

葡萄糖和维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪生长及其三种酶活性的影响

韦力^① 王海燕^② 邵伟伟^① 雷焕宗^① 林植华^{①*}

① 丽水学院生态学院 丽水 323000; ② 浙江农林大学动物科技学院 临安 311300

摘要: 营养源对动物生长发育具有重要作用。本文采用静水实验浸泡法探究葡萄糖和维生素 C 对镇海林蛙 (*Rana zhenhaiensis*) 蝌蚪生长及其苹果酸脱氢酶、乳酸脱氢酶及淀粉酶活性的影响。在葡萄糖实验组共分为 0.5、1.0 和 2.0 g/L 三个浓度组, 维生素 C 实验组共分为 10.0、20.0 和 30.0 mg/L 浓度组, 另设 1 组加曝气水作为对照组。在葡萄糖实验组中, 蝌蚪存活率在不同实验组间的差异不显著 ($P > 0.05$)。变态时间在 0.5 g/L 和 1.0 g/L 实验组最短, 分别为 (43.0 ± 4.0) d 和 (43.0 ± 3.4) d, 2.0 g/L 实验组最长, 为 (46.2 ± 5.4) d, 且实验组间差异显著 ($P < 0.05$)。变态时, 0.5 g/L 实验组的体重和体全长最大, 且各实验组间的体重差异显著 ($P < 0.01$), 但体全长差异不显著 ($P > 0.05$)。增重率在 0.5 g/L 实验组最高, 为 (9.67 ± 1.71) mg/d, 对照组最低, 为 (7.54 ± 1.22) mg/d, 且各实验组之间差异显著 ($P < 0.05$)。维生素 C 实验组中, 存活率在各实验组间差异不显著 ($P > 0.05$)。所有实验组蝌蚪的发育历期在实验第 7、14、21 和 28 天时均大于对照组。变态时间在所有的实验组相似, 为 43 d 左右 ($P > 0.05$)。变态时, 蝌蚪的体重 ($P > 0.05$) 和体全长 ($P > 0.05$) 在 20.0 mg/L 实验组和 30.0 mg/L 实验组最大, 对照组最小, 但各实验组间差异不显著。蝌蚪的增重率在 20.0 mg/L 和 30.0 mg/L 实验组最高, 10.0 mg/L 实验组最低, 但不同实验组间差异不显著 ($P > 0.05$)。生化酶活性检测中, 苹果酸脱氢酶 (MDH) 活性在葡萄糖实验组和维生素 C 实验组中均随实验浓度的增加而增加。乳酸脱氢酶 (LDH) 和淀粉酶 (AMS) 活性分别在葡萄糖的 1.0 g/L 实验组和维生素 C 的 10.0 mg/L 实验组达到最高。本研究结果表明, 10.0 mg/L 维生素 C 或 1.0 g/L 葡萄糖为镇海林蛙蝌蚪的最适外源物添加浓度, 能促进蝌蚪的生长和体内酶活性。该研究结果将为镇海林蛙的养殖提供一定的理论参考数据。

关键词: 葡萄糖; 维生素 C; 镇海林蛙; 生长性能; 酶活性

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 02-229-09

Effects of Glucose and Vitamin C on Growth and Activities of Three Enzymes of *Rana zhenhaiensis* Tadpoles

WEI Li^① WANG Hai-Yan^② SHAO Wei-Wei^① LEI Huan-Zong^① LIN Zhi-Hua^{①*}

① College of Ecology, Lishui University, Lishui 323000;

② College of Animal Science and Technology, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an 311300, China

基金项目 浙江省自然科学基金项目 (No. LY19C040001) 和丽水市重点研究项目 (No. 20151206, SH2017001);

* 通讯作者, E-mail: zhlin1015@126.com;

第一作者介绍 韦力, 男, 副教授; 研究方向: 动物生态学; E-mail: weiliveil2007@163.com。

收稿日期: 2019-11-04, 修回日期: 2020-01-05 DOI: 10.13859/j.cjz.202002012

Abstract: The nutrition source plays an important role in the growth and development of animals. In this study, the effects of glucose and vitamin C (Vc) on the growth and activity of three enzymes (malate dehydrogenase: MDH, lactate dehydrogenase: LDH, amylase: AMS) of tadpoles of *Rana zhenhaiensis* were studied using the static water immersion method. Healthy and uniform-size sibling tadpoles of *R. zhenhaiensis* with developmental stages of Gosner 29 and 30 were selected for testing. For glucose treatment, three experimental concentrations were chosen: 0.5, 1.0 and 2.0 g/L, respectively; and for Vc treatment, three experimental concentration were chosen: 10.0, 20.0 and 30.0 mg/L, respectively. Treatment with dechlorinated tap water was set up for control. Each treatment was replicated three times, with 10 objective tadpoles. The experimental period was lasted for tadpole metamorphosis until forelimb emerged (Gosner 42). The results showed that survival rates among different glucose treatments were not significantly different ($P > 0.05$). Metamorphic time ($P > 0.05$) was significantly different among treatments, with the shortest period in the 0.5 g/L (43.0 ± 4.0 d) and 1.0 g/L (43.0 ± 3.4 d) group, and the longest period in the 2.0 g/L (46.2 ± 5.4 d) treatment. Both body mass and total body length of metamorphosis were found to be the largest in the 0.5 g/L treatment group. Body mass ($P < 0.01$) of metamorphosis among different treatments was significantly different, but total body length ($P > 0.05$) was not significantly different. Rate of weight growth was found to be the highest in the 0.5 g/L treatment (9.67 ± 1.71 mg/d) and the lowest in the control group (7.54 ± 1.22 mg/d), and the differences were significant ($P < 0.05$) (Fig. 2). For Vc treatments, like those in the glucose experimental treatments, survival rates among different treatments were not significantly different ($P > 0.05$). Developmental stage of each treatment was more advanced than that of the control when examined 1 week later, as well as on day 14, 21 and 28, respectively. Metamorphic time (all treatments were similar to 43.0 d, $P > 0.05$) was not significantly different among all treatments. Total body length and body mass of metamorphosis in control treatment were smaller than those of 20.0 mg/L and 30.0 mg/L treatment groups, but total body length ($P > 0.05$) and body mass ($P > 0.05$) was not significantly different among the treatments during the experimental period. Rate of weight growth was found to be the highest in both 20.0 mg/L and 30.0 mg/L treatments and the lowest in the 10.0 mg/L treatment, but there was no significant difference ($P > 0.05$) (Fig. 3). Both glucose and Vc could impact enzyme activity of *R. zhenhaiensis* tadpoles. The activity of MDH increased with the increase of experimental concentrations of glucose and Vc. The activities of LDH and AMS were highest in 1.0 g/L of glucose group and 10.0 mg/L of Vc group, respectively (Table 1). These findings suggest that 10.0 mg/L of Vc or 1.0 g/L of glucose should be the optimum exogenous concentrations that could promote the growth performance and enzymatic activity of *R. zhenhaiensis* tadpoles. These data might provide some valuable information for *R. zhenhaiensis* breeding in the future.

