

文章编号: 1674-5566(2010)04-0463-06

壳聚糖对受免尼罗罗非鱼生长和免疫功能的影响

曹振杰¹, 童春², 张婧一¹, 杨玲¹, 秦玉广¹

(1 山东省淡水水产研究所, 山东 济南 250117;

2 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 以初始体重 (99.98 ± 2.79) g 的尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 为研究对象, 探讨饲料中添加壳聚糖对其生长和免疫功能的影响。在饲料中添加剂量为 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0% 的壳聚糖, 连续投喂经注射接种嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 的尼罗罗非鱼 30 d 后, 测定血清中抗体效价, 60 d 后测量其相对增重率、特定增长率、饲料效率、蛋白质效率、酸性磷酸酶活性、溶菌酶活性、超氧化物歧化酶活性以及活菌攻毒后的免疫保护率。结果表明, 用添加量为 0.6% 壳聚糖的饲料投喂受免罗非鱼, 不仅可以提高生长速度, 还能提高受免罗非鱼对嗜水气单胞菌的免疫应答水平, 增强其非特异性免疫力和抵抗嗜水气单胞菌人工感染能力。

关键词: 壳聚糖; 尼罗罗非鱼; 生长性能; 嗜水气单胞菌; 免疫力

中图分类号: S 963.1 **文献标识码:** A

Effects of dietary chitosan on growth and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) inoculated with *Aeromonas hydrophila*

CAO Zhen-jie¹, TONG Chun², ZHANG Jing-yi¹, YANG Ling¹, QIN Yu-guang¹

(1. Freshwater Fishery Institute of Shandong Province Jinan 250117, China;

2. College of Fisheries and Life Science Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: A feeding experiment was conducted to examine the effects of dietary chitosan on growth, immunity and disease resistance for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* with initial weight of (99.98 ± 2.79) g. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were inoculated with *Aeromonas hydrophila* and were fed with diets supplemented with appropriate amount of chitosan. 30 days after the inoculation, the agglutinating antibody titer were examined; 60 days after the inoculation, the relative rate of weight gain, specific growth rate, feed efficiency, protein efficiency, acid phosphatase, lysozyme activity and superoxide dismutase activity and bacterial relative percent survival by challenging with live *A. hydrophila*. The results showed that adding chitosan with a ratio of 0.6% into the diets can promote their growth and enhance the immune response, and chitosan can improve their non-specific defence and the resistance of Nile tilapia to immune response *A. hydrophila*.

Key words: chitosan; Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*); growth performance; *Aeromonas hydrophila*; immunity

收稿日期: 2009-04-13

资助项目: 山东省科技发展计划项目 (2006GG3209008)

作者简介: 曹振杰 (1966-), 男, 研究员, 主要从事水产养殖方面的研究。E-mail: caozhenjie2009@163.com

尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 体型较大, 生长较快, 是罗非鱼中最大型的品种, 营养丰富, 肉质鲜美并含丰富的蛋白质及钙、磷、铁、维生素等。但在实际的养殖中, 由于高密度养殖和水环境的恶化, 致使鱼体免疫力降低, 发生病变频率也大大增加^[1]。目前大多使用泼洒药物的方式来防病治病, 但这种方式对鱼体和环境的损害很大, 而且在现代生活中越来越多的人开始重视药物残留和环境保护, 提倡健康养殖、绿色养殖。有学者提出, 从营养的角度, 通过满足各种营养元素的需求, 从而增强动物自身免疫系统就是一个很好的方法^[2-4]。

利用免疫接种技术预防鱼类疾病, 是有效预防水产动物疾病的方法^[5], 而在饲料中添加各种免疫刺激剂, 可以提高受免动物的免疫保护率, 在免疫接种的同时, 通过对水产动物自身免疫系统功能的调节, 可以提高受免动物的免疫保护率^[6-9]。其中壳聚糖就是一种理想的免疫添加剂, 具有提高免疫力, 激活淋巴细胞等功能, 可以激活机体免疫系统, 促进体液免疫和细胞免疫功能^[10]。在饲料中添加壳聚糖是否能调节受免尼罗罗非鱼免疫应答水平, 至今尚未见研究报道。

本实验以受免尼罗罗非鱼为实验对象, 分析饲料中添加定量壳聚糖对尼罗罗非鱼生长和免疫能力的影响, 通过测定其特异性与非特异性免疫活性指标, 评价了在饲料中添加壳聚糖对受免罗非鱼免疫应答的调节作用, 以期壳聚糖作为免疫制剂在水产养殖中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试罗非鱼和饲养条件

