

文章编号: 1004 - 7271(2008)02 - 0187 - 06

草鱼鱼种叶酸需要量的研究

赵智勇^{1,2}, 文华², 吴凡², 刘安龙^{1,2}, 蒋明², 刘伟²

(1. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 中国水产科学研究院淡水生态与健康养殖重点开放实验室, 长江水产研究所, 湖北 荆州 434000)

摘要:以酪蛋白和明胶为蛋白源, 配制叶酸含量分别为0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 mg/kg的7组精制试验饲料, 投喂初始体重为(5.78 ± 0.17)g的草鱼鱼种8w, 考察不同叶酸添加量对草鱼鱼种生长和部分血液指标的影响, 以确定草鱼鱼种的叶酸需要量。结果表明: 添加叶酸5.0 mg/kg使草鱼鱼种增重率(WG)、饲料效率(FE)、血液中血红蛋白含量(Hb)和血小板数(PLT)比未添加叶酸的对照组有显著增加($P < 0.05$), 而使血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量比对照组有显著降低($P < 0.05$); 添加叶酸对草鱼鱼种存活率(SR)、血清中总蛋白(TP)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量, 以及血液中红细胞数(RBC)无显著影响($P > 0.05$); 对WG、TG、TC、Hb和PLT进行折线回归分析得出草鱼鱼种对叶酸的需要量为3.6~4.3 mg/kg饲料。

关键词:草鱼; 叶酸; 需要量

中图分类号: S 963.1 文献标识码: A

Dietary folic acid requirement for grass carp fingerling, *Ctenopharyngodon idella*

ZHAO Zhi-yong^{1,2}, WEN Hua², WU Fan², LIU An-long^{1,2}, JIANG Ming², LIU Wei²

(1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Key Laboratory of Freshwater Ecology and Aquaculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000, China)

Abstract: A feeding trial was conducted to determine the folic acid requirement of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fingerling. Purified basal diets were formulated using vitamin-free casein and gluten as the protein source. Different levels of folic acid (0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10 and 20 mg folic acid/kg diet) were graded in the basal diet, resulting in seven dietary treatments in the experiment. Each diet was fed for 8 weeks to triplicate groups of grass carp with initial average weight (5.78 ± 0.17) g. Grass carp fingerling fed diets supplemented with 5.0 mg folic acid/kg diet had significantly higher ($P < 0.05$) weight gain, feed efficiency, hemoglobin assay and platelet counting in blood than the control group fed without folic acid supplement. In contrast, the test groups had significantly lower ($P < 0.05$) triacylglycerol, total cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in serum than the control group. Supplementation of dietary

收稿日期: 2007-06-28

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划重点项目(2006BAD03B03); 科技部科研院所技术开发研究专项资金项目(2003EG134172); 上海市教委重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 赵智勇(1980-), 男, 湖北鄂州人, 主要从事水产动物营养方面的研究, Tel: 0716-8128255

通讯作者: 文 华, Tel: 0716-8128255, E-mail: wenhua_hb@163.com

folic acid had no effect on survival rate, total protein and high density lipoprotein cholesterol levels in serum and red blood cell counting in blood. Weight gain, triacylglycerol, total cholesterol, hemoglobin assay and platelet counting analyzed by broken-line regression indicated that the requirement for dietary folic acid in rearing grass carp is approximately 3.6–4.3 mg/kg diet.

