

维生素 E 和维生素 C 对斜带石斑鱼 亲鱼产卵质量的影响*

肖伟平¹, 刘永坚¹, 田丽霞¹, 郑文晖², 曹俊明³,
刘付永忠⁴, 梁桂英¹, 杜震宇¹, 王 胜¹

- (1. 中山大学水生经济动物研究所暨广东省良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275;
2. 中山大学分子医学检验中心, 广东 广州 510089;
3. 广东省农业科学院, 广东 广州 510640;
4. 广东省大亚湾水产增殖养殖种苗培育中心, 广东 惠州 516081)

摘 要: 在饲喂斜带石斑鱼 *Epinephelus coioides* 亲鱼的新鲜鲜杂鱼中添加 $w=0.2\%$ 的维生素 E 或 $w=0.5\%$ 维生素 C, 经过 45 d 的营养强化之后, 在 4—6 月期间采集受精卵, 孵化成仔鱼, 并测定其营养成分。结果显示, 亲鱼饵料中添加维生素 E 不仅可以增大亲鱼受精卵的卵径、油球直径和仔鱼全长, 而且影响受精卵脂肪酸的组成, 受精卵中 $n-3$ PUFA 和 $n-6$ PUFA 的含量以及 PUFA/SFA、DHA/EPA 的比值显著高于对照组; 亲鱼饵料中添加维生素 C 对卵径、油球直径、仔鱼全长和受精卵脂肪酸的组成没有明显影响。由此表明, 斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加维生素 E 可以改善受精卵的质量和仔鱼质量, 而添加维生素 C 对受精卵卵径、受精卵脂肪酸组成和仔鱼全长没有显著影响。

关键词: 斜带石斑鱼 *Epinephelus coioides*; 亲鱼; 维生素 E; 维生素 C; 受精卵; 仔鱼; 脂肪酸

中图分类号: S963.16 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2003) S2-0214-04

斜带石斑鱼 *Epinephelus coioides* 属鲈形目 Perciformes 鲈亚目 Percoidei 鱼旨科 Serranidae 石斑鱼属 *Epinephelus*, 主要分布在亚热带和热带海区, 是重要的海水养殖鱼类。近年来, 东南亚国家、日本、我国台湾及华南沿海对石斑鱼的养殖不断发展, 对石斑鱼鱼苗的需求量不断增加, 但天然苗种远远不能满足养殖业的需要, 鱼苗成活率也极低, 而亲鱼营养又直接影响到受精卵和仔鱼的质量, 因此亲鱼营养研究显得非常重要。

维生素 E (vitamin E, V_E) 又名生育维生素, 是一种具有多种生物学功能的脂溶性维生素。在繁殖方面, Viehoveer 等^[1] 研究表明, V_E 是维持甲壳动物卵巢发育和繁殖活动必需的营养素; 在印度对虾 *Penaeus indicus*^[2] 亲体饲料中添加 V_E 可促进亲体性腺发育, 改善其繁殖性能, 但 V_E 对亲鱼繁殖的影响机制报道甚少。而维生素 C (vitamin C, V_C) 作为生物机体所必需的营养成分, 在机体内行使着非常重要的功能, 例如增强机体免疫作用^[3], 参与体内氧化还原反应^[4,5] 及细胞基质的形成等等。为了提高斜带石斑鱼受精卵和仔鱼质量, 本实验室在

广东省大亚湾水产增殖养殖中心进行了斜带石斑鱼亲鱼营养研究, 探讨维生素 E 和维生素 C 对斜带石斑鱼亲鱼产卵质量特别是对脂肪酸组成的影响。

1 材料和方法

1.1 试验鱼及亲鱼饲养设施

试验亲鱼从广东省大亚湾海区养殖网箱购入, 每个实验组亲鱼 15 尾, 年龄在 6 龄左右, 体质量 5~7 kg, 每个网箱雌鱼和雄鱼的配比相当。试验在广东省大亚湾水产增殖养殖种苗培育中心海上网箱进行, 规格为 3 m×3 m×2.5 m, 试验期水温为 26~29 °C, pH 值 7.94±0.11, 海水盐度 32.62±1.01, 溶氧量大于 7 mg·L⁻¹。

