

维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼非特异性免疫及抗氧化能力的影响

秦国兵,熊伟,姚俊杰*,杨通枝,贾美香

(贵州大学 动物科学学院/高原山地动物遗传育种与繁殖省部共建教育部重点实验室,贵州 贵阳 550025)

摘要:为初步探究水体中添加不同剂量维生素C对匙吻鲟内源营养期及混合营养期仔鱼抗亚硝酸盐胁迫能力的影响,采用生化方法测定不同条件下仔鱼溶菌酶(LZM)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)活性,丙二醛(MDA)含量和总抗氧化能力(T-AOC)在内源营养期及混合营养期的动态变化。结果显示:以卵黄为营养的内源营养期,LZM、AKP、ACP活性和T-AOC随维生素C质量浓度的增加呈现升高趋势,且90 mg/L和120 mg/L维生素C组显著高于对照组和胁迫组;以卵黄和外源饵料作营养的混合营养期,LZM、AKP、ACP活性随维生素C质量浓度的增加呈现“升高—降低”趋势。90 mg/L维生素C组LZM、AKP、ACP活性和T-AOC从内源营养期到混合营养期显著上升,上升率分别为71.8%、33.7%、48.4%和61.1%。MDA含量随维生素C质量浓度的增加而降低,且在同一取样时间下显著低于胁迫组,维生素C添加组MDA含量从内源营养期到混合营养期无显著变化。综上,在亚硝酸盐胁迫下,90 mg/L维生素C浸泡对匙吻鲟仔鱼内源营养期及混合营养期保护效果较好;亚硝酸盐胁迫可导致匙吻鲟内源营养期及混合营养期仔鱼机体的氧化损伤及抗氧化能力的不平衡,但不同质量浓度维生素C浸泡可以在一定程度上缓解亚硝酸盐胁迫的负面影响。

关键词:匙吻鲟;维生素C;亚硝酸盐;非特异性免疫;抗氧化能力

中图分类号:S963 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-3268(2018)07-0132-05

Effects of Vitamin C on the Non-specific Immunity and Antioxidant Capacity of *Polyodon spathula* Larvae under Nitrite Stress

QIN Guobing, XIONG Wei, YAO Junjie*, YANG Tongzhi, JIA Meixiang

(Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region, Ministry of Education/College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to investigate the effects of different concentrations vitamin C (Vc) on the non-specific immunity and antioxidant capacity of *Polyodon spathula* during endogenous and mixed nutrition under nitrite stress, the biochemical methods were employed to determine the activities of lysozyme (LZM), acid phosphatase (ACP), alkaline phosphatase (AKP), and the malondialdehyde (MDA) content and the total antioxidant capacity (T-AOC). The results suggested that during endogenous nutrition, the activities of LZM, AKP, ACP and T-AOC were increased in a concentration dependent manner, and the Vc 90 mg/L and 120 mg/L groups significantly increased ($P < 0.05$) compared with the control and the stress groups; during the mixed nutrition, the activities of LZM, AKP and ACP increased first and then decreased

收稿日期:2017-11-30

基金项目:贵州省黔西南特色产业扶持与生态修复协同创新中心平台建设项目(黔科合2016-18);贵州省水产产业体系项目(GZCYTZX2013-011)

作者简介:秦国兵(1991-),男,贵州铜仁人,在读硕士研究生,研究方向:水生动物繁殖与发育生物学。

E-mail:guobingq@yeah.net

*通讯作者:姚俊杰(1968-),男,贵州贵阳人,教授,博士,主要从事水生动物繁殖与发育生物学研究。

E-mail:junjeyao@163.com

with the rising of Vc concentration. In Vc 90 mg/L group, the T-AOC and the activities of Lzm, AKP, ACP increased by 61.1%, 71.8%, 33.7% and 48.4% from endogenous to mixed nutrition. The MDA content was decreased with the rising of Vc concentration, and significantly lower than that of the stress group ($P < 0.05$), but no significant differences between endogenous and mixed nutrition stages in all Vc groups. In conclusion, under nitrite stress, 90 mg/L Vc soaking could protect the *Polyodon spathula* larvae during the endogenous and mixed nutrition, and the nitrite stress led to the imbalance of antioxidant capacity and oxidative damage, however, the Vc could alleviate the negative impact of nitrite stress.