Key words: Glucose; Vitamin C; *Rana zhenhaiensis*; Growth; Enzyme activity

随着水产养殖业的发展, 集约化、高密度已经成为主要的养殖模式, 这种养殖模式导致水体自净能力下降, 水体污染严重, 动物易感染疾病, 生长缓慢 (Li et al. 2019)。为了水产动物养殖业发展, 抗生素一度被频繁使用 (Tyagi et al. 2019)。尽管抗生素能够有效促

进动物个体生长, 但也影响了水产品的质量和养殖水体及其周围的环境, 更为严重的是, 因长期使用抗生素而导致了耐药菌株的出现 (Hu et al. 2017)。因此, 加强对安全有效饲料添加剂的研发和利用, 增加动物机体免疫能力、增强抗病力, 减少疾病的发生, 对确保经济动物

养殖业的健康发展非常重要 (Chernysh et al. 2015)。

过去几十年来, 许多学者极力探索和研发各种无危害饲料添加剂来促进水产养殖业的发展, 如葡萄糖 (Cui et al. 2010)、维生素 (Waagbø 2010) 和益生菌 (李小义等 2016) 等。在达氏鲟 (*Acipenser dabryanus*) 的研究中发现, 不同的糖源对其幼鱼生长及消化道消化酶和肝丙酮酸激酶、磷酸烯醇式丙酮酸激酶等生理生化指标影响显著 (褚志鹏等 2017)。在金鲟鱼 (*Trachinotus ovatus*) 生长性能研究中发现, 其食料最佳糖含量比例为 11.2%~16.8% (Zhou et al. 2015)。同样, 对吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 生长性能研究发现, 不同种类碳水化合物对其生长性能的影响显著, 即南方糙米和玉米淀粉的利用效果较好 (孙育平等 2014)。在维生素研究方面, 如团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 幼鱼的食料中添加 133.7 mg/kg 的维生素 C 能够显著增加体重, 幼鱼体内抗氧化酶活性显著增强 (万金娟等 2014)。同样, 水体添加外源性维生素 C 能够显著影响机体体内代谢水平, 如 30 mg/L 的维生素 C 溶液能显著提高普安银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 仔鱼超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性 (熊铧龙等 2015), 25 mg/L 的维生素 C 溶液能显著提高圆斑星鲃 (*Verasper variegatus*) 消化酶活性, 促进蛋白质的沉积及早期发育的脂质代谢 (王贞杰等 2018)。以上这些研究结果表明, 葡萄糖和维生素对机体维持正常代谢和生长具有重要的作用 (蒋左玉等 2014)。

本研究以镇海林蛙 (*Rana zhenhainesis*) 蝌蚪为实验对象, 在饲养水体中添加不同剂量的葡萄糖和维生素 C, 旨在评估外源性葡萄糖和维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪生长性能的影响, 并比较两种外源性饲料添加剂对镇海林蛙生理生化指标的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料采集

从浙江丽水市郊水塘内采集一窝镇海林蛙蝌蚪, 带回实验室后, 移入 60 cm × 40 cm × 30 cm 塑料箱内饲养, 箱内盛入曝气水, 水深约 20 cm, 水中放入水藻以模拟蝌蚪野外生存环境。待蝌蚪发育至第 29 至 30 期 (Gosner 分期, Gosner 1960) 时, 选择健康、大小相似的蝌蚪进行实验, 实验蝌蚪平均体重为 (0.022 ± 0.004 0) g, 平均体长为 (12.03 ± 0.89) mm。

