

文章编号: 1674-5566(2010)02-0219-07

## 壳聚糖对淡水白鲢生长和非特异性免疫功能的影响

童春<sup>1,2</sup>, 曹振杰<sup>2</sup>, 杨玲<sup>2</sup>, 秦玉广<sup>2</sup>, 孙栋<sup>2</sup>

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 山东省淡水水产研究所, 山东 济南 250117)

**摘要:** 配制添加不同浓度壳聚糖(0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)的6组实验饲料,网箱养殖淡水白鲢(*Colossoma brachyponum*) (82.26±5.13) g 60 d 探讨壳聚糖对淡水白鲢生长、非特异性免疫功能的影响和其在饲料中的适宜添加量。结果表明:0.6%组末体重、特定生长率、饲料效率和蛋白质效率显著高于0.2%、0.4%和1.0%组( $P<0.05$ );0.6%、0.8%和1.0%组脏体比显著低于0.2%和0.4%组( $P<0.05$ );0.6%、0.8%和1.0%组肝体比显著低于0组( $P<0.05$ );0.6%组溶菌酶活性最高,显著高于0和0.2%组( $P<0.05$ );0.6%组超氧化物歧化酶活性最高,显著高于其它组( $P<0.05$ );0.6%组酸性磷酸酶活性显著高于0和0.2%组( $P<0.05$ );用嗜水气单胞菌对淡水白鲢进行攻毒后的14 d内,0.6%、0.8%和1.0%组的死亡率显著低于0组( $P<0.05$ )。综合各项实验指标,淡水白鲢饲料中添加适量的壳聚糖能提高其生长性能、饲料利用率、非特异性免疫功能以及抗嗜水气单胞菌感染能力,适宜添加量0.6%~0.8%。

**关键词:** 壳聚糖;淡水白鲢;生长;非特异性免疫;嗜水气单胞菌

**中图分类号:** S 963.1      **文献标识码:** A

## Effects of dietary chitosan on growth and non-specific immunity of freshwater spadefish (*Colossoma brachyponum*)

TONG Chun<sup>1,2</sup>, CAO Zhen-jie<sup>2</sup>, YANG Ling<sup>2</sup>, QING Yu-guang<sup>2</sup>, SUN Dong<sup>2</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Fresh Water Fishery Institute of Shandong Province Jinan 250117, China)

**Abstract:** Freshwater spadefish (*Colossoma brachyponum*) with initial weight of (82.26±5.13) g in netcage were fed with diets supplemented with different levels of chitosan (0, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0%) for 60d to examine the effects of dietary chitosan on growth and non-specific immunity of freshwater spadefish and the appropriate dosage of chitosan for dietary supplementation. The results showed that the final weight specific growth rate (SGR), feed efficiency ratio (FER) and protein efficiency ratio (PER) of group 0.6% was highest significantly higher than groups 0.2%, 0.4% and 1.0% ( $P<0.05$ ). Hepatosomatic indexes (HSI) of groups 0.6%, 0.8% and 1.0% were significantly lower than groups 0.2% and 0.4% ( $P<0.05$ ). Viscerosomatic index (VSI) of groups 0.6%, 0.8% and 1.0% were significantly lower than group 0 ( $P<0.05$ ). Activity of lysozyme (LZM) of group 0.6% was highest significantly higher than groups 0 and 0.2% ( $P<0.05$ ). Activity of super oxide dismutase (SOD) of group 0.6% was significantly higher than that of other groups ( $P<0.05$ ). Activity of acid phosphatase (ACP) of group 0.6% was higher than

收稿日期: 2009-09-21

基金项目: 山东省农业良种工程项目 (20061903)

作者简介: 童春 (1986-), 女, 硕士研究生, 专业方向为水产动物营养与饲料。E-mail: tongchun86@163.com

通讯作者: 曹振杰, E-mail: caozhenjie2009@163.com

groups 0 and 0.2% ( $P < 0.05$ ). Mortality of groups 0.6%, 0.8% and 1.0% were significantly lower than group 0 ( $P < 0.05$ ) after being challenged with live *Aeromonas hydrophila* in 14 d. Thus adding chitosan in freshwater spadefish feed appropriately can improve their growth performance, feed utilization, non-specific immune function and the resistance to infection with *Aeromonas hydrophila*. The supplement of 0.6% ~ 0.8% chitosan was optimum for the feed of freshwater spadefish.

