

血浆蛋白 AP950TM对幼鳖抗病力及生长的影响

The effect of plasma protein AP950TM on disease resistance and growth of juvenile soft-shelled turtle, *Trionyx sinensis*

杨先乐 杨志美¹ 华斌

(农业部水产增养殖生态、生理重点开放实验室, 上海水产大学, 200090)

(上海前卫中华鳖养殖场, 201913)

Yang Xianle, Yang Zhimei¹, Hua Bing

(Key Lab of Ecology and Physiology in Aquaculture of Ministry of Agriculture, SFU, 200090)

(¹Shanghai Qianwei Turtle Farm, 201913)

关键词 中华鳖, 血浆蛋白 AP950TM, 吞噬活性, 增重率

KEYWORDS *Trionyx sinensis*, plasma protein AP950TM, phagocytic activity, weight-increase rate

中图分类号 S947.1

中华鳖(*Trionyx sinensis*)是我国淡水名优养殖的主要品种之一。近年来由于养殖面积不断扩大,养殖强度逐渐增加,养殖集约化程度日渐加强,中华鳖的病害也越来越多,有的已十分严重,给生产带来了较大的损失^[1]。有的鳖农为了提高药物防治的效果,盲目加大用药量,不仅未达到预期的防治效果,反而给养殖环境和鳖的品质带来了潜在的危害。因此,寻找新的防病措施已是当务之急。AP950TM是一种血浆蛋白,它含有多种功能性的蛋白质,如白蛋白、球蛋白、营养素结合蛋白和某些促生长因子等。对家畜家禽的研究表明,它能增强猪的抗病力和促进乳猪的生长;此外,它也能提高鱼种的成活率。AP950TM对中华鳖的抗病力与促生长作用如何,目前还缺乏研究。本文报道了这一结果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验鳖,40~100g,平均70g左右,由上海前卫特种水产养殖公司提供,试验前暂养半个月以上;血浆蛋白,AP950TM,美国蛋白质公司产品;菌株,嗜水气单胞菌 T₃ 株^[2,3]由长江水产研究所提供;试验试剂(如肝素钠、吉姆萨染色液、磷酸缓冲液等)均按常规方法配制;鳖饲料为天邦饲料科技有限公司产品。

1.2 方 法

试验期间(1999年1月10日至6月10日)鳖分别养殖于8个面积5M²、水深20~30cm的温室水泥池中,每池100只,养殖水温(30±1)℃。放养前逐只称重。其中2#、3#为对照,4#至9#为试验;试验组在鳖饲料中添加10%的AP950TM,对照组添加10%的优质鱼粉;日投饲2次,投喂量根据各池鳖的摄食能力逐日调整。分别在试验开始后的第0.5、1、2、3、4及5个月对2至6组每次各随机抽取鳖4只,其中2只采取断头方式取全血,将其血浆混合后,检测白细胞的吞噬活性,另2只检测其对嗜水气单胞菌 T₃

第一作者简介:杨先乐,男,1948年2月生,研究员,副院长,主要研究方向:水产动物医学。

收稿日期:1999-09-09

株的抗攻击感染力,并以每组的平均存活率进行统计分析。试验结束时对全部试验组的鳖计数、称重、并计算成活率[成活率=成活数/(放养总数-各次抽样鳖的总数)]、平均增重率[平均增重率=(出池时鳖的平均重量-试验开始时鳖的平均重量)/试验开始时鳖的平均重量]与饲料系数{饲料系数=[耗用饲料总量(包括未吃完的剩余饲料,kg)-1.5kg(仅限抽样各组)]/总增重率(kg)}。

白细胞的吞噬活性检测参照文献[4]的方法进行;抗病力检测的方法是:用 3×10^8 cfu/mL浓度的 T_3 菌液攻击,连续观察192hrs,记录各组鳖每一只的死亡时间,计算死亡速度(即半数死亡率,LP₅₀)和48hrs的抗攻击保护率。

2 结果

2.1 中华鳖白细胞的吞噬活性

投喂AP950™半个月后,试验组白细胞的吞噬率就由开始时的[53.6±1.6(3)]%上升到[63.9±2.0(3)]%,显著地高于对照组(t检验,p<0.05)和试验开始时的状态(p<0.05),这一状况一直持续至试验结束;而对照组除第3个月与开始状态有显著的差异外,其余月数差异均不显著。试验期试验组的吞噬活性平均比对照高出[8.4±1.4(6)]%(表1)。

表1 AP950™对中华鳖白细胞吞噬活性的影响

Tab.1 The effect of AP950™ on phagocytic activity of leucocyte of soft-shelled turtle