Key words: grass carp; folic acid; requirement

叶酸是B族维生素的一种,具有蝶酰谷氨酸这一共同结构的一类化合物,其辅酶形式是四氢叶酸(FH₄),作为一碳单位的供体和受体而参与许多关键反应^[1]。动物和人类叶酸缺乏后,原始红细胞就不能正常成熟,造血作用被抑制在成血细胞阶段,引起巨幼红细胞贫血,因此叶酸的定量需要是非常有必要的。在水产动物中,只有少数几种鱼虾被确定了叶酸需要量,包括虹鳟鱼种(0.6 mg/kg)^[2]、斑点叉尾鲴鱼种(4 mg/kg)^[3]、罗非鱼鱼种(0.82 mg/kg)^[4]和草幼虾(1.9~2.1 mg/kg)^[5]。草鱼属鲤形目鲤科雅罗鱼亚科草鱼属的唯一一种,是我国淡水养殖的四大家鱼之一,年产量约360万吨。目前草鱼鱼种对维生素需要量的定量研究只有少数几种,分别为维生素C(600 mg/kg)^[6]和维生素E(200 mg/kg)^[7],而对叶酸的需要量尚未见报道,本文通过考察不同含量叶酸对草鱼鱼种生长和部分血液生化指标的影响,确定草鱼鱼种对叶酸的适宜需要量。

1 材料与amp;方法

1.1 试验饲料

以酪蛋白和明胶为蛋白源、糊精为糖源、玉米油和豆油为脂肪源的纯化饲料为试验饲料。叶酸分别按照0, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0和20.0 mg/kg饲料7个水平添加,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。进行混合和粉碎,使其能全部通过0.250 mm的分析筛,再用绞肉机制成Φ2.0 mm的软颗粒饲料,常温下风干置于-4℃冰箱保存备用。基础饲料组成及营养水平见表1,利用高效液相色谱法^[8]测得饲料中叶酸实际含量分别为0(未检测出), 0.62, 1.07, 2.09, 5.15, 9.78和21.74 mg/kg。

1.2 试验鱼及饲养管理

试验鱼为长江水产研究所鱼类育种试验场繁育的当年草鱼鱼种,草鱼鱼种购回后进行鱼体消毒和调节水温,放入暂养池中用不含叶酸的基础饲料驯养3w,让其适应试验条件再进行养殖试验。试验鱼初始体重为(5.78±0.17)g,试验设7个处理,每个处理3个重复,每个重复随机将60尾体格健壮的草鱼鱼种分在400L的玻璃钢水族箱中,并称量初重。采用流水饲养,水源为经过过滤净化的湖水,每组流量为0.4~0.6 L/min。日投饲3次,时间为8:00-9:00, 12:00-13:00和16:00-17:00,投喂率为1%~3%,每2w对鱼体进行一次称重,并调节饲料投喂量,饲养时间为8w。饲养期间的水质条件为:水温(26.9±3)℃,溶解氧5.0 mgO₂/L以上,pH约为7.0,NH₄⁺-N和NO₂-N分别不高于0.48 mg/L和0.025 mg/L。

1.3 检测方法

1.3.1 生长指标的测定

经过8w的饲养后,对试验鱼生长性能指标等进行测定,计算公式为:增重率(%)=100×(末均重-初均重)/初均重;饲料效率=(鱼体末总重-鱼体初总重)/试验期间消耗饲料总量;存活率(%)=

表1 基础饲料组成及营养水平

Tab. 1 Composition and nutrient levels of the basal diet

成分	百分率(%)	营养成分	水平(%)
酪蛋白	40.00	水分	12.80
白糊精	31.00	粗蛋白	35.56
明胶	6.00	粗脂肪	8.11
玉米胚芽油	5.00	粗灰分	4.61
大豆油	5.00		
氯化胆碱	1.00		
微晶纤维素	5.00		
维生素预混料*	1.75		
无机盐预混料**	5.00		
叶酸预混料	0.25		

*:维生素预混料(mg/kg饲料):维生素B1 10;维生素B2 20;维生素B6 10;维生素C 400;泛酸钙 100;烟酸 150;肌醇 500;维生素B12 0.05;生物素 1;维生素K3 5;维生素E 100;维生素A 4500IU;维生素D 1000IU

** :无机盐预混料采用获野珍吉配方^[9]

100 × 终末尾数/初始尾数。

1.3.2 饲料营养成分的测定

饲料中粗蛋白、粗脂肪、水分、粗灰分的测定按照 GB/T 6432-1994、GB/T 6433-1994、GB/T 6435-1986、GB/T 6438-1992 方法测定^[10]。