**Key words:** chitosan; freshwater spadefish; growth; non-specific immunity; *Aeromonas hydrophila*

淡水白鲮,学名短盖巨脂鲤,脂鲤科(Characidae),巨脂鲤属(*colossoma*),原产于南美亚马逊河,为热带、亚热带鱼类。因其具有食性杂、生长快、病害少、肉厚刺少、味道鲜美、营养丰富等优点,深受广大养殖户和消费者的青睐<sup>[1]</sup>。近年来,随着养殖密度增大以及水环境恶化,造成鱼体免疫力降低,发生病害频率也大大增加<sup>[2]</sup>。实际生产中,往往采用大量泼洒药物的方式来防病治病,虽可以在短期内控制病害蔓延,但会带来耐药性、药物残留和环境污染等一系列问题,不符合发展健康、绿色渔业的要求。通过满足鱼类对各种营养元素的需求,从而增强其自身免疫力来防病,已经成为当前国内外研究者探讨水产养殖动物疾病防治方法的重要途径<sup>[3-5]</sup>。已有的研究也证实了在饲料中添加一定水平的免疫制剂,可以调节水产动物自身免疫系统功能,提高其抗病能力<sup>[6-9]</sup>。

壳聚糖,又名几丁质糖、脱乙酰基甲壳素,是甲壳素脱乙酰基后的降解产物<sup>[10]</sup>,具有抗微生物活性、激活淋巴细胞、调节脂肪代谢、降低血脂和胆固醇等多种生理功能,是一种理想的免疫添加剂<sup>[11]</sup>。壳聚糖作为水产动物饲料添加剂,在花鲈(*Lateolabrax japonicus*)、中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)、异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、罗非鱼(*Tilapia*)和暗纹东方鲀(*Fugu obscurus*)实验中,均起到提高存活率、促生长和提升鱼体非特异性免疫力的作用<sup>[12-16]</sup>。目前,国内外还没有关于饲料中添加壳聚糖对淡水白鲮生长及非特异性免疫功能影响的报道。

本实验用添加不同浓度壳聚糖饲料连续喂养淡水白鲮,通过测定其生长性能、饲料利用、非特异性免疫活性以及嗜水气单胞菌攻毒 14 d 内的死亡率等指标,评价了饲料中添加壳聚糖对淡水白鲮免疫应答的增强作用,确定其饲料中壳聚

糖的适宜添加量,以期为淡水白鲮饲料添加剂的研制生产以及壳聚糖在水产健康养殖上的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

壳聚糖购于海得贝海洋生物工程有限公司,纯度 $\geq 95\%$ 。鱼粉、豆粕、菜粕、酵母和次粉经粉碎后过 40 目筛,按比例加入壳聚糖、矿物质和维生素预混剂混匀后,将鱼油和适量水均匀喷洒在饲料上,用绞肉机制成不同壳聚糖浓度(0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%)的 6 组湿颗粒饲料(粒径 2.5 mm),烘干后密封保存备用。各组实验饲料配方及营养成分见表 1。

### 1.2 实验鱼的来源与驯化

实验淡水白鲮取自山东省淡水水产研究所,于玻璃钢水池( $r=2.5\text{ m}$ ,  $h=1.5\text{ m}$ )暂养 14 d。暂养期间用壳聚糖含量为 0 的实验饲料进行驯化。

### 1.3 实验鱼的饲养与日常管理

暂养结束后停食 24 h,挑取 360 尾体重( $82.26 \pm 5.13$ ) g 的健康淡水白鲮,随机放入 18 个置于同一水池的(共设 6 组,每组 3 重复)聚乙烯网箱中( $60\text{ cm} \times 60\text{ cm} \times 120\text{ cm}$ ),每网箱 20 尾。每日投喂饲料 3 次(7:00, 12:30, 18:00),每次投喂至鱼普遍不主动摄食为止。实验用水取自玉景矿泉水厂,实验期间水温( $27.0 \pm 1.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、pH( $7.5 \pm 1.0$ )、 $\text{NH}_3\text{-N} < 0.4\text{ mg/L}$ 、 $\text{H}_2\text{S} < 0.05\text{ mg/L}$ 、溶氧 $> 6\text{ mg/L}$ 。每 7 d 换水一次(换水量 1/3),虹吸法清理粪便,收集残饵并烘干称重。养殖实验共进行 60 d。

