

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

周立斌^{1,2} 王安利^{1*} 张 伟¹ 张海发³

(¹华南师范大学生命科学学院 广东省高等学校生态与环境科学重点实验室, 广州 510631)

(²惠州学院生命科学系, 516007)

(³广东省大亚湾水产试验中心, 惠州 516081)

摘要 采用单因子实验设计方法,进行了饲料中添加维生素 E 对美国红鱼生长(存活率、特定生长率和饲料效率)和非特异性免疫相关指标(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,设计了 5 个不同维生素 E 水平(0.1、25.3、51.0、102.8 和 203.2 mg/kg)的等氮等能饲料,对美国红鱼进行为期 56d 的生长实验,每个水平 3 个重复,每个养殖单元放养初始体重为 151g 左右的美国红鱼 20 尾。饲养实验在海水网箱(1.5 m×1.0 m×1.0 m)中进行。结果表明,随着饲料维生素 E 含量增加,美国红鱼饲料效率、特定生长率和成活率显著提高,美国红鱼最佳生长性能的饲料维生素 E 添加量为 102.8 mg/kg;美国红鱼血清溶菌酶和血清总补体活性随着维生素 E 的添加量的增加而显著升高,并且维生素 E 的添加量达到最高值 102.8 和 25.3 mg/kg,随后变化不明显;美国红鱼血清 SOD 活性随维生素 E 添加量的增加而显著升高,并且含量在 102.8 mg/kg 达到最高值,随后显著下降。综上所述,美国红鱼维生素 E 的适宜添加量为 102.8 mg/kg。

关键词 美国红鱼 维生素 E 生长 免疫力

中图分类号 S966.12 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)01-0047-07

Effects of dietary vitamin E levels on growth and nonspecific immunity of red drum *Sciaenops ocellatus*

ZHOU Li-bin^{1,2} WANG An-li^{1*} ZHANG Wei¹ ZHANG Hai-fa³

(¹Key Laboratory of Ecology and Environmental Science in Guangdong Higher Education,

College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631)

(²Department of Life Science, Huizhou University, 516007)

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

ABSTRACT A single-factor experiment was conducted to study the effects of dietary vitamin E on growth(feed efficiency ratio(FER), specific growth rate(SGR) and survival rate(SR))and nonspecific immunity (lysozyme activity, total complement activity and superoxide dismutase

国家科技支撑计划项目(2007BAD29B04)、广东省科技计划重大专项(2007A03260004)、广东省科技计划项目(2007B020708013)和广东省重大科技兴海(兴渔)项目(A200501G01)共同资助

* 通讯作者。wanganl@scnu.edu.cn

收稿日期:2007-10-25;接受日期:2007-12-24

作者简介:周立斌(1972-),男,博士,副教授,主要从事水产动物营养与免疫研究。E-mail:zlb@hzu.edu.cn, Tel:(0752)2527603

(SOD) activity) of red drum *Sciaenops ocellatus* L., Five iso-nitrogenous and iso-energetic diets at levels of 0.1, 25.3, 51.0, 102.8 and 203.2 mg/kg vitamin E were fed twice a day (07:30 and 16:30). Triplicated groups of 20 fish at initial body weight of about 151g were fed with the diets in the levels for 8 weeks. The experiment was done in floating net cages (1.5 m × 1.0 m × 1.0 m). Results indicated that the feed efficiency ratio, specific growth rate and survival rate increased significantly with the increase of vitamin E supplement level in diet after 8 weeks of the feeding trial, the optimal vitamin E for growth of red drum was about 102.8 mg/kg; the lysozyme activity and total complement activity of serum in red drum increased significantly with the increase of vitamin E supplement level in diet, and the red drum had the maximal level of lysozyme activity and total complement activity when fed by 102.8 and 25.3 mg/kg V_E , then the change of lysozyme and total complement activity were not significant; the SOD activity of serum in red drum increased significantly with the increase of vitamin E supplement level in diet, and the red drum had the maximal level of SOD activity when fed by 102.8 mg/kg V_E then decreased significantly. In general, it was showed that the optimal vitamin E for red drum growth was about 102.8 mg/kg.

