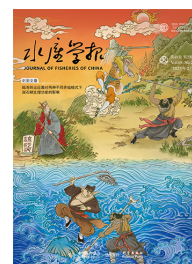


DOI: 10.11964/jfc.20230814112

## 岩藻多糖对刺参生长、消化、免疫、抗氧化及糖脂代谢的影响



刘经未<sup>1,2</sup>, 李宝山<sup>2\*</sup>, 王际英<sup>2\*</sup>, 贾戊辰<sup>3</sup>, 陆国锋<sup>1,2</sup>, 郝甜甜<sup>2</sup>, 王晓艳<sup>2</sup>, 孙永智<sup>2</sup>

1. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 农业农村部鱼类营养与环境生态研究中心, 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306; 2. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 烟台市海珍品质量安全控制与精深加工重点实验室, 山东 烟台 264006; 3. 山东安源种业科技有限公司, 山东 烟台 265617

### 摘要:

**【目的】**为研究饲料中添加岩藻多糖对刺参生长、消化、免疫、抗氧化和糖脂代谢的影响。

**【方法】**实验以初始体重为 (16.75±0.07) g 的刺参幼参为研究对象, 在基础饲料中添加包膜岩藻多糖, 配制成岩藻多糖含量分别为 0% (D0)、0.44% (D1)、0.88% (D2)、1.41% (D3)、1.89% (D4) 和 2.38% (D5) 的 6 组实验饲料, 进行为期 60 d 的生长实验。

**【结果】**①随着岩藻多糖含量的增加, 刺参的增重率在 D2 和 D3 组显著高于 D0 组。体壁粗脂肪和刺参多糖含量分别在 D2 和 D3 组达到最大值。脂肪酶活性 D1 和 D2 组显著高于其他组, 淀粉酶活性 D3 组显著高于其他组。②肠道溶菌酶和超氧化物歧化酶活性均在 D4 组达到最大值; 丙二醛含量 D1 组显著低于其他组。③磷酸果糖激酶活性在 D2 组显著低于 D0 和 D1 组, 丙酮酸激酶在 D3 组显著低于其他组; 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶活性在 D2 组达到最小值。脂肪酸合成酶和肉毒碱棕榈酰转移酶-1 活性均在 D1 和 D2 组显著高于其他组。④荧光定量 PCR 结果显示, D2 组 GDP-甘露糖 4,6 脱水酶基因表达量显著低于 D0 组, 岩藻糖激酶、磺基转移酶和硫酸软骨素合酶基因表达量显著高于 D0 组。

**【结论】**饲料中添加适量的岩藻多糖促进了刺参的生长, 提升了脂代谢效率, 降低了糖代谢效率。岩藻多糖能够抑制 GDP-岩藻糖的从头途径, 促进补救途径, 上调硫酸软骨素多糖合成途径, 提高了刺参多糖的含量。以增重率为评价标准, 初始体重为 (16.75±0.07) g 的刺参饲料中岩藻多糖的最适添加量为 1.116%。本研究可为刺参饲料中合理利用岩藻多糖和刺参硫酸软骨素多糖在体内的沉积提供理论依据。

**关键词:** 刺参; 岩藻多糖; 生长; 免疫; 糖脂代谢

第一作者: 刘经未, 从事水产动物健康养殖研究, E-mail: 1989070490@qq.com



通信作者: 李宝山, 副研究员, 从事水产动物健康养殖工作。主持承担科研项目 12 项; 发表论文 94 篇, 授权专利 13 项; 获山东省科学技术奖, E-mail: bsleeyt@126.com;



王际英, 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: ytwjy@126.com

资助项目: 山东省刺参产业技术体系 (SDAIT-22-06); 烟台市科技创新发展计划 (2023JCYJ090)

收稿日期: 2023-08-17

修回日期: 2023-10-30

文章编号:  
1000-0615(2025)02-029614-11  
中图分类号: S 963.73  
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)  
Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)



刺参 (*Apostichopus japonicus*) 属于棘皮动物门 (Echinodermata) 海参纲 (Holothuroidea) 仿刺参属 (*Apostichopus*), 是极具营养价值的水产经济品种。刺参自古以来被列为八珍之一, 体内富含多糖、多肽、皂苷、脑苷脂等营养物质。刺参多糖是刺参体内主要的功能性物质之一, 其主要成分为岩藻糖基化硫酸软骨素 (FuCS) 和岩藻糖基化硫酸酯 (FuS)<sup>[1]</sup>。FuCS 是由 D-葡萄糖醛酸、D-N-乙酰氨基半乳糖、L-岩藻糖和硫酸基组成的杂多糖; FuS 是由 L-岩藻糖聚合的直链多糖, 两种多糖均为刺参所特有。

刺参多糖体内合成主要受到糖基和磺基供应以及多糖合成酶活性的影响。海水中丰富的  $\text{SO}_4^{2-}$  为刺参体内的磺基供体合成提供了有效保证, 而岩藻糖在生物体内丰度较低且合成途径复杂, 因此岩藻糖基供体鸟苷二磷酸 (GDP) 岩藻糖的合成速率可能是刺参多糖合成的限制因素之一。

岩藻多糖 (Fucoidan) 又名褐藻糖胶、岩藻聚糖硫酸酯和褐藻多糖硫酸酯等, 是一种从海藻中提取的大分子多聚糖, 主要由岩藻糖和硫酸基组成, 同时还包含多种形式的半乳糖、糖醛酸和乙酰基<sup>[2]</sup>。研究表明, 岩藻多糖能调控动物的免疫和脂代谢<sup>[3]</sup>, Palanisamy 等<sup>[4]</sup> 研究表明, 日粮中添加 150 mg/kg 岩藻多糖能显著提高斑马鱼 (*Danio rerio*) 的存活率和抗氧化能力。郭广振等<sup>[5]</sup> 发现现代乳粉中添加 0.3% 岩藻多糖能够改善断奶羔羊的血清生化指标, 提高生长性能、抗氧化能力和免疫性能。Chen 等<sup>[6]</sup> 发现补充岩藻多糖可以有效修复由高脂膳食引发的大鼠肠道菌群紊乱。同时岩藻多糖含有较高比例的岩藻糖, 具备提供岩藻糖基供体的潜力。本研究通过在基础饲料中添加不同梯度的岩藻多糖饲喂刺参, 研究岩藻多糖对其生长、免疫、脂代谢的影响, 同时通过研究刺参多糖合成途径中关键基因的表达, 以此探究岩藻多糖对刺参多糖合成的调控机理, 旨在为岩藻多糖在刺参养殖中应用及刺参多糖沉积机理提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验饲料

以鱼粉、藻粉和发酵豆粕为蛋白源, 鱼油为脂肪源, 设计粗蛋白含量 18.00%、粗脂肪含

量 1.50% 的基础饲料配方。基础饲料中分别添加 0.00%(D0)、1.00%(D1)、2.00%(D2)、3.00%(D3)、4.00%(D4) 和 5.00%(D5) 的包膜岩藻多糖 (扶风慈缘生物科技有限公司, 纯度  $\geq 85\%$ ) 制作 6 组实验饲料, 饲料中岩藻多糖实际含量分别为 0%、0.44%、0.88%、1.41%、1.89% 和 2.38%。包膜岩藻多糖的制作方法: 将岩藻多糖与卡拉胶 1:1 (重量比) 混合, 加入适量的水调至稠状, 90 °C 水浴加热搅拌 15 min, 冷却后用冷冻干燥机干燥成固体块状, 经 75 °C 烘干冷却后磨成粉状待用, 测得 24 h 溶失率为 45%。实验饲料配方及营养组成见表 1。固体原料超微粉碎后过 200 目标准筛, 按照饲料配方配比称重, 加入鱼油及适量的蒸馏水, 充分混匀, 用小型颗粒饲料挤压机制成直径为 0.3 cm 的条状饲料, 60 °C 烘干, 密封保存备用。