Key words: *Polyodon spathula*; Vitamin C; Nitrite; Non-specific immunity; Antioxidant capacity

匙吻鲟(*Polyodon spathula*)俗称鸭嘴鲟,是一种古老的大型淡水经济鱼类。在鱼苗培育过程中,常常面临水体环境突变胁迫问题,导致培育期间仔鱼死亡率增大。匙吻鲟仔鱼孵化出膜后,1~5 d 内营养全部依靠卵黄,这个时期是内源营养期。仔鱼在第6天左右才开始摄食,开口摄食初期,体内卵黄囊仍未完全消失,营养来自卵黄和外源食物,这个时期是混合营养期。混合营养期是仔鱼从内源的卵黄营养向外源的饵料营养转变的过渡时期,是鱼类早期发育的关键时期,在此期未能成功转食的仔鱼即会大量死亡。

维生素C(Vc)是一种水溶性抗氧化剂,可清除氧自由基(Reactive oxygen species, ROS),保护细胞免受氧化损伤,是动物生长和维持正常生理机能所必需的营养物质,同时在促进鱼类生长、提高抗病能力、缓解应激胁迫和创伤愈合方面有明显作用^[1]。相关研究表明,维生素C能提高仔鱼免疫和总抗氧化能力(T-AOC),并降低丙二醛(MDA)含量^[2-3]。亚硝酸盐胁迫下,饲料中添加维生素C对异育银鲫的碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)、溶菌酶(LZM)活性及T-AOC有改善作用^[4-5]。同时,维生素C可增强水产动物抗低温^[6]、酸^[7]、盐度^[8]、氨氮^[9-10]、有机磷农药^[11]和重金属^[12]等胁迫能力,都与其能够提高机体T-AOC有着密切关系。目前,亚硝酸盐的急性毒性作用在很多种鱼上已被研究^[13-16],但关于亚硝酸盐胁迫下,水体中添加不同质量浓度维生素C是否能在一定程度上缓解其对匙吻鲟仔鱼的胁迫作用未见报道。本研究旨在揭示匙吻鲟仔鱼在亚硝酸盐胁迫下,不同质量浓度维生素C对其胁迫的缓解作用,以期为匙吻鲟鱼苗早期培育提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

试验匙吻鲟来自贵州罗甸县匙吻鲟养殖基地,平均体质量为(0.0514±0.0010)g,平均体长(11.907±0.552)mm。在塑料箱(60 cm×43 cm×

35 cm)中进行试验,置于水深30 cm处。内源营养期的匙吻鲟仔鱼为出膜1~5日龄仔鱼,混合营养期为6~11日龄仔鱼。试验期间,平均水温18.5 °C,pH值6~7,溶氧量>5 mg/L。亚硝酸盐测试盒购自上海泽芮化学科技有限公司,酶活性测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验设计与方法

参考谭树华等^[13]研究,设置亚硝酸盐质量浓度为0.5 mg/L。本研究设置6个试验组,每组3个平行,1 000尾/箱。对照组中不添加亚硝酸盐及维生素C;处理组试验用水均含质量浓度为0.5 mg/L亚硝酸盐,除胁迫组外,在其余4个处理组中又分别添加30、60、90、120 mg/L维生素C。每隔1 h用亚硝酸盐测试盒检测亚硝酸盐质量浓度,低于0.5 mg/L时,加入先配好的亚硝酸盐,保证其质量浓度不变,期间换亚硝酸盐及维生素C溶液温差不超过1 °C。取样时间是亚硝酸盐胁迫后12、24、48、72 h,本研究的12 h和24 h取样时间为仔鱼内源营养期,48 h和72 h为混合营养期,取仔鱼整体保存在-20 °C,用于Lzm、ACP、AKP活性,T-AOC,MDA含量的测定。

