



## 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹生长性能、体成分、非特异性免疫及抗氧化能力的影响

张干<sup>1</sup>, 张瑞强<sup>1</sup>, 令狐克川<sup>1</sup>, 周维仁<sup>2</sup>, 姜滢<sup>3</sup>, 周岩民<sup>1\*</sup>

(1. 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095;

2. 江苏省农业科学院畜牧研究所, 江苏 南京 210014;

3. 江苏金康达集团, 江苏 盱眙 211700)

**摘要:** 为研究低聚壳聚糖对中华绒螯蟹生长性能、体成分、非特异性免疫及抗氧化能力的影响, 实验选用个体均匀、初始均重为  $(16.20 \pm 1.30)$  g 的中华绒螯蟹 288 只, 随机分为 4 组, 每组 6 个重复, 每个重复 12 只, 分别饲喂在基础日粮中添加 0 (对照组)、25、50 和 100 mg/kg 低聚壳聚糖的实验日粮, 正式实验为期 56 d。结果显示, 与对照组相比, 50 和 100 mg/kg 低聚壳聚糖组中华绒螯蟹的饲料系数显著降低, 可食内脏指数显著提高; 50 mg/kg 低聚壳聚糖组降低了中华绒螯蟹肌肉和可食内脏中粗脂肪含量, 提高了蟹肌肉和可食内脏中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性; 与对照组相比, 50 mg/kg 低聚壳聚糖组中华绒螯蟹碱性磷酸酶和酚氧化酶的活性显著提高。研究表明, 添加低聚壳聚糖能够提高中华绒螯蟹生长性能、非特异性免疫和抗氧化能力, 降低机体脂肪沉积, 且添加量为 50 mg/kg 时效果较好。

**关键词:** 中华绒螯蟹; 低聚壳聚糖; 生长性能; 非特异性免疫; 抗氧化

**中图分类号:** S 963.7

**文献标志码:** A

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 俗名河蟹, 是我国名优经济蟹类之一, 其味道鲜美, 营养丰富, 深受广大消费者青睐, 在水产养殖中占有重要地位<sup>[1]</sup>。近年来, 因高密度养殖、水质恶化等因素致使中华绒螯蟹抗逆性下降、细菌性疾病频发、生长缓慢等问题日益严重, 通过饲料营养调控措施增强中华绒螯蟹的抗逆性是解决以上问题的有效途径之一<sup>[2-3]</sup>。

壳聚糖, 又称甲壳素, 广泛存在于虾、蟹等甲壳动物及藻类和细菌中, 是世界上第二大类天然高分子化合物<sup>[4]</sup>, 但因化学性质不活泼、溶解性差等使其应用受到限制。低聚壳聚糖是甲壳素经脱乙酰得到的一类多糖, 化学名为 2-氨基- $\beta$ -1,4-葡聚糖, 分子式为  $(C_6H_{11}O_4N)_n$ , 低聚壳

聚糖功能特性优于大分子壳聚糖, 具有甜度低、热值低、水溶性好、活性高、易吸收等特点<sup>[5]</sup>。低聚壳聚糖的制备主要有化学降解法、物理降解法、合成法和酶解法, 即通过脱乙酰作用对高分子壳聚糖进行降解, 从而改变并优化其理化性质和生理功能<sup>[6-7]</sup>。有研究表明, 日粮中添加低聚壳聚糖可有效提高鲤 (*Cyprinus carpio*) 的生长性能、免疫功能和抗氧化能力, 调节鲤肠道菌群结构, 改善微生物区系平衡<sup>[8-9]</sup>。孙飞等<sup>[10]</sup>研究发现, 低聚壳聚糖可有效改善氧化豆油对异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 生长和健康造成的负面影响, 改善肠道结构, 提高非特异性免疫功能, 促进异育银鲫生长。袁春营等<sup>[3]</sup>通过 28 d 的养殖实验发现, 日粮中添加 200 mg/kg

收稿日期: 2019-04-24 修回日期: 2019-09-28

资助项目: 江苏省现代农业(河蟹)产业技术体系项目 (JATS [2019]441)