### 1.2 饲养管理

养殖实验在山东省海洋资源与环境研究院东营实验基地的循环水养殖系统中进行, 共计 60 d, 实验用刺参购自山东安源种业科技有限公司。实验开始前, 刺参在养殖系统中暂养 2 周, 其间投喂基础饲料。暂养结束后禁食 48 h, 挑选个体健壮, 体重相近 [初始体重为 (16.75 $\pm$ 0.07) g] 的刺参幼参 360 头, 随机分配到 18 个养殖桶 (直径 60 cm, 高 80 cm) 中, 每桶 20 只刺参。每个实验组 3 个重复, 每个桶内放 2 个布满波纹板的海参专用筐, 控制水深为 50 cm, 每天投喂 1 次 (16:00), 初始投喂量为刺参体重的 3%, 根据每日摄食情况调整次日投喂量, 每 3 天吸底 1 次并清理残饵和粪便, 养殖 1 个月时更换海参养殖筐。实验在弱光环境中进行, 其间控制水温为 13~15 °C, pH 7.6~8.3, 溶解氧含量  $> 6$  mg/L, 氨氮与亚硝酸盐含量  $< 0.05$  mg/L。

### 1.3 样品采集与分析

本研究获得了山东省海洋资源与环境研究院实验动物管理和使用伦理委员会批准 (202203002), 实验样品采集过程中操作人员严格遵守山东省海洋资源与环境研究院伦理规范, 并按照山东省海洋资源与环境研究院伦理委员会制定的规章制度执行。

养殖实验结束后, 禁食 48 h, 统计各桶刺参数量并称重, 计算成活率、增重率和特定生

表 1 饲料配方及营养组成

Tab. 1 Composition and nutrient level of the experimental diets

项目 items	组别 groups					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
<b>原料/% ingredient</b>						
鱼粉 fish meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
发酵豆粕 fermented soybean meal	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
藻粉 algae powder	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
鱼油 fish oil	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
抗氧化剂 antioxidants	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
维生素预混料 <sup>1)</sup> vitamin premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 <sup>2)</sup> mineral premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
包膜岩藻多糖 coated fuc	0.00	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
海泥 sea mud	46.80	45.80	44.80	43.80	42.80	41.80
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
<b>营养成分(干物质) nutrient composition (DM)</b>						
粗蛋白/% crude protein	19.04	19.28	19.01	19.02	18.4	18.71
粗脂肪/% crude lipid	1.51	1.49	1.49	1.53	1.45	1.48
粗灰分/% crude ash	58.41	57.06	56.51	56.95	58.23	57.63
能量/(kJ/g) energy	7.56	7.67	7.71	7.98	8.05	8.14
岩藻多糖/% fucoidan	0.00	0.44	0.88	1.41	1.89	2.38

注: 1) 维生素预混料(mg/kg 或IU/kg 饲料), 维生素A 7 500.00 IU, 维生素D 1 500.00 IU, 维生素E 60.00 mg, 维生素K<sub>3</sub> 18.00 mg, 维生素B<sub>1</sub> 12.00 mg, 维生素B<sub>2</sub> 12.00 mg, 维生素B<sub>12</sub> 0.10 mg, 泛酸 48.00 mg, 烟酰胺 90.00 mg, 叶酸 3.70 mg, D-生物素 0.20 mg, 吡哆醇 60.00 mg, 维生素C 310.00 mg。2) 矿物质预混料(mg/kg 饲料), 锌 35.00 mg, 锰 21.00 mg, 铜 8.30 mg, 铁 23.00 mg, 钴 1.20 mg, 碘 1.00 mg, 硒 0.30 mg。

Notes: 1) vitamin premix (mg/kg or IU/kg diet), vitamin A 7 500.00 IU, vitamin D 1 500.00 IU, vitamin E 60.00 mg, vitamin K<sub>3</sub> 18.00 mg, vitamin B<sub>1</sub> 12.00 mg, vitamin B<sub>2</sub> 12.00 mg, vitamin B<sub>12</sub> 0.10 mg, pantothenate acid 48.00 mg, niacin 90.00 mg, folic acid 3.70 mg, D-biotin 0.20 mg, pyridoxine 60.00 mg, vitamin C 310.00 mg. 2) mineral premix (mg/kg diet), Zn 35.00 mg, Mn 21.00 mg, Cu 8.30 mg, Fe 23.00 mg, Co 1.20 mg, I 1.00 mg, Se 0.30 mg.

长率。每桶随机选取 8 头刺参置于干净托盘中, 轻轻擦干表面水分, 称量体重。之后进行解剖, 清理体腔液和肠道内容物, 收集体壁及肠道并称量, 计算肠壁比, 样品保存于-20 °C。

成活率 (survival rate, SR, %) =  $(N_t / N_0) \times 100\%$ ;

增重率 (weight gain rate, WGR, %) =  $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$ ;

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) =  $[\ln(W_t) - \ln(W_0)] / t \times 100\%$ ;

肠壁比 (ratio of intestine weight to body wall weight, IBR, %) =  $W_i / W_w \times 100\%$ 。

式中,  $N_t$  为终末头数,  $N_0$  为初始头数,  $W_t$  为终末体重 (g),  $W_0$  为初始体重 (g),  $t$  为养殖天数 (d),  $W_i$  为终末肠道重量 (g),  $W_w$  为终末体壁重量 (g)。

水分采用 105 °C 恒重法 (GB/T 6435—2014) 测定; 粗灰分采用 550 °C 灼烧法 (GB/T 6438—2014) 测定; 粗蛋白采用凯氏定氮法 (GB/T 6432—2006) 测定; 粗脂肪采用索氏抽提法 (GB/T 6433—2006) 测定; 能量采用燃烧法 (IKA, C6000, 德国) 测定; 总糖采用分光光度法 (DB12/T—2018) 测定; 刺参岩藻多糖含量采用高效液相色谱法 (SC/T 3049—2015) 测定。

肠道蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、溶菌酶、超氧化物歧化酶、果糖磷酸激酶、丙酮酸激酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶活性、脂肪酸合成酶、肉毒碱棕榈酰转移酶-1 活性及丙二醛含量使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定, 方法参照试剂盒说明书。

由于 D2 组增重率和刺参多糖含量显著高于 D0 组, 因此选取 D0 和 D2 组进行荧光定量

PCR 实验, 使用 SparkJade 的 RNA 快速提取试剂盒提取刺参肠道总 RNA, 并用核酸蛋白仪 (Nanoprop, 2000, 中国) 检测 RNA 浓度, 将 RNA 浓度稀释为 500~1 000 ng/ $\mu$ L, 并用琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。使用 SparkJade 的 SPARKscript II RT Plus Kit (With gDNA eraser) 反转录试剂盒去除 gDNA 并反转录, 于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存待用。通过本实验室已有的刺参转录组数据, 筛选 GDP-甘露糖 4,6 脱水酶基因 (*gmd*)、岩藻糖激酶基因 (*fuk*)、硫酸软骨素磺基转移酶基因 (*chst*) 和硫酸软骨素合酶基因 (*chsy*) 序列, 选用肌动蛋白 *actin* 基因 (登录号: AB510191) 作为内参基因。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 引物序列如表 2 所示。实时荧光定量 PCR 试剂盒为 SparkJade 的 2 $\times$ SYBR Green qPCR Mix (With ROX), PCR 反应体系: 2 $\times$ SYBR qPCR Mix 10  $\mu$ L, DNA 模板 1  $\mu$ L, 上下游引物各 0.4  $\mu$ L, 加 RNase Free H<sub>2</sub>O 定容至 20  $\mu$ L。PCR 程序:  $94^{\circ}\text{C}$  预变性 20 s, 1 个循环;  $52\sim 60^{\circ}\text{C}$  退火 20 s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 40 个循环。通过荧光定量 PCR 仪 (Roche LightCycler 480, 德国) 得到各基因  $C_t$  值, 按照  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  计算目的基因的相对表达量。

