

# 壳聚糖对草鱼非特异性免疫功能的影响

王红权, 赵玉蓉, 余建波

(湖南农业大学 动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

**摘 要:** 选择平均体重( $70.61 \pm 1.29$ ) g 的健康草鱼 450 尾, 随机分成 5 个处理组, 即基础饲料组、抗生素组、0.25%、0.50%及 1.00%壳聚糖组, 每个处理设 3 个重复, 每个重复放养 30 尾鱼, 进行为期 40 d 的饲养试验。结果表明, 日粮中添加壳聚糖能显著增加草鱼的后肾体指数( $P < 0.05$ ), 对草鱼的头肾体指数和脾体指数影响不显著, 但与基础饲料组相比, 各壳聚糖添加组草鱼的头肾体指数和脾体指数有增加趋势( $P > 0.05$ )。添加 0.50%壳聚糖能显著增加草鱼血清总蛋白含量( $P < 0.05$ ), 对草鱼血清和肝胰脏总 SOD 活力影响不显著( $P > 0.05$ ), 但有增加趋势。即草鱼日粮中添加适量的壳聚糖能提高机体非特异性免疫能力, 其适宜添加剂量为 0.50%。

**关 键 词:** 草鱼; 壳聚糖; 非特异性免疫

中图分类号: S963.73<sup>+</sup>2; S965.112 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)02-0215-03

## Effects of chitosan on nonspecific immunity in grass carps

WANG Hong-quan, ZHAO Yu-rong, YU Jian-bo

(College of Animal Science and Technology, HNAU, Changsha 410128, China)

**Abstract:** To investigate effects of chitosan on nonspecific immunity in grass carps, five test groups were used, which consisted of control group, antibiotics group, 0.25%, 0.50% and 1.00% chitosan addition group. 450 grass carps with average body weight ( $70.61 \pm 1.29$ ) g were randomly allocated to five groups with three replicates and with 30 grass carps in each replicate and were fed for 40 d. The results showed that, post kidney body index increased significantly by adding chitosan, while head kidney body index and spleen body index showed no significant difference ( $P > 0.05$ ) among groups. 0.5% chitosan significantly impacted on serum total protein in grass carp ( $P < 0.05$ ), however serum SOD and hepatopancreas SOD showed no significant difference ( $P > 0.05$ ) among groups. Above results suggested that, chitosan could significantly increase nonspecific immunity in grass carps and the appropriate chitosan addition was 0.50%.

**Key words:** grass carps; chitosan; nonspecific immunity

饲料中禁用抗生素是大势所趋。研究和开发天然、绿色的抗生素促生长剂替代品已成为全球范围内动物营养研究领域的热点之一。壳聚糖是由甲壳素脱乙酰基后生成的一种天然的碱性多糖, 具有可生物降解性、可食用性及生物相容性等特点, 安全无毒, 对环境无公害, 有望成为新型的抗生素促生长剂替代品。有研究<sup>[1-9]</sup>表明, 适宜浓度的壳聚糖能促进动物免疫器官发育, 改善肠道微生态环境, 提高动物的抗病力。然而, 关于壳聚糖作为抗生素替

代品对草鱼的免疫功能影响的研究较少。笔者以草鱼为研究对象, 在其基础日粮中添加不同浓度的壳聚糖, 探讨壳聚糖对草鱼非特异性免疫功能的影响, 现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材 料

##### 1.1.1 供试草鱼

购自湖南湘阴县东湖渔场, 在湖南农业大学水

收稿日期: 2009-09-12

基金项目: 湖南省教育厅项目(06C411); 湖南农业大学青年基金项目(05QN03)

作者简介: 王红权(1971—), 男, 湖南湘阴人, 博士, 副教授, 主要从事水生动物营养方面的研究, zyr36@yahoo.com.cn

产养殖基地的网箱中驯化暂养,以基础饲料为驯化饲料,每天投喂 2 次(8:30、16:30),待鱼适应后开始正式生长试验。

### 1.1.2 供试饲料

根据草鱼的营养需要量标准配制基础饲料,其配方及营养成分见文献[2]。抗生素组、0.25%、0.50%、1.00%壳聚糖添加组的饲料为在基础饲料中分别用 4 mg/kg 黄霉素(市场上购得)、0.25%、0.50%、1.00%壳聚糖替代其相应份量的次粉。所有饲料原料先粉碎至全部通过孔径为 0.425 mm 的筛后,混匀,制成直径为 4.5 mm 的硬颗粒。