维生素 C 为华中药业股份有限公司生产, 葡萄糖 (D-glucose) 为天津市恒兴化学试剂制造有限公司生产, 两种均为实验前临时配制。

1.2 实验设计及数据采集

实验采用静水实验浸泡法进行 (熊铧龙等 2015, 王贞杰等 2018)。葡萄糖组设置 3 个浓度组, 分别为 0.5、1.0 和 2.0 g/L, 维生素 C 组也设置 3 个浓度组, 分别为 10.0、20.0 和 30.0 mg/L, 每组浓度设置 3 次重复。另设 1 个加曝气水作为空白对照组, 重复 3 次。实验容器为长 30 cm × 宽 20 cm × 高 10 cm 的塑料箱, 每个塑料箱盛实验溶液 3 L, 每组随机放置 10 只实验蝌蚪, 在室温条件下随机摆放塑料箱。每 7 d (1 周) 测量蝌蚪的体重、体全长, 鉴定发育历期。测量体重时, 先用吸水纸吸干蝌蚪体表水分, 再用电子天平 (ME104E, 托利多仪器有限公司) 称取湿重 (精确到 0.000 1 g), 然后将蝌蚪放入底下有标尺的培养皿中, 用相机拍照并保存到电脑 (图 1), 后续用 Image J 软件读出体全长数据 (精确到 0.01 mm)。参照 Gosner (1960) 的方法, 用 Nikon XTS30 解剖显微镜鉴定蝌蚪的发育历期。待蝌蚪个体发育到 42 期 (即一或两个前肢出现时), 记录其变态时间即从实验开始到发育历期为 42 期所经历的时间, 并称量此时期的体重 (精确到 0.000 1 g) 和测量体全长 (精确到 0.01 mm)。从每个浓度组随机挑选 3 只变态幼体放入 1.5 ml 离心管中并保存于 -20 °C 低温冰箱, 用于后续

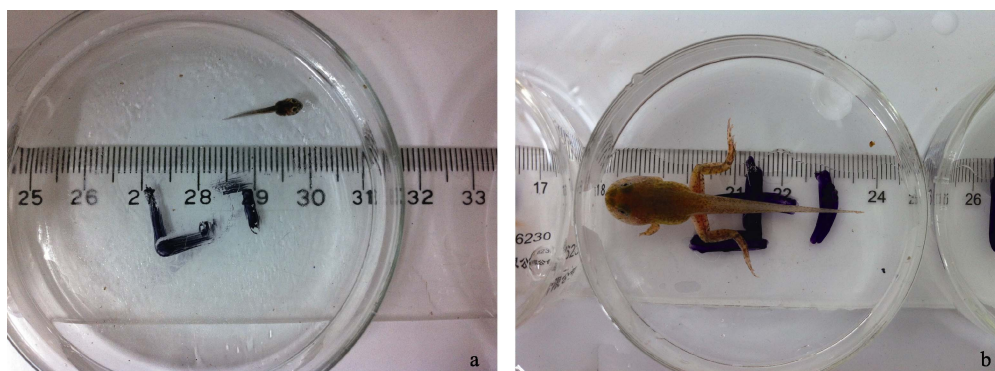


图1 实验开始 (a) 时及到达变态时 (b) 蝌蚪的形态

Fig. 1 The morphological photos of experimental tadpoles in the beginning (a) and metamorphosis (b)

酶活性测定。实验期间,每隔 2 d 全部更换一次新配制实验溶液并投喂足量的饲料。

1.3 酶活力测定

酶活力测定前,将样品解冻,然后将每个个体放入 2 ml 玻璃匀浆器中,加 1.5 ml 预冷的 0.65% 生理盐水,在冰浴条件下匀浆至无明显颗粒物,然后将组织匀浆液快速移入新的干净 2 ml 离心管中,在 4 °C 下离心 (4 000 r/min) 10 min,弃沉淀和上层脂肪,取 1 ml 清液移至 1.5 ml 离心管中,即为粗酶提取液,置于 -20 °C 冰箱待酶活性测定。

采用淀粉-碘显色法测定淀粉酶 (amylase, AMS)。取 2 支试管,分别加 0.4 ml 2% 可溶性淀粉 (pH = 7.5),其中 1 支加 8 μl 粗酶液,另 1 支加 8 μl 蒸馏水作为对照,混匀后反应 7.5 min,然后分别加 0.16 ml 0.02% 碘应用液和 2 ml 蒸馏水,混匀后用 756 型紫外分光光度计在 610 nm 测定其吸光值 (A),重复 3 次。淀粉酶活性 (U/g) 用公式 $[80 (1000/ab) (A_{\text{对照}} - A_{\text{测定}})] / (7.5A_{\text{对照}})$ 进行换算, $A_{\text{对照}}$ 和 $A_{\text{测定}}$ 分别为对照组的吸光值和实验组吸光值, a 为蝌蚪组织的湿重 (g), b 为粗酶液加样量 (μl)。

测定乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 时,取 5 ml 离心管,精确量取 10 μl 粗酶液加入到含有 2 ml 0.1 mol/L K_3PO_4 、10 μl 160 mmol/L 的丙酮酸和 10 μl 32 mmol/L 的

NADH 溶液体系 (pH = 7.3),充分混匀后立即用 756 型紫外分光光度计测定其在波长 340 nm 处的吸光值 (A_0),体系反应 4 min 后再测定其吸光值 (A_4),重复 3 次。乳酸脱氢酶 (LDH) 活性 (U/g) 用公式 $[1000 (A_0 - A_4) V] / (6.22 \cdot 4ab)$ 进行换算,其中, V 为反应总体积 (ml), 6.22 为摩尔消光系数, 4 为反应时间 (min), a 为待测样品湿重 (g), b 为粗酶液加样量 (μl)。

同样,测定苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase, MDH) 时,取出 5 ml 离心管,精确量取 5 μl 粗酶液加入到含有 2 ml Tris-HCl, 10 μl 32 mmol/L 的 NADH 和 10 μl 0.72 mmol/L 草酰乙酸的混合溶液体系 (pH = 7.3),充分混匀后立即用 756 型紫外分光光度计测定其在波长 340 nm 处的吸光值 (A_0),体系反应 4 min 后再测定其吸光值 (A_4)。MDH 活性换算公式与上述 LDH 相同。

