

doi: 10.7541/2017.13

## 维生素A对养成期草鱼生长性能以及骨骼中钙磷含量变化的影响

刘梦梅<sup>1</sup> 陈娇娇<sup>1</sup> 朱文欢<sup>1</sup> 谭青松<sup>1,2</sup> 吴凡<sup>1</sup> 韩冬<sup>2,3</sup>

(1. 华中农业大学水产学院, 农业部淡水生物繁育重点实验室, 武汉 430070; 2. 淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心, 武汉 430070; 3. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

**摘要:** 实验旨在探究养成期草鱼对饲料中维生素A的需求及维生素A对养成期草鱼的骨骼中钙磷含量的影响。选取养成期(254.6±0.5) g草鱼420尾, 随机分为7组, 每组3个重复, 每个重复20尾。分别用维生素A含量为89、732、1129、2378、4688、7218和9802 IU/kg的等氮等能实验饲料喂养84d。实验结果表明: (1)饲料中添加4688 IU/kg的维生素A显著提高了养成期草鱼的特定增长率( $P<0.05$ ), 并显著降低了饲料系数( $P<0.05$ ), 但饲料维生素A含量对鱼体摄食率、成活率以及肝脏指数没有显著影响( $P>0.05$ )。 (2)饲料添加维生素A对鱼体粗蛋白、粗脂肪、灰分没有显著影响( $P>0.05$ ), 但是9802 IU/kg组的鱼体水分显著低于其他实验组( $P<0.05$ )。 (3)饲料中4688 IU/kg的维生素A显著提高血清中超氧化物歧化酶的活性( $P<0.05$ ), 但饲料维生素A水平对血清丙二醛、钙、磷含量以及碱性磷酸酶活性没有显著影响( $P>0.05$ )。 (4)饲料添加4688和7218 IU/kg的维生素A能显著提高草鱼头骨和脊椎骨中灰分以及钙、磷含量( $P<0.05$ )。在实验条件下, 以特定增长率、饲料系数以及血清SOD活性为评价指标, 通过折线分析得出养成期草鱼适宜维生素A的需求量分别为3184和3077 IU/kg。

**关键词:** 养成期草鱼; 维生素A; 生长性能; 生化分析; 骨骼钙磷

**中图分类号:** S965.1      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3207(2017)01-0101-07

维生素A不能由鱼类自身合成, 并已被证实为鱼类生长必需的营养素<sup>[1]</sup>。维生素A在水生动物的生理过程中扮演着许多重要的角色: 维持正常的视觉<sup>[1]</sup>, 调控上皮细胞的分化和增殖<sup>[2, 3]</sup>, 参与黏液的产生与骨骼生长<sup>[4, 5]</sup>, 还参与脂肪的代谢<sup>[6-8]</sup>, 并影响鱼类的免疫功能<sup>[9]</sup>。

已研究报道的水产动物对维生素A的需要量大部分在1000—9000 IU/kg<sup>[1, 2, 4, 7, 10-12]</sup>。水产动物维生素A缺乏或过量的症状包括: 畏光、眼球突出、白内障、视网膜退化、食欲不振、摄食量减少、死亡率增加、生长延缓与鳍部出血<sup>[3, 4, 6, 12]</sup>。维生素A过量还引发脊柱弯曲现象<sup>[7]</sup>。

动物对饲料维生素A的需求会受到品种、年龄、个体大小以及环境等因素的影响<sup>[8]</sup>。草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)是我国重要的淡水养殖品种, 其养成阶段约为2年甚至更长。已有关于养成期

草鱼对钾<sup>[13]</sup>以及蛋白的需求<sup>[14]</sup>的报道, 研究结果与幼鱼相比都有差异。关于养成期草鱼对于维生素A的需求量尚未见报道。本实验旨在研究饲料中不同含量的维生素A对养成期草鱼的生长性能、血清生化以及骨骼中钙磷含量的影响, 确定养成期草鱼对维生素A的需求量, 为实际生产提供科学指导。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

维生素A醋酸酯(分子式:  $C_{22}H_{32}O_2$ ; 分子量: 328.49; 活性成分: 500000 IU/g; 饲料级, 金达威集团, 厦门)。

#### 1.2 实验饲料

基础饲料以脱脂鱼粉、酪蛋白、明胶、 $\alpha$ -淀粉粉、玉米淀粉、微晶纤维素、鱼油和大豆油配制而成, 其中脱脂鱼粉是将商业鱼粉用乙醇按1:2的

收稿日期: 2016-01-12; 修订日期: 2016-04-21

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费(201003020)资助 [Supported by Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interest (201003020)]

作者简介: 刘梦梅(1990—), 女, 湖北武汉人; 硕士研究生; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: 623589708@qq.com

通信作者: 谭青松(1971—), 男, 湖南常宁人; 副教授; 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: tanqs2000@163.com

比例进行脱脂后制得。实验饲料在基础饲料中添加不同含量的维生素A醋酸酯后制成。饲料中设计的维生素A梯度分别为: 0、600、1200、2400、4800、7200和9600 IU/kg, 其实测值分别为: 89、732、1129、2378、4688、7218、9802 IU/kg。基础饲料配方和主要营养成分见表1。饲料原料粉碎后全部通过60目筛, 按照添加量从小到大的顺序逐级搅拌均匀, 并制成直径3.5 mm的硬颗粒饲料, 风干后于-20℃保存备用。