## 1.2 方 法

采用单因子试验设计,根据日粮处理因素不同,设 5 个处理,即基础饲料组(I)、抗生素组(II)、0.25%(III)、0.50%(IV)、1.00%(V)壳聚糖添加组。选择平均体重为(70.61±1.29) g 的健康草鱼 450 尾,随机分入 5 个处理组,每个处理 3 个重复,每个重复放养 30 尾鱼。

饲养试验在湖南农业大学水产养殖基地进行。具体操作详见文献[2]。饲养试验结束后,于第 2 天早晨投喂前每箱称重,然后每处理随机取体重相近的 10 尾鱼,尾静脉采血,血样于 4℃ 冰箱静置 2 h,3 000 r/min 离心 30 min,吸取上层血清于 -20℃ 冰箱保存备用。鱼体分别于冰盘上解剖,分离肝胰脏、脾脏、头肾、后肾,并分别称重。

总蛋白含量的检测采用考马斯亮兰直接显色法;超氧化物歧化酶(SOD)活力的检测采用黄嘌呤氧化酶法。均用 721 分光光度计,严格按照试剂(南京建成生物工程研究所产品)说明书操作。

数据采用 SAS(V8)统计软件进行单因子方差分析,经单因子方差分析差异显著的再利用最小显著差数法检验,并进行多重比较。

## 2 结 果

### 2.1 壳聚糖对草鱼免疫器官质量的影响

统计分析结果(表 1)表明,饲料中添加壳聚糖能显著增加草鱼的后肾体指数( $P<0.05$ ),与基础饲料组相比,抗生素组、0.25%、0.50%壳聚糖组草鱼的后肾体指数分别增加 9.5%、23.8%、14.3%。壳聚

糖对草鱼的头肾体指数和脾体指数影响不显著,但与基础饲料组相比,各壳聚糖添加组草鱼的头肾体指数和脾体指数有增加趋势( $P>0.05$ )。

表 1 壳聚糖对免疫器官质量的影响

Table 1 Effects of chitosan on immune organs weight

组别	头肾体指数	脾体指数	后肾体指数
I	0.16±0.04	0.12±0.03	(0.42±0.06)b
II	0.18±0.05	0.11±0.03	(0.45±0.11)ab
III	0.21±0.04	0.15±0.04	(0.46±0.08)ab
IV	0.20±0.05	0.14±0.03	(0.52±0.05)a
V	0.20±0.06	0.13±0.04	(0.48±0.07)ab

头肾体指数=100×头肾质量(g)/体重(g);脾体指数=100×脾脏质量(g)/体重(g);后肾体指数=100×后肾质量(g)/体重(g)。

### 2.5 壳聚糖对草鱼生理生化指标的影响

统计分析结果(表 2)表明,与基础饲料组相比,添加 0.25%、0.50%和 1.00%的壳聚糖,草鱼血清总蛋白分别增加 11.0%、52.7%和 21.5%,血清 SOD 活力分别提高 4.9%、13.4%和 7.9%。添加 0.25%和 0.50%壳聚糖能提高草鱼肝胰脏 SOD 活力,但添加 1.00%壳聚糖降低了草鱼肝胰脏 SOD 活力。与基础饲料组相比,添加 0.25%和 0.50%壳聚糖,草鱼肝胰脏总 SOD 活力分别提高 13.8%和 16.3%,添加 1.00%壳聚糖,草鱼肝胰脏总 SOD 活力降低 4.5%。

表 2 壳聚糖对草鱼生理生化指标的影响

Table 2 Effects of chitosan on physiobiochemic properties of grass carps

组别	血清总蛋白 (g·L <sup>-1</sup> )	血清总 SOD 活力 (U·mL <sup>-1</sup> )	肝胰脏总 SOD 活力 (U·mL <sup>-1</sup> )
I	(39.81±9.17)b	105.92±21.99	(298.96±37.27)ab
II	(49.83±3.11)ab	107.55±2.13	(285.76±25.76)b
III	(44.20±4.91)b	111.18±41.48	(340.21±40.71)a
IV	(60.80±5.54)a	120.11±17.93	(347.54±31.99)a
V	(48.37±9.40)ab	114.24±6.68	(285.61±54.27)b

