

文章编号: 1674 - 5566(2013)01 - 0093 - 07

多糖、寡糖、蛋白酶对凡纳滨对虾生长、消化酶活性及血清非特异性免疫的影响

谭崇桂¹, 冷向军^{1,2}, 李小勤^{1,2}, 栗雄高¹, 刘波¹, 柴仙琦¹

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306)

摘要: 在基础饲料(对照组)中分别添加0.2% β -葡聚糖、0.05% 黄芪多糖、0.4% 甘露寡糖、175 mg/kg 蛋白酶 PT, 饲喂初始体重为(4.55 \pm 0.08) g 的凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)6周, 考察对凡纳滨对虾生长性能、血清非特异性免疫及消化酶活性的影响。结果表明: 与对照组相比, 饲料中添加0.2% β -葡聚糖、0.4% 甘露寡糖及175 mg/kg 蛋白酶 PT 可分别提高凡纳滨对虾增重率16.19%、12.78%、11.25% ($P < 0.05$), 降低饲料系数0.10、0.09、0.09 ($P < 0.05$); 各处理组在肌肉水分、灰分、粗脂肪和粗蛋白含量上无显著差异($P > 0.05$); 在血清非特异性免疫方面, 各多糖、寡糖和蛋白酶添加组均显著提高血清酚氧化酶活力($P < 0.05$), 添加0.4% 甘露寡糖可提高溶菌酶、碱性磷酸酶活力($P < 0.05$), 添加0.2% β -葡聚糖、0.4% 甘露寡糖可显著提高超氧化物歧化酶活力($P < 0.05$); 在消化酶活性方面, 添加175 mg/kg 蛋白酶 PT 可显著提高肝胰脏蛋白酶、脂肪酶和肠蛋白酶活性($P < 0.05$), 添加0.2% β -葡聚糖及0.4% 甘露寡糖可显著提高胃蛋白酶和肝胰脏脂肪酶活性($P < 0.05$)。上述结果表明, 饲料中添加0.2% β -葡聚糖、0.4% 甘露寡糖、175 mg/kg 蛋白酶 PT 可提高凡纳滨对虾生长性能、改善消化酶活性, 葡聚糖和甘露寡糖还具有改善血清非特异性免疫的功能, 而添加0.05% 黄芪多糖对凡纳滨对虾增重率、血清非特异性免疫无显著影响。

研究亮点: β -葡聚糖作为免疫增强剂在虾类上已有较多报道, 但黄芪多糖、甘露寡糖、蛋白酶在虾类中的研究很少, 且缺乏这些添加剂作用效果的比较。本试验以凡纳滨对虾为研究对象, 考察并比较了这几种添加剂对生长性能、肌肉成分、消化酶活性和血清非特异性免疫指标的影响, 可为多糖、寡糖和蛋白酶在对虾饲料中的合理应用提供依据。

关键词: 凡纳滨对虾; 生长; 消化酶; 免疫功能; 多糖; 寡糖; 蛋白酶

中图分类号: S 963.73

文献标志码: A

近年来水产养殖业快速发展的同时, 也出现了环境污染, 水产动物抗病力下降和病害加剧等问题; 同时由于鱼粉价格上涨, 植物蛋白的大量使用, 导致饲料消化利用率降低。寻求绿色、环保、高效的添加剂已成为水产动物营养与饲料学研究的热点。在这方面, 免疫多糖、功能性寡糖和酶制剂因具有调节肠道微生物菌群, 提高机体免疫功能, 提高营养物质消化率的作用而受到重视。

β -葡聚糖作为免疫增强剂在水产动物上已

有较多报道^[1-2]。在虾类方面, 饲料中添加0.2% β -葡聚糖可显著提高凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)增重率^[3], 提高溶菌酶、超氧化物歧化酶和酚氧化酶活性^[4]; 添加10 g/kg的 β -1,3-葡聚糖, 可以提高斑节对虾(*Penaeus monodon*)感染白斑综合征病毒后的存活率^[5]; 黄芪多糖^[6-7]、甘露寡糖^[8-10]、蛋白酶^[11-16]在鱼类的研究中也有一些报道, 但在虾类中研究报道均较少。本试验以凡纳滨对虾为研究对象, 在饲料中分别添加0.2% β -葡聚糖、0.05% 黄芪多糖、

收稿日期: 2012-04-11

修回日期: 2012-06-11

基金项目: 上海市农委“科技兴农”重点攻关项目(2009-6-6); 上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 谭崇桂(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与饲料。E-mail: tjxiaotan@yahoo.com.cn