1.3.3 血清部分生化指标的测定

试验鱼养殖到第 8 w, 停食 24 h, 取 6~8 尾鱼断尾取血, 制备血清, 在 OLYMPUS AU600 型全自动生化分析仪上分析血清总蛋白、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和高密度脂蛋白胆固醇的含量。

1.3.4 血红蛋白含量、红细胞数和血小板数的测定

试验鱼养殖到第 8 w, 停食 24 h, 采用断尾取血法, 取 5 尾鱼的血液, 用涂有肝素钠抽血管保存, 然后用全自动血细胞记数仪(日本东亚公司 F-820)进行分析, 测定血红蛋白含量、红细胞数和血小板数。

1.4 数据的处理

试验数据采用 STATISTICA 6.0 统计软件中 one-way ANOVA 方差分析和 Duncan 氏均值多重比较进行差异显著性分析。

2 结果

2.1 添加不同含量叶酸对草鱼鱼种增重率、饲料效率和存活率的影响

添加 5.0、2.0 和 0.5 mg/kg 叶酸使草鱼鱼种增重率比对照组有显著提高 ($P < 0.05$), 添加 20.0 mg/kg 叶酸使草鱼鱼种增重率比添加 5.0 mg/kg 叶酸试验组有显著降低 ($P < 0.05$), 但 1.0 和 10.0 mg/kg 叶酸添加量对增重率无影响(表 2)。

添加 5.0 和 2.0 mg/kg 叶酸使草鱼鱼种饲料效率比对照组有显著提高 ($P < 0.05$), 而其它叶酸添加量对饲料效率无影响; 添加不同含量的叶酸对草鱼鱼种的存活率无显著影响 ($P > 0.05$), 但随着叶酸添加量的增加有上升的趋势。

表 2 饲料叶酸添加量对草鱼鱼种增重率(WG)、饲料效率(FE)和存活率(SR)的影响
Tab. 2 Effect of dietary folic acid contents on weight gain(WG), feed efficiency(FE) and survival rate(SR) of grass carp fingerling(mean ± SD, n=3)

叶酸添加量(mg/kg)	平均初重(g)	平均末重(g)	WG (%)	FE	SR (%)
0	5.78 ± 0.23	14.49 ± 0.84	150.43 ± 7.21 ^a	0.74 ± 0.01 ^a	79.13 ± 9.49 ^a
0.5	5.94 ± 0.17	15.79 ± 0.51	165.81 ± 10.47 ^{bc}	0.77 ± 0.05 ^{ab}	79.30 ± 3.32 ^a
1.0	5.77 ± 0.23	14.99 ± 0.43	160.02 ± 5.04 ^{abc}	0.76 ± 0.03 ^{ab}	86.36 ± 8.11 ^a
2.0	5.51 ± 0.13	14.72 ± 0.25	167.31 ± 6.90 ^{bc}	0.79 ± 0.03 ^b	89.31 ± 4.51 ^a
5.0	5.96 ± 0.14	16.14 ± 0.33	171.07 ± 10.58 ^c	0.80 ± 0.01 ^b	92.18 ± 6.74 ^a
10.0	5.90 ± 0.15	15.30 ± 0.44	159.40 ± 7.56 ^{abc}	0.76 ± 0.02 ^{ab}	82.96 ± 11.89 ^a
20.0	5.59 ± 0.18	14.15 ± 0.76	153.02 ± 6.21 ^{ab}	0.77 ± 0.02 ^{ab}	89.14 ± 9.46 ^a

注:同一列中没有相同字母标记的值表示差异显著($P < 0.05$)

2.2 添加不同含量叶酸对草鱼鱼种血清部分生化指标的影响

如表 3 所示, 饲料中添加不同含量的叶酸对草鱼鱼种血清总蛋白和低密度脂蛋白胆固醇含量无显著影响 ($P > 0.05$), 但总蛋白含量随着叶酸添加量的增加有降低趋势。