1.2 亲鱼饲养

试验分 3 个组进行, 每个组 15 尾亲鱼, 其饲料设计和分组情况见表 1。

试验从 2001 年 3 月初进行营养强化。饲喂方法: 把强化混合饲料按照配方比例塞入鲜杂鱼腹腔中进行投喂, 每天投喂 1 次, 饱食为止。投喂时间为每天 09:00—10:00, 营养强化 45 d 之后, 四

* 收稿日期: 2003-07-01

基金项目: 国家 863 资源与环境技术领域海洋生物技术主题资助 (2001AA621010)

作者简介: 肖伟平 (1975 年生), 男, 博士研究生; 通讯联系人: 刘永坚; E-mail: weipingx@sohu.com

月底开始采集受精卵并进行受精卵和仔鱼测定。

1.3 受精卵的采集及仔鱼孵化

为避免个体亲鱼的差异对结果造成影响, 从 4—6 月分 3 次采集受精卵, 每隔 10 天采集 1 次。收集受精卵时, 早上 10: 00 左右放入 2 m×2 m×1. 5 m 的收卵网箱, 并马上充氧。亲鱼产卵后, 马上送回实验室进行受精卵测定。取 40g 受精卵置于一 80℃冰箱保存, 以备进行成分的测定。另取一部分受精卵在塑料桶 (45 cm×45 cm×25 cm) 孵化, 水源为自然海水, 连续充气。孵化后取 30 尾仔鱼测定仔鱼全长, 每批卵孵化后分初孵时、孵化后 5 h、孵化后 18 h 3 个时间段分别进行仔鱼全长的测定, 然后取其平均值。

表 1 斜带石斑鱼亲鱼饲料配合成分

Tab 1 The composition of the diets

组别	鲜杂鱼	V _E	V _C	α-淀粉	鱼粉	混合料鲜杂鱼
对照组	100			2	5	7/100
V _E 组	100	0. 2		2	5	9/100
V _C 组	100		0. 5	2	5	7. 2/100

1) 数字为配合比例; 其中鲜杂鱼是新鲜购得的青磷鱼, 每条鲜杂鱼湿质量 35 g 左右。

2 结果与讨论

2.1 V_E 和 V_C 对斜带石斑鱼亲鱼受精卵卵径和油球直径的影响

当亲鱼产卵后, 马上采集受精卵并送回实验室, 随机取 20 粒受精卵测定卵径和油球直径, 测量结果如表 2 所示。由表 2 可以看出, 斜带石斑鱼受精卵卵径一般在 0. 75~0. 95 mm 之间, 其油球直径在 0. 18~0. 23 mm 之间。从 3 次的测量结果来

看, 在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加一定比例的 V_E, 无论是实验初期或是实验后期, V_E 组受精卵卵径和油球径均优于对照组并存在显著性差异 ($P<0. 05$); 而在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加一定比例的维生素 C 后, V_C 组卵径和油球径与对照组相比, 差异不显著 ($P>0. 05$) (表 2)。说明在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加一定比例的 V_E 可以增大卵径和油球直径。而受精卵的主要成分卵黄是受精卵发育的营养物质, 还为胚胎发育提供能量 (刘筠, 1993), 因而卵径越大, 卵黄所含营养物质越多; 油球径越大, 脂肪含量越多, 这对于卵的孵化有很大的帮助作用; 而添加 V_C 对卵径和油球直径的增加影响不大。