### 1.3 养殖试验

养殖试验在华中农业大学水产学院南湖基地的池塘中进行, 共在池塘中架设21口网箱。试验草鱼于2013年4月购自仙桃排湖渔场。在正式试验开始前, 实验鱼用基础饲料暂养3周以适应实验环境和操作。在试验开始时, 挑选体质健康、规格一致(约254.6 g)的养成期草鱼420尾分养在21个网箱中(2 m×2 m×2 m)。实验设7个处理, 每个处理设3个重复, 每个重复20尾鱼。每天在8:00和16:00分两次饱食投喂。饲养周期为12周。试验期间池塘的水深约3 m, 每天定时打开池塘增氧机, 保证池内溶氧

的充足。试养期间的水质条件为: 水温27.5—33.5℃, pH为7.62—8.08, 溶氧>6 mg/L, 氨氮<0.5 mg/L, 亚硝酸盐<0.15 mg/L; 光照周期为自然光照周期。

### 1.4 样品采集与分析

养殖试验结束时, 先停食24h, 然后将鱼捞起, 用MS-222 (100 mg/L)麻醉后计数并称重。每个网箱随机取3尾鱼, 用无菌注射器自尾静脉取血, 然后迅速在4℃离心(3500 r/min, 10min), 取上清液于-80℃冰箱中保存以进行后续的血清生化成分分析。每个网箱另随机取4尾草鱼, 保存于-80℃冰箱中以分析全鱼常规成分(2尾)以及骨骼钙磷含量(2尾)。

试验和饲料样品的水分、粗蛋白、粗脂肪和粗灰分测定: 采用105℃常温干燥法测定水分含量, 凯氏定氮法测定粗蛋白质含量, 索氏抽提法测定脂肪含量, 高温灼烧法测定灰分含量。饲料总能采用Parr 6200氧弹量热仪(Parr Instrument Company, Moline, IL, USA)测定。鱼体的肌肉剔除后, 取头骨、脊椎骨先于550℃灼烧, 测定灰分, 后用50%的硝酸对灰分进行消化, 最后采用等离子体原子发射

表1 基础饲料配方和基本组成

Tab. 1 Ingredients and chemical composition of the basal diet for grass carp

原料Ingredient	%	原料Ingredient	%
脱脂鱼粉Defatted fish meal	5.00	氯化胆碱Choline chloride (50%)	1.00
酪蛋白Casein	24.66	乙氧基喹啉Ethoxy quinoline (30%)	0.05
明胶Gelatin	9.00	纤维素Cellulose	5.00
α-淀粉α-starch	24.00	DL-蛋氨酸DL-Met (99%)	0.18
玉米淀粉Corn starch	21.16	总计Total	100.00
亚麻油Linseed oil	1.47	营养成分Proximate composition	
大豆油Soybean oil	1.38	粗脂肪Crude fat	4.23
棕榈油Palm oil	1.20	粗灰分Crude ash	4.13
不含维生素A维生素预混料Vitamin A free vitamin premix <sup>a</sup>	1.00	水分Moisture	9.52
矿物质预混料Mineral premix <sup>b</sup>	2.00	粗蛋白Crude protein	32.81
维生素A的预混料Vitamin A premix <sup>c</sup>	1.00	总能Gross energy (KJ/g)	19.16
磷酸二氢钙Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2.30		

注: a. 每千克不含维生素A维生素预混料含: 维生素D<sub>3</sub> (500000 IU/g), 0.480 g; DL-α生育酚醋酸酯(50%), 20.00 g; 维生素K<sub>3</sub>(23%), 0.22 g; 维生素B<sub>12</sub>(1%), 0.1 g; D-生物素(2%), 5 g; 叶酸(96%), 0.52 g; 盐酸硫胺素(90%), 0.13 g; 维生素C醋酸酯(99%), 7.16 g; 烟酸(99%), 2.58 g; 肌醇(99%), 52.33 g; D-泛酸钙pantothenate (98%), 3.07 g; 核黄素(80%), 0.99 g; 吡哆醇(81%), 0.75 g; 玉米淀粉, 906.67 g; b. 每千克矿物质元素预混料: MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (9.86% Mg), 350.91 g; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (19.7% Fe), 38.07 g; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (25.00% Cu), 0.60 g; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (22.5% Zn), 6.67 g; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (31.8% Mn), 2.04 g; KI (3.8% I), 1.45 g; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (1% Se), 2.50 g; corn starch, 597.76 g; c. 含维生素A预混料根据饲料试验设计的维生素A含量来添加, 同时调整玉米淀粉的含量

Note: a. Per kilogram of vitamin A free vitamin premix containing: vitamin D<sub>3</sub> (500000 IU/g), 0.480 g; α-tocopherol acetate (50%), 20.00 g; vitamin K<sub>3</sub> (23%), 0.22 g; vitamin B<sub>12</sub> (1%), 0.1 g; D-biotin (2%), 5 g; folic acid (96%), 0.52 g; thiamin (90%), 0.13 g; L-ascorbic acid (99%), 7.16 g; niacin (99%), 2.58 g; inositol (99%), 52.33 g; D-calcium pantothenate (98%), 3.07 g; riboflavin (80%), 0.99 g; pyridoxine (81%), 0.75 g; corn starch, 906.67 g; b. Per kilogram of mineral premix containing: MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (9.86% Mg), 350.91 g; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (19.7% Fe), 38.07 g; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (25.00% Cu), 0.60 g; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (22.5% Zn), 6.67 g; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O (31.8% Mn), 2.04 g; KI (3.8% I), 1.45 g; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (1% Se), 2.50g; corn starch, 597.76 g; c. Vitamin A premixes were compounded by adding vitamin A acetate according to the designed vitamin A content in the diet to replace the equal quantity of cornstarch in the control diet