实验用的尼罗罗非鱼来源于山东省淡水水产研究所遗传育种重点实验室, 选用健壮无外伤体重在 (99.98 ± 2.79) g 的尼罗罗非鱼。养殖实验在山东省淡水水产研究所良种工程温室内进行。将尼罗罗非鱼分为 7 个组, 每组 3 平行, 置于处于相同条件的 21 个网箱内, 每个网箱内 30 条鱼, 网箱规格为 $60 \text{ cm} \times 60 \text{ cm} \times 120 \text{ cm}$, 悬挂于温室圆形水池中。每天投喂 3 次, 9:00、14:00 和 16:00 各一次, 饲养时间为 2008 年 6 月 17 日—8 月 16 日, 为期 60 d 实验期间水温为 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$, 溶解氧维持在 5.0 mg/L 以上, pH $6.8 \sim 7.2$ 。

1.2 壳聚糖

实验用壳聚糖是海得贝海洋生物工程有限公司的食品级壳聚糖产品 (生产批号: 080601), 纯度 $\geq 95\%$ 。

1.3 壳聚糖的添加与投喂

基础饲料使用鲤鱼鱼种料 (山东天神饲料, 202 鲤鱼鱼种料 A, 粒径: 2.5 mm , 生产批次: 2008 年 6 月 2 日), 营养成分为粗蛋白 34.75% 、粗脂肪 47.46% 、粗灰分 9.38% 。将饲料进行粉碎, 加入壳聚糖充分混合后, 加入适量的水和粘合剂 (1% 褐藻酸钠), 制成壳聚糖浓度梯度为 0.2% 、 0.4% 、 0.6% 、 0.8% 、 1.0% 的饲料颗粒。1—2 组投喂未添加壳聚糖的饲料, 作为不同的对照组, 3—7 组作为实验组, 分别投喂含有 0.2% 、 0.4% 、 0.6% 、 0.8% 、 1.0% 壳聚糖的饲料。每天投喂相当于体重的 3% 的饲料, 连续投喂 60 d。

1.4 菌株的制备

将嗜水气单胞菌在 25°C 条件下, 培养 48 h, 经 4000 r/min 离心 20 min 弃上清, 沉淀用 10 mL 福尔马林 (0.5%) 重悬, 重复 5000 r/min 离心 10 min 弃上清, 沉淀用 $100 \sim 200 \text{ mL}$ 福尔马林 (0.5%) 重悬, 室温静置 2 d 隔一天更换一次福尔马林, 离心重悬同上。安全检测: 使用前取 10 mL 灭活菌液离心去除福尔马林, 以 5 mL 经高压灭菌的 0.9% 生理盐水重悬。移液枪吸取 $200 \mu\text{L}$ 均匀涂布在营养琼脂平板上, 涂布 10 个板, 37°C 培养 24 h 检查应无任何菌落, 确保灭菌完全, 将菌液冷藏备用。

1.5 免疫接种

疫苗采用嗜水气单胞菌经福尔马林灭活后的菌液, 注射剂量为 0.3 mL , 用灭菌生理盐水调节浓度至 $1.5 \times 10^8 \text{ cfu/mL}$ 。2—7 组中每尾肌肉注射 0.3 mL 疫苗, 作为 6 个免疫组, 第 1 组则注射等量的生理盐水, 作为免疫对照组。采用肌肉注射, 在背部肌肉处挑起鳞片, 针头向头部方向稍挑起鳞片刺入 2 cm 左右, 然后注入。

1.6 取样

从每一网箱中随机捞取 6 尾尼罗罗非鱼, 进行鱼血清样本的采集。采用静脉取血法, 用注射器从鱼尾静脉抽血。将所取血液首先在室温下静置 1 h 待其凝固, 置 4°C 冰箱保持 4 h 后, 于 4°C 条件下以 4000 r/min 离心 10 min 收集上层

血清,在 -20°C 下保存,分析时取出在 4°C 下解冻。

1.7 凝集抗体效价

采用血凝板依常法进行。反应原为福尔马林灭活的嗜水气单胞菌。

1.8 酸性磷酸酶活力

采用酸性磷酸酶试剂盒(南京建成生物工程研究所产品,批号:20080702)测定。

1.9 超氧化物歧化酶活力

采用超氧化物歧化酶试剂盒(南京建成生物工程研究所产品,批号:20080702)测定。

1.10 溶菌酶活力

采用溶菌酶试剂盒(南京建成生物工程研究所产品,批号:20080702)测定。

1.11 肝体指数和脾脏指数^[11]

