

饲料中不同维生素 A 含量对花鲈生长和血清生化指标的影响

张璐^{1,2}, 李静^{1,3}, 谭芳芳², 麦康森¹,
张春晓¹, 李会涛¹, 艾庆辉^{1*}

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 通威股份有限公司技术中心, 四川 成都 610041;

3. 中国石油大学(华东)化学工程学院, 生物工程与技术中心, 山东 青岛 266580)

摘要: 以酪蛋白和明胶为蛋白源, 鱼油和豆油为脂肪源, 糊精为糖源并添加氨基酸混合物配制精制基础饲料, 通过向基础饲料中添加维生素 A 醋酸酯使饲料中的维生素 A 含量达到 0、1 000、2 000、4 000、8 000 和 16 000 IU/kg(实测含量为 245、1 005、1 835、3 781、7 583 和 15 273 IU/kg), 配制出 6 种等氮等能的实验饲料(饲料 1~6)。以花鲈为实验对象, 在室内流水系统中进行为期 9 周的生长实验, 探讨精制饲料中不同维生素 A 含量对花鲈生长和血清生化指标的影响。结果表明: 摄食不添加维生素 A 组(饲料 1)饲料的花鲈在养殖后期表现出较高的死亡率, 并出现眼球浮肿、膨胀、鳍基充血以及鳃盖扭曲等维生素 A 缺乏症, 而在其他维生素 A 添加组(饲料 2~6)并未出现类似症状。体成分分析表明: 饲料中不同维生素 A 含量会显著增加花鲈体脂肪含量, 但对蛋白质和水分的含量没有显著影响。对花鲈血清指标分析表明: 饲料添加维生素 A 含量会显著增加花鲈血清碱性磷酸酶(AKP)、甘油三酯(TG)和胆固醇(TC)含量, 但显著降低丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)活力。采用折线模型, 当以增重率为评价指标时, 花鲈对饲料中维生素 A 的需求量为 1 934.8 IU/kg; 当以肝脏维生素 A 含量为评价指标时, 花鲈对饲料中维生素 A 的需求量为 3 546.6 IU/kg。

关键词: 花鲈; 维生素 A; 生长; 需求

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

维生素 A 是一类具有视黄醇生物活性的化合物的总称, 动物组织中的维生素 A 包括视黄醇(retinol)、视黄醛(retinal)和视黄酸(retinoic acid)3 种形式。维生素 A 在动物体内参与多种生理反应, 包括促进粘多糖合成, 维持细胞膜和上皮组织的完整性及通透性; 参与构成视觉细胞内感光物质——视紫红质, 对维持视网膜的感光性有重要作用; 并与动物的繁殖性能^[1]、骨骼生长发育^[2]和脑脊髓液压等都有密切的关系。

陆生动物维生素 A 的需求和生理功能研究比较深入, 水生动物由于生活环境与陆生动物有很大不同, 因此, 对维生素 A 的需求与陆生动物有较大差别。同时, 由于水生动物生活环境的复杂性, 不同水生动物对维生素 A 的需求量也存在较大差异。例如, 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)对维生素 A 的需求量为 2 500~3 500 IU/kg^[3]; 孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)对维生素 A 的需求量为 2 000~4 000 IU/kg^[4]; 鲤(*Cyprinus carpio*)对维生

收稿日期: 2014-07-24 修回日期: 2014-11-04

资助项目: 国家自然科学基金(30901108)

通信作者: 艾庆辉, E-mail: qhai@ouc.edu.cn

<http://www.sexuebao.cn>

素 A 的需求量为 4 000 ~ 20 000 IU/kg^[5-6], 而牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 对维生素 A 的需要量高达 10 000 IU/Kg 以上^[7]。

花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 属肉食性凶猛鱼类, 其肉质细嫩、味道鲜美, 深受人们的喜爱。花鲈生长速度快, 对盐度和温度的适应范围较广, 无需室内越冬, 是我国海水养殖的主要种类之一。目前, 有关花鲈营养学研究已有少量报道, 初步确定了花鲈的最适蛋白质、脂肪的需要量^[8-11]。有关花鲈营养生理的研究主要包括: 不同脂肪源和降脂因子对花鲈生长、组织和血液生化指标的影响^[12]; 花鲈饲料中适宜能蛋比的研究^[13], 维生素 C 对花鲈生长及免疫的影响^[14]; 饲料中添加外源酶对花鲈生长、饲料利用率、氮磷排泄的影响^[15]; 饲料中毒害物质对花鲈生长的影响及其在鱼体组织残留的研究^[16]; 花鲈对饲料中蛋氨酸、赖氨酸和精氨酸需求的研究^[17]; 花鲈对饲料中维生素 B₂、B₆、泛酸、叶酸和磷需求的研究^[18]。本实验以花鲈为对象, 研究了饲料中不同维生素 A 含量对花鲈生长、身体常规组成、肝脏维生素 A 含量以及血清生化指标的影响, 旨在探讨花鲈对精制饲料中维生素 A 的需求, 以期对花鲈人工饲料的开发和利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验饲料制作

以酪蛋白和明胶为蛋白源, 豆油和鲑鱼油为脂肪源, 糊精为糖源, 褐藻酸钠为黏合剂, 并添加混合氨基酸模拟花鲈身体氨基酸模式, 配制出精制基础饲料(表 1)。在每千克基础饲料中分别添加 0、1 000、2 000、4 000、8 000 和 16 000 IU 维生素 A(以维生素 A 醋酸酯形式添加), 配制出 6 种等氮等能的实验饲料(Diets 1~6)。高效液相色谱法^[19]分析实验饲料中实际维生素 A 的含量, 结果分别为 245、1 005、1 835、3 781、7 583 和 15 273 IU/kg。

