

## 饲料中维生素 C 对七彩神仙鱼仔幼鱼 非特异性免疫的影响

廖畅宇 邵 力\* 王旭霞

(宁波大学 教育部应用海洋生物技术重点实验室, 315211)

**摘 要** 通过投喂维生素 C 含量为 0~2 000.0 mg/kg 的饲料,对七彩神仙鱼仔幼鱼非特异性免疫进行了研究。结果表明,当饲料中维生素 C 的添加量达到 500.0 mg/kg(V 组)以上时,七彩神仙鱼仔幼鱼血清替代补体活力、溶菌酶活力和白细胞吞噬活性均开始显著高于对照组( $P < 0.05$ ),且同一水平随时间的增加而升高。添加量达 1 500.0 mg/kg(VIII 组)之后,随着饲料中维生素 C 添加量的进一步增加,各组数据反而呈下降趋势。可见饲料中适量添加维生素 C 能够提高七彩神仙鱼仔幼鱼的非特异性免疫力,维生素 C 缺乏和过量都会对其带来不利影响。

**关键词** 七彩神仙鱼 维生素 C 非特异性免疫

**中图分类号** S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)03-0054-06

### Influence of dietary vitamin C on non-specific immunity of larval and juvenile *Symphysodon aequifasciatus*

LIAO Chang-yu SHAO Li\* WANG Xu-xia

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, 315211)

**ABSTRACT** A feeding trial was conducted to evaluate effects of dietary vitamin C on non-specific immunity of larval and juvenile *Symphysodon aequifasciatus* with supplement of vitamin C in feed(0~2000.0 mg/kg). When the supplementation ratio reached 500.0 mg/kg(group V), the alternative complement pathway (ACP) activity, serum lysozyme activity, phagocytosis index(PI) and phagocytosis percentage(PP) of the fish were significantly higher than that of the control ( $P < 0.05$ ), and they increased over time in the same level. And then the non-specific immune index dropped with the increase of dietary vitamin C above 1500.0 mg/kg (group VIII). It was found that proper level of vitamin C supplement in feed may enhance the nonspecific immunity of the larval and juvenile fish, while lack of vitamin C or over-dose may negatively affect the fish health.

**KEY WORDS** *Symphysodon aequifasciatus* Vitamin C Non-specific immunity

七彩神仙鱼 *Symphysodon aequifasciatus* 属丽鱼科 Cichlidae,是世界著名的热带观赏鱼,原产于南美洲

宁波市科技计划项目(2004C100057)资助

\* 通讯作者。E-mail:shaoli@nbu.edu.cn, Tel:13506846988

收稿日期:2011-07-03;接受日期:2011-08-17

作者简介:廖畅宇(1987-),男,硕士研究生,从事(观赏)鱼类培养繁殖学方向研究。E-mail:lcy871130@163.com, Tel:15258258590

亚马逊河流域的尼格罗河等水域,野生种稀少珍贵。自1967年七彩神仙鱼人工养殖成功至今,经过多年的人工改良,形成了许多的人工改良品种,体色种类更加丰富,花纹差别也更加多样。

维生素C又称L-抗坏血酸,是鱼类和动物组织胶原蛋白合成过程中脯氨酸羟化必需的物质,在结缔组织、创伤愈合时瘢痕组织和骨骼的形成中起着重要的作用。抗坏血酸还具有参与体内氧化还原反应、促进铁的吸收、增强机体免疫和抗应激能力等功能。除少数软骨鱼类具有合成维生素C的能力外,硬骨鱼类因体内缺乏L-古酪糖酸内酯氧化酶而不具备合成维生素C的能力,这些鱼必须从食物中获得维生素C以满足需要(尤宏争等 2010;Montero *et al.* 1999;Fracalossi *et al.* 2001)。本实验通过在饲料中添加不同含量的维生素C,研究维生素C对七彩神仙鱼仔幼鱼非特异性免疫的影响,为养殖生产上更客观、更合理地使用维生素C提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验饲料

实验基础饲料制作参照潘 璠等(2003)的方法,稍做修改,去除复合维生素中的维生素C成分。先将各种原料分别打碎拌匀呈糊状,然后称重、混匀,以维生素C多聚磷酸酯(维生素C含量35.0%,罗氏公司提供)为维生素C的来源(表1),配成9种饲料,于-20℃保存至使用。