先称量鱼体重,然后断尾放血摘取肝脏,生理盐水稍加冲洗,吸水纸吸干表面水分,立即称重。

先称量鱼体重,然后断尾放血摘取脾脏,生理盐水稍加冲洗,吸水纸吸干表面水分,立即称重,根据记录数据下式计算。

$$I_L = W_L / W_t \times 100 \quad (1)$$

式中: I_L 为肝体指数; W_L 为肝脏重(g); W_t 为实验末鱼体重(g)。

$$I_S = W_S / W_t \times 100 \quad (2)$$

式中: I_S 为脾脏指数; W_S 为脾脏重(g); W_t 为实验末鱼体重(g)。

1.12 生长指标

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

$$R_{SG} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t \quad (4)$$

$$R_{FE} = 100 \times (W_t - W_0) / I_t \quad (5)$$

$$R_{PE} = 100 \times (W_t - W_0) / (I_t \times P_d) \quad (6)$$

式中: R_{FE} 为饲料效率(%); R_{PE} 为蛋白效率(%); W_t 为实验末鱼体重(g); W_0 为实验初鱼体重(g); t 为天数(d); I_t 为总投饲量(g); P_d 为饲料中粗蛋白含量。

1.13 攻毒

每个网箱中留下10尾尼罗罗非鱼,注射浓度为 3×10^9 cfu/mL的嗜水气单胞菌菌液,每尾注射1 mL,观察14 d内死亡情况并做好记录。计算相对免疫保护率:

$$S_{RP} = (1 - M_1 / M_0) \times 100 \quad (7)$$

式中: S_{RP} 为免疫保护率(%); M_1 为免疫组死亡率(%); M_0 为对照组死亡率(%).

1.14 数据分析

实验所得数据用SPSS 16.0进行方差分析和多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼生长的影响

经过60 d实验后,饲料中添加壳聚糖实验组增重率、特定生长率、饲料效率和蛋白效率均有提高(表1)。组3、组4、组5、组6的各项指标显著高于对照组1($P < 0.05$),组7与对照组1无显著差异($P > 0.05$)。实验组中,组3、组4、组5、组6之间无显著差异($P > 0.05$),组5、组6显著高于组7和两个对照组($P < 0.05$),组5与组6之间无显著差异($P > 0.05$)。从提高其生长性能来看饲料中添加0.5%的壳聚糖最适宜。

表1 饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼生长指标的影响

Tab. 1 Effects of dietary chitosan on growth indicators for *Oreochromis niloticus* fed experimental diets for 8 weeks

饲料组	相对增重率(%)	特定生长率(%)	饲料效率(%)	蛋白效率(%)
1	78.84 ± 7.59 ^a	1.66 ± 0.12 ^a	72.57 ± 7.05 ^a	208.84 ± 20.30 ^a
2	86.53 ± 2.64 ^{ab}	1.78 ± 0.39 ^{ab}	79.74 ± 2.16 ^{ab}	229.48 ± 6.23 ^{ab}
3	95.37 ± 4.78 ^{bcd}	1.91 ± 0.07 ^{bcd}	88.89 ± 4.39 ^{bcd}	255.79 ± 12.64 ^{bcd}
4	95.56 ± 2.04 ^{bcd}	1.92 ± 0.03 ^{bcd}	89.18 ± 1.83 ^{bcd}	256.64 ± 5.28 ^{bcd}
5	105.82 ± 0.83 ^d	2.06 ± 0.12 ^d	98.07 ± 0.64 ^d	282.20 ± 11.85 ^d
6	101.47 ± 0.63 ^{cd}	2.00 ± 0.01 ^{cd}	93.26 ± 0.30 ^{cd}	268.38 ± 0.88 ^{cd}
7	89.07 ± 4.52 ^{abc}	1.80 ± 0.07 ^{abc}	82.54 ± 4.25 ^{abc}	237.53 ± 12.24 ^{abc}

注:每行平均值后上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼肝体指数和脾脏体指数的影响

饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼肝体指数和脾脏体指数的影响结果如表 2 所示。加壳聚糖后, 实验组肝体指数均有所降低, 组 5、组 6 肝体指数显著低于两个对照组 (1、2) ($P < 0.05$),