各种饲料原料分别粉碎后过 80 目的筛网, 然后将各种原料混合均匀再与水、大豆油及鱼油充分混匀, 用双螺杆挤条机[华南理工大学, F-26(II)型]加工成型, 45℃烘箱中烘干至水分含量 9%~10%。破碎过筛后得到两种颗粒大小不同的饲料(1.5 mm×3.0 mm 和 2.5 mm×4.0 mm), 密封于 -15℃备用。

表 1 饲料基础成分及含量(饲料干重)

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets(dry matter) %

原料 ingredients	含量 content
酪蛋白(不含维生素) casein(Vitamin free)	36.0
明胶 gelatin	9.0
糊精 dextrin	28.0
鲑鱼油 menhaden fish oil	7.0
豆油 soybean oil	4.0
混合氨基酸 amino acid mixture ¹	4.0
卵磷脂 lecithin	2.0
褐藻酸钠 sodium alginate	1.0
α-纤维素 α-Cellulose	3.0
无机盐混合物 mineral premix ²	4.0
维生素混合物(不含维生素 A) Vitamin premix(Vitamin A free) ³	2.0
主要成分(n=3) proximate analysis(n=3)	
蛋白 protein	43.2
脂肪 lipid	12.5
水分 moisture	9.5

注: 1. 混合氨基酸(%饲料干重): 天冬氨酸, 1.25%; 甘氨酸, 0.02%; 丙氨酸, 0.67%; 精氨酸, 0.73%; 胱氨酸, 0.04%; 缬氨酸, 0.13%; 蛋氨酸, 0.29%。2. 无机盐混合物(mg 或 g/kg 饲料): 氯化钠 2 mg; 碘化钾 0.8 mg; 氯化钴(1%) 50 mg; 硫酸铜, 10 mg; 硫酸铁 80 mg; 硫酸锌 50 mg; 硫酸锰 60 mg; 硫酸镁, 1 200 mg; 磷酸二氢钙 3 000 mg; 氯化钠, 100 mg; 沸石粉, 15.45 g。3. 维生素混合物(mg/kg): 维生素 B₁ 25 mg; 核黄素 45 mg; 维生素 B₆(盐酸吡哆醇) 20 mg; 维生素 B₁₂ 0.1 mg; 维生素 K₃ 10 mg; 肌醇 800 mg; 维生素 B₃(泛酸) 60 mg; 烟酸 200 mg; 叶酸, 20 mg; 生物素 1.20 mg; 维生素 D₃ 5 mg; 维生素 E 120 mg; 维生素 C 2 000 mg; 氯化胆碱 2 500 mg; 乙氧基喹啉, 150 mg; 小麦粉, 14 044 mg。

Notes: 1. Amino acid premix(% dry matter): Aspartic acid 1.25%; Glycine, 0.02%; Alanine, 0.67%; Arginine, 0.73%; Cystine, 0.04%; Valine 0.13%; Methionine 0.29%. 2. Mineral premix(mg or g/kg diet): NaF, 2 mg; KI, 0.8 mg; CoCl₂·6H₂O(1%) 50 mg; CuSO₄·5H₂O, 10 mg; FeSO₄·H₂O 80 mg; ZnSO₄·H₂O, 50 mg; MnSO₄·H₂O, 60 mg; MgSO₄·7H₂O, 1 200 mg; Ca(H₂PO₃)₂·H₂O, 3 000 mg; NaCl, 100 mg; Zoelite, 15.45 g。3. Vitamin premix(mg/kg diet): B₁ 25 mg; B₂ 45 mg; B₆ 20 mg; B₁₂ 0.1 mg; K₃ 10 mg; inositol 800 mg; B₃(pantothenic acid) 60 mg; niacin acid 200 mg; folic acid 20 mg; H, 1.20 mg; D₃ 5 mg; E 120 mg; C 2 000 mg; choline chloride 2 500 mg; antioxidant 150 mg, wheat middling 14 044 mg。

1.2 养殖实验

实验花鲈选用当年同一批海捕鱼苗, 于水泥池中(5.0 m×3.0 m×1.5 m)暂养, 以基础饲料(Diet 1)饱食投喂, 使之逐渐适应实验饲料和养殖环境。暂养结束后, 实验鱼饥饿 24 h, 为避免应激反应, 统一称重, 挑选出体格健壮、规格一致的花鲈(10.20±0.14)g 随机分组, 放养于室内流水

<http://www.scxuebao.cn>

系统 120 L 的聚碳酸酯塑料桶内,放养密度为 10 尾/桶。每种饲料随机投喂 3 桶实验鱼,每天投喂 2 次达饱足。实验第 1~4 周投喂 1.5 mm × 3.0 mm 的饲料,第 5~9 周投喂 2.5 mm × 4.0 mm 的饲料。每次投喂前 1 h 吸污,投喂后 1 h 收集未吃饲料,并烘干称重。每天记录投饲量,如有死鱼记录数量并称重。实验用海水经沉淀、一级砂滤,持续冲气,水流量为 1 L/min,水温为 27.0~30.0 °C,盐度为 25~28,pH 为 8.0~8.1,溶解氧含量在 7 mg/L 左右。投喂 9 周后,实验鱼饥饿 24 h 并计数。从桶中随机选取 3 条花鲈,用 1 mL 的无菌注射器从尾静脉取血,待析出血清后保存备用,其余的鱼全部称重并取样。取样后的鱼体保存于 -20 °C 冰箱中,血清保存于 -70 °C 冰箱中。