通信作者: 冷向军, E-mail: xljeng@shou.edu.cn

0.4%甘露寡糖、175 mg/kg 蛋白酶 PT,考察并比较几种添加剂对凡纳滨对虾生长性能、肌肉成分、消化酶活性、血清非特异性免疫指标影响,为多糖、寡糖、蛋白酶在对虾饲料中的合理应用提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验设计与饲料

在基础饲料中分别添加0(对照组)、0.2% β -葡聚糖(由广州信豚生物科技有限公司提供, β -葡聚糖有效含量为25%)、0.4%甘露寡糖(由北京奥特奇生物科技有限公司提供,甘露寡糖含量为12%)、175 mg/kg 蛋白酶 PT(由加拿大 JEFO 公司提供,为一种耐高温的碱性蛋白酶)、0.05% 黄芪多糖(上海朝翔生物技术有限公司提供,主要成分为35%黄芪多糖及11%黄芪甲甙),共5个处理组。基础饲料组成及营养成分见表1。饲料原料均过60目筛,采用逐级混匀的方法将原料混合,用绞肉机制成直径为1 mm的硬颗粒沉性饲料,95℃后熟化25 min,自然风干,4℃保存备用。

表1 基础饲料配方及营养组成

Tab.1 Formulation and chemical composition of the basal diet %

组成	含量	营养指标	含量
鱼粉	23.00	粗蛋白	40.28
面粉	26.55	粗脂肪	6.56
豆粕	20.00	水分	8.69
花生粕	10.00	灰分	11.30
鲑鱼内脏粉	5.00		
啤酒酵母	3.00		
磷酸二氢钙	2.00		
60%氯化胆碱	0.60		
肉骨粉	5.00		
维生素预混料	0.25		
矿物质预混料	0.50		
蜕壳素	0.10		
大豆磷脂	1.50		
氯化钾	0.50		
鱼油	2.00		
总计	100.00		

注:维生素预混料、矿物质预混料的成分及含量参照文献[17]。

1.2 试验用虾及饲养管理

试验用虾购于上海市青浦区水产养殖场。对虾运回后,暂养在网箱(2.5 m × 1.2 m × 1.0 m)中,网箱置于水泥池(5.0 m × 3.0 m × 1.2 m)

中,用基础饲料驯化一周,以适应饲料与环境。选用均重为4.55 g左右、规格均匀、体质健壮的1 000尾虾开始正式试验。试验虾共分为5组,每组四重复,每个网箱为一个重复,每重复50尾虾。每天投喂3次(5:30、12:30、18:30),日投饵量约占虾体重的3%~5%,早晚投喂量约占总投喂量的70%,并根据实际情况做适当调整。每隔3 d吸污与换水,保持水质。养殖期间水温25~30℃,DO > 5 mg/L,pH为7~8,NH₄⁺-N < 0.2 mg/L,养殖时间为2011年8月6日至2011年9月16日,共6周,合计42 d。养殖试验在上海海洋大学南汇特种水产养殖场进行。

1.3 生长性能

养殖试验结束后,试验虾饥饿24 h,称重,计算增重率(R_{WG})、蛋白质效率(P_{ER})、成活率(R_S)、饲料系数(F_{CR})。

$$R_{WG} = 100 \times (W_1 - W_0) / W_0$$

$$P_{ER} = (W_1 - W_0) / W_P$$

$$R_S = 100 \times N_S / N_T$$

$$F_{CR} = F_T / (W_1 - W_0)$$

式中: W_0 为平均初始体重(g); W_1 为平均终末体重(g); W_P 为蛋白质摄入量(g); F_T 为总投饲量(g); N_S 为成活尾数; N_T 为总尾数。

1.4 肌肉常规成分

养殖结束后,每重复采虾5尾,取肌肉样品-20℃冷冻保存用于常规成分分析,样品分析采用AOAC方法^[18]。水分测定采用105℃烘干恒重法,粗蛋白测定采用凯氏定氮法,粗脂肪测定采用氯仿-甲醇法,粗灰分测定采用550℃灼烧法。

1.5 血清非特异性免疫指标

养殖试验结束后,试验虾饥饿24 h,每池随机取虾15尾,自虾的头胸甲后插入围心腔取血淋巴液,置于离心管中,4℃,5 000 r/min,离心10 min,取上清液用作血清非特异性免疫指标的测定。其中溶菌酶、超氧化物歧化酶、碱性磷酸酶、丙二醛均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定。