### 1.2 试验用鱼和饲养管理

养殖实验在宁波大学营养与饲料实验室的封闭水循环系统中进行。实验用鱼购自宁波新亚七彩公司,为当年人工繁殖的同一批鱼苗,初始体重为 $3.8 \pm 0.5\text{g}$ ,初始体长为 $3.2 \pm 0.2\text{cm}$ 。正式实验前,七彩神仙鱼仔幼鱼在养殖系统中适应7d。然后,随机分组,每组30尾,每个水平3个重复,分别放于100L的养殖鱼缸中。2010年7月9日实验正式开始,每天09:00和17:00投喂至饱食,养殖实验持续48d,于2010年8月25日结束。养殖系统水温保持在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

### 1.3 取样

参照 Pickering 等(1987)和周立斌等(2009)的方法,并稍作修改。养殖试验进行中,每12d取样1次。每养殖缸随机取5尾鱼,用1ml注射器从尾静脉取血。每尾鱼操作时间不超过1min,以避免操作引起的胁迫对指标产生影响。将血液分为两份,其中1份以肝素抗凝,制备抗凝血供测定吞噬细胞的吞噬活性;另一份血液在室温凝结1h后,在4℃冰箱保持4h,于4℃条件下4000r/min离心10min。然后分离血清,于-20℃保存至使用。

### 1.4 红细胞悬液制备

10ml注射器中吸入3ml无菌Alsever's液,然后从鸡翅静脉采集,用生理盐水洗涤3次,前两次1500r/min离心5min,最后一次同速度离心10min,弃上清液,用0.9%无菌生理盐水配成3%红细胞悬液,置4℃待用。一般可以放置7d左右,一旦发生溶血应立即弃掉。

### 1.5 替代途径补体活力

取2ml3%红细胞悬液和1ml稀释10倍的血淋巴液混合,另取2ml3%红细胞悬液和1ml生理盐水作为对照,与试管同时25℃下间歇振荡1h,取出后立即冰浴终止反应。然后3000r/min离心5min。血清的溶血程度通过分光光度计测定上清液的吸光值确定,波长为540nm,OD值每增加0.001定义为1个溶血活

表1 饲料中维生素C的添加量

Table 1 The supplementation of vitamin C in diet

| 组别 Treatment | 维生素C的添加量<br>Concentration of Vc<br>(mg/kg) |
|--------------|--|
| I(对照组)       | 0  |
| II           | 100.0                                      |
| III          | 200.0                                      |
| IV           | 300.0                                      |
| V            | 500.0                                      |
| VI           | 800.0                                      |
| VII          | 1 000.0                                    |
| VIII         | 1 500.0                                    |
| IX           | 2 000.0                                    |

性单位(U)。

溶血素活性=(测定 OD 值-对照 OD 值)/0.001×血清稀释倍数

### 1.6 溶壁微球菌制备

活化溶壁微球菌在 37 °C 培养 18 h,用浓度为 0.1 mol/L,pH=6.5 的磷酸缓冲液配成一定浓度的悬液,稀释,直至该悬液在 570 nm 波长下的吸光值为 0.3 左右;将配好的菌悬液放在 4 °C 冰箱保存,备用。

### 1.7 溶菌酶活性测定

取 3.0 ml 溶壁微球菌悬液与 0.05 ml 待测血清于试管中混匀,测其在 570 nm 处的光密度值( $A_0$ ),然后置于 37 °C 水浴保温 30 min,取出后立刻置于冰浴中 10 min 以终止反应,测其在 570 nm 处的光密度值(A)。

溶菌活力  $U_k = [(A_0 - A) / A] / 2$

### 1.8 金黄色葡萄球菌的制备

在将金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* 接种在液体肉汤培养基中,37 °C 下培养 48 h 后,离心集菌,在菌液中加入浓度为 0.5% 的福尔马林,37 °C 下灭活 24 h,用灭菌生理盐水清洗 3 次,并将其浓度调整至  $1.0 \times 10^8$  个细胞/ml,即为福尔马林灭活的 *S. aureus* 菌体(Formalin-killed *S. aureus*, F-SA),用作检测白细胞吞噬活性的吞噬菌体。