1.3 数据处理

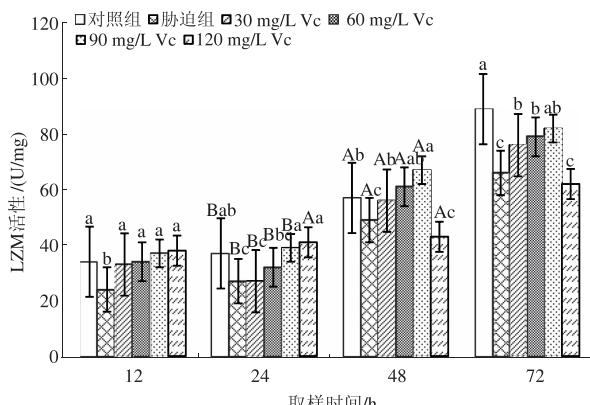
数据用SPSS 19.0软件处理,进行方差分析(One-way ANOVA)和多重比较,结果以平均值±标准误表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 维生素C对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼不同发育阶段Lzm活性的影响

亚硝酸盐胁迫下维生素C对仔鱼Lzm活性影响见图1。在同一取样时间下,12 h和24 h的Lzm随维生素C质量浓度的增加,呈现升高趋势,且90 mg/L和120 mg/L维生素C添加组显著高于胁迫组($P < 0.05$),在48 h和72 h,Lzm活性呈现“升高—降低”趋势,且90 mg/L维生素C添加组Lzm活性均显著高于胁迫组($P < 0.05$)。90 mg/L维生素C添加组的Lzm活性从24 h至48 h显著上升

($P < 0.05$) ,上升率为 71.8%。



不同小写字母表示相同时间不同试验组间差异显著 ($P < 0.05$)，
不同大写字母表示相同试验组从内源营养期到混合营养期
显著上升 ($P < 0.05$)，下同

图 1 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻
鲟仔鱼 LZM 活性的影响

2.2 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼不同发育阶段 AKP 活性的影响

亚硝酸盐胁迫下维生素 C 对仔鱼 AKP 活性影响见图 2。在相同取样时间下,12 h 和 24 h 的 AKP 活性随维生素 C 质量浓度的增加呈现升高趋势,且除 24 h 时 90 mg/L 维生素 C 添加组与对照组差异不明显外;其他 90 mg/L 和 120 mg/L 维生素 C 添加组均显著高于对照组和胁迫组 ($P < 0.05$)。在 48 h 和 72 h,AKP 活性呈现“升高—降低”趋势,且 90 mg/L 维生素 C 添加组显著高于胁迫组 ($P < 0.05$)。90 mg/L 维生素 C 添加组的 AKP 活性从 24 h 至 48 h 显著上升 ($P < 0.05$),上升率为 33.7%。

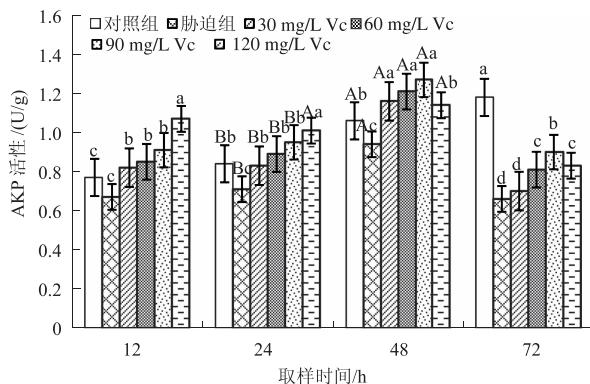


图 2 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻
鲟仔鱼 AKP 活性的影响

2.3 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼不同发育阶段 ACP 活性的影响

亚硝酸盐胁迫下维生素 C 对仔鱼 ACP 活性影响见图 3。在相同取样时间下,12 h 和 24 h 的 ACP

活性随维生素 C 质量浓度的增加呈现逐渐升高趋势,且 90 mg/L 和 120 mg/L 维生素 C 添加组显著高于对照组和胁迫组 ($P < 0.05$)。在 48 h 和 72 h,ACP 活性呈现“升高—降低”趋势,且 90 mg/L 维生素 C 添加组显著高于对照组和胁迫组 ($P < 0.05$)。90 mg/L 维生素 C 添加组的 ACP 活性从 24 h 至 48 h 显著上升 ($P < 0.05$),上升率为 48.4%。

