维生素 C 对凡纳滨对虾生长及抗病力的影响

周歧存[1,2] 艾 庆[2] 郑石轩[3] 苏树峰[2] 张 磊[2]
(1. 中山大学生命学院, 广州 510275; 2. 湛江海洋大学水产学院, 湛江 524025;
3. 湛江市水产动物饲料研究开发中心, 湛江 524002)

摘要: 以不同水平维生素 C-2-磷酸酯(添加量分别为 0、75、150、300 和 600mg/kg)的饲料喂养凡纳滨对虾 10 周, 研究维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾生长及抗病力的影响。结果显示: 在养殖前 4 周, 饲料中添加维生素 C-2-磷酸酯显著促进凡纳滨对虾的生长, 然而对对虾的成活以及饲料利用不产生影响($P > 0.05$); 而到实验后期添加维生素 C-2-磷酸酯不能促进凡纳滨对虾的生长, 却显著提高凡纳滨对虾的成活率($P < 0.05$)。维生素 C-2-磷酸酯对对虾体水分、脂肪、蛋白质和维生素 C 在肝胰脏中的积累量的影响显著($P < 0.05$), 对对虾体灰分影响不显著($P > 0.05$)。维生素 C-2-磷酸酯对对虾血清中超氧化物歧化酶活力无显著影响, 饲料中未添加维生素 C 或过量添加(超过 300mg/kg 饲料)均导致血清中酚氧化酶活力、血细胞总数和溶菌酶活力的显著下降。以生长、成活和酚氧化酶活力为指标, 饲料中维生素 C-2-磷酸酯的适宜添加量为 150mg/kg。

关键词: 凡纳滨对虾; 维生素 C; 生长; 抗病力
中图分类号: S966.12 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2004)06-0592-07

当前在水产养殖过程中由于滥用抗生素而导致水产品尤其是养殖对虾出口不畅, 从而严重制约了对虾养殖业的健康发展。如何减少或不使用抗生素而又能保持对虾具有较高的抗病力成为营养学研究者关注的问题之一。维生素 C 是对虾生长发育和维持正常生理功能所不可缺少的营养物质, 而且还具有提高对虾抗应激能力和抗病力[1—4]。近二十年来, 若干科学工作者确定了中国对虾[5,6]、斑节对虾[7—11]、日本对虾[12—14]和凡纳滨对虾[15]维生素 C 的需要量, 然而由于研究者所用的维生素 C 剂型不同, 得出的结论相差很大。徐志昌等认为维生素 C 对中国对虾具有明显的促进生长以及提高存活率的作用, 适量的维生素 C 能促进对虾蜕壳。韩阿寿等指出维生素 C 对斑节对虾具有明显的促生长作用, 以生长为指标斑节对虾对维生素 C 的适宜需要量为 600mg/kg 饲料。王伟庆和李爱杰研究了维生素 C 对中国对虾生长、缺氧耐受力及免疫抵抗力的影响, 实验结果表明维生素 C 能够显著提高中国对虾的缺氧耐受力以及免疫抵抗能力。He 等研究了不同生长阶段凡纳滨对虾(初始体重分别为 0.1g 和 0.5g)维生素 C 的需要量, 结果表明, 饲料中添加维生素 C 能够显著提高凡纳滨对虾的成活率, 维持凡纳滨对虾正常生长的维生素 C 添加量分别为 120mg/kg 饲料和 41mg/kg 饲料, 而以对虾肝胰脏中维生素 C 的积累量为指标, 则分别为 120mg/kg 饲料和 90mg/kg 饲料。

由于纯维生素 C 粉在常态下极不稳定, 易被还原或破坏, 失去生理效能, 以致影响饲料的效果, 现在各国都在研制稳定型的维生素 C, 以避免维生素 C 在饲料加工、储藏过程中受湿热等因素的影响而破坏维生素 C 的效价。本实验以维生素 C-2-磷酸酯为维生素 C 源, 研究不同水平维生素 C 对凡纳滨对虾生长和抗病力的影响, 为获得凡纳滨对虾商业饲料中维生素 C 的适宜添加量提供依据。

1 材料与方法

1.1 饲料配制 实验在广东湛江市水产动物饲料工程技术研究开发中心东海岛试验基地进行。实验

收稿日期: 2003-06-04; 修订日期: 2004-05-15
基金项目: 广东省科技攻关项目(编号 2002C20325)资助
作者简介: 周歧存(1967—), 男, 安徽舒城人, 中山大学在职博士, 主要从事水产动物营养与饲料学的研究
E-mail: qicunzhou@163.net