溶菌酶:采用比浊法,溶菌酶含量(U/mL) = (测定管透光度 UT_2 - 测定管透光度 UT_1) / (标准管透光度 ST_2 - 标准管透光度 ST_1) × 标准管浓度(200 U/mL) × 样本测试前稀释倍数;超氧化物歧化酶(SOD):采用黄嘌呤氧化酶法,1个SOD活

力单位(U)定义为每毫升血清中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量;碱性磷酸酶(AKP):1 个单位(U)定义为每毫升血清在 37 °C 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚;丙二醛(MDA):采用硫代巴比妥酸(TBA)法;酚氧化酶:以左旋多巴为底物,参照 ASHIDA 和 SODERHALL^[19] 的方法进行操作。将 3 毫升的磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 为 6.4)、100 μ L 血清及 100 μ L 左旋多巴在室温下混匀,490 nm 波长下,每 2 分钟读取光度密值。以 OD₄₉₀对反应时间作图,以实验条件下每分钟光密度值增加 0.001 为 1 个活性单位(U)。

1.6 消化酶

在解剖盘的冰浴中解剖虾,取胃、肠道、肝胰脏等组织, -20 °C 保存。测定时 4 °C 解冻,加入 10 倍体积的预冷重蒸水,4 °C 匀浆,离心 10 min (5 000 r/min),取上清液,即为粗酶液。

蛋白酶参照 DIVAKARAN 和 OSTROWSKI^[20] 方法进行测定。胃、肠、肝胰脏蛋白酶的活性为 1 mg 鲜组织在 pH 分别为 3.0、7.2、9.8 时每分钟水解酪蛋白产生 1 μ g 酪氨酸为一个酶活性单位(U);脂肪酶、淀粉酶测定均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,脂肪酶单位定义为:

在 37 °C 条件下,每克组织蛋白在本反应体系中与底物反应 1 min,每消耗 1 μ mol 底物为一个酶活力单位(U/g);淀粉酶的测定采用碘-淀粉比色法,每克组织蛋白在 37 °C 与底物作用 30 min,水解 10 mg 淀粉定义为 1 个淀粉酶活力单位(U/g)。

1.7 数据统计

试验结果数据以平均值 \pm 标准差表示,采用 SPSS 16.0 进行差异显著性分析和多重比较(Duncan 氏法),差异显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 对生长性能及饲料利用的影响

多糖、寡糖、蛋白酶对凡纳滨对虾生长性能及饲料利用的影响见表 2。与对照组相比,饲料中添加 0.2% β -葡聚糖、0.4% 甘露寡糖、175 mg/kg 蛋白酶 PT 分别提高凡纳滨对虾增重率 16.19%、12.78%、11.25% ($P < 0.05$),提高蛋白质效率 8.67%、8.32%、8.04%,降低饲料系数 0.10、0.09、0.09 ($P < 0.05$);黄芪多糖也有提高增重率及蛋白质效率,降低饲料系数的趋势,但与对照组差异不显著($P > 0.05$)。

表 2 多糖、寡糖及蛋白酶对南美白对虾生长性能及饲料利用的影响
Tab.2 Effects of dietary polysaccharides, oligosaccharides and protease on growth performance and feed utilization of *Litopenaeus vannamei*

指标	组别				
	对照组	葡聚糖组	黄芪多糖组	甘露寡糖组	蛋白酶组
平均初尾重/g	4.61 \pm 0.05 ^a	4.49 \pm 0.06 ^a	4.50 \pm 0.09 ^a	4.52 \pm 0.09 ^a	4.52 \pm 0.12 ^a
平均末尾重/g	14.71 \pm 0.23 ^a	15.83 \pm 0.60 ^c	15.08 \pm 0.13 ^{abc}	15.57 \pm 0.36 ^{bc}	15.39 \pm 0.39 ^{abc}
增重率/%	216.8 \pm 4.83 ^a	251.8 \pm 15.78 ^b	235.3 \pm 7.85 ^{ab}	244.5 \pm 15.35 ^b	241.0 \pm 16.15 ^b
饲料系数	1.21 \pm 0.01 ^b	1.11 \pm 0.05 ^a	1.18 \pm 0.05 ^{ab}	1.12 \pm 0.05 ^a	1.12 \pm 0.02 ^a
蛋白质效率/%	205.2 \pm 1.13 ^a	223.0 \pm 11.29 ^b	211.1 \pm 8.51 ^{ab}	222.3 \pm 9.33 ^b	221.7 \pm 4.95 ^b
成活率/%	99.0 \pm 1.16 ^a	97.5 \pm 3.79 ^a	98.5 \pm 3.00 ^a	99.0 \pm 1.16 ^a	99.5 \pm 1.00 ^a