### 1.9 白细胞吞噬活性的测定

参照常青等(2010)的方法。在 0.2 ml 抗凝血中加入 0.1 ml F-SA,摇匀,在 25 °C 的恒温水浴锅中孵育 45 min,每隔 10 min 摇动 1 次。用吸管吸取血细胞涂片,每个样品涂 5 张,用甲醇固定 10 min,Giemsa 染色液染 1 h,水洗风干后,镜检,并依下式计算白细胞吞噬百分比(Phagocytic Percentage, PP)和吞噬指数(Phagocytic Index, PI)。

吞噬百分比(PP)=(100 个吞噬细胞中参与吞噬的细胞数/100)×100

吞噬指数(PI)=细胞内总菌数/参与吞噬的细胞数

### 1.10 数据分析

试验数据用 PASW Statistics 18 软件进行统计分析,多组之间差异采用 Duncan's 多重比较,两个试验组间采用 Student-t 检验,显著性水平为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 维生素 C 对七彩神仙鱼仔鱼血清替代途径补体活力的影响

供试七彩神仙鱼仔鱼血清中替代途径补体活力的测定结果如表 2 所示。当饲料中的维生素 C 添加量达到 500.0 mg/kg(V 组)之后,替代途径补体活力与对照组开始出现显著差异( $P < 0.05$ )。当维生素 C 的添加量达到 1 500.0 mg/kg(VIII 组)时,替代途径补体活力达到了试验实测数据中的最高值,但与 VII 组(1 000.0 mg/kg)差异不显著( $P > 0.05$ )。之后随着饲料中的维生素 C 添加量的增加,替代途径补体活力反而呈下降变化趋势。而随着试验的进行,同一水平的替代途径补体活力随着试验时间的增加而逐步升高。

### 2.2 维生素 C 对七彩神仙鱼仔鱼血清溶菌酶活力的影响

血清中溶菌酶的测定结果如表 3 所示。随着维生素 C 添加量的提高,其血清溶菌酶活力呈线性增加,当饲料中的维生素 C 添加量为 500.0~2 000.0 mg/kg 时,溶菌酶活力与对照组相比显著提高( $P < 0.05$ )。

表 2 饲料中添加维生素 C 对七彩神仙鱼仔幼鱼替代途径补体活力的影响

Table 2 Effects of dietary vitamin C on haemolysis activity of serum complement of larval and juvenile *S. aequifasciatus*

| 维生素 C 添加量<br>Addition of Vitamin C<br>(mg/kg) | 12d 替代途径补体活力<br>12d alternate complement<br>pathway activity(U) | 24d 替代途径补体活力<br>24d alternate complement<br>pathway activity(U) | 36d 替代途径补体活力<br>36d alternate complement<br>pathway activity(U) | 48d 替代途径补体活力<br>48d alternate complement<br>pathway activity(U) |
|---|---|---|---|---|
| 0   | 24.95±0.08 <sup>a</sup>   | 26.45±0.50 <sup>a</sup>   | 28.95±0.79 <sup>a</sup>   | 29.95±1.02 <sup>a</sup>   |
| 100.0   | 25.98±0.09 <sup>a</sup>   | 27.89±0.17 <sup>a</sup>   | 29.98±0.08 <sup>a</sup>   | 31.21±0.58 <sup>a</sup>   |
| 200.0   | 26.89±0.14 <sup>a</sup>   | 27.90±0.38 <sup>a</sup>   | 29.90±0.29 <sup>a</sup>   | 32.12±0.07 <sup>a</sup>   |
| 300.0   | 25.77±0.62 <sup>a</sup>   | 28.87±0.41 <sup>a</sup>   | 30.26±0.41 <sup>a</sup>   | 31.78±0.32 <sup>a</sup>   |
| 500.0   | 29.90±0.22 <sup>b</sup>   | 32.9±0.09 <sup>b</sup>  | 34.96±0.05 <sup>b</sup>   | 35.86±0.04 <sup>b</sup>   |
| 800.0   | 34.86±0.12 <sup>c</sup>   | 42.08±0.94 <sup>c</sup>   | 43.87±1.09 <sup>c</sup>   | 44.56±1.08 <sup>c</sup>   |
| 1 000.0                                       | 40.76±0.91 <sup>d</sup>   | 44.76±1.02 <sup>cd</sup>  | 47.86±0.88 <sup>d</sup>   | 48.06±0.81 <sup>d</sup>   |
| 1 500.0                                       | 44.94±1.89 <sup>e</sup>   | 48.87±1.45 <sup>d</sup>   | 50.70±1.35 <sup>d</sup>   | 50.37±1.34 <sup>d</sup>   |
| 2 000.0                                       | 39.56±1.57 <sup>d</sup>   | 40.53±1.84 <sup>e</sup>   | 40.68±1.81 <sup>bc</sup>  | 41.10±1.79 <sup>bc</sup>  |