添加 5.0 mg/kg 叶酸使草鱼鱼种血清甘油三酯含量比对照组有显著降低 ($P < 0.05$), 而其它叶酸添加量对甘油三酯含量无影响。

添加 5.0 mg/kg 叶酸使草鱼鱼种血清总胆固醇含量比添加 20.0、0.5 和 0 mg/kg 叶酸有显著降低 ($P < 0.05$), 但 1.0、2.0 和 10.0 mg/kg 叶酸添加量对总胆固醇含量无影响。

添加 5.0、2.0 和 1.0 mg/kg 叶酸使草鱼鱼种血清低密度脂蛋白胆固醇含量比对照组有显著降低 ($P < 0.05$), 但 10.0 和 20.0 mg/kg 叶酸添加量对低密度脂蛋白胆固醇含量无影响。

表3 饲料叶酸添加量对草鱼鱼种血清总蛋白(TP)、甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量的影响

Tab.3 Effect of dietary folic acid contents on total protein(TP), triacylglycerol(TG), total cholesterol(TC), high density lipoprotein cholesterol(HDL-C) and low density lipoprotein cholesterol(LDL-C) levels in serum of grass carp fingerling(mean \pm SD, n=3)

叶酸添加量 (mg/kg)	TP (mmol/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
0	36.53 \pm 1.25 ^a	7.17 \pm 1.09 ^a	8.40 \pm 0.44 ^a	1.36 \pm 0.16 ^a	2.47 \pm 0.07 ^a
0.5	36.47 \pm 0.67 ^a	6.82 \pm 0.47 ^{ab}	8.32 \pm 0.24 ^a	1.37 \pm 0.06 ^a	2.33 \pm 0.10 ^{ab}
1.0	34.83 \pm 0.64 ^a	6.23 \pm 0.22 ^{ab}	7.80 \pm 0.13 ^{ab}	1.25 \pm 0.07 ^a	2.05 \pm 0.16 ^b
2.0	34.67 \pm 3.11 ^a	5.98 \pm 0.66 ^{ab}	7.56 \pm 0.33 ^{ab}	1.20 \pm 0.03 ^a	2.01 \pm 0.11 ^b
5.0	33.77 \pm 0.40 ^a	5.78 \pm 0.42 ^b	7.32 \pm 0.36 ^b	1.25 \pm 0.04 ^a	1.98 \pm 0.09 ^b
10.0	34.20 \pm 1.08 ^a	6.36 \pm 0.44 ^{ab}	8.19 \pm 0.36 ^{ab}	1.27 \pm 0.07 ^a	2.30 \pm 0.19 ^{ab}
20.0	34.73 \pm 2.87 ^a	6.75 \pm 0.97 ^{ab}	8.30 \pm 1.07 ^a	1.25 \pm 0.16 ^a	2.24 \pm 0.39 ^{ab}

注:同一列中没有相同字母标记的值表示差异显著($P < 0.05$)

2.3 添加不同含量叶酸对草鱼鱼种造血机能的影响

添加叶酸的试验组草鱼鱼种血红蛋白含量、红细胞数和血小板数比对照组均有不同程度的提高,其中添加 5.0 mg/kg 叶酸时,显著增加了血液中血红蛋白含量和血小板数($P < 0.05$),添加 2.0 mg/kg 叶酸时,也显著增加了血小板数($P < 0.05$),但添加叶酸对草鱼鱼种红细胞数无显著影响($P > 0.05$)(表4)。

表4 饲料叶酸添加量对草鱼鱼种血红蛋白含量(Hb)、红细胞数(RBC)和血小板数(PLT)的影响

Tab.4 Effect of dietary folic acid contents on hemoglobin assay(Hb), red blood cell(RBC) and platelet counting(PLT) of grass carp fingerling(mean \pm SD, n=3)