KEY WORDS Red drum *Sciaenops ocellatus* Vitamin E Growth Immunity

美国红鱼,学名眼斑拟石首鱼 *Sciaenops ocellatus*,属鲈形目 Perciformes 石首鱼科 Sciaenidae、拟石首鱼属 *Sciaenops*。该鱼自 20 世纪 90 年代初从美国引进后,在我国沿海迅速得以推广。有关美国红鱼生物学和养殖技术的研究很多,但营养需求的研究并不多(邓锦锋等 2006),目前生产中饲养美国红鱼多采用冰鲜杂鱼。美国红鱼对维生素 E 的需要量迄今尚未见完整报道,本实验研究在配合饲料中添加不同剂量的维生素 E 对美国红鱼生长和免疫力的影响,以期对美国红鱼饲料配制和疾病防治提供必要的理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼及实验设计

试验于 2006 年 8~10 月在广东大亚湾水产试验中心进行,美国红鱼购自大亚湾海区,先放入暂养池中用基础饲料(表 1)驯养 14 d,让其适应试验条件和消耗体内维生素 E。试验分为 5 组,每组 3 个重复,将平均体重为 150.61 ± 6.5 g 的 300 尾美国红鱼随机分在 15 个 $1.5 \text{ m} \times 1.0 \text{ m} \times 1.0 \text{ m}$ 的网箱中,每箱 20 尾,每组试验鱼初重差异不显著。以维生素 E 醋酸酯(罗氏公司提供)作为维生素 E 添加源,1~6 号试验饲料中维生素 E 按 0.1、25.3、51.0、102.8 和 203.2 mg/kg(实际维生素 E 含量,非维生素 E 醋酸酯添加量)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 0.45 mm 的分析筛,再用绞肉机制成直径 2.5 mm 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 E 含量为 0.1、25.3、51.0、102.8、和 203.2 mg/kg,分别用 $E_{0.1}$ 、 $E_{25.3}$ 、 $E_{51.0}$ 、 $E_{102.8}$ 和 $E_{203.2}$ 来表示。

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自来水;水温 26.5~32.5℃左右,露天养殖,自然光照。水体溶氧(DO) ≥ 6 mg/L,盐度 28~29, $\text{NH}_4^+ - \text{N} \leq 1.8$ mg/L。水体处于微流水状态。

饲养试验前 28d 每天按照鱼体总重的 3.0%投喂,后 28d 按 2.0%投喂,同时参照前一天情况调整投喂量,每天投喂两次(9:30 和 16:30),每次分 3 遍投喂,每遍间隔时间为 10 min。投喂完 1.5 h 后用虹吸法吸走鱼

体排泄物。

1.3 指标测定

1.3.1 生长指标测定

经过 56d 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:

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

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

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

式中, W_t 为第 t 天后个组鱼体总重(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 为第 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 为第 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 E、粗蛋白、粗脂肪、水分和粗灰分的测定按照国标 GB/T17812-1999、GB/T6432-1994、GB/T6433-1994、GB/T6435-1986 和 GB/T6438-1992 方法测定(中国饲料工业协会 2002)。

1.3.3 血清样品的制备和溶菌酶活性、SOD 活性和总补体活性的测定

(1) 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 2 000r/min 离心 15 min 以制成血清供免疫学指标的检测。

(2) 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(1995)的方法。溶壁微球菌冻干粉称取 100

mg 溶于 150 ml 的 1/15mol, pH 6.4 的 PBS 缓冲液中,摇匀测吸光值 0.3,放入冰箱,用时摇匀,取 2 ml 微球菌悬液放入试管中,冰浴。加入 200 μ l 血清混匀,测 A_0 值。然后将试管放入 37℃ 水浴中 30 min,取出冰浴 10 min,570 nm 测 A 值。

$$\text{活力 } U_L = (A_0 - A) / A_0$$

(3) 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成正比例关系。将新鲜待测血清做不同稀释处理后,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 CH_{50} 。参照柳忠辉等(2002)方法(略作修改)。