注:同行上标小写字母不同代表差异显著($P < 0.05$),以下各表相同。

2.2 对肌肉成分的影响

多糖、寡糖、蛋白酶对凡纳滨对虾肌肉成分

的影响见表 3。各组间水分、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分无显著差异($P > 0.05$)。

表 3 多糖、寡糖及蛋白酶对凡纳滨对虾肌肉成分的影响
Tab.3 Effects of dietary polysaccharides, oligosaccharides and protease on muscle composition of *Litopenaeus vannamei*

指标	组别					/%
	对照组	葡聚糖组	黄芪多糖组	甘露寡糖组	蛋白酶组	
水分	76.02 \pm 0.46 ^a	75.94 \pm 0.57 ^a	75.94 \pm 0.23 ^a	76.11 \pm 0.34 ^a	76.09 \pm 0.39 ^a	
粗蛋白	82.40 \pm 0.52 ^a	82.42 \pm 0.58 ^a	82.40 \pm 0.37 ^a	82.42 \pm 0.41 ^a	82.53 \pm 0.44 ^a	
粗脂肪	5.16 \pm 0.06 ^a	5.18 \pm 0.14 ^a	5.18 \pm 0.09 ^a	5.23 \pm 0.05 ^a	5.20 \pm 0.10 ^a	
粗灰分	6.31 \pm 0.12 ^a	6.38 \pm 0.15 ^a	6.26 \pm 0.08 ^a	6.35 \pm 0.07 ^a	6.40 \pm 0.11 ^a	

注:粗蛋白、粗脂肪、粗灰分均以干物质计。

2.3 对血清免疫指标的影响

多糖、寡糖、蛋白酶对凡纳滨对虾血清免疫指标的影响见表4。与对照组相比,饲料中添加0.4%甘露寡糖可显著提高溶菌酶及碱性磷酸酶活性($P < 0.05$);添加0.2% β -葡聚糖、0.4%甘露

寡糖可显著提高超氧化物歧化酶活性($P < 0.05$);各添加剂组均显著提高酚氧化酶活性($P < 0.05$),但在丙二醛含量方面无显著差异($P > 0.05$)。

表4 多糖、寡糖及蛋白酶对凡纳滨对虾免疫指标的影响

Tab.4 Effects of dietary polysaccharides, oligosaccharides and protease on immune index of *Litopenaeus vannamei*

指标	组别				
	对照组	葡聚糖组	黄芪多糖组	甘露寡糖组	蛋白酶组
溶菌酶/(U/mL)	22.22 ± 1.43 ^{ab}	27.78 ± 1.82 ^{bc}	22.86 ± 2.11 ^{ab}	28.87 ± 1.14 ^c	22.02 ± 1.50 ^a
酚氧化酶/(U/mL)	1.42 ± 0.15 ^a	2.02 ± 0.10 ^{bc}	2.19 ± 0.21 ^{bc}	2.47 ± 0.13 ^c	1.93 ± 0.17 ^b
SOD/(U/mL)	85.50 ± 4.18 ^a	98.70 ± 5.12 ^c	89.10 ± 5.61 ^{ab}	99.60 ± 1.75 ^c	88.80 ± 6.37 ^{ab}
AKP/(金氏单位/100 mL)	6.17 ± 0.25 ^a	7.10 ± 0.65 ^{ab}	7.12 ± 0.53 ^{ab}	8.04 ± 1.48 ^b	7.39 ± 0.20 ^{ab}
MDA/(nmol/mL)	24.68 ± 0.70 ^a	24.44 ± 0.77 ^a	24.62 ± 0.46 ^a	24.41 ± 0.65 ^a	23.87 ± 0.60 ^a

2.4 对消化酶活性的影响

多糖、寡糖、蛋白酶对凡纳滨对虾组织消化酶活性的影响见表5。由表5可知,饲料中添加0.05%黄芪多糖、175 mg/kg蛋白酶PT可显著提高凡纳滨对虾肝胰脏蛋白酶活性($P < 0.05$);添加175 mg/kg蛋白酶PT可显著提高肠蛋白酶活

性($P < 0.05$);添加0.2% β -葡聚糖、0.4%甘露寡糖可显著提高胃蛋白酶活性($P < 0.05$);添加0.2% β -葡聚糖、0.4%甘露寡糖、175 mg/kg蛋白酶PT显著提高肝胰脏脂肪酶活性($P < 0.05$);各组在肝胰脏淀粉酶活性方面无显著差异($P > 0.05$)。

