

饲料维生素 C 对美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*) 生长、免疫的影响*

周立斌^{1,2} 王树齐¹ 张海发³

(1. 汕头大学 广东省海洋生物技术重点实验室 汕头 515063; 2. 惠州学院生命科学系/生物技术研究所 惠州 516007; 3. 广东省大亚湾水产试验中心 惠州 516081)

提要 采用单因子实验设计方法,进行了饲料中添加维生素 C 对美国红鱼生长(平均增重率、存活率、特定生长率、饲料效率)和免疫反应[血清中溶菌酶活性、血清总补体活性和超氧化物歧化酶(SOD)活性]影响的研究。结果表明:随着饲料中维生素 C 添加水平由 0 提高到 100mg/kg 时,美国红鱼的增重率和特定生长率显著提高。以特定生长率为指标,美国红鱼最佳生长性能的饲料维生素 C 添加量为 104.5mg/kg 左右;饲料中维生素 C 水平在 0—98.9mg/kg 时,美国红鱼肌肉和肝脏中维生素 C 的积累量随饲料中维生素 C 的增加而显著增加($P < 0.05$);美国红鱼获得最大肝脏和肌肉中维生素 C 的积累量时饲料中维生素 C 最低添加量为 128.1 和 104.0mg/kg;美国红鱼血清溶菌酶和血清总补体活性在维生素 C 添加水平分别为 98.9 和 198.7mg/kg 时达到最高值,随后变化不明显;美国红鱼血清 SOD 活性随维生素 C 添加水平的增加而显著升高,并且活性在 198.7mg/kg 达到最高值,随后显著下降。综上所述,美国红鱼维生素 C 生长和免疫的维生素 C 适宜添加水平为 200mg/kg 左右。

关键词 美国红鱼; 维生素 C; 生长; 免疫力

中图分类号 S966.12

维生素 C 又名抗坏血酸,大多数的脊椎动物具有合成维生素 C 的能力,但灵长类、豚鼠和多数鱼类体内缺乏 L-2 古洛内酯氧化酶,不能合成维生素 C,必须从食物中获取(Wilson, 1973; Fracalossi *et al.*, 2001)。已有的研究证实,维生素 C 是一种具有广泛生理和免疫作用的调节因子(Wilson *et al.*, 1973; Lim *et al.*, 1978),有明显的促生长、缓解应激状态和抵抗疾病的作用(Durve *et al.*, 1982; Navarre *et al.*, 1989; Montero *et al.*, 1999)。维生素 C 又是一种重要的免疫增强剂(Sakai, 1999),研究表明,当饲料中添加或注射较高含量的维生素 C 时,鱼类的淋巴细胞增殖(Lymphocyte Proliferation)、溶菌酶活力、补体活力、吞噬指数、呼吸暴发和抗感染能力均显著上升(Durve *et al.*, 1982; Li *et al.*, 1985; Navarre *et al.*, 1989; Hardie

et al., 1991, 1993; Ortuno *et al.*, 1999; Anbarasu *et al.*, 2001; Cuesta *et al.*, 2002)。

美国红鱼,学名眼斑拟石首鱼(*Sciaenops ocellatus* L.),属鲈形目(Perciformes)、石首鱼科(Scuabidae)、拟石首鱼属(*Sciaenops*),是我国南方沿海网箱养殖重要鱼类之一。当前美国红鱼的养殖主要以冰冻小杂鱼作为饵料,人工配合饲料的研究和开发严重滞后,仅有的文献多集中在美国红鱼对蛋白质(Mcgoogain, 1998; 刘永坚等, 2002)、脂肪酸(Thoman *et al.*, 1999)和胆碱(Steven *et al.*, 1996)等营养需求研究上。然而维生素 C 对美国红鱼生长和免疫的研究迄今为止尚未见完整报道。本实验研究在配合饲料中添加不同剂量的维生素 C 对美国红鱼生长和免疫反应的影响,为获得美国红鱼配合饲料中维生素 C

* 广东省海洋生物技术重点实验室开发基金, GPKLMB201202 号; 广东省自然科学基金项目, S2011010005079 号; 惠州市科技计划项目, 2011B040010003 号; 惠州学院自然科学基金重点项目, C503.0202 号。周立斌, 博士, 教授, E-mail: zlb2003@163.com
收稿日期: 2012-10-29, 收修改稿日期: 2013-01-17