注:表中的值为平均数±标准差( $n=5$ );同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan'多重比较, $P<0.05$ )

Note: Values in the table are  $X\pm SE(n=5)$ ; figures with different superscript letters in the same column are significantly different ( $P<0.05$ )

其中,添加量为 1 500.0 mg/kg(Ⅷ组)时达到最高值,添加量继续升高后溶菌酶活力反而下降,且与Ⅷ组差异显著( $P<0.05$ )。而时间对溶菌酶活力的影响与替代途径补体活力试验的表现基本一致。

表 3 饲料中添加维生素 C 对七彩神仙鱼仔幼鱼血清溶菌酶的活力的影响

Table 3 Effects of dietary vitamin C on lysozyme activity of serum of larvae and juvenile *S. aequifasciatus*

| 维生素 C 添加量<br>Addition of Vitamin C<br>(mg/kg) | 12d 溶菌酶活力<br>12d serum lysozyme<br>activity(U/L) | 24d 溶菌酶活力<br>24d serum lysozyme<br>activity(U/L) | 36d 溶菌酶活力<br>36d serum lysozyme<br>activity(U/L) | 48d 溶菌酶活力<br>48d serum lysozyme<br>activity(U/L) |
|---|--|--|--|--|
| 0   | 4.95±1.97 <sup>a</sup>                           | 5.46±2.03 <sup>a</sup>                           | 7.96±2.36 <sup>a</sup>                           | 9.06±3.06 <sup>a</sup>                           |
| 100.0   | 5.98±2.30 <sup>a</sup>                           | 7.89±3.20 <sup>a</sup>                           | 9.98±3.12 <sup>a</sup>                           | 11.21±2.05 <sup>a</sup>                          |
| 200.0   | 6.89±2.31 <sup>a</sup>                           | 7.90±1.05 <sup>a</sup>                           | 9.90±1.25 <sup>a</sup>                           | 12.12±2.36 <sup>a</sup>                          |
| 300.0   | 8.77±2.53 <sup>a</sup>                           | 10.87±1.25 <sup>ab</sup>                         | 12.26±1.26 <sup>ab</sup>                         | 14.78±1.59 <sup>ab</sup>                         |
| 500.0   | 15.90±1.82 <sup>b</sup>                          | 16.90±2.06 <sup>b</sup>                          | 18.96±1.82 <sup>b</sup>                          | 19.86±1.83 <sup>b</sup>                          |
| 800.0   | 19.86±2.10 <sup>c</sup>                          | 22.08±1.28 <sup>c</sup>                          | 23.87±2.03 <sup>c</sup>                          | 24.56±2.06 <sup>c</sup>                          |
| 1 000.0                                       | 20.76±2.07 <sup>c</sup>                          | 24.76±2.34 <sup>c</sup>                          | 24.86±2.10 <sup>c</sup>                          | 25.06±2.86 <sup>c</sup>                          |
| 1 500.0                                       | 25.94±1.27 <sup>d</sup>                          | 28.87±2.15 <sup>d</sup>                          | 28.70±1.65 <sup>d</sup>                          | 29.07±1.86 <sup>d</sup>                          |
| 2 000.0                                       | 20.56±1.47 <sup>c</sup>                          | 25.53±1.48 <sup>c</sup>                          | 26.68±1.29 <sup>c</sup>                          | 26.10±1.39 <sup>c</sup>                          |

注:表中的值为平均数±标准差( $n=5$ );同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan's 多重比较, $P<0.05$ )

Note: Values in the table are  $X\pm SE(n=5)$ ; figures with different superscript letters in the same column are significantly different ( $P<0.05$ )