1.4 数据处理

数据统计前,检测数据的正态性和方差同质性。分析不同浓度葡萄糖及维生素 C 分别对实验蝌蚪的生长指标及酶活性的影响时,主要采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 及 Tukey 多重比较进行计算。所有数据用 STATISTICA 8.0 for windows 进行统计。数据以平均值 (Mean) ± 标准差 (SD) 表示。显著

性概率水平设为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 葡萄糖对镇海林蛙蝌蚪生长的影响

整个实验期间蝌蚪出现个别死亡, 但存活率在组间差异不显著 ($F_{3,8} = 0.690$, $P > 0.05$, 图 2a)。不同浓度葡萄糖对镇海林蛙蝌蚪发育历期、变态时间、体重、体全长和增重率的影响见图 2b ~ f。在实验 2 周后, 各实验组的发育历期、体重和体全长与对照组相比均出现显

著差异 ($P < 0.01$)。从第 21 天至 35 天, 0.5 g/L 实验组的发育历期、体重和体全长均为最大。到第 42 天时, 蝌蚪发育历期在各实验组间无显著差异 ($F_{3,77} = 2.600$, $P > 0.05$), 但发育历期和体重在 1.0 g/L 实验组达到最大, 体重 ($F_{3,77} = 15.980$, $P < 0.01$) 和体全长 ($F_{3,77} = 3.630$, $P < 0.05$) 在组间存在显著性差异。到达变态时, 0.5 g/L 实验组的体重和体全长最大, 各实验组的体重 ($F_{3,94} = 9.100$, $P < 0.01$) 差异显著, 但体全长 ($F_{3,94} = 2.560$, $P > 0.05$) 差异不显著。

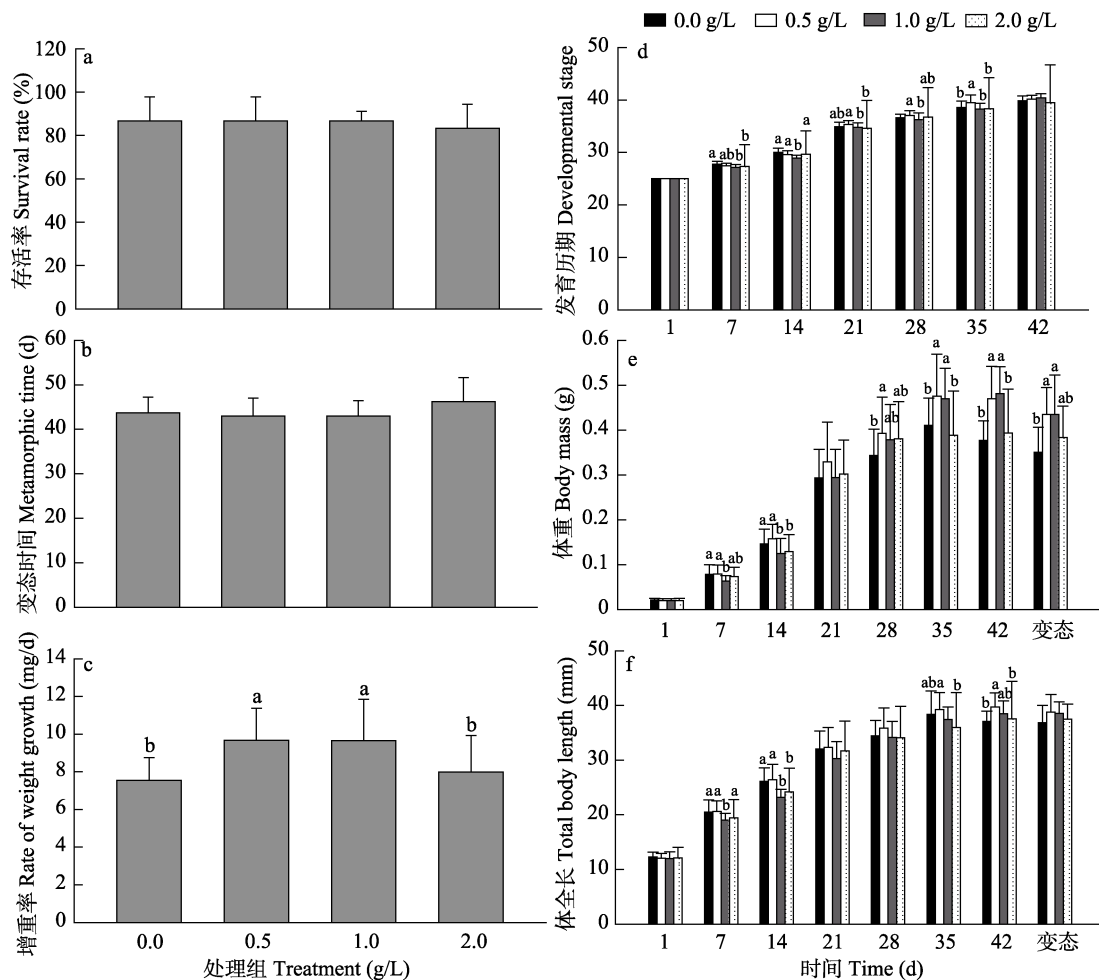


图 2 不同浓度葡萄糖对镇海林蛙蝌蚪生长发育的影响

Fig. 2 Effects of glucose on growth performance of *Rana zhenhaiensis* tadpoles

a. 存活率; b. 变态时间; c. 增重率; d. 发育历期; e. 体重; f. 体全长。上标不同字母表示差异显著 (Tukey's test, $\alpha = 0.05$, $a > b$)。a. Survival rate; b. Metamorphic time; c. Rate of weight growth; d. Developmental stage; e. Body mass; f. Total body length. Types with different superscripts differ significantly (Tukey's test, $\alpha = 0.05$, $a > b$). 变态. Metamorphosis.