其他实验组与对照组无显著差异 ($P > 0.05$), 两个对照组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。实验组脾脏体指数均有所提高, 其中组 5、组 6 显著高于实验两个对照组 ($P < 0.05$), 其他实验组与对照组无显著差异 ($P > 0.05$), 两个实验对照组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼肝体指数和脾脏指数的影响

Tab. 2 Effects of dietary chitosan on liver body index and spleen body index of *Oreochromis niloticus* fed experimental diets for 8 weeks

饲料组	肝体指数 (%)	脾脏体指数 (%)
1	1.31 ± 0.02 ^a	0.18 ± 0.006 ^a
2	1.15 ± 0.01 ^a	0.18 ± 0.003 ^a
3	1.02 ± 0.02 ^a	0.18 ± 0.003 ^a
4	1.06 ± 0.01 ^{ab}	0.20 ± 0.012 ^{ab}
5	1.01 ± 0.01 ^c	0.23 ± 0.009 ^c
6	1.02 ± 0.01 ^b	0.21 ± 0.009 ^b
7	1.08 ± 0.02 ^{ab}	0.20 ± 0.007 ^{ab}

注: 每行平均值后上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼免疫力的影响

饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼酸性磷酸酶、超氧化物歧化酶、溶菌酶活性的影响如表 3 所示。组 4、组 5、组 6 的酸性磷酸酶活力显著高于对照组 ($P < 0.05$), 实验组中组 5 的酸性磷酸酶活力最高, 显著高于组 3、组 4 和组 7 ($P < 0.05$), 对照组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。组 5、组 6、组 7 的超氧化物歧化酶活力显著高于对

照组 ($P < 0.05$), 实验组中组 5 的超氧化物歧化酶活力最高, 显著高于组 3、组 4 和组 7 ($P < 0.05$), 组 3、组 4 与对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。组 4、组 5、组 6 的溶菌酶活力显著高于对照组 1 ($P < 0.05$), 对照组 2、组 3、组 7 与对照组 1 无显著差异 ($P > 0.05$), 实验组中组 5 的溶菌酶活力最高, 显著高于组 3、组 6、组 7 ($P < 0.05$)。从提高各项活力来看饲料中添加 0.5% 壳聚糖最适宜。

表 3 饲料中添加壳聚糖对尼罗罗非鱼非特异性免疫的影响

Tab. 3 Effects of dietary chitosan on non-specific immunity of *Oreochromis niloticus* fed experimental diets for 8 weeks

饲料组	酸性磷酸酶 (U/100mL)	超氧化物歧化酶 (U/mL)	溶菌酶 (U/mL)
1	7.03 ± 0.86 ^a	59.93 ± 4.42 ^a	151.83 ± 11.29 ^a
2	7.43 ± 0.62 ^a	61.16 ± 4.32 ^a	156.93 ± 8.12 ^{a,b}
3	7.91 ± 0.31 ^{ab}	70.65 ± 5.86 ^{ab}	166.07 ± 5.14 ^{ab}
4	9.44 ± 0.41 ^{bc}	76.50 ± 2.78 ^{abc}	188.74 ± 4.86 ^{cd}
5	11.14 ± 0.14 ^d	110.24 ± 4.79 ^d	209.37 ± 2.74 ^d
6	9.99 ± 0.63 ^{cd}	94.38 ± 5.57 ^{cd}	175.76 ± 3.55 ^{bc}
7	8.19 ± 0.77 ^{abc}	81.79 ± 10.28 ^{bc}	164.13 ± 7.94 ^{ab}

注: 每行平均值后上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.4 凝集抗体效价的变化和攻毒后的死亡率

添加壳聚糖后, 尼罗罗非鱼血清凝集抗体效价、攻毒后死亡率和免疫保护率如表 4 所示。投喂壳聚糖的实验组 3—7 的凝集抗体效价均显著高于未接种疫苗的对照组 1 以及接种疫苗未投喂壳聚糖的对照组 2 ($P < 0.05$), 组 6 显著高于其

他实验组 ($P < 0.05$)。经活菌攻毒后, 经过接种后的罗非鱼均获得了一定的免疫保护率。在饲料中添加壳聚糖的实验组死亡率低于 2 个未添加壳聚糖的对照组。添加量为 0.6% (组 5) 时, 受免罗非鱼死亡率最低, 并显著低于组 3、组 6 和组 7 ($P < 0.05$)。组 5 获得了最高的免疫保护率, 并显著高于其他实验组 ($P < 0.05$)。对死亡鱼解