挑选外观正常, 体质健壮, 尾均体重 0.06g 左右的凡纳滨对虾苗作为实验用虾。各饲料原料粉碎过 60 目筛, 微量成分采取逐级扩大法添加与大原料混合均匀后, 用双螺杆制粒机挤压成 1.2mm 和 1.5mm 两种粒径的颗粒饲料, 风干后放入冰箱中冷冻备用。实验饲料配方见表 1。

表 1　实验饲料配方组成

Tab.1　Formulation of the experimental diets (g/kg diet)

原料 Ingredients	饲料号 Diets				
	1#	2#	3#	4#	5#
秘鲁鱼粉 Fish meal	350.00	350.00	350.00	350.00	350.00
豆粕 Soybean meal	150.00	150.00	150.00	150.00	150.00
花生粕 Peanut meal	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
鱿鱼肝脏粉 Squid liver meal	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
面粉 Wheat flour	175.00	174.925	174.70	174.55	174.40
啤酒酵母 Yeast powder	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
虾壳粉 Shrimp shell meal	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00
鱼油和豆油(1∶1) Fish oil and soy oil	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
维生素混合物 Vitamin mix*	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
矿物质混合物 Mineral mix**	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
氯化胆碱 Choline chloride	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
大豆磷脂 Soy lecithin	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
磷酸二氢钙 Moncalcium phosphorus	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
维生素 C-2-磷酸酯 Ascorbic acid polyphosphate	0.00	0.075	0.15	0.30	0.60

*, ** 参照周歧存等[16](2000)

1.2　分组　实验选用维生素 C-2-磷酸酯(罗氏公司生产, 有效含量为 35%)作为维生素 C 源, 饲料中添加水平为 0、75、150、300、600mg/kg 饲料, 每个处理设三个重复, 每个玻璃钢桶放养凡纳滨对虾 30 尾。玻璃钢桶水容量为 0.3m^3。实验用虾先暂养 7d 后, 称初始体重, 然后平均分组。实验采用定量投喂, 投喂率初期按 10%, 后期按 8%。投饲时间分别为 6∶00、10∶00、15∶00、19∶00、23∶00, 早晚的投喂量占日投喂量的 60%—70%。每周根据对虾生长状况, 相应调节投饲量。称终末体重前 24h 停止投喂。实验全过程不断充气增氧, 每天换水一次。实验期间水温 27.2±1.5℃, 海水比重 1.012±0.002。

1.3　样品采集及分析　实验结束时, 称重计数, 随机抽取 5 尾虾作为测定对虾肝胰脏中维生素 C 的材料, 取 5—8 尾对虾用于全虾体成分分析, 水分含量用 105℃常压干燥法, 总灰分含量用 550℃高温炉灼烧法, 粗脂肪含量用索氏抽提法测定, 粗蛋白的测定方法用微量凯氏定氮法, 肝胰脏中维生素 C 积累量的测定采用 2, 4-二硝基苯肼法[17]。

增重率(%)=(终末体重−初始体重)×100/初始体重

成活率(%)=实验结束时虾尾数×100/实验开始时放虾尾数

饲料系数(FCR, %)=摄食量/(终末体重−初始体重)

蛋白质效率(PER, %)=(终末体重−初始体重)×100/(饵料摄食量×蛋白质含量)

1.4　与抗病力相关酶活力测定　每组取 5—8 尾对虾, 用 1mL 注射器从心脏取血, 置于 Eppendorf 管中, 在 4℃冰箱中静置 12h 后离心, 取上清液备用。超氧化物歧化酶活力按邓碧玉等[18]改良的连苯三酚自氧化法测定。酚氧化酶活力参照 Ashida[19]以 L-dopa为底物比色的方法测定。溶菌酶活力的测定按王雷等[20]将二次活化的溶壁微球菌(中国科学院微生物研究所提供)接种于牛肉膏蛋白胨固体培养基培养 48h, 取出后离心, 收集菌体, 再按 Hultmark 等[21]人的方法改进, 用 0.1mol/L 的磷酸钾盐缓冲液(pH=6.4)稀释至 A_{570nm}=0.3, 配成底物悬液供测试用, 按该方法规定条件, 溶菌酶活力(U/mL)=$(A_0-A)/A_0$。

