

## 壳聚糖投喂方式对草鱼抗饥饿胁迫能力的影响

韩加凤, 华雪铭\*, 黄旭雄, 王军, 于宁, 周洪琪

(上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点开放实验室, 上海 201306)

**摘要:**在基础饲料中添加0.5%的壳聚糖,采用3种不同的投喂方式(方式A:连续投喂基础饲料,对照组;方式B:连续投喂添加0.5%壳聚糖的饲料,连续组;方式C:先投喂0.5%壳聚糖饲料再投喂基础饲料且每15天间隔投喂,不连续组)饲喂初始体重(19.46±0.04)g的草鱼60d后,对草鱼进行饥饿胁迫处理[各投喂方式分为投喂组(feeding, F)和饥饿组(starvation, S)],以生长、一氧化氮(nitrogen oxide, NO)含量和溶菌酶(lysozyme, LSZ)活性为指标考察壳聚糖不同投喂方式对草鱼抗饥饿胁迫处理的能力。结果显示,(1)连续组和不连续组60d时草鱼增长率和增重率显著高于对照组( $P < 0.05$ ),15d饥饿处理后也呈现投喂组和饥饿组的增长率和增重率高于对照组的趋势( $P > 0.05$ );(2)对照组头肾、肝胰脏NO含量和血清、头肾溶菌酶活性饥饿组显著高于投喂组( $P < 0.05$ ),连续组除头肾外NO含量和各组织溶菌酶活性饥饿组显著低于投喂组( $P < 0.05$ )或与投喂组无显著差异( $P > 0.05$ ),不连续组除脾脏外NO含量和除肝胰脏外的溶菌酶活性饥饿组显著低于投喂组( $P < 0.05$ )或与投喂组无显著差异( $P > 0.05$ )。显然,饥饿对不同组织的影响不同,不同处理对草鱼抗应激能力的影响也不同。相比较而言,连续组和不连续组比对照组有更高的抗饥饿胁迫能力,但两组之间无显著差异( $P > 0.05$ )。结合经济性与实用性来考虑,建议采用不连续投喂的方式给予草鱼壳聚糖,以提高其生长性能和抗饥饿胁迫的能力。

**关键词:**草鱼;壳聚糖;投喂方式;生长;NO含量;溶菌酶活性

**中图分类号:**S 963.73

**文献标识码:**A

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是我国传统的淡水鱼品种,具有饲养成本低、经济效益高、生长速度快、上市个体大、肉质细嫩等特点,但因抗病力差、成活率低,整个饲养过程中时常受出血病、烂鳃病、赤皮病和肠炎病(俗称草鱼“四病”)等的侵扰,其规模化养殖大受阻碍。

壳聚糖(chitosan)为 $\beta$ -(1,4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖( $\beta$ -1,4-2-amino-2-deoxy-D-glucose)的线性同聚物,是甲壳素(chitin)脱乙酰基后的产物。壳聚糖因其能够提高水产动物的非特异性免疫功能<sup>[1-2]</sup>从而增强其抗感染能力<sup>[3-6]</sup>,并能提高其生产性能,故在水产养殖中被用作免疫刺激剂<sup>[7]</sup>。在已有研究中,壳聚糖作为饲料添加剂使

用时均为连续投喂,但众多研究表明,免疫刺激剂的使用效果存在时间效应<sup>[1-2,6,8-9]</sup>,即使用时间过长反而引起免疫疲劳,于是,有研究人员开始探索间断投喂对缓解这种现象的可能<sup>[10-12]</sup>。

饥饿为鱼类生活史中经常面临的环境胁迫因子之一。在自然界以及人工饲养条件下,由于各种原因均可导致鱼类出现饥饿现象。目前,对鱼类饥饿的研究主要集中在生理生态方面,而饥饿对鱼类免疫机能影响的研究还较少。因此,本试验以草鱼为对象,以生长、一氧化氮(nitrogen oxide, NO)含量和溶菌酶(lysozyme, LSZ)活性为指标考察不同投喂方式对草鱼抗饥饿胁迫能力的影响,旨在了解壳聚糖间断投喂的可能性,为其在