#### 1.4 数据分析

实验数据采用 SPSS Statistics 17.0 软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 若各组间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 则用 Duncan 氏检验进行多重比较分析。统计结果以平均值  $\pm$  标准差 (mean  $\pm$  SD) 表示。采用一元二次回归分析, 确定刺参幼参饲料中岩藻多糖的最适添加量。

表 2 基因表达的引物序列

Tab. 2 Primer sequences for gene expression

引物名称 primers	序列(5'-3') sequence (5'-3')
肌动蛋白 <i>actin</i> -F	TTATGCTCTTCTCACGCTATCC
肌动蛋白 <i>actin</i> -R	TTGTGGTAAAGGTGTAGCCTCTCTC
GDP-甘露糖 4,6 脱水酶 <i>gmd</i> -F	ACCAACGAAATCCACAGCGTAC
GDP-甘露糖 4,6 脱水酶 <i>gmd</i> -R	ATCCCGTCCAACCTTCTCTCCA
岩藻糖激酶 <i>fuk</i> -F	TTGAAATAAGGCAGAGGAAG
岩藻糖激酶 <i>fuk</i> -R	GATGAGAATCCGTGAAGTAAG
磺基转移酶 <i>chst</i> -F	GTAGATTCGTGAGCGAGCAG
磺基转移酶 <i>chst</i> -R	CGCATCCCGTGTTTGTAGTG
硫酸软骨素合酶 <i>chsy</i> -F	GCCGATGGTGCCACTACAAG
硫酸软骨素合酶 <i>chsy</i> -R	CGGACGAACTGCTGGAGAAA

## 2 结果

### 2.1 岩藻多糖对刺参生长性能及体成分的影响

饲料中添加岩藻多糖对实验刺参的成活率无显著影响 ( $P > 0.05$ )。随着岩藻多糖含量的增加, 刺参的 WGR 和 SGR 均呈先上升后下降的趋势, D2 组 WGR 显著高于其他组 ( $P < 0.05$ )。D2、D3、D4 组 IBR 显著高于 D0、D1、D5 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

刺参体壁粗脂肪含量呈先上升后下降的趋势, 在 D2 组达到最大值, 显著高于除 D1 组外的其他组 ( $P < 0.05$ ); 体壁岩藻多糖含量呈现先上升后下降的趋势, D2 和 D3 组显著高于除 D4 组外的其他组 ( $P < 0.05$ ), 各组刺参体壁中水分、粗蛋白、粗灰分及总糖含量无显著差异

表 3 岩藻多糖对刺参生长性能的影响

Tab. 3 Effects of dietary fucoidan on growth performance of *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
初始体重/g initial body weigh	16.70 $\pm$ 0.20	16.78 $\pm$ 0.25	16.83 $\pm$ 0.08	16.72 $\pm$ 0.19	16.67 $\pm$ 0.10	16.73 $\pm$ 0.15
终末体重/g final body weigh	21.29 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	22.21 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	23.10 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	22.20 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	21.47 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>	20.98 $\pm$ 0.24 <sup>d</sup>
增重率/% WGR	27.51 $\pm$ 1.08 <sup>c</sup>	32.32 $\pm$ 1.44 <sup>b</sup>	37.23 $\pm$ 1.38 <sup>a</sup>	32.80 $\pm$ 1.27 <sup>b</sup>	28.80 $\pm$ 1.19 <sup>c</sup>	25.35 $\pm$ 0.49 <sup>d</sup>
特定生长率/(%/d) SGR	0.40 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.47 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.53 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.47 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.42 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.38 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>
肠壁比/% IBR	7.85 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>	6.71 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	8.57 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	8.99 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	8.35 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	6.87 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
成活率/% SR	98.33 $\pm$ 2.89	96.67 $\pm$ 5.77	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	95.00 $\pm$ 5.00

注: 同行数据上标不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Notes: In the same row, different superscript letters represent significant differences ( $P < 0.05$ ), the same below.

( $P>0.05$ ) (表 4)。

随着饲料中岩藻多糖含量的增加, 刺参体壁中 C16:0、C18:1n-9c 和 DHA 都呈先上升后下降趋势, C16:0 和 C18:1n-9c 的 D4 和 D5 组都

显著低于 D0 组 ( $P<0.05$ )。DHA 的各组均高于 D0 组, 在 D3 组达到最大值, 并显著高于其他组 ( $P<0.05$ )。ARA 含量呈下降的趋势, D0 和 D1 组显著高于其他组 ( $P<0.05$ ) (表 5)。

表 4 岩藻多糖对刺参幼参体壁基本成分的影响

Tab. 4 Effects of dietary fucoidan on approximate composition of body wall of *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
水分/% moisture	91.15±0.97	92.12±0.88	91.28±0.71	91.35±1.57	92.97±0.34	92.4±0.29
粗蛋白/% crude protein	54.96±0.63	56.2±2.13	54.17±0.5	54.67±1.44	55.05±1.98	54.89±0.96
粗脂肪/% crude lipid	3.77±0.12 <sup>b</sup>	3.87±0.26 <sup>ab</sup>	4.19±0.14 <sup>a</sup>	3.8±0.11 <sup>b</sup>	3.71±0.06 <sup>b</sup>	3.72±0.19 <sup>b</sup>
粗灰分/% crude ash	28.82±0.99	29.24±1.02	29.48±2.47	27.55±2.08	27.68±1.34	29.06±1.67
总糖/% total sugar	13.67±0.59	14.26±1.83	14.57±1.85	16.07±0.96	16.59±2.29	16.54±2.23
岩藻多糖/(mg/g) fucoidan	56.63±2.34 <sup>b</sup>	57.01±1.79 <sup>b</sup>	62.9±1.25 <sup>a</sup>	65.22±3.83 <sup>a</sup>	61.72±3.8 <sup>ab</sup>	58.89±1.56 <sup>b</sup>

注: 粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、总糖和岩藻多糖含量为干基含量。

Notes: The crude protein, crude lipid, crude ash, total sugar and fucoidan contents of body wall are based on dry basis.