叶酸添加量(mg/kg)	Hb(g/L)	RBC($\times 10^{12}/L$)	PLT($\times 10^8/L$)
0	110.33 \pm 1.53 ^a	2.46 \pm 0.12 ^a	36.33 \pm 1.53 ^a
0.5	113.67 \pm 2.31 ^{ab}	2.63 \pm 0.03 ^a	39.00 \pm 3.61 ^{ab}
1.0	112.33 \pm 6.43 ^{ab}	2.63 \pm 0.32 ^a	41.33 \pm 3.06 ^{abc}
2.0	116.33 \pm 11.50 ^{ab}	2.71 \pm 0.27 ^a	45.33 \pm 1.15 ^{bc}
5.0	128.67 \pm 17.62 ^b	2.99 \pm 0.56 ^a	47.33 \pm 5.68 ^c
10.0	118.00 \pm 3.46 ^{ab}	2.61 \pm 0.14 ^a	43.00 \pm 5.57 ^{abc}
20.0	120.33 \pm 7.77 ^{ab}	2.66 \pm 0.16 ^a	42.00 \pm 4.58 ^{abc}

注:同一列中没有相同字母标记的值表示差异显著($P < 0.05$)

2.4 回归分析

对结果中具有显著性差异的指标进行折线回归分析。以草鱼鱼种饲料中不同叶酸添加量为自变量(X),草鱼增重率、血清中甘油三脂和总胆固醇含量、血液中血红蛋白含量和血小板数为因变量(Y),用折线回归分析得出回归方程、回归关系相关系数(R^2)以及求得拐点叶酸添加量见表5。

表5 叶酸添加量与增重率(WG)、甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、血红蛋白(Hb)和血小板数(PLT)的回归分析

Tab.5 Regression analysis between dietary folic acid contents and weight gain(WG), triacylglycerol(TG), total cholesterol(TC), hemoglobin assay(Hb) and platelet counting(PLT)

分析指标	回归方程 1	R^2	回归方程 2	R^2	求得拐点 X
WG	$Y = 157.76 + 3.04 * X$	0.564 7	$Y = 174.27 - 1.12 * X$	0.877 3	3.96
TG	$Y = 6.81 - 0.25 * X$	0.699 6	$Y = 5.59 + 0.061 * X$	0.909 8	4.08
TC	$Y = 8.23 - 0.21 * X$	0.776 0	$Y = 7.27 + 0.058 * X$	0.664 6	3.63
Hb	$Y = 110.14 + 3.60 * X$	0.970 2	$Y = 127.50 - 0.44 * X$	0.363 8	4.29
PLT	$Y = 38.39 + 2.04 * X$	0.815 0	$Y = 47.83 - 0.32 * X$	0.738 8	4.00

从表中可见,草鱼鱼种饲料中叶酸适宜添加量分别为 3.96, 4.08, 3.63, 4.29 和 4.00 mg/kg,因此得出本次试验中草鱼鱼种对叶酸的适宜需要量为 3.6~4.3 mg/kg 饲料。

3 讨论

3.1 添加不同含量叶酸对草鱼鱼种生长的影响

通常认为肠内微生物的合成可以为鱼体提供相当多的叶酸。Duncan 等^[3]证明斑点叉尾鮰肠内微生物对叶酸的合成是其叶酸需要的一个重要来源。Kashiwada 等^[11]通过隔绝鲤鱼肠内细菌合成叶酸的试验,推断出一些鱼类如鲤鱼自身能合成足够的叶酸来满足自身的需要,因此不需要在饲料中添加叶酸。但并非所有的鱼类都能合成满足自身需要的叶酸量,如虹鳟鱼种^[2]和罗非鱼鱼种^[4]就必须在它们的日粮中添加一定量的叶酸才能更好地满足自身生长的需要。本次结果中,当饲料叶酸添加量适宜时,草鱼鱼种增重率与对照组比有显著地增加,表明饲料中适量的叶酸对草鱼的生长有促进作用,也说明草鱼鱼种肠道微生物对叶酸的合成不足以满足草鱼鱼种快速生长的需要,因此在草鱼鱼种饲料中添加一定量的叶酸是有必要的。