收稿日期:2009-08-05 修回日期:2009-12-01

资助项目:上海市重点学科建设项目(Y1101);上海海洋大学优秀青年教师跟踪基金;中国水产科学研究院热带亚热带鱼类选育与养殖重点开放实验室课题

通讯作者:华雪铭, E-mail: xmhua@shou.edu.cn

饲料中的合理应用提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计

试验设置 3 个组,分别为对照组、连续投喂组和不连续投喂组,分别用 A、B、C 来表示。其中对照组投喂基础饲料,连续投喂组投喂添加 0.5% 壳聚糖的饲料,不连续投喂组先投喂 0.5% 壳聚糖饲料再投喂基础饲料且每 15 天<sup>[13]</sup> 间隔投喂。饲养草鱼 60 d 后,对试验草鱼进行饥饿胁迫处理,此时每组分为投喂组(投喂相应的饲料)和饥饿组(不投喂饲料),15 d 后采样测定草鱼生长指标、NO 含量及溶菌酶活性。

### 1.2 试验饲料

壳聚糖由本实验室自行提取。试验饲料分为基础饲料和添加 0.5% 壳聚糖的饲料。按试验设计采用逐级扩大混合的方法将粉状原料混匀后,用制粒机加工成直径 4 mm 的颗粒,晾干备用。试验饲料营养物质含量见表 1。

表 1 试验饲料配方及营养组成

Tab.1 Formulas and nutrient compositions of trial diets

成分 ingredients	含量(%) content	
	基础组 control	试验组 experiment
鱼粉 fish meal	5	5
大豆粕 soybean meal	20	20
菜籽粕 rapeseed extraction	20	20
棉籽粕 cotton seed meal	10	10
次粉 wheat middling	23.3	22.8
小麦麸 wheat bran	12	12
复合多维 vitamins premix	0.2	0.2
复合矿物质 minerals premix	0.5	0.5
氯化胆碱 choline chloride	0.5	0.5
大豆油 bean oil	1.5	1.5
磷酸二氢钙 Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2	2
米糠饼 rice bran	5	5
壳聚糖 chitosan	0	0.5
营养成分 nutrient ingredients (% dry matter)		
干物质 dry matter	88.12	88.29
粗灰分 crude ash	8.33	8.48
粗蛋白 crude protein	37.70	37.65
粗脂肪 crude lipid	4.00	4.07

注:复合多维、复合矿物质购于佛山市德宁生物科技有限公司。

Notes: Vitamins premix and minerals premix were obtained from Dening Bio-Tech inc.

### 1.3 饲养管理

在上海海洋大学南汇特种水产养殖场进行饲

养试验。室内水泥池中放置 18 个网箱(网箱规格为 1.6 m × 1.4 m × 1 m),挑选健壮、规格整齐的草鱼[(9.46 ± 0.19) cm, (19.46 ± 0.04) g]随机分入网箱,每组设置 3 个重复,每个重复 15 尾草鱼。试验前用基础饲料驯养 2 周,待摄食正常后开始正式试验。2008 年 8 月 7 日至 10 月 5 日进行生长试验,为期 60 d,每天投喂 3 次(08:30、12:00、16:30),饱食投喂,投喂量随鱼体质量、天气及摄食情况加以调整,并且无天然饵料补充。试验期间,自然水温 24 ~ 30 °C,保持 NH<sub>4</sub>-N < 0.3 mg/L,溶氧 > 5.0 mg/L。

生长试验结束后,按试验设计对试验草鱼进行饥饿胁迫处理,此时每组分为投喂组(投喂相应的饲料)和饥饿组(不投喂饲料),周期为 15 d,期间自然水温 22 ~ 27 °C,保持 NH<sub>4</sub>-N < 0.3 mg/L,溶氧 > 5.0 mg/L。

### 1.4 测定指标与方法

生长指标

增长率(%) = (末体长 - 初始体长) / 初始体长 × 100

增重率(%) = (末体重 - 初始体重) / 初始体重 × 100

NO 含量及溶菌酶活性的测定

(1) 样品采集及匀浆液的制备:试验结束前将试验鱼饥饿 24 h,尾静脉取血,4 °C 冰箱中静置一夜,离心(6 000 r/min, 4 °C, 10 min)制血清。冰盘中解剖,取出头肾、脾脏和肝胰脏, -20 °C 保存备用。头肾、脾脏、肝胰脏于室温下自然解冻,滤纸吸干水分,称重,加入 9 倍体积的 0.1 mol/L, pH 6.4 的 PBS 匀浆,离心(6 000 r/min, 4 °C, 20 min),上清液为测定液。血清室温解冻后直接测定。