蝌蚪的变态时间在 0.5 g/L [(43.0 ± 4.0) d]和 1.0 g/L [(43.0 ± 3.4) d]实验组最短, 2.0 g/L 实验组最长 [(46.2 ± 5.4) d], 且各实验组间差异显著 ($F_{3,94} = 2.910, P < 0.05$)。蝌蚪的增重率在 0.5 g/L 实验组最高, 为 (9.68 ± 1.71) mg/d, 对照组最低, 为 (7.54 ± 1.22) mg/d, 且不同实验组间差异显著 ($F_{3,94} = 9.709, P < 0.05$)。

2.2 维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪生长的影响

实验期间镇海林蛙蝌蚪在 3 个实验组均出

现个别蝌蚪死亡, 但与对照组相比较, 存活率在各实验组间差异不显著 ($F_{3,8} = 1.102, P > 0.05$, 图 3a)。不同浓度 Vc 对镇海林蛙蝌蚪发育历期、变态时间、体重、体全长和增重率的影响见图 3b ~ f。实验开始 1 周后, 各实验组的发育历期均大于对照组, 且第 14 ($F_{3,116} = 4.900, P < 0.05$)、21 ($F_{3,115} = 3.900, P < 0.05$) 和 28 天 ($F_{3,114} = 5.100, P < 0.05$) 时差异显著。实验的前 28 d 和变态时, 蝌蚪体重在对照组均小于 3 个实验组, 但在第 35 和 42 天大于各实验组。体全长

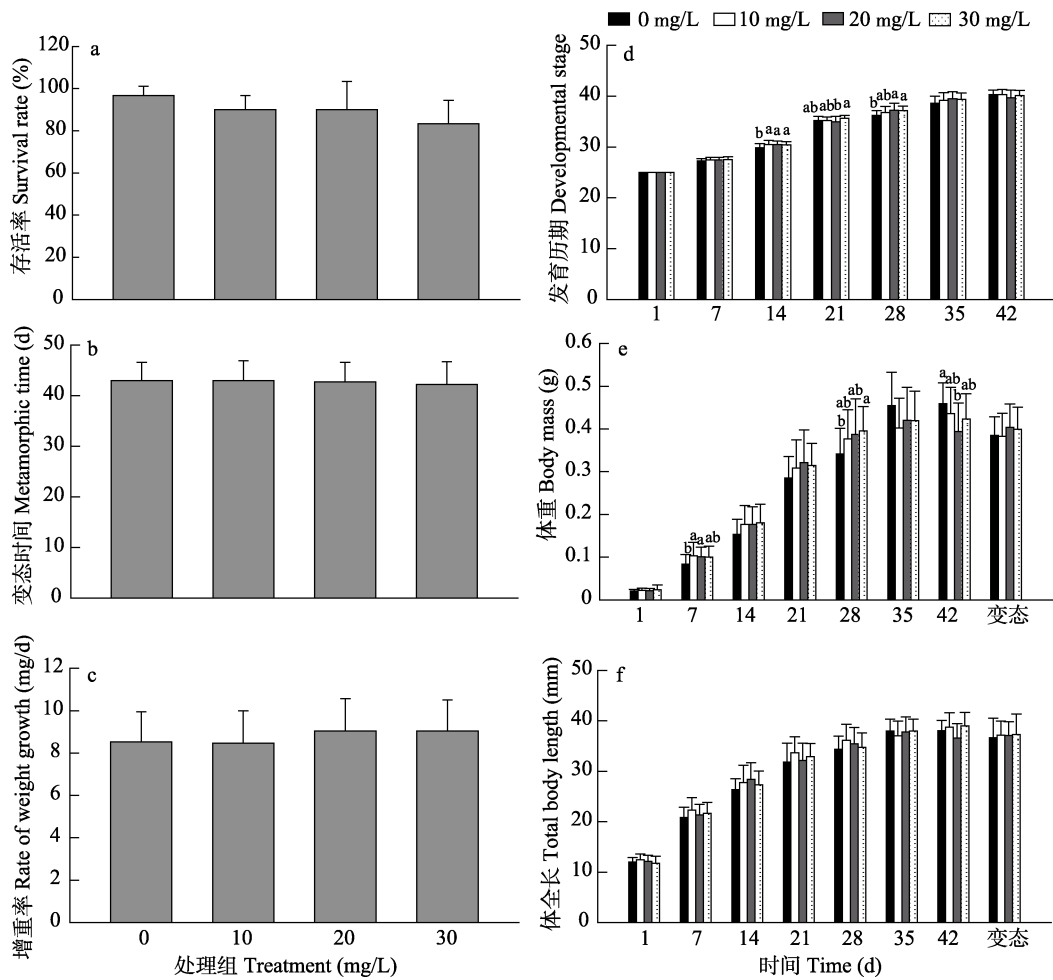


图 3 不同浓度维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪生长发育的影响

Fig. 3 Effects of vitamin C on growth performance of *Rana zhenhaiensis* tadpoles

a. 存活率; b. 变态时间; c. 增重率; d. 发育历期; e. 体重; f. 体全长。上标不同字母表示差异显著 (Tukey's test, $\alpha = 0.05, a > b$)。a. Survival rate; b. Metamorphic time; c. Rate of weight growth; d. Developmental stage; e. Body mass; f. Total body length. Types with different superscripts differ significantly (Tukey's test, $\alpha = 0.05, a > b$). 变态. Metamorphosis.