另外,添加了适量的叶酸后,草鱼鱼种对饲料的利用效率增强了,提高了饲料价值,这与罗非鱼^[4]和虹鳟^[2]的研究结果相似。添加叶酸对草鱼鱼种的存活率无显著影响,但是存活率随着叶酸添加水平的增加呈现出递增的趋势,因此添加适量的叶酸可能提高草鱼鱼种的存活率,只是在本次试验中也许由于饲养时间较短未表现出显著差异。

3.2 添加不同含量叶酸对草鱼鱼种血清部分生化指标的影响

有研究指出以叶酸为辅酶的一碳单位代谢和甲基化对动物胰腺的分泌功能有影响,在动物日粮中添加叶酸能使血浆胰岛素水平明显增加^[12],而在脂肪的代谢中,脂肪组织通过一种对激素敏感的特殊脂肪酶^[13]而释出脂肪酸,胰岛素能抑制这种对激素敏感的脂肪酶活性,使脂肪组织的甘油三酯水解减少,从而进入血液中的游离脂肪酸降低。同时肝脏是利用血液中游离脂肪酸的重要器官,游离的脂肪酸部分可被转变成甘油酯(甘油三酯和磷脂),而甘油三酯通常掺入脂蛋白再分泌到血液中使血液甘油三酯含量增加。另有研究表明缺乏叶酸可使血管内皮产生氧化性损害,抑制内皮抗凝血因子而易发生凝集作用,增加血小板的凝集,使血浆胆固醇水平升高^[14]。

本次结果中草鱼鱼种饲料中添加适量的叶酸,能够显著地降低草鱼血清中甘油三酯、总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量,表明添加适量的叶酸可能有利于草鱼鱼种血浆中胰岛素水平的增加,从而抑制了特殊脂肪酶的活性,减少了肝脏中甘油三酯的合成,使掺入脂蛋白中的甘油三酯含量减少,从而降低了进入血液中甘油三酯含量;低密度脂蛋白胆固醇是内源性甘油三酯转运的残余产物,甘油三酯转运的减少也相应地降低了血液中低密度脂蛋白胆固醇含量;同时添加适量的叶酸可能使草鱼鱼种血管内皮不产生氧化性损害,内皮抗凝血因子发生凝集作用降低,减少了血小板的凝集,从而使血清中总胆固醇水平降低。另一方面从人类心血管疾病的发生率来看,血清中这三者的降低有可能避免心血管疾病^[15]。

3.3 添加不同含量叶酸对草鱼鱼种造血功能的影响

细胞分裂时所需核酸中的嘌呤和嘧啶,生物合成过程中氨基酸的相互转变需要叶酸才能完成。叶酸缺乏可造成 DNA 合成的障碍,使分裂迅速的造血系统发生细胞改变,原始红细胞就不会正常成熟,造血作用被抑制在成血细胞阶段,出现血液学异常。Cowey 等^[2]对虹鳟鱼种叶酸需要量进行了研究,指出未添加叶酸日粮的虹鳟出现叶酸缺乏症状,为少量红细胞(2.3%)出现畸形核。Duncan 等^[3]研究了斑点叉尾鮰鱼种叶酸需要量,表明当日粮叶酸添加量为 4 mg/kg 时,斑点叉尾鮰鱼种血细胞压积、红细胞数、白细胞数与日粮中添加叶酸量存在显著的二次回归关系。

本次试验的结果中,添加适量叶酸的试验组比未添加叶酸的对照组在血红蛋白含量和血小板数上有显著增加,说明缺乏叶酸可能使草鱼鱼种脱氧胸苷酸、嘌呤核苷酸的形式及甘氨酸与丝氨酸、同型半