表 1 实验用饲料配方及营养成分分析  
Tab 1 Formulation and nutrient composition of the experimental diets

配方	壳聚糖水平					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
鱼粉	15	15	15	15	15	15
豆粕	30	30	30	30	30	30
菜粕	15	15	15	15	15	15
酵母	5	5	5	5	5	5
次粉	27	26.8	26.6	26.4	26.2	26
鱼油	3	3	3	3	3	3
壳聚糖	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
无机盐预混剂 <sup>1</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
维生素预混剂 <sup>2</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
营养组成 (%)						
水分	9.72%					
粗蛋白	34.75%					
粗脂肪	7.46%					
粗灰分	9.38%					

注: 1. 无机盐预混剂 (每千克含量): NaF, 2 mg; KI, 0.08 mg; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1 mg; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 10 mg; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 74 mg; ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 50 mg; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 60 mg; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1 000 mg; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O, 6 000 mg; NaH<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O, 5 000 mg; NaCl, 100 mg; CaCO<sub>3</sub>, 4 g.

2. 维生素预混剂 (每千克含量): 硫胺素 (B1), 20 mg; 核黄素 (B2), 40 mg; 吡哆醛 (B6), 20 mg; 钴胺素 (B12), 0.1 mg; 亚硫酸氢钠, 10 mg; 肌醇 (inositol), 1 000 mg; 泛酸, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 生物素 (H), 1.23 mg; 视黄醇 (A), 25 000 IU; 胆钙化醇 (D), 2 500 IU; 生育酚 (E), 120 mg; 抗坏血酸 (C), 2 112 mg; 氯化胆碱, 2 500 mg.

## 1.4 样品的采集与分析

### 1.4.1 样品的采集

60 d 养殖实验结束后, 饥饿实验鱼 24 h 对各个网箱所有淡水白鲢测定终体重。随后每网箱随机取 3 尾淡水白鲢分别称重后麻醉, 用注射器从尾静脉取血, 分别置于不同编号离心管中用于平行实验。所取血液在室温下静置 1 h 待其凝固后, 放入 4℃ 冰箱中静置 4 h 再于 4℃ 环境中以 4 000 r/min 离心 10 min 收集上层血清, -20℃ 保存, 分析时取出在 4℃ 下解冻。

取血完成后解剖淡水白鲢, 取出内脏团并准确称重; 后分离出其肝脏, 用生理盐水稍加冲洗, 吸水纸吸干表面水分, 并准确称重。

### 1.4.2 样品的分析

营养成分测定: 水分采用恒温干燥法 (105℃); 粗蛋白采用凯氏定氮法; 粗脂肪的测定以乙醚为溶剂, 采用索氏抽提法; 粗灰分是在马福炉中焚烧 (550℃) 测得。

溶菌酶活力: 采用溶菌酶试剂盒 (购于南京建成生物工程研究所产品) 测定。酶活力单位定义为: 溶菌酶液吸光值每分钟下降 0.001 定义为一个活性单位。单位血清用量为 0.2 mL。

超氧化物歧化酶活力: 采用超氧化物歧化酶试剂盒 (购于南京建成生物工程研究所产品) 测

定。酶活力单位定义为: 在 1 mL 反应液中, 每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达 50% 时的酶量。单位血清用量为 30 μL。

酸性磷酸酶活力: 采用酸性磷酸酶试剂盒 (购于南京建成生物工程研究所) 测定。酶活力单位定义为: 100 mL 血清在 37℃ 与底物作用 15 min 产生 1 mg 酚为单位。单位血清用量为 20 μL。

## 1.5 攻毒

嗜水气单胞菌菌液取自山东大学生命科学学院, 用灭菌生理盐水将菌液浓度调至 3×10<sup>8</sup> CFU/mL。60 d 养殖实验结束后, 每网箱留 10 尾淡水白鲢供攻毒实验, 采用腹腔注射法, 每尾鱼注射 0.3 mL 菌液, 饱食投喂 14 d 记录死亡情况。

