

水产养殖

β-葡聚糖对河蟹免疫功能的影响

江苏省溧阳市水产技术推广站
苏州大学水产研究所

余水法
蔡春芳 宋学宏 叶元土
崔益军 强晓亮

[摘要] 用分别含 0% (对照)、0.1%、0.5%、1%、2% β-葡聚糖的 5 种饲料饲养平均重量 5.5 g 左右的河蟹 8 周, 研究 β-葡聚糖对河蟹的免疫功能的影响。每箱放养 25 只河蟹, 每组 3 个重复。结果表明, 试验各组河蟹的增重率、存活率差异均不显著。河蟹摄食试验饲料 1 周后, 0.1% 组和 0.5% 组的酚氧化酶 (PO) 活性显著升高 ($P < 0.05$), 但 β-葡聚糖含量提高至 1% 以上时 PO 活性有下降的趋势; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性表现为 0.5% 组显著高于其他各组 ($P < 0.05$), 1% 组较高但与对照组差异不显著; 总抗氧化力 (T-AOC) 以 1% 和 2% 组显著高于其他各组。河蟹摄食试验饲料 8 周后, PO、SOD 和 T-AOC 均表现为 0.1% 组最高, 0.5% 组其次, PO 和 SOD 各组差异不显著, 而 T-AOC 表现为 0.1% 组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

[关键词] 河蟹; β-葡聚糖; 免疫

[中图分类号] S963.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-3314(2006)05-0020-03

[Abstract] Five diets contained 0% (control group), 0.1%, 0.5%, 1%, and 2% β-glucan respectively were fed triplicate groups of 25 Chinese mitten crab (*Eriocheir Sinensis*) per group for 8 weeks. The initial weight of crab was 5.5 g and the immune response of crab fed with test diets was determined at the end of the trial. The weight gain rate and survival rate had no significant difference among groups. After 1 week feeding, the phenoloxidase (PO) of 0.1% group and 0.5% group was increased markedly ($P < 0.05$). However decrease tendency was appearing, when the β-glucan content was above 1%; The superoxide dismutase (SOD) activity of 0.5% group was higher ($P < 0.05$) than that of the other groups, however, 1% group had no significant difference ($P < 0.05$) with control group; Total antioxidant capacity (T-AOC) of 1% and 2% groups was higher ($P < 0.05$) than that of the other group. After feeding for 8 weeks, the PO, SOD and T-AOC of 0.1% group were highest, followed by that of 0.5% group. There were no differences ($P > 0.05$) for PO and SOD among groups, while the T-AOC of 0.1% group was higher ($P < 0.05$) than that of the control group.

[Key words] Chinese mitten crab (*Eriocheir Sinensis*); β-glucan; immunity

近年来, β-葡聚糖被开发用于水产养殖。Sung 等 (1994) 报道斑节对虾用 β-葡聚糖悬浮液浸泡 18 d 后对创伤弧菌显示出抗感染力, 陈政强等 (2002) 在饲料中添加 β-葡聚糖制剂, 发现南美白对虾的生长速度、耐低氧能力和抗病力显著提高。陈云波等 (2002) 也证实饲料中添加 0.4% 的 β-葡聚糖能促进南美白对虾的食欲、抗病力及生长, 提高养殖产量。本试验探讨了 β-葡聚糖对河蟹免疫力的影响, 为研制河蟹免疫增强剂提供试验基础。

1 材料与方法

1.1 试验河蟹 河蟹由江苏省通州市农业局水

产技术推广站提供, 平均重量 5.5 g 左右。河蟹采购后, 先用 5% 的食盐水浸泡 20 min 消毒, 然后放入暂养池驯化 3 周。暂养期间, 水温控制在 25℃, 每天投喂饲料 2 次, 定时 (上午 8:00, 晚上 18:30)、定点 (暂养池内放入一只瓦片作为食台) 投喂。每天上午 8:00 排除残余饵料及污物。全日充气增氧, 饲料为不含 β-葡聚糖的对照饲料。驯养结束后, 挑选规格整齐、体格健壮的河蟹, 称重, 分养于 15 只 100 cm×50 cm×60 cm 的 PVC 水族箱中, 每箱 25 只河蟹。试验于 2004 年 1 月至 2004 年 4 月间进行。

1.2 试验日粮 基础日粮组成及营养水平见

表 1。

试验日粮为分别向基础日粮中添加 0%、0.1%、0.5%、1%、2% 的 β -葡聚糖,制成 5 种颗粒饲料。经检测,颗粒饲料水中稳定性在 2 h 以上。每种饲料投喂 3 箱河蟹。

表 1 基础日粮组成及营养水平 %

含量		含量	
日粮组成			
鱼粉	14	米糠	7
豆粕	23	鱼油+豆油	2
肉骨粉	2	磷酸氢钙	1.5
麸皮	5	棉籽粕	10
虾肉粉	7	菜籽粕	14
次粉	10	预混料	1.5
α -淀粉	3		
营养水平			
水分	11.5	粗蛋白质	36.2
粗脂肪	4.5	粗灰分	9.6
钙	2.2	磷	1.6