(2) NO 含量的测定(μmol/g prot):采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,利用硝酸还原酶法测定草鱼各组织和血清中的 NO 含量。

(3) 溶菌酶活性的测定:以溶壁微球菌(*Micrococcus lysolei*)冻干粉(购自南京建成生物工程研究所)为底物,将底物用 0.1 mol/L, pH 6.4 的 PBS 配成一定浓度的悬液(OD<sub>570nm</sub> ≈ 0.3),取 3 mL 的该悬液与 200 μL 的测定液或血清于试管中混匀,立即在 570 nm 处测定透光率 T<sub>0</sub>,在 37 °C 中水浴 30 min,然后取出立刻放在冰浴中 10 min 以终止反应,再测透光率 T。以溶菌

酶标准品(200 U/L)为参照。草鱼组织和血清中溶菌酶活性( $A_L$ )的计算方法为

$$A_L (\text{U/mg prot}) = (T_{\text{样品}} - T_{\text{样品0}}) / (T_{\text{标准}} - T_{\text{标准0}}) \times \text{标准管酶活力 } 200 (\text{U/mL}) / \text{匀浆液或血清中蛋白含量} (\text{mg/mL})$$

(4)组织蛋白含量的测定:采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,利用考马斯亮蓝法测定组织和血清中蛋白含量。

### 1.5 数据处理

试验数据以平均值  $\pm$  标准差表示。利用 SPSS 11.5 软件进行统计,one-way-ANOVA 进行单因素方差分析,差异显著者再进行 Duncan 氏多重比较, $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 60 d 生长试验结束时草鱼增长率和增重率

由表 2 可知,60 d 生长试验结束时,草鱼增长

率为不连续组显著高于连续组高于对照组( $P < 0.05$ );增重率为不连续组和连续组显著高于对照组( $P < 0.05$ ),但不连续组和连续组之间无显著性差异( $P > 0.05$ )。

### 2.2 投喂 60 d 再饥饿 15 d 后草鱼的生长指标

用不同方式投喂壳聚糖再饥饿对草鱼生长指标的影响见表 3。按 3 种投喂方式投喂后,投喂组增长率为不连续组和连续组高于对照组但 3 组间不具差异性,增重率依次为不连续组高于连续组高于对照组但不具差异性( $P > 0.05$ );饥饿组增长率和增重率显著低于对应的投喂组( $P < 0.05$ ),且 3 种方式中饥饿组增长率和增重率依次为不连续组高于连续组高于对照组,但无显著性差异( $P > 0.05$ )。对照组、连续组,不连续组中饥饿组增长率比对应的投喂组分别下降了 13.72%、12.89%、12.17%,增重率饥饿组比对应的投喂组分别降低了 32.22%、29.27%、26.84%。

表 2 60 d 时草鱼的增长率和增重率

Tab.2 Length gain and weight gain of grass carp at the end of 60 days feeding

组别 groups	末体长(cm) final length	增长率(%) length gain	末体重(g) final weight	增重率(%) weight gain
对照组 control	15.30 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	61.73 $\pm$ 2.51 <sup>a</sup>	63.67 $\pm$ 4.70 <sup>a</sup>	227.16 $\pm$ 24.16 <sup>a</sup>
连续组 continuous	16.39 $\pm$ 0.90 <sup>b</sup>	72.53 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>	74.20 $\pm$ 1.94 <sup>b</sup>	281.29 $\pm$ 9.98 <sup>b</sup>
不连续组 incontinuity	16.85 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>	78.12 $\pm$ 2.52 <sup>c</sup>	74.22 $\pm$ 3.66 <sup>b</sup>	281.41 $\pm$ 18.82 <sup>b</sup>

注:表中同列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

Notes: Means with a different letter indicate different at  $P < 0.05$ . The same as following.

