性能的影响

本实验测定了大口黑鲈仔鱼体内有关抗氧化



能力的几种酶与代谢物, 分别是 CAT、GSH、SOD 和 MDA。实验结果显示, 在 CAT、GSH 和 SOD 的含量变化趋势中, 三者皆随饲料中维生素 C 添加水平的提高而升高, 在升高到一定水平后, 又会趋于平稳, 这说明了饲料中添加维生素 C 可以提高鱼体内这几种物质的含量或活性, 进而提高鱼体的抗氧化能力。出现这一结果的原因可能是饲料中补充的维生素 C 抑制了细胞呼吸氧自由基的产生, 使生物大分子以及细胞不受氧化损害<sup>[35]</sup>。例如在团头鲂幼鱼的研究中发现, 维生素 C 维持自由基的产生与清除平衡, 减少氧化对机体的损伤<sup>[36]</sup>。

本实验中 SOD、CAT 和 GSH 含量随维生素 C 添加量增多先升高后降低, 在 VC400 组含量最高。SOD、CAT 和 GSH 作为重要的抗氧化酶, 可以反应水生生物的抗氧化能力<sup>[37]</sup>。由 SOD 和 CAT 组成的抗氧化酶系统可以去除过量的自由基, 减少脂质过氧化的损伤<sup>[38]</sup>。该结果说明在饲料中适量添加维生素 C 可以提高鱼体的抗氧化能力。本实验中, MDA 随维生素 C 添加水平提高而降低, MDA 作为一种典型的氧化产物, 在一定程度上可以反映机体氧化损伤的程度<sup>[39]</sup>。该结果说明了饲料中添加维生素 C 可以减少鱼体内的氧化产物, 提高抗氧化能力。在鱼体维生素 C 含量的变化趋势中, 维生素 C 添加量最多的实验组, 鱼体内维生素 C 含量也越高, 该结果说明了饲料中添加维生素 C 可以增加维生素 C 在体内的沉积量, 从而提高鱼体抗氧化能力。

#### 4 结论

本研究结果表明, 饲料中添加适量维生素 C 可以提高大口黑鲈仔鱼的生长指标和生长相关基因的表达水平, 可以提高大口黑鲈仔鱼的生长性能、免疫性能及抗氧化能力, 然而过量添加抑制生长性能。基于折线模型计算, 大口黑鲈仔鱼饲料维生素 C 最适添加量为 420 mg/kg。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

#### 参考文献 (References):

- [1] Li Y, Lovell R T. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish[J]. *The Journal of Nutrition*, 1985, 115(1): 123-131.
- [2] 艾庆辉, 麦康森, 王正丽, 等. 维生素C对鱼类营养生理 <https://www.china-fishery.cn>

和免疫作用的研究进展[J]. 水产学报, 2005, 29(6): 857-861.

Ai Q H, Mai K S, Wang Z L, *et al.* Effects of vitamin C on nutritional physiology and immunity in fish: a review[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(6): 857-861 (in Chinese).

- [3] Soliman A K, Jauncey K, Roberts R T. Water-soluble vitamin requirements of tilapia: ascorbic acid (vitamin C) requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. *Aquaculture Research*, 1994, 25(3): 269-278.
- [4] 王利, 汪开毓. 鱼类维生素C缺乏症研究进展[J]. 动物医学进展, 2003, 24(2): 31-33.
- Wang L, Wang K Y. Study on the deficiency of vitamin C in fish[J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2003, 24(2): 31-33 (in Chinese).
- [5] Lim C, Lovell R T. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *The Journal of Nutrition*, 1978, 108(7): 1137-1146.
- [6] 万金娟, 刘波, 戈贤平, 等. 维生素C对团头鲂幼鱼生长、血液学及肌肉理化指标的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2013, 22(1): 112-119.
- Wan J J, Liu B, Ge X P, *et al.* Effects of dietary vitamin C on growth performance, hematology and muscle physiochemical indexes of juvenile Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(1): 112-119 (in Chinese).
- [7] 胡毅, 黄云, 文华, 等. 维生素C对青鱼幼鱼生长、免疫及抗氨氮胁迫能力的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(4): 565-573.
- Hu Y, Huang Y, Wen H, *et al.* Effect of vitamin C on growth, immunity and anti-ammonia-nitrite stress ability in juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(4): 565-573 (in Chinese).
- [8] 武迪, 管婷婷, 张思雨, 等. 维生素C对泥鳅幼鱼生长和免疫的影响[J]. 水产科学, 2016, 35(6): 658-662.
- Wu D, Guan T T, Zhang S Y, *et al.* Effect of dietary vitamin C on growth and immunity of juvenile loach [J]. *Fisheries Science*, 2016, 35(6): 658-662 (in Chinese).
- [9] 李小勤, 胡斌, 冷向军, 等. VC对草鱼成鱼生长、肌肉品质及血清非特异性免疫的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(6): 787-791.
- Li X Q, Hu B, Leng X J, *et al.* Effects of supplemental vitamin C on growth, meat quality and serum non-spe-