1.3 样品分析测定方法

饲料原料、饲料和鱼体常规成分的分析全部采用 AOAC 的方法^[20]。其中水分采用 105 °C 恒重法,蛋白质采用半微量凯氏定氮法,脂肪采用索氏抽提法,灰分是采用 600 °C 灼烧恒重法。肝脏脂肪采用 Folch 等^[21]方法测定。血清碱性磷酸酶 (AKP)、丙氨酸氨基转移酶 (谷丙转氨酶,ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (谷草转氨酶,AST)、甘油三酯和胆固醇均采用南京建成公司试剂盒测定,具体测定参照试剂盒说明。饲料、血清和肝脏维生素 A 分析采用高效液相色谱法^[19]。

1.4 计算及统计方法

增重率 (weight gain rate, WGR, %) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100$;

特定生长率 (special growth rate, SGR, %/d) = $\ln W_t - \ln W_0 \times 100 / t$;

饲料效率 (feed efficiency rate, FER) = $WWG / I_d \times 100$;

蛋白质效率 (protein efficiency rate, PER) = WWG / I_p ;

肝体比 (hepatosomatic index, HSI, %) = $W_L / W_B \times 100$;

其中 W_t 、 W_0 分别为实验花鲈的终末体质量和初始体质量, t 为实验天数, WWG 为湿重增加 (wet weight gain), I_d 和 I_p 分别为饲料和蛋白的摄入量 (以干重计), W_L 、 W_B 分别为肝重和体质量。

采用 SPSS 11.0 for Windows 对所得数据进行方差和相关性分析。在单因素方差分析 (One-Way

ANOVA) 达到显著水平时 ($P < 0.05$) 采用 Turkey's 检验进行多重比较,数据表示为平均值 ± 标准误 (mean ± SE) 的形式。

2 结果与分析

2.1 饲料中不同维生素 A 含量对花鲈成活率及生长性能的影响

饲喂不添加维生素 A 组饲料的花鲈,在养殖后期表现出较高的死亡率,同时出现生长减缓、眼球膨胀、浮肿、鳍基充血以及鳃盖扭曲等维生素 A 缺乏症。随着饲料中维生素 A 含量的升高,花鲈的成活率 (SR) 呈现显著升高的趋势。摄食不添加维生素 A 饲料 (245 IU/kg, Diet 1) 的实验组 SR 与维生素 A 含量为 1 005 和 1 835 IU/kg 组差异不显著,但却显著低于维生素 A 含量较高组 ($P < 0.05$) (表 2)。当饲料中维生素 A 的含量在 245~1 835 IU/kg 时,花鲈的增重率 (WGR)、特定生长率 (SGR)、饲料效率 (FER) 和蛋白质效率 (PER) 随着饲料中维生素 A 的含量显著上升 ($P < 0.05$)。但是当饲料中维生素 A 的含量高于 1 835 IU/kg 时,花鲈 WGR 变化不显著。当以 WGR 为评价指标时,饲料维生素 A 含量与 WGR 的关系用折线模型表示为 $Y = 517.5 - 0.20 \times (1 934.8 - X)$ 此时花鲈对饲料中维生素 A 的需求量为 1 934.8 IU/kg (图 1)。

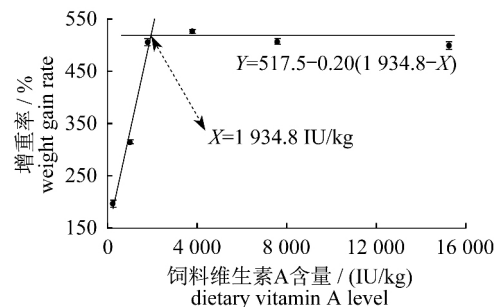


图 1 饲料维生素 A 含量与花鲈增重率的关系
Fig. 1 Relationship between dietary vitamin A level and weight gain rate of Japanese seabass

2.2 饲料中不同维生素 A 含量对花鲈身体形态、组成的影响

饲料中不同含量的维生素 A 显著影响花鲈身体粗脂肪和灰分的含量 ($P < 0.05$),但是对粗蛋白和水分含量影响不显著 (表 3)。随着饲料中维生素 A 含量的升高,花鲈身体粗脂肪的含量显著增加 ($P < 0.05$),并在维生素 A 含量最高组

(15 273 IU/kg) 达到最大值,但是此组花鲈身体的灰分含量却最低,并显著低于维生素 A 含量为

1 835 IU/kg 组($P < 0.05$),其余各组之间灰分并未表现出显著差异。

表 2 不同维生素 A 含量的饲料养殖花鲈 9 周后对存活率、增重率、特定生长率、饲料转化率和蛋白质效率的影响

Tab. 2 Effects on SR, WGR, SGR, FER and PER of Japanese seabass fed experimental diets with graded vitamin A levels for 9 weeks