表 5 岩藻多糖添加对刺参幼参体壁脂肪酸组成的影响

Tab. 5 Effects of dietary fucoidan on fatty acid composition of body wall of *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
C14:0	1.12±0.03 <sup>b</sup>	1.23±0.03 <sup>a</sup>	1.28±0.03 <sup>a</sup>	1.26±0.02 <sup>a</sup>	1.24±0.10 <sup>a</sup>	1.25±0.05 <sup>a</sup>
C16:0	6.58±0.11 <sup>b</sup>	7.16±0.27 <sup>a</sup>	6.62±0.09 <sup>b</sup>	6.37±0.16 <sup>b</sup>	5.91±0.15 <sup>c</sup>	5.83±0.12 <sup>c</sup>
C18:0	4.32±0.09 <sup>b</sup>	4.52±0.23 <sup>ab</sup>	3.91±0.06 <sup>c</sup>	4.78±0.15 <sup>a</sup>	4.31±0.12 <sup>b</sup>	3.97±0.13 <sup>c</sup>
C20:0	1.33±0.10	1.36±0.06	1.28±0.02	1.28±0.06	1.33±0.07	1.34±0.06
ΣSFA	13.35±0.09 <sup>c</sup>	14.27±0.26 <sup>c</sup>	13.10±0.02 <sup>2d</sup>	13.70±0.10 <sup>b</sup>	12.78±0.20 <sup>d</sup>	12.39±0.17 <sup>c</sup>
C16:1	3.17±0.13	3.50±0.42	3.40±0.09	3.42±0.16	3.36±0.09	3.47±0.20
C18:1n-9c	11.52±0.37 <sup>c</sup>	11.57±0.17 <sup>c</sup>	12.14±0.14 <sup>b</sup>	13.06±0.24 <sup>a</sup>	10.44±0.40 <sup>d</sup>	10.52±0.26 <sup>d</sup>
C18:1n-7	4.55±0.28	4.77±0.19	4.79±0.17	4.73±0.23	4.75±0.26	4.78±0.18
C20:1	5.50±0.31 <sup>ab</sup>	5.25±0.07 <sup>bc</sup>	5.67±0.14 <sup>a</sup>	5.58±0.23 <sup>ab</sup>	4.93±0.11 <sup>cd</sup>	4.86±0.14 <sup>d</sup>
C22:1n-9	2.08±0.12 <sup>b</sup>	2.16±0.11 <sup>b</sup>	2.57±0.11 <sup>a</sup>	2.16±0.07 <sup>b</sup>	2.01±0.13 <sup>b</sup>	2.08±0.01 <sup>b</sup>
ΣMUFA	26.82±0.71 <sup>b</sup>	27.26±0.25 <sup>b</sup>	28.57±0.23 <sup>a</sup>	28.95±0.23 <sup>a</sup>	25.49±0.56 <sup>c</sup>	25.71±0.63 <sup>c</sup>
C18:2n-6c	5.28±0.23 <sup>cd</sup>	5.34±0.14 <sup>bc</sup>	5.71±0.24 <sup>ab</sup>	5.94±0.13 <sup>a</sup>	4.91±0.29 <sup>de</sup>	4.84±0.08 <sup>c</sup>
ARA	10.77±0.24 <sup>a</sup>	10.19±0.31 <sup>a</sup>	7.91±0.12 <sup>c</sup>	8.17±0.28 <sup>c</sup>	8.10±0.07 <sup>c</sup>	8.79±0.17 <sup>b</sup>
Σn-6 PUFA	16.05±0.41 <sup>a</sup>	15.53±0.39 <sup>a</sup>	13.01±0.17 <sup>d</sup>	14.11±0.27 <sup>bc</sup>	14.41±0.23 <sup>b</sup>	13.63±0.23 <sup>c</sup>
C18:3n-3	1.20±0.10	1.16±0.02	1.15±0.02	1.22±0.12	1.09±0.01	1.09±0.02
EPA	6.95±0.19 <sup>c</sup>	7.10±0.18 <sup>c</sup>	8.32±0.10 <sup>a</sup>	7.63±0.10 <sup>b</sup>	7.77±0.24 <sup>b</sup>	7.63±0.07 <sup>b</sup>
DHA	7.41±0.35 <sup>d</sup>	7.88±0.12 <sup>d</sup>	9.51±0.11 <sup>b</sup>	10.32±0.16 <sup>a</sup>	8.66±0.26 <sup>c</sup>	8.41±0.21 <sup>c</sup>
Σn-3 PUFA	15.55±0.31 <sup>d</sup>	16.15±0.13 <sup>c</sup>	18.98±0.15 <sup>a</sup>	19.17±0.20 <sup>a</sup>	17.51±0.32 <sup>b</sup>	17.13±0.26 <sup>b</sup>
ΣPUFA	31.60±0.31 <sup>b</sup>	31.67±0.33 <sup>b</sup>	32.00±0.14 <sup>b</sup>	33.28±0.32 <sup>a</sup>	31.92±0.48 <sup>b</sup>	30.76±0.06 <sup>c</sup>
Σn-3/Σn-6	0.97±0.04 <sup>c</sup>	1.04±0.03 <sup>d</sup>	1.46±0.03 <sup>a</sup>	1.36±0.03 <sup>b</sup>	1.22±0.02 <sup>c</sup>	1.26±0.04 <sup>c</sup>

注: ΣSFA. 总饱和脂肪酸, ΣMUFA. 单不饱和脂肪酸, Σn-6 PUFA. n-6 系列多不饱和脂肪酸, Σn-3 PUFA. n-3 系列多不饱和脂肪酸。

Notes: ΣSFA. total saturated fatty acids, ΣMUFA. total mono-unsaturated fatty acids, Σn-6 PUFA. total n-6 poly-unsaturated fatty acids, Σn-3 PUFA. total n-3 poly-unsaturated fatty acids.

以 WGR 为评价指标, 经一元二次回归分析得出, 初始体重为 (16.7±0.07) g 的刺参幼参饲料中岩藻多糖的最适添加量为 1.116%。

**2.2 岩藻多糖对刺参肠道消化、免疫及抗氧化酶的影响**

随着饲料中岩藻多糖含量的增加, 淀粉酶活性呈先上升后下降的趋势, D3 组显著高于其他组 ( $P<0.05$ )。肠道脂肪酶呈先上升后下降的趋势, D1 和 D2 组脂肪酶活性显著高于其他组 ( $P<0.05$ )。饲料岩藻多糖含量对刺参肠道蛋白酶活性无显著变化 ( $P>0.05$ ) (表 6)。

随着饲料中岩藻多糖含量的增加, LZM 活性呈先上升后下降的趋势, 在 D4 组达到最大值, D3、D4 组显著高于 D0、D1、D5 组 ( $P<$

0.05)。SOD 活性呈先上升后下降趋势, D0 组显著低于除 D5 组外的其他组 ( $P<0.05$ )。D0 组 MDA 含量显著高于其他组 ( $P<0.05$ ), D1 组显著低于其他组 ( $P<0.05$ ) (表 7)。

**2.3 岩藻多糖对刺参肠道糖和脂代谢酶活性的影响**

随着饲料中岩藻多糖含量的增加, PFK 和 PK 活性均呈先下降后平稳的趋势, PFK 活性在 D2 组显著低于 D0 和 D1 组 ( $P<0.05$ )。PK 活性在 D3 组显著低于其他组 ( $P<0.05$ )。PEPCK 活性呈先下降后上升的趋势, 在 D0 组显著高于其他组 ( $P<0.05$ ), D2 组达到最小值 (表 8)。随着岩藻多糖含量增加, FAS 活性呈先上升后下降的趋势, D1 组显著高于除 D2 组外的其他

表 6 岩藻多糖对刺参幼参肠道消化酶活性的影响

Tab. 6 Effects of dietary fucoidan on the activities of intestinal digestive enzyme activities of *A. japonicus*

项目 items	组别 groups						U/mg prot
	D0	D1	D2	D3	D4	D5	
蛋白酶 protease	1 466.72±78.69	1 449.33±92.85	1 521.85±78.6	1 583.97±135.5	1 589.08±132.68	1 552.87±90.51	
淀粉酶 amylase	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.19±0.01 <sup>b</sup>	
脂肪酶 lipase	4.36±0.25 <sup>b</sup>	5.78±0.27 <sup>a</sup>	5.69±0.16 <sup>a</sup>	4.5±0.24 <sup>b</sup>	4.16±0.32 <sup>b</sup>	4.48±0.24 <sup>b</sup>	