### 2.3 维生素 C 对七彩神仙鱼仔幼鱼白细胞吞噬活性的影响

血液中白细胞的 PP 和 PI 测定结果如表 4 所示。投喂维生素 C 的七彩神仙鱼仔幼鱼血液中白细胞的 PP 和 PI 均高于对照组。PP 的显著性差异( $P<0.05$ )出现在 500 mg/kg 添加量及更高添加量,PI 则是达到 1 000.0 mg/kg 的添加量以后才显著高于对照组( $P<0.05$ )。当维生素 C 的添加量为 1 500.0 mg/kg(Ⅷ组)时,血液中白细胞的 PP 和 PI 均达到试验实测数据中的最高值。随着试验时间的增加,PP 和 PI 也逐步升高。

表4 饲料中添加维生素C对七彩神仙鱼仔鱼白细胞吞噬指数的影响

Table 4 Effects of dietary vitamin C on phagocytic index of leucocytes of larval and juvenile *S. aequifasciatus*

| 维生素C添加量<br>Addition of Vitamin<br>C(mg/kg) | 吞噬百分比 Phagocytic percentage(%) |                          |                          |                          | 吞噬指数 Phagocytic index   |                          |                         |                          |
|--|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
|  | 12d                            | 24d                      | 36d                      | 48d                      | 12d                     | 24d                      | 36d                     | 48d                      |
| 0  | 44.95±0.28 <sup>a</sup>        | 46.45±0.44 <sup>a</sup>  | 48.95±0.38 <sup>a</sup>  | 49.95±0.51 <sup>a</sup>  | 4.45±0.21 <sup>a</sup>  | 4.65±0.54 <sup>a</sup>   | 4.85±0.38 <sup>a</sup>  | 4.95±0.51 <sup>a</sup>   |
| 100.0                                      | 45.98±0.23 <sup>ab</sup>       | 47.89±0.33 <sup>ab</sup> | 49.98±0.34 <sup>a</sup>  | 51.21±0.39 <sup>ab</sup> | 4.58±0.42 <sup>a</sup>  | 4.89±0.13 <sup>ab</sup>  | 4.98±0.34 <sup>a</sup>  | 5.21±0.39 <sup>ab</sup>  |
| 200.0                                      | 46.89±0.27 <sup>bc</sup>       | 47.90±0.54 <sup>ac</sup> | 49.90±0.55 <sup>a</sup>  | 52.12±0.36 <sup>b</sup>  | 4.69±0.21 <sup>ab</sup> | 4.90±0.54 <sup>ab</sup>  | 5.09±0.55 <sup>ab</sup> | 5.32±0.36 <sup>ab</sup>  |
| 300.0                                      | 45.77±0.86 <sup>ac</sup>       | 48.87±0.55 <sup>bc</sup> | 50.26±0.67 <sup>a</sup>  | 51.78±0.63 <sup>b</sup>  | 4.77±0.84 <sup>ab</sup> | 4.87±0.65 <sup>ab</sup>  | 5.26±0.67 <sup>ab</sup> | 5.28±0.63 <sup>ab</sup>  |
| 500.0                                      | 49.90±0.13 <sup>d</sup>        | 52.90±0.05 <sup>d</sup>  | 54.96±0.04 <sup>b</sup>  | 55.86±0.71 <sup>c</sup>  | 4.90±0.17 <sup>ab</sup> | 5.10±0.24 <sup>abc</sup> | 5.26±0.04 <sup>ab</sup> | 5.36±0.71 <sup>ab</sup>  |
| 800.0                                      | 54.86±0.65 <sup>e</sup>        | 62.08±1.39 <sup>e</sup>  | 63.87±1.52 <sup>c</sup>  | 64.56±1.57 <sup>d</sup>  | 5.26±0.65 <sup>ac</sup> | 6.08±0.39 <sup>bcd</sup> | 6.37±1.52 <sup>ab</sup> | 6.56±1.57 <sup>abc</sup> |
| 1 000.0                                    | 60.76±1.97 <sup>f</sup>        | 64.76±1.57 <sup>f</sup>  | 64.86±1.36 <sup>cd</sup> | 65.06±1.31 <sup>d</sup>  | 6.16±0.97 <sup>c</sup>  | 6.36±1.27 <sup>cd</sup>  | 6.66±1.36 <sup>b</sup>  | 6.86±1.31 <sup>bc</sup>  |
| 1 500.0                                    | 60.94±0.63 <sup>f</sup>        | 64.87±0.51 <sup>f</sup>  | 65.70±0.58 <sup>d</sup>  | 66.07±0.61 <sup>d</sup>  | 5.94±0.53 <sup>c</sup>  | 6.47±0.51 <sup>d</sup>   | 6.70±0.58 <sup>b</sup>  | 7.07±0.61 <sup>c</sup>   |
| 2 000.0                                    | 58.56±1.52 <sup>g</sup>        | 60.53±1.56 <sup>e</sup>  | 60.68±1.56 <sup>e</sup>  | 61.10±1.58 <sup>e</sup>  | 5.56±0.52 <sup>bc</sup> | 5.53±1.56 <sup>ad</sup>  | 5.68±1.56 <sup>ab</sup> | 6.10±1.58 <sup>ac</sup>  |