## 1.6 数据分析与统计

各实验参数通过以下公式计算求得:

$$R_{SG} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t \quad (1)$$

$$R_{FE} = 100 \times (W_t - W_0) / I_t \quad (2)$$

$$R_{PE} = 100 \times (W_t - W_0) / (I_t \times P_d) \quad (3)$$

$$I_{VS} = 100 \times W_V / W_t \quad (4)$$

$$I_{HS} = 100 \times W_L / W_t \quad (5)$$

式中:  $R_{SG}$  为特定生长率 (%);  $R_{FE}$  为饲料效率 (%);  $R_{PE}$  为蛋白质效率 (%);  $I_{VS}$  为脏器比 (%);

$I_s$ 为肝体比(%)； $W_0$ 为初始体重(g)； $W_t$ 为终末体重(g)； $W_v$ 为终末内脏团重(g)； $W_L$ 为终末肝重(g)； $t$ 为实验时间(min)； $I_d$ 为摄入干物质的总量(g)； $P_d$ 为饲料中蛋白质含量(g)。

采用 SPSS 16.0 软件对各组数据进行方差分析和 Duncan's 多重检验 ( $P < 0.05$  即认为显著差异)。

## 2 结果

60 d 养殖实验结束后, 各网箱成活率均为 100%。由表 2 可知, 淡水白鲢的末体重和特定生

长率随壳聚糖添加量上升呈先增大后减小趋势; 其中 0.6% 组末体重和特定生长率最大, 显著高于 0、0.2%、0.4% 和 1.0% 组 ( $P < 0.05$ ), 是 0 组的 1.34 倍。饲料效率和蛋白质效率呈相同的趋势, 在壳聚糖添加量低于 0.6% 时逐渐增加, 超过 0.6% 后逐渐减小; 0.6% 组的饲料效率和蛋白质效率最高, 分别达到 72.86% 和 209.66%, 显著高于 0、0.2%、0.4% 和 1.0% 组 ( $P < 0.05$ ); 0.8% 组的饲料效率和蛋白质效率显著高于 0 组 ( $P < 0.05$ ), 与其它各组均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 2 饲料中添加壳聚糖对淡水白鲢生长和饲料利用的影响

Tab. 2 Effects of dietary chitosan on growth performance and feed utilization for *Colossoma brachyopum* fed experimental diets for 60 d

	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
初体重 (g)	82.70±6.2	82.30±5.1	82.50±3.2	83.00±5.1	82.20±6.3	83.10±5.2
末体重 (g)	170.92±9.1 <sup>c</sup>	177.39±8.9 <sup>c</sup>	191.10±9.5 <sup>b</sup>	219.39±9.8 <sup>a</sup>	207.09±8.4 <sup>a</sup>	195.99±8.7 <sup>b</sup>
特定生长率 (%)	1.21±0.05 <sup>c</sup>	1.28±0.010 <sup>c</sup>	1.40±0.05 <sup>b</sup>	1.62±0.12 <sup>a</sup>	1.54±0.05 <sup>a</sup>	1.43±0.08 <sup>b</sup>
饲料效率 (%)	53.51±3.36 <sup>c</sup>	63.25±3.74 <sup>b</sup>	65.70±1.57 <sup>b</sup>	72.86±3.96 <sup>a</sup>	67.76±3.72 <sup>ab</sup>	66.99±3.02 <sup>b</sup>
蛋白效率 (%)	153.98±10.02 <sup>c</sup>	182.03±10.78 <sup>b</sup>	189.06±9.52 <sup>b</sup>	209.66±11.41 <sup>a</sup>	194.98±10.71 <sup>ab</sup>	192.49±8.69 <sup>b</sup>

注: 每行平均值后上标字母不同表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

淡水白鲢脏体比随壳聚糖添加量上升逐渐减小 (见表 3), 1.0% 组脏体比最小, 显著低于 0、0.2% 和 0.4% 组 ( $P < 0.05$ ), 与 0.6% 和 0.8% 组

无显著差异 ( $P > 0.05$ )。0.6%、0.8% 和 1.0% 组之间肝体比无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 均显著低于 0 组 ( $P < 0.05$ )。