## 3 结论与讨论

比较免疫学专家认为,非特异性免疫防御机制是鱼类抵抗病原的第一道屏障,除皮肤、粘膜、血脑屏障外,还包括主要反映非特异性免疫能力的 SOD 和溶菌酶等<sup>[10]</sup>。SOD 在防御氧的毒性、抗衰老、抗辐射、抗肿瘤、抗炎症以及提高机体自身免疫功能等方面起着非常重要的作用<sup>[11]</sup>,可作为机体

的免疫指示剂<sup>[12-14]</sup>。血清蛋白含量也是衡量免疫力的一个重要指标。研究表明,血清总蛋白水平与血清溶菌酶水平密切相关,溶菌酶活性升高时,其血清蛋白含量也随之升高,机体对病原菌的抵抗力显著增强<sup>[15-17]</sup>。本试验结果表明,饲料中添加适量的壳聚糖能显著提高草鱼后肾体重,有增加其头肾体重、脾体重的趋势;显著影响草鱼血清总蛋白含量( $P<0.05$ ),对草鱼血清和肝胰脏总 SOD 活力影响不显著( $P>0.05$ ),但有增加趋势。与基础饲料组相比,添加 0.25%、0.50%和 1.00%的壳聚糖,草鱼血清总蛋白分别增加 11.0%、52.7%和 21.5%,草鱼血清总 SOD 活力分别提高 4.9%、13.4%和 7.9%。与基础饲料组相比,添加 0.25%和 0.50%壳聚糖,草鱼肝胰脏总 SOD 活力分别提高 13.8%和 16.3%,添加 1.00%壳聚糖,草鱼肝胰脏总 SOD 活力降低 4.5%。这说明草鱼日粮中添加适量的壳聚糖能促使其免疫器官发育,提高 SOD 活力和血清总蛋白水平,从而增强机体的非特异免疫能力。

#### 参考文献:

- [1] 吕中明,石根勇,陈新霞,等.壳聚糖免疫调节作用的研究[J].实用预防医学,2001,8(5):330-332.
- [2] 王红权,赵玉蓉,余建波,等.壳聚糖对草鱼生长及肌肉营养成分的影响[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2008,34(5):576-578.
- [3] 杨仕柳,戴求仲,蒋桂韬,等.壳聚糖饲用微生物制剂对湘黄鸡免疫指标和肠道菌群的影响[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2006,32(5):529-532.
- [4] 刘树青,江晓路,牟海津,等.免疫多糖对中国对虾溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J].海洋与湖沼,1999,30(3):278-283.
- [5] 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.
- [6] 陈勇,周洪琪,冷向军,等.壳聚糖对异育银鲫生长和消化酶的影响[J].中国水产科学,2006,13(3):440-445.
- [7] Seferian P G, Martinez M L. Immune stimulating activity of two new chitosan containing adjuvant formulations [J]. Vaccine, 2000, 19: 661-668.
- [8] 庄承纪,刘劲科,杨清友,等.壳多糖对罗氏沼虾、斑节对虾苗生长和抗菌防病作用研究[J].湛江海洋大学学报,1998,18(3):30-34.
- [9] 魏涛,唐粉芳,高兆兰,等.壳聚糖降血脂、降血糖及增强免疫作用的研究[J].食品科学,2000,21(4):48-52.
- [10] 张永安,孙宝剑,聂品.鱼类免疫组织和细胞的研究概况[J].水生生物学报,2000,24(6):648-654.
- [11] Fletcher T C. Non-specific defense mechanisms of fish[J]. Developmental and Comparative Immunology, 1982, 10(2): 123-132.
- [12] Campa-Cordova A I. Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2002, 133: 557-565.
- [13] 丁美丽,林林,李光友,等.有机污染对中国对虾体内外环境影响的研究[J].海洋与湖沼,1997,28(1):7-12.
- [14] 王雷,李光友,毛远兴,等.口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究[J].海洋与湖沼,1994,25(5):481-486.
- [15] Hutchinson T H, Manning M J. Seasonal trends in serum lysozyme activity and total protein concentration in dab (*Limanda limanda* L.) sampled from Lyme Bay, UK [J]. Fish and Shellfish Immunology, 1996, 6: 473-482.
- [16] Rungruangsak-Torrissen K, Wergeland H I, Glette J. Disease resistance and immune parameters in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with genetically different trypsin isozymes [J]. Fish and Shellfish Immunology, 1999, 9: 557-568.
- [17] Misra C K, Das B K, Mukherjee S C. Effect of long term administration of dietary  $\beta$ -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings [J]. Aquaculture, 2006, 255: 82-94.

责任编辑:苏爱华

英文编辑:罗文翠