通信作者: 周岩民, E-mail: zhouym6308@163.com

低聚壳聚糖可有效提高中华绒螯蟹血液呼吸爆发活性及血清酚氧化酶、超氧化物歧化酶、溶菌酶及过氧化氢酶活性;与对照组相比,嗜水气单胞菌攻毒后,其免疫保护率高达62.5%。目前,低聚壳聚糖在中华绒螯蟹上研究的报道仅限于免疫功能,且实验周期短,而有关低聚壳聚糖对中华绒螯蟹生长性能和体成分影响的研究尚未见报道。因此,本实验通过测定中华绒螯蟹生长性能、体成分、血清生化指标、非特异性免疫和抗氧化能力以探究低聚壳聚糖应用于饲料中对中华绒螯蟹的影响,为低聚壳聚糖在中华绒螯蟹饲料中的合理应用提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与设计

实验用中华绒螯蟹由江苏金康达集团提供,选择附肢完整、个体均匀的健康中华绒螯蟹用于实验。实验用低聚壳聚糖( $\geq 90\%$ )购自浙江嘉兴科瑞生物科技有限公司。参考袁春营等<sup>[3]</sup>、钟国防等<sup>[11]</sup>、徐佳倩等<sup>[12]</sup>方法,选取初始均重为 $(16.20 \pm 1.30)$  g中华绒螯蟹288只,随机分为4组,每组6个重复,每个重复12只,分别饲喂在基础日粮中添加0、25、50和100 mg/kg低聚壳聚糖的实验日粮,实验预试7 d,正式实验56 d。

### 1.2 实验日粮

实验用颗粒饲料在江苏金康达集团配制,基础日粮组成及营养成分见表1。

### 1.3 饲养管理

实验蟹饲养于水族箱(直径100 cm、高80 cm)中,每个水族箱为一个重复,实验用水为池塘水。实验开始7 d前,将水注入水族箱,种植水花生,待水花生成活、水质符合养殖用水要求后放入实验蟹,投放前进行称重,保证各个水族箱中实验蟹平均重量尽量接近。每天定时定点投饲2次,投饲量为蟹总重量的5%左右,早上7:30投饲1/3,晚上17:00投饲2/3,以不剩或略剩为宜。每天吸污,加注新水,换水量约为总水量的1/3,定时充氧。

### 1.4 样品采集

实验56 d时,对每个水族箱中的实验蟹分别进行计数、称重。将实验蟹置于冰上麻醉并

表1 基础日粮组成及营养水平(风干基础)

Tab. 1 Basic diet composition and nutritional levels (air-dried basis)

项目 item	含量 content
<b>原料/% ingredients</b>	
鱼粉 fish meal	21.86
虾粉 shrimp powder	8.72
豆粕 soybean meal	16.15
菜粕 rapeseed meal	13.81
棉粕 cottonseed meal	13.53
面粉 wheat flour	20.32
大豆油 soybean oil	2.12
磷酸二氢钙 calcium biphosphate	2.09
食盐 salt	0.40
预混料 premix <sup>1</sup>	1.00
合计 total	100.00
<b>营养水平 nutrient levels</b>	
能量/(MJ/kg) energy	17.35
粗蛋白质/% crude protein	39.27
水分/% moisture	11.13
粗灰分/% crude ash	17.95

1. 预混料可为每千克日粮提供:铜20 mg,铁25 mg,镁12 mg,锰26 mg,锌80 mg,硒0.16 mg,碘0.45 mg,钴0.6 mg,维生素A 10 000 IU,维生素E 100 mg,维生素C 100 mg,维生素D<sub>3</sub> 2 500 IU,维生素K<sub>3</sub> 2.2 mg,维生素B<sub>1</sub> 3.2 mg,维生素B<sub>2</sub> 15 mg,维生素B<sub>3</sub> 20 mg,维生素B<sub>4</sub> 10 mg,维生素B<sub>5</sub> 25 mg,维生素B<sub>12</sub> 0.016 mg,叶酸5 mg,胆碱600 mg,生物素0.15 mg,肌醇200 mg