组别	试验开始后月数							
	0	0.5	1	2	3	4	5	
试验组	4*	52.0	66.1	65.5	67.0	67.0	69.0	73.0
	5*	53.6	63.5	63.5	70.0	71.5	67.5	71.0
	6*	55.1	62.1	63.0	69.0	71.5	70.0	70.5
	X±S.D	53.6±1.6	63.9±2.0	64.0±1.3	68.7±1.5	70.0±2.6	68.8±1.3	71.5±1.3
对照组	2*	52.6	55.5	54.5	56.0	63.0	59.5	62.5
	3*	54.2	57.1	56.5	59.0	61.0	62.0	66.0
	X±S.D	53.4±1.1	56.3±1.1	55.1±1.4	57.5±2.1	62.0±1.4	60.8±1.8	64.3±2.5
试验组比对照组高		0.02	7.6	8.3	11.2	8.0	8.0	7.2
t检验(试验与对照)		p>0.9	p<0.05*	p<0.02*	p<0.02*	p<0.05*	p<0.05*	p<0.05*

注:(1)表中X±S.D为平均数±标准差;(2)*有显著的差别

2.2 中华鳖的抗病力

投喂AP950™1个月后,试验组(4*、5*、6*)对 T_3 菌的抗感染力明显增强,48hrs内的死亡率明显低于对照组(2*、3*),保护率为55.6%,死亡速率是62hrs,约为对照组的1/2;随着投喂时间加长,第3个月时保护率达100%,试验组死亡速率大于192hrs,而对照组仍为48hrs;到第5个月试验组保护率仍为100%,死亡速率为86.0hrs(表2)。

表2 AP950™对中华鳖抗病力的影响

Tab.2 The effect of AP950™ on disease-resistance of soft-shelled turtle

项目	试验开始后月数					
	1	2	3	4	5	
48hrs的死亡率(%)	试验组	33.3±28.8(3)	33.3±28.8(3)	0±0(3)	16.6±28.8	0±0(3)
	对照组	75.0±35.4(2)	100±0(2)	100±0(2)	75.0±35.4(2)	100±0(2)
48hrs的保护率(%)		55.6	66.6	100.0	77.8	100.0
死亡速率(hrs)	试验组	62	76.9	>192	113.5	86.0
	对照组	32	31	48	36.7	34.0

注:表中的试验组与对照组(48hrs死亡率)的数据指平均数±标准差(试验组数)

2.3 存活率、增重率及饲料系数

饲养5个月后鳖出池时,清点鳖的只数,并逐只称重,计算成活率、增重率与饲料系数。结果表明,投喂 AP950™的试验组成活率比不投喂 AP950™的对照组高出5%(表3);试验组的增重率比对照组高31.2%,而饲料系数却降低0.07(表4)。

表3 AP950™对中华鳖存活率的影响

Tab.3 The effect of AP950™ on survival rate of soft-shelled turtle

项目	试验组						对照组	
	4*	5*	6*	7*	8*	9*	2*	3*
成活率	77	82	78	87	88	93	77	81
X±S.D	84.2±6.2						79.2±2.8	

注:(1)表中成活率指放养总数中减去各次抽样用去的鳖的总数;

(2)4*和5*因3月10日干池检测时,人为操作不当而使部分鳖受伤,影响了成活率

表4 AP950™对中华鳖增重率及饲料系数的影响

Tab.4 The effect of AP950™ on weight-increase rate and digestibility coefficient of soft-shelled turtle

项目	试验组						对照组	
	4*	5*	6*	7*	8*	9*	2*	3*
入池时平均重量(g)	60.5	60.9	59.1	58.6	57.9	54.9	64.3	62.5
干池时平均重量(g)	217.3	211.7	193.0	203.4	194.0	208.0	206.7	192.2
平均增量(g)	156.8	150.8	133.9	144.8	136.1	153.1	142.4	133.7
总耗饲数(kg)	20.30	18.55	18.51	22.06	21.34	23.81	20.85	19.42
增重率(%)	259.1	247.6	226.6	247.1	235.1	278.9	221.9	213.9
	249.1±18.4						217.9±4.5	
饲料系数	1.21	1.07	1.23	1.25	1.25	1.23	1.31	1.24
	1.21±0.07						1.28±0.05	

注:关于饲料系数,抽样组均从耗饲总量中减去1.5kg(抽样鳖所耗用的饲料量)作为实际耗饲量计算饲料系数

2.4 个体差异的变化

养殖开始时试验组与对照组个体差异不大,无论最大个体与最小个体的比,还是个体间大小的变异系数均较接近;2个月后,对照组的个体差异逐渐增大,到第5个月对照组的最大个体与最小个体的比值要比试验组高出2.75倍,变异系数比试验组高出0.16(表5)。

表5 AP950™对中华鳖个体大小差异的影响

Tab.5 The effect of AP950™ on individual size difference of soft-shelled turtle

项目	试验开始 后月数	试验组							对照组		
		4*	5*	6*	7*	8*	9*	X±S.D	2*	3*	X±S.D
最大/最小 (个体体重比值)	0	2.31	2.50	2.24	2.41	2.38	2.46	2.38±0.09	2.49	2.39	2.44±0.07
	2	4.38	3.87	4.22				4.16±0.26	5.25	3.89	4.57±0.96
	5	5.25	4.06	5.01	7.57	5.20	5.29	5.40±1.16	5.51	10.78	8.15±3.72
体 重 变异系数	0	0.21	0.24	0.21	0.23	0.20	0.21	0.22±0.02	0.26	0.24	0.25±0.01
	2	0.33	0.28	0.27				0.29±0.03	0.59	0.31	0.45±0.20
	6	0.33	0.33	0.32	0.34	0.05	0.37	0.29±0.12	0.39	0.42	0.41±0.02