剖检查和分离致病菌的结果证实,死亡鱼均是由于 *Aeromonas hydrophila* 的感染所致。

表 4 实验组和对照组尼罗罗非鱼血清中凝集抗体效价和攻毒后的存活率、免疫保护率
Tab. 4 Agglutinating antibody titer, mortality and relative percent survival (RPS) of *Oreochromis niloticus* after being challenged with live *Aeromonas hydrophila*

饲料组	凝集抗体效价	死亡率 (%)	免疫保护率 (%)
1	1: <4 ^a	63.33 ± 1.25 ^a	—
2	1:18 ^b	33.30 ± 1.21 ^b	47.42 ± 1.11 ^a
3	1:19 ^c	26.67 ± 1.02 ^c	57.89 ± 1.25 ^b
4	1:24 ^d	16.67 ± 1.04 ^d	73.68 ± 1.32 ^c
5	1:23 ^d	10.00 ± 1.01 ^d	84.21 ± 1.33 ^d
6	1:25 ^e	16.67 ± 1.12 ^e	73.68 ± 1.20 ^e
7	1:22 ^f	20.00 ± 1.05 ^f	68.42 ± 1.10 ^e

注:每行平均值后上标字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

3 讨论

刘兴国等^[12-13]对罗非鱼的研究发现,一定剂量的低分子壳聚糖能提高罗非鱼的饲料利用能力、特殊增长率和蛋白效率。本实验中,添加壳聚糖后对尼罗罗非鱼增重率、特定增长率、饲料效率和蛋白效率都有一定程度上的提高,其中添加量为 0.6% 时效果最好,分别为 105.82%、2.06%、98.07%、282.20%,增重率、特定增长率、饲料效率和蛋白效率分别比对照组提高 34.2%、24.0%、34.2% 和 35.1%。添加壳聚糖有一个适宜的范围,否则会影响鱼类生长。实验中添加 0.8% 和 1.0% 壳聚糖的组生长就有下降的趋势。这可能与壳聚糖的黏附作用和结合营养物质的性质有关,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必需的营养物质,而导致鱼类营养物质吸收消化能力下降^[14]。本实验综合壳聚糖对尼罗罗非鱼相对增重率和饲料效率的影响,壳聚糖再饲料中的适宜添加量为 0.5%。

多糖能够促进细胞因子的生成;激活巨噬细胞、NK 细胞和 T、B 淋巴细胞;激活补体系统,促进抗体的产生以及促进干扰素的诱生^[15]。刘兴国等^[16]在研究中发现,0.25% 低分子壳聚糖能显著提高罗非鱼肝组织抗超氧阴离子自由基。本实验中添加壳聚糖后,组罗非鱼肝体指数下降,说明添加壳聚糖能提高罗非鱼肝组织功能。脾脏也是鱼类的免疫器官,实验中添加壳聚糖后脾脏体指数升高,说明壳聚糖能促进尼罗罗非鱼脾脏生长,从而提高鱼体免疫力。

超氧化物歧化酶和溶菌酶活性是评价鱼类免疫力的常用指标。溶菌酶是由淋巴细胞分泌

的碱性溶解酶,当机体受到病源攻击时,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。壳聚糖可以活化巨噬细胞,提高巨噬细胞活性,使其吞噬能力增强^[14]。王树芹等^[17]在异育银鲫饲料中添加 0.5% 或 1.0% 的壳聚糖,能够提高溶菌酶活性。Engstad 等^[18]和 Jorgensen 等^[19-20]人的研究表明葡聚糖能够增强大西洋鲑、虹鳟和大菱鲆体内溶菌酶活性。龚全等^[21]和张春晓等^[22]在研究中发现饲料中添加糖类能提高奥尼罗非鱼和大黄鱼的血清溶菌酶活力。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。在饲料中加入 1.0% 的杜仲能提高异育银鲫血清超氧化物歧化酶活力^[23]。这些研究结果与本实验的结果一致,本实验中添加壳聚糖的实验组溶菌酶活力和超氧化物歧化酶均显著提高。至于壳聚糖被摄入后以何种形式激活细胞吞噬及增加溶菌酶和超氧化物歧化酶活性还有待进一步研究。