2.2 V_E 和 V_C 对斜带石斑鱼亲鱼初孵仔鱼全长的影响

受精卵孵化成仔鱼后, 在 3 个不同时间段随机取 30 尾仔鱼测得 3 个实验组仔鱼的全长, 测量结果见表 3。初孵仔鱼一般全长在 1. 5~1. 8 mm 之间。一般来说, 初孵仔鱼全长越长, 仔鱼质量越好。从 3 个不同时间段的测量结果可以看出, 在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加一定比例的 V_E 后, V_E 组仔鱼全长显著优于对照组 ($P<0. 05$), 而添加 V_C 后, 仔鱼的全长与对照组相比没有明显差异 ($P>0. 05$) (表 3)。说明在亲鱼饲料中添加 V_E 对增强仔鱼的全长很有帮助作用, 而 V_C 作用不明显。

2.3 各个实验组脂肪酸组成的分析比较

受精卵脂肪酸组成分析中发现, 对照组和实验组受精卵脂肪酸组成中, 超过 5% 的脂肪酸成分有 16: 0、16: 1、18: 0、18: 1、EPA(eicosapentaenoic acid, 20: 5n 3) 及 DHA(docosahexaenoic acid, 22: 6n 3), 含量在 1%~5% 之间的脂肪酸有 14: 0、20: 1、AA

表 2 斜带石斑鱼亲鱼受精卵卵径和油球直径

Tab 2 The diameters of the fertilized eggs and the oil globules (n=20)

	对照组		V _E 组		V _C 组	
	卵径/mm	油球直径/mm	卵径/mm	油球直径/mm	卵径/mm	油球直径/mm
第 1 批卵	0. 8443±0. 0198 ^a	0. 1987±0. 0057 ^a	0. 8908±0. 0199 ^b	0. 2051±0. 0053 ^b	0. 8400±0. 0224 ^b	0. 2003±0. 0061 ^a
第 2 批卵	0. 8375±0. 0114 ^a	0. 1874±0. 0026 ^a	0. 8574±0. 0135 ^b	0. 1981±0. 0048 ^b	0. 8391±0. 0148 ^a	0. 1893±0. 0032 ^a
第 3 批卵	0. 8012±0. 0174 ^a	0. 1891±0. 0042 ^a	0. 8305±0. 0214 ^b	0. 1932±0. 0039 ^b	0. 8362±0. 0194 ^b	0. 1856±0. 0028 ^a

1) 第 1 批卵采自 5 月 15 日; 第 2 批卵采自 5 月 25 日; 第 3 批卵采自 6 月 5 日。

表 3 斜带石斑鱼受精卵孵化后仔鱼全长测定

Tab. 3 The total length of the larvae (n=30)

	对照组	V _E 组	V _C 组
初孵仔鱼	1. 5433±0. 1046 ^a	1. 6283±0. 0505 ^b	1. 5503±0. 1521 ^a
孵化后 5 h 的仔鱼	1. 8258±0. 094 ^a	1. 8341±0. 0804 ^a	1. 8261±0. 0105 ^a
孵化后 18 h 的仔鱼	1. 9164±0. 2358 ^a	2. 1376±0. 1631 ^b	1. 9258±0. 1333 ^a

(arachidonic acid, 20: 4n-6)、22: 4n-6 及 22: 5n-6, 其中对照组超过 1% 的脂肪酸还有 18: 2n-6、19: 0, V_E 组的 18: 2n-6 含量也超过了 1%, 而受精卵中 EPA 的含量则超过 5%, 与鲜杂鱼的脂肪酸组成也基本一致, 说明受精卵的脂肪酸组成也受亲鱼饲料成分的影响。在对受精卵的脂肪酸比较时发现, V_E 组的 n-3HUFA 的含量超过对照组并存在显著性差异 ($P < 0.05$), 其 DHA/EPA 的比值为 2.9, 比对照组高; 而 V_C 组比值最高, 为 3.1; V_E 组 AA/EPA 的比值为 0.5, 与对照组存在差异但不显著 ($P > 0.05$)。对照组、 V_E 组和 V_C 组的 PUFA/SFA 的比值分别为 0.8、1.0、0.8, 显然, V_E 组高不饱和脂肪酸含量明显增加, 其比值最高而且与对照组存在显著性差异 ($P < 0.05$)。一般认为高不饱和脂肪酸含量高, 对于卵的质量和仔鱼的孵化, 因为在受精卵和仔鱼发育过程中, 高不饱和脂肪酸是所需能量和物质的重要来源, 这和前面卵径和仔鱼直径测量结果相当吻合。说明在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加一定比例的 V_E 对增强卵的质量和仔鱼质量有相当大的促进作用, 而 V_C 对于增大卵径、油球直径、仔鱼全长以及改变卵的成分方面作用不明显。