表 7 岩藻多糖对刺参幼参肠道免疫和抗氧化酶活性的影响

Tab. 7 Effects of dietary fucoidan on the activities of intestinal immunity and antioxidant enzyme activities of *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
溶菌酶/(U/mg prot) LZM	161.24±2.92 <sup>b</sup>	163.38±2.49 <sup>b</sup>	169.73±2.32 <sup>ab</sup>	174.79±6.22 <sup>a</sup>	176.24±7.33 <sup>a</sup>	162.82±2.03 <sup>b</sup>
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	38.81±3.65 <sup>d</sup>	46.88±5.4 <sup>bc</sup>	47.5±1.6 <sup>bc</sup>	52.5±2.09 <sup>ab</sup>	55.04±3.12 <sup>a</sup>	43.51±2.33 <sup>cd</sup>
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	5.62±0.04 <sup>a</sup>	3.56±0.12 <sup>d</sup>	4.08±0.34 <sup>cd</sup>	4.87±0.07 <sup>b</sup>	4.56±0.54 <sup>bc</sup>	4.69±0.23 <sup>bc</sup>

表 8 岩藻多糖对刺参幼参糖和脂代谢酶活性的影响

Tab. 8 Effects of fucoidan on the activities of glucose metabolism and lipid metabolism enzyme of *A. japonicus*

项目 items	组别 groups					
	D0	D1	D2	D3	D4	D5
果糖磷酸激酶/(U/mg prot) 6-phosphofruktokinase, PFK	9.81±0.18 <sup>a</sup>	8.73±0.2 <sup>b</sup>	7.22±0.14 <sup>d</sup>	7.69±0.34 <sup>c</sup>	7.46±0.08 <sup>cd</sup>	7.15±0.3 <sup>d</sup>
丙酮酸激酶/(U/g prot) pyruvate kinase, PK	95.52±3.38 <sup>a</sup>	86.57±4.08 <sup>b</sup>	82.11±4.53 <sup>b</sup>	73.15±0.88 <sup>c</sup>	85.75±2.78 <sup>b</sup>	83.51±3.83 <sup>b</sup>
磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶/(U/mg prot) phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK	96.13±3.24 <sup>a</sup>	76.43±1.22 <sup>b</sup>	57.19±4.02 <sup>c</sup>	70.01±4.65 <sup>b</sup>	71.26±3.91 <sup>b</sup>	70.78±2.21 <sup>b</sup>
脂肪酸合成酶/(ng/mL) fatty acid synthase, FAS	3.06±0.13 <sup>b</sup>	3.42±0.1 <sup>a</sup>	3.18±0.16 <sup>ab</sup>	2.95±0.08 <sup>b</sup>	3.06±0.07 <sup>b</sup>	3.09±0.05 <sup>b</sup>
肉毒碱棕榈酰转移酶-1/(ng/mL) carnitine palmitoyl transferase-1, CPT1	3.91±0.05 <sup>b</sup>	4.22±0.31 <sup>a</sup>	4.44±0.06 <sup>a</sup>	2.95±0.01 <sup>d</sup>	3.69±0.13 <sup>c</sup>	2.98±0.12 <sup>d</sup>

组 ( $P<0.05$ ), 其他组之间无显著差异 ( $P>0.05$ )。CPT1 活性呈先上升后下降的趋势, D1、D2 组显著高于其他组 ( $P<0.05$ )。

#### 2.4 岩藻多糖对 D0 和 D2 组基因表达的影响

D2 组 *gmd* 表达量显著低于 D0 组 ( $P<0.05$ ), 而 *fuk*、*chst*、*chsy* 的表达量 D2 组显著高于 D0 组 ( $P<0.05$ ) (图 1)。

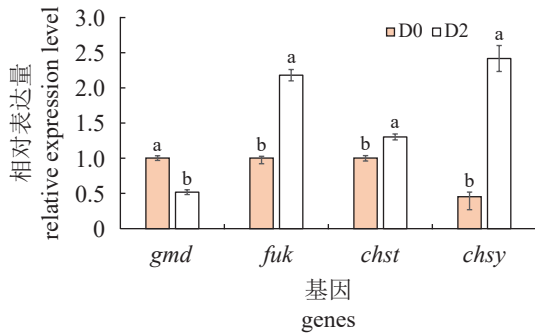


图 1 岩藻多糖对刺参肠道岩藻糖和硫酸软骨素多糖合成相关基因表达的影响

同一基因数据上标不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

**Fig. 1 Effects of fucose polysaccharides on the expression of genes related to fucose and chondroitin sulfate polysaccharide synthesis in the gut of *A. japonicus***

In the same gene, different superscript letters represent significant differences ( $P<0.05$ ).

### 3 讨论

#### 3.1 岩藻多糖对刺参生长和体成分及消化酶的影响

本实验中当岩藻多糖添加量在 0.5%~1.5% 时可显著提高刺参 WGR、SGR 和 IBR, 促进脂肪积累, 表明添加适量岩藻多糖能促进刺参的生长和体壁脂肪的沉积。已有研究表明, 岩藻多糖结构中的硫酸基和岩藻糖与幽门螺杆菌有很强的结合作用, 可抑制幽门螺杆菌生长并阻止其黏附<sup>[7]</sup>。同时由于硫酸基可降低肠道 pH, 低 pH 的环境能有效抑制致病菌增殖。Wei 等<sup>[8]</sup>发现添加岩藻多糖能够有效富集降解岩藻多糖的微生物, 而这些微生物同时还能分泌大量的褐藻酸盐裂解酶、纤维素酶等<sup>[9]</sup>, 褐藻酸盐裂解酶能够降解褐藻胶, 而褐藻胶是限制藻粉在饲料中利用率的主要物质之一。本实验中岩藻多糖促进刺参生长可能原因是添加岩藻多糖改

善了肠道环境, 抑制致病菌增殖, 诱导相关产岩藻多糖降解酶和褐藻胶裂解酶的微生物丰度升高, 从而提升了刺参对饲料的利用率。

当岩藻多糖添加量超过 1.5% 时, 刺参的 WGR 和体壁脂肪含量显著下降, 表明饲料中添加过高的岩藻多糖能抑制刺参的生长。有研究表明, 岩藻多糖经肠道微生物发酵产生了大量的短链脂肪酸 (SCFAs), SCFAs 可间接抑制肠道蠕动和消化酶的分泌<sup>[10]</sup>。此外, 岩藻多糖可通过上调线粒体棕色脂肪解偶联蛋白 1 激活棕色脂肪 (BAT), BAT 中含有丰富的线粒体, 因而增加能量消耗<sup>[11]</sup>。同时岩藻多糖还能通过降低肠道菌群中厚壁菌与拟杆菌的丰度比值, 减少机体对能量的吸收, 从而抑制生长和脂肪沉积<sup>[12]</sup>。

本实验中, 随着岩藻多糖添加浓度升高, 刺参幼参体壁脂肪酸中 C16:0、C18:1n-9c、DHA 都呈先上升后下降趋势, ARA 含量呈下降的趋势, 表明适当浓度下岩藻多糖能够促进 C16:0、C18:1n-9c 和 DHA 的合成, 可能的原因是适量岩藻多糖能够促进脂肪的消化吸收, 为脂肪酸合成提供营养物质。但随着岩藻多糖的添加, C16:0 和 C18:1n-9c 含量显著下降, 这可能与肠道中 SCFAs 浓度有关, 较高的 SCFAs 对体内甘油三酯合成有抑制作用, 进而导致脂肪酸的合成受到抑制<sup>[13]</sup>。ARA 含量中其他组显著低于 D0 和 D1 组, 表明岩藻多糖添加浓度超过 0.5% 时显著降低了刺参体内 ARA 沉积。由于 ARA 与细胞的氧化过程联系紧密, 而岩藻多糖作为免疫增强剂能够刺激吞噬细胞呼吸爆发, 并产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 氧化细胞膜中的 ARA, 导致细胞膜中 ARA 含量降低<sup>[14]</sup>。当岩藻多糖添加浓度超过 1.5% 时, DHA 显著下降。有研究表明, 当机体内 SCFAs 浓度过高时将引起肠道的炎症反应, 进而导致大量 ROS 产生, 加剧 ARA 的氧化流失, 机体为了维持细胞膜的功能, 通过 DHA 竞争结合氧化酶, 从而减缓 ARA 的氧化<sup>[15]</sup>。