1.5　数据的统计分析　采用"Microsoft Excel"软件对数据进行统计学分析, 先对数据作单因素方差分析(ANOVA), 处理间若有显著差异, 再作 Duncan's

多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾生长、存活率的影响

维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾生长及成活的影响见表 2, 从表 2 可以看出饲料中添加不同水平的维生素 C-2-磷酸酯, 凡纳滨对虾增重率和成活率不同时期表现出较大的差异。在实验前 4 周, 饲料中添加维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾的增重率的影响显著($P < 0.05$), 饲料中未添加维生素 C 组增重率显著低于添加量为 150mg/kg 饲料组, 然而随着饲料中维生素 C 添加量的提高, 增重率反而显著降低, 饲料中添加量为 600mg/kg 饲料组凡纳滨对虾的增重率甚至低于未添加维生素 C 组, 尽管组间差异不显著; 而到了实验后期, 维生素 C 对凡纳滨对虾的生长不产生影响, 增重率各组间差异不显著($P > 0.05$)。维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾成活率的影响趋势同增重率相反, 实验初期饲料中添加维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾的成活率不产生影响, 各组成活率较高; 而到了实验后期, 饲料中添加维生素 C 对凡纳滨对虾成活率的影响显著($P < 0.05$), 饲料中未添加维生素 C 组的成活率显著低于各添加组, 然而各添加组之间差异不显著。

表 2 饲料中维生素 C-2-磷酸酯添加水平对凡纳滨对虾生长、存活的影响

Tab. 2 Growth and survival of shrimp fed diets containing different supplementation levels of vitamin C

维生素 C 添加水平(mg/kg) Vitamin C supplementation levels	初始体重(g) Initial weight	增重率 Weight gain rate(%)		成活率 Survival rate(%)	
		4 周	10 周	4 周	10 周
0	0.067±0.001	1870.07±14.82^{a}	9444.57±770.78	100.00±0.00	80.00±3.33^{a}
75	0.066±0.001	1824.62±154.58^{a}	9293.09±511.25	98.89±1.92	96.67±3.34^{b}
150	0.067±0.001	2152.32±39.99^{c}	9437.10±435.69	98.89±1.92	98.89±1.92^{b}
300	0.068±0.001	1968.62±97.56^{b}	9660.70±259.70	98.89±1.92	97.78±1.92^{b}
600	0.067±0.000	1872.09±196.14^{a}	9625.07±164.02	100.00±0.00	93.33±8.82^{b}
ANOVA					
F	1.150	3.498	0.059	0.500	8.362
P	0.388	0.049	0.993	0.737	0.003

注: 表中的值为平均数±标准差(n=3); 同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan 多重比较, $P < 0.05$)

2.2 维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾饲料利用及肝胰脏中积累量的影响

饲料中添加维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾饲料利用和肝胰脏中维生素 C 积累量的影响结果见表 3。无论在实验前期还是后期, 饲料中添加维生素 C 对凡纳滨对虾饲料系数和蛋白质效率均不产生显著影响($P > 0.05$)。在实验前期, 饲料中添加维生素 C-2-磷酸酯 150mg/kg 饲料组的饲料系数最低, 而蛋白质效率最高; 而到实验后期, 饲料中未添加维生素 C 组饲料系数最高, 蛋白质效率最低, 尽管这种差异不显著($P > 0.05$)。表 3 结果表明随着饲料中维生素 C-2-磷酸酯水平的提高, 对虾肝胰脏中维生素 C 的积累量显著提高($P < 0.05$), 饲料中未添加维生素 C 组凡纳滨对虾肝胰脏中维生素 C 积累量最低, 添加量为 600mg/kg 饲料组肝胰脏维生素 C 积累量最高。

2.3 维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾体主要组成成分的影响

饲料中添加维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾体主要组成成分的影响见表 4, 从表 4 中可看出饲料中添加维生素 C 对凡纳滨对虾体水分、脂肪和蛋白质等的影响显著($P < 0.05$)。随着饲料中维生素 C 水平从 0 提高到 300mg/kg 饲料时, 对虾体水分含量显著降低, 而随着饲料中维生素 C 水平的进一步提高, 对虾体水分含量显著上升。而对虾体脂肪含量以饲料中添加维生素 C 150mg/kg 组最高, 饲料中未添加组最低。对虾体蛋白质含量的变化趋势是饲料中维生素 C 未添加组的蛋白质含量最低, 饲料中添加 150mg/kg 饲料组蛋白质含量最高, 而随着维生素 C 水平的增加蛋白质含量却有降低的趋势。对虾体灰分含量不受饲料中维生素 C 添加与否的影响, 各组间差异不显著, 尽管灰分含量有增加的趋势。