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

(4) 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进行。在 9ml Tris-HCl 缓冲液中预先加入 200 μ l 待测样品的 SOD 酶液,用上述方法测定样品 A_s 。

表 1 基础饲料组成及营养水平

Table 1 Composition of the basal diet and nutrition level

原料 Ingredient	百分率(%) Percentage	营养成分 Nutrition composition	水平 Level
鱼粉 White fish meal	50	干物质 Dry matter	91.27
豆粕 Soybean meal	9	粗蛋白 Crude protein	43.74
酵母粉 Beer yeast	3	粗脂肪 Crude lipid	12.61
小麦粉 Wheat meal	25.7	粗灰分 Crude ash	10.78
豆油 Soybean oil	2.5		
鱼油 Fish oil	3		
添加剂 Attractant	0.3		
卵磷脂 Lecithin	2.5		
矿物质预混料 Mineral premix	2		
维生素预混料 Vitamin premix	2		

注:添加剂为甘氨酸和甜菜碱。矿物质预混料(mg/kg 预混料): NaF 2; KI 0.8, CoCl₂ · 6H₂O 50, CuSO₄ · 5H₂O 10, FeSO₄ · H₂O 80, ZnSO₄ · H₂O 50, MnSO₄ · H₂O 60, MgSO₄ · 7H₂O 1 200, Ca(H₂PO₃)₂ 3 000, NaCl 100 zoelite 15 450

维生素预混料(mg/kg 预混料): 维生素 B₁ 25, 核黄素 45, 维生素 B₆ (盐酸吡哆辛) 20, 维生素 B₁₂ 0.1, 维生素 K₃ 10, 肌醇 800, 泛酸 60, 烟酸 200, 叶酸 20, 生物素 1.20, 维生素 A 32, 维生素 D₃ 5, 维生素 C 2 000, 氯化胆碱 2 500, 乙氧基奎宁 150, 次粉 18 520

$$\text{抑制率} = (A_0 - A_s) / A_0 \times 100\%$$

$$\text{SOD 单位活性 (U/ml)} = ((A_0 - A_s) / A_0) \times (N/V) \times 18$$

式中, V 为加样体积(ml); N 为样品稀释倍数; A_0 为测定邻苯三酚自氧化率时 420nm 处的吸光度; A_s 为加入样品后测定邻苯三酚自氧化率时 420nm 处的吸光度。

1.4 数据处理统计

实验所得数据均以平均值±标准误(Mean±SE), 采用 SPSS11.0 软件统计包中的单因素方差分析和 Duncan's 法检验, 当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

2 结果

2.1 美国红鱼生长和非特异免疫相关指标的统计分析

本研究在对美国红鱼生长与非特异免疫有关的指标测定的基础上, 进行了数据的统计分析, 结果见表 2。

表 2 不同水平饲料维生素 E 处理对美国红鱼生长及非特异免疫的影响
Table 2 Effect of different levels of dietary vitamin E on growth and nonspecific immunity of red drum