表 3 投喂 60 d 再饥饿 15 d 后草鱼的生长指标

Tab.3 Length gain and weight gain of grass carp after 60 days feeding and 15 days starvation

组别 groups	处理 treats	末体长(cm) final length	增长率(%) length gain	末体重(g) final weight	增重率(%) weight gain
对照组 control	投喂组 F	17.64 $\pm$ 0.73 <sup>bc</sup>	86.49 $\pm$ 7.71 <sup>b</sup>	108.75 $\pm$ 6.33 <sup>b</sup>	395.89 $\pm$ 1.22 <sup>bc</sup>
	饥饿组 S	16.59 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>	75.01 $\pm$ 7.77 <sup>a</sup>	86.75 $\pm$ 7.82 <sup>a</sup>	268.34 $\pm$ 63.07 <sup>a</sup>
连续组 continuous	投喂组 F	17.90 $\pm$ 0.86 <sup>c</sup>	89.22 $\pm$ 9.12 <sup>b</sup>	118.71 $\pm$ 9.12 <sup>b</sup>	408.37 $\pm$ 44.12 <sup>c</sup>
	饥饿组 S	16.73 $\pm$ 0.95 <sup>ab</sup>	77.72 $\pm$ 7.92 <sup>a</sup>	89.63 $\pm$ 7.80 <sup>a</sup>	288.83 $\pm$ 41.18 <sup>ab</sup>
不连续组 incontinuity	投喂组 F	17.88 $\pm$ 0.86 <sup>c</sup>	89.04 $\pm$ 9.06 <sup>b</sup>	116.94 $\pm$ 12.28 <sup>b</sup>	450.97 $\pm$ 63.81 <sup>c</sup>
	饥饿组 S	16.95 $\pm$ 1.70 <sup>abc</sup>	78.20 $\pm$ 9.67 <sup>a</sup>	94.00 $\pm$ 14.24 <sup>a</sup>	329.95 $\pm$ 21.8 <sup>abc</sup>

### 2.3 投喂 60 d 再饥饿 15 d 后草鱼各组织 NO 含量

壳聚糖用不同方式投喂再饥饿处理对草鱼各组织中 NO 含量的诱导能力各异。对照组头肾和肝胰脏的 NO 含量饥饿组显著高于投喂组( $P < 0.05$ ),脾脏 NO 含量饥饿组高于投喂组但无显著差异( $P > 0.05$ );连续组中除头肾外的 NO 含量饥饿组显著低于投喂组( $P < 0.05$ )或与投喂组无

显著差异( $P > 0.05$ );不连续组中除脾脏外的 NO 含量饥饿组显著低于投喂组( $P < 0.05$ )或与投喂组无显著差异( $P > 0.05$ )(表 4)。

### 2.4 投喂 60 d 再饥饿 15 d 后草鱼各组织溶菌酶活性

壳聚糖用不同方式投喂再饥饿处理对草鱼各组织中溶菌酶活性影响不同(表 5)对照组血清、头肾溶菌酶活性饥饿组显著高于投喂组( $P <$

0.05), 脾脏溶菌酶活性饥饿组高于投喂组, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 连续组中各组织的溶菌酶活性饥饿组显著低于投喂组 ( $P < 0.05$ ) 或与投喂组无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 不连续组中除肝胰

脏外的各组织中溶菌酶活性饥饿组显著低于投喂组 ( $P < 0.05$ ) 或与投喂组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表4 投喂60 d再饥饿15 d后草鱼各组织NO含量 ( $n=10$ )  
Tab.4 NO content of grass carp after 60 days feeding and 15 days starvation  $\mu\text{mol/g prot}$

组别 groups	处理 treats	血清 serum	头肾 head-kidney	脾脏 spleen	肝胰脏 hepatopancreas
对照组 control	投喂组 F	0.72 ± 0.18 <sup>b</sup>	20.50 ± 1.89 <sup>c</sup>	0.97 ± 0.21 <sup>a</sup>	0.72 ± 0.10 <sup>a</sup>
	饥饿组 S	0.45 ± 0.07 <sup>a</sup>	23.14 ± 2.18 <sup>d</sup>	1.20 ± 0.34 <sup>ab</sup>	1.77 ± 0.55 <sup>c</sup>
连续组 continuous	投喂组 F	0.61 ± 0.08 <sup>ab</sup>	1.38 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.36 ± 0.19 <sup>d</sup>	3.89 ± 0.68 <sup>d</sup>
	饥饿组 S	0.52 ± 0.13 <sup>a</sup>	3.93 ± 0.51 <sup>b</sup>	2.03 ± 0.37 <sup>cd</sup>	0.90 ± 0.05 <sup>ab</sup>
不连续组 incontinuity	投喂组 F	1.06 ± 0.09 <sup>c</sup>	1.11 ± 0.42 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.27 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.33 <sup>bc</sup>
	饥饿组 S	0.54 ± 0.12 <sup>ab</sup>	0.38 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.75 ± 0.49 <sup>bc</sup>	1.03 ± 0.14 <sup>ab</sup>