组别 group	初始体质量/g initial body weight	终末体质量/g final body weight	存活率/% SR	增重率/% WGR	特定生长率/(%/d) SGR	饲料效率 FER	蛋白质效率 PER
Diet 1	10.20 ± 0.14	28.30 ± 0.91 ^c	73.33 ± 5.77 ^b	196.57 ± 18.64 ^c	1.72 ± 0.10 ^c	0.47 ± 0.10 ^c	1.08 ± 0.02 ^c
Diet 2	10.20 ± 0.14	42.21 ± 0.64 ^b	86.67 ± 3.33 ^{ab}	313.83 ± 4.76 ^b	2.25 ± 0.02 ^b	0.67 ± 0.10 ^b	1.54 ± 0.03 ^b
Diet 3	10.20 ± 0.14	61.77 ± 0.36 ^a	86.67 ± 5.77 ^{ab}	505.57 ± 4.97 ^a	2.86 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.10 ^a	1.97 ± 0.03 ^a
Diet 4	10.20 ± 0.14	60.55 ± 0.56 ^a	96.67 ± 3.33 ^a	526.19 ± 3.01 ^a	2.91 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.10 ^a	1.97 ± 0.03 ^a
Diet 5	10.20 ± 0.14	61.90 ± 0.89 ^a	96.67 ± 3.33 ^a	506.87 ± 3.18 ^a	2.86 ± 0.01 ^a	0.85 ± 0.10 ^a	1.97 ± 0.03 ^a
Diet 6	10.20 ± 0.14	61.15 ± 1.31 ^a	96.67 ± 5.77 ^a	499.50 ± 8.06 ^a	2.84 ± 0.02 ^a	0.84 ± 0.10 ^a	1.95 ± 0.03 ^a

注: 每一列标有相同上标字母的数值之间差异不显著($P > 0.05$),下同

Notes: Values with the same letters within the same column are not significantly different at $P > 0.05$, the same as the following

表 3 不同维生素 A 含量的饲料养殖花鲈 9 周后对体成分的影响

Tab. 3 Effects on carcass composition of Japanese seabass fed experimental diets with graded vitamin A levels for 9 weeks

实验组 group	粗蛋白 crude protein	粗脂肪 crude lipid	水分 moisture	灰分 ash
Diet 1	14.48 ± 0.33	4.68 ± 0.25 ^c	77.51 ± 0.65	4.42 ± 0.06 ^{ab}
Diet 2	14.76 ± 0.53	4.94 ± 0.23 ^c	76.96 ± 0.40	4.39 ± 0.10 ^{ab}
Diet 3	14.51 ± 0.33	5.30 ± 0.29 ^{bc}	77.21 ± 0.50	4.65 ± 0.05 ^a
Diet 4	14.41 ± 0.52	5.63 ± 0.18 ^{bc}	77.28 ± 0.71	4.40 ± 0.04 ^{ab}
Diet 5	14.98 ± 0.47	6.14 ± 0.15 ^{ab}	76.03 ± 0.14	4.40 ± 0.10 ^{ab}
Diet 6	14.87 ± 0.24	6.87 ± 0.35 ^a	75.88 ± 0.25	4.09 ± 0.09 ^b

2.3 饲料中不同维生素 A 含量对花鲈肝体比、肝脂肪和肝维生素 A 含量的影响

随着饲料中维生素 A 含量的增加,花鲈的肝体比无显著性差异,但出现先下降后上升的趋势(表 4)。随着饲料中维生素 A 含量的升高,肝脂肪含量逐渐下降,并在维生素 A 含量为 1 835 IU/kg 组达到最低(11.42%),显著低于不添加维生素 A 组(15.22%)($P < 0.05$)。肝脏维生素 A 含量与饲料中维生素 A 含量显著正相关,饲料中维生素 A 含量较高时(3 781、7 583 和 15 273 IU/kg),肝脏维生素 A 的含量显著高于饲料中维生素 A 含量较低组(245、1 005 和 1 835 IU/kg)($P < 0.05$)(表 4)。当以肝脏维生素 A 含量为评价指标时,饲料维生素 A 含量与肝脏维生素 A 含量的关系用折线模型表示为 $Y = 457.4 - 0.12 \times (3 546.6 - X)$,此时花鲈对饲料中维生素 A 的需

求量为 3 546.6 IU/kg(图 2)。

表 4 不同维生素 A 含量的饲料养殖花鲈 9 周后对肝体比、肝脂肪和肝脏维生素 A 含量的影响

Tab. 4 Effects on HSI, liver lipid and liver vitamin A content of Japanese seabass fed experimental diets with graded vitamin A levels for 9 weeks

实验组 group	肝体比/% HSI	肝脂肪/% liver lipid	肝脏维生素 A 含量/ ($\mu\text{g/g}$) liver vitamin A content
Diet 1	2.28 ± 0.10	15.22 ± 0.52 ^a	53.33 ± 7.75 ^d
Diet 2	1.96 ± 0.12	12.38 ± 0.86 ^{ab}	140.00 ± 6.43 ^c
Diet 3	1.90 ± 0.08	11.42 ± 0.55 ^b	357.33 ± 15.76 ^b
Diet 4	1.92 ± 0.16	12.02 ± 0.81 ^{ab}	459.67 ± 14.53 ^a
Diet 5	2.12 ± 0.06	13.56 ± 1.02 ^{ab}	490.00 ± 10.39 ^a
Diet 6	2.14 ± 0.10	13.98 ± 0.77 ^{ab}	495.00 ± 4.73 ^a

<http://www.scxuebao.cn>

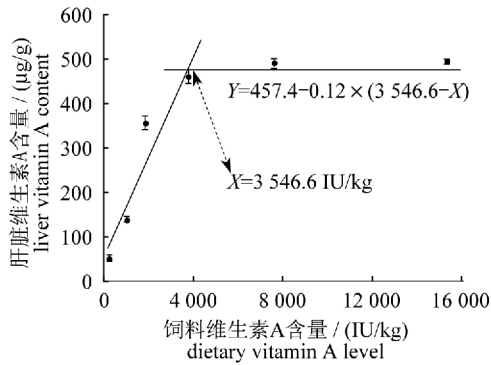


图2 饲料维生素 A 含量与花鲈肝脏维生素 A 含量的关系
Fig. 2 Relationship between dietary vitamin A level and liver vitamin A content of Japanese seabass