10.0 mg/L 实验组在第 35 天, 以及 20.0 mg/L 实验组在第 42 天为最小, 其余实验时间均为对照组的最小, 但整个实验期间所有组间差异均不显著 ($P > 0.05$)。蝌蚪到达变态时, 变态时间在所有的实验组相近, 为 43 d 左右 ($F_{3,104} = 1.419$, $P > 0.05$)。变态时的蝌蚪体重和体全长在 20.0 mg/L 实验组和 30.0 mg/L 实验组最大, 对照组最小, 但各实验组间差异不显著 (体重: $F_{3,104} = 0.864$, $P > 0.05$; 体全长: $F_{3,104} = 0.130$, $P > 0.05$)。蝌蚪的增重率在 20.0 mg/L 和 30.0 mg/L 实验组最高, 分别为 (9.03 ± 1.54) mg/d 和 (9.03 ± 1.47) mg/d, 10.0 mg/L 实验组最低, 为 (8.47 ± 1.53) mg/d, 但不同实验组间差异不显著 ($F_{3,104} = 0.947$, $P > 0.05$)。

2.3 葡萄糖和维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪生化酶活性的影响

葡萄糖和维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪酶活性的影响结果见表 1。苹果酸脱氢酶 MDH 活性在葡萄糖和 Vc 实验组中均随实验浓度的增加而增加。乳酸脱氢酶 LDH 和淀粉酶 AMS 活性均在葡萄糖的 1.0 g/L 实验组活性最高, 在 Vc 的 10.0 mg/L 实验组最高。苹果酸脱氢酶 MDH、乳酸脱氢酶 LDH 和淀粉酶 AMS 三种酶活性在

不同实验组的比较中, 除了乳酸脱氢酶 LDH 在葡萄糖实验组的比较差异不显著外, 其余的差异均显著。

3 讨论

饲料添加剂能够有效地促进水产动物养殖业的发展 (Hamre et al. 2016, 王贞杰等 2018), 其中添加微生态制剂饲料到目前为止是最为有效的方法 (李海峰等 2014)。本研究中, 添加 10.0 mg/L 维生素 C 和 1.0 g/L 葡萄糖可促进蝌蚪早期发育, 增加蝌蚪变态率, 并增强蝌蚪有氧代谢和淀粉酶活性, 这与王金娟等 (2014)、胡毅等 (2013) 和刘迎隆 (2014) 对鱼类的研究结果相似, 其原因是外源性维生素和葡萄糖能够有效提高动物生长性能 (熊铎龙等 2015)。例如, 青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 添加 63.0 mg/kg 维生素 C 可有效增强机体免疫, 缓解机体免疫应激, 改善青鱼抗氨氮胁迫能力 (胡毅等 2013)。军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 幼鱼的最适糖添加量 (小麦淀粉为糖源) 为 23.14% ~ 25.30%, 添加后使幼鱼的肝糖原和肌糖原含量以及己糖激酶活性、丙酮酸激酶活性、淀粉酶活性、血糖、血清甘油三酯

表 1 维生素 C 和葡萄糖对镇海林蛙蝌蚪酶活性的影响比较

Table 1 Effects of Vc and glucose on enzyme activity in tadpoles of *Rana zhenhaiensis*

组别 Group	苹果酸脱氢酶 Malate dehydrogenase MDH (U/g)	乳酸脱氢酶 Lactate dehydrogenase LDH (U/g)	淀粉酶 Amylase AMS (U/g)	
对照组 Control	16.77 ± 0.29 ^c	20.83 ± 0.35 ^{ab}	993.20 ± 27.25 ^b	
维生素 C Vitamin C	10 mg/L	20.06 ± 1.47 ^{bc}	1 429.36 ± 20.85 ^a	
	20 mg/L	21.11 ± 0.63 ^b	733.30 ± 59.13 ^c	
	30 mg/L	26.77 ± 1.25 ^a	659.14 ± 38.12 ^c	
	One-way ANOVA	$F_{3,8} = 26.52^*$	$F_{3,8} = 5.35^*$	$F_{3,8} = 136.29^*$
对照组 Control	16.77 ± 0.29 ^c	21.49 ± 1.08	1 047.93 ± 17.30 ^b	
葡萄糖 Glucose	0.5 g/L	22.43 ± 0.68 ^b	1 116.15 ± 54.08 ^b	
	1.0 g/L	26.36 ± 1.19 ^{ab}	1 569.41 ± 65.81 ^a	
	2.0 g/L	27.72 ± 1.72 ^a	21.60 ± 0.54	1 453.73 ± 150.46 ^a
	One-way ANOVA	$F_{3,8} = 30.97^*$	$F_{3,8} = 1.31^{NS}$	$F_{3,8} = 14.89^*$

酶活性在不同浓度的葡萄糖及维生素 C 之间比较, *表示 $P < 0.05$, NS 表示差异不显著, 上标不同字母表示差异显著 (Tukey's test, $\alpha = 0.05$, $a > b > c$)。

Comparisons of enzyme activities among different concentrations of glucose and vitamin C treatments. * indicated significant differences at $P < 0.05$, Types with different superscripts differ significantly (Tukey's test, $\alpha = 0.05$, $a > b > c$).