维生素水平(mg/kg) Vitamin level	E _{0.1}	E _{25.3}	E _{51.0}	E _{102.8}	E _{203.2}
初重(g) Initial weight	155.69±20.12 ^a	153.83±16.23 ^a	158.03±15.21 ^a	137.94±14.56 ^a	147.58±13.53 ^a
末重(g) Final weight	239.82±18.36 ^a	261.70±23.55 ^a	296.56±27.11 ^b	268.74±25.42 ^b	284.77±30.33 ^b
增重率(%) Weight rate	54±4.79 ^a	70±6.93 ^b	88±5.67 ^c	95±10.07 ^c	93±8.69 ^c
饲料效率(%) Feed efficiency ratio	59±6.72 ^a	73±5.46 ^b	70±7.05 ^c	78±6.83 ^c	76±7.17 ^c
特定生长率(%) Specific growth rate	0.72±0.041 ^a	0.89±0.073 ^b	1.05±0.098 ^c	1.11±0.083 ^c	1.10±0.079 ^c
成活率(%) Survival rate	61±4.92 ^a	88±7.89 ^b	86±6.65 ^b	90±7.73 ^b	88±6.47 ^b
溶菌酶活性(IU/ml) Lysozyme activity	1.01±0.13 ^a	1.32±0.16 ^b	1.36±0.15 ^b	1.56±0.13 ^c	1.51±0.13 ^c
总补体活性(U/ml) Total complement activity	33.12±3.41 ^a	52.53±3.49 ^b	48.87±4.16 ^b	50.92±6.29 ^b	54.32±5.72 ^b
超氧化物歧化酶(U/ml) SOD	87.71±7.69 ^a	157.26±13.36 ^c	158.47±10.87 ^c	154.65±12.30 ^c	105.71±11.68 ^b

注: 同一行中具不同字母标记的值表示差异显著($P < 0.05$)

2.2 维生素 E 不同添加量对美国红鱼生长性能的影响

从表 2 中可以看出, 饲料中添加维生素 E 明显影响饲料效率和特定生长率, 维生素 E 添加量低于 51.0mg/kg 时, 美国红鱼饲料效率和特定生长率随维生素 E 含量增加而增加, 但当饲料维生素 E 含量达到 51.0 mg/kg 时, 美国红鱼饲料效率和特定生长率不再继续明显上升, 并且饲料效率和特定生长率在饲料维生

素 E 含量为 203.2 mg/kg 时略有下降。因此,维生素 E 含量在 51.0 mg/kg 时可使美国红鱼获得比较理想的生长速度,并且比较经济。饲料中添加维生素 E 能显著提高美国红鱼成活率,饲料维生素 E 含量达到 25.3 mg/kg 时,美国红鱼成活率不再继续明显上升。

2.3 维生素 E 不同添加量对美国红鱼血清溶菌酶活力、总补体活性和超氧化物歧化酶活性的影响

不同维生素 E 水平的饲养 56d 后,美国红鱼血清溶菌酶活力、超氧化物歧化酶活性和总补体活性的测定结果见表 2。从表 2 可以看出,溶菌酶活性随维生素 E 添加量增加而显著增高,当维生素 E 添加量达到 102.8 mg/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随着维生素 E 添加量的增加总补体活性显著升高,当维生素 E 添加量达到 25.3 mg/kg 后,血清总补体活性较高,此后没有显著性的变化。饲料维生素 E 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 E 添加量增加而升高,当维生素 E 添加量达到 51.0 mg/kg 超氧化物歧化酶活性最高,当维生素 E 添加量达到 203.2 时,又显著降低。

3 讨论

3.1 维生素 E 与美国红鱼生长性能的关系

维生素 E(又称生育酚)作为一种重要的抗氧化剂(Palace 1998),能促进性腺发育,提高繁殖力,并且促进水产动物生长,提高饲料利用率,间接提高水产动物机体免疫力,改善水产品品质。本实验结果表明,饲料中添加维生素 E 能显著提高美国红鱼的饲料系数、特定生长率和成活率,而且对美国红鱼各项生长指标影响的变化趋势基本一致。Wassef 等(2001)研究表明,饲料中添加维生素 E 可促进鲮鱼幼苗的生长,Chen 等(2004)报道,饲料中维生素 E 添加量达到 80IU/kg 时,能显著促进幼尼罗罗非鱼的生长,Sau 等(2004)也曾报道饲料中维生素 E 含量达到 100~200mg/kg 时能显著提高南亚野鲮的增重率和饲料效率,而在许氏平鲈 *Sebastes schlegeli* Higendorf 中,维生素 E 醋酸酯为 5 mg/kg 时生长最快,但添加 500 mg/kg 却明显抑制了其生长(Bai *et al.* 1998)。这些研究表明,适量的维生素 E 能促进机体生长,维生素 E 缺乏,可能会引起动物体内过多产生有毒的脂质过氧化物,使机体处于一种不良的生理状态,从而导致动物的增重率降低、饲料效率下降;而维生素 E 过量也可能会影响动物的生长发育和成活率。本实验中当饲料中维生素 E 添加量超过 51.0 mg/kg 时,美国红鱼的饲料系数、特定生长率增加不明显,有些指标随着维生素 C 添加量的增加反而有所下降,因此美国红鱼饲料中维生素 E 添加量应适当。