表5 投喂60 d天再饥饿15 d后草鱼各组织溶菌酶活性 ( $n=10$ )  
Tab.5 Lysozyme activity of grass carp after 60 days feeding and 15 days starvation U/mg prot

组别 groups	处理 treats	血清 serum	头肾 head-kidney	脾脏 spleen	肝胰脏 hepatopancreas
对照组 control	投喂组 F	0.07 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.94 ± 0.19 <sup>bc</sup>	0.41 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.10 <sup>b</sup>
	饥饿组 S	0.29 ± 0.03 <sup>bc</sup>	4.41 ± 0.70 <sup>d</sup>	0.53 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.09 <sup>a</sup>
连续组 continuous	投喂组 F	0.77 ± 0.18 <sup>d</sup>	3.40 ± 0.38 <sup>c</sup>	0.46 ± 0.03 <sup>a</sup>	2.00 ± 0.15 <sup>c</sup>
	饥饿组 S	0.87 ± 0.15 <sup>d</sup>	1.71 ± 0.47 <sup>a</sup>	0.36 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.10 <sup>d</sup>
不连续组 incontinuity	投喂组 F	0.34 ± 0.10 <sup>c</sup>	2.37 ± 0.25 <sup>b</sup>	4.55 ± 0.50 <sup>b</sup>	0.49 ± 0.12 <sup>b</sup>
	饥饿组 S	0.14 ± 0.02 <sup>ab</sup>	2.69 ± 0.27 <sup>b</sup>	0.24 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.75 ± 0.15 <sup>c</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 壳聚糖的促生长作用

饲料中添加适量的壳聚糖对养殖动物的生长具有促进作用, 且具剂量效应。常青等<sup>[14]</sup>发现, 饲料中添加0.5%和1.0%的壳聚糖能显著促进花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) 的生长, 这与华雪铭等<sup>[15]</sup>、陈勇等<sup>[16]</sup>的研究结果相似, 饲料中添加0.2%或0.5%壳聚糖能显著促进暗纹东方鲀 (*Fugu obscurus* Abe) 和异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 的生长, 但若添加过量, 则促生长作用减弱。Vinod等<sup>[17]</sup>研究发现, 饲料中添加0.5%壳聚糖能显著促进斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 的生长。Shiau等<sup>[18]</sup>对奥尼罗非鱼 (*O. niloticus* × *O. aureus*) 的研究显示, 罗非鱼增重率随壳聚糖添加量(2%、5%、10%)的增加而降低, 且10%壳聚糖会抑制罗非鱼的生长和降低饲料转化率。本试验在前期研究工作的基础上<sup>[19]</sup>按适宜添加量在连续组和不连续组饲料中各添加了0.5%壳聚糖, 因此, 其60 d生长试验结束时的增重率和增长率显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ),

15 d饥饿处理后也呈现投喂组和饥饿组的增重率和增重率均高于对照组的趋势 ( $P > 0.05$ ), 体现了壳聚糖连续和间断使用对草鱼均具有促生长作用。由试验结果还发现, 无论60 d生长结束时还是饥饿15 d后, 不连续组的增重率和增重率均有高于连续组的趋势但无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。由于连续组和不连续组之间抗饥饿胁迫能力无显著差异, 两组间免疫水平相当, 体现了生长和免疫之间的关联。

