

酵母核苷酸对凡纳滨对虾生长、 免疫以及抗应激影响的研究

王广军 朱旺明 谭永刚 康莹

摘要 每吨饲料中分别添加 0(对照)、172、344 和 516g 酵母核苷酸制成实用饲料,来饲养凡纳滨对虾 60d,并通过测定对虾的增重倍数、成活率等生长指标,超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)、过氧化物酶(POD)和溶菌酶(LZM)活性等免疫指标以及对低温、低氧的耐受能力,来研究饲料中酵母核苷酸添加量对其生长、免疫和抗应激的影响。结果表明,饲料中添加酵母核苷酸可以显著提高凡纳滨对虾的增重倍数和降低饲料系数。饲料中添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾肌肉中 ACP 无显著影响,但显著增加了 LZM、SOD 和 POD 活性。与对照组相比,添加酵母核苷酸可以提高凡纳滨对虾耐低氧和低温的能力,344g/t 组和 516g/t 组比对照组出现死亡一半时的温度下降了 1℃。因此,酵母核苷酸具有显著促生长和提高机体抗应激以及增强机体免疫能力的作用,建议在实际生产中的添加量为 344g/t 较为合适。

关键词 凡纳滨对虾;酵母核苷酸;生长;非特异性免疫;应激

中图分类号 S945.49

凡纳滨对虾引种繁育获得成功以后,尤其是高密度养殖和淡水养殖成功以后,养殖规模迅速扩大,养殖总产量逐年增加^[1,2]。但在其养殖业蓬勃发展的同时,也暴露出一系列的问题,如生长速度减慢、病害问题日趋严重,所以开发新的免疫促生长剂成为凡纳滨对虾营养与饲料研究的重点^[3-6]。

核苷酸是生物体内遗传物质的基本单位,也是蛋白质合成必需的中间体的基本单位。核苷酸促进畜禽的生长和免疫功能已经被证实^[7-9],但核苷酸在水产上应用的报道还很少。苗玉涛等^[10]在配合饲料中添加 300g/t 核苷酸时能促进苏氏芒鲶的生长并提高了成活率;Burrells 等^[11]发现,在饲料中添加 300g/t 核苷酸时,促进了大西洋鲱的生长并显著降低死亡率。本试验的目的在于探讨酵母核苷酸对凡纳滨对虾生长、免疫以及抗应激的影响,为酵母核苷酸在凡纳滨对虾配合饲料中的应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 酵母核苷酸

王广军,中国水产科学研究院珠江水产研究所,助理研究员,510380,广州市荔湾区芳村西朗兴渔路 1 号。

朱旺明、谭永刚、康莹,广州市信豚水产科技有限公司。

收稿日期:2006-02-07

酵母核苷酸由广州市信豚水产技术有限公司提供,商品名为“信豚 1 号”,酵母核苷酸有效含量为 8.6%。

1.1.2 试验用虾

实验所需要的凡纳滨对虾取自深圳农科中心水产基地,暂养 1 周后挑选体质健壮、外观无明显症状、规格整齐的个体用于试验。

1.1.3 试验地点

试验在中国水产科学研究院珠江水产研究所深圳(海水)试验基地完成。

1.1.4 试验条件

试验在 2m×2m×0.8m 的小网箱中进行,试验期间水深 0.5m。网箱置于室内的水泥池中,网箱四周固定于池壁上。

试验用水为海边直接抽提的天然海水,经过沙滤,盐度为 32~34,试验期间为自然水温,温度为 21~27℃。试验整个过程连续充气,溶解氧保持在 6.0mg/l 以上。

1.2 试验方法

试验以酵母核苷酸添加水平为试验因子,采用单因素梯度法。添加量设 3 个水平,分别为 1 组(172g/t)、2 组(344g/t)和 3 组(516g/t),一个对照组(酵母核苷酸添加量为 0),每组设 4 个平行。

1.3 日常管理

试验期间投饲率为其体重的6%~8%,具体根据虾的摄食情况,每天进行调整。每天分3次投喂,分别在8:00、12:00和16:00。每天收集残饵和污物一次,每周换水一次,换水量为30%~50%。

1.4 试验时间

试验时间从2005年10月1日到11月30日,共60d。试验结束时每个平行逐尾记录虾的尾数,计算成活率,并称量全部体重。

增重倍数=(末重-初重)/初重;

饵料系数=摄食饲料的重量/虾体重增加量;