表 4 受精卵和鲜杂鱼脂肪酸组成

Tah 4 The fatty acids composition of the fertilized eggs and trash fish

组别	对照组	V_E 组	V_C 组	鲜杂鱼
SFA	40.5±1.1 ^a	36.5±0.2 ^b	49.9±0.6 ^a	47.7±0.4 ^c
MUFA	27.0±0.9 ^a	27.4±1.1 ^a	27.6±0.8 ^a	20.4±1.2 ^b
20: 5n-3	6.5±0.2 ^a	6.4±0.5 ^a	5.8±0.2 ^b	4.4±0.3 ^c
22: 6n-3	16.7±0.5 ^a	18.5±0.6 ^b	17.9±0.7 ^{bc}	15.4±0.9 ^d
n-3PUFA	24.3±1.2 ^a	25.5±0.4 ^b	24.2±0.6 ^a	20.2±0.6 ^c
20: 4n-6	2.7±0.5 ^a	3.2±0.6 ^b	2.8±0.1 ^a	3.1±0.1 ^b
n-6PUFA	7.4±0.5 ^a	11.7±1.6 ^c	6.6±0.8 ^a	8.8±0.4 ^b
PUFA	31±1.3 ^b	37.3±1.5 ^c	30.8±1.8 ^b	28.9±1.5 ^a
n-3HUFA	23.1±0.4 ^{bc}	24.8±0.5 ^c	23.7±0.8 ^{ab}	19.7±0.7 ^d
n-6HUFA	5.7±0.5 ^{ab}	6.4±0.3 ^{bc}	5.3±0.5 ^a	6.0±0.4 ^{bc}
DHA/EPA	2.5±0.3 ^a	2.9±0.2 ^b	3.1±0.2 ^b	3.5±0.3 ^c
AA/EPA	0.4±0.1 ^a	0.5±0.1 ^a	0.5±0.1 ^a	0.7±0.1 ^b
PUFA/SFA	0.8±0.1 ^a	1.0±0.1 ^b	0.8±0.2 ^a	0.6±0.2 ^c

1) SFA: 14: 0, 15: 0, 16: 0, 17: 0, 18: 0, 19: 0, 21: 0, 22: 0; MUFA: 14: 1, 15: 1, 16: 1, 17: 1, 18: 1, 20: 1; n-3PUFA: 18: 3n-3, 20: 5n-3, 22: 6n-3; n-6PUFA: 18: 2n-6, 20: 2n-6, 20: 4n-6, 22: 3n-6, 22: 4n-6, 22: 5n-6; n-3HUFA: 20: 5n-3, 22: 6n-3; n-6HUFA: 20: 4n-6, 22: 3n-6, 22: 4n-6, 22: 5n-6.