含量显著升高(刘迎隆 2014)。Ren 等(2015)研究表明,适当提高外源性糖含量对武昌鱼(*Megalobrama amblycephala*)的生长性能、食物消化及肝糖酶活性产生显著影响。同样,适宜的葡萄糖和维生素 C 能促进普安银鲫卵黄囊仔鱼发育中乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase, FAS)及肉毒碱棕榈酰转移酶 I(arnitine palmitoyltransferases, CPT I)的合成与分泌,而形成新的代谢水平,以维持仔鱼体中脂质代谢的动态平衡(蒋左玉等 2014)。

对于两栖动物来说,当环境不利时,被捕食风险增加或者资源较少时,会促进个体加速发育,快速离开不利环境;当环境资源丰富、竞争小、没有捕食风险时,幼体往往延缓发育(Aubret et al. 2016a)。本研究发现,实验从第 1 至 28 天添加维生素和葡萄糖处理组的发育历期、体重和蝌蚪总长均出现显著差异。在第 35 和 42 天的检测表明,维生素 C 和葡萄糖对于蝌蚪发育历期及体全长均无影响。但 20.0 mg/L 维生素 C 显著降低处于变态高峰期蝌蚪体重(变态高峰期为 G40 ~ G45),而 0.5 和 1.0 g/L 葡萄糖则显著增加处于变态高峰期蝌蚪体重。这可能因蝌蚪可以通过心率变化和化学信号彼此进行交流,共享外界环境较为适合机体生长的信息,进行同步发育,共同分担风险(Beamish et al. 1986, Aubret et al. 2016b)。

对于两栖动物而言,变态时个体大小是其进入陆生阶段适合度的关键(Szuroczki et al. 2016)。在本研究中,0.5 和 1.0 g/L 葡萄糖处理组体重显著大于对照组,表明添加 0.5 和 1.0 g/L 葡萄糖可以增强个体生存能力(如捕食、竞争和抗感染能力),增强运动能力(包括水体和陆地环境),促进首次繁殖成功率,从而增强繁殖能力(Cabrera-Guzmán et al. 2013, Charbonnier et al. 2015)。体重较大的蛙类通常在代谢速率和耐受力以及运动性能和躲避天敌等方面具有优势(Ward-Fear et al. 2010, Köhler et al. 2011)。

外源性添加剂不仅能够有效促进个体生长

性能,而且还能够促进新陈代谢(熊铧龙等 2015)。本研究中,10.0 mg/L 维生素 C 组的淀粉酶活性显著大于对照组、20.0 和 30.0 mg/L 维生素 C 组;1.0 和 2.0 g/L 葡萄糖处理组的淀粉酶活性大于对照组和 0.5 g/L 葡萄糖处理组。因此可以推断,添加 0.1 g/L 葡萄糖或 10.0 mg/L 维生素 C 对镇海林蛙蝌蚪来说是处于有利的环境,显著提高淀粉酶活性,充分分解摄入的营养物质,能不断增加储存的脂肪,从而形成更大的体重,提高个体对于环境的适合度(Laurila et al. 1999)。

乳酸脱氢酶(LDH)是生物体糖代谢无氧酵解过程中重要的调节酶,在科里循环(Cori cycle)中可催化无氧酵解产生的乳酸与丙酮酸之间的相互转化(Reichard et al. 1963)。苹果酸脱氢酶(MDH)催化苹果酸羟基上的 H^+ 定向地转移至 $NAD(P)^+$ 上,使苹果酸转化成草酰乙酸,是三羧酸循环中的关键酶,使得三羧酸循环得以顺利进行(Reichard et al. 1963)。LDH 和 MDH 分别参与细胞中的糖酵解和三羧酸循环,广泛应用于研究机体的无氧和有氧代谢状况(李泽健 2012, 贾旭颖等 2014),但研究多集中于哺乳动物和其他水产动物,对蛙类的研究则少见报道。本研究中,葡萄糖和维生素 C 处理组的 MDH 活性均随着添加剂量的增加而增大;葡萄糖对 LDH 无影响,但 20.0 mg/L 维生素 C 处理组的 LDH 则显著低于 10.0 mg/L 维生素 C 处理组。比如,贾旭颖等(2014)的研究显示,非离子氨胁迫可显著降低养殖凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)鳃和肌肉中 LDH 和琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)活性。李泽健(2012)的研究证实,低氧胁迫可显著提高中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)肌肉中 LDH 酶和延胡索酸还原酶(fumarate reductase, FRD)活性,但 LDH 活性降低。在本研究中,维生素 C 和葡萄糖处理组的 MDH 和 LDH 均随着浓度增大而增大,表明蝌蚪在进行正常的有氧呼吸,是机体在呼吸代谢水平适应有利环境的表现。