表 3　维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾饲料利用及肝胰脏中维生素 C 的积累量的影响

Tab. 3　Feed utilization and hepatopancreas ascorbic acid concentration of shrimp fed diets containing different supplementation levels of vitamin C

维生素 C 添加水平(mg/kg) Vitamin C supplementation levels	饲料系数(FCR)		蛋白质效率(PER)		肝胰脏维生素 C 积累量 Ascorbic acid concentration in hepatopancreas(mg/100g)
	4 周	10 周	4 周	10 周	
0	1.057±0.006	1.568±0.150	2.360±0.017	1.604±0.147	1.520±0.452[a]
75	1.110±0.095	1.343±0.098	2.260±0.191	1.869±0.135	2.092±0.369[ab]
150	0.983±0.076	1.284±0.081	2.557±0.181	1.952±0.123	2.499±0.346[bc]
300	1.007±0.032	1.246±0.027	2.493±0.085	2.007±0.044	2.888±0.131[cd]
600	1.063±0.118	1.364±0.215	2.370±0.243	1.861±0.269	3.183±1.069[d]
ANOVA					
F	1.248	2.730	1.517	2.780	3.987
P	0.352	0.090	0.270	0.086	0.035

注: 表中的值为平均数±标准差(n=3); 同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan 多重比较, $P<0.05$)

表 4　维生素 C-2-磷酸酯对凡纳滨对虾体组成成分的影响

Tab. 4　Whole body composition of shrimp fed diets containing different supplementation levels of vitamin C

维生素 C 添加水平(mg/kg) Vitamin C supplementation levels	水分(%) Moisture	脂肪(%) Lipid content	蛋白质(%) Protein content	灰分(%) Ash content
0	72.36±0.51[ab]	8.00±0.29[a]	67.39±1.17[a]	10.90±0.30
75	73.21±0.22[bc]	9.90±0.04[c]	70.66±0.07[b]	11.52±0.50
150	71.81±0.92[a]	9.13±0.11[b]	67.72±2.20[a]	10.57±0.18
300	73.85±0.49[c]	9.13±0.06[b]	70.16±0.51[b]	11.46±0.46
600	72.95±1.03[bc]	9.04±0.05[b]	69.44±0.55[b]	11.27±0.43
ANOVA				
F	3.778	67.127	4.688	31132
P	01040	01000	01022	01065

注: 表中的值为平均数? 标准差(n=3); 同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan 多重比较, $P<0105$)

214　维生素 C222磷酸酯对凡纳滨对虾抗病力的影响

饲料中添加维生素 C222磷酸酯对凡纳滨对虾抗病力的影响结果见表 5。凡纳滨对虾血清中溶菌酶和酚氧化酶活力受饲料中添加维生素 C222磷酸酯的影响显著($P<0105$)。随着维生素 C 水平由 0 提高到 300mg/kg 饲料, 溶菌酶活力显著上升($P<0105$), 而随着维生素 C 水平由 300mg/kg 增加到 600mg/kg 饲料, 溶菌酶活力显著下降。酚氧化酶活力的变化趋势同溶菌酶活力相似, 随着饲料中维生素 C 水平由 0 增加到 150mg/kg 饲料, 酚氧化酶活力显著提高, 而随着维生素 C 水平的进一步增加, 酚氧化酶活力显著降低($P<0105$)。凡纳滨对虾血清中超氧化物歧化酶活力(SOD)不受饲料中维生素 C 添加水平的影响, 尽管饲料中维生素 C 添加水平为 300mg/kg组最高, 但各组间差异不显著($P>0105$)。饲料中维生素 C 的添加水平显著影响凡纳滨对虾血细胞总数($P<0105$), 血细胞总数以添加量为 150mg/kg 组最高, 而随着维生素 C 水平的增加, 血细胞总数显著下降。