本实验中, 刺参肠道淀粉酶和脂肪酶活性呈先上升后下降的趋势, 在 D3 组达到最大值。表明适量的岩藻多糖能通过改善肠道环境以促进肠道消化酶的分泌, 进而提高了淀粉酶和脂肪酶活性; 当岩藻多糖添加过量时, 淀粉酶可

与岩藻多糖结合而使其活性受到抑制<sup>[16]</sup>。

### 3.2 岩藻多糖对刺参肠道抗氧化和免疫酶的影响

已有研究表明, 岩藻多糖在体外有较明显的抗氧化活性, 是潜在的抗衰老功能添加剂<sup>[17]</sup>, 同时也是一种能够诱导抗原特异性免疫激活的佐剂<sup>[18]</sup>。非特性免疫是刺参机体应对外来刺激的主要免疫方式, 其免疫实现主要依赖于体内的吞噬细胞。LZM 能水解细菌细胞壁的肽聚糖使细菌溶解, 还可与病毒蛋白直接结合使病毒失活, 因此 LZM 活性反映了体内的免疫水平。本实验发现适量的岩藻多糖能够刺激机体非特异性免疫反应, 提升 LZM 活性, 已有的研究也表明岩藻多糖可以增加巨噬细胞的吞噬能力和提升 LZM 活性<sup>[19]</sup>。但当岩藻多糖浓度过大而超过机体承受范围时, 机体 LZM 水平反而下降, 刘云等<sup>[20]</sup>也曾得出类似结论。造成这种结果的原因可能是当岩藻多糖浓度较低时, 能够促进巨噬细胞向 M1 极化, 提高 LZM 活性并增强吞噬能力<sup>[21]</sup>, 而当岩藻多糖浓度较高时, 肠道菌群发酵生成的高浓度 SCFAs 会损伤肠黏膜并诱发炎症反应, 同时 SCFAs 中高浓度的丙酸和丁酸会刺激免疫细胞的组蛋白乙酰化和钙离子内流而减弱吞噬细胞的免疫效应<sup>[22]</sup>。

由于机体在代谢过程中会产生大量的 ROS, 具有细胞毒性的 ROS 能氧化生物膜, 还能通过脂氢过氧化物的分解产物 MDA 引起细胞损伤<sup>[23]</sup>。SOD 可以清除内部 ROS, 减轻 ROS 的毒性作用, 保护生物免受氧化损伤, 其活性可以反映机体抵抗氧化应激的能力, MDA 含量反映了细胞损伤的程度。本实验中 SOD 活性 D0 组均低于其他组, 而 MDA 含量 D0 组均高于其他组, 表明岩藻多糖能够促进抗氧化酶的合成与分泌, 有效清除 ROS 以减轻氧化应激对组织的损伤。在本实验中添加 0.5% 的岩藻多糖能够显著发挥免疫增强作用提升 SOD 活性, 同时降低 MDA 含量。随着岩藻多糖的增加, MDA 含量有一定程度的升高, 可能原因为岩藻多糖刺激吞噬细胞的呼吸爆发生成大量 ROS, 而刺参的抗氧化系统保护作用有限, 导致 MDA 升高。

### 3.3 岩藻多糖对刺参肠道糖脂代谢的影响

糖酵解和糖异生在糖代谢过程中调节葡萄糖稳态并提供能量<sup>[24]</sup>, PFK 和 PK 属于糖酵解

中的关键酶, 能调控糖酵解途径的方向与速率。PEPCK 是糖异生中的关键限速酶。在本实验中刺参肠道 PFK 和 PK 活性总体都呈下降趋势, PEPCK 活性先降低再上升后趋于平稳。结果表明添加岩藻多糖能够抑制刺参的糖酵解和糖异生途径, 当添加量大于 1.5% 时 PFK 持续下降, PEPCK 活性趋于平稳, 可能原因是肠道菌群代谢产物 SCFAs 加剧了对糖酵解途径的抑制而减弱了对糖异生途径的抑制<sup>[25]</sup>。

FAS 是脂肪酸合成过程中的关键酶, 能够催化丙二酰-CoA 延伸合成饱和脂肪酸。CPT-1 是调节线粒体  $\beta$  氧化的关键酶, 其活性水平可以反映脂肪酸的氧化分解速率。在本实验中, FAS 活性和 CPT1 活性均呈先上升后下降的趋势, 且发现其变化趋势与体壁粗脂肪的含量一致。表明适量岩藻多糖能够提升脂肪代谢水平并促进脂肪积累。这可能是因为低浓度的岩藻多糖能够促进丙酮酸代谢, 合成脂肪酸前体。此外, 岩藻多糖可经转运蛋白和胞饮作用直接参与机体调控<sup>[26]</sup>, 通过上调 PPAR $\alpha$  激活靶基因 CPT-1, 间接增强脂肪酸的  $\beta$  氧化。随着岩藻多糖浓度升高, FAS 和 CPT1 活性均下降, 可能是由于高浓度岩藻多糖可下调 HMG-CoA-R 和 LCAT, 抑制胆固醇合成, 同时下调 SREBP-1 抑制 FAS 合成脂肪酸<sup>[27]</sup>。CPT1 活性下降则可能由于机体为了避免因脂肪酸过度氧化流失而采取的修复调节机制。

### 3.4 岩藻多糖对刺参多糖合成的影响

刺参多糖合成途径包含 GDP-岩藻糖、FuCS 和 FCS 合成途径, 由于 FCS 合成研究较少, 其在动物体内合成的机制和涉及关键酶还不明确, 故本实验针对 GDP-岩藻糖合成途径和 FuCS 合成途径展开研究。

GDP-岩藻糖合成途径分为从头合成途径和补救途径, 两种途径在合成 GDP-岩藻糖过程中使用的底物不同, 从头合成途径起始于葡萄糖, 经一系列酶合成 GDP-甘露糖, 在 GDP-甘露糖 4,6 脱水酶 (GMD) 作用下将其脱水生成 GDP-岩藻糖<sup>[28]</sup>。补救途径则是从岩藻单糖经岩藻糖激酶等酶催化直接合成 GDP-岩藻糖。正常情况下机体内从头合成途径提供的 GDP-岩藻糖约占 90%<sup>[29]</sup>。GMD 作为 GDP-岩藻糖从头合成途径的限速酶, 具有调控 GDP-岩藻糖合成速率的作用<sup>[30]</sup>。FUK 是 GDP-岩藻糖补救合成途径中的



关键酶, 能够独立完成从 L-岩藻糖合成 GDP-岩藻糖的过程<sup>[31]</sup>。本实验中 D2 组 *gmd* 表达量显著低于 D0 组 ( $P<0.05$ ), *fuk* 表达量显著高于 D0 组 ( $P<0.05$ ), 表明添加岩藻多糖抑制了刺参体内 GDP-岩藻糖的从头合成途径而促进了补救途径。李雯<sup>[32]</sup>发现补救途径合成 GDP-岩藻糖的效率是从头合成的 2 倍, 表明添加岩藻多糖激活了补救途径, 并且提供了大量的 GDP-岩藻糖, 而高浓度 GDP-岩藻糖能抑制其从头合成途径中 *gmd* 的表达<sup>[33]</sup>。