表5 多糖、寡糖及蛋白酶对凡纳滨对虾组织消化酶的影响

Tab.5 Effects of dietary polysaccharides, oligosaccharides and protease on activities of digestive enzymes in tissue of *Litopenaeus vannamei*

指标	组别				
	对照组	葡聚糖组	黄芪多糖组	甘露寡糖组	蛋白酶组
肝胰脏蛋白酶/(U/mg)	8.89 ± 0.26 ^a	9.88 ± 0.62 ^{ab}	10.42 ± 0.47 ^b	9.44 ± 0.14 ^a	10.04 ± 0.10 ^b
肠蛋白酶/(U/mg)	1.59 ± 0.12 ^a	1.62 ± 0.08 ^{ab}	1.57 ± 0.12 ^a	1.72 ± 0.05 ^{abc}	1.79 ± 0.06 ^c
胃蛋白酶/(U/mg)	1.32 ± 0.05 ^a	1.67 ± 0.08 ^b	1.34 ± 0.11 ^a	1.69 ± 0.03 ^b	1.28 ± 0.04 ^a
肝胰脏脂肪酶/(U/g)	1.84 ± 0.11 ^a	2.04 ± 0.17 ^b	1.96 ± 0.14 ^{ab}	2.07 ± 0.08 ^b	2.47 ± 0.08 ^c
肝胰脏淀粉酶/(U/g)	100.80 ± 7.7 ^a	101.20 ± 10.3 ^a	105.60 ± 8.98 ^a	107.40 ± 11.3 ^a	111.50 ± 12.9 ^a

3 讨论

3.1 β -葡聚糖对凡纳滨对虾生长和血清非特异性免疫的影响

β -葡聚糖作为免疫增强剂在促进水产动物生长、增强免疫力方面已有较多研究报道^[1,21]。在对虾的研究中表明,在饲料中分别添加0.2%^[3]及0.4% β -葡聚糖^[22],均可显著提高凡纳滨对虾增重率。本试验也获得相似效果,饲料中添加0.2% β -葡聚糖可提高凡纳滨对虾增重率16.19%,降低饲料系数0.10($P < 0.05$)。有关 β -葡聚糖促生长作用机制尚不清楚,推测 β -葡聚

糖可被消化提供能量,从而起到节约蛋白的作用^[23]。

对虾免疫系统中存在着识别 β -葡聚糖的结合蛋白,当两者相结合时,结合物可与颗粒细胞膜的受体相结合,从而激活免疫系统^[24]。研究表明,间断性投喂 β -葡聚糖可以使凡纳滨对虾的免疫力维持在一个较高的水平,消除免疫疲劳^[25];在饲料中添加2 g/kg酵母细胞壁及2 g/kg β -葡聚糖可提高凡纳滨对虾溶菌酶、超氧化物歧化酶和酚氧化酶活性,提高机体抗病能力^[4];添加0.09% β -1,3-葡聚糖,可显著提高大黄鱼血清溶菌酶活力,头肾白细胞吞噬活性,显著提高大黄

鱼被哈维氏菌感染后的成活率($P < 0.05$)^[1];用 0.5 mg/mL、1 mg/mL β -葡聚糖悬浮液浸泡斑节对虾幼虾,可提高酚氧化酶活力及抗菌活力^[26]。CHANG 等^[5]研究表明:摄食 10 g/kg 的 β -1,3-葡聚糖后,可以提高斑节对虾感染白斑综合征病毒后的存活率。本试验在饲料中添加 0.2% β -葡聚糖可显著提高凡纳滨对虾血清超氧化物歧化酶及酚氧化酶活力。

3.2 黄芪多糖对凡纳滨对虾的作用效果

黄芪多糖是黄芪的根系经浓缩后的干燥粉末,具有免疫促进剂的功能。研究表明,饲料中添加 0.04% 黄芪多糖,显著提高了齐口裂腹鱼增重率和饲料效率^[6];添加 0.5% 黄芪多糖,提高刺参增重率 20.94%,同时也提高蛋白酶活性^[27]。黄芪多糖不仅具有促生长作用,而且还影响机体的免疫机能。在凡纳滨对虾腹部体腔注射 0.1 mL/尾的“鱼虾宝”(主要成分为人参皂苷和黄芪多糖)72 h 后,酸性磷酸酶及碱性磷酸酶活性明显上升^[7]。许杜娟和陈敏珠^[28]研究表明,黄芪多糖对脾细胞干扰素- γ 和腹腔巨噬细胞肿瘤坏死因子- α 的产生有显著促进作用。本试验在饲料中添加 0.05% 黄芪多糖,对凡纳滨对虾增重率、消化酶及非特异性免疫因子均无显著影响,这可能与黄芪多糖的添加量不足有关。今后应当设置黄芪多糖不同的添加量梯度,以寻求最佳添加量。