#### 3.2 壳聚糖的抗饥饿胁迫作用

饥饿是鱼类生活史中一种常见的环境胁迫因子, 有关饥饿与鱼体免疫功能关系的研究才刚刚起步。动物机体营养不良时, 会引起淋巴组织萎缩、体液免疫反应改变、细胞免疫机能下降、补体C3下降等一系列免疫机能的改变<sup>[20]</sup>, 故研究饥饿对鱼体免疫功能的影响具有重要意义。目前关于饥饿对养殖动物影响中常用的评价指标有溶菌酶<sup>[21-22]</sup>、皮质醇<sup>[21-22]</sup>、NO<sup>[23-24]</sup>等, 其中NO和溶菌酶由于检测方法成熟使其更具代表性。Peluso<sup>[25]</sup>和Wu<sup>[26]</sup>等分别研究发现, 水不溶性壳聚糖或壳聚糖在INF- $\gamma$ 的协同作用下均可刺激巨

噬细胞中 NO 的产生。史彬林<sup>[27]</sup>认为壳聚糖调节免疫功能的机理可能是通过调控免疫细胞 NO 和花生四烯酸的生成途径来实现的。溶菌酶因能水解细胞壁中粘肽的乙酰氨基多糖并使之裂解被释放出来,从而破坏和消除侵入体内的异物,因此在鱼体抵抗感染性致病物的防御机制中起着重要作用。鱼体内溶菌酶的水平 and 活性,直接关系到鱼类的免疫功能和健康<sup>[1-2]</sup>。

本试验选择测定草鱼各免疫器官(头肾、脾脏)、免疫相关组织(肝胰脏)及血清中 NO 含量和溶菌酶活性,有助于了解各免疫器官和组织所分泌的免疫因子的差异性、饥饿对不同免疫器官和组织差异性。结果表明,草鱼免疫器官和组织中的 NO 含量及溶菌酶活性的差异较大,头肾和脾脏中溶菌酶活性相对高于其他组织,在对花鲈<sup>[28]</sup>的研究中也发现相似的情况,这可能与各器官的功能有关。头肾、脾脏是鱼类重要的免疫器官,内含丰富的白血球,而鱼类溶菌酶主要是由嗜中性白细胞和单核细胞等白细胞产生的。饥饿处理后,各饲料组的 NO 含量和溶菌酶活性在各免疫器官和相关组织中的变化也不尽相同,体现出草鱼免疫系统耐饥饿胁迫的复杂性。由试验结果可知,壳聚糖按不同投喂方式饲养草鱼 60 d 后再饥饿处理,对照组饥饿处理后的草鱼各组织中 NO 含量和溶菌酶活性都有不同程度的升高,这与对黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)<sup>[29]</sup>、日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)<sup>[30]</sup>和 红 鳍 东 方 鲀(*Takifugu rubripes*)<sup>[31]</sup>的研究结果相似,即在饥饿初期均有一个免疫水平上升的变化。推测原因,短期饥饿后,草鱼产生营养性生理应激,致使非特异性免疫水平升高以维持机体的基本生理功能和适应外界环境的变化,因而使得 NO 含量和溶菌酶活性增高。从这个角度讲,连续和不连续组投喂壳聚糖后,饥饿组没有出现 NO 含量和溶菌酶活性普遍升高的现象,说明壳聚糖对草鱼耐饥饿胁迫产生的应激有非常积极的作用,其主要原因可能是在前 60 天的处理中,壳聚糖提高了草鱼的非特异性免疫力,使草鱼获得了较强的抵御外界环境刺激的能力。但连续组和不连续组之间的抗饥饿胁迫能力无显著性差异,可能与免疫刺激剂的种类、间隔投喂时间以及试验动物有关。不同的免疫刺激剂诱导免疫机能所维持的时间不同,从而决定了间隔投喂时间的合理选择。牙鲆

(*Paralichthys olivaceus*)<sup>[10]</sup>、斑节对虾<sup>[11]</sup>、日本对虾(*Penaeus japonicus*)<sup>[12]</sup>分别用 4 d 肽聚糖 + 3 d 对照料、10 d 几丁质 + 5 d 对照料、7 d 肽聚糖 + 7 d 对照料方式投喂,均能增强机体免疫机能。本试验中不连续组可能是因为壳聚糖在免疫调节回落之前对免疫系统给予了重复刺激,使得免疫机能与连续组保持在一个相当的水平。