FuCS 合成途径主要包含 FuCS 糖链的延伸和磺基修饰, 在硫酸软骨素合成酶 (CHSY) 催化作用下, 二糖单元葡萄糖醛酸 (GlcUA) 和 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 依次通过  $\beta$ -1,3 和  $\beta$ -1,4 糖苷键连接延伸并形成硫酸软骨素骨架, FuCS 在胞内合成后分泌至胞外, 与胶原蛋白结合形成复合体, 共同发挥支撑组织形态的生物学作用<sup>[34]</sup>。硫酸软骨素磺基转移酶 (CHST) 将 3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸 (PAPS) 上的磺基转移至糖链上 GalNAc 的侧链上<sup>[35]</sup>。同时在岩藻糖基转移酶作用下将岩藻糖连接至 GlcUA 上, 最终形成高度岩藻糖基化和磺基化的 FuCS。CHSY 是延伸 FuCS 主链的关键酶, CHST 是实现 FuCS 磺基修饰的关键酶<sup>[36]</sup>。本实验中 D2 组 *chst*、*chsy* 表达量升高, 表明岩藻多糖添加能够增强 FuCS 合成途径表达。

#### 4 结论

饲料中添加适量的岩藻多糖能够促进刺参生长, 影响体壁多不饱和脂肪酸积累, 并提升刺参免疫和抗氧化能力, 岩藻多糖能够促进刺参岩藻糖合成的补救途径并抑制从头途径, 提升体内 GDP-岩藻糖合成能力, 岩藻多糖能够增强刺参体内合成 FuCS 的能力。以增重率为评价标准, 初始体重为 (16.75±0.07) g 的刺参幼参饲料中岩藻多糖的最适添加量为 1.116%。

#### 参考文献 (References):

[1] 樊绘曾, 陈菊娣, 吕培宏, 等. 玉足海参酸性多糖的研究 [J]. 药学学报, 1983, 18(3): 203-208.  
Fan H Z, Chen J D, Lu P H, et al. Acidic polysaccharides from *Holothuria leucospilota* (Brandt)[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1983, 18(3): 203-208 (in Chinese).

[2] 张文清, 左萍萍, 徐辰, 等. 海带中岩藻多糖的分离纯化与结构分析 [J]. 食品科学, 2012, 33(1): 68-71.  
Zhang W Q, Zuo P P, Xu C, et al. Isolation, purification and

structural analysis of fucoidan from kelp[J]. Food Science, 2012, 33(1): 68-71 (in Chinese).

[3] Korolenko T A, Bgatova N P, Ovsyukova M V, et al. Hypo-lipidemic effects of  $\beta$ -glucans, mannans, and fucoidans: mechanism of action and their prospects for clinical application[J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 1819.

[4] Palanisamy S, Vinoshia M, Rajasekar P, et al. Antibacterial efficacy of a fucoidan fraction (Fu-F2) extracted from *Sargassum polycystum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125: 485-495.

[5] 郭广振, 杨伟光, 刘娟, 等. 岩藻多糖对断奶羔羊生长性能、器官指数及血清生化、抗氧化和免疫指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2022, 34(5): 3122-3131.  
Guo G Z, Yang W G, Liu J, et al. Effects of fucoidan on growth performance, organ indices and serum biochemical, antioxidant and immune indices of weaned lambs[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2022, 34(5): 3122-3131 (in Chinese).

[6] Chen Q C, Liu M, Zhang P Y, et al. Fucoidan and galactooligosaccharides ameliorate high-fat diet-induced dyslipidemia in rats by modulating the gut microbiota and bile acid metabolism[J]. *Nutrition*, 2019, 65: 50-59.

[7] Cai J M, Kim T S, Jang J Y, et al. *In vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* activities of FEMY-R7 composed of fucoidan and evening primrose extract[J]. *Laboratory Animal Research*, 2014, 30(1): 28-34.

[8] Wei B, Zhang B, Du A Q, et al. Saccharina japonica fucan suppresses high fat diet-induced obesity and enriches fucoidan-degrading gut bacteria[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 290: 119411.

[9] Pilgaard B, Wilkens C, Herbst F A, et al. Proteomic enzyme analysis of the marine fungus *Paradendryphiella salina* reveals alginate lyase as a minimal adaptation strategy for brown algae degradation[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 12338.

[10] Erejuwa O O, Sulaiman S A, Wahab M S A. Modulation of gut microbiota in the management of metabolic disorders: the prospects and challenges[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(3): 4158-4188.

[11] Zuo J H, Zhang Y, Wu Y, et al. *Sargassum fusiforme* fucoidan ameliorates diet-induced obesity through enhancing thermogenesis of adipose tissues and modulating gut microbiota[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 216: 728-740.

[12] Lee S H, Ko C I, Ahn G, et al. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 89(2): 599-606.

[13] Ohira H, Tsutsui W, Mamoto R, et al. Butyrate attenuates lipolysis in adipocytes co-cultured with macrophages through non-prostaglandin E2-mediated and prostaglandin E2-mediated pathways[J]. *Lipids in Health and Disease*, 2016, 15(1): 213.

[14] Li C, Xing X, Qi H Q, et al. The arachidonic acid and its metabolism pathway play important roles for *Apostichopus japonicus* infected by *Vibrio splendens*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2022, 125: 152-160.

[15] 夏延平, 苏宜香. n-3 多不饱和脂肪酸影响炎症及免疫分子机制研究进展 [J]. 现代免疫学, 2004, 24(6): 517-519.  
Xia Y P, Su Y X. Research progress of n-3 polyunsaturated