注:预混料含各种维生素、矿物质。

1.3 日常管理 试验在同一半开放式循环养殖系统中进行,养殖用水为经过曝气的自来水,水温恒定在 25℃左右。每种饲料喂 3 箱河蟹。在养殖期间,每天定时定点投喂饵料,投饵量视摄食情况而定,以略有剩余为准。每天上午 8:00 收集残饵并排污。循环系统每天换水 10% 以保证水质。死亡个体及时捞出称重。

1.4 分析测定 饲养 8 周。在饲养 1 周后从每箱取 10 只蟹,将河蟹螯足第二对关节处折断取血淋巴,置于 Eppendorf 管中 4℃ 过夜,经冷冻高速离心机 4000 r/min 离心后吸出血清,测血清的酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)、血清总抗氧化能力(T-AOC)的活性。饲养 8 周后将所有河蟹取出,分别称重,同法测血清 PO、SOD、T-AOC 的活性。

1.4.1 PO 活力的测定。将 3 mL 0.1 mol/L pH 6.0 的磷酸缓冲液与 100 μ L 的 0.01 mol/L 的 L-DOPA 及 100 μ L 待测血清于室温下混匀,每次间隔 1 min 读取在 490 nm 波长下的光密度值。以 OD_{490nm} 对反应时间作图,以实验条件下每分钟 OD_{490nm} 增加 0.001 作为一个酶活单位(U)。

1.4.2 SOD 活力的测定。于 4.5 mL 50 mmol/L pH 8.3 磷酸缓冲液中加入 10 μ L 50 mmol/L 邻苯三酚,迅速摇匀,倒入光径 1 cm 的比色杯中,在

325 nm 波长下每隔 30 s 测 A 值 1 次,要求自氧化速率每分钟 OD 值变化约 0.07。酶活力测定方法与上相同,在加入邻苯三酚前,加入待测 SOD 样,测得数据按下式计算酶活力。酶活单位定义:每毫升反应液中,每分钟抑制邻苯三酚自氧化速率达 50% 的酶量为 1 个酶活单位(U/mL):

酶活力=(自氧化速率-A₃₂₅/min)/自氧化速率/50%×100%×反应液体积×样液稀释倍数/样液体积。

1.4.3 T-AOC 的测定。用南京建成生物工程公司生产的试剂盒测定,方法参照说明书。

1.5 计算及统计 成活率以第一周取样结束后的河蟹数量作为放养量来计算。

所有数据用 SPSS11.5 统计软件方差分析后多重比较,P < 0.05 为差异显著。

2 结果

饲养 8 周后称重,结果见表 2、表 3。

从表 2 可见,饲料中添加 β -葡聚糖对河蟹增重率和存活率的影响不显著。

表 2 饲料中添加 β -葡聚糖对河蟹增重率和存活率的影响

组别	初重(g)	末重(g)	增重率(%)	存活率(%)
对照组	5.80±0.32	8.83±2.01	52.1±9.2	95.4±4.0
0.1%组	5.33±0.24	8.13±1.91	52.0±17.7	90.8±8.0
0.5%组	5.84±0.59	8.51±1.75	45.0±15.3	95.6±3.8
1%组	5.98±0.59	8.72±1.79	46.3±12.7	95.1±4.3
2%组	5.30±0.33	8.10±1.51	53.2±10.6	93.0±7.1

注:同列肩标字母相同者表示差异不显著(P > 0.05),同列肩标字母不同者表示差异显著(P < 0.05);下同。

表 3 饲料中添加 β -葡聚糖对河蟹血清 PO、SOD 和 T-AOC 的影响 U/mL

组别	饲养 1 周			饲养 8 周		
	PO	SOD	T-AOC	PO	SOD	T-AOC
对照组	220.7±22.5 ^a	145.2±13.6 ^a	22.57±2.7 ^b	257.5±13.9	151.9±11.4	20.93±1.7 ^b
0.1%组	312.5±33.8 ^a	130.7±16.0 ^a	23.90±3.4 ^b	280.0±16.8	164.5±8.9	25.60±2.9 ^a
0.5%组	295.0±17.0 ^a	176.7±10.3 ^a	23.25±2.2 ^b	275.8±22.5	155.7±10.7	23.51±3.1 ^a
1%组	252.5±13.7 ^b	152.5±9.1 ^b	28.35±3.5 ^a	255.3±29.1	148.1±9.2	20.24±2.6 ^b
2%组	245.3±33.4 ^b	141.3±2.7 ^b	27.17±1.8 ^b	267.5±23.4	144.3±13.6	22.87±1.8 ^b