2.4 饲料中不同维生素 A 含量对花鲈血清生化指标的影响

随着饲料中维生素 A 含量的升高,花鲈血清

表5 不同维生素 A 含量的饲料养殖花鲈 9 周后对血清指标的影响

Tab. 5 Effects on serum parameters of Japanese seabass fed experimental diets with graded vitamin A levels for 9 weeks

实验组 group	碱性磷酸酶/ (U/L) AKP	丙氨酸氨基转移酶/ (U/L) ALT	天冬氨酸氨基转移酶/ (U/L) AST	甘油三酯/ (mg/L) TG	胆固醇/ (U/mL) TC
Diet 1	8.50 ± 0.14 ^c	11.41 ± 0.21 ^a	14.26 ± 0.41 ^a	0.61 ± 0.07 ^b	8.27 ± 0.63 ^c
Diet 2	12.50 ± 0.57 ^c	7.88 ± 0.34 ^{ab}	12.66 ± 0.42 ^{ab}	1.32 ± 0.07 ^b	15.70 ± 1.41 ^c
Diet 3	21.13 ± 0.36 ^b	5.89 ± 0.23 ^b	11.99 ± 0.37 ^b	1.17 ± 0.18 ^a	28.44 ± 2.47 ^b
Diet 4	23.28 ± 0.21 ^b	5.47 ± 0.28 ^b	9.35 ± 0.38 ^c	2.31 ± 0.20 ^a	40.70 ± 3.77 ^a
Diet 5	23.78 ± 0.29 ^b	5.31 ± 0.33 ^b	6.71 ± 0.32 ^d	2.71 ± 0.15 ^a	45.93 ± 3.07 ^a
Diet 6	30.56 ± 0.50 ^a	7.24 ± 0.16 ^{ab}	7.82 ± 0.28 ^{cd}	2.45 ± 0.20 ^a	36.70 ± 1.55 ^{ab}

3 讨论

本实验以花鲈为研究对象,通过在精制基础饲料中添加不同含量的维生素 A,探讨不同维生素 A 水平的饲料对花鲈生长、体组成以及血清相关指标的影响。在本实验中,以增重率为评价指标时,花鲈对饲料中维生素 A 的需求量为 1 934.8 IU/kg (图 1),而当以肝脏维生素 A 含量为评价指标时,花鲈对饲料中维生素 A 的需求量为 3 546.6 IU/kg (图 2)。这与虹鳟^[3] (1 000 ~ 3 500 IU/kg)、大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*)^[22] (1 000 ~ 3 500 IU/kg) 和斑点叉尾鲟 (*Ictalurus punctatus*)^[22] (2 000 ~ 2 500 IU/kg) 以及孔雀鱼^[4] (2 000 ~ 4 000 IU/kg) 等的研究结论是一致的。花鲈肝脏维生素 A 含量的变化与增重率的变化相似,均随着饲料中维生素 A 含量的升高而显著上升并在

中碱性磷酸酶 (AKP) 含量显著上升 (8.50 ~ 30.56 U/L) ($P < 0.01$),丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 都出现先降低后升高的趋势 ($P < 0.01$) (表 5)。在饲料中维生素 A 含量达到最高剂量 (15 273 IU/kg) 之前,ALT 和 AST 均显著降低 (11.41 ~ 5.31 和 14.26 ~ 6.71 U/L),达到最高剂量后又有所回升 (7.24 和 7.82 U/L)。花鲈血清甘油三酯 (TG) 和胆固醇 (TC) 含量与两种转氨酶的变化趋势相反,呈现明显的先上升后下降的趋势 ($P < 0.01$),在饲料中维生素 A 含量达到最高剂量 (15 273 IU/kg) 之前,TG 和 TC 含量均显著升高 (0.61 ~ 2.71 mg/L 和 8.27 ~ 45.93 U/mL),达到最高剂量后又有所下降 (2.45 mg/L 和 36.70 U/mL)。

某一阶段达到峰值,然后变化趋于平稳。这与 Zhou^[23] 等在美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 上的研究结果一致。以肝脏维生素 A 含量为评价指标时,花鲈对维生素 A 的需求量,要高于以生长为评价指标时花鲈对维生素 A 的需求量。Woodward^[24] 指出,当以组织最大累积量为评价指标时,动物对营养素的需求量要比以生长为评价指标时高,这也与本实验结论是一致的。不同实验得到的养殖鱼类对维生素 A 的需求量不尽相同,这可能与养殖对象的种类、生长阶段、生理状况、维生素 A 的添加形式、养殖环境和养殖模式等有关。

本实验中发现,维生素 A 缺乏的花鲈在养殖后期表现出死亡率升高,生长减缓,眼球膨胀、浮肿,鳍基充血,鳃盖扭曲等典型维生素 A 缺乏症,这与 Halver^[22] 的报道基本一致。随着饲料中维