适宜添加量提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼及实验设计

试验在广东大亚湾水产试验中心进行, 美国红鱼由广东省大亚湾水产试验中心提供, 先放入暂养池中用基础饲料(表 1)驯养 2 周, 使其适应试验条件和消耗体内维生素 C。试验分为 6 组, 每组 3 个重复, 将初始体重为 147g 左右的 360 尾美国红鱼随机分在 18 个 1.5m×1.0m×1.0m 的网箱中, 每箱 20 尾, 每组试验鱼初重差异不显著($P>0.05$)。以维生素 C 多聚磷酸酯(罗氏公司提供, 维生素 C 含量为 35.0%)作为维生素 C 添加源, 1—6 号试验饲料中维生素 C 按照 0、50、100、200、400 和 2000mg/kg(实际维生素 C 含量, 非维生素 C 多聚磷酸酯添加量)添加, 以微晶纤维素为填充剂, 使各试验组饲料其他营养水平保持一致, 然后进行混合和粉碎, 使其能全部通过 0.45mm 的分析筛, 再用绞肉机制成直径 2.5mm 的软颗粒饲料, 50℃ 烘箱中烘干, 置于-10℃ 冰箱保存备用。通过实测(见 1.3.2)得各组饲料中维生素 C 含量为 0、49.3、98.9、198.7、398.6 和 1987.4mg/kg, 分别用 C₀(对照组)、C_{49.3}、C_{98.9}、C_{198.7}、C_{398.6} 和 C_{1987.4} 来表示。

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Tab.1 Composition of basic diet and nutrition value (air-dry basis)

原料	含量(%)	原料	含量(%)
鱼粉	50.0	卵磷脂	2.5
豆粕	9.0	矿物质预混料 ²⁾	2.0
酵母粉	3.0	维生素预混料 ³⁾	2.0
小麦粉	25.7	营养成分	含量(%)
豆油	2.5	粗蛋白	43.74
鱼油	3.0	粗脂肪	12.61
添加剂 ¹⁾	0.3	粗灰分	10.78

1) 添加剂为甘氨酸和甜菜碱; 2) 矿物质预混料为每 kg 日粮中含: NaF 2mg, KI 0.8mg, CoCl₂·6H₂O 50mg, CuSO₄·5H₂O 10mg, FeSO₄·H₂O 80mg, ZnSO₄·H₂O 50mg, MnSO₄·H₂O 60mg, MgSO₄·7H₂O 1200mg, Ca(H₂PO₃)₂ 3000mg, NaCl 100mg, zoelite 15450mg; 3) 维生素预混料为每 kg 日粮中含: 维生素 B₁ 25mg, 核黄素 45mg, 维生素 B₆(盐酸吡哆辛)20mg, 维生素 B₁₂ 0.1mg, 维生素 K₃ 10mg, 肌醇 800mg, 泛酸 60mg, 烟酸 200mg, 叶酸 20mg, 生物素 1.20mg, 维生素 A 32mg, 维生素 D₃ 5mg, 维生素 E 120mg, 氯化胆碱 2500mg, 乙氧基奎宁 150mg, 次粉 18520mg

1.2 饲养管理

饲养水源为经过石英砂、活性炭水体净化装置处理后的海水; 水温 26.5—32.5℃ 左右, 露天养殖, 自

然光照。水体溶氧(DO) 6mg/L, 盐度 28—29, NH₄⁺-N 0.8mg/L。水体处于微流水状态。

饲养试验前 4 周每天按照鱼体总重的 3.0% 投喂, 后 4 周按 2.0% 投喂, 同时参照前一天情况调整投喂量, 每天投喂 2 次(9:30, 16:30), 每次分 3 遍投喂, 每遍间隔时间为 10min。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标测定 经过 8 周的饲养之后, 对试验鱼生长性能指标等进行测定, 计算公式为:

$$\text{饲料效率(FE, \%)} = (W_t - W_0) / F \times 100\%$$

$$\text{成活率(Survival, \%)} = N_t / N_0 \times 100\%$$

$$\text{平均增重率(AGR, \%)} = (\bar{W}_t - \bar{W}_0) / \bar{W}_0 \times 100\%$$

$$\text{特定生长率(SGR, \%)} = (\ln \bar{W}_t - \ln \bar{W}_0) / t \times 100\%$$

式中, W_t 为 t 天后各组鱼体总重(g), W_0 为初始时各组鱼体总重(g), t 为饲养天数(d), F 为 t 天内摄取的饲料量(g), \bar{W}_t 为 t 天后各组鱼体平均体重(g), \bar{W}_0 为初始时各组鱼体平均体重(g), N_t 为 t 天后各组鱼总数(尾), N_0 为初始各组鱼总数(尾)。

1.3.2 饲料中营养成分的测定 饲料中维生素 C、粗蛋白、粗脂肪、水分、粗灰分的测定按照国标 GB/T17816-1999、GB/T6432-1994、GB/T6433-1994、GB/T6435-1986、GB/T6438-1992 方法测定(中国饲料工业协会, 2002)。

1.3.3 血清免疫力的测定

血清样品的制备: 采用尾静脉抽血法, 取全血在室温下放置 1h, 再放于 4℃ 过夜, 然后 2000r/min 离心 15min 以制成血清供免疫学指标的检测。

血清溶菌酶活性测定: 以 Sigma 提供的溶壁微球菌冻干粉为底物, 参照王雷等(1995)的方法。溶壁微球菌冻干粉称取 100mg 溶于 150mL 的 1/15mol/L、pH 6.4 的 PBS 缓冲液中, 摇匀, 放入冰箱; 用时再摇匀, 取 2mL 微球菌悬液放入试管中, 冰浴。加入 200μL 血清混匀, 测 A_0 值。然后将试管放入 37℃ 水浴中 30min, 取出冰浴 10min, 于 570nm 测 A 值。

$$\text{活力 } U_L = (A_0 - A) / A_0$$

补体总活性测定: 根据补体能使溶血素致敏的绵羊红细胞发生溶血, 当致敏红细胞浓度恒定时, 溶血程度与补体量和活性呈正比例关系。将新鲜待测血清作不同稀释处理后, 与致敏红细胞反应, 测定溶血程度, 以 50% 溶血时的最小血清量为判定终点, 测定补体溶血活性 CH50。参照柳忠辉等(2002)的方法, 略作修改。

$$\text{血清总补体活性(U)} = 1 / \text{血清用量} \times \text{稀释倍数}$$

超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定: 参照静天玉等(1995)改进的邻苯三酚自氧化法, 略作修改。

1.3.4 组织中维生素C的测定 从每个网箱中取3尾美国红鱼, 解剖取得鱼体的肝脏和背部肌肉, 用于组织维生素C含量测定, 并称量每尾鱼肝脏和肌肉的重量, 整个操作过程均在冰盘上进行。组织维生素C的测定参照熊忠(2001)的方法, 略做修改, 称取1—2g组织在2mL 1.84mol/L三氯乙酸和等量蒸馏水和0.5mL Folin B试剂, 混合均匀5min后, 置高速离心机以10000r/min离心5min, 取全部上清液放于760nm处测定吸光值, 然后由所作标准回归方程 $y = 0.01x + 0.01$ ($R^2 = 0.9994$)计算得出组织中维生素C的含量。

1.4 数据处理统计

试验数据采用DPS v7.55统计软件中单因素方差分析和最小显著差异法对美国红鱼幼鱼各项测定指标进行分析处理, $P < 0.05$ 即认为有显著性差异。所有的结果均以平均值±标准误来表示。图形处理以及回归方程计算用Excel进行。

2 结果

2.1 维生素C不同添加量对美国红鱼生长性能的影响

经过8周饲养试验, 各试验组美国红鱼增重率、饲料效率和特定生长率、成活率等指标列于表2。从表2可以看出, 饲料中未添加维生素C组的增重率、饲料效率、特定生长率以及存活率显著低于维生素C添加组($P > 0.05$), 当饲料维生素C低于100mg/kg时, 美国红鱼增重率、饲料效率、特定生长率都随着饲料中维生素C添加量的增加而增大, 且差异显著($P < 0.05$); 当饲料中维生素C添加量达到100mg/kg后,

增重率、饲料效率、特定生长率等生长指标基本不再变化, 随着维生素C水平的提高其生长效果变化不显著($P > 0.05$), 甚至还表现出了下降的趋势。

以维生素C添加量与特定生长率作回归直线, 通过折线法求得两条直线相交点值, 即美国红鱼获得最高特定生长率时饲料中维生素C最低添加量为104.5mg/kg(图1)。

从表2可以看出, 溶菌酶活力随维生素C添加量增加而显著增高, 当维生素添加量C达到98.9mg/kg, 溶菌酶活性最高, 随后没有显著性变化。美国红鱼血清总补体活性测定结果与此类似, 随着维生素C添加量的增加总补体活性显著升高, 当维生素C添加量达到197.5mg/kg, 血清总补体活性最高, 随后没有显著性的变化。而饲料维生素C水平对美国红鱼血清超氧化物歧化酶活性有显著影响, 超氧化物歧化酶活性随维生素C添加量增加而升高, 当维生素C添加量达到197.3mg/kg达到最高值, 随后显著下降。

2.2 维生素C不同添加量对美国红鱼组织中维生素C含量的影响

维生素C不同添加量对美国红鱼组织中维生素C积累量的影响见图2。由图2可知, 对照组组织中维生素C积累量最低, 各组肌肉和肝脏中维生素C积累量随着饲料中维生素C添加量的增加而升高, 且各试验组与对照组之间得差异性显著($P < 0.05$), 饲料中维生素C添加量在0—98.9mg/kg时, 美国红鱼肌肉和肝脏中维生素C的积累量随饲料中维生素C的增加而显著增加($P < 0.05$), 而饲料中维生素C添加量在达到98.9mg/kg之后, 其肝脏和肌肉中维生素C积累量变化不显著($P > 0.05$)。

以维生素C添加量与肝脏中维生素C的积累量

表2 饲料维生素C添加量对美国红鱼生长和免疫的影响
Tab.2 Effects of different level of dietary vitamin C on growth and immune response of red drum

饲料标号	C ₀	C _{49.3}	C _{98.9}	C _{198.7}	C _{398.6}	C _{1987.4}
初重(g)	154.30±12.35 ^a	150.35±17.96 ^a	141.81±21.07 ^a	155.81±15.68 ^a	141.29±15.39 ^a	141.74±13.52 ^a
末重(g)	265.79±23.58 ^a	305.38±20.35 ^b	331.08±27.29 ^{bc}	370.91±34.78 ^c	334.54±22.17 ^{bc}	329.19±24.78 ^{bc}
增重率(%)	71.34±6.32 ^a	103.68±5.64 ^b	133.23±4.47 ^c	138.65±5.05 ^c	136.25±4.25 ^c	132.39±8.78 ^c
饲料效率(%)	65.42±4.12 ^a	79.19±2.83 ^b	92.24±5.12 ^c	94.67±3.46 ^c	93.55±5.36 ^c	91.87±4.03 ^c
特定生长率(%)	0.91±0.038 ^a	1.18±0.057 ^b	1.41±0.083 ^c	1.45±0.069 ^c	1.44±0.062 ^c	1.40±0.042 ^c
成活率(%)	86.67±2.89 ^a	93.33±2.89 ^b	96.67±2.89 ^b	96.67±2.89 ^b	96.67±2.89 ^b	93.33±2.89 ^b
溶菌酶活力(IU/mL)	0.64±0.04 ^a	1.04±0.05 ^b	1.38±0.08 ^c	1.36±0.07 ^c	1.33±0.07 ^c	1.32±0.08 ^c
总补体活性(U/mL)	28.23±2.28 ^a	35.76±1.69 ^b	36.47±2.16 ^b	52.92±2.55 ^c	49.59±2.12 ^c	48.39±2.36 ^c
超氧化物歧化酶(U/mL)	300.2±15.12 ^a	300.6±16.15 ^a	366.8±18.21 ^b	455.5±16.1 ^c	357.6±315.59 ^b	341.3±17.11 ^b

注: 同一行中具不同字母标记的值表示差异显著($P < 0.05$)

作回归直线, 通过折线法求得两条直线相交点值, 即美国红鱼获得最大肝脏中维生素 C 的积累量时饲料中维生素 C 最低添加量为 128.1mg/kg(图 3); 以维生素 C 添加量与肌肉中维生素 C 的积累量作回归直线, 通过折线法求得两条直线相交点值, 即美国红鱼获得最大肌肉中维生素 C 的积累量时饲料中维生素 C 最低添加量为 104.0mg/kg(图 4)。

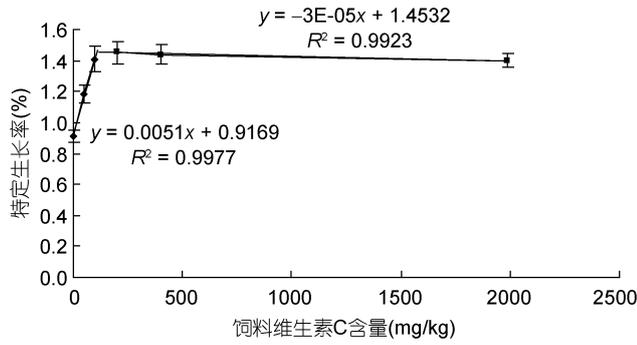


图 1 试验各组的特定生长率回归分析

Fig.1 Relationship between specific growth ratio and dietary vitamin C content

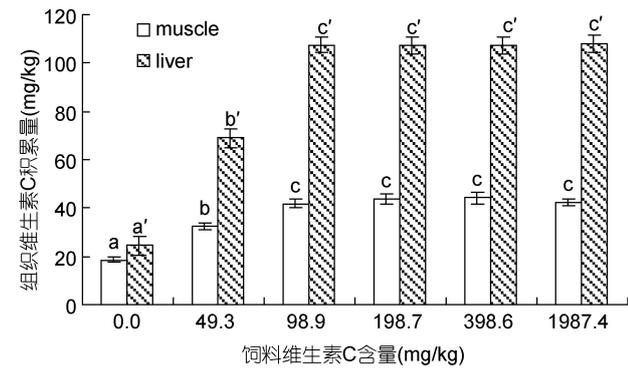


图 2 饲料维生素 C 对美国红鱼组织维生素 C 积累量的影响
Fig.2 Effects of dietary vitamin C on tissue vitamin C concentrations in red drum

注: 图中具不同字母标记的值表示差异显著($P < 0.05$)

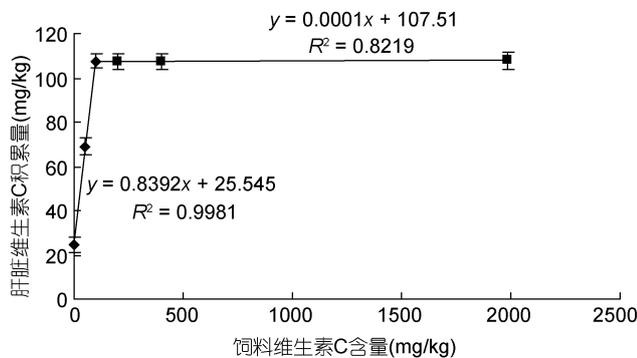


图 3 饲料维生素 C 对美国红鱼肝脏维生素 C 积累量的影响
Fig.3 Effects of dietary vitamin C on liver vitamin C concentrations in red drum

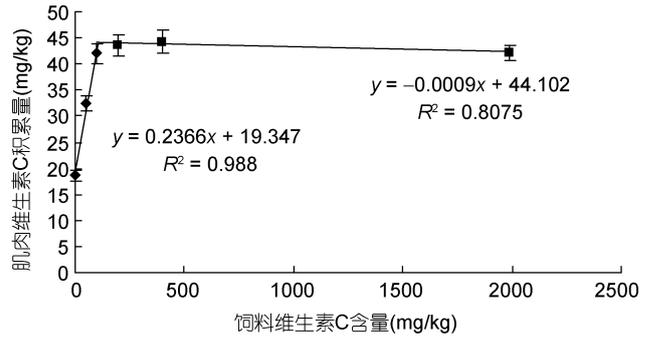


图 4 饲料维生素 C 对美国红鱼肌肉维生素 C 积累量的影响
Fig.4 Effects of dietary vitamin C on muscle vitamin C concentrations in red drum

3 讨论

3.1 维生素 C 与美国红鱼生长的关系

维生素 C 既是一种具广泛生理功能的营养素, 又是一种具免疫作用的免疫调节因子, 有明显的抗感染作用, 但许多鱼类自身不能合维生素 C, 必须通过饲料或食物中获得。饲料中添加维生素 C 能显著增强花鲈 (*Lateolabrax japonicus* Cuvier et Valenciennes)(Ai *et al.*, 2004)、点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus* Schneider)(周歧存等, 2005)和大口黑鲈 (*Micropterus salmoides* Lacépède)(谢一荣等, 2006)等海水鱼类的生长性能。从本实验结果可以得出, 维生素 C 是美国红鱼生长必不可少的营养素, 维生素 C 对美国红鱼各项生长指标影响的变化趋势基本一致。添加维生素 C 后能显著提高美国红鱼的增重率、饲料效率、特定生长率和成活率等($P < 0.05$), 当维生素 C 添加量超过 100mg/kg 时, 对美国红鱼的生长性能并无显著影响, 有些指标随着维生素 C 添加量的增加反而有所下降, 但没有表现出显著性差异, 未添加维生素 C 的对照组和低剂量组未见有维生素 C 缺乏症产生。据 Lee 等(1998)报道, 许氏平鲈 (*Sebastes schlegelii* Higendorf)饲料在不添加维生素 C 的情况下, 在 12—16 周时才表现出维生素 C 的缺乏症, 本次试验中没有美国红鱼对维生素 C 的外表缺乏症状出现, 究竟维生素 C 缺乏能不能引起美国红鱼外表缺乏症状出, 还有待进一步做更长久的饲养实验才能得以证明。

3.2 维生素 C 与美国红鱼免疫反应的关系

溶菌酶是一种低分子量耐热的碱性蛋白, 主要来源于吞噬细胞, Marja 等(1992)报道, 在一定程度上, 血清中溶菌酶活性变化与循环系统中白细胞数目变化相一致, 白细胞数目多, 溶菌酶活力就增加, 二者

正相关。秦启伟等(2000)的研究也表明饲料中添加维生素 C 能显著提高青石斑鱼(*Epinephelus awoara* Temminck et Schlegel)血清中溶菌酶活性,而在花鲈中维生素 C 添加到一定量时也能显著提高血清中溶菌酶活性(Ai *et al*, 2004),本次试验发现饲料中添加维生素 C 能显著提高美国红鱼血清中溶菌酶活性,溶菌酶活性随着饲料中维生素 C 添加量的增加而升高,表明维生素 C 具有激活美国红鱼溶菌酶活性的功效。

补体是一种非常重要的非特异性体液免疫因子。国内外有关维生素 C 与鱼类免疫机制之间的关系研究表明,在饵料中添加维生素 C 可以明显地影响鱼类补体的抗体依赖性溶血活动,维生素 C 对补体的可能作用机制是维生素 C 参与羟脯氨酸和羟赖氨酸的形成,补体的经典激活途径 C1 复合体的 C1q 在化学结构上有大量的羟脯氨酸和羟赖氨酸残基,因而适量的维生素 C 可激活补体活性。Ai 等(2004)、Hardie 等(1991)和秦启伟等(2000)用高剂量的维生素 C 分别投喂花鲈、大西洋鲑(*Salmo salar* Linnaeus)和青石斑鱼均发现鱼体血清中补体活性明显提高($P < 0.05$),本试验结果与上述研究结果相似,添加维生素 C 的各组美国红鱼血清补体活性显著高于不添加维生素 C 组($P < 0.05$),血清补体活性随饲料维生素 C 水平的增加而增加,且呈显著性差异,表明在饲料中添加维生素 C 可以明显地影响美国红鱼补体的抗体依赖性溶血活动,饲料中维生素 C 缺乏或不足都会影响美国红鱼非特异性免疫功能下降。

超氧化物歧化酶作为一种特异性消除超氧自由基的循环酶,主要负责过氧化和噬菌作用造成的组织损伤的防御保护作用。超氧化物歧化酶活性越高,说明其清除自由基的能力越强(Munozm, 2000)。王雷等(1994)的研究也表明超氧化物歧化酶活性与水生动物的免疫水平密切相关。与虹鳟(*Salmo gaidnerii* Richardson)(Verlhac *et al*, 1996)类似,美国红鱼血清中超氧化物歧化酶活性随饲料维生素 C 含量的增加而逐渐升高,随后显著降低,表明饲料中添加一定量的维生素 C 能显著提高超氧化物歧化酶活性,但添加量应该掌握在一定范围内,过量反而会抑制超氧化物歧化酶活性。

3.3 美国红鱼饲料中最适维生素 C 含量的确定

多数养殖鱼类对维生素 C 的最适生长需要量为 50—100mg/kg 饲料,以增重率和特定生长率为指标,花鲈维生素 C 的适宜需要量为 47.6mg/kg 饲料(Ai *et al*, 2004),点带石斑鱼为 70mg/kg (周歧存等, 2005),