3 讨 论

斜带石斑鱼卵巢属于不同步发育类型, 一年内

多次产卵, 其卵细胞发育成熟大约分 3 个阶段: 卵母细胞增殖期, 卵母细胞生长期及卵母细胞成熟期。卵母细胞生长期分小生长期和大生长期两个阶段, 大生长期分两个时相: 第 II 时相和第 IV 时相。在生长发育过程中, 第 II 时相经历的时间比较短。在卵母细胞发育到第 II 时相时, 逐渐积累形成 3 种不同形态的卵黄物质: 油滴、卵黄泡和卵黄球 (林浩然, 1999)。卵黄是鱼类胚胎发育过程中营养物质 (刘筠, 1983), 由于亲鱼饲料直接影响到卵细胞营养物质的积累和形成, 因此, 在卵母细胞发育到大生长期第 II 时相时, 应加强亲鱼的营养需要, 使饲料成分能满足亲鱼卵细胞物质积累和胚胎发育的物质要求, 当亲鱼饲料成分发生改变时, 直接影响到卵细胞的卵黄物质积累, 从而通过受精卵和油球等反映出来, 并进而影响到仔鱼的质量。

V_E 作为天然脂溶性抗氧化剂, 能够消除体内产生的部分自由基, 在维护膜结构的稳定和抵抗各种氧化剂等功能方面起着非常重要的作用, 同时还有提高动物繁殖活动和生殖力的作用^[6]。Fernandez Palacios 等^[7] 在金头鲷的饲料中将 V_E 的含量从 125 mg·kg⁻¹ 增加到 190 mg·kg⁻¹, 可使由于脂肪过度造成的卵黄囊肥大和仔鱼存活率低的现象得到改善。本实验在亲鱼产卵前 45 d 添加 V_E , 对增加卵径、油球直径和仔鱼直径起着显著的影响, 并且对脂肪酸的构成产生明显的作用。其作用机理可能在于 V_E 通过消除自由基和抗氧化作用, 防止体内的磷脂和胆固醇等多种不饱和脂肪酸被氧化^[8], 从而使亲鱼体内高不饱和脂肪酸 (PUFA) 的稳定性增加。因为生物膜的流动性与膜表面脂肪酸碳链的长短及其不饱和程度紧密相关, 当体内自由基产生过量时, 过量的自由基诱发脂质过氧化, 从而使细胞膜的性质发生改变, V_E 通过清除自由基和抗氧化作用, 使高不饱和脂肪酸和细胞膜更加稳定。实验结果证实, V_E 组 PUFA/SFA 比值明显高于对照组 ($P < 0.05$), $\sum n-3HUFA$ 和 $\sum n-6HUFA$ 也显著高于对照组 ($P < 0.05$)。当卵母细胞发育至第 II 时相时, 通过一定的营养物质积累作用和转移, 使卵母细胞的营养物质及 PUFA 含量增加; 因而促使亲鱼受精卵卵径和油球直径增加, 并且显著提高了受精卵的高不饱和脂肪酸含量。由于受精卵中累积的高不饱和脂肪酸等营养物质含量增加, 增强了仔鱼孵化时的物质和能量需要, 因而仔鱼的质量比较好。