胱氨酸与蛋氨酸的互变受阻,导致核蛋白缺乏,DNA合成受阻,造血作用被抑制在成血细胞阶段,出现血红蛋白和血小板的减少。添加叶酸的试验组红细胞数都高于未添加叶酸的对照组,也说明缺乏叶酸会阻碍红细胞的形成,但可能由于试验时间短,而未表现出显著差异。在试验中未发现草鱼鱼种红细胞畸形以及其它的叶酸缺乏症状,但有研究指出当叶酸与维生素 B₁₂都缺乏时,鱼类才会表现出更加显著的贫血症状,并表明叶酸与维生素 B₁₂在促进鱼类红细胞成熟过程中有相互补充的作用^[16],如罗非鱼^[17]饲料中就不需要添加维生素 B₁₂而可以正常生长,因此缺乏叶酸的试验组可能会因为饲料中维生素 B₁₂的存在而使草鱼鱼种血液未表现出更多的缺乏症状。

参考文献:

- [1] Stokstad E L R, Koch J. Folic acid metabolism [J]. *Physiol Rev*, 1967, 47:83 - 116.
- [2] Cowey C B, Woodward B. The dietary requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) for folic acid [J]. *J Nutr*, 1993, 123: 1594 - 1600.
- [3] Duncan P L, Lovell R T, Butterworth C E, *et al.* Dietary folate requirement determined for channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *J Nutr*, 1993, 123:1888 - 1897.
- [4] Shiao S Y, Huang S Y. Dietary folic acid requirement for maximum growth of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* [J]. *Sci Fish*, 2001, 67(4):655 - 659.
- [5] Shiao S Y, Huang S Y. Dietary folic acid requirement determined for grass shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2001, 200:339 - 347.
- [6] 胡志洲,黄忠志,廖朝兴. 草鱼早期生长阶段对维生素 C 的需要[J]. *淡水渔业*, 1988, 2:12 - 14.
- [7] Takeuchi T, Watanabe K, Satoh S, *et al.* Requirement of grass carp fingerling for α-tocopherol [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58(9): 1743 - 1749.
- [8] 李 兰. 多维预混料中烟酸、叶酸测定方法的研究[J]. *中国饲料*, 2001, (1):31 - 33.
- [9] 荻野珍吉编. 鱼类的营养与饲料[M]. 陈国铭,黄小秋译. 北京:海洋出版社,1987,325 - 326.
- [10] 农业部畜牧兽医局. 饲料工业标准汇编上册[M]. 北京:中国标准出版社,2002, 70 - 92.
- [11] Kashiwada K, Kanazawa A, Techima S. Studies on the production of B vitamins by intestinal bacteria of carp [J]. *Mem Fac Fish, Kagoshima Univ*, 1971, 20:185 - 189.
- [12] 倪志勇. 动物叶酸营养的研究进展[J]. *饲料研究*, 1999, (3): 16 - 19.
- [13] Steinberg P. Interconvertible enzymes in adipose tissue regulated by cyclic AMP-dependent protein kinase [J]. *Adv Cyclic Nucleotide Res*, 1976, 1:157 - 198.
- [14] 孙定人,张石革. 维生素 M(叶酸)缺乏症(巨幼红细胞贫血)与补充维生素 M[J]. *中国药房*, 2003, 14(8):511 - 512.
- [15] 王 抒,李健斋,李红霞. 血清甘油三酯与高密度脂蛋白胆固醇合适水平与危险水平的划分[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2002, 10(6):513 - 516.
- [16] John M J, Mahajan C L. The physiological response of fishes to a deficiency of cyanocobalamin and folic acid [J]. *Fish Biol*, 1979, 14: 127 - 133.
- [17] Shiao S Y, Lung C Q. No dietary vitamin B₁₂ required for juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus* [J]. *Biochem Physiol*, 1992, 105:147 - 150.