成活率=收获尾数/放养尾数×100%。

1.5 抗应激试验

1.5.1 耐低氧能力试验

试验结束后,每个网箱随机抽取30尾,置于密闭的有一定水体的塑料袋中,测定并记录每组虾死亡一半时的时间。

1.5.2 耐低温试验

试验结束后,每个网箱随机抽取30尾置于有一定水体的玻璃缸中,用冰块缓慢降低温度,记录受试虾死亡一半时的温度。

1.6 非特异性免疫指标的测定

试验结束后,每个网箱取3尾虾的部分肌肉,称重后于冰浴中匀浆,加入无菌生理盐水,使浓度达到0.1g/ml,于4℃条件下,以4000r/min离心10min后,除去沉淀即为凡纳滨对虾肌肉组织提取液。

选用超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)、过氧化物酶(POD)和溶菌酶(LZM)作为非特异性免疫指标。SOD、ACP、LZM采用试剂盒测定(试剂盒购自南京建成生物研究所,具体测定步骤按说明书进行);过氧化物酶活性的测定参照Worthington法测定,POD的活性(U/ml)=(E510×3×10)/(6.58×0.1)。

式中:E510为波长510nm处每分钟吸光度的降低值;3为反应体积;10为稀释倍数;6.58为波长510nm处1μmol底物的吸光度;0.1为检测体系中过氧化物酶活力。

1.7 数据处理

所有数据均采用SPSS统计软件进行分析处理,利用方差分析(ANOVA)来检验各组之间的显著性。

2 试验结果

2.1 添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾生长的影响(见表1)

从表1可以看出,饲料中添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾的生长有显著影响。试验组的增重倍数均比对

照组有所提高,特别是3组比对照组提高了39.4%。成活率除1组外,各试验组和对照组没有显著差异。证明在饲料中添加酵母核苷酸可以提高凡纳滨对虾的生长速度。

表1 试验结果

组别	饲料系数	成活率(%)	增重倍数
对照组	1.27±0.03 ^a	87.38±1.32 ^a	9.21±1.10 ^a
1组	1.25±0.10 ^a	82.13±1.93 ^b	10.36±2.07 ^{ab}
2组	1.23±0.09 ^a	87.00±4.53 ^a	11.72±2.52 ^b
3组	1.19±0.07 ^b	88.63±6.06 ^a	12.84±3.12 ^b

注:同列中相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著。

2.2 添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾饲料系数的影响

饲料系数是评价饲料质量的一项重要指标。从表1可以看出,对照组的饲料系数为1.27,而试验组均比对照组有所下降,3组比对照组下降了6.3%。统计分析,1组和2组与对照组没有显著差异,但与3组存在着显著差异。证明在饲料中添加516g/t的酵母核苷酸可以提高饲料利用效率,降低饲料系数。

2.3 添加酵母核苷酸对提高凡纳滨对虾耐低氧的影响(见表2)

表2 耐低氧试验结果

项目	对照	1组	2组	3组
死亡一半所需要的时间(min)	195±102	255±102	360±161	330±164
比对照组延长时间(min)		60	165	135

从表2可以看出,在一定的水体中(1L),对照组死亡达到一半时的时间最短,2组和3组差别不是很大。

2.4 添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾耐低温的影响

随着用冰块缓慢降低温度,凡纳滨对虾逐渐开始出现死亡。由于在饲料中添加了不同含量的酵母核苷酸,出现死亡一半时的最低温度也不尽相同。2组和3组比对照组出现死亡一半时的温度下降了1℃,结果见表3。

表3 耐低温试验结果

项目	对照	1组	2组	3组
死亡一半时的温度(℃)	11.58±0.17	10.76±0.27	10.53±0.29	10.50±0.21
比对照组降低的温度(℃)		0.82	1.05	1.08

2.5 添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾非特异性免疫功能的影响

2.5.1 添加酵母核苷酸对肌肉中酸性磷酸酶(ACP)

活性的影响

在饲料中添加酵母核苷酸,凡纳滨对虾肌肉组织提取液中 ACP 活性的测定结果如表 4 所示。肌肉中的 ACP 活性虽然有所上升,但与对照组虾相比,没有明显差异。

表 4 添加酵母核苷酸对凡纳滨对虾肌肉中 ACP、LZM、SOD、POD 的影响

项目	0 组	1 组	2 组	3 组
ACP (金氏单位)	2.52±0.23	2.65±0.56	2.71±0.47	2.68±0.31
LZM(U/ml)	1.36±0.25 ^a	2.47±0.14 ^b	2.63±0.24 ^b	2.39±0.19 ^b
SOD (Nu/mg)	62.05±5.82 ^a	70.36±9.30 ^b	77.53±7.56 ^c	67.1±8.51 ^b
POD(U/ml)	4.31±0.34 ^a	4.52±0.54 ^{ab}	4.89±0.33 ^b	5.66±0.58 ^c

注:1.Nu/mg 是通过亚硝酸盐单位(Nu/ml)换算而来的。

2.同行中相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著。

2.5.2 添加酵母核苷酸对肌肉中 LZM 活性的影响

在饲料中添加酵母核苷酸,凡纳滨对虾肌肉组织提取液中 LZM 的测定结果见表 4。试验组虾肌肉中的 LZM 较对照组有所上升,统计结果表明,试验组和对照组之间存在显著差异。