而 V_C 作为鱼类和虾类所必需的营养成分之一, 与激素合成、矿物质吸收、新陈代谢等密切相

关, 还参与体内氧化还原反应, 增强机体免疫力, 提高水产动物的抗应激能力。Hardie 等 (1993) 证明, 虹鳟体内注射 V_C 后, 淋巴细胞增生明显高于未注射的各组, 并且巨细胞活化因子的分泌也比饲料中 V_C 少的一组要高得多; 刘永坚等 (1998) 在罗氏沼虾饲料中添加 V_C 多聚磷酸脂 (LAPP) 能促进相对增重率显著升高, 蜕壳频率增加, 蜕壳周期缩短。在亲鱼的研究中, Sandnes 等^[9] 在虹鳟亲鱼饲料中添加 $115\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} V_C$, 显著提高了虹鳟亲鱼的浮卵率; Soliman 等 (1986) 设计了 3 组实验, 一组是 100 g 亲鱼的干饲料中添加 $125\text{ mg} V_C$, 另一组亲鱼饲料中不添加 V_C , 仔鱼饲料中也不添加 V_C , 第 3 组实验是亲鱼饲料中添加了相同量的 V_C , 但仔鱼饲料中不添加 V_C 。实验结果表明第 1 组实验显著提高了孵化率和仔鱼质量, 第 3 组实验也表明在亲鱼饲料中添加 V_C 提高了仔鱼的存活率和生长。但本实验在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加占鲜杂鱼湿重比例 0.5% 的 V_C , 未能增加卵径和仔鱼直径, 对脂肪酸的构成影响也不明显, 说明在斜带石斑鱼亲鱼饲料中添加 V_C 不能明显增强亲鱼产卵质量, 也不能明显影响受精卵脂肪酸的构成, 而对于能否增强仔鱼的应激性方面有待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] VIEHOEVER A, COHEN I. The response of daphnia to vitamin E [J]. Am J Pharm, 1983, 110: 297—315.
- [2] CAHU C L, CUZON G, QUAZUGUE L. Effect of highly unsaturated fatty acids, α tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus* [J]. Biochem Physiol, 1995, 112A (3—4): 417—424.
- [3] VERHAC V, GABAUDEN J. Influence of vitamin C on the immune system of salmonids [J]. Nure Abst Rev, 1999, 64 (5): 2322.
- [4] FREI B, ENGLAND L, AMES B N. Ascorbate is an acid [J]. Sci USA, 1989, 86: 6377—6381.
- [5] HALLIWELL B. Free radicals and antioxidants: a personal view [J]. Nutr Rev, 1994, 52: 253—265.
- [6] HORWITT M K. The promotion of vitamin E [J]. J Nutri, 1986, 116(7): 1371—1377.
- [7] FERNANDEZ-PALACIOS H, IZQUIERDO M S, GONZALEZ M, et al. Combined effect of dietary α -tocopherol and n-3 HUFA on egg quality of gilthead seabream broodstock (*Sparus aurata*) [J]. Aquac, 1998, 148: 233—246.
- [8] OHKATSU Y, KAJIYAMA T, ARAI Y. Antioxidant activities of tocopherols [J]. Poly Degr Stab, 2001, 72: 303—311.
- [9] SANDNES K, ULGENES Y, BRAEKKEN O R, et al. The effect of ascorbic acid supplementation broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Aquac, 1984, 43: 167—177.

Effect of Vitamin E and Vitamin C on Spawning Quality of Broodstock for Grouper *Epinephelus coioides*

XIAO Wei ping¹, LIU Yong jian¹, TIAN Li xia¹, ZHEN Wen hui²,

CAO Jun ming³, LIUFU, Yong zhong⁴, LIANG Gui yin¹, DU Zhen yu¹, WANG Sheng¹

(1. Institute of Economic Aquatic Animals, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Center of Molecular Inspection of Medicine, Sun Yat sen University, Guangzhou 510089, China;

3. Guangdong Academy of Agriculture Sciences, Guangzhou 510640, China;

4. Guangdong Dayawan Fishery Development Center, Guangdong 516081, China)

Abstract: The broodstock *Epinephelus coioides* was fed with fresh trash fish supplemented with 0.2% V_E and 0.5% V_C . After the broodstock intensely nourished for 45 days, the fertilized eggs were collected from April to June and incubated, then the composition of the eggs was analysed afterwards. The result shows that 0.2% V_E added to broodstock diet can not only augment the diameter of egg oil globule and larvae body length, but also affect the composition of the fatty acid. The content of n-3PUFA and n-6 PUFA exceeds the control's as well as the ratio of PUFA/SFA, DHA/EPA and AA/EPA does. But after broodstock diet supplemented with 0.5% V_C , these values weren't distinct from the control's. The results indicate that broodfish diets for grouper *Epinephelus coioides* fortified with V_E can improve the quality of the eggs and the quality of the larvae. But V_C can't apparently affect the diameter of eggs, the constitute of fatty acid and the body length of larvae.

Key words: *Epinephelus coioides*; broodstock; vitamin E; vitamin C; fertilized egg; larvae; fatty acid