参 考 文 献

- Aubret F, Bigono F, Kok P J R, et al. 2016a. Only child syndrome in snakes: Eggs incubated alone produce asocial individuals. *Scientific Reports*, 6(1): 35752.
- Aubret F, Blanvillain G, Bignon F, et al. 2016b. Heartbeat, embryo communication and hatching synchrony in snake eggs. *Scientific Reports*, 6(1): 23519.
- Beamish F W H, Hilton J W, Niimi E, et al. 1986. Dietary carbohydrate and growth, body composition and heat increment in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 1(2): 85–91.
- Cabrera-Guzmán E, Crossland M R, Brown G P, et al. 2013. Larger body size at metamorphosis enhances survival, growth and performance of young cane toads (*Rhinella marina*). *PLoS One*, 8(7): e70121.
- Charbonnier J F, Vonesh J R. 2015. Consequences of life history switch point plasticity for juvenile morphology and locomotion in the Túngara frog. *Peer J*, 3(9): e1268.
- Chernysh S, Gordya N, Suborova T. 2015. Insect Antimicrobial peptide complexes prevent resistance development in bacteria. *PLoS One*, 10(7): e0130788.
- Cui X J, Zhou Q C, Liang H O, et al. 2010. Effects of dietary carbohydrate sources on the growth performance and hepatic carbohydrate, metabolic enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron linnaeus*). *Aquaculture Research*, 42(1): 99–107.
- Gosner K L. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16(3): 183–190.
- Hamre K, Sissener N H, Lock E J, et al. 2016. Antioxidant nutrition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr and post-smolt, fed diets with high inclusion of plant ingredients and graded levels of micronutrients and selected amino acids. *Peer J*, 4: e2688.
- Hu F, Gao X, She R, et al. 2017. Effects of antimicrobial peptides on growth performance and small intestinal function in broilers under chronic heat stress. *Poultry Science*, 96(4): 798–806.
- Köhler A, Sadowska J, Olszewska J, et al. 2011. Staying warm or moist? Operative temperature and thermal preferences of common frogs (*Rana temporaria*), and effects on locomotion. *Herpetological Journal*, 21(1): 17–26.
- Laurila A, Kujasalo J. 1999. Habitat duration, predation risk and phenotypic plasticity in common frog (*Rana temporaria*) tadpoles. *Journal of Animal Ecology*, 68(6): 1123–1132.
- Li H T, Yang D D, Li Z H, et al. 2019. Effects of *Angelica sinensis* extracts on lipid oxidation in fish feeds and growth performance of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). *Animal Nutrition*, 5(1): 109–114.
- Reichard G A, Moury N F, Hochella N J, et al. 1963. Quantitative estimation of the cori cycle in the human. *Journal of Biological Chemistry*, 238(2): 495–501.
- Ren M C, Habte-Tsion H M, Xie J, et al. 2015. Effects of dietary carbohydrate source on growth performance, diet digestibility and liver glucose enzyme activity in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture*, 438(1): 75–81.
- Szuroczki D, Koprivnikar J, Baker R L. 2016. Dietary antioxidants enhance immunocompetence in larval amphibians. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 201: 182–188.
- Tyagi A, Singh B, Billekallu T, et al. 2019. Shotgun metagenomics offers novel insights into taxonomic compositions, metabolic pathways and antibiotic resistance genes in fish gut microbiome. *Archives of Microbiology*, 201(3): 295–303.
- Waagbø R. 2010. Water-soluble vitamins in fish ontogeny. *Aquaculture Research*, 41(5): 733–744.
- Ward-Fear G, Brown G P, Shine R. 2010. Factors affecting the vulnerability of cane toads (*Bufo marinus*) to predation by ants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 99(4): 738–751.
- Zhou C P, Ge X P, Niu J, et al. 2015. Effect of dietary carbohydrate levels on growth performance, body composition, intestinal and hepatic enzyme activities, and growth hormone gene expression of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*. *Aquaculture*, 437: 390–397.
- 褚志鹏, 危起伟, 杜浩, 等. 2017. 不同糖源对达氏鲟幼鱼生长、体成分及生理生化指标的影响. *中国水产科学*, 24(2): 284–294.
- 胡毅, 黄云, 文华, 等. 2013. 维生素 C 对青鱼幼鱼生长、免疫及抗氨氮胁迫能力的影响. *水产学报*, 37(4): 565–573.
- 贾旭颖, 国先涛, 王芳, 等. 2014. 非离子氨胁迫对淡水和海水养殖凡纳滨对虾呼吸代谢酶活力影响的比较. *水产学报*, 38(11): 1837–1846.
- 蒋左玉, 熊铧龙, 姚俊杰. 2014. 葡萄糖和维生素 R 对普安银鲫卵黄囊仔鱼 ACC、FAS 及 CPT1 活性的影响. *动物学杂志*, 49(6): 904–912.
- 李海峰, 葛陇利. 2014. 微生态制剂在养殖业上的应用. *畜牧与饲料科学*, 35(9): 85–86.
- 李小义, 孔杰, 赵凤, 等. 2016. 常用益生菌在鲟鱼饲料添加剂中的应用及研究进展. *贵州畜牧兽医*, 40(6): 61–63.
- 李泽健. 2012. 低氧胁迫对中华绒螯蟹能量代谢、呼吸代谢及抗氧化代谢的影响. 保定: 河北大学硕士学位论文.
- 刘迎隆. 2014. 不同添加量的糖对军曹鱼生长代谢的影响. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文.
- 孙育平, 王国霞, 俊茹, 等. 2014. 不同种类碳水化合物对吉富罗非鱼生长性能、体组成和血清生化指标的影响. *水产学报*, 38(9): 1486–1493.
- 王金娟, 刘波, 戈贤平, 等. 2014. 日粮中不同水平维生素 C 对团头鲂幼鱼免疫力的影响. *水生生物学报*, 38(1): 10–18.
- 王贞杰, 叶保民, 常青, 等. 2018. 维生素 C 对圆斑星鲃早期发育的影响. *渔业科学进展*, 39(2): 96–103.
- 熊铧龙, 姚俊杰, 安苗, 等. 2015. 外源性 Vc 对普安银鲫仔鱼抗氧化酶活性的影响. *淡水渔业*, 45(1): 79–82.