表 3 表明,河蟹服用试验饲料 1 周后各组 PO、SOD、T-AOC 出现显著差异,饲料中含 0.1% 和 0.5% β -葡聚糖 PO 的活性显著提高(P < 0.05),当 β -葡聚糖含量增加到 1% 和 2% 时,河蟹的 PO 活性仍比对照组高,但差异不显著(P >

0.05)。SOD活性表现为0.5%组显著高于其他各组,1%组其次,但与对照组差异不显著($P > 0.05$)。T-AOC以1%和2%组较高,显著高于($P < 0.05$)其他各组。

河蟹摄食含 β -葡聚糖的饲料8周后,PO、SOD和T-AOC均表现为0.1%组最高,0.5%组其次。PO、SOD各组差异不显著,而总抗氧化活力各组差异显著,表现为0.1%组显著高于对照组。

3 讨论

谭北平等(2004)报道,饲料中添加0.2%以上的 β -葡聚糖能促进凡纳对虾的生长,并认为 β -葡聚糖的促生长机制可能是由于提高了抗应激能力。但本试验结果显示,饲料中添加不同浓度的 β -葡聚糖,饲养河蟹8周,其间每只河蟹脱壳一次以上,但各组间体重未出现显著差异。在试验的分组、称重及对新环境的适应过程中必然会引起一定强度的应激,在经过8周的饲养后这种应激反应会比试验之初弱得多,但8周内各组河蟹的生长速度并无显著差异,也就是说,如果 β -葡聚糖是通过提高抗应激能力从而促进生长,那么它对于河蟹的作用并不显著。

河蟹体内的酚氧化酶系统被激活后,酚氧化酶原被氧化成酚氧化酶,后者是一类氧化还原酶类,可以进一步将酚氧化成醌,并最终合成黑色素,黑色素直接参与对虾一系列防御反应(Sritunyalucksana等,2000)。许多研究表明, β -葡聚糖可以提高对虾酚氧化酶活性(Suphantharika等,2003;Chang等,2000)。谭北平等(2004)报道, β -葡聚糖提高凡纳对虾血细胞酚氧化酶活性1倍以上。本试验结果可见,饲料中添加 β -葡聚糖也能促进河蟹PO活性的提高,但可能这种免疫提升作用有一定时效性,在服用后1周内作用显著,在服用8周后差异不显著。

SOD是反映抗氧化能力的一个参数,T-AOC则反映了包括SOD在内的机体总体抗氧化水平。从试验结果可见,饲养1周时0.5%组SOD显著高于其他各组,1%和2%组T-AOC显著高于其他各组,提示短期内饲料中添加0.5%以上的 β -葡聚糖对提升河蟹的抗氧化能力是有益的。当用试验饲料饲养河蟹8周时,0.1%组T-AOC显著高于对照组,SOD各组差异不显著,但也是0.1%组活性最高,这是否意味着长期服用低剂量 β -葡

聚糖有利于抗氧化力提升尚有待进一步确认。

(基金项目:苏州市农业科技计划项目,项目编号:SNZ-0223)

参考文献

[1] 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和存活及饲料系数的影响[J].淡水渔业,2002,32(5):55~56.
 [2] 陈政强,冯建军,战文斌,等.虾类养殖研究[M].北京:海洋出版社,2002.
 [3] 谭北平,周歧存,郑石轩,等. β -1,3/1,6葡聚糖制剂对凡纳对虾生长及免疫力的影响[J].高技术通讯,2004,5:73~77.
 [4] Chang C F,Chen H Y,Su M S,*et al.* Immunomodulation by dietary β -1,3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*,2000,10:505~514.
 [5] Sritunyalucksana, Kallaya, Söderhäll, *et al.* The proPO and clotting system in crustaceans [J]. *Aquaculture*,2000,191:53~69.
 [6] Sung H H,Kou G H,Song Y L. Vibriosis resistances induced by glucan treatment in tiger shrimps, *Penaeus monodon* [J]. *Fish Path*,1994,29(1):11~17.
 [7] Suphantharika M,Khunrae P,Thanardkit P, *et al.* Preparation of spent brewer's yeast β -glucans with a potential application as an immunostimulant for black tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. *Bioresource Technology*,2003,88:55~60.

[通讯地址:江苏省苏州市工业园区高教区横一路,邮编:215123]



- 《中国饲料工业协会20年》纪念册100元。
- 《全国饲料工业统计资料》(2004版)160元。
- 《中国饲料工业年鉴》(2004版)110元。
- 《饲料安全知识100问》10元。
- 2003年《中国饲料》杂志合订本(上、下册)120元。
- 2004年《中国饲料》杂志合订本(上、下册)120元。
- 2005年《中国饲料》杂志合订本(上、下册)120元。

以上书刊均含邮费,需要者请按以下地址汇款。

地址:北京安外大街东后巷28号2号楼

中国饲料杂志社

邮编:100710 联系人:李建军

电话:(010)64216661-8111

传真:(010)64246635