2.5.3 添加酵母核苷酸对肌肉中 SOD 活性的影响

在饲料中添加酵母核苷酸,凡纳滨对虾肌肉组织提取液中 SOD 活性的测定结果见表 4。试验组虾肌肉中的 SOD 活性较对照组有所上升。统计结果表明,试验组和对照组之间存在显著差异,并且 2 组和 1 组、3 组之间也存在显著差异。

2.5.4 添加酵母核苷酸对肌肉中 POD 活虾影响

在饲料中添加酵母核苷酸,凡纳滨对虾肌肉组织提取液中 POD 活性的测定结果如表 4 所示。试验组肌肉中的 POD 活性较对照组有所上升。统计结果表明,除 1 组和对照组之间不存在显著差异外,2 组和 3 组之间均与对照组之间存在显著差异。

3 讨论

3.1 关于免疫促生长剂的给予方法

免疫促生长剂因具有有效地改善机体免疫能力、促进生长以及良好的抗应激能力,近十几年来在水产养殖中有着广泛的应用。实际使用时,有不少外源因素和内在因素影响免疫增强剂的应用效果。其中一个最重要的因素就是作用方式的选择,即使是同一种物质,不同的使用方法(如注射、浸泡和口服等)也会产生不同的效果。在不同的使用方法中,注射法被视为是一种最为有效的方法,包括腹腔注射和静脉注射,而腹腔注射相对好操作,易于被采纳;浸泡法一般

用于幼体或较小个体,其使用在一定程度上受到个体大小的限制;在实际生产操作中,口服法因可操作性强、不受水产动物个体大小限制以及不给机体带来应激反应等优点,被视为是最为合适、最易被接受的一种操作方式^[12,13]。基于这一点,本次试验将酵母核苷酸添加到饲料中,通过口服方式验证其作用效果。

3.2 关于添加免疫促生长剂对生长的评价

目前,对生长的评定主要还是通过在室内或室外养殖一段时间,然后测量体长、体重以及成活率作为指标。规格大、产量高,说明添加剂的效果好,这是最直接的方法^[9]。

饲料系数是用来衡量配合饲料的质量好坏以及鱼、虾对配合饲料的利用程度。用饲料系数评定饲料质量的好坏较为准确可靠,因为它综合了有关配合饲料质量的各项指标以及鱼虾本身对配合饲料的利用程度^[14]。

3.3 关于非特异性免疫评价

利用给予各种免疫激活剂的方法,通过提高水产养殖动物的免疫功能和免疫调节能力而达到预防传染性疾病的目的,已经为国内、外众多研究者所关注^[15-17]。在评价免疫激活剂对水产动物免疫系统的激活效果时,常用的指标是能否增强吞噬细胞活性、对淋巴细胞的促分裂作用、激活补体和溶菌酶的效果以及促进抗体生成的作用等^[8]。在本次试验中,采用了 ACP、SOD、LZM、POD 等活性变化作为评价指标。SOD 是一种重要的抗氧化酶,可清除超氧阴离子自由基,使自由基的产生与消除处于一个动态平衡状态,从而减少超氧阴离子自由基对生物体自身的损伤。ACP 是巨噬细胞内溶酶体的标志酶,是溶酶体的重要组成部分,已经有研究结果证明,在甲壳动物血细胞进行吞噬和包围化的免疫反应中,会伴随有 ACP 的释放。POD 广泛存在于动物、植物及微生物体内,是生物体内重要的酶类之一,参与多种生理代谢反应。溶菌酶又称细胞壁质酶,广泛存在于自然界动物、植物和微生物的组织、体液以及分泌物中。溶菌酶在引发和维持机体防御免疫的过程中起着重要的作用,它在机体免疫过程中除了溶解细菌细胞壁外,还可诱导和调节其它免疫因子的合成与分泌。

本次结果证实了在饲料中添加酵母核苷酸可以显著提高凡纳滨对虾肌肉组织中的 LZM、SOD 和 POD 活性,提高机体免疫水平;ACP 的活性则没有显著差异,可能原因是 ACP 在不同组织中含量分布有关。

3.4 酵母核苷酸的适宜添加量

甲壳素在中华鳖养殖中的应用

魏文志 付立霞 黄薛俊 丁建梅

摘要 在基础饲料中分别添加0(对照组)、0.3%、0.6%、1.2%的甲壳素,用其饲养中华鳖31d后,测定中华鳖增重率、成活率及血清中溶菌酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、超氧化物歧化酶的活性。结果表明,添加0.6%的甲壳素能显著促进中华鳖的生长和非特异性的免疫能力。