酸性磷酸酶被认为是巨噬细胞的标志酶,酸性磷酸酶活力的高低反映了巨噬细胞的激活程度^[24-25]。迟淑艳等^[26]在饲料中添加 1.5% 的 β -葡聚糖能显著提高奥尼罗非鱼头肾组织酸性磷酸酶活性。本实验中添加壳聚糖后对尼罗罗非鱼血清中酸性磷酸酶的影响与其一致,在添加量为 6% 时,每 100 mL 酸性磷酸酶活力达到最高值 11.14 U。这说明添加壳聚糖能提高尼罗罗非鱼机体免疫能力。

攻毒实验也可以直观的反映免疫添加剂的作用效果。已有研究表明,添加免疫多糖可以增

强黄鳝、斑点叉尾 对嗜水气单胞菌的抵抗力,降低活菌攻毒后的死亡率^[27-28]。迟淑艳等^[26]在研究中发现 β -葡聚糖在饲料中添加量为 1.0%~1.5%时,可以改善其抗嗜水气单胞菌感染能力。对于不同的对象,不同的给予免疫刺激物的途径带来的效果也是不同的。本研究结果表明对注射接种了嗜水气单胞菌的尼罗罗非鱼投喂壳聚糖可以增强实验鱼对嗜水气单胞菌的抵抗力,降低攻毒后的死亡率。目前对壳聚糖作为一种免疫促进剂的研究还不是很多,还需要进一步的研究,寻求最适的给予途径和添加剂量,以便达到最佳的应用效果。

本实验将壳聚糖作为免疫制剂饲喂接种嗜水气单胞菌的尼罗罗非鱼能够促进其生长,提高其特异性与非特异性免疫应答水平,增强尼罗罗非鱼抗嗜水气单胞菌的抵抗力,降低其死亡率,因此将壳聚糖作为免疫制剂具有较好的应用前景。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Baulhy M O D, Quentel C, Fournier V, et al. Effect of long-term oral administration of β -glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot *Scophthalmus macimus* [J]. Dis Aquat Org 1996, 26(3): 139-147.
- [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(1-4): 643-653.
- [7] Misra C K, Das B K, Mukherjee S C, et al. Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings [J]. Aquaculture 2006, 255(4): 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 β 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] 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, 12(8): 22-23.
- [11] 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): 27-30.
- [12] 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): 291-295.
- [13] 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, 31(1): 40-41.
- [14] 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.
- [15] 薛飞,周维仁,朱泽远,等. 功能性饵料添加剂对水产动物免疫机能的影响 [J]. 饲料博览, 2004, 11(1): 46-48.
- [16] 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): 291-295.
- [17] 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.
- [18] Engstad R E, Robertsen B, Frivold E. Yeast glucan induces increase in activity of lysozyme and complement mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood [J]. Fish Shell Immunol 1992, 13(2): 287-297.
- [19] Jorgensen J B, Robertsen B. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon [M]. Salmo salar L. J Fish Dis 1993, 16(4): 313-325.
- [20] Jorgensen J B, Sharp G J E, Secombes C J et al. Effect of yeast-cell wall on the bactericidal activity of rainbow trout macrophages [J]. Fish Shellfish Immunol 1993, 11(3): 51-58.
- [21] 龚全,许国焕,付天玺,等. 云芝多糖对奥尼罗非鱼生长、血清溶菌酶活性和补体活性的影响 [J]. 淡水渔业, 2008, 38(1): 16-19.
- [22] 张春晓,麦康森,艾庆辉,等. 饲料中添加肽聚糖对大黄鱼生长和非特异性免疫力的影响 [J]. 水产学报, 2008, 32(3): 411-416.
- [23] 冷向军,刘贤敏,孟晓林,等. 杜仲对异育银鲫肌肉品质和血清 SOD、溶菌酶活性的影响 [J]. 粮食与饲料工业, 2007, 7(2): 33-35.
- [24] 吕建新,陈国荣,金丽琴,等. 蜂花粉对小鼠腹腔巨噬细胞酶活性的影响 [J]. 免疫学杂志, 1993, 9(2): 94.
- [25] Cohn Z A. The activation of mononuclear phagocytes. Fact fancy and future [J]. J Immunol 1978, 121(3): 813.
- [26] 迟淑艳,周歧存,周健斌,等. β 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.
- [27] 徐海华,李兆文,汪成竹,等. 免疫多糖对受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.
- [28] 罗璋,姚鹃,陈昌福,等. 酵母免疫多糖对受黄斑叉尾鲷免疫应答的增强作用 [J]. 淡水渔业, 2007, 37(3): 22-25, 33.