1. premix provided the follow per kg of basal diet: Cu 20 mg, Fe 25 mg, Mg 12 mg, Mn 26 mg, Zn 80 mg, Se 0.16 mg, I 0.45 mg, Co 0.6 mg, vitamin A 10 000 IU, vitamin E 100 mg, vitamin C 100 mg, vitamin D<sub>3</sub> 2 500 IU, vitamin K<sub>3</sub> 2.2 mg, vitamin B<sub>1</sub> 3.2 mg, vitamin B<sub>2</sub> 15 mg, vitamin B<sub>3</sub> 20 mg, vitamin B<sub>4</sub> 10 mg, vitamin B<sub>5</sub> 25 mg, vitamin B<sub>12</sub> 0.016 mg, folic acid 5 mg, choline 600 mg, biotin 0.15 mg, inositol 200 mg

称重,使用塑料注射器从第四步足基部快速取出蟹血液,置于2 mL离心管中,并用等体积的抗凝血剂稀释(柠檬酸4.8 g/L,柠檬酸钠13.2 g/L,葡萄糖9.6 g/L),置于-20 °C冰箱保存待测。迅速分离可食内脏(肝胰腺和性腺)和腹部肌肉于冻存管中,-80 °C冰箱保存待测。

### 1.5 指标检测

生长性能 分别对1和56 d的中华绒螯蟹进行称重,并记录每天的投饲量。按下列公式计算:

$$\text{增重率 (weight gain rate, WGR, \%)} = (W_t - W_0) /$$

$W_0 \times 100\%$

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

饲料系数 (feed conversion ratio, FCR) =  $W_f / (W_{z1} - W_{z0})$

可食内脏指数 (edible viscera index, EVI, %) =  $W_v / W_f \times 100\%$

式中,  $W_0$  为实验蟹初始均重,  $W_t$  为实验蟹终末均重;  $t$  为饲喂天数;  $W_f$  为实验蟹摄食饲料重 (风干样重);  $W_{z1}$  为实验蟹终末总重;  $W_{z0}$  为实验蟹初始总重;  $W_v$  为可食内脏 (肝胰腺和性腺) 重。

**体成分** 取中华绒螯蟹肌肉和可食内脏, 测定粗蛋白和粗脂肪含量。参考国家标准《GB 5009.6—2016 食品安全国家标准食品中脂肪的测定》中的规定操作, 采用索氏提取法测定中华绒螯蟹粗脂肪 (EE) 含量, 粗蛋白 (CP) 含量采用凯氏定氮法测定。

**血清生化指标** 血清中总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、尿素氮 (BUN)、甘油三酯 (TG) 及总胆固醇 (TC) 含量采用全自动血清生化分析仪 (日立 7100) 测定, 所用试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

**抗氧化性能** 对可食内脏和肌肉进行取样称重, 加入 4 °C 生理盐水 (质量体积比  $m : v$  为 1 : 9), 冰浴匀浆。匀浆液于 4 °C、3 500 r/min 离心 15 min 取上清液待测。指标检测包括: 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化氢酶 (CAT) 活性、丙二醛 (MDA) 含量、总抗氧化能力 (T-AOC), 以上指标均采用试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 进行测定。

**血清免疫酶活** 血清中酚氧化酶 (PO) 测定以 L-多巴为底物, 取 10  $\mu$ L 血清置于酶标板中, 添加 200  $\mu$ L 磷酸盐缓冲液 (0.1 mol/L、pH=6) 和

10  $\mu$ L 的 L-多巴液 (0.01 mol/L), 震荡 4 次后, 用酶标仪 (Thermo Multiskan Go, Thermo Fisher Scientific Inc., USA) 于 490 nm 吸光度处测定 (分别在 0、4 min 时测定 1 次), 此条件下, OD<sub>490 nm</sub> 值每分钟增加 0.001 为 1 个酶活力单位。碱性磷酸酶 (AKP)、酸性磷酸酶 (ACP) 和溶菌酶 (LZM) 活性采用试剂盒 (南京建成生物工程研究所) 测定。

## 1.6 统计分析

实验数据先用 Excel 2013 初步处理后, 用 SPSS 统计软件 (Ver.20.0 for windows, SPSS Inc., Chicago, USA) 对数据进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。各组之间的差异显著性用 Duncan 氏多重比较分析,  $P < 0.05$  表示差异显著,  $0.05 < P < 0.1$  表示差异趋势, 结果以平均值  $\pm$  标准误 (mean  $\pm$  SE) 表示。