表 3 饲料中添加壳聚糖对淡水白鲢脏体比和肝体比的影响

Tab. 3 Effects of dietary chitosan on viscerosomatic and hepatosomatic indexes of *Colossoma brachyopum* fed experimental diets for 60 d

	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
脏体比 (%)	9.94±1.03 <sup>a</sup>	9.68±0.80 <sup>a</sup>	9.61±0.65 <sup>a</sup>	8.01±0.50 <sup>b</sup>	7.97±0.52 <sup>b</sup>	7.65±0.76 <sup>b</sup>
肝体比 (%)	1.60±0.09 <sup>a</sup>	1.52±0.06 <sup>ab</sup>	1.48±0.04 <sup>ab</sup>	1.40±0.05 <sup>b</sup>	1.42±0.06 <sup>b</sup>	1.40±0.09 <sup>b</sup>

免疫指标的统计结果如表 4 所示, 0.6% 组溶菌酶活性最高, 显著高于 0 和 0.2% 组 ( $P < 0.05$ ); 0.6% 组超氧化物歧化酶活性显著高于其它各组 ( $P < 0.05$ ); 0 组和 0.2% 组显著低于

0.4%、0.8% 和 1.0% 组 ( $P < 0.05$ ); 0.6% 组酸性磷酸酶活性最高, 显著高于 0 和 0.2% 组; 0.4%、0.8% 和 1.0% 组显著高于 0 组 ( $P < 0.05$ ), 与 0.2% 和 0.6% 组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 4 饲料中添加壳聚糖对淡水白鲢非特异性免疫的影响

Tab. 4 Effects of dietary chitosan on non-specific immunity of *Colossoma brachyopum* fed experimental diets for 60 d

	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
溶菌酶 (U/mL)	366.00±16.71 <sup>c</sup>	598.55±11.88 <sup>b</sup>	690.24±16.69 <sup>ab</sup>	799.08±17.99 <sup>a</sup>	708.61±14.94 <sup>ab</sup>	701.79±15.93 <sup>ab</sup>
超氧化物歧化酶 (U/mL)	152.87±2.98 <sup>c</sup>	155.86±1.97 <sup>c</sup>	168.38±2.74 <sup>b</sup>	180.07±3.64 <sup>a</sup>	170.34±3.99 <sup>b</sup>	166.47±2.89 <sup>b</sup>
酸性磷酸酶 (U/100mL)	9.06±0.56 <sup>c</sup>	10.01±0.65 <sup>bc</sup>	11.10±0.49 <sup>ab</sup>	12.57±0.58 <sup>a</sup>	11.52±0.62 <sup>ab</sup>	10.94±0.64 <sup>ab</sup>

淡水白鲟在用嗜水气单胞菌攻毒后 14 d内, 0.8%组死亡率最低,与 0.6%组间无显著差异 ( $P>0.05$ ); 1.0%组死亡率显著高于 0.8%组,

但显著低于 0组 ( $P<0.05$ ),与其它组无显著差异 ( $P>0.05$ )。

表 5 经嗜水气单胞菌攻毒 14 d后淡水白鲟的死亡率

Tab 5 Mortality of *Colossoma brachyopomum* after being challenged with live *Aeromonas hydrophila* for 14 d

死亡率 (%)	壳聚糖含量					
	0	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1.0%
	76.67±1.01 <sup>a</sup>	66.67±2.00 <sup>ab</sup>	66.67±1.06 <sup>ab</sup>	43.33±1.21 <sup>bc</sup>	30.00±1.03 <sup>c</sup>	53.33±1.42 <sup>b</sup>

### 3 讨论

于东祥<sup>[17]</sup>对真鲷 (*Pagrosomus major*), Shiau等<sup>[18]</sup>对罗非鱼、Kono等<sup>[19]</sup>对黄尾笛鲷 (*Lutjanus campechanus*)和日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)、华雪铭<sup>[16]</sup>对暗纹东方鲀以及陈云波等<sup>[20]</sup>对异育银鲫的研究都证实了饲料中添加适量的壳聚糖能显著提高实验鱼的生长性能和饲料利用率 ( $P<0.05$ )。壳聚糖作为饲料添加剂,主要通过以下途径提高鱼体生长性能和饲料利用率:吸附  $H^+$ , 结合鱼体内酸性物质,抑制、中和胃酸分泌,保护胃黏膜;促进鱼体肠内有益菌群的繁殖,抑制有害菌群的滋生及减少大肠杆菌生长的机会,调整肠道生态环境,提高鱼体消化机能;提高鱼体肠道和肝脏的蛋白酶、淀粉酶,以及肝脏极低密度脂蛋白的活性;在饲料表面形成一层保护膜,延长水化时间,保护饲料养分,防止霉变不污染水源<sup>[21]</sup>。