#### 4 小结

在饲料中添加 0.5% 壳聚糖,无论连续投喂还是间断投喂,均能促进草鱼的生长、提高草鱼抗饥饿胁迫的能力。结合经济性与实用性来考虑,建议采用不连续投喂的方式给予草鱼壳聚糖,但对于更具体的间隔投喂时间以及对其它免疫指标的综合影响有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 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.
- [2] Ayyaru G, Venkatesan A. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds [J]. Aquaculture, 2006, 255: 179-187.
- [3] Sakai M, Kamiya H, Ishii S, et al. The immunostimulating effects of chitin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [M] // Shariff M, Subasighe R P, Arthur J R, editors. Diseases in Asian aquaculture I. Manila, Philippines: Fish Health Section, Asian Fisheries Society, 1992: 413-418.
- [4] Anderson D P, Siwicki A K, Rumsey G L. Injection or immersion delivery of selected immunostimulants to trout demonstrate enhancement of nonspecific defense mechanisms and protective immunity [M] // Shariff M, Subasighe R P, Arthur J R, editors. Diseases in Asian aquaculture, vol. 11. Manila, Philippines: Fish Health Section, Asian Fisheries Society, 1995: 413-426.
- [5] Siwicki A K, Anderson D P, Rumsey G L. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis [J]. Vet Immunol Immunopathol, 1994, 41(1-2): 125-139.
- [6] 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-Culturist, 1994, 56(4) : 258 - 261.
- [ 7 ] Masahiro S. Current research status of fish immunostimulants [ J ]. Aquaculture, 1999, 172 : 63 - 92.
- [ 8 ] Matsuo K, Miyazano I. The influence of long-term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout [ J ]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1993, 59 : 1377 - 1379.
- [ 9 ] Yoshida T, Krunger R, Inglis V. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* ( Burchell ), by the long-term oral administration of immunostimulants [ J ]. Fish Disease, 1995, 18 : 195 - 198.
- [ 10 ] 周进, 宋晓玲, 陈国福, 等. 牙鲆口服 A3 $\alpha$ -肽聚糖最佳投喂方案的选择 [ J ]. 海洋水产研究, 2005, 26(4) : 19 - 25.
- [ 11 ] 张锦宜, 李武忠, 陈淑玲, 等. 饲料中添加几丁质对斑节对虾生长及免疫力的影响 [ J ]. 水产研究, 1997, 5(1) : 11 - 19.
- [ 12 ] Itami T, Asano M, Tokushige K. Enhancement of diseases resistance of kuruma shrimp, *Penaeus Japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum* [ J ]. Aquaculture, 1998, 164 : 277 - 288.
- [ 13 ] 钱曦, 周洪琪. 异育银鲫 Toll 样受体 3 和 c-型溶菌酶 cDNA 全长克隆以及饥饿和壳聚糖对其 c-型溶菌酶 mRNA 表达与溶菌酶活性的影响 [ D ]. 上海 : 上海海洋大学, 2008.
- [ 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 ] 华雪铭, 周洪琪, 张宇峰, 等. 饲料中添加壳聚糖和益生菌对暗纹东方鲀幼鱼生长及部分消化酶活性的影响 [ J ]. 水生生物学报, 2005, 29(3) : 299 - 305.
- [ 16 ] 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 - 444.
- [ 17 ] Vinod M P, Jose S. Response of *Penaeus mondon* ( Fabricius ) to growth promoters [ J ]. Advances-and-priorities-in-fisheries-technology Balachandran, 1998, 2 : 11 - 13.
- [ 18 ] Shiau S Y, Yu Y P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus*  $\times$  *O. aureus* [ J ]. Aquaculture, 1999, 179 : 439 - 446.
- [ 19 ] 闫大伟, 周洪琪, 华雪铭. 壳聚糖对草鱼生长、免疫和甲状腺激素的影响 [ D ]. 上海 : 上海海洋大学, 2007.
- [ 20 ] 李德发. 中国饲料大全 [ M ]. 第 1 版. 北京 : 农业出版社, 2001 : 179 - 195.
- [ 21 ] Caruso G, Maricchiolo G, Micale V, et al. Physiological responses to starvation in the European eel (*Anguilla anguilla*) : effects on haematological, biochemical, non-specific immune parameters and skin structures [ J ]. Fish Physiol Biochem, 2008, 18 : 1 - 10.
- [ 22 ] 王文博, 汪建国, 李爱华, 等. 拥挤胁迫后鲫鱼血液皮质醇和溶菌酶水平的变化及对病原的敏感性 [ J ]. 中国水产科学, 2004, 11(5) : 408 - 412.
- [ 23 ] 刘波, 何庆国, 唐永凯, 等. 饥饿胁迫对吉富罗非鱼生长及生理生化指标的影响 [ J ]. 中国水产科学, 2009, 16(2) : 230 - 237.
- [ 24 ] 周娅, 佟书娟, 王宁萍, 等. 枸杞多糖对小鼠巨噬细胞内酶活性及 NO 诱生的影响 [ J ]. 山东中医杂志, 2000, 19(6) : 361 - 362.
- [ 25 ] Peluse G, Petillo O, Ranieri M, et al. Chitosan-mediated stimulation of macrophage function [ J ]. Biomaterial, 1994, 15(15) : 1215 - 1220.
- [ 26 ] Wu G J, Tsai G J. Chitooligosaccharides in combination with interferon- $\gamma$  increase nitric oxide production via factor- $\gamma$ B activation in murine RAW264. 7 macrophage [ J ]. Food and Chemical Toxicology, 2007, (2)45 : 250 - 258.
- [ 27 ] 史彬林. 壳聚糖对动物免疫调节作用的研究进展 [ J ]. 畜牧与兽医, 2007, 39(4) : 57 - 59.
- [ 28 ] 楼宝, 史会来, 毛国民, 等. 饥饿及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成及非特异免疫水平的变化 [ J ]. 水产学报, 2008, 32(6) : 929 - 936.
- [ 29 ] 孙红梅, 黄权, 丛波, 等. 饥饿对黄颡鱼免疫机能的影响 [ J ]. 水利渔业, 2006, 26(3) : 80 - 81.
- [ 30 ] 李志华, 谢松, 王军霞, 等. 饥饿对日本沼虾生长和部分免疫功能的影响 [ J ]. 上海水产大学学报, 2007, 16(1) : 16 - 21.
- [ 31 ] 李霞, 周宝祥, 王茂林. 饥饿对红鳍东方鲀免疫细胞功能的影响 [ J ]. 大连水产学院学报, 2006, 21(4) : 297 - 300.