<http://www.scxuebao.cn>

生素 A 含量的升高,花鲈血清中碱性磷酸酶含量显著上升。碱性磷酸酶(AKP)几乎存在于机体各组织,以骨组织、肝脏、肾脏中含量较多。通过对人、牛和小鼠的研究表明,维生素 A 进入机体,不仅影响钙、磷的吸收和沉积,还可加强破骨细胞的活动,致使 AKP 活性升高。Kaul 等^[25]也报导小白鼠缺 VA 使血清、肝脏和肾脏的 AKP 活性分别降低 48.6%、65.8% 和 61.9%。

花鲈肝体比和肝脏脂肪的变化趋势一致,都呈现随饲料维生素 A 含量升高先下降后上升的趋势,且肝脏脂肪含量显著受到饲料中维生素 A 含量的影响。石斑鱼(*Epinephelus tawina*)体脂肪含量随着饲料中维生素 A 的含量增加而呈现减少的趋势^[26]。随着饲料中维生素 A 含量的升高,丙氨酸氨基转移酶和天冬氨酸氨基转移酶都出现先降低后升高的趋势,且差异显著,这与蒋明等^[27]在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)上的研究结果一致。这两种转氨酶在机体内氨基酸的代谢中起着重要作用,正常时血清中的转氨酶活性较小,组织中如肝、肾、心肌的转氨酶活性很高,说明转氨酶主要在组织中存在,仅有极少量在血清中存在。但当组织受损伤时,细胞内的转氨酶大量地释放到血清中,使血清中的转氨酶超过正常水平,尤其是在肝脏受损时血清中的水平大为升高^[28]。本实验中维生素 A 缺乏组转氨酶活性显著高于正常组,说明维生素 A 缺乏情况下花鲈肝组织受到了一定程度的损伤。随着饲料中维生素 A 含量的逐渐升高,转氨酶活性也逐渐下降,说明肝组织的损伤情况得到了一定程度的改善。但是在维生素 A 添加最高量组,转氨酶活性又显著上升,说明过量添加维生素 A 对花鲈的内部组织造成了一定毒害作用。Hernandez 等^[7]研究也发现,饲料中维生素 A 含量过高或过低,对牙鲆肝脏都表现出不同程度的损伤。因此,饲料中的维生素 A 必须适量添加,缺乏或不足都会对机体造成不良的影响。

本研究对水产动物饲料维生素 A 与肝脂肪和血清甘油三酯和胆固醇含量的关系作了探讨。与转氨酶的变化趋势相反,花鲈血清甘油三酯和胆固醇含量随维生素 A 增加呈现明显的先上升后下降的趋势。血清胆固醇和甘油三酯含量低是营养缺乏的表现。肝脏是合成胆固醇和甘油三酯的主要器官,当肝脏严重损伤时,胆固醇和甘油三

酯合成减少,血清胆固醇和甘油三酯的降低往往出现更早,表现更明显。本实验中维生素 A 缺乏组胆固醇和甘油三酯含量显著低于正常组,说明维生素 A 缺乏情况下花鲈营养不良并且肝脏可能受到损伤,这与花鲈肝脏脂肪含量的变化情况是一致的。不添加维生素 A 的饲料组,花鲈肝脏脂肪含量显著高于各添加组,说明缺乏维生素 A 会导致脂肪在花鲈肝脏的积累,而此时较高的肝脏脂肪含量并不是从外界摄入了更多的脂肪或脂肪合成能力升高的结果,而是因为肝脏中磷脂合成障碍或载脂蛋白合成障碍导致肝脏中甘油三酯难以转运出肝,从而在肝脏中大量积累引起病变,与之相对应的是血清甘油三酯含量的显著下降。通过对鱼体脂肪含量和肝脏脂肪含量的分析,可以认为:维生素 A 缺乏会显著降低鱼体脂肪含量,但是会导致花鲈肝脏脂肪含量的上升。这说明维生素 A 缺乏的总体效果是使脂肪合成能力降低,同时又会引起肝脏中脂肪向血液的运输障碍,从而导致脂肪肝的发生。在维生素 A 添加最高量组,血清胆固醇和甘油三酯显著下降,说明过量添加维生素 A 对花鲈的肝脏造成了一定毒害作用,这也说明饲料中的维生素 A 必须适量添加,缺乏或不足都会对机体造成不良的影响。

维生素 A 与肝脏脂肪和胆固醇累积的关系及作用机理至今仍不清楚。用低胆固醇饲料喂养鸡时,维生素 A 不降低肝脏胆固醇的合成;但是高胆固醇饲料喂养时,维生素 A 可显著降低肝脏中的胆固醇含量,而高胆固醇投喂也使肝脏中维生素 A 的累积减少^[29]。投喂小鼠高脂饲料时,维生素 A 可通过降低脂肪合成和上调脂肪降解相关基因的表达,同时抑制脂肪合成、促进脂肪分解和胆固醇清除,从而降低体内脂肪含量^[30]。也有研究认为,维生素 A 对胆固醇的负向调节作用,可能是由于 VA 对肝脏和肠壁通透性的直接或者间接影响^[31]。有关水产动物投喂维生素 A 对脂肪及胆固醇累积的影响尚未见报道。本研究中,花鲈饲料胆固醇水平处于正常范围,但水产养殖过程中,投喂商品饲料时经常存在胆固醇过量的现象,花鲈脂肪肝情况严重,有必要在今后的研究中对维生素 A 与胆固醇的相互关系和作用机理,在生理生化和基因水平上作深入探讨。