注:表中的值为平均数±标准差( $n=5$ );同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan's 多重比较,  $P<0.05$ )

Note: Values in the table are  $X\pm SE(n=5)$ ; figures with different superscript letters in the same column are significantly different ( $P<0.05$ )

### 3 讨论

#### 3.1 维生素C对七彩神仙鱼仔鱼血清替代途径补体活性的影响

补体系统是脊椎动物抵抗微生物感染的重要组成部分,它是由体液中的数十种具有酶活性的球蛋白组成的。与高等脊椎动物相同,有颌鱼类补体的生物学活性主要显示在两个方面:即由替代(抗体非依赖性)途径或经典(抗体依赖性)途径激活的细胞溶解作用和由被激活补体释放的片段所行使的调理作用。本试验所指的补体活性主要针对前者。

已有文献报道维生素C可影响鱼类的补体活性,如Ortuno等(1999)发现,用添加了维生素C的饲料投喂金头鲷 *Sparus aurata* L. 28 d后,其血清溶血补体活性才开始提高。这与本研究中12d开始就产生显著性差异不一致( $P<0.05$ ),可能是因为物种的差异造成的。花鲈 *Lateolabrax japonicus* (周立斌等 2008)幼鱼血清总补体活性也随着维生素C添加量的增加而显著升高,维生素C添加量达到396.4 mg/kg时,血清总补体活性较高。本研究结果显示,添加维生素C对七彩神仙鱼仔鱼血清的替代补体活力也产生了相似的作用。其中,活力最高的是添加量为1 500.0 mg/kg的Ⅷ组,其次是添加量为1 000.0 mg/kg的Ⅵ组,均显著高于其他各组( $P<0.05$ )。

至于维生素C影响鱼类补体活性的机理还不清楚,但Hardie等(1991)认为,维生素C是通过刺激经典途径的第一个组分的合成而影响补体系统的活性,详细的机理尚有待进一步研究。

#### 3.2 维生素C对七彩神仙鱼仔鱼的溶菌酶活性的影响

溶菌酶是一种分子量低、不耐热的碱性蛋白质,单核细胞、巨噬细胞及嗜中性粒细胞被认为是组织中产生溶菌酶的主要场所。已有报道,花鱼骨 *Hemibarbus maculatus* (王吉桥等 2009)鱼种血清中溶菌酶活性随饲料中维生素C含量的增加而极显著升高( $P<0.01$ ),当含量为2 857.00 mg/kg时达最大值。秦启伟等(2000)的研究也证实,饲料中添加维生素C能显著提高青石斑鱼 *Epinephelus awoara* 血清中溶菌酶的活性( $P<0.05$ )。这与本试验的结果吻合,当饲料中维生素C添加量为1 500.0 mg/kg(Ⅷ组)时,七彩神仙鱼仔鱼血清中溶菌酶活力达到实测数据的最大值。而添加量增加到2 000.0 mg/kg(Ⅸ组)时,溶菌酶活性反而显著低于Ⅷ组( $P<0.05$ )。因此饲料中适量的维生素C能够提高七彩神仙鱼仔鱼的血清中溶菌酶活力,维生素C缺乏和过量都会对七彩神仙鱼仔鱼的血清中溶菌酶活性带来不利影响。

时间对溶菌酶活性的影响,总体上与替代途径补体活性基本一致呈线性增长,但Ⅸ组在48 d时出现了少许下降。这可能是因为高浓度的维生素C长时间作用下,对血清溶菌酶活性产生了抑制作用。当然,也不能排除是测量时的误差造成的。