3　讨论

本实验的结果表明, 维生素 C222磷酸酯对幼虾的促生长作用显著, 而对养成阶段的对虾来说促生长效果不显著, 但饲料中添加维生素 C 能够显著提高养成阶段凡纳滨对虾的成活率。维生素 C 对凡纳滨对虾不同生长阶段影响的结果表明, 凡纳滨对虾维生素 C 的需要表现在发育阶段上, 在对虾早期阶段需要更多的维生素 C 以满足快速生长及机体代谢的需要, 而到后期维生素 C 的作用主要表现在提高对虾抗应激和抗病力方面。在凡纳滨对虾早期生长阶段, 增重率随着维生素 C 添加水平到 150mg/kg 饲料时达到最大值, 而当饲料中维生素 C 水平进

一步提高时,增重率反而显著下降,这一结果表明饲料中过量添加维生素 C 导致生长下降,这也许是由于过多的维生素 C 会对虾产生毒害作用。He 等[15]指出用维生素 C 缺乏的饲料喂养凡纳滨对虾 2 周,便表现出高的死亡率,而随着饲料中维生素 C 的过量添加,对虾的生长显著下降,这一结果同本实验的研究结论相同。然而本实验结果与研究者对中国对虾[5]、斑节对虾[9]等的研究结论不同,导致这一结果的原因主要是本实验持续时间较长,研究者[6,9]对中国对虾、斑节对虾的实验时间多在 4) 6 周左右,单从早期生长而言,本实验的结果同已有的结论相同。然而随着对虾生长达到一定规格以后,维生素 C 的功能可能不是满足对虾快速生长的需要,维生素 C 更多地表现为提高养殖对虾抗应激能力和对病原体的抵抗力。Lightner 等[22]认为大虾具有一定的维生素 C 合成能力以满足其生长需要,而对小虾来说,这种有限的合成能力不足以满足其生长需要。另外饲料中添加的维生素 C 的剂型不同也会对实验结果产生影响,对虾对晶体维生素 C、包膜或维生素 C 衍生物的生物利用率不同从而导致需求量存在较大的差异。李爱杰等[5]比较了不同剂型维生素 C 对中国对虾生长及肝胰脏中维生素 C 积累量的影响,结果表明维生素 C 磷酸酯镁和维生素 C 硫酸酯钾的促生长效果好于维生素 C 多聚磷酸酯和晶体维生素 C。

表 5 维生素 C22磷酸酯对凡纳滨对虾抗病力相关因子的影响

Tab.5 Factors related to anti2disease of shrimp fed diets containing different supplementation levels of vitamin C

维生素 C 添加水平(mg/kg) Vitamin C supplementation levels	溶菌酶(U/ml) Lysozyme activity	酚氧化酶(OD/mol) Phenoloxidase	超氧化物歧化酶(U/mol)SOD	血细胞总数(10^6 个/ml) Red blood count
0	01107 ? 01007[a]	46167 ? 3134[a]	49.38 ? 5178	11394 ? 01015[a]
75	01157 ? 01004[b]	53160 ? 5175[a]	4718 3 ? 6196	11300 ? 01096[a]
150	01247 ? 01006[c]	10713 3 ? 12156[d]	5018 2 ? 4186	21900 ? 01323[b]
300	01327 ? 01012[d]	94177 ? 11138[c]	5518 1 ? 7155	21254 ? 01457[b]
600	01146 ? 01007[b]	6218 3 ? 5167[b]	4818 6 ? 8133	11325 ? 01044[a]
ANOVA				
F	561865	9.329	01573	231693
P	01000	01002	01689	01000

注: 表中的值为平均数? 标准差(n= 3): 同一列中具不同字母标记的值表示差异显著(Duncan 多重比较, $P< 0105$)

无论在实验早期还是后期阶段,饲料中添加维生素 C 均不能显著改善凡纳滨对虾的饲料利用状况,尽管饲料系数在未添加维生素 C 组最高,蛋白质效率在未添加维生素 C 组最低,但单因素方差分析表明差异不显著。对对虾体主要成分的分析表明,饲料中添加维生素 C 显著影响对虾体蛋白质、脂肪和水分含量,而对灰分的影响不显著。这一结果说明维生素 C 参与体代谢过程。王伟庆和李爱杰[4]报道,维生素 C 是一种强还原剂,参与许多复杂的生化过程,在胶原合成中脯氨酸和赖氨酸的羟基化,形成肉碱 C2丁酸甜菜碱的羟基化;维生素 C 同时也参与体内许多必需成分如肾上腺素等成分的合成。同时维生素 C 可能与对虾几丁质的合成有关,参与甲壳素外壳最外层的硬化,此硬化层是由一种外壳蛋白与苯醌的交联作用而成,而体内苯醌的形成需要维生素 C 的参与。