- cific immunity of adult grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(6): 787-791 (in Chinese).
- [10] 吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料维生素C水平对吉富罗非鱼生长性能、肌肉品质和抗氧化功能的影响[J]. 中国水产科学, 2015, 22(1): 79-87.  
Wu F, Wen H, Jiang M, *et al.* Effect of dietary vitamin C on growth performance, flesh quality and antioxidant function in genetically improved farmed tilapia[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(1): 79-87 (in Chinese).
- [11] 吴金平, 阮瑞, 陈细华, 等. 饲料维生素C添加水平对杂交鲟幼鱼生长性能、肌肉品质和抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(1): 455-462.  
Wu J P, Ruan R, Chen X H, *et al.* Effects of dietary vitamin C supplemental level on growth performance, muscle quality and antioxidant indices of juvenile hybrid sturgeon (*Acipenser schrenckii* × *Acipenser baeri*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(1): 455-462 (in Chinese).
- [12] Soliman A K, Jauncey K, Roberts R J. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters)[J]. *Aquaculture*, 1986, 59(3-4): 197-208.
- [13] 赫丽娟, 王鹤, 任同军, 等. 维生素C对牙鲆仔鱼存活率及抗应激能力的影响[J]. 饲料工业, 2011, 32(4): 25-28.  
He L J, Wang H, Ren T J, *et al.* Effects of vitamin C on survival and stress resistance of Japanese flounder larvae[J]. Feed Industry, 2011, 32(4): 25-28 (in Chinese).
- [14] Yusuf A, Huang X X, Chen N S, *et al.* Growth and metabolic responses of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) to dietary vitamin C supplementation levels[J]. *Aquaculture*, 2021, 534: 736243.
- [15] Amoah A, Coyle S D, Webster C D, *et al.* Effects of graded levels of carbohydrate on growth and survival of largemouth bass, *Micropterus salmoides*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2008, 39(3): 397-405.
- [16] 袁瑞敏. 大口黑鲈饲料添加维生素C对其生长及抗氧化能力的影响[D]. 广州: 中山大学, 2013: 77.  
Yuan R M. Effects of vitamin C on growth and antioxidant ability of largemouth bass (*Micropterus salmoide*) [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2013: 77 (in Chinese).
- [17] Gao J, Koshio S, Wang W M, *et al.* Effects of dietary phospholipid levels on growth performance, fatty acid composition and antioxidant responses of Dojo loach *Misgurnus anguillicaudatus* larvae[J]. *Aquaculture*, 2014, 426-427: 304-309.
- [18] Lin M F, Shiao S Y. Requirements of vitamin C (*L*-ascorbyl-2-monophosphate-Mg and *L*-ascorbyl-2-monophosphate-Na) and its effects on immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2004, 10(5): 327-333.
- [19] Wang X J, Kim K W, Bai S C, *et al.* Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*)[J]. *Aquaculture*, 2003, 215(1-4): 203-211.
- [20] 尤宏争, 赵子仪, 崔培, 等. 维生素C对水产动物促生长和免疫增强功能的研究进展[J]. 河北渔业, 2010(6): 50-54.  
You H Z, Zhao Z Y, Cui P, *et al.* Progress of research on aquatic animals promoting growth and enhancing immune by vitamin C[J]. Hebei Fisheries, 2010(6): 50-54 (in Chinese).
- [21] Dabrowski K, Hinterleitner S, Sturmhuber C, *et al.* Do carp larvae require vitamin C?[J]. *Aquaculture*, 1988, 72(3-4): 295-306.
- [22] Ai Q H, Mai K, Zhang C X, *et al.* Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2004, 242(1-4): 489-500.
- [23] 刘佳, 卢玉婷, 王楠, 等. 饲料中添加维生素C对鱼类生长、免疫及抗应激能力影响的研究进展[J]. 水产科技情报, 2020, 47(5): 289-291,300.  
Liu J, Lu Y T, Wang N, *et al.* Effects of dietary vitamin C on growth, immunity and antistress capability of fish: a review[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2020, 47(5): 289-291,300 (in Chinese).
- [24] 韩勃. 饲料维生素C水平对草鱼幼鱼生长、抗病力及肝脏脂肪代谢的影响[D]. 广州: 华南农业大学, 2017: 61.  
Han Q. Effect of dietary ascorbic acid level on the growth performance, antioxidant status and hepatic lipometabolism of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2017: 61 (in Chinese).
- [25] 王吉桥, 褚衍伟, 张丽燕, 等. 维生素C对花AAAAA鱼