注:本表中抽样鳖均忽略

3 讨论

中华鳖的抗病力除了与体内特异性抗体效价密切相关外^[5],白细胞的吞噬活性也应是一个重要方

面,关于这点鱼类已有较多的报道^[6-8],而对中华鳖则较鲜有。从本研究的结果可以看出,中华鳖的白细胞具有较强的吞噬作用,即便在正常情况下(如试验开始时),它的吞噬率与鱼类(如草鱼,10℃条件下为58.9%^[9])基本相当。一般认为,营养条件和温度、季节、环境因子等其它因素一样是影响吞噬活性的一个重要因素。饲料中的维生素C、E及不饱和脂肪酸对虹鳟、鲟鱼、大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)等的吞噬活性有较大的影响^[10-12]。本研究表明,随着蛋白质摄入的增加,中华鳖的吞噬活性也有所增加;另一方面,血浆蛋白AP950TM比鱼肉蛋白(鱼粉)对中华鳖吞噬活性的影响更大,投喂AP950TM15天后的吞噬活性就与开始状态有显著的差异(t检验, $p < 0.02$),这说明饲料中蛋白质的质量对中华鳖白细胞吞噬活性的影响比其数量更为重要。

测定抗攻击保护率是检测中华鳖抗病力的一个重要指标。为了缩短感染后观察时间,本研究采用了较大剂量的T₃菌液浓度攻击,观察48hrs的保护率与死亡速度,以此说明血浆蛋白AP950TM在抗病上的作用。结果表明,饲料中添加AP950TM后对中华鳖抗嗜水气单胞菌感染的作用增强,死亡速率明显低于对照组,在48hrs内并可获得较高的保护率。此外本研究也表明,AP950TM的投喂时间越长,中华鳖的抗病作用也就越强。这说明AP950TM功能性蛋白有累积效应。

AP950TM作为一种高蛋白添加剂,与鱼粉相比,它不仅对中华鳖有明显的增重效果,而且能减少个体间大小的差异,有利于同池鳖的均衡生长。AP950TM具有这一优点的原因,可能是因为血浆蛋白AP950TM的饲料系数较高或诱食力较强,使得饲养鳖可有效地摄取和利用饲料。

由此可见,血浆蛋白AP950TM在增强中华鳖的抗病力与促进中华鳖的生长等方面的效果是十分显著的。关于AP950TM的最佳添加量,最适投喂期以及AP950TM抗病与促生长机制等还有待于进一步地研究。

参 考 文 献

- 1 杨先乐,周剑光,柯福恩等. 中华鳖出血性肠道坏死症流行病学研究. 中国水产科学, 1998, 5(2):73~78
- 2 杨广,杨先乐,陈昌福. 中华鳖红底板病原的研究. 湖北农学院学报, 1998, 18(2):130~133
- 3 杨先乐,柯福恩,周剑光等. 嗜水气单胞菌对中华鳖致病力的研究. 中国水产科学, 1999, 6(1):118~121
- 4 Haraguchi M, Muraoka A, Tanaka T, et al. A method for determination of intracellular bacterial killing by yellowtail phagocytic cells against *Pasteurella piscicida*. Nippon Suisan Gakkaishi, 1989, 55(6):971~977
- 5 杨先乐,艾晓辉,周剑光等. 间接红细胞凝集反应检测中华鳖血清抗体的方法. 水产学报, 1999, 23(1):53~60
- 6 Parish N, Wrathmell A, Harris J E. Phagocytic cells in the dogfish, *Scyliorhynchus canicula* L. In: Fish Immunology (Eds. Mannig M J. et al.). Academic press, 1985. 256~280
- 7 Neill J C. An in vitro study of polymorphonuclear phagocytosis and effect of temperature. In: Fish Immunology (Eds. Mannig M J. et al.). Academic press, 1985. 47~56
- 8 Weeks B A, Warinner J E. Function evaluation of macrophages in fish from a polluted estuary. Vet. Immunol. Immunopathol, 1986, 12:313~320
- 9 Munn C B, Ishiguro E E, Kay W W, et al. Role of surface components in serum resistance of virulent *Aeromonas salmonicida*. Infect and Immunity, 1982, 36:1069~1075
- 10 Blazer V S, Wolke R E. The effect of tocopherol on the immune response and non-specific resistance factors of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquac, 1984, 39:1~9
- 11 Durve V S, Lovell R T. Vitamin C and disease resistance in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Can J Fish Aquat Sci, 1982, 39:948~951
- 12 Blazer V S. Piscine macrophage function and nutritional influences: a review. J Aquac Anim Health, 1991, 3(2):77~86