一些研究者的结果表明,中国对虾维生素 C 的积累部位主要是肝胰脏,肝胰脏中维生素 C 的积累量在一定范围内随着饲料中维生素 C 水平的增加而显著上升,然而超过这个范围肝胰脏维生素 C 积累量显著下降[5]。同时对虾肝胰脏维生素 C 积累量受饲料中维生素 C 剂型的不同而产生显著差异[6,10,11]。He 等[15]认为凡纳滨对虾体维生素 C 的积累量同饲料中维生素 C 添加水平成线性相关。本实验同 He 等[15]的实验结果一致,即随着饲料中维生素 C 添加水平的提高,凡纳滨对虾肝胰脏维生素 C 积累量显著上升。

对虾等甲壳类动物的免疫机制主要是非特异性免疫[23],酚氧化酶系统在其免疫中起着重要的作用,酚氧化酶以酶原形式存在于甲壳动物血清中,当微生物等病原体入侵后刺激血细胞使该酶原释放到血淋巴中并被激活表现出活性,它与血细胞的吞噬、包囊以及血淋巴的抗菌活性和对外源物质的识别有关[24]。一些研究结果表明饲料或饵料组成显著影

响对虾血清中与抗病力有关的酶的活性[25) 26]。本实验中添加维生素 C 能够显著提高凡纳滨对虾血清中溶菌酶和酚氧化酶活力, 然而对超氧化物歧化酶活力的影响不显著。凡纳滨对虾血清中酚氧化酶活力在维生素 C 添加量为 150mg/kg 饲料时最大, 而随着饲料中维生素 C 添加水平的进一步提高, 酚氧化酶活力显著降低。Lee 等[2] 比较了不同剂型维生素 C 对斑节对虾免疫指标的影响, 结果表明不同剂型的维生素 C 显著影响斑节对虾血清酚氧化酶活力, 饲料中缺乏维生素 C 斑节对虾血清中酚氧化酶活力最低, 添加高剂量的维生素 C 并不能提高血清中酚氧化酶活力, 相反高剂量维生素 C222磷酸酯镁却导致斑节对虾酚氧化酶活力的显著降低, 本实验的研究结论同此结果相同。而 Wang 等[3] 指出中国对虾血清中酚氧化酶活力在维生素 C 添加水平为 800mg/kg 饲料时达到最大值, 而随着维生素 C 添加水平的进一步提高, 酚氧化酶活力显著降低。本实验的研究结果表明维生素 C 对对虾血清中酚氧化酶活力的影响趋势同研究者对中国对虾和斑节对虾的趋势相同, 只是维生素 C 的添加量存在差异, 导致这一结果的原因是选用的维生素 C 剂型不同造成的。对虾血细胞主要包括小颗粒细胞、大颗粒细胞和透明细胞, 而据认为对虾血细胞在对虾非特异性免疫系统中发挥重要作用, 血淋巴中的血细胞对异物的吞噬作用、杀灭和排除作用等。本实验中对虾血细胞总数的变化趋势同酚氧化酶活力相似, 饲料中未添加维生素 C 或过量添加维生素 C 对虾血细胞总数均显著降低。Lee 等[2] 对斑节对虾的研究结果显示, 饲料中未添加维生素 C, 斑节对虾血细胞总数显著低于各添加组。本实验中凡纳滨对虾血清中溶菌酶活力随着维生素 C 添加水平由 0 提高到 300mg/kg 饲料而显著上升, 但当饲料中维生素 C 水平提高到600mg/kg饲料时血清中溶菌酶活力显著降低。

参考文献:

[1] Li A J. Effect of vitamin C on nutrition and immunity of *Penaeus chinensis* and its optimum form[J]. *Food and Feed Industry*, 1998, **2**: 33) 36[李爱杰. 维生素 C 对中国对虾的营养和免疫作用及其最适剂型. 粮食与饲料工业, 1998, **2**: 33) 36]

[2] Lee M H, Shiau S Y. Dietary vitamin C and its derivatives affect immune responses in grass shrimp, *Penaeus monodon*[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2002, **12**: 119) 129

[3] Wang W Q, Li A J, Cheung S G. Effects of dietary vitamin C on the immune function of shrimp, *Penaeus chinensis*[J], *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2002, **1**(1): 50) 54