- 种生长和免疫指标的影响[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(3): 213-220.
- Wang J Q, Chu Y W, Zhang L Y, *et al.* Effects of dietary vitamin C levels on growth and some immune indexes in *Hemibarbus maculatus* juveniles[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2009, 24(3): 213-220 (in Chinese).
- [26] 周歧存, 刘永坚, 麦康森, 等. 维生素C对点带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 生长及组织中维生素C积累量的影响[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(2): 152-158.
- Zhou Q C, Liu Y J, Mai K S, *et al.* Effect of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid concentrations in juvenile grouper *Epinephelus coioides*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2005, 36(2): 152-158 (in Chinese).
- [27] Gbadamosi O K, Daramola J A, Osungbemi N R. 饵料中添加维生素C对非洲鲶鱼幼鱼生长和营养利用效率的影响(英文)[J]. 动物学报, 2007, 53(4): 763-766.
- GBADAMOSI O K, DARAMOLA J A, OSUNGBEMI N R. Growth performance and nutritional utilization efficiency of vitamin C in the diets of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) fingerlings[J]. Current Zoology, 2007, 53(4): 763-766 (in Chinese).
- [28] 陈建明, 叶金云, 潘茜, 等. 饵料中添加维生素C对翘嘴鲈鱼种生长及组织中抗坏血酸含量的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 106-112.
- Chen J M, Ye J Y, Pan Q, *et al.* Effects of vitamin C supplement in diet on growth performance and tissue ascorbic acid levels of *Culter alburnus* fingerlings[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 106-112 (in Chinese).
- [29] 徐慧君. 维生素 C 对生长中期草鱼生产性能、肠道、机体和鳃健康以及肉质的作用及其作用机制 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2016: 117.
- Xu H J. Effects of dietary vitamin C on growth performance, the health status of intestinal, body and gill, and flesh quality of young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and the mechanisms[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2016: 117 (in Chinese).
- [30] Guo Q, Packer L. Ascorbate-dependent recycling of the vitamin E homologue Trolox by dihydrolipoate and glutathione in murine skin homogenates[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 29(3-4): 368-374.
- [31] Hashimoto T, Ohno N, Yadomae T. Subgrouping immunomodulating  $\beta$ -glucans by monitoring IFN- $\gamma$  and NO syntheses[J]. *Drug Development Research*, 1997, 42(1): 35-40.
- [32] 秦启伟, 吴灶和, 周永灿, 等. 饵料维生素C对青石斑鱼的非特异性免疫调节作用[J]. 热带海洋, 2000, 19(1): 58-63.
- Qin Q W, Wu Z H, Zhou Y C, *et al.* Non-specific immunomodulatory effects of dietary vitamin C on grouper *Epinephelus awoara*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2000, 19(1): 58-63 (in Chinese).
- [33] 周立斌, 王树齐, 张海发. 饵料维生素C对美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 生长、免疫的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(4): 1108-1114.
- Zhou L B, Wang S Q, Zhang H F. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of red drum *Sciaenops ocellatus*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(4): 1108-1114 (in Chinese).
- [34] 赵亭亭. 条纹锯鲷幼鱼对维生素 C 的需要量及几种石斑鱼肌肉营养成分的研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2018: 72.
- Zhao T T. The study of vitamin C requirement of juvenile *Centropristis striata* and nutrient components in muscle of groupers[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018: 72 (in Chinese).
- [35] 谭青松, 孔凡双, 朱文欢. 维生素C对虾类生长和健康调节作用研究进展[J]. 动物营养学报, 2022, 34(1): 1-10.
- Tan Q S, Kong F S, Zhu W H. Research progress on regulating effects of vitamin C on growth and health of shrimp and crayfish[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(1): 1-10 (in Chinese).
- [36] 万金娟, 刘波, 戈贤平, 等. 日粮中不同水平维生素C对团头鲂幼鱼免疫力的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(1): 10-18.
- Wan J J, Liu B, Ge X P, *et al.* Effects of dietary vitamin C on the non-specific immunity, three HSPs mRNA expression and disease resistance of juvenile Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(1): 10-18 (in Chinese).
- [37] Abdel-Daim M M, Eissa I A M, Abdeen A, *et al.* Lycopene and resveratrol ameliorate zinc oxide nanoparticles-induced oxidative stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2019, 69: 44-50.