本实验研究发现在淡水白鲟饲料中添加 0.6%的壳聚糖具有显著的提高其特定增长率、饲料效率和蛋白质效率的作用 ( $P<0.05$ );但当壳聚糖水平超过 0.8%时,特定增长率、饲料和蛋白效率并没有表现出进一步的升高,反而显著下降 ( $P<0.05$ )。说明 0.6%~0.8%的壳聚糖可以显著提高淡水白鲟的生长性能和饲料利用率 ( $P<0.05$ ),而超过 0.8%的壳聚糖对提高淡水白鲟的生长性能和饲料利用率无益。此结果略高于罗非鱼饲料最适壳聚糖添加量 0.5%<sup>[22]</sup>,花鲈饲料最适添加量 0.5%<sup>[12]</sup>,可能是因为不同实验鱼对壳聚糖适应和利用效果有差异。高浓度壳聚糖反而降低淡水白鲟的生长性能和饲料利用率,可能是因为壳聚糖具有很强的吸附离子和蛋白质的能力,过量添加时吸附了鱼类生长所必需的营养物质,而导致鱼消化吸收能力的下

降<sup>[12]</sup>。

高密度养殖加上长期投喂低蛋白、高脂肪、高糖类和缺维生素的饲料,易导致鱼体肥胖,肝脂和肝体比增大,造成鱼体脂肪代谢障碍,抗病能力降低<sup>[23]</sup>。壳聚糖在鱼体内以带正电的阳离子形态出现,可与胆酸和胆盐结合,不但减少胆固醇在肝脏的堆积量,还能促使肝脏将胆固醇转化为胆汁酸,从而降低肝体比<sup>[24]</sup>。目前,关于适量添加壳聚糖能降低实验鱼肝体比的报道有很多,饲料中添加 0.5%~1.0%壳聚糖能有效降低罗非鱼的肝体比重和肝脂含量<sup>[22]</sup>,罗非鱼饲料中添加适量的壳聚糖 (0.1%~0.9%)能有效降低其肝脏指数和内脏指数<sup>[25]</sup>等等。本实验饲料中添加 0.6%的壳聚糖具有显著的降低淡水白鲟脏体比和肝体比的作用 ( $P<0.05$ ),印证了适量添加壳聚糖能提高动物肝脏脂肪代谢的效率和肝脏的机体活力,降低肝脏的脂肪含量和肝病发生,这对于提高集约化养殖效益具有重要的意义。

溶菌酶、超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性是评价鱼类免疫力的常用指标<sup>[26]</sup>。其中溶菌酶是由淋巴细胞分泌的碱性溶解酶,当机体受到病原攻击时,白细胞聚集在感染区,包围异物进行吞噬,此时吞噬细胞活性增强,吞噬细胞中含有溶菌酶,因此随着吞噬活性的增强也导致了溶菌酶活性的变化<sup>[12]</sup>。本实验添加壳聚糖组的血清溶菌酶活性均显著高于对照组 ( $P<0.05$ ),并在一定范围内随着壳聚糖浓度的增大而升高,并于 0.6%的添加量时达到最大,与暗纹东方鲀<sup>[16]</sup>、花鲈<sup>[12]</sup>、异育银鲫<sup>[14]</sup>的研究结论相近。可能是因为壳聚糖为阳性趋化剂,吸收单核细胞从血管中游出,聚集在组织中形成吞噬细胞,或直接刺激局部组织,促进细胞增生,继而演变为巨噬细胞,提高巨噬细胞活性,使其吞噬能力增强,从而提