3.3 甘露寡糖对凡纳滨对虾生长、消化酶活性及血清非特异性免疫的影响

甘露寡糖是从酵母细胞壁中提取的一类新型抗原活性物质,是由甘露糖和葡萄糖组成的寡糖。研究表明:饲料中添加 0.2%、0.4% 甘露寡糖能显著提高舌齿鲈增重率 15.6%、14.5%^[29];添加 0.5%、0.75% 甘露寡糖可提高奥尼罗非鱼增重率 13.7%、13.1%,降低饲料系数 0.21、0.20^[10]。在虹鳟^[8]、鲤^[9]、黄颡鱼^[30]饲料中添加 0.2% 甘露寡糖均可显著提高鱼体增重率、降低饲料系数。本试验饲料中添加 0.4% 甘露寡糖可提高凡纳滨对虾增重率 12.78% ($P < 0.05$),降低饲料系数 0.09 ($P < 0.05$);甘露寡糖对凡纳滨对虾的促生长作用,可能与改善肠道微生物菌群,促进肠道有益菌的生长,改善肠道内环境,从而提高营养物质消化率有关^[31-32]。

消化酶活性的增强可提高营养物质的消化

率。目前,有关甘露寡糖对动物消化酶活性影响的报道较少。在罗非鱼饲料中添加 0.75% 甘露寡糖,可提高干物质消化率、粗蛋白消化率 14.3%、4.9%^[10]。本试验在饲料中添加 0.4% 甘露寡糖显著提高胃蛋白酶及肝胰脏脂肪酶活性。甘露寡糖对消化酶活性的作用,可能与甘露寡糖有益于肠黏膜上皮细胞的排列,并能改善肠绒毛高度、厚度有关^[33]。今后应当制作凡纳滨对虾消化道的组织切片,并对营养物质消化率进行测定,以寻求更直接的证据。

甘露寡糖不仅改善动物生长性能,还影响机体的免疫系统。饲料中添加 0.75% 甘露寡糖,可显著提高奥尼罗非鱼血清超氧化物歧化酶及碱性磷酸酶活性^[10];添加 0.2% 甘露寡糖显著提高虹鳟^[8]、鲤^[9]血清溶菌酶活性;本试验在凡纳滨对虾饲料中添加 0.4% 甘露寡糖,可不同程度提高血清溶菌酶、酚氧化酶、超氧化物歧化酶及碱性磷酸酶活性,而这些酶是虾体重要的非特异性免疫因子。甘露寡糖提高动物非特异性免疫功能,可能与甘露寡糖可以促进有益菌的生长、抑制有害菌的繁殖有关^[31],其作用机理有待进一步研究。

3.4 蛋白酶 PT 对凡纳滨对虾生长和消化酶活性的影响

蛋白酶 PT 是一种耐高温的碱性蛋白酶,本实验室已就蛋白酶 PT 在水产饲料中的应用开展了较多的研究。结果表明:在鱼粉含量为 10% 及 6% 的鲤饲料中添加 175 mg/kg 蛋白酶 PT,均显著提高鲤的增重率,降低饲料系数^[16];在鱼粉含量为 26.4% 的凡纳滨对虾幼虾饲料中添加 175 mg/kg 蛋白酶 PT,可提高增重率 10.8% ($P = 0.096$)^[15]。本次试验进一步将饲料鱼粉含量降为 23.0%,添加 175 mg/kg 蛋白酶 PT,结果显示提高凡纳滨对虾增重率 11.25% ($P < 0.05$),降低饲料系数 0.09 ($P < 0.05$),与上述报一致。同时本试验添加蛋白酶 PT 后,可提高肝胰脏蛋白酶、肠蛋白酶及肝胰脏脂肪酶的活性 ($P < 0.05$)。蛋白酶 PT 在低鱼粉含量时改善水产动物生长性能可能是由于在低鱼粉条件下,植物蛋白含量高,可消化蛋白质降低,氨基酸组成不平衡,添加外源酶后,促进植物蛋白降解,提高蛋白质的利用率,因而提高动物生长性能及饲料利用率^[16]。

参考文献:

- [1] AI Q H, MAI K S, ZHANG L, et al. Effects of dietary β -1, 3 glucan on innate immune reponse of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. Fish and Shellfish immunology, 2007, 22: 394-402.
- [2] 张辽, 温安祥. β -葡聚糖对齐口裂腹鱼生长及免疫功能的影响[J]. 动物营养学报, 2009, 21(5): 688-694.
- [3] NELDA L, GERARD C, GABRIELA G, et al. Physiological, nutritional, and immunological role of dietary β 1-3 glucan and ascorbic acid 2-monophosphate in *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. Aquaculture, 2003, 224: 223-243.
- [4] 许国焕, 梁友光, 吴月嫦, 等. 酵母葡聚糖对南美白对虾免疫功能的影响[J]. 饲料工业, 2003, 10(4): 53-54.
- [5] CHANG C F, SU M S, CHEN H Y, et al. Dietary β -1,3-glucan effectively improves immunity and survival of *Penaeus monodon* challenged with white spot syndrome virus [J]. Fish and Shellfish Immunology 2003, 15: 297-310.
- [6] 向泉, 陈建, 周兴华, 等. 黄芪多糖对齐口裂腹鱼生长、体组成和免疫指标的影响[J]. 水生生物学报, 2011, 35(2): 291-299.
- [7] 刘宗英, 汪成竹, 覃川杰, 等. “鱼虾宝”对南美白对虾免疫相关酶的激活作用[J]. 海洋渔业, 2007, 12: 17-20.
- [8] STAYKOV Y, SPRING P, DENEV S, et al. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture International, 2007, 15(2): 153-161.
- [9] STAYKOV Y, DENEV S, SPRING P. Influence of dietary mannan oligosaccharides (Bio-Mos) on growth rate and immune function of common carp (*Cyprinus carpio* L) [M]//HOWELL B, FLOS R. Lessons from the Past to Optimise the Future. European Aquaculture Society, 2005, 35: 431-432.
- [10] 刘爱君, 冷向军, 李小勤, 等. 甘露寡糖对奥尼罗非鱼生长、肠道结构和非特异性免疫的影响[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版, 2009, 35(3): 329-336.
- [11] 白东清, 乔秀亭. 植酸酶对鲤鱼磷钙等营养物质利用率的影响[J]. 天津农学院学报, 2003, 10(1): 6-10.
- [12] 张璐, 艾庆辉, 麦康森, 等. 植酸酶和非淀粉多糖酶对鲈鱼生长和消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2009, 33(1): 82-88.
- [13] 王纪亭, 万文菊, 康明江, 等. 复合酶制剂对草鱼生长性能、饲料养分消化率及免疫力的影响[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(5): 417-422.
- [14] 钟国防, 周洪琪. 木聚糖酶和复合酶制剂 PS 对尼罗罗非鱼生长性能、消化率以及肌肉营养成分的影响[J]. 湛江海洋学院学报:自然科学版, 2005, 24(4): 324-329.
- [15] 刘鼎云, 冷向军, 卢永红, 等. 饲料中添加蛋白酶 AG 对凡纳滨对虾生长和肌肉成分的影响[J]. 饲料工业, 2007, 28(20): 24-25.
- [16] 冷向军, 刘鼎云, 李小勤, 等. 饲料中添加蛋白酶 AG 对鲤鱼鱼种生长和蛋白质消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2008, 20(3): 268-274.
- [17] LIN H Z, ZHOU J L, CHEN Y Q, et al. Effect of dietary traditional Chinese medicines on apparent digestibility coefficients of nutrients for white shrimp *Litopenaeus vannamei*, Boone [J]. Aquaculture, 2006, 253: 495-501.
- [18] AOAC. Official Methods of Analysis[M]. 16th ed. Association of Official analytical chemists. Washington, DC, USA, 1990.
- [19] ASHIDA M, SODERHALL K. The prophenoloxidase activating system in crayfish [J]. comparative Biochemistry and physiology, 1984, 77(1): 21-26.
- [20] DIVAKARAN S, OSTROWSKI A. Enzymes present in pancreatic extracts of the dolphin *Corphaena hippurus* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1990, 21: 35-39.
- [21] MISRA C K, DAS B K, MUKHERJEE S C, PATNAIK P. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings [J]. Aquaculture, 2006, 255(1/4): 82-94.
- [22] 陈云波, 周洪琪, 华雪铭, 等. 饲料中添加 β -葡聚糖对南美白对虾的生长、存活及饲料系数的影响[J]. 淡水渔业, 2002, 32(5): 55-56.
- [23] WIGGLESWORTH J M, GRIFFITH D R. Carbohydrate digestion in *Penaeus monodon* [J]. Marine Biology, 1994, 120: 571-578.
- [24] 杨福刚, 周洪琪, 黄旭雄. 不同 β -葡聚糖对凡纳滨对虾稚虾生长及非特异免疫功能的影响[J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(3): 263-269.
- [25] BAI N, ZHANG W B, MAI K S, et al. Effects of discontinuous administration of β -glucan and glycyrrhizin on the growth and immunity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2010, 306: 218-224.
- [26] SUNG H H, KOU G H, SONG Y L. Vibriosis resistances induced by glucan treatment in tiger shrimps, *Penaeus monodon* [J]. Fish Pathology, 1994, 29(1): 11-17.
- [27] 孙永欣, 李亚洁, 温志新, 等. 饲喂黄芪多糖对刺参生长性能的影响[J]. 中国饲料, 2009(4): 31-36.
- [28] 许杜娟, 陈敏珠. 黄芪多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 安徽医药, 2003, 7(6): 418-419.
- [29] TORRECILLAS S, MAKOL A, CABALLERO M J, et al. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannanoligosaccharides [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2007, 23(5): 969-981.
- [30] 于艳梅, 吴志新, 陈孝焯, 等. 魔芋甘露寡糖对黄颡鱼非特异性免疫功能及生长的影响[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(3): 351-355.
- [31] 周红丽, 张石蕊, 贺建华. 甘露寡糖对断奶仔猪肠道菌群和抗体水平及生长性能的影响[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2002, 28(2): 135-143.

- [32] PEDROSO A A, MENTEN J F, LAMBAIS M R, et al. Intestinal bacterial community and growth performance of chickens fed diets containing antibiotics [J]. Poultry Science, 2006, 85: 747 – 752.
- [33] 戴德渊, 黄勇富, 万红, 等. 甘露寡糖在猪生产中的应用 [J]. 畜禽业: 南方养猪, 2006(2): 24 – 27.

Effects of polysaccharides, oligosaccharides and protease on growth, digestive enzyme activities and serum nonspecific immunity of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

TAN Chong-gui¹, LENG Xiang-jun^{1,2}, LI Xiao-qin^{1,2}, SU Xiong-gao¹, LIU Bo¹, CHAI Xian-qi¹

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: A 6-week feeding trial was conducted to study the effects of supplementation of polysaccharides, oligosaccharides and protease in diets on growth performance, serum nonspecific immunity and digestive enzyme activities of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Graded levels of 0.0% (control group), 0.2% β -glucan, 0.05% astragalus polysaccharides, 0.4% mannan oligosaccharides and 175 mg/kg protease PT were supplemented to diet. Each diet was randomly fed to four cages of white shrimp with initial average weight (4.55 ± 0.08) g in 20 cages (2.5 m \times 1.2 m \times 1 m) for 6 weeks. Compared with control group, weight gain rates (WGR) of shrimp fed with 0.2% β -glucan, 0.4% mannan oligosaccharides and 175 mg/kg protease PT were increased by 16.19%, 12.78%, 11.25% ($P < 0.05$), and feed conversion rate (FCR) decreased by 0.10, 0.09, 0.09 ($P < 0.05$). There were no significant differences in contents of muscle moisture, ash, crude fat and crude protein among treatments ($P > 0.05$). In respect of serum nonspecific immunity, phenoloxidase were significantly increased by all additives groups compared with control group ($P < 0.05$), but no difference was found in MDA among groups ($P > 0.05$). Shrimp fed with diet adding 0.4% mannan oligosaccharides had a significantly higher lysozyme and alkaline phosphatase activity, meanwhile activities of superoxide dismutase of 0.2% β -glucan and 0.4% mannan oligosaccharides groups were enhanced compared with control group ($P < 0.05$). In respect of digestive enzymes activities, hepatopancreas protease activities of 0.05% astragalus polysaccharides and 175 mg/kg protease PT groups, intestine protease activity of 175 mg/kg protease PT group, stomach protease activity of 0.2% β -glucan and 0.4% mannan oligosaccharides groups, hepatopancreas lipase activity of 0.2% β -glucan, 0.4% mannan oligosaccharides and 175 mg/kg protease PT were all significantly higher than those of control group ($P < 0.05$). Results above showed that the addition of 0.2% β -glucan and 0.4% mannan oligosaccharides in diet could improve the growth performance, serum nonspecific immunity and digestive enzyme activities; addition of 175 mg/kg protease PT could improve the weight gain rate and digestive enzyme activities; addition of 0.05% astragalus polysaccharides had no influence on weight growth rate, serum nonspecific immunity and digestive enzyme activities.

Key words: white shrimp; growth; digestive enzymes; immune function; polysaccharide; oligosaccharides; protease