[4] Wang WQ, Li A J. Influences of LAPP on the growth, resistance to low oxygen content and immunoresistance of *Penaeus chinensis*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1996, **1**: 42) 49[王伟庆, 李爱杰. LAPP 对中国对虾生长、缺氧耐受力及免疫抵抗力的影响. 海洋湖沼通报, 1996, **1**: 42) 49]

[5] Xu ZC, Liu TB, Lei QX, *et al*. Studies on vitamin nutrition for the prawn Penaeus chinensis V: Nutritional studies on prawn, *Penaeus chinensis*, for vitamin C[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1994, **24**(3): 364) 372[徐志昌, 刘铁斌, 雷清新, 等. 中国对虾维生素营养的研究V) 中国对虾维生素 C 营养. 青岛海洋大学学报, 1994, **24**(3): 364) 372]

[6] Li AJ, Lei QX, Ren ZL, *et al*. Studies on the nutrition of various forms of vitamin C for prawn *Penaeus chinensis*[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1995, **25**(4): 481) 487[李爱杰, 雷清新, 任泽林, 徐玮. 不同剂型维生素 C 对中国对虾的营养研究. 青岛海洋大学学报, 1995, **25**(4): 481) 487]

[7] Shiau S Y, Jan F L. Ascorbic acid requirements of grass shrimp *Penaeus monodon*[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, **58**: 363

[8] Shiau S Y, Hsu T S. Vitamin C requirement of grass shrimp, *Penaeus monodon*, as determined with L2ascorbyl222monophosphate[J]. *Aquaculture*, 1994, **122**: 347) 357

[9] Han AS, Liang YQ, Gao C R. Quantification of vitamin C(stay2C) requirements of juvenile shrimp, *Penaeus monadon*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1996, **20**(1): 88) 91[韩阿寿, 梁亚全, 高淳仁. 斑节对虾对磷酸酯化维生素 C 的需求量研究. 水产学报, 1996, **20**(1): 88) 91]

[10] Hsu T S, Shiau S Y. Comparison of L2ascorbyl222polyphosphate with L2ascorbyl222sulfate in meeting vitamin C requirements of juvenile grass shrimp *Penaeus monodon*[J]. *Fisheries Science*, 1997, **63**: 958) 962

[11] Hsu T S, Shiau S Y. Comparison of vitamin C requirement for maximum growth of grass shrimp, *Penaeus monodon*, using L2ascorbyl222monophosphate2Na and L2ascorbyl222monophosphosphate2Mg[J]. *Aquaculture*, 1998, **163**: 203) 213

[12] Kitabayashi K, Shudo. K, Nkamura K, *et al*. Studies on formula feed for kuruma prawn2 . On the ultilization values of glucose[J]. *Bull. of Tokai Regional Fish. Res. Lab*. 1971, **16**: 109) 118

[13] Guary M, Kanazawa A, Tanak, N, *et al*. Nutritional requirements of prawn2 . Requrirements for ascorbic acid[J]. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ*. 1976, **25**: 53) 57

[14] Deshimaru O, Kuroki K. Studies on a Purified diet for prawn2 . Adequate dietary levels of ascorbic acid and inositol[J]. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*. 1976, **42**: 571) 576

[15] He H, Lawrence A L. Vitamin C requirements of the shrimp *Penaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 1993, **114**: 305) 316

[16] Zhou QC, Liu DC, Ye FL, *et al*. Advances in the nutrition research of shrimp(*Penaeus chinensis*)[J] Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni. 2000, **29**: 59) 63[周歧存, 刘东超, 叶富良, 李爱杰. 中国对虾营养研究新进展. 中山大学学报, 2000, **39**, 增刊: 59) 63]

[17] Zhai YX. Modern Food Analysis Handbook[M]. Beijing: Beijing Un2

versity Publisher, Press 1988, 176) 295[翟永信. 现代食品分析手册. 北京: 北京大学出版社, 1988: 176) 295]

[18] Deng BY, Yuan TS, Li WJ. Advances of Biochemstry and Biophysiology [J], 1991, **18**(2): 163[邓碧玉, 袁勤生, 李文杰. 改良的连苯三酚自氧化测定超氧化物歧化酶活性的方法. 生物化学与生物物理进展, 1991, **18**(2): 163]

[19] Ashida M. Purification and characterization of pro2phenoloxidase from hemolymph of the silkworm Bombyx mori[J]. *Arch. Biochem Biophy.*, 1971, **144**: 749) 762