高鱼体免疫力<sup>[27]</sup>。

超氧化物歧化酶活性与机体免疫水平密切相关,对于增强巨噬细胞的防御功能和整个机体的免疫机能具有重要作用<sup>[28]</sup>,而酸性磷酸酶活性被认为是巨噬细胞的标志酶,其活力的高低反映了巨噬细胞的激活程度<sup>[29]</sup>。超氧化物歧化酶是生物体内一种重要的抗氧化酶,可以清除体内多余的自由基,从而免除自由基对生物的危害。目前,还没有关于壳聚糖对血清中超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性影响的研究报道,本实验添加 0.6%壳聚糖后显著提高了淡水白鲟血清中超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性 ( $P < 0.05$ ),而添加 0.2%壳聚糖时,与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ),说明适量壳聚糖对提高鱼机体免疫能力有积极作用。关于壳聚糖对超氧化物歧化酶和酸性磷酸酶活性影响的机理,还需进一步深入研究探讨。

壳聚糖已被证实是对革兰氏阴性和阳性菌都有明显的抑制和杀灭作用,具体杀菌机理可能是:大多数的致病菌都呈阴离子性状,而壳聚糖是带正电荷的天然高分子材料,可与病原菌表面鞭毛及套膜吸附凝聚,从而抑制病原菌的繁殖和生长<sup>[30]</sup>。攻毒实验可以更直观的反映免疫添加剂的作用效果。本实验攻毒后 14 d内,0.6%、0.8%、1.0%组死亡率显著低于 0组,说明了添加适量的壳聚糖能提高淡水白鲟的抗嗜水气单胞菌感染能力。已有研究表明,添加免疫多糖可以增强黄鳢 (*Monopterus albus*)<sup>[31]</sup>、斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*)<sup>[32]</sup>对嗜水气单胞菌的抵抗力,降低攻毒后的死亡率。迟淑艳等<sup>[33]</sup>在研究中发现  $\beta$ 葡聚糖在饲料中添加量为 1%~1.5%时,可以明显改善奥尼罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染能力。

根据饲料中添加不同浓度的壳聚糖对淡水白鲟生长性能和饲料利用、非特异性免疫力和经嗜水气单胞菌攻毒后死亡率等指标,确定壳聚糖可作为淡水白鲟饲料中一种安全高效的免疫添加剂,适宜添加量 0.6%~0.8%。

## 参考文献:

- [1] 陆清尔,李忠全,周向阳. 盐酸甜菜碱对淡水白鲟生长性能鱼体解剖特性和肉质的影响 [J]. 浙江海洋学院学报, 2001, 20(9): 130-136.
- [2] 艾庆辉,麦康森. 鱼类营养免疫研究进展 [J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 425-430.
- [3] Anderson D P, Siwicki A K. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion [J]. Prog Fish Cult, 1994, 56: 258-261.
- [4] 钱云霞,王国良,邵健忠. 鱼类的非特异性免疫调节 [J]. 宁波大学学报:理工版, 2000, 13(1): 95-99.
- [5] 王桂芹,周洪琪. 鱼类免疫增强剂的研究现状 [J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(3): 344-349.
- [6] Anthony L M, Ronald J B, Stewart W A, et al. Effects of various feed supplements containing fish protein hydrolysate or fish processing by-products on the innate immune functions of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. Aquaculture, 2003, 220: 643-653.
- [7] Misra C K, Das B K, Mukherjee S C, et al. Effect of long term administration of dietary  $\beta$ -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings [J]. Aquaculture, 2006, 255: 82-94.
- [8] 杨文鸽,黄晓春,李花霞,等. 葡聚糖与其羧甲基衍生物对养殖大黄鱼非特异免疫作用 [J]. 浙江农业学报, 2006, 18(1): 16-20.
- [9] 王正丽,麦康森,刘付志国,等. 饲料中维生素 C和  $\beta$ 葡聚糖对牙鲆免疫力和抗病力的影响 [J]. 高技术通讯, 2006, 16(7): 757-762.
- [10] 丁晓岚,闫素梅,塔娜. 壳聚糖对动物脂肪代谢及生长性能的影响 [J]. 饲料工业, 2005, 26(12): 8-9.
- [11] Anderson D P, Siwicki A K. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion [J]. The Progressive Fish Culturist, 1994, 56: 258-261.
- [12] 常青,梁萌青,王家林,等. 壳聚糖对花鲈生长和非特异性免疫力的影响 [J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5): 17-22.
- [13] 宋超,牛翠娟,陈欣然. 壳聚糖对急性氨氮胁迫下中华鳖稚鳖非特异性免疫反应的影响 [J]. 动物学报, 2007, 53(2): 270-277.
- [14] 王树芹,周洪琪. 壳聚糖对异育银鲫溶菌酶和白细胞吞噬活性的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2004, 13(2): 121-125.
- [15] 刘兴国,宋理平,周洪琪. 低分子壳聚糖对罗非鱼肝组织抗氧化能力和肝脂含量影响的研究 [J]. 海洋渔业, 2004, 26(4): 291-294.
- [16] 华雪铭,周洪琪,张冬青,等. 壳聚糖和益生菌对暗纹东方抗病力和免疫功能的影响 [J]. 水产学报, 2007, 31(4): 478-486.
- [17] 于东祥,柳学周,雷霖霖. 甲壳胺制剂对真鲷幼鱼的促生长作用研究 [J]. 海洋水产研究, 2000, 21(3): 62-64.
- [18] Shiau S Yu Y. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in *Tilapia* and *Lateolabrax japonicus* [J]. Aquaculture, 1999, 179: 439-446.
- [19] Kono M, Matsui T, Shimizu C. Effect of chitin, chitosan and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish

- [J]. *Bull Japan Soc Scient Fish*, 1987, 53 (1): 125—129.
- [20] 陈云波,周洪琪,华雪铭,等. 饲料中添加壳聚糖对异育银鲫的生长及抗病力的影响 [J]. *皖西学院学报*, 2005, 21 (5): 31—33.
- [21] 向泉,向勇,冯君,等. 甲壳素和壳聚糖在水产动养殖中的应用 [J]. *饲料研究*, 2003, (8): 22—23.
- [22] 刘兴国,周洪琪,宋理平. 低分子壳聚糖对罗非鱼的肝脂代谢和饲料利用效率的影响研究 [J]. *海洋水产研究*, 2004, 25(5): 291—195.
- [23] 胡梦虹,王有基. 聚糖对罗非鱼营养生理学作用的研究 [J]. *广东饲料*, 2007, 16(2): 28—29.
- [24] 刘兴国,宋理平. 壳聚糖作为罗非鱼饲料添加剂的效果研究 [J]. *渔业现代化*, 2004, (1): 40—41.
- [25] 向泉,向勇. 甲壳素和壳聚糖对罗非鱼生长的影响 [J]. *饲料研究*, 2002, 12, 25—27.
- [26] 黄洪敏,邵健忠,项黎新. 鱼类免疫增强剂的研究现状与进展 [J]. *水产学报*, 2005, 29(4): 552—554.
- [27] 宋献周,沈月新. 不同平均分子量的  $\alpha$  壳聚糖的抑菌作用 [J]. *上海水产大学学报*, 2000, 9(2): 138—141.
- [28] 马贵华,刘六英,钟青. 中华绒螯蟹超氧化物歧化酶的初步研究 [J]. *水利渔业*, 2006, 26(4): 24—26.
- [29] 刘青,赵恒寿. 鱼类常用免疫指标及其检测技术 [J]. *渔业现代化*, 2007, 34(3): 28—30.
- [30] 闫大伟,华雪铭,周洪琪. 壳聚糖对草鱼生长、抗病性能的影响 [J]. *饲料工业*, 2007, 28(12): 17—19.
- [31] 徐海华,李兆文,汪成竹,等. 免疫多糖对受免黄鳝免疫保护力的增强作用 [J]. *华中农业大学学报*, 2007, 26(1): 80—84.
- [32] 罗璋,姚鹃,陈昌福,等. 酵母免疫多糖对受免斑点叉尾鲷免疫应答的增强作用 [J]. *淡水渔业*, 2007, 37(3): 22—25, 33.
- [33] 迟淑艳,周歧存,周健斌,等.  $\beta$  葡聚糖对奥尼罗非鱼生长性能及抗嗜水气单胞菌感染的影响 [J]. *中国水产科学*, 2006, 13(5): 767—774.