## 2 结果

### 2.1 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹生长性能的影响

与对照组相比, 日粮添加 50 mg/kg 低聚壳聚糖降低了中华绒螯蟹的饲料系数 ( $P < 0.05$ ), 提高了中华绒螯蟹可食内脏指数 ( $P < 0.05$ ); 日粮添加低聚壳聚糖虽对中华绒螯蟹终末均重、增重率、特定生长率等无显著影响 ( $P > 0.05$ ), 但 25、50 和 100 mg/kg 低聚壳聚糖添加组的增重率分别提高了 12.9%、29.0% 和 41.5% (表 2)。

### 2.2 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹体成分的影响

与对照组相比, 日粮添加 50 和 100 mg/kg 低聚壳聚糖使中华绒螯蟹可食内脏和肌肉中粗脂肪含量显著降低 ( $P < 0.05$ ); 但添加低聚壳聚糖不影响可食内脏和肌肉粗蛋白含量 ( $P > 0.05$ ) (表 3)。

表 2 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹生长性能的影响

Tab. 2 Effects of oligo-chitosan added to diet on the growth performance of *E. sinensis*

项目 items	低聚壳聚糖/(mg/kg) oligo-chitosan				SEM	P值 P-value
	0	25	50	100		
终末均重/g FBW	36.13	37.45	38.95	41.74	1.33	0.517
增重率/% WGR	113.31	127.92	146.21	160.34	8.47	0.239
特定生长率/(%/d) SGR	1.34	1.45	1.60	1.68	0.06	0.266
饲料系数 FCR	2.28 <sup>a</sup>	2.17 <sup>ab</sup>	1.95 <sup>b</sup>	2.04 <sup>b</sup>	0.04	0.024
可食内脏指数/% EVI	8.42 <sup>b</sup>	8.82 <sup>ab</sup>	9.25 <sup>a</sup>	8.89 <sup>ab</sup>	0.11	0.040

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同

Notes: different letters in the same row mean significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ), the same below

表 3 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹体成分的影响

Tab. 3 Effects of oligo-chitosan added to diet on the body composition of *E. sinensis*

项目 items	低聚壳聚糖/(mg/kg) oligo-chitosan				SEM	P值 P-value	
	0	25	50	100			
可食内脏 edible viscera	粗蛋白/% CP	9.71	9.82	10.10	9.82	0.11	0.721
	粗脂肪/% EE	0.28 <sup>a</sup>	0.24 <sup>a</sup>	0.16 <sup>b</sup>	0.12 <sup>b</sup>	0.02	0.039
肌肉 muscle	粗蛋白/% CP	15.81	15.92	16.61	16.00	0.14	0.167
	粗脂肪/% EE	0.08 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.01	0.002

### 2.3 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹血清生化指标的影响

与对照组相比, 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹血清生化指标无显著影响 ( $P>0.05$ )(表 4)。

### 2.4 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹非特异性免疫功能的影响

与对照组相比, 日粮添加 50 和 100 mg/kg 低聚壳聚糖能够提高中华绒螯蟹血液中酚氧化酶和碱性磷酸酶活性 ( $P<0.05$ ), 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹溶菌酶和酸性磷酸酶活性无显著影响 ( $P>0.05$ )(表 5)。

### 2.5 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹抗氧化能力的影响

与对照组相比, 日粮添加 50 mg/kg 低聚壳

聚糖提高了中华绒螯蟹可食内脏和肌肉中 SOD 和 CAT 活性 ( $P<0.05$ ), 添加 100 mg/kg 低聚壳聚糖提高了中华绒螯蟹可食内脏中 CAT 活性 ( $P<0.05$ ); 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹可食内脏和肌肉中 MDA 含量和 T-AOC 无显著影响 ( $P>0.05$ )(表 6)。

## 3 讨论

### 3.1 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹生长性能和体成分的影响

研究表明, 日粮添加低聚壳聚糖能够显著提高凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)<sup>[13]</sