

文章编号:1000-0615(2007)06-0749-08

## 饲料中高水平维生素 A 对幼建鲤生长、 饲料利用及免疫反应的影响

杨奇慧<sup>1,2</sup>, 周小秋<sup>1</sup>

(1. 四川农业大学动物营养研究所, 四川 雅安 625014;

2. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524025)

**摘要:**通过对幼建鲤(平均初重  $11.37 \pm 0.55$  g)投喂5组不同维生素 A 水平的饲料(维生素 A 含量分别是 3 969、23 816、39 693、99 233 及 158 773 IU·kg<sup>-1</sup>),进行 70 d 的饲养试验以及攻毒(为期 15 d)和免疫接种试验(为期 24 d),研究饲料中高水平维生素 A 对幼建鲤生长、饲料利用及免疫反应的影响。结果表明,饲料中过高维生素 A 显著地降低幼建鲤的体增重、净蛋白沉积率、肝胰脏重量、肠道皱襞高度、脾体指数、红细胞、白细胞数量、血清溶菌酶活力及用灭活嗜水气单胞菌免疫后 17、24 d 血清抗体水平( $P < 0.05$ );显著提高饲料系数、肝胰脏维生素 A 含量( $P < 0.05$ ),而对成活率、摄饵量、头肾体指数、后肾重量、后肾体指数,而用灭活嗜水气单胞菌免疫后 0、10 d 血清抗体水平影响不显著( $P > 0.05$ )。当饲料维生素 A 含量为 158 773 IU·kg<sup>-1</sup>时,对幼建鲤产生毒性作用。

**关键词:**幼建鲤; 维生素 A; 生长; 饲料利用; 免疫反应

**中图分类号:**S 966.12

**文献标识码:**A

## Effects of dietary high levels of vitamin A on growth performance, feed utilization and immune responses of juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian*

YANG Qi-hui<sup>1,2</sup>, ZHOU Xiao-qiu<sup>1</sup>

(1. Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

2. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

**Abstract:** Jian carps were developed by comprehensive breeding technique as a new variety with fast growth, efficient feed conversion, strong disease resistance, high market value, and excellent hereditary properties, and are considered a commercially important teleost for inland culture in China. The experiment was conducted to determine the effects of dietary high levels of vitamin A on growth performance, feed utilization and immune responses in juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian*. Prior to the formulation of diets, vitamin A contents of ingredients were analyzed fluorimetrically and vitamin A was found to be absent in the fishmeal, rice protein meal, a-starch, the soya oil. Five diets with increasing dietary vitamin A

收稿日期:2006-12-15

资助项目:教育部长江学者和创新团队发展计划(IRTO555); 四川省杰出青年学科带头人培养基金

作者简介:杨奇慧(1978-),女,广东湛江人,讲师,博士研究生,从事水生动物营养与饲料学的教学与科研工作。Tel: 0759-2362270, E-mail: qihuiyang03@163.com

通讯作者:周小秋, Tel: 0835-2886085, E-mail: sicaufishnutrition@tom.com

concentration (3 969, 23 816, 39 693, 99 233 and 158 773 IU·kg<sup>-1</sup>, respectively) were randomly fed to triplicate groups of 40 fish (initial mean weight 11.37 ± 0.55 g) each for 70 days. Juvenile Jian carps were obtained from a local commercial farm and stocked in the glass tanks for 2 weeks prior to the trial. At the beginning of the experiment, all fish in good health and condition were stocked in each aquarium (80 cm × 55 cm × 30 cm). All dry ingredients were finely ground, carefully weighed and mixed thoroughly in a Hobart mixer. Vitamin A was pre-added in an oil mixer. The wet mash of even consistency was cold-extruded through a pelletizer with a 2-mm diameter diet. The dry pellets were placed in covered plastic bags and stored frozen at -20 °C until fed. Each replicate was provided with flow-through tap water (2 liter min<sup>-1</sup>), constant aeration and cleaned as needed. Initial daily ration was 3% -4% of the body weight and adjusted according to feeding response. Based on visual observation, fish were fed by hand to apparent satiety twice per day in two equal portions at 9:00 and 15:00 h over a 10-minute period. Water quality parameters were monitored twice weekly. Water temperature was maintained at 21 °C; dissolved oxygen ≥ 5.0 mg·L<sup>-1</sup>; total ammonia-nitrogen 0.025 -0.042 mg·L<sup>-1</sup>. At the termination of the growth trial, ten fish with similar body weight were obtained from every tank and moved to the same tank, acclimated to the culture condition for five days prior to infection and maintained at 25 °C and kept another 15-days challenge trial. The challenge bacterium, *Aeromonas hydrophila*, stored at -70 °C until use. The control group (non-infected group) was injected i. p. with 0.5 mL 0.9% NaCl per fish. The fish were observed daily and moribund fish were recorded from the aquaria for the subsequent 15 days. A vaccination trial was conducted following the 70-day growth trial. At the termination of the growth trial, 12 disease-free fish with similar body weight in each tank were obtained pooled by diet and cultured in one tank maintained at 25 °C during the following 24-day vaccination experiment. Fish were acclimated to the vaccination trial culture condition for five days prior to immunization. Daily feeding and management were the same as in the growth trial. The results showed: weight gain, protein retention rate (PRR), hepatopancrease weight, intestinal folds height, spleen index, blood hematocyte and leukocyte counts, serum lysozyme activity and serum antibody level at 17 d and 24 d after vaccination against *Aeromonas hydrophila* decreasing significantly in fish fed dietary hypervitaminosis vitamin A (158 773 IU·kg<sup>-1</sup>) ( $P < 0.05$ ), feed conversion efficiency, vitamin A content in hepatopancrease increasing significantly were determined in fish feeding hypervitaminosis vitamin A ( $P < 0.05$ ), but were not significantly different in survival rate, feed intake, head kidney weight, post kidney index and serum antibody level at 0 d and 10d after vaccination against *Aeromonas hydrophila* between five groups ( $P > 0.05$ ). Based on growth performance, feed utilization and immune response, it was toxic to juvenile Jian carps when diet contained vitamin A 158 773 IU·kg<sup>-1</sup>.

**Key words:** juvenile *Cyprinus carpio* var. *jian*; vitamin A; growth performance; feed utilization; immune responses

维生素 A (vitamin A) 是动物生长发育过程中重要的营养素之一, 尤其对维持动物生长、上皮组织分化、繁殖性能和视觉功能的正常以及提高疾病抵抗能力等有着重要的作用<sup>[1]</sup>。国内外对水生动物维生素 A 营养需求进行了大量研究<sup>[2]</sup>。然而, 关于维生素 A 与水生动物免疫的关系研究起步较晚。建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *jian*) 是我国选育出的遗传性状稳定、高产优质的淡水养殖品种, 生长速度比普通鲤 (*C. carpio*) 快

30% ~ 40%, 具有营养价值高, 饲料转化率高和经济价值大等优点, 已在我国广泛养殖, 是淡水养殖的主要品种之一。已有研究表明, 饲料中维生素 A 缺乏会显著降低建鲤的生长、饲料利用及免疫反应<sup>[3]</sup>, 但是对于在配合饲料中添加高水平维生素 A 对建鲤的生长、饲料利用及免疫功能影响未见报道。因此, 研究配合饲料中高水平维生素 A 对建鲤生长、饲料利用及免疫功能的影响, 不仅具有一定的学术意义并为进一步指导生产提供理论

依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

实验饲料的原料组成及主要营养指标见表 1。基础饲料由鱼粉、大米蛋白粉、 $\alpha$ -淀粉组成。添加的维生素 A 为维生素 A 醋酸酯(维生素 A 经荧光检测,含量为 496 166 IU·kg<sup>-1</sup>)。饲料 1 中维生素 A 含量与 NRC<sup>[2]</sup> 推荐的鲤对维生素 A 需要量相当,饲料 1、2、3、4 和 5 分别含有 3 969、

23 816、39 693、99 233 和 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 的维生素 A。

### 1.2 实验鱼选择

选择体重为(11.37 ± 0.55) g 健康幼建鲤 600 尾,平均分成 5 组,分别为 1、2、3、4 和 5 组,每组设 3 个重复,每个重复 40 尾,初始体重差异不显著( $P > 0.05$ ),分别饲喂含维生素 A 为 3 969、23 816、39 693、99 233 和 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 的配合饲料。

表 1 饲料组成及主要营养指标  
Tab.1 Ingredients and proximate composition of experimental diets

原料(g·kg <sup>-1</sup> ) ingredients	饲料编号 diet no.				
	1	2	3	4	5
面粉 wheat flour	4.9992	4.9952	4.9920	4.9800	4.9520
微量元素预混料 mineral premix *	5	5	5	5	5
维生素预混料 vitamin premix **	5	5	5	5	5
维生素 A 醋酸酯 retinyl acetate	0.0008	0.0048	0.0080	0.0200	0.0480
其它 others ***	985	985	985	985	985
主要营养指标(g·kg <sup>-1</sup> ) proximate analysis					
水分 moisture	74.4	68.7	70.8	74.4	68.7
粗蛋白 crude protein	350.2	350.2	350.2	350.2	350.2
脂肪 lipid	48.9	48.9	48.9	48.9	48.9
维生素 A(IU·kg <sup>-1</sup> ) vitamin A	3 969	23 816	39 693	99 233	158 773

注: \* 每千克微量元素预混料含: FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 152.00 g, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 2.40 g, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 31.20 g, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 8.20 g, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.18 g, KI 0.16 g, CaCO<sub>3</sub> 805.86 g; \*\* 每千克维生素预混料含: V<sub>D</sub> 480 000 IU, V<sub>E</sub> 20.00 g, V<sub>K</sub> 0.20 g, V<sub>C</sub> 14.00 g, V<sub>B1</sub> 0.10 g, V<sub>B2</sub> 1.40 g, V<sub>B6</sub> 1.20 g, V<sub>B12</sub> 0.20 g, 泛酸钙 6.521 g, 烟酸 5.60 g, 生物素 0.20 g, 肌醇 88.00 g, 面粉为载体; \*\*\* 每千克饲料含其它: 鱼粉 280 g, 大米蛋白粉 405 g,  $\alpha$ -淀粉 261.6 g, 大豆油 18 g, 磷酸二氢钙 19 g, 氯化胆碱 1 g, 抗氧喹粉 0.4 g

Notes: \* mineral premix contained(kg<sup>-1</sup> diet) FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 152.00 g, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 2.40 g, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 31.20 g, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 8.20 g, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.18 g, KI 0.16 g, CaCO<sub>3</sub> 805.86 g; \*\* vitamin premix contained(kg<sup>-1</sup> diet): vitamin D<sub>3</sub> 480 000 IU, vitamin E 20.00 g, vitamin K 0.20 g, vitamin C 14.00 g, vitamin B<sub>1</sub> 0.10 g, vitamin B<sub>2</sub> 1.40 g; vitamin B<sub>6</sub> 1.20 g, vitamin B<sub>12</sub> 0.20 g, calcium pantothenate 6.521 g, niacin 5.60 g; biotin 0.20 g, inositol 88.00 g, wheat flour was used as the carrier; \*\*\* others(kg<sup>-1</sup> diet): fish meal 280 g; rice protein meal 405 g;  $\alpha$ -starch 261.6 g; soya oil 18 g; calcium dihydrogen phosphate 19 g; choline chloride 1 g; ethoxyquin 0.4 g

### 1.3 实验条件和饲养管理

实验在四川农业大学动物营养研究所水生动物营养实验室进行。鱼苗购回后喂养于容积为 80 cm × 55 cm × 30 cm 的玻璃水族箱中。预饲 1 周后,分组称重,随机选取 20 尾鱼,经切碎冷冻干燥后,用于初始体蛋白质含量测定。实验期间平均水温为 21 °C, pH 为 7.0, 溶氧 5.0 mg·L<sup>-1</sup> 以上。投饲率根据生长速度、水温条件和摄食情况而定的,及时调整投喂量,摄食 30 min 后迅速抽取残料,收集残料,计算摄食量和饲料系数。试验期 70 d。

### 1.4 观测指标

生长实验 实验开始后,记录实验期间死亡数,计算成活率。结束时,称重,在每重复中随

机选取 5 尾鱼,在称取体重和测定体长后,分离脾脏、后肾、肝胰脏,并分别称重,计算脾体指数和后肾体指数、肥满度、肝体指数,称重后的肝胰脏用液氮速冻后,送低温冰箱(-70 °C)保存,用于维生素 A 含量测定<sup>[4-5]</sup>;分离出前肠、中肠和后肠按常规组织切片程序进行,测定皱襞高度<sup>[6]</sup>。每处理随机选取 5 尾鱼,用凯氏定氮法测定粗蛋白含量,计算净蛋白沉积率。另取体重相近的 6 尾鱼,尾部采血,按常规方法进行血液红、白细胞计数。

攻毒实验 生长实验结束后,每个水族箱选取体重相近 10 尾鱼,分别饲养在水族箱中,维持水温 25 °C。经过 5 d 的适应期后,分别用一次性注射器腹腔注射嗜水气单胞菌菌液每尾 0.5

mL(其中:菌液浓度为半数致死量  $10^{10}$  CFU·mL<sup>-1</sup>)。对照组腹腔注射等体积的生理盐水。饲养及饲养管理与饲养试验期间相同,并维持水温恒定。同时观察鱼的行为,记录摄食情况、死亡尾数和死亡时间,实验期为 15 d。对用嗜水气单胞攻毒 14 d 后存活的建鲤进行尾部血管采血,血液收集于已灭菌的离心管中,置于 4 ℃ 冰箱中静止过夜,第 2 天低温离心分离血清( $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min)。比浊法测定血清溶菌酶的含量<sup>[2]</sup>。

**免疫接种试验** 每个处理选 20 尾体重相近鱼,饲养在相应的水族箱中,维持水温 25 ℃。经过 5 d 适应期后,用一次性注射器腹腔注射灭活嗜水气单胞菌每尾 0.5 mL,(其中:灭活前菌液浓度为半数致死量  $10^{10}$  CFU·mL<sup>-1</sup>)。饲养及饲养管理与生长实验期间相同,并维持水温一致。分别于免疫后 10,17 和 24 d 在每处理中随机选取 5~7 尾,进行尾部血管采血。血液置于 4 ℃ 冰箱中静止过夜,第 2 天低温离心分离血清( $3\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min)。用酶联免疫吸附分析法测定血清中的抗体水平<sup>[7]</sup>。

## 1.5 统计处理

试验数据采用(平均数±标准差)(mean±SD)表示,用 SPSS(13.0)统计软件对数据进行单因素方差分析,结合 Duncan 氏法进行多重比较,检验处理之间的差异显著性, $P < 0.05$  为显著水平。

## 2 结果

### 2.1 饲料维生素 A 水平对幼建鲤生长性能和饲料利用的影响

从表 2 可知,饲料高水平维生素 A 对建鲤的摄饵量、增重、饲料系数和净蛋白沉积率有显著的影响( $P < 0.05$ ),而对成活率的影响不显著( $P > 0.05$ )。当饲料维生素 A 添加为  $39\ 693\ \text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组的增重率、摄食量以及净蛋白利用率显著高于其它各组( $P < 0.05$ ),其余各组间差异不显著( $P > 0.05$ );当饲料维生素 A 添加为  $39\ 693\ \text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组饲料系数显著低于  $158\ 773\ \text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组,但与其它各组差异不显著( $P > 0.05$ );其余各组间差异不显著( $P > 0.05$ )。

表 2 饲料维生素 A 水平对幼建鲤生长性能和饲料利用的影响

Tab. 2 Effect of dietary vitamin A levels on growth performance and feed utilization of juvenile carp mean ± SE

项目 item	饲料编号 diet no.				
	1	2	3	4	5
初重(g) initial body weight	11.05 ± 0.62	11.09 ± 0.52	11.27 ± 0.70	11.96 ± 0.60	11.06 ± 0.51
末重(g) final body weight	56.71 ± 4.88	56.38 ± 4.68	66.48 ± 5.83	65.56 ± 6.43	54.73 ± 1.72
增重(g·ind <sup>-1</sup> ) weight gain	45.66 ± 4.50 <sup>b</sup>	45.39 ± 3.32 <sup>b</sup>	55.21 ± 1.16 <sup>a</sup>	53.37 ± 0.87 <sup>ab</sup>	43.68 ± 1.23 <sup>b</sup>
成活率(%) survival	100.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	98.23 ± 1.53 <sup>a</sup>	98.33 ± 2.89 <sup>a</sup>	99.17 ± 1.44 <sup>a</sup>	99.17 ± 1.44 <sup>a</sup>
摄食量(g·ind <sup>-1</sup> ) feed intake	70.32 ± 4.16 <sup>b</sup>	72.32 ± 1.67 <sup>b</sup>	76.68 ± 2.52 <sup>a</sup>	75.57 ± 0.35 <sup>ab</sup>	75.10 ± 1.28 <sup>ab</sup>
饲料系数 feed conversion rate	1.63 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.67 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.48 ± 0.16 <sup>b</sup>	1.56 ± 0.12 <sup>ab</sup>	1.73 ± 0.04 <sup>a</sup>
净蛋白沉积率 protein retention rate	21.12 ± 0.93 <sup>c</sup>	21.74 ± 0.56 <sup>bc</sup>	26.20 ± 0.45 <sup>a</sup>	24.00 ± 1.65 <sup>ab</sup>	21.59 ± 0.51 <sup>bc</sup>

注:同一列标注不同字母表示有显著差异( $P < 0.05$ );成活率(%)=(实验开始总数-实验期死亡数)/实验开始总数×100;增重=实验末重-实验始重;摄饵量=总投饲量-总残料量;饲料系数=摄饵量/增重;净蛋白质沉积率(%)=(实验结束时体蛋白-实验开始时体蛋白)/摄入蛋白质含量×100

Notes: Values within the same column with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ); survival rate(%)=(final fish number)/(initial fish number)×100; weight gain(WG)=Final body weight-Initial body weight; feed intake(g·ind<sup>-1</sup>)=total feed supplied-feed waste; feed conversion rate(FCR)=feed intake/wet weight gain; protein retention rate(PRR,%)=wet weight gain/protein fed×100

### 2.2 饲料维生素 A 水平对幼建鲤的肥满度、肝胰脏重、肝体指数和肝胰脏 VA 含量的影响

从表 3 可知,饲料中维生素 A 添加水平显著影响肥满度、肝胰脏重、肝体指数和胰脏维生素 A 含量、前肠和后肠皱襞高度以及血液红白细胞的数量( $P < 0.05$ );维生素 A 添加量为  $158\ 773\ \text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$  组显著降低肝体指数、脾体指数以及前肠和后肠皱襞高度( $P < 0.05$ )。肝胰脏维生素 A 的含量、血液中的红白细胞数量,各个处理间差异显

著( $P < 0.05$ )。当饲料中维生素 A 量为  $3\ 969 \sim 39\ 693\ \text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,随着饲料维生素 A 水平的提高,前肠皱襞高度、后肠皱襞高度以及脾体指数逐渐增加;当饲料中维生素 A 水平高于  $39\ 693\ \text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}$  时,随着维生素 A 水平的提高,前肠皱襞高度、后肠皱襞高度以及脾体指数逐渐而降低。而肝胰脏维生素 A 的含量、血液中的红白细胞数量随着饲料维生素 A 水平的提高而增加。

表 3 饲料维生素 A 水平对幼建鲤形态学指标、肝胰脏维生素 A 含量和血液红白细胞数的影响 (n=6)

Tab.3 Effects of dietary vitamin A levels on morphometry, hepatopancreas vitamin A content (HVA) and haematology of juvenile Jian carp (n=6)

项目 item	饲料编号 diet no.				
	1	2	3	4	5
肥满度 (g·cm <sup>-3</sup> ) CF	2.87 ± 0.28 <sup>ab</sup>	2.76 ± 0.21 <sup>b</sup>	2.80 ± 0.21 <sup>ab</sup>	2.94 ± 0.24 <sup>a</sup>	2.88 ± 0.29 <sup>ab</sup>
肝体指数 HSI	5.98 ± 0.99 <sup>a</sup>	5.62 ± 1.23 <sup>b</sup>	5.46 ± 0.89 <sup>ab</sup>	5.42 ± 1.12 <sup>b</sup>	5.58 ± 0.99 <sup>ab</sup>
肝 VA 含量 (IU·g <sup>-1</sup> ) HVA	85.03 ± 7.94 <sup>b</sup>	124.54 ± 7.94 <sup>a</sup>	160.29 ± 8.94 <sup>c</sup>	264.34 ± 20.61 <sup>b</sup>	454.95 ± 36.92 <sup>a</sup>
前肠皱襞高 (μm) FHA	982.00 ± 45.84 <sup>c</sup>	1089.80 ± 77.39 <sup>bc</sup>	1302.40 ± 154.81 <sup>a</sup>	1166.20 ± 92.07 <sup>b</sup>	862.80 ± 54.64 <sup>d</sup>
后肠皱襞高 (μm) FHP	576.20 ± 21.64 <sup>b</sup>	591.60 ± 103.28 <sup>b</sup>	811.00 ± 112.63 <sup>a</sup>	622.80 ± 73.33 <sup>b</sup>	537.60 ± 10.67 <sup>b</sup>
脾体指数 SBI	210.69 ± 98.74 <sup>a</sup>	195.04 ± 67.94 <sup>ab</sup>	190.25 ± 71.84 <sup>ab</sup>	189.09 ± 54.61 <sup>ab</sup>	161.29 ± 34.44 <sup>b</sup>
后肾体指数 PKBI	0.53 ± 0.12 <sup>c</sup>	0.58 ± 0.12 <sup>abc</sup>	0.60 ± 0.101 <sup>ab</sup>	0.62 ± 0.073 <sup>a</sup>	0.60 ± 0.10 <sup>ab</sup>
白细胞 (·mm <sup>-3</sup> ) leucocyte counts	28541 ± 4029.32 <sup>bc</sup>	42208 ± 4720.74 <sup>a</sup>	45916 ± 3796.93 <sup>a</sup>	33000 ± 3820.99 <sup>b</sup>	27208 ± 3038.98 <sup>c</sup>
红细胞 (·mm <sup>-3</sup> ) erythrocyte counts	995000 ± 143561 <sup>b</sup>	1031666 ± 214468 <sup>ab</sup>	1193333 ± 116261 <sup>a</sup>	1077500 ± 9109 <sup>ab</sup>	1012500 ± 12723 <sup>b</sup>

注:同一列标注不同字母表示有显著差异 ( $P < 0.05$ ); 肥满度 = 体重 (g)/体长<sup>3</sup> (cm<sup>3</sup>) × 100; 肝体指数 = 肝胰脏重 (g)/体重 (g) × 100; 脾体指数 (%) = 脾脏重量/体重 × 100; 后肾体指数 (%) = 后肾重量/体重 × 100

Notes: Values within the same column with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ); condition factor (CF) = whole body weight (g)/body length<sup>3</sup> (cm<sup>3</sup>); hepatopancreas somatic index (HSI, %) = hepatopancreas weight (g)/body weight (g) × 100; FHA and FHP: fold height of anterior and posterior intestines, respectively; spleen body index (SBI, %) = spleen weight / body weight × 100%; post kidney body index (PKBI) = post kidney weight/body weight × 100%

### 2.3 饲料维生素 A 水平对幼建鲤非特异性免疫反应的影响

从表 4 可知, 饲料中维生素 A 为 3 969、23 816 IU·kg<sup>-1</sup> 组攻毒后成活率均为 80%; 维生素 A 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 成活率为 90%; 饲料中维生素 A 为 39 693 和 99 233 IU·kg<sup>-1</sup> 成活率最高, 均为 100%。同时, 维生素 A 水平对溶菌酶活力有显著的影响 ( $P < 0.05$ )。饲料中维生素 A 为 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 组溶菌酶活力显著高于其余各组 ( $P < 0.05$ ); 其次为饲料中维生素 A 为 23 816 IU·kg<sup>-1</sup> 组显著高于维生素 A 为 3 969、158 773 IU·

kg<sup>-1</sup> 组 ( $P < 0.05$ ), 与料中维生素 A 99 233 IU·kg<sup>-1</sup> 组差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 料中维生素 A 99 233 IU·kg<sup>-1</sup> 组显著地高于料中维生素 A 3 969、158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 组 ( $P < 0.05$ ), 与料中维生素 A 23 816 IU·kg<sup>-1</sup> 组差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 其余各组间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。而且溶菌酶活力与饲料维生素 A 水平呈显著的二次回归关系 ( $P < 0.05$ ), 其回归方程为:  $y = 2.01 \times 10^{-11}x^2 - 1.87 \times 10^{-6}x + 3.06$  ( $R^2 = 0.4230$ ,  $P < 0.05$ ) ( $y$ : 溶菌酶:  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;  $x$ : 饲料维生素 A 水平: IU·kg<sup>-1</sup>)。

表 4 饲料维生素 A 水平对攻毒后成活率和血清溶酶活性的影响 (n=6)

Tab.4 Effects of dietary vitamin A levels on survival and lysozyme activity of Jian carp (n=6)

饲料编号 diet no.	攻毒尾数 (ind) challenge	死亡尾数 (ind) moribund	成活尾数 (ind) survival	成活率 (%) survival rate	溶菌酶活力 ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) lysozyme activity
1	10	2	8	80	1.69 ± 0.32 <sup>c</sup>
2	10	2	8	80	4.41 ± 0.62 <sup>b</sup>
3	10	0	10	100	5.56 ± 0.70 <sup>a</sup>
4	10	0	10	100	3.82 ± 0.50 <sup>b</sup>
5	10	1	9	90	2.42 ± 0.40 <sup>c</sup>

注:同一列标注不同字母表示有显著差异 ( $P < 0.05$ )

Notes: Values within the same column with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

### 2.4 饲料维生素 A 水平对幼建鲤特异性免疫反应的影响

从表 5 中可知, 不同水平维生素 A 对第 17、第 24 天抗体水平有显著的影响 ( $P < 0.05$ ); 而对

第 0、10 天抗体水平影响不显著 ( $P > 0.05$ )。第 17 天抗体水平: 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 组显著高于其余各组 ( $P < 0.05$ ); 其余各组间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。第 24 天抗体水平: 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 组显

著高于维生素 A 为 3 969、99 233 和 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 组 ( $P < 0.05$ ), 与维生素 A 为 23 816 IU·kg<sup>-1</sup> 组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 维生素 A 为 23 816 IU·kg<sup>-1</sup> 组显著高于 3 969 IU·kg<sup>-1</sup> 组, 与

其余各组差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 其余各组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 而第 0、第 10 天抗体水平各组间差异均不显著 ( $P > 0.05$ )。

表 5 饲料维生素 A 水平对血清抗体水平的影响 ( $n = 6$ )

Tab. 5 Effects of dietary vitamin A levels on serum antibody level of juvenile carp ( $n = 6$ ) mean  $\pm$  SE

饲料编号 diet no.	第 0 天抗体水平 AB <sub>0</sub> 0-day antibody level OD * 100	第 10 天抗体水平 AB <sub>10</sub> 10-day antibody level OD * 100	第 17 天抗体水平 AB <sub>17</sub> 17-day antibody level OD * 100	第 24 天抗体水平 AB <sub>24</sub> 24-day antibody level OD * 100
1	12.99 $\pm$ 2.06 <sup>a</sup>	13.55 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>	15.58 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>	14.38 $\pm$ 0.68 <sup>c</sup>
2	13.22 $\pm$ 1.40 <sup>a</sup>	13.73 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>	15.93 $\pm$ 0.57 <sup>b</sup>	15.76 $\pm$ 0.58 <sup>ab</sup>
3	13.55 $\pm$ 1.81 <sup>a</sup>	13.91 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	17.40 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>	16.91 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>
4	12.13 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>	13.60 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	16.00 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	14.95 $\pm$ 0.29 <sup>bc</sup>
5	12.13 $\pm$ 0.84 <sup>a</sup>	13.53 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	15.73 $\pm$ 0.31 <sup>b</sup>	14.80 $\pm$ 0.31 <sup>bc</sup>

注:同一列标注不同字母表示有显著差异 ( $P < 0.05$ ); AB: 抗体水平; OD: 光密度; 100: 常数

Notes: Values within the same column with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ); AB: antibody level; OD: optical density; 100: constant

### 3 讨论

#### 3.1 饲料维生素 A 水平对幼建鲤生长性能的影响

维生素 A 是鱼类生长必需的营养素, 但饲料中维生素 A 水平过高对鱼类生长也会出现抑制作用<sup>[1]</sup>。从表 2 可知, 当饲料维生素 A 为 3 969 ~ 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 时, 能提高幼建鲤的增重, 而维生素 A 提高到 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 时, 幼建鲤的增重显著低于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 组 ( $P < 0.05$ ), 说明了在需要量基础上适当提高维生素 A 水平可以促进建鲤的生长, 但超过一定量的维生素 A (158 773 IU·kg<sup>-1</sup>) 反而不利于建鲤的生长。目前, 过高维生素 A 含量对鲤生长的影响未见报道, 对其它水生动物已有研究。研究表明: 过高水平维生素 A 导致虹鳟<sup>[8-9]</sup>、罗非鱼<sup>[10]</sup>、幼川鳊<sup>[11-12]</sup>、幼皱纹盘鲍<sup>[13]</sup> 生长抑制。可见, 添加过量的维生素 A 并不利于包括建鲤在内许多水生动物的生长。

#### 3.2 饲料维生素 A 水平对幼建鲤饲料利用的影响

从表 2 结果可知: 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 的饲料系数和净蛋白质沉积率显著高于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 组 ( $P < 0.05$ ), 说明饲料中维生素 A 为 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 反而降低幼建鲤的饲料利用率和蛋白质沉积率。对于过高维生素 A 对饲料利用以及蛋白沉积的影响在其它水产动物也有相关的报道。Hilton 研究表明: 用分别含维生素 A 为 4 000、2 704 000 和 8 104 000 IU·kg<sup>-1</sup> 的饲料饲喂虹鳟 16 周后, 其饲料系数分别是 1.1、1.2 和 1.9<sup>[8]</sup>;

饲喂维生素 A 含量为 3 000 IU·kg<sup>-1</sup> 的饲料 8 周后, 斑节对虾饲料系数为 2.22, 维生素 A 增加到 60 000 IU·kg<sup>-1</sup> 时, 饲料系数增至为 4.55, 饲料维生素 A 从 2 400 IU·kg<sup>-1</sup> 提高到 4 500 IU·kg<sup>-1</sup> 时, 斑节对虾的蛋白质效率比分别为 1.24 和 0.99<sup>[14]</sup>。本研究结果与斑节对虾<sup>[14]</sup> 的研究结果相一致。

#### 3.3 饲料维生素 A 水平对幼建鲤肠道形态学指标的影响

从本实验结果可知, 158 773 IU·kg<sup>-1</sup> 组前、中和后肠的皱襞高度都显著低于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup> 组 ( $P < 0.05$ ), 说明饲料中过高维生素 A 可通过降低肠道皱襞的高度, 降低其消化能力。目前, 关于过高维生素 A 对肠道消化能力的影响在鲤上未见报道, 对幼狼鲈杂交种 (*Morone chrysops*  $\times$  *M. saxatilis*) 有研究。Rosales 等<sup>[15]</sup> 研究发现: 过量维生素 A 通过降低小肠上皮细胞视黄醇结合蛋白 (CRBPII) 的结合能力, 从而降低幼狼鲈杂交种对蛋氨酸的利用率。在陆生动物的研究发现: 饲料维生素 A 添加量为推荐量的 1 000 倍时, 大鼠空肠黏膜的重量不受影响, 但肠道碱性磷酸酶和视黄醇乙酰转移酶的活性分别比正常组降低了 50% 和 15%<sup>[16]</sup>。过高维生素 A 对肠道功能的损伤是由于未被结合的视黄醇降解而损伤肠黏膜, 最终导致毒性效应的出现<sup>[17-18]</sup>。

#### 3.4 饲料维生素 A 水平对幼建鲤免疫学指标的影响

目前, 许多研究表明: 疾病抵抗力可作为衡量营养物质对机体免疫作用的综合指标<sup>[19-21]</sup>。

同时,大量研究也表明维生素 A 能提高机体抗病力<sup>[22-23]</sup>和抗菌能力<sup>[24-26]</sup>。从表 6 可知,158 773 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 组攻毒后的成活率低于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 组,说明饲料 158 773 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 降低幼建鲤的疾病抵抗能力。Shiau 和 Chen<sup>[14]</sup>研究表明:过高维生素 A 降低斑节对虾的成活率,饲喂 3 000 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 饲料,斑节对虾的成活率为 71.1%,维生素 A 为 45 000 IU·kg<sup>-1</sup>时,成活率仅为 55.6%<sup>[14]</sup>。虹鳟摄食添加 4 000 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 的饲料虹鳟死亡率为 1.0%,8 104 000 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 时的死亡率为 14.5%<sup>[8]</sup>。

过高水平维生素 A 降低幼建鲤的疾病抵抗能力可能是通过以下方式起作用:其一,通过红细胞和白细胞的数量变化影响疾病抵抗能力。从本试验结果可知,饲料中维生素 A 为 158 773 IU·kg<sup>-1</sup>组的红、白细胞数显著低于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup>组( $P < 0.05$ ),说明过量维生素 A 通过降低红白细胞数量,使幼建鲤的疾病抵抗能力下降。Poston 等<sup>[9]</sup>研究表明:当饲料中维生素 A 为 2 200 000 IU·kg<sup>-1</sup>时,溪红点鲑血液红细胞的比溶减低。当腹腔注射 0.3 mg·L<sup>-1</sup>视黄醇,降低隆颈巨额鲷吞噬细胞的呼吸爆发率<sup>[9]</sup>。其二,通过非特异性免疫功能影响疾病抵抗能力,从本试验结果可知:158 773 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 组的血清溶菌酶活力显著低于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup>组( $P < 0.05$ ),说明过高维生素 A 水平降低建鲤的非特异性免疫功能,从而降低其疾病抵抗能力。当注射维生素 A 0.05 mg·L<sup>-1</sup>以上,隆颈巨额鲷通过抑制血清溶菌酶活力从而降低非特异性免疫功能<sup>[25]</sup>,可见本实验结果与上述研究结果相一致。其三,可通过影响特异性免疫力来影响其对疾病的抵抗力,从表 7 可知,158 773 IU·kg<sup>-1</sup>维生素 A 组第 17 天、24 天的抗体水平均显著低于 39 693 IU·kg<sup>-1</sup>组( $P < 0.05$ ),说明饲料中过高维生素 A 降低幼建鲤的特异性免疫功能,从而降低其疾病抵抗能力。

#### 参考文献:

[1] Olson J A. Needs and sources of carotenoids and vitamin A[J]. Nutrition Review, 1994, 52: 67-73.  
 [2] Nutrient requirements of fish(NRC)[M]. Washionton, D. C, USA, Nutional Academy Press, 1993: 36.  
 [3] 杨奇慧,周小秋. 维生素缺乏 A 对幼建鲤生长性

能和免疫功能的影响[J]. 中国水产科学, 2005, (1), 62-68.  
 [4] 项光华,刘晓静. 鸡血清、蛋黄、肝中维生素 A 和维生素 E 含量的荧光测定法探讨[J]. 中国畜牧科技, 2000, 30(6): 25-27.  
 [5] 魏建民,张春善. 动物肝脏中维生素 A 荧光测定法的改进[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1997, 18(4): 104-106.  
 [6] Krogdahl A, Bakke A M, Roed K H, et al. Feeding Atlantic salmon (*Salmo salar* L). soybean products: effects on disease resistance (furunculosis), and lysozyme and IgM levels in the intestinal mucosa [J]. Aquac Nutri, 2000, 6(2): 77-84.  
 [7] 戴华生. 新实验病毒学[M]. 北京:中国学术出版社, 1987: 415-457.  
 [8] Hilton J W. Hypervitaminosis A in rainbow trout (*Salmon gairdneri* R): toxicity sings and maximum tolerable level[J]. J Nutr, 1983, 113(9): 1737-1745.  
 [9] Poston H A, Riis R, Rumsey G L, et al. The effect of supplemental dietary amino acids mineerlas and vitamins on salmonids fed cataractogenic diets[J]. Cornell Vet, 1971, 67: 472-509.  
 [10] Saleh G, Eleraky W, Gropp J M. A short note on the effects of vitamin A hypervitaminosis and hypovitaminosis on health and growth of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) [J]. J Applied Ichthyology, 1995, 11(3-4): 382-385.  
 [11] Dedi J, Takeuchi T, Hosoya K, et al. Effect of vitamin A levels in *Artemia nauplii* on the caudal skeleton formation of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Fish Sci, 1998, 64(2): 344-345.  
 [12] 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: 155-165.  
 [13] 周歧存,麦康森. 维生素 A 对皱纹盘鲍幼鲍生长、存活和体组成的影响[J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 118-120.  
 [14] Shiau S Y, Chen Y. Estimation of the dietary vitamin A requirement of juvenile grass shrimp, *Penaeus mondon*[J]. J Nutri, 2000, 130: 90-94.  
 [15] Rosales F J, Jang J T, Pinero D J, et al. Iron deficiency in young rats alters the distribution of vitamin A between plasma and liver and between hepatic retinol and retinyl esters[J]. J Nutr, 1999, 129(6): 1223-1228.  
 [16] Suzuki R, Toshinao G, Sachiko T. Consumption of

- excess vitamin A, but not excess B-carotene, cause accumulation of retinol that exceeds the binding capacity of cellular retinol-binding protein, type II in rat intestine[J]. *J Nutr*, 1995, 125: 2074 – 2082.
- [17] Rondo P H C, Abbott R, Rodrigues L C, *et al.* Vitamin A, folate, and iron concentrations in cord and maternal blood of intrauterine growth retarded and appropriate birth weight babies [J]. *Eur J Clin Nutr*, 1995, 49(6): 391 – 399.
- [18] Smith J E, Muto Y, Goodman D S. Tissue distribution and subcellular localization of retinol-binding protein in normal and vitamin A-deficient rats[J]. *J Lip Resea*, 1975, 16(4): 318 – 323.
- [19] Ahmed F, Jones D B, Jackson A A. Effect of vitamin A deficiency on the immune response to epizootic diarrhoea of infant mice(EDIM) rotavirus infection in mice[J]. *Brit J Nutr*, 1991, 65(3): 475 – 485.
- [20] Stephensen C B, Moldoveanu Z, Gangopadhyay N N. Vitamin A deficiency diminishes the salivary immunoglobulin A response and enhances the serum immunoglobulin G response to influenza A virus infection in BALB/c mice [J]. *J Nutr*, 1996, 126(1): 94 – 102.
- [21] Cui D M, Moldoveanu Z, Stephensen C B. High level dietary vitamin A enhances T-helper type 2 cytokine production and secretory immunoglobulin A response to influenza A virus infection in BALB/c mice[J]. *J Nutr*, 2000, 130(5): 1132 – 1139.
- [22] Leutskaya Z K. The role of vitamin A in specific immunity to helminth infections [C]//4<sup>th</sup> International congress of parasitology. Warsaw: Short Communications, 1978: 3 – 44.
- [23] Sijtsma S R, Rombout J H, Kieperski A, *et al.* Changes in lymphoid organs and blood lymphocytes induced by vitamin A deficiency and Newcastle disease virus infection in chickens [J]. *Developmental Comparative Immunology*, 1991, 15(4): 349 – 356.
- [24] Wiedermann U, Tarkowski A, Bremell T, *et al.* Vitamin A deficiency predisposes to *Staphylococcus aureus* infection [J]. *Dahlgren-U Infection Immunity*, 1996, 64(1): 209 – 214.
- [25] Cuesta A, Ortuno J, Rodriguez A, *et al.* Changes in some innate defence parameters of seabream (*Sparus aurata* L.) induced by retinol acetate [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2002, 13(4): 279 – 291.
- [26] Pletsityi D F, Fomina V G, Pletsityi K D. Effect of excessive amounts of vitamins on natural immunity 1. Changes in the activity of some mechanisms of natural immunity caused by massive doses of vitamin A [J]. *Immunobiology*, 1974, 50(9): 108 – 111.