- [38] Welty-Wolf K E, Simonson S G, Huang Y C T, *et al.* Aerosolized manganese SOD decreases hyperoxic pulmonary injury in primates. II. Morphometric analysis[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1997, 83(2): 559-568.
- [39] Thomas J P, Maiorino M, Ursini F, *et al.* Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation. In situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265(1): 454-461.

## Effects of dietary vitamin C levels on growth performance, immunity and antioxidant capacity of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) larvae

WANG Zhixing, REN Lanlan, HAN Xiaoyu, GAO Jian\*

(Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Engineering Research Center of Green Development for Conventional Aquatic Biological Industry in the Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University; Wuhan 430070)

**Abstract:** A 3-week feeding trial was conducted to determine the optimal dietary vitamin C requirement of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) larva [(1.2±0.3) mg]. Five practical diets were formulated to contain 0 (V0), 200 (V200), 400 (V400), 800 (V800) and 1 600 (V1600) mg/kg vitamin C. Each experimental diet was fed to triplicate groups of fish to apparent satiation seven times a day. At the end of the experiment, the results showed that the final body weight, weight gain rate and specific growth rate increased with the increase of dietary vitamin C level, and then tended to be stable, with the highest values in VC400 group. Weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) markedly increased with increasing dietary vitamin C supply and then leveled off while body ASA concentration continued to increase with increasing dietary vitamin C supply. Vitamin C supplementation not only increased antioxidant capacities [activity of catalase (CAT)], reduced glutathione content (GSH), superoxide dismutase (SOD) and immunocompetence [complement C3, complement C4 and lysozyme(LZM) concentration] of the larva, but also decreased lipid peroxidation (malondialdehyde (MAD) concentration) in the body. Broken-line analysis showed that the optimal dietary vitamin C requirement of *M. salmoides* was 421.2 mg/kg based on WGR. In practical production of largemouth bass larvae, 420 mg/kg of dietary vitamin C should be recommended to maintain normal physiological function.

**Key words:** *Micropterus salmoides*; vitamin C; larva; growth performance; antioxidant capacity

**Corresponding author:** GAO Jian. E-mail: gaojian@mail.hzau.edu.cn

**Funding projects:** Research and Application of Industrial Aquaculture Technology and Equipment for Freshwater Fish (70712210006)