[20] Wang L, Li GY, Mao YX. Studies on the activities and characteristics of the antibacterial, bacteriolysis and phenoloxidase in the haemolymph of *Penaeus chinensis* [J]. *Chinese J. Oceanol Limnol.*, 1995, **26**(2): 179) 185[王雷, 李光友, 毛远兴. 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, 1995, **26**(2): 179) 185]

[21] Hultmark D., Insect immunity: Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*[J], *Eur. J. Biochem*, 1980, **106**: 7) 16

[22] Lightner DV, Colvin L B, Brand C, *et al*. Black death, a disease syndrome of penaeid shrimp related to a dietary deficiency of ascorbic acid [J]. *Pro. World Mariault. Soc.*, 1977(8: 611) 623

[23] Anderson D P. Immunostimulant, adjuvants and vaccine carriers in fish: application to aquaculture[J]. *Annual Review of Fish Disease*, 1992, **2**: 281) 307

[24] Wang L, Li GY, Mao YX, *et al*. Effect of oral immune drugs for prevention and control of cultured *Penaeus chinensis*[J]. *Chinese J. Oceanol Limnol*. 1994, **25**(5): 486) 492[王雷, 李光友, 毛远兴, 等. 口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究. 海洋与湖沼, 1994, **25**(5): 486) 492]

[25] Huang XH, Li CL, Liu CW, *et al*. Studies on two microalgae improving environment of shrimp pond and strengthening anti2disease ability of *Penaeus vannamei*. Acta Hydrobiologica Sinica. 2002, **26**(4): 342) 347[黄翔鹄, 李长玲, 刘楚吾, 等. 两种微藻改善虾池环境增强凡纳滨对虾抗病力的研究. 水生生物学报, 2002, **26**(4): 342) 347]

[26] Chang MX, Chen XX. Effects of two kinds of polysaccharide on the phenoloxidase activity in *Macrobrachium nipponense*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*. 2003, **27**(3): 269) 272[昌鸣先, 陈孝煊. 两种多糖对日本沼虾酚氧化酶活力的影响, 水生生物学报, 2003, **27**(3): 269) 272]

EFFECT OF DIETARY VITAMIN C SUPPLEMENTATION ON GROWTH AND ANTI2DISEASE ABILITY OF SHRIMP, PENAEUS VANNAMEI

ZHOU Qi2Cun[1,2], DING Yu[2], ZHENG Shi2Xuan[3], SU Shu2Feng[2] and ZHANG Lei[2]

(1. *School of Life science, zhongshan university, GuangZhou* 510275;
2. *Fisheries College, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang* 524025;
3. *Zhanjiang Center of Aquafeed Technology, Zhanjiang* 524002)

Abstract: A growth trial was conducted to determine the effects of ascorbic acid222phosphate with dietary different supplementation levels(0, 75, 150, 300 and 600mg/kg diet) on growth and anti2disease ability of shrimp(*Penaeus vannamei*) for 10 weeks. Five isonitrogenous and isoenergic diets were formulated as experimental diets. The results showed that in 42weeks feeding trial, the diet with ascorbic acid222phosphate supplementation could significantly increase the growth rate of juvenile shrimp. While the survival rate was not affected($P > 0.05$). Up to 102weeks feeding trial, there was no significant effect of increasing dietary ascorbic acid222phosphate on growth of shrimp. However the survival rate was improved significantly($P < 0.05$). The feed convention ratio and protein efficiency ratio were not affected by the dietary vitamin C supplementation levels. The whole body moisture, lipid, protein content and hepatopancreatic ascorbate concentrations were significantly affected by the dietary ascorbic acid222phosphate supplementation levels, while there was no significant effect of vitamin C on ash content in whole body. The ascorbic acid concentrations in the shrimp hepatopancreas increased significantly with the increase of the dietary vitamin C supplementation levels, the hepatopancreas ascorbic acid concentrations in the shrimp with vitamin C unsupplementation was the lowest. The superoxide dismutase(SOD) of shrimp serum was not affected by the dietary ascorbic acid222phosphate supplementation levels. The phenoloxidase activity, red blood count and lysozyme activity decreased significantly when the dietary without ascorbic acid222phosphate supplementation or excess of 150mg/kg supplementation. Based on weight gain rate, survival rate and phenoloxidase activity, the optimal dietary supplementation levels of ascorbic acid222phosphate for this diet formulation was 150mg/kg diet.

Key words: *Penaeus vannamei;* Ascorbic acid222phosphate; Growth; Anti2disease ability