### 3.3 维生素C对七彩神仙鱼仔幼鱼白细胞吞噬活性的影响

白细胞被认为是维生素C的流动储藏库,因为维生素C在白细胞中的浓度可达 $60\sim 70\mu\text{g}/10^8$ 细胞,它是循环系统原生质中维生素C浓度的 $10\sim 40$ 倍。Ortuno等(2001)发现,饲料中添加高含量的维生素C( $3\ 000\text{mg}/\text{kg}$ )能够显著提高金头鲷 *Sparus aurata* L. 白细胞的呼吸暴发活性和吞噬活性。但常青等(2005)通过对大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 的研究发现,用维生素C含量为 $0\sim 2\ 500\text{mg}/\text{kg}$ 的配合饲料连续投喂70d后,其白细胞吞噬活性并无显著变化。而本研究结果表明,在七彩神仙鱼仔幼鱼的饲料中添加 $500.0\sim 1\ 000.0\text{mg}/\text{kg}$ 的维生素C在12 d时就能显著提高其白细胞的PP和PI( $P<0.05$ )。这可能是由于研究的物种、取样时间和饲养环境的不同而造成的结果差异。若按照本试验的条件连续投喂70 d,会对白细胞吞噬活性产生怎样的影响还有待进一步的研究。

维生素C作为水溶性的抗氧化剂在清除正常细胞活动过程中产生的有害自由基方面有重要作用,也许正是这种抗氧化功能能够通过维持免疫细胞功能和结构的完整而部分提高鱼体的免疫力。当饲料中缺乏维生素C时,鱼体免疫细胞活性降低,而当维生素C添加量增加到正常需要量的50到100倍时,免疫细胞的活性提高。

## 参 考 文 献

- 王吉桥,褚衍伟,张丽燕,程爱香,祁彩霞,李文宽,阎有利. 2009. 维生素C对花鱼骨鱼种生长和免疫指标的影响. 大连水产学院学报, 24(3): 213~219
- 尤宏争,赵子仪,崔培,韩雨哲. 2010. 维生素C对水产动物促生长和免疫增强功能的研究进展. 河北渔业, (6): 50~54
- 周立斌,张伟,王安利,马细兰,张海发,刘付永忠. 2008. 饲料维生素C对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)幼鱼生长和免疫的影响. 海洋与湖沼, 39(6): 671~677
- 周立斌,王安利,张伟,张海发. 2009. 饲料维生素E含量对美国红鱼生长和非特异性免疫的影响. 渔业科学进展, 30(1): 47~53
- 秦启伟,吴灶和,周永灿,潘金培. 2000. 饵料维生素C对青石斑鱼的非特异性免疫调节作用. 热带海洋学报, 19(1): 58~63
- 常青,梁萌青,王印庚,高淳仁,王家林. 2005. 饲料Vc对大菱鲆非特异性免疫力的影响. 海洋水产研究, 26(5): 22~26
- 常青,梁萌青,关长涛,姜泽明,张霖. 2010. 硒和维生素E对牙鲆生长和非特异性免疫力的影响. 渔业科学进展, 31(5): 91~96
- 潘璠. 2003. 七彩神仙鱼的繁殖与养殖. 水产养殖, 24(4): 5~7
- Fracalossi, D. M., Allen, M. E., Yuyama, L. K., and Oftedal, O. T. 2001. Ascorbic acid biosynthesis in Amazonian fishes. *Aquaculture*, 192(2-4): 321~332
- Hardie, L. J., Fletcher, T. C., and Secombes, C. J. 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 95(3-4): 201~214
- Montero, D., Marrero, M., Izquierdo, M. S., Robainac, L., Vergarac, J. M., and Torto, L. 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture*, 171(3-4): 269~278
- Ortuno, J., Cuesta, A., Esteban, M. A., and Meseguer, J. 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 79(3-4): 167~180
- Ortuno, J., Esteban, M. A., and Meseguer, J. 1999. Effect of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish and Shellfish Immunology*, 9(5): 429~443
- Pickering, A. D., Pottinger, T. G., Carragher, J., and Sumptera, J. P. 1987. The effects of acute and chronic stress on the levels of reproductive hormones in the plasma of mature male brown trout, *Salmo trutta* L. *General and Comparative Endocrinology*, 68(2): 249~259