光谱仪(ICP modle, IRIS Advantage (HR), Perkin Elmer Corporation, MA, USA)测定钙、磷含量。饲料中维生素A含量检测参照国家标准GB/T17817-2010采用高效液相色谱法进行。血清葡萄糖含量采用全自动生化分析仪(Abbott Laboratories; Abbott Park, IL, USA)测定。血清样品中超氧化物歧化酶、MDA均采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。酶活性单位定义: 在37℃条件下, 每分钟酶解1 μmol底物为1个活力单位(U)。组织匀浆液中蛋白浓度采用考马斯亮蓝法测定<sup>[15]</sup>, 以牛血清白蛋白为基准物。

### 1.5 计算公式

特定生长率(Specific growth rate, *SGR*, %/d)=  
100×(ln末重-ln初重)/实验天数;

成活率(Survival rate, *SR*, %)=100×成活鱼尾数/  
投放鱼尾数;

摄食率(Feed rate, *FR*, % BW/d)=100×摄食量/  
[实验天数×(初重+末重)/2];

饲料系数(Feed conversion ratio, *FCR*) =摄食量/  
(终末体重-初始体重);

肝体比(Hepatosomatic index, *HSI*, %)=100×肝  
脏重量/末重;

脏体比(Viscerasomatic index, *VSI*, %)=100×脏  
体重量/末重;

### 1.6 数据统计与分析

实验数据以平均值±标准误表示。用SPSS19.0软件对试验数据进行单因素方差分析, 当试验因子的影响显著时, 对均值进行Duncan's多重比较。 $P<0.05$ 表示差异显著。

## 2 结果

### 2.1 饲料中添加维生素A对草鱼生长性能的影响

如表 2所示, 维生素A对草鱼特定生长率、饲

料转化率均影响显著( $P<0.05$ )。特定生长率随着饲料中维生素A含量的升高呈先增加后降低的趋势, 而饲料系数则呈先减少后上升的趋势。并且, 特定生长率的最大值以及饲料系数的最小值都在4188 IU/kg组出现。摄食率、存活率以及肝体比没有受到饲料中维生素A含量的影响( $P>0.05$ )。对特定生长率进行折线模型回归分析得出, 养成期的草鱼对维生素A的最适需求量为3184 IU/kg (图 1)。

### 2.2 饲料中添加维生素A对养成期草鱼血清生化指标的影响

由表 3可知, 饲料中维生素含量显著影响血清SOD的活性( $P<0.05$ ), 血清中SOD的活性随着饲料中维生素A水平的增加呈现出先增加后减少的趋势, 并且在4688 IU/kg组达到最大值。对SOD活性进行折线模型回归分析得出, 养成期的草鱼对维生素A的最适需求量为3077 IU/kg (图 2)。但是, 血清中Ca、P、MDA含量以及ALP活性均未显著受到饲料中维生素A含量的影响( $P>0.05$ )。

### 2.3 维生素A对鱼体体成分的影响

在表 4中, 鱼体水分含量受饲料中维生素A含量影响显著( $P<0.05$ ), 呈先升高后下降的趋势。但是, 鱼体粗蛋白、脂肪以及灰分含量均未显著受到饲料中维生素A含量影响 ( $P>0.05$ )。

### 2.4 维生素A对养成期草鱼头骨脊椎骨灰分、Ca、P含量的影响

由表 5可知, 头骨及脊椎骨中灰分、Ca以及P的含量以及头骨钙磷含量比值都受维生素A含量影响显著( $P<0.05$ ), 并且都呈现出先增加后降低的趋势。2378、4688以及7218 IU/kg组的头骨灰含量最高, 9802 IU/kg组的头骨灰分含量显著低于89、732以及1129 IU/kg组( $P<0.05$ )。头骨Ca含量在89、732、1129以及9802 IU/kg组间没有显著差异( $P>0.05$ ), 但是显著低于4688和7218 IU/kg组( $P<0.05$ )。

表 2 饲料中不同维生素A含量对养成期草鱼生长、摄食和存活率活性的影响

Tab. 2 Effects of dietary vitamin A concentrations on growth performance, feeding and survival rate of subadult grass carp

饲料维生素A含量 Dietary VA level (IU/kg)	初均重 <i>IW</i> (g)	特定生长率 <i>SGR</i> (%/d)	饲料系数 <i>FCR</i>	摄食率 <i>FR</i> (%BW/d)	存活率 Survival (%)	肝体比 <i>HSI</i> (%)	脏体比 <i>VSI</i> (%)
89	261.67±14.46	0.92±0.05 <sup>a</sup>	2.26±0.01 <sup>c</sup>	2.62±0.12	90.0±2.9	2.25±0.13	6.92±0.21 <sup>a</sup>
732	260.47±15.71	0.99±0.04 <sup>abc</sup>	2.07±0.12 <sup>bc</sup>	2.52±0.16	91.7±1.7	2.35±0.21	7.63±0.08 <sup>ab</sup>
1129	246.63±7.11	1.05±0.03 <sup>abc</sup>	1.99±0.05 <sup>ab</sup>	2.60±0.06	95.0±2.9	2.21±0.26	7.60±0.34 <sup>ab</sup>
2378	242.90±15.83	1.11±0.03 <sup>bc</sup>	1.88±0.07 <sup>ab</sup>	2.57±0.20	90.0±2.9	2.28±0.25	7.89±0.60 <sup>ab</sup>
4688	252.50±8.04	1.15±0.06 <sup>c</sup>	1.66±0.09 <sup>a</sup>	2.35±0.06	93.3±1.7	2.30±0.33	8.03±0.28 <sup>ab</sup>
7218	258.33±11.21	1.05±0.06 <sup>abc</sup>	1.91±0.11 <sup>ab</sup>	2.48±0.07	93.3±1.7	2.06±0.05	8.05±0.43 <sup>ab</sup>
9802	259.73±7.37	0.97±0.05 <sup>ab</sup>	2.12±0.08 <sup>bc</sup>	2.55±0.03	90.0±2.9	2.02±0.18	8.66±0.24 <sup>b</sup>

注: 表中数值(平均值±标准误)为3个重复的平均值; 数值后不同的上标字母表示差异显著( $P<0.05$ ); 下同

Note: Values (mean±SE) are the means of triplicate. Values in each column with different superscripts showed significant difference ( $P<0.05$ ); the same applies below

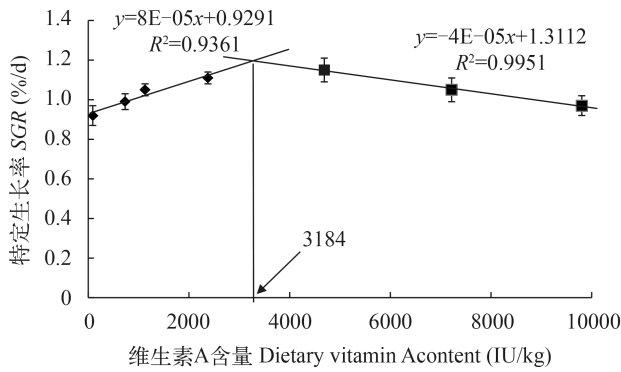


图1 维生素A对养成期草鱼特定生长率的影响

Fig. 1 The effect of dietary VA level on SGR of subadult grass carp fed experimental diets

以特定生长率进行折线模型回归得出养成期草鱼对维生素A的适宜需求量为3184 IU/kg饲料

VA requirement derived from SGR by the broken-line model is 3184 IU/kg diet

头骨P含量在4688和7218 IU/kg组显著高于其他实验组( $P < 0.05$ )。在脊椎骨中, 2378和4688 IU/kg组灰分的含量显著性高于89和9802 IU/kg( $P < 0.05$ )。脊椎骨的Ca、P含量在4688和7218 IU/kg组均显著高于89 IU/kg组( $P < 0.05$ )。在饲料中维生素A的含量对养成期草鱼脊椎骨中钙磷含量比值没有显著影响, 但是89 IU/kg组的头骨钙磷含量比值显著低于其他实验组, 并且在4688 IU/kg组最高。

### 3 讨论

#### 3.1 在饲料中添加维生素A对草鱼生长性能的影响

尽管草鱼幼鱼的研究报道了饲料中缺乏维生素A会引起眼球突出、脊柱侧凸等症状<sup>[4]</sup>。然而, 在本研究中养成期草鱼没有出现任何缺乏症。这可能与草鱼养殖在池塘中架设的网箱里有关。池塘有许多富含维生素A的浮游动物与浮游植物<sup>[16]</sup>, 它们可能会被草鱼摄取以部分满足生长所需的维生素A, 从而使得饲料中维生素A缺乏组的草鱼不表现缺乏症。然而, 维生素A缺乏组呈现出的相对较低的特定生长率仍然表明: 维生素A在养成期草

鱼生长的过程中起着重要的作用。

本研究表明, 养成期草鱼的特定生长率和饲料系数随着饲料中维生素A含量的增加而变化, 饲料中适宜的维生素A含量有益于草鱼的生长以及饲料利用。这与其他鱼类的研究相一致<sup>[17]</sup>。本实验基于鱼体的生长得出养成期草鱼适宜的维生素A需求量为3184 IU/kg, 与基于血清SOD活性得到的维生素A需求量(3077 IU/kg)相近。本研究得到的草鱼维生素A需要量与巨石石斑鱼的需求量(3101 IU/kg)<sup>[6]</sup>相似, 但是比罗非鱼(5850 IU/kg)<sup>[10]</sup>、大西洋比目鱼(8333 IU/kg)<sup>[2]</sup>以及日本比目鱼(9000 IU/kg)<sup>[7]</sup>的需求量要低。本研究所得到的养成期草鱼维生素A需要量比初始体重为10.79 g的草鱼幼鱼的需求量(1653 IU/kg)高<sup>[4]</sup>, 但是比我们前期研究的初始体重为5.0 g的草鱼(高于4800 IU/kg)的需求量要低(未发表数据)。这说明不同生长阶段的草鱼对维生素A的需求不一样。本研究发现过高的饲料维生素A含量会抑制草鱼的生长和饲料利用。这种副作用在其他的鱼类中也有报道<sup>[3, 6, 7, 18]</sup>, 高维生素A含量抑制鱼类生长的机制可能与其抑制骨骼矿化、减少脊椎骨的节段数量有关系<sup>[18]</sup>。

#### 3.2 在饲料中添加维生素A对养成期草鱼血清生化指标的影响

MDA是脂质过氧化的代谢终产物, 它能反映出躯体脂质过氧化的程度, 也能间接反应机体细胞受自由基攻击的严重程度<sup>[19]</sup>。SOD是参与解毒、能清除超氧阴离子自由基的二聚体酶<sup>[20]</sup>, 其活力高低反应了机体清除氧自由基的能力<sup>[21]</sup>。在本研究中, 养成期草鱼血清MDA的含量没有显著差异。但是, SOD活力在4688 IU/kg组最高, 这表明饲料中添加适宜的维生素A有助于鱼体抵抗氧化应激。D'Aquino等<sup>[22]</sup>的研究也表明维生素A在对抗脂质介导的自由基损伤中起着重要的作用。与Chen等<sup>[13]</sup>的实验结果进行对照, 养成期草鱼的血清MDA在各组中没有显著差异, 这说明本研究的草鱼处于正常的生理条件且具有非常活跃的抗氧化系统(如SOD)。

表3 饲料中不同维生素A含量对养成期草鱼血清SOD活性、MDA、ALP、Ca、P含量的影响

Tab. 3 Effects of dietary vitamin A concentrations on serum biochemistry of subadult grass carp

饲料维生素A含量 Dietary VA level (IU/kg)	超氧化物歧化酶 SOD (U/mg prot)	碱性磷酸酶 ALP (U/L)	丙二醛 MDA (mmol/L)	钙 Ca (mmol/L)	磷 P (mmol/L)
89	60.77±4.67 <sup>a</sup>	97.80±2.40	9.79±0.48	2.82±0.12	2.72±0.08
732	68.70±1.26 <sup>abc</sup>	73.43±32.47	9.69±1.49	2.28±0.02	2.08±0.35
1129	71.14±2.65 <sup>bc</sup>	84.70±10.28	10.71±0.64	2.88±0.01	2.20±0.32
2378	74.20±1.12 <sup>bc</sup>	106.63±4.43	10.59±0.83	2.76±0.17	2.39±0.17
4688	77.10±2.72 <sup>c</sup>	118.10±24.70	9.95±0.80	2.75±0.12	3.36±1.13
7218	70.08±1.49 <sup>bc</sup>	104.80±20.35	9.41±1.38	2.79±0.01	3.08±0.06
9802	67.33±2.03 <sup>ab</sup>	121.56±10.40	9.35±2.18	2.89±0.11	2.41±0.13

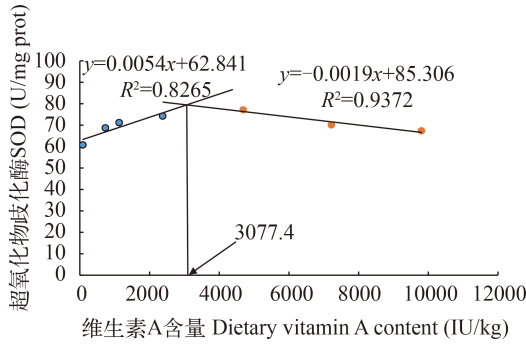


图2 维生素A对养成期草鱼血清超氧化物歧化酶活性的影响  
Fig. 2 Effect of dietary VA level on SOD activity of subadult grass carp fed experimental diets

以SOD为判断标准, 通过折线模型得出养成期草鱼对维生素A的适宜需求量为3077.4 IU/kg饲料

VA requirement derived from SOD activity by the broken-line model is 3077.4 IU/kg diet

### 3.3 在饲料中添加维生素A对养成期草鱼体成分的影响

饲料中维生素A含量对鱼体生化成分的影响还未有一致的结果。在本研究中, 只有鱼体水分受到维生素A含量的影响, 其他成分不受影响, 且摄食最高维生素A含量饲料组的草鱼全鱼中水分含量较低。对奥尼罗非鱼的研究表明: 饲料中维生素A的含量水平对鱼体水分和粗蛋白有一定的影响<sup>[10]</sup>。而对史氏鲟的研究发现, 维生素A的含量对鱼体成分没有显著影响<sup>[17]</sup>。但是, 维生素A对于巨石斑鱼<sup>[6]</sup>和日本比目鱼<sup>[7]</sup>鱼体中粗脂肪含量有显著影响。

### 3.4 维生素A对养成期草鱼血清Ca、P含量ALP活性的影响

骨骼代谢是骨骼形成及吸收的动态过程。在水生动物的骨骼构造中, Ca、P起着重要的作用, 能够促进骨骼的形成矿化<sup>[23]</sup>。在对真鲷的研究中发现: 随着破骨细胞数目的增加, 血浆中ALP活性增强<sup>[24]</sup>。在本实验中维生素A含量对ALP活性及Ca、P的含量没有显著性影响。这与欧洲舌齿鲈中高维

表4 饲料中不同维生素A含量对养成期草鱼全鱼常规成分含量的影响

Tab. 4 Effect of dietary vitamin A concentrations on whole body proximate composition of subadult grass carp

饲料维生素A含量 Dietary VA level (IU/kg)	水分 Moisture (%)	粗蛋白 Crude protein (%)	粗脂肪 Crude lipid (%)	灰分 Crude ash (%)
89	71.46±1.11 <sup>ab</sup>	16.55±0.17	8.85±1.06	3.62±0.14
732	73.04±0.98 <sup>b</sup>	16.76±0.51	7.55±0.52	3.76±0.06
1129	73.31±0.98 <sup>b</sup>	16.35±0.31	7.82±0.42	3.91±0.18
2378	72.26±0.67 <sup>ab</sup>	16.41±0.55	8.18±0.38	3.44±0.16
4688	71.76±1.35 <sup>ab</sup>	16.48±0.93	7.89±0.06	3.77±0.42
7218	71.87±0.56 <sup>ab</sup>	16.46±0.45	8.47±0.41	3.74±0.12
9802	69.23±0.29 <sup>a</sup>	16.80±0.33	8.66±0.30	3.92±0.16

生素A含量组及对照组中肠道绒毛ALP活性没有显著差异的结果相类似<sup>[18]</sup>。但在虹鳟中, 维生素A含量为2704000 IU/kg组中ALP活性显著性高于4000 IU/kg组<sup>[25]</sup>。此外, Conaway等<sup>[26]</sup>的研究显示: 在新生老鼠头骨细胞中, 较高含量的维生素A能促进Ca<sup>2+</sup>的释放。但是本实验结果表明: 血清Ca、P含量及ALP活性对养成期草鱼骨骼含量不是持续性敏感的, 并且可能被其他的机制而非维生素A含量所调控, 从而维持在稳定状态。

### 3.5 维生素A对养成期草鱼头骨脊椎骨灰分、Ca、P含量的影响

在本实验中, 头骨及脊椎骨的灰分、Ca、P含量在适量的维生素A(2378或4688 IU/kg)组最高, 而在维生素A含量最高的9802 IU/kg组中最低, 这表明: 维生素A能影响养成期草鱼头骨及脊椎骨矿物质的沉积, 过量的维生素A对骨骼矿物质沉积有反作用。对牙鲆、鲈、欧洲鲈的研究发现, 不适量的维生素A会导致鱼体头骨畸形, 特别是下颌骨畸形<sup>[27]</sup>。此外, 不适量的维生素A会导致野生列牙鲈整个脊柱畸形<sup>[28]</sup>。在本实验中, 我们没有发现养成期草鱼畸形的症状, 但是在89 IU/kg组头骨中钙磷含量比

表5 维生素A对养成期草鱼头骨脊椎骨灰分、钙、磷含量以及钙磷含量比值的影响

Tab. 5 Effects of dietary vitamin A concentrations on Ca, P and ash content and Ca/P in skull and vertebra of subadult grass carp (g/kg in dry matter)

饲料维生素A含量 Dietary VA level (IU/kg)	头骨Skull				脊椎骨Vertebra			
	钙Ca	磷P	钙/磷Ca/P	灰分Ash	钙Ca	磷P	钙/磷Ca/P	灰分Ash
89	205.3±0.4 <sup>ab</sup>	98.4±0.5 <sup>ab</sup>	2.10±0.01 <sup>a</sup>	518.7±2.9 <sup>b</sup>	197.3±11.1 <sup>a</sup>	98.0±3.2 <sup>a</sup>	2.12±0.01	456.8±14.3 <sup>a</sup>
732	207.2±5.0 <sup>ab</sup>	98.6±2.7 <sup>ab</sup>	2.13±0.02 <sup>ab</sup>	517.4±11.8 <sup>b</sup>	211.5±4.7 <sup>ab</sup>	101.4±2.2 <sup>ab</sup>	2.14±0.01	466.8±10.7 <sup>ab</sup>
1129	199.9±1.9 <sup>a</sup>	95.0±0.9 <sup>a</sup>	2.13±0.01 <sup>ab</sup>	514.7±5.9 <sup>b</sup>	212.2±4.9 <sup>ab</sup>	101.2±2.4 <sup>ab</sup>	2.16±0.01	480.6±11.4 <sup>ab</sup>
2378	214.5±4.7 <sup>bc</sup>	104.8±1.5 <sup>c</sup>	2.11±0.01 <sup>ab</sup>	538.5±4.5 <sup>c</sup>	215.0±7.9 <sup>ab</sup>	102.5±4.1 <sup>ab</sup>	2.13±0.01	484.2±20.7 <sup>ab</sup>
4688	224.4±2.9 <sup>c</sup>	110.2±0.2 <sup>d</sup>	2.15±0.02 <sup>b</sup>	543.7±4.5 <sup>c</sup>	225.5±0.7 <sup>b</sup>	108.3±1.0 <sup>b</sup>	2.16±0.02	504.0±2.1 <sup>b</sup>
7218	223.5±2.3 <sup>c</sup>	107.4±1.8 <sup>cd</sup>	2.13±0.01 <sup>ab</sup>	540.3±3.5 <sup>c</sup>	225.7±0.2 <sup>b</sup>	107.7±0.9 <sup>b</sup>	2.13±0.02	505.3±3.5 <sup>b</sup>
9802	208.9±4.4 <sup>ab</sup>	102.2±3.6 <sup>bc</sup>	2.11±0.01 <sup>ab</sup>	485.5±9.1 <sup>a</sup>	212.9±8.1 <sup>ab</sup>	100.5±4.4 <sup>ab</sup>	2.12±0.02	458.4±16.3 <sup>a</sup>

例显著低于其他实验组,这可能也进一步说明维生素A在骨骼矿化中的作用,且其对钙磷沉积的影响机制不同。并且较高维生素A含量为2378、4688以及7218 IU/kg组草鱼的骨骼中灰分、Ca、P含量较高,同时它们也具有较高生长率组,这说明了适宜维生素A含量可促进骨骼的矿化而改善生长。这与一些研究相一致,其结果表明:不适量的维生素A会损害成鱼软骨和骨骼的代谢,阻碍鱼体的生长<sup>[29]</sup>。Samarut等<sup>[30]</sup>的研究表明,维生素A在骨骼发育过程中起着双重作用:在发育的早期通过外源性视黄酸的处理可以阻碍成骨细胞的分化,在发育后期(成骨细胞成熟后),维生素A会发挥相反的作用促进成骨细胞的活性而增强骨骼的矿化。本研究显示,在适量的维生素A范围内,头骨及脊椎骨中Ca、P含量随着维生素A水平的提高而增加。这表明适量的维生素A摄入能够促进养成期草鱼骨骼的矿化。

#### 4 结论

本研究表明,养成期草鱼对维生素A的需求为3184 IU/kg。适宜的饲料维生素A含量能够显著提升养成期草鱼的生长、饲料的利用和血清中的抗氧化应答。过高的饲料维生素A含量会阻碍养成期草鱼的生长,影响鱼体水分含量。同时,适量维生素A能够促进鱼体头骨脊椎骨中Ca、P的沉积,从而促进骨骼的矿化。但是过高的饲料维生素A含量也会抑制Ca、P的沉积。

#### 参考文献:

- [1] Halver J E. The Vitamins. In Fish Nutrition [M]. USA California: Academic Press. 2002, 61—141
- [2] Moren M, Opstad I, Berntssen M H G, et al. An optimum level of vitamin A supplements for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) juveniles [J]. *Aquaculture*, 2004, **235**(1): 587—599
- [3] Hemre G I, Deng D F, Wilson R P, et al. Vitamin A metabolism and early biological responses in juvenile sunshine bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) fed graded levels of vitamin A [J]. *Aquaculture*, 2004, **235**(1): 645—658
- [4] Jiang M. Studies on requirements of dietary Vitamin A, D and K for grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fingerling [D]. Huazhong Agricultural University, Wuhan. 2007 [蒋明. 草鱼幼鱼对维生素A, D和K需要量的研究. 硕士学位论文. 华中农业大学, 武汉. 2007]
- [5] Takeuchi T, Dedi J, Haga Y, et al. Effect of vitamin A compounds on bone deformity in larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Aquaculture*, 1998, **169**(3): 155—165
- [6] Shaik Mohamed J, Sivaram V, Roy T S C, et al. Dietary vitamin A requirement of juvenile greasy grouper (*Epinephelus tauvina*) [J]. *Aquaculture*, 2003, **219**(1): 693—701
- [7] Hernandez L H H, Teshima S I, Ishikawa M, et al. Dietary vitamin A requirements of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2005, **11**(1): 3—9
- [8] National Research Council (NRC): Nutrient Requirements of Fish and Shrimp [M]. National Academy of Science, Washington, DC
- [9] Cuesta A, Ortuño J, Rodriguez A, et al. Changes in some innate defence parameters of seabream (*Sparus aurata* L.) induced by retinol acetate [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2002, **13**(4): 279—291
- [10] Hu C J, Chen S M, Pan C H, et al. Effects of dietary vitamin A or  $\beta$ -carotene concentrations on growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*[J]. *Aquaculture*, 2006, **253**(1): 602—607
- [11] Zhang L. The nutritional physiology of several vitamins and the potential of several protein sources as replacement of fish meal for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus* C.) and large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea* R) [D]. Ocean University of China, Qingdao. 2006 [张璐. 鲈鱼和大黄鱼几种维生素的营养生理研究和蛋白源开发. 博士研究生学位论文. 中国海洋大学, 青岛. 2006]
- [12] Wei Y T. Studies on requirements of dietary methionine, arginine, vitamin A, vitamin E for turbot (*Scophthalmus maximus*) [D]. Ocean University of China, Qingdao. 2006 [魏玉婷. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 幼鱼对饲料中蛋氨酸, 精氨酸, 维生素A及维生素E需求量的研究. 硕士学位论文. 中国海洋大学, 2010]
- [13] Chen C, Zhu W, Wu F, et al. Quantifying the dietary potassium requirement of subadult grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2015, DOI: 10.1111/anu.12279
- [14] Li B, Liang X F, Liu L W, et al. Effects of dietary protein levels on growth, feed utilization and the enzymes activity on nitrogen metabolism of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(2): 233—240 [李彬, 梁旭方, 刘立维, 等. 饲料蛋白水平对大规格草鱼生长, 饲料利用和氮代谢相关酶活性的影响. 水生生物学报, 2014, **38**(2): 233—240]
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, **72**(1): 248—254
- [16] Otsuki T, Shimizu K, Iemitsu M, et al. Chlorella intake attenuates reduced salivary SIgA secretion in kendo training camp participants [J]. *Nutrition Journal*, 2012, **11**(1): 103—110
- [17] Wen H, Yan A S, Gao Q, et al. Dietary vitamin A requirement of juvenile Amur sturgeon (*Acipenser*

- schrenckii*) [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2008, **24**(5): 534—538
- [18] Villeneuve L A N, Gisbert E, Moriceau J, *et al.* Intake of high levels of vitamin A and polyunsaturated fatty acids during different developmental periods modifies the expression of morphogenesis genes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2006, **95**(4): 677—687
- [19] Rudnicki M, Silveira M M, Pereira T V, *et al.* Protective effects of *Passiflora alata* extract pretreatment on carbon tetrachloride induced oxidative damage in rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, **45**(4): 656—661
- [20] Bannister J V, Bannister W H, Rotilio G. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase [J]. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 1987, **22**(2): 111—180
- [21] Muñoz M, Cedeño R, Rodríguez J, *et al.* Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2000, **191**(1): 89—107
- [22] D'Aquino M, Dunster C, Willson R L. Vitamin A and glutathione-mediated free radical damage: competing reactions with polyunsaturated fatty acids and vitamin C [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1989, **161**(3): 1199—1203
- [23] Beattie J H, Avenell A. Trace element nutrition and bone metabolism [J]. *Nutrition Research Reviews*, 1992, **5**(1): 167—188
- [24] Sakamoto S, Yone Y. A principal source of deposited lipid in phosphorus deficient red sea bream (*Chrysophrys major*) [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Japan)*, 1980, **46**: 1227—1230
- [25] Retina Society Terminology Committee. The classification of retinal detachment with proliferative vitreoretinopathy [J]. *Ophthalmology*, 1983, **90**(2): 121—125
- [26] Conaway H H, Pirhayati A, Persson E, *et al.* Retinoids stimulate periosteal bone resorption by enhancing the protein RANKL, a response inhibited by monomeric glucocorticoid receptor [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, **286**(36): 31425—31436
- [27] Martinez G M, Baron M P, Bolker J A. Skeletal and pigmentation defects following retinoic acid exposure in larval summer flounder, *Paralichthys dentatus* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2007, **38**(3): 353—366
- [28] Negm R K, Cobcroft J M, Brown M R, *et al.* The effects of dietary vitamin A in rotifers on the performance and skeletal abnormality of striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae and post larvae [J]. *Aquaculture*, 2013, **404**: 105—115
- [29] Lall S P, Lewis-McCrea L M. Role of nutrients in skeletal metabolism and pathology in fish—an overview [J]. *Aquaculture*, 2007, **267**(1): 3—19
- [30] Samarut E, Fraher D, Laudet V, *et al.* ZebRA: An overview of retinoic acid signaling during zebrafish development [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 2015, **1849**(2): 73—83

## EFFECTS OF DIETARY VITAMIN A ON GROWTH PERFORMANCE AND CALCIUM AND PHOSPHORUS CONTENTS IN BONE OF SUBADULT GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

LIU Meng-Mei<sup>1</sup>, CHEN Jiao-Jiao<sup>1</sup>, ZHU Wen-Huan<sup>1</sup>, TAN Qing-Song<sup>1,2</sup>, WU Fan<sup>1</sup> and HAN Dong<sup>2,3</sup>

(1. Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture of China, Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province, Wuhan 430070, China; 3. State key laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** To determine the optimum dietary requirement of vitamin A (VA) of subadult grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), seven isoenergetic and isonitrogenous semi-purified diets were formulated to contain VA level at 89, 732, 1129, 2378, 4688, 7218 and 9802 IU/kg diet respectively, for a 12-week growth trial that was conducted in 21 net-cages located in an earth pond. The results indicated that dietary VA level significantly regulated the specific growth rate (*SGR*) and feed conversion ratio (*FCR*) of subadult grass carp ( $P < 0.05$ ) with the highest *SGR* and the lowest *FCR* both in 4688 IU/kg group. Feeding rate, survival rate and hepatosomatic index were not affected by dietary VA level ( $P > 0.05$ ). Dietary VA level showed significant ( $P < 0.05$ ) effect on serum SOD activity with the highest SOD values in 4688 IU/kg group. Serum ALP activity, MDA, calcium (Ca) and phosphorus (P) contents were not significantly ( $P > 0.05$ ) affected by dietary VA level. Body moisture content in 9802 IU/kg group was significantly lower. Body lipid, protein and ash contents were not affected by dietary VA level ( $P > 0.05$ ). The ash contents either in skull or in vertebra were significantly affected ( $P < 0.05$ ) by dietary VA level. The higher Ca and P contents in skull and vertebra were both observed in 4688 and 7218 IU/kg groups ( $P < 0.05$ ). Broken-line analysis for the *SGR* of fish suggested that the optimal dietary VA content for subadult grass carp was 3184 IU/kg diet.

**Key words:** Subadult Grass carp; Vitamin A; Growth performance; Biochemical analysis; Bone homeostasis