## Effects of feeding modes of chitosan on prevention of starvation of *Ctenopharyngodon idellus*

HAN Jia-feng, HUA Xue-ming\*, HUANG Xu-xiong, WANG Jun, YU Ning, ZHOU Hong-qi  
(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education,  
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Grass carp (mean body weight  $19.46 \pm 0.04$  g) were first fed for 60 days by three modes (mode A, grass carp were fed basal diet without chitosan; mode B, grass carp were fed experimental diet, supplemented with 0.5% chitosan in basal diet; mode C, grass carp were first fed experimental diet and then basal diet at an interval of 15 days) and then starved for 15 days. Growth index, nitrogen oxide (NO) content and lysozyme (LSZ) activity in head-kidney (HK), spleen, hepatopancreas and serum were measured to investigate effects of feeding modes of chitosan on prevention of starvation of grass carp. The results showed that length gain and weight gain of grass carp at the end of 60 days feeding were significantly higher in modes B and C than those of the control ( $P < 0.05$ ) and were the similar variation ( $P > 0.05$ ) after 15 days starvation, regardless of feeding or starvation. NO content, in HK and hepatopancreas, and LSZ activity, in HK and serum, were significantly higher in starvation treat in mode A. On the contrary, NO content, except in HK, and LSZ activity or NO content, except in spleen, and LSZ activity, except in hepatopancreas, were significantly lower ( $P < 0.05$ ) in starvation treat or had no statistical significance ( $P > 0.05$ ) between starvation and feeding treats in modes B and C. Obviously, starvation caused various influence in different tissues and effects caused by different oral administration treats were dissimilar on prevention of starvation of grass carp. Comparatively, modes B and C had an effective resistance to starvation stress, but there was no statistical significance in both of them. Given economical efficiency and practicability, chitosan by incontinuous feeding will be suggested to promote growth and lighten the stress caused by starvation.

**Key words:** grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*); chitosan; feeding modes; growth index; nitrogen oxide (NO) content; LSZ activity

**Corresponding author:** HUA Xue-ming. E-mail: xmhua@shou.edu.cn