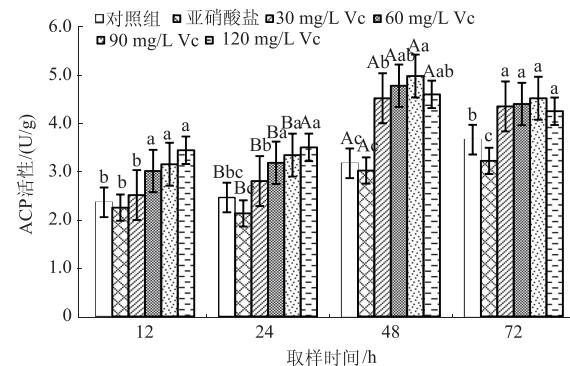


图 3 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻
鲟仔鱼 ACP 活性的影响

2.4 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼不同发育阶段 T-AOC 的影响

亚硝酸盐胁迫下维生素 C 对仔鱼 T-AOC 影响见图 4。在同一取样时间下,T-AOC 随维生素 C 质量浓度的增加,均呈现升高趋势。与对照组相比,胁迫组的 T-AOC 在 12 h 和 24 h 无显著差异 ($P > 0.05$),在 48 h 和 72 h 显著降低 ($P < 0.05$)。90 mg/L 和 120 mg/L 维生素 C 添加组的 T-AOC 从 24 h 至 48 h 显著上升 ($P < 0.05$),上升率分别为 61.1% 和 43.9%。

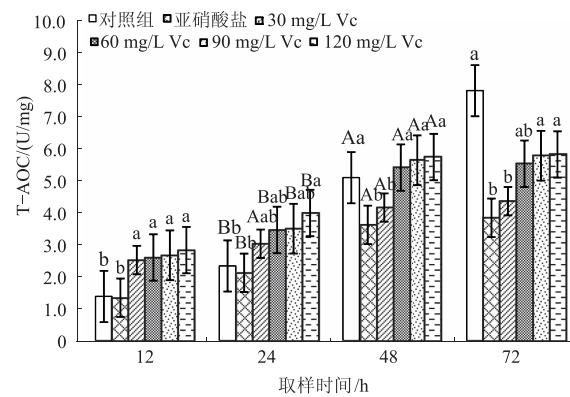


图 4 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻
鲟仔鱼 T-AOC 变化的影响

2.5 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼不同发育阶段 MDA 含量的影响

亚硝酸盐胁迫下维生素 C 对匙吻鲟仔鱼 MDA 含量影响见图 5。胁迫组的 MDA 含量均显著高于

维生素C添加组和对照组($P < 0.05$)，且不论是内源营养期还是外源营养期，相同取样时间下，随着维生素C质量浓度的升高，MDA含量均呈下降趋势。如图5可知，120 mg/L维生素C添加组的MDA含量最低，比胁迫组和对照组显著下降($P < 0.05$)，12~72 h下降率分别为40.3%、62.2%、69.9%、37.4%与26.3%、17.6%、18.0%、6.3%，维生素C添加组MDA含量从24 h至48 h无显著变化($P > 0.05$)。

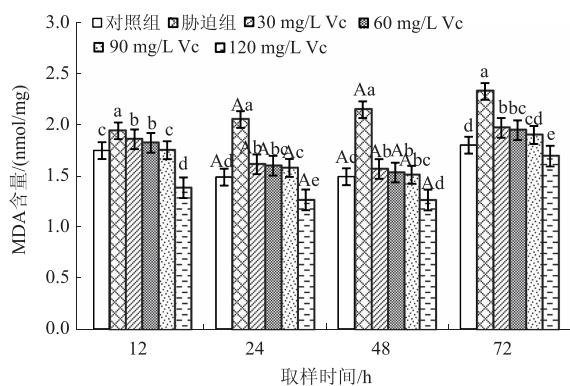


图5 维生素C对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼MDA含量的影响

3 结论与讨论

3.1 维生素C对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼内源营养期及混合营养期LZM、AKP、ACP活性影响