- fatty acids affecting inflammation and the molecular mechanisms of immunity.[J]. *Modern Immunology*, 2004, 24(6): 517-519 (in Chinese).
- [16] Senthil L S, Chandrasekaran R, Arjun H A, *et al.* *In vitro* and *in silico* inhibition properties of fucoidan against  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -D-glucosidase with relevance to type 2 diabetes mellitus[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 209: 350-355.
- [17] 程仕伟, 陈超男, 冯志彬, 等. 海带岩藻多糖的水提制备及其抗氧化活性研究 [J]. *食品科学*, 2010, 31(6): 101-104.  
Cheng S W, Chen C N, Feng Z B, *et al.* Water extraction and antioxidant activity of fucoidan from *Laminaria japonica*[J]. *Food Science*, 2010, 31(6): 101-104 (in Chinese).
- [18] Jin J O, Zhang W, Du J Y, *et al.* Fucoidan can function as an adjuvant *in vivo* to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T cell immune responses[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e99396.
- [19] Choi E M, Kim A J, Kim Y O, *et al.* Immunomodulating activity of arabinogalactan and fucoidan *in vitro*[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2005, 8(4): 446-453.
- [20] 刘云, 孔伟丽, 姜国良, 等. 2 种免疫多糖对刺参组织主要免疫酶活性的影响 [J]. *中国水产科学*, 2008, 15(5): 787-793.  
Liu Y, Kong W L, Jiang G L, *et al.* Effects of two kinds of immunopolysaccharide on the activities of immunoenzymes in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, 15(5): 787-793 (in Chinese).
- [21] Makarenkova I D, Logunov D Y, Tukhvatulin A I, *et al.* Interactions between sulfated polysaccharides from sea brown algae and Toll-like receptors on HEK293 eukaryotic cells *in vitro*[J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2012, 154(2): 241-244.
- [22] Shi Y B, Xu M Z, Pan S, *et al.* Induction of the apoptosis, degranulation and IL-13 production of human basophils by butyrate and propionate via suppression of histone deacetylation[J]. *Immunology*, 2021, 164(2): 292-304.
- [23] Winston G W, Di Giulio R T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms[J]. *Aquatic Toxicology*, 1991, 19(2): 137-161.
- [24] Pilkis S J, Claus T H. Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes[J]. *Annual Review of Nutrition*, 1991, 11: 465-515.
- [25] Salamone D, Rivellese A A, Vetrani C. The relationship between gut microbiota, short-chain fatty acids and type 2 diabetes mellitus: the possible role of dietary fibre[J]. *Acta Diabetologica*, 2021, 58(9): 1131-1138.
- [26] Imbs T I, Zvyagintseva T N, Ermakova S P. Is the transformation of fucoidans in human body possible?[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 142: 778-781.
- [27] Ren D D, Wang Q K, Yang Y, *et al.* Hypolipidemic effects of fucoidan fractions from *Saccharina sculpera* (Laminariales, Phaeophyceae)[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 140(9): 188-195.
- [28] Ginsburg V. Studies on the biosynthesis of guanosine diphosphate  $\alpha$ -L-fucose[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1961, 236: 2389-2393.
- [29] Tonetti M, Sturla L, Bisso A, *et al.* The metabolism of 6-deoxyhexoses in bacterial and animal cells[J]. *Biochimie*, 1998, 80(11): 923-931.
- [30] Ohyama C, Smith P L, Angata K, *et al.* Molecular cloning and expression of GDP-D-mannose-4, 6-dehydratase, a key enzyme for fucose metabolism defective in Lec13 cells[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(23): 14582-14587.
- [31] Liu Y, Hu H F, Wang J, *et al.* Cryo-EM structure of L-fucokinase/GDP-fucose pyrophosphorylase (FKP) in *Bacteroides fragilis*[J]. *Protein Cell*, 2019, 10(5): 365-369.
- [32] 李雯. 代谢工程改造大肠杆菌产 2'-岩藻糖基乳糖 [D]. 无锡: 江南大学, 2021: 22.  
Li W. Metabolic engineering to synthesize 2'-fucosyllactose in *Escherichia coli*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021: 22 (in Chinese).
- [33] Sullivan F X, Kumar R, Kriz R, *et al.* Molecular cloning of human GDP-mannose 4, 6-dehydratase and reconstitution of GDP-fucose biosynthesis *in vitro*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 273(14): 8193-8202.
- [34] Wang J, Chang Y G, Wu F X, *et al.* Fucosylated chondroitin sulfate is covalently associated with collagen fibrils in sea cucumber *Apostichopus japonicus* body wall[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 186: 439-444.
- [35] Mikami T, Kitagawa H. Biosynthesis and function of chondroitin sulfate[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 2013, 1830(10): 4719-4733.
- [36] 李琛, 郝瑞娟, 王庆恒, 等. 马氏珠母贝磺基转移酶 *PmCHST11* 基因的分子特征与表达分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(1): 150-157.  
Li C, Hao R J, Wang Q H, *et al.* Molecular characterization and expression analysis of *PmCHST11* gene from sulfotransferase of *Pinctada martensii*[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2017, 36(1): 150-157 (in Chinese).

## Effects of dietary fucoidan on growth performance, digestion, immunity, antioxidant and glucolipid metabolism of juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)

LIU Jingwei<sup>1,2</sup>, LI Baoshan<sup>2\*</sup>, WANG Jiying<sup>2\*</sup>, JIA Xuchen<sup>3</sup>, LU Guofeng<sup>1,2</sup>,  
HAO Tiantian<sup>2</sup>, WANG Xiaoyan<sup>2</sup>, SUN Yongzhi<sup>2</sup>

1. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding,  
Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,  
National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,  
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Yantai Key Laboratory of Quality and Safety Control and Deep Processing of Marine Food, Key Laboratory of  
Marine Ecological Restoration, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China;

3. Shandong Anyuan Seed Industry Technology Co., Ltd., Yantai 265617, China

**Abstract:** Sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) is an aquatic economic variety with great nutritional value, and its polysaccharide is one of the main functional substances in the body of *A. japonicus*, which has the function of anti-oxidation and immunity promotion. With the development of *A. japonicus* breeding industry, the formula feed of *A. japonicus* puts forward higher requirements. Fucoidan is rich in fucoses, which can regulate animals' immunity and lipid metabolism. This study investigated the effects of dietary fucoidan on growth performances, digestion, immunity, antioxidant and glucolipid metabolism of *A. japonicus*. A total of six isonitrogen and isoenergetic experimental diets were formulated to contain graded levels of fucoidan, which named 0.00% (D0), 0.44% (D1), 0.88% (D2), 1.41% (D3), 1.89% (D4) and 2.38% (D5) dry diets. Each diet was randomly assigned to triplicate tanks of *A. japonicus* with initial body weight of (16.75±0.07) g for 60 days. The result showed: ① The weight gain rate of sea cucumber in D2 and D3 groups was significantly higher than in D0 group ( $P<0.05$ ). The body wall crude fat and polysaccharide contents of *A. japonicus* reached the maximum in D2 and D3 groups, respectively. Lipase activity in D1 and D2 groups was significantly higher than in other groups ( $P<0.05$ ). Amylase activity in D3 group was significantly higher than in other groups ( $P<0.05$ ). ② The activities of intestinal lysozyme and superoxide dismutase reached the maximum value in D4 group. Malondialdehyde content in group D1 was significantly lower than in other groups ( $P<0.05$ ). ③ Phosphofructokinase activity in D2 group was significantly lower than that in D0 and D1 groups ( $P<0.05$ ), pyruvate kinase in D3 group was significantly lower than that in other groups ( $P<0.05$ ). The activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase reached the minimum value in D2 group. The activities of fatty acid synthase and carnitine palmitoyl transferase-1 in D1 and D2 groups were significantly higher than those in other groups ( $P<0.05$ ). ④ The fluorescence quantitative results showed that the expression level of GDP-mannose-4, 6 dehydrase in D2 group was significantly lower than that in D0 group ( $P<0.05$ ), while fucokinase, sulfotransferase, chondroitin sulfate and synthase in D2 group were significantly higher than that in D0 group ( $P<0.05$ ). The effects of dietary fucoidan could promote the growth of *A. japonicus*, improved the digestive, immune and antioxidant capacity of the body, increased the efficiency of lipid metabolism, and decreased the efficiency of glucose metabolism. It was found that the fucoidan could inhibit the de novo pathway of GDP-fucose, promote the salvage pathway, and up-regulate the synthesis pathway of chondroitin sulfate polysaccharide. With the weight gain rate as an evaluation indicator, quadratic regression analysis showed that the optimum dietary fucoidan of *A. japonicus* with body weight 16.75 g was 1.116% diet. This study can provide theoretical basis for the rational utilization of Fucoidan and the deposition of chondroitin sulfate polysaccharide in the diet of *A. japonicus*, and promoting the high-quality development of *A. japonicus* aquaculture.

**Key words:** *Apostichopus japonicus*; fucoidan; growth; immunity; glycolipid metabolism

**Corresponding authors:** LI Baoshan. E-mail: [bsleeyt@126.com](mailto:bsleeyt@126.com);

WANG Jiying. E-mail: [ytwjy@126.com](mailto:ytwjy@126.com)

**Funding projects:** Shandong Sea Cucumber Industrial Technology System (SDAIT-22-06); Yantai Science and Technology Innovation Development Plan (2023JCYJ090)