条石鲷(*Oplegnathus fasciatus* Temminck et Schlegel)则为 12mg/kg (Wang *et al*, 2003)。本实验中,维生素 C 添加量达到 100mg/kg 饲料时,美国红鱼的增重率、饲料系数、特定生长率和成活率都有显著性的提高,而以特定生长率为指标,通过折线法可知美国红鱼生长性能最佳的饲料维生素 C 需要量是 104.5mg/kg 左右。从免疫方面考虑,不同养殖鱼类对饲料维生素 C 的最适免疫需要量不同(Dabrowski *et al*, 2001),Montero 等(1999)以血清皮质醇含量、溶菌酶活力和补体活性为指标,认为金头鲷(*Sparus aurata*)摄食维生素 C 含量为 250mg/kg 的饲料时,耐密集和抗病力较强;摄食含 500—300mg 维生素 C 的饲料时,头肾白细胞的吞噬活性、呼吸爆发活力较强(Mulero *et al*, 1998);大西洋鲑饲料维生素 C 含量达 3000mg/kg 时,抗体形成和补体活性均有显著性提高(Hardie *et al*, 1991)。本实验中,从溶菌酶活性、总补体活性和超氧化物歧化酶活性等判据来看,美国红鱼免疫力在一定范围内随维生素 C 增加而提升:在饲料维生素 C 为 100mg/kg 时,溶菌酶活性显著高于 C₀ 和 C₅₀ 组,而总补体活性和超氧化物歧化酶活性则是在 200mg/kg 时达到最高水平,综合各免疫力指标可以认为,饲料维生素 C 为 200mg/kg 时可使美国红鱼获得较强的抗病力。综上所述,美国红鱼生长性能最佳的饲料维生素 C 最低需要量是 104.6mg/kg,获得较强的抗病力饲料维生素 C 需要量是 200mg/kg。因此作者认为,为减少病害带来的损失,在疾病多发季节应适当提高饲料维生素含量,建议在原有的基础上再增加到 200mg/kg 左右。

参 考 文 献

- 王 雷,李光友,毛远兴,1995. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究. 海洋与湖沼, 26(2): 179—185
- 王 雷,李光友,毛远兴等,1994. 口服免疫药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究. 海洋与湖沼, 25(5): 486—488
- 中国饲料工业协会, 2002. 饲料工业标准汇编. 北京: 中国标准出版社, 70—92
- 刘永坚,刘栋辉,田丽霞等, 2002. 饲料蛋白质和能量水平对红姑鱼生长和鱼体组成的影响. 水产学报, 6(3): 242—246
- 周歧存,刘永坚,麦康森等, 2005. 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. 海洋与湖沼, 36(2): 152—158
- 柳忠辉,吕昌龙, 2002. 免疫学常用实验技术. 北京: 科学出版社, 48—56
- 秦启伟,吴灶和,周永灿等, 2000. 饵料维生素 C 对青石斑鱼

- 的非特异性免疫调节作用. 热带海洋, 19(1): 58 - 63
- 谢一荣, 吴锐全, 谢 骏等, 2006. 维生素 C 对大口黑鲈生长与非特异性免疫的影响. 南方水产, (3): 40—45
- 静天玉, 赵晓瑜, 1995. 用终止剂改进超氧化物歧化酶临苯三酚测活法. 生物化学与生物物理学进展, 22(1): 84—86
- Ai Q H, Mai K S, Zhang C X *et al*, 2004. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. Aquaculture, 242: 489—500
- Anbarasu K, Chandran M R, 2001. Effects of ascorbic acid on the immune response of the catfish, *Mystus gulio* (Hamilton), to different bacterins of *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunol, 11: 347—355
- Cuesta A, Esteban M A, Meseguer J *et al*, 2002. Natural cytotoxic activity in seabream (*Sparus aurata* L.) and its modulation by vitamin C. Fish Shellfish Immunol, 13: 97—109
- Dabrowski K, Ciereszko A, 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. Aquaculture Research, 32: 623—638
- Durve V S, Lovell R T, 1982. Vitamin C and disease resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Can J Fish Aquat Sci, 39: 948—951
- Fracalossi D M, Allen M E, Yuyama L K *et al*, 2001. Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. Aquaculture, 192: 321—332
- Hardie L J, Fletcher T C, Secombes C J, 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon *Salmo salar* L. Aquaculture, 95(2): 201—214
- Hardie L J, Marsden M J, Fletcher T C *et al*, 1993. *In vitro* addition of vitamin C affects rainbowtrout lymphocyte responses. Fish Shellfish Immunol, 3: 207—219
- Lee K J, Kim K W, Bai C, 1998. Effects of different dietary levels of L-ascorbic acid on growth and tissue vitamin C concentration in juvenile Korean rockfish. Aquaculture Research, 29(4): 237—244
- Li Y, Lovell R T, 1985. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. J Nutr, 11: 123—131
- Lim C, Lovell R T, 1978. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Journal of Nutrition, 108: 1137—1146
- Marja M, Antti S, 1992. Changes in plasma lysozyme and blood leucocyte levels of hatchery-reared Atlantic Salmon and sea trout during parr-smolt transformation. Aquaculture, 106: 75—78
- Mcgoogain B D, 1998. Metabolic requirements of red drum, *Sciaenops ocellatus*. For protein and energy based on weigh gain and body composition. Journal of Nutrition, 128(1): 123—129
- Montero D, Marrero M, Izquierdo M S *et al*, 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. Aquaculture, 171: 269—278
- Mulero V, Esteban M A, Meseguer J, 1998. Effects of *in vitro* addition of exogenous vitamins C and E on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) phagocytes. Veterinary Immunology and Immunopathology, 66(2): 185—199
- Munozm Cedor, 2000. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. Aquaculture, 191: 89—107
- Navarre O, Halver J, 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. Aquaculture, 79: 207—221
- Ortuno J, Esteban Meseguer J, 1999. Effects of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilt-head seabream (*Sparus aurata* L.). Fish Shellfish Immunol, 9: 429—443
- Sakai M, 1999. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172: 63—92
- Steven R, Craig, Delbert M *et al*, 1996. Dietary choline requirement of juvenile red drum, (*Sciaenops ocellatus*). Journal of Nutrition, 126(6): 23—31
- Thoman E S, Davis D A, Arnold C R, 1999. Evaluation of grow out diets with varying protein and energy levels for red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture, 176: 343—353
- Verlhac V, Gabaudan J, Obach A, 1996. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 153: 123—133
- Wang X J, Kim Kang-Woong, Sungchul C *et al*, 2003. Effect of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). Aquaculture, 215: 203—211
- Wilson R P, 1973. Absence of ascorbic acid synthesis in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and blue catfish (*Ictalurus furcatus*). Comp Biochem Physiol B, 46: 635—638
- Wilson R P, Poe W E, 1973. Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. Journal of Nutrition, 103: 1359—1364