鱼类早期发育生长中，由于其免疫器官还未分化发育成熟，此阶段抵抗外界病原微生物主要依赖于非特异性免疫和母源性免疫^[17]，在非特异免疫应答中LZM、AKP、ACP发挥着重要作用^[18-19]，其活性能够反映仔鱼的免疫力，非特异性免疫能力低是引起仔鱼死亡的原因之一。匙吻鲟仔鱼在自然生长条件下，内源营养期到混合营养期，AKP、ACP活性显著增加，可能是此阶段仔鱼肠道发育逐渐完善，肠道细胞需要更多的磷酸酶对大分子物质进行吸收。LZM作为非特异性防御机制的第一道防线，其主要功能是消化和防御，不同物种中LZM的功能不同，这是由其基因结构决定的。当仔鱼受到外界刺激时，机体内的LZM在不同组织的表达量出现一定的变化，来应对这些胁迫作用。匙吻鲟仔鱼从内源营养期到混合营养期LZM活性显著升高，说明仔鱼在开口摄食后，外源饵料生物会刺激LZM相关基因的表达，进而提高其活性。

匙吻鲟仔鱼随着日龄的增长，受亚硝酸盐的胁迫逐渐加深。亚硝酸盐毒性效应与质量浓度、暴露时间、鱼的种类、鱼体大小及年龄等密切相关^[20]，随胁迫时间延长，亚硝酸盐会影响细胞膜的通透性，进

而抑制免疫酶的合成和分泌。相关研究表明，亚硝酸盐胁迫会降低磷酸酶和LZM活性^[21]，同时升高鱼体内ROS水平，进而对机体免疫力产生一定的抑制作用。维生素C作为一种重要的免疫增强剂，能进入卵黄囊仔鱼体内，可以提高吞噬细胞的吞噬活性和杀伤力，促进淋巴细胞的增殖和特异性抗体的产生。本研究匙吻鲟仔鱼内源营养期，受亚硝酸盐胁迫下，随维生素C质量浓度的增加，仔鱼LZM、AKP、ACP活性增加，说明维生素C能够提高匙吻鲟仔鱼非特异性免疫功能，在相关研究结果中也得到了证实^[4]。在混合营养期，LZM、AKP、ACP活性显著升高，表明仔鱼开口摄食后，其各项生理机能开始不断完善，此时既可以从卵黄吸收营养又可以从饵料中获得，使免疫防御不断加强；另一方面，说明维生素C进入匙吻鲟仔鱼体内，不仅有解毒功能，同时可消除亚硝酸盐胁迫带来的ROS，进而提高仔鱼机体非特异性免疫防御。

3.2 维生素C对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼内源营养期及混合营养期T-AOC的影响

在匙吻鲟仔鱼自然生长中，随日龄的增长，T-AOC逐渐增加。其中在内源营养期，上升不明显，而到了混合营养期显著升高。少量ROS是生物体所必需的，但过多的ROS如果不能被及时清除，它们将会攻击各种生物大分子，引起生物体各种生理病变。在匙吻鲟仔鱼不断发育过程中，其各项生理机能不断完善，在开口摄食后，机体代谢加强，使得耗氧率不断增加，产生的ROS越来越多，为保证机体内ROS的动态平衡，机体必须清除过多的ROS。此时，抗氧化酶系统发挥重要作用。本研究中随仔鱼的发育，T-AOC不断升高，说明仔鱼体内的抗氧化防御系统逐步发育完善，在相关研究中已得到证实^[21]。