4 结论

通过本实验,当以增重率为评价指标时,花鲈

<http://www.sexuebao.cn>

对饲料中维生素 A 的需求量为 1 934.8 IU/kg; 而当以肝脏维生素 A 含量为评价指标时, 花鲈对饲料中维生素 A 的需求量为 3 546.6 IU/kg。通过对肝体比、肝脏脂肪和血清相关指标的检测我们发现在适宜添加量范围内, 鱼体的健康情况会随着维生素 A 的添加得到改善, 但是过量添加维生素 A 会对机体造成一定毒害作用。

参考文献:

- [1] Li B S, Wang J Y, Wang S X, *et al.* Effects of vitamin A, C, E on breeding and larval quality for marine fish [J]. *Feed Industry*, 2010, 31(6): 29 - 30. [李宝山, 王际英, 王世信, 等. 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*, 2010, 31(6): 29 - 30.]
- [2] Fernández I, Hontoria F, Ortiz-Delgado J B, *et al.* Larval performance and skeletal deformities in farmed gillhead sea bream (*Sparus aurata*) fed with graded levels of vitamin A enriched rotifers (*Brachionus plicatilis*) [J]. *Aquaculture*, 2008, 283(1-4): 102 - 115.
- [3] Kitamura S, Suwa T, Ohara S, *et al.* Studies on vitamin requirement of rainbow trout: III. Requirement of vitamin A and deficiency symptoms [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1967, 33: 1126 - 1131.
- [4] Shim K F, Tan C H. The dietary requirement of vitamin A in guppy (*Poecilia reticulata* Peters) [C]. *The current status of fish nutrition in aquaculture*, Proceedings of Third International Symposium on Feeding and Nutrition of Fish. Japan: Toba, 1990, 133 - 140.
- [5] Aoe H, Masuda I, Mimura T, *et al.* Requirement of young carp for vitamin A [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1968, 34(10): 959 - 964.
- [6] Suhenda N, Djajadiredia R. Finfish Nutrition in Asia: Determination of the optimum level of vitamin premix for the diet of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings [M]. Canada: International Development Research Centre, 1985: 130 - 135.
- [7] Hernandez L H H, Teshima S, Koshio S, *et al.* Effects of vitamin A on growth, serum anti-bacterial activity and transaminase activities in the juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture*, 2007, 262(2-4): 444 - 445.
- [8] Ling L M, Hu J C, Hong H X. The most suitable content of protein in the artificial feed of culture *Lateolabrax japonicus* [J]. *Journal of Xiamen Fisheries College*, 1994, 16(1): 6 - 10. [林利民, 胡家财, 洪惠馨. 鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*) 人工配合饲料中蛋白质最适含量的研究. *厦门水产学院学报*, 1994, 16(1): 6 - 10.]
- [9] Gao C R, Liu Q H, Liang Y Q, *et al.* The optimum content of protein and fat in the artificial diet fed to cultured juvenile seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Marine Fisheries Research*, 1998, 19(1): 81 - 85. [高淳仁, 刘庆慧, 梁亚全, 等. 鲈鱼幼鱼人工配合饲料中蛋白质脂肪适宜含量的研究. *海洋水产研究*, 1998, 19(1): 81 - 85.]
- [10] Hong H X, Lin L M, Chen X H, *et al.* Studies on the optimal content and protein sparing effect of lipid in artificial foodstuff for *Lateolabrax japonicus* [J]. *Journal of Jimei University: Natural Science*, 1999, 4(2): 41 - 44. [洪惠馨, 林利民, 陈学豪, 等. 鲈鱼人工配合饲料中的脂肪适宜含量的研究. *集美大学学报: 自然科学版*, 1999, 4(2): 41 - 44.]
- [11] Pan Y, Wang F Q, Liu H L. Optimal proportion of fish meal and soybean cake in formulated diets of juvenile sea perch *Lateolabrax japonicus* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2000, 15(3): 157 - 163. [潘勇, 王福强, 刘焕亮. 花鲈配合饲料中鱼粉与豆粕适宜比例的研究. *大连水产学院学报*, 2000, 15(3): 157 - 163.]
- [12] Du Z Y, Liu Y J, Zheng W H, *et al.* The effects of three oil sources and two anti-fat liver factors on the growth, nutrient composition and serum biochemistry indexes of *Lateolabrax japonicus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(6): 542 - 550. [杜震宇, 刘永坚, 郑文晖, 等. 三种脂肪源和两种降脂因子对鲈生长、体营养成分组成和血清生化指标的影响. *水产学报*, 2002, 26(6): 542 - 550.]
- [13] Ai Q H, Mai K S, Li H T, *et al.* Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2004, 230(1-4): 507 - 516.
- [14] Ai Q H, Mai K S, Zhang C X, *et al.* Effect of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2004, 242(1-4): 489 - 500.
- [15] Zhang L, Ai Q H, Mai K S, *et al.* Effects of phytase and non-starch polysaccharide enzyme supplementation in diets on growth and digestive enzyme activity for Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* C [J]. *Acta*