EFFECTS OF DIETARY VITAMIN C ON GROWTH AND IMMUNE RESPONSE OF RED DRUM *SCIAENOPS OCELLATUS*

ZHOU Li-Bin^{1,2}, WANG Shu-Qi¹, ZHANG Hai-Fa³

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Marine Biotechnology, Shantou University, Shantou, 515063;

2. Department of Life Science and Institute of Biotechnology, Huizhou University, Huizhou, 516007;

3. Guangdong Daya Bay Fisheries Development Center, Huizhou, 516081)

Abstract An experiment was conducted to study the effects of dietary vitamin C on growth (weigh rate, feed efficiency ratio, specific growth rate and survival rate) and immune response (lysozyme activity, total complement activity, and SOD activity) of red drum *Sciaenops ocellatus* L. Results indicate that after 8 weeks of the feeding trial, the weight rate, feed efficiency ratio, and specific growth rate of red drum increased significantly with increasing dietary vitamin C from 0 to 98.9mg/kg ($P<0.05$). However, for those that did not increase significantly with increasing dietary vitamin C from 98.9 to 1987.4mg/kg ($P>0.05$), the optimal dietary vitamin C level for maximum growth is about 106mg/kg of dietary vitamin C; tissue vitamin C concentrations of this fish fed with the control diet were significantly lower than those with vitamin C enriched diets ($P<0.05$), the vitamin C concentration in liver and muscle increased significantly with increasing dietary vitamin A from 0 to 98.9mg/kg ($P<0.05$), but no significant differences were observed among fish fed the diets with equal to or higher than 98.9mg/kg of vitamin C ($P>0.05$). Red drum maintained the greatest vitamin C concentration in liver and the lowest vitamin C demand level when fed 128.1mg/kg of dietary vitamin C, red drum maintained greatest vitamin C concentration in muscle and lowest vitamin C demand level when fed 104.0mg/kg of dietary vitamin C; the lysozyme activity, SOD activity and total complement activity of the fish fed with the control diet were significantly lower than those with vitamin C enriched diets. Red drum had the maximal level of lysozyme activity when fed 98.9mg/kg of dietary vitamin C, and no significant differences were observed among fish fed the diets with equal to or higher than 98.9mg/kg of vitamin C ($P>0.05$). Red drum had the maximal level of total complement activity when fed 98.9 and 198.7mg/kg, and no significant differences were observed among fish fed the diets with equal to or higher than 198.7mg/kg of vitamin C ($P>0.05$). Red drum had the maximal level of SOD activity when fed 198.7mg/kg of dietary vitamin C, then decreased significantly. Based on the information above, the optimal dietary vitamin C level for optimum growth performance and immune response in red drum is about 200mg/kg.

Key words red drum *Sciaenops ocellatus*; Vitamin C; growth; immunity response; tissue concentration