匙吻鲟仔鱼随日龄的增长，T-AOC受亚硝酸盐胁迫的影响逐渐降低。内源营养期，T-AOC受影响较大；混合营养期受影响较小。亚硝酸盐胁迫使仔鱼血液中亚铁蛋白氧化成高铁红蛋白，并通过呼吸作用来改变内脏器官的皮膜通透性，渗透调节失调，进而阻碍细胞分化，导致仔鱼畸形或死亡^[22]，使免疫机能降低。同时，亚硝酸盐胁迫使鱼机体非特异性免疫及抗氧化能力下降^[23]。本研究发现，随维生素C质量浓度的增加，内源营养期仔鱼T-AOC逐渐升高，MDA含量显著降低，表明亚硝酸盐胁迫下，水中添加适宜的维生素C可以提高匙吻鲟内源营养期仔鱼T-AOC。而在混合营养期，维生素C组T-AOC与胁迫组差异明显，且随维生素C质量浓度的增加出现升高现象，表明一方面混合

营养期仔鱼对低质量浓度的亚硝酸盐的耐受力逐渐增强;另一方面,可能在此阶段仔鱼除了从水体中获得维生素 C 外,也从摄食的饵料中获得,使得仔鱼体内维生素 C 含量增加,具体原因有待进一步研究。

3.3 90 mg/L 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟内源营养期及混合营养期仔鱼的保护

不同质量浓度维生素 C 对鱼类在抗环境胁迫方面有重要作用^[2,24],维生素 C 可以通过发挥抗氧化功能来阻止多不饱和脂肪酸过氧化,避免细胞膜遭受氧化损伤,提高鱼体的免疫力和抗病力。不同鱼类的卵黄囊期仔鱼,用不同质量浓度维生素 C 浸泡有不同作用效果^[25]。

在亚硝酸盐胁迫下,本研究用不同质量浓度维生素 C 溶液浸泡内源营养期仔鱼,90 mg/L、120 mg/L 维生素 C 组 LZM、AKP、ACP 活性及 T-AOC 显著高于胁迫组和对照组,说明匙吻鲟仔鱼在内源营养期,外源添加维生素 C 质量浓度越高,仔鱼机体抗环境胁迫越强。刚出膜仔鱼,没有卵膜的保护,对不良环境敏感性下降,水体中直接添加可溶性维生素 C,其小分子结构可以通过鱼呼吸器官吸收,能够进入仔鱼体内,维持鱼体正常生理机能。而在仔鱼混合营养期,120 mg/L 维生素 C 组虽显著降低了 ROS 对机体的氧化损伤,但同时也降低了 LZM、AKP、ACP 活性,说明高质量浓度维生素 C 溶液抑制了匙吻鲟混合营养期仔鱼的非特异性免疫酶活性,这可能是不同发育时期,不同鱼类对维生素 C 代谢率不同,从而导致维生素 C 需要量的差异,使维生素 C 对鱼类免疫力作用的形式也不同。综合考虑实际养殖情况及本研究维生素 C 添加组对匙吻鲟内源营养期和混合营养期仔鱼 LZM、AKP 和 ACP 的影响情况,亚硝酸盐胁迫下,90 mg/L 维生素 C 对匙吻鲟仔鱼的保护效果较好。

参考文献:

- [1] Eo J, Lee K J. Effect of dietary ascorbic acid on growth and non-specific immune responses of tigerpuffer, *Takifugu rubripes* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 25(5): 611-616.
- [2] 王秀英. 饵料维生素 C 对黑鲷仔鱼生长和体组织生化指标的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [3] 姚俊杰, 熊铧龙, 蒋左玉, 等. 维生素 C 对普安银鲫早期发育中氧化损伤及总抗氧化能力的影响 [J]. 动物学杂志, 2015, 50(4): 581-590.
- [4] 葛立安. 亚硝酸盐胁迫下维生素 C 和 E 对异育银鲫免疫功能的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [5] 高明辉. VC、VE 对亚硝酸盐胁迫下异育银鲫血液指标及抗氧化能力的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [6] 郝甜甜, 王丽丽, 王际英, 等. 维生素 C 对急性低温胁迫下珍珠龙胆石斑鱼 HPI 轴及生理生化的调控 [J]. 水产学报, 2017, 41(3): 428-437.
- [7] 周显青, 牛翠娟, 孙儒泳. 维生素 C 和酸应激对中华鳖幼鳖血清补体 C3 和 C4 含量的影响 [J]. 动物学报, 2003, 49(6): 769-774.
- [8] 王建梅. 弧菌和盐度胁迫下饵料中添加抗氧化物质对虾体的影响 [D]. 保定: 河北大学, 2003.
- [9] 胡毅, 黄云, 文华, 等. 维生素 C 对青鱼幼鱼生长、免疫及抗氨氮胁迫能力的影响 [J]. 水产学报, 2013, 37(4): 565-573.
- [10] 王贞杰, 叶保民, 常青, 等. 饵料维生素 C 含量对圆斑星鲽幼鱼抗氨氮胁迫能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28(12): 4054-4062.
- [11] 徐维娜, 刘文斌, 邵仙萍, 等. 维生素 C 对异育银鲫原代肝脏细胞活性及抗敌百虫氧化胁迫的影响 [J]. 水产学报, 2011, 35(12): 1849-1856.
- [12] 刘晓玲, 周忠良, 陈立侨, 等. 维生素 C、E 对镉致毒后中华绒螯蟹抗氧化系统酶活性的影响 [J]. 海洋科学, 2006, 30(1): 39-43.
- [13] 谭树华, 何典翼, 严芳, 等. 亚硝酸钠对鲫鱼肝脏丙二醛含量和总抗氧化能力的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(S1): 21-24.
- [14] 吕晓燕, 李嘉尧, 方燕, 等. 亚硝酸盐对红鳌光壳鳌虾不同组织免疫相关酶活性及超微结构的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(12): 1812-1820.
- [15] Zhang L, Xiong D M, Li B, et al. Toxicity of ammonia and nitrite to yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2012, 28(1): 82-86.
- [16] 冼健安, 张秀霞, 郭慧, 等. 亚硝酸盐胁迫对罗氏沼虾血细胞及其抗氧化酶活力的影响 [J]. 生物安全学报, 2016, 25(4): 300-307.
- [17] Kanlis G, Suzuki Y, Tauchi M, et al. Immunoglobulin in oocytes, fertilized eggs, and yolk sac larvae of Red Sea Bream [J]. Fisheries Science, 2008, 61(5): 787-790.
- [18] 陈家长, 殷学磊, 胡庚东, 等. 氨氮胁迫下罗非鱼机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响 [J]. 生态环境学报, 2011, 20(4): 629-634.
- [19] 陈家长, 殷学磊, 瞿建宏, 等. 温度胁迫下罗非鱼机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(9): 1896-1901.
- [20] Kroupova H, Machova J, Slobodova Z. Nitrite influence on fish: A review [J]. Veterinární Medicína, 2005, 50(11): 461-471.
- [21] 陈家长, 殷学磊, 孟顺龙, 等. 亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼血清非特异性免疫酶活性的影响 [J]. 生态环境学报, 2012, 21(5): 897-901.
- [22] Kalaimani N, Chakravarthy N, Shanmugham R, et al. Anti-oxidant status in embryonic, post-hatch and larval stages of Asian seabass (*Lates calcarifer*) [J]. Fish Physiology & Biochemistry, 2008, 34(2): 151-158.
- [23] 彭俊. 几种环境因子对尼罗罗非鱼受精、孵化及幼鱼生长的联合效应研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2011.
- [24] 王贞杰, 叶保民, 常青, 等. 饵料维生素 C 含量对圆斑星鲽幼鱼抗氨氮胁迫能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28(12): 4054-4062.
- [25] 蒋左玉, 姚俊杰, 熊铧龙, 等. 葡萄糖、维生素 C 对普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中 LPL 和 HL 活性的影响 [J]. 水生生物学报, 2014, 39(1): 73-79.