关键词 甲壳素;中华鳖;溶菌酶;酸性磷酸酶;碱性磷酸酶;超氧化物歧化酶

中图分类号 S966.5

甲壳素是虾、蟹等甲壳动物,蚕、蝇等昆虫外骨骼的主要成分,是地球上数量最大的含氮有机化合物,也是自然界中贮量仅次于纤维素的第二大天然有机物质,每年自然界合成的甲壳素近100亿吨,目前甲壳素已经广泛应用于食品、环保、纺织、医药卫生、农业等领域。在水产业中的应用,主要是作为饲料添加剂和免疫增强剂。胡品虎^[1]报道,稀土甲壳素有促进河

蟹生长,显著提高河蟹产量和河蟹规格,并且具有防治河蟹蜕壳障碍症,减少疾病,降低死亡率的效果。向泉^[2]等报道,甲壳素能促进罗非鱼的生长并降低饲料系数;Kono M^[3]等报道了甲壳素具有促进真鲷、日本鳊鲷及黄尾笛鲷增重率的效果。但一直未曾见到甲壳素在中华鳖养殖中的相关研究和应用的报道。本文的目的在于探讨甲壳素在中华鳖中应用的可行性。

1 材料和方法

1.1 材料

实验用幼鳖购自扬州市邗江水产公司,选择体重为(8.99±1.024)g的健康幼鳖144只,分成12箱,每3箱为一试验组,饲喂基础饲料训养1周后开始实验。

魏文志,扬州大学动物科学与技术学院,讲师,225009,江苏扬州。

付立霞、黄薛俊、丁建梅,单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2006-01-16

从以上结果可以看出,在饲料中添加酵母核苷酸的对虾,无论是增重倍数、饲料系数,还是抗应激以及提高非特异性免疫方面均显著优于对照组。酵母核苷酸具有显著促生长、提高机体抗应激以及增强机体免疫能力的作用。结合生长和免疫两方面考虑,建议适宜的添加量为344g/t。

参考文献

- 1 王吉桥.南美白对虾生物学研究与养殖[M].北京:海洋出版社,2003
- 2 王广军.南美白对虾的生物学特性及繁殖技术[J].水产科技情报,2000,29(3):128~130
- 3 宋理平,张宇峰,闫大伟.中草药作为免疫增强剂在水产动物上的应用[J].饲料工业,2005,26(6):10~12
- 4 谭北平.对虾和贝类非特异性免疫增强剂的研制与应用[J].饲料工业,2005,26(10):1~6
- 5 凌统,程树东,李英文.免疫增强剂—— β -葡聚糖在水产饲料中的应用[J].饲料工业,2005,26(12):36~38
- 6 宋理平,宋晓亮,董文,等.虾类免疫系统及其免疫增强剂的研究[J].饲料工业,2005,26(22):48~55
- 7 王兰芳,乐国伟,施用晖.日粮核苷酸对早期断奶小鼠生长发育的影响[J].无锡轻工大学学报,2003,22(4):18~22
- 8 冯尚连.核苷酸和低聚糖对仔猪生产性能的影响[J].中国饲料,2000(17):14~16
- 9 施用晖,乐国伟,刘建文,等.外源核苷酸对肉鸡生产性能的影响[J].无锡轻工大学学报,2000,19(6):597~600
- 10 苗玉涛,王安利.核苷酸在苏氏芒鲶配合饲料中的应用效果[J].广东饲料,2005,14(2):36~37
- 11 Burrells C, Williams P D, Southgate P J, et al. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds-2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. Aquaculture, 2001(199):171~184
- 12 王军.免疫添加剂对大黄与血液白细胞数量及吞噬功能的影响.海洋科学,2001,25(9):17~19
- 13 Kakuta I, Kurokura H. Defensive effect of orally administered bovine lactoferrin against *Cryptocaryon* irritants infection of red sea bream[J]. Fish Pathology, 1995(30):289~290
- 14 李爱杰.水产动物营养与饲料学[M].北京:中国农业出版社,1994.177~184
- 15 Cheng T C. The role of lysosomal hydrolases in molluscan cellular response to immunologic challenge[J]. Comp. Pathobiol., 1978(4):59~71
- 16 Hashimoto T, Ohno N, Yadomae T. Subgrouping immunomodulating β -glucans by monitoring IFN- γ and NO syntheses [J]. Drg Develop. Res., 1997,42(1):35~40
- 17 陈昌福,陈莹,陈超然,等.水产甲壳动物的免疫防御机能及其免疫预防研究进展[J].华中农业大学学报,2003,22(2):197~203
- 18 牟海津,江晓路,刘树青,等.免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J].青岛海洋大学学报,1999,29(3):463~468

(编辑:孙崎峰, sqf0452@126.com)