<http://www.scxuebao.cn>

- Hydrobiologica Sinica 2009 33(1): 82-88. [张璐, 艾庆辉, 麦康森等. 植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和消化酶活性的影响. 水生生物学报, 2009, 33(1): 82-88.]
- [16] Li H T. The effects of dietary poisonous or deleterious substances on growth and its residues in tissues of Japanese seabass *Lateolabrax japonicus* and large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [D]. Qingdao: Ocean University of China 2004. [李会涛. 饲料中有毒有害物质对鲈鱼和大黄鱼生长的影响及其在鱼体组织残留的研究. 青岛: 中国海洋大学 2004.]
- [17] Wan J L. Studies on the essential amino acids for seabass (*Lateolabrax japonicus*) and yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R.) [D]. Qingdao: Ocean University of China 2005. [万军利. 鲈鱼和大黄鱼必需氨基酸营养生理研究. 青岛: 中国海洋大学 2005.]
- [18] Zhang C X. Studies on nutritional physiology of major B vitamins and mineral-phosphorus for large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. and Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2005. [张春晓. 鲈鱼、大黄鱼主要 B 组维生素营养研究和矿物质磷的需求. 青岛: 中国海洋大学 2006.]
- [19] Rushing L G, Cooper W M, Thompson H C. Simultaneous analysis of vitamin A and E in rodent feed by high-pressure liquid chromatography [J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 1991, 39: 296-299.
- [20] AOAC. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International [M]. 16th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1995.
- [21] Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues [J]. Journal of Biological Chemistry, 1957, 226: 497-509.
- [22] Halver J E. The vitamins. Fish Nutrition [M]. New York: Academic Press, 1989, 40.
- [23] Zhou L B, Wang A L, Zhang W, et al. Effects of Dietary Vitamin A Levels on Growth and Immune Response of Red Drum (*Sciaenops Ocellatus* L.) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2008, 20(4): 482-488. [周立斌, 王安利, 张伟, 等. 饲料维生素 A 对美国红鱼生长和免疫的影响. 动物营养学报, 2008, 20(4): 482-488.]
- [24] Woodward B. Riboflavin requirement for growth, tissue saturation and maximal flavin-dependent enzyme activity in young rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at two temperatures [J]. The Journal of Nutrition 1985, 115(1): 78-84.
- [25] Kaul S, Krishnakantha T P. Microsomal alkaline phosphatase activity in retinal deficiency induced albino rats [J]. Nahrung, 1993, 37(1): 35-40.
- [26] Mohamed J S, Sivaram V, Christopher R, et al. Dietary vitamin A requirement of juvenile greasy grouper (*Epinephelus tauvina*) [J]. Aquaculture, 2003, 219(1-4): 693-701.
- [27] Jiang M, Wen H, Wu F, et al. Effects of vitamin A on growth performance, body composition and serum transaminase activities in the juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition 2012, 40(9): 35-40. [蒋明, 文华, 吴凡, 等. 维生素 A 对草鱼幼鱼生长、体成分和转氨酶活性的影响. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(9): 35-40.]
- [28] Lemaire P, Drai P, Mathieu A, et al. Changes with different diets in plasma enzymes (GOT, GPT, LDH, ALP) and plasma lipids (cholesterol, triglycerides) of sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Aquaculture, 1991, 93(1): 63-75.
- [29] March B E, Biely J. Vitamin A and cholesterol absorption in the chicken [J]. The Journal of Nutrition, 1963, 79(4): 474-478.
- [30] Du B, Sun C, Xie L, et al. Effects of vitamin A on cholesterol cleaning and stearylolysis of high-fat diet fed mice [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2010, 18(4): 771-776. [堵斌, 孙超, 谢亮, 等. 维生素 A 对高脂饲料小鼠脂肪降解及胆固醇清除的影响. 农业生物技术学报, 2010, 18(4): 771-776.]
- [31] Shirley V B, Cecella A R, Mary V A. Relationship between Cholesterol and Vitamin A Metabolism in Rats Fed at Different Levels of Vitamin A [J]. The Journal of Nutrition, 1965, 85(4): 400-406.

Effects of different dietary vitamin A levels on growth and serum biochemical parameters for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)

ZHANG Lu^{1,2}, LI Jing^{1,3}, TAN Fangfang², MAI Kangsen¹,
ZHANG Chunxiao¹, LI Huitao¹, AI Qinghui^{1*}

(1. The Key Laboratory of Mariculture Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Technology Center of Tongwei Co. Ltd, Chengdu 610041, China;

3. Center for Bioengineering and Biotechnology, College of Chemical Engineering,
China University of Petroleum (East China), Qingdao 266580, China)

Abstract: A 9-week feeding experiment was conducted to evaluate the effect of dietary vitamin A level on growth and serum biochemical parameters for juvenile Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*. Six groups of isonitrogenous (43% crude protein) and isoenergetic (20 kJ/g dry matter) purified diets (Diets 1 – 6) containing 245, 1 005, 1 835, 3 781, 7 583 and 15 273 IU vitamin A (supplied as retinyl acetate) per kg diet were fed twice daily to triplicate groups (10 fish/group) of fish [initial weight (10.20 ± 0.14) g/fish] in 120 L plastic tanks. Fish fed the basal diet (Diet 1) developed heavy mortality, exophthalmos, haemorrhages at the base of the fins and distortion of operculum. None of these deficiency signs were observed in fish fed the vitamin A supplemented diets (Diet 2 – 6). Carcass lipid content significantly increased with dietary increasing vitamin A level, while protein and moisture showed no significant differences. The analyses of serum parameters showed that the activity of alkaline phosphatase (AKP), the content of triacylglycerol (TG) and total cholesterol (TC) all significantly increased with the increase of dietary vitamin A level, while the activities of glutamate transaminase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) had the reverse trend. Broken-line regression analysis of weight gain or liver vitamin A content showed that juvenile Japanese seabass require a minimum of 1 934.8 IU vitamin A/kg diet for maximal growth or 3 546.6 IU vitamin A/kg diet for maximal liver vitamin A deposition.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; vitamin A; growth; requirement;

Corresponding author: AI Qinghui. E-mail: qhai@ouc.edu.cn