3.2 维生素 E 与美国红鱼免疫力相关指标的关系

溶菌酶是一种低分子量不耐热的碱性蛋白,主要来源于吞噬细胞,Marja 等(1992)报道,在一定程度上,血清中溶菌酶活力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。有研究表明,虹鳟饲料中添加维生素 E 能显著增加血清中溶菌酶活性,而添加摄食不含维生素 E 饵料 80d 后,其血清溶菌酶活性会削弱(Clerton *et al.* 2001)。本次试验发现,饲料中添加维生素 E 能显著提高美国红鱼血清溶菌酶活性,溶菌酶活性随着饲料中维生素 E 添加量的增加而升高,表明维生素 E 能显著影响美国红鱼溶菌酶活性,但维生素 E 添加量并不是越多越好,在虹鳟中,摄食维生素 E 含量为 295 mg/kg 饲料的鱼血清溶菌酶活性较摄食 28 mg/kg 组低(Clerton *et al.* 2001)。本实验中,当美国红鱼维生素 E 添加量达到 203.2mg/kg 时,血清溶菌酶活性反而有所降低,提示我们美国红鱼饲料中维生素 E 添加量应适当。

补体是一种非常重要的非特异性体液免疫因子。有研究表明,在饲料中添加 300mg/kg 的维生素 E 能显著提高尖吻鲈的补体活性(Obach *et al.* 1993),600 mg/kg 的维生素 E 对金头鲷血清的补体活性没有影响(Ortuno *et al.* 2000),但 1 200mg/kg 的维生素 E 却能明显促进之(Ortuno *et al.* 2001)。Montero 等(1998)报道,当饲料维生素 E 添加量为 600mg/kg 时,不能提高虹鳟的补体活性,当添加量提高到 1 200mg/kg 时,补体活性才显著提高。本试验中,维生素 E 添加量达到 25.3mg/kg 后,血清总补体活性显著升高,此后没有显著性的变

化,表明在饵料中添加维生素 E 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 E 缺乏或不足都会影响美国红鱼非特异性免疫功能。

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 *et al.* 2000)。王雷等(1994)的研究也表明了超氧化物歧化酶活性与水生动物的免疫水平密切相关。Lee 等(2004)报道,用含 50~200mg/kg 维生素 E 的饲料投喂斑节对虾,其 SOD 活性显著高于投喂含 25mg/kg 以下和 400mg/kg 以上的维生素 E 饲料的斑节对虾的 SOD 活性,维生素 E 还可诱导鲤鱼显著增加 SOD 的产生能力(蔡中华等 2001),本实验中,美国红鱼血清中超氧化物歧化酶活性随饲料维生素 E 含量的增加而逐渐升高,当添加量增加到 203.2mg/kg 时,美国红鱼血清中超氧化物歧化酶活性开始显著降低,表明饲料中添加适量维生素 E 能显著提高超氧化物歧化酶活性,从而增强美国红鱼的免疫水平。

3.3 饲料中最适维生素 E 含量的确定

不同养殖鱼类生长的最适维生素 E 添加量不同。Lin 等(2005)研究发现,石斑鱼生长的最适维生素 E 添加量在油脂含量为 4%~9%,两种基础饲料中分别是 61~68 mg/kg 和 104~115 mg/kg,而南亚野鲮饲料中添加维生素 E 的最适量是 131.91 mg/kg(Sau *et al.* 2004)。本实验中,维生素 E 添加量达到 102.8mg/kg 饲料时,美国红鱼饲料系数、特定生长率和成活率都有显著性的提高,因此初步可以判断,美国红鱼生长性能最佳的饲料维生素 E 需要量是 102.8mg/kg 左右。从免疫方面考虑,不同养殖鱼类对饲料维生素 E 的最适免疫需要量不同,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 E 含量为 250 mg/kg 的饲料时,耐密集和抗病力较强;摄食维生素 E 含量为 300mg/kg 的饲料时,头肾白细胞的吞噬活性、呼吸暴发活力较强(Mulero *et al.* 1998;Ortuno *et al.* 2001)。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数据来看,美国红鱼免疫力在一定范围内随维生素 E 增加而提升:在饲料维生素 E 为 102.8~203.2 mg/kg 时,溶菌酶活性较高,总补体活性则是在 25.3~203.2mg/kg 较高,而超氧化物歧化酶活性在 25.3~102.8mg/kg 处于较高水平,综合各免疫力指标可以认为,饲料维生素 E 达到 102.8 mg/kg 时就可使美国红鱼获得较强的抗病力。综上所述,美国红鱼饲料维生素 E 需要量为 100 mg/kg 左右,可以使美国红鱼获得较好的生长和较强的抗病力。

参 考 文 献

- 蔡中华,邢克智,董双林. 2001. 维生素 E 对鲤鱼健康的影响. 动物学报,47(专刊):120~124
- 邓锦锋,王安利. 2006. 美国红鱼营养研究进展. 水利渔业,26(2):75~78
- 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
- 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
- 柳忠辉,吕昌龙. 2002. 免疫学常用实验技术. 北京:科学出版社
- 王雷. 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,3(2):179~185
- 王雷,李光友,毛远兴. 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
- Bai, S., and Lee, K. J. 1998. Different levels of dietary DL- α -tocopherol acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. Aquaculture,161:405~414
- Clerton,P., Troutaud,D., Verlhac, V., Ganaudan,J., and Deschaux,P. 2001. Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions;Effect on gut and on head kidney leucocytes. Fish & Shellfish Immunology,11:1~13
- Huang, C. H., and Lin, W. Y. 2004. Effects of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, fed oxidized oil. Aquaculture,237:381~389
- Lin, Y. H., and Shiau, S. Y. 2005. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels and their effects on immune responses. Aquaculture,248:235~244
- Marja,M., and 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
- Montero,D., Marrero,M., and Izquierdo,M. S. 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*, 168:269~278
- Mulero, V., Esteban, M. A., and Meseguer, J. 1998. Effects of in vitro addition of exogenous vitamins C and E on gilthead seabream(*Sparus aurata* L.) phagocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 66(2):185~199
- Munozm and Cedenor. 2000. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp. *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 191:89~107
- Obach, A., Quentel, C., and Laurencin, F. B. 1993. Effects of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of seabass *Dicentrarchus labrax*. *Diseases. Aquatic. Organisms*, 15(3):175~185
- Ortuno, J., Cuesta, A., and Esteban, M. A. 2001. Effects of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream(*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 167~180
- Ortuno, J., Esteban, M. A., and Mesequer, J. 2000. High dietary intake of alpha-tocopherol acetate enhances the non-specific immune response of gilthead seabream(*Sparus aurata* L.) *Fish & Shellfish Immunol.* 10(4):293~407
- Ortuno, J., Guesta, A., and Angeles-Eseban, M. 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 79(3-4):167~180
- Palace, V. P. 1998. An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from Lake Ontario. *Aquat. Toxicol.* 43 (2-3):195~208
- Sau, S. K., Paul, B. N., Mohanta, K. N., and Mohanty, S. N. 2004. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. *Aquaculture*, 240:359~368
- Wassef, E. A., Masry, E. L., and Mikhail, F. R. 2001. Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L. fingerlings by feeding algal meal-based diets. *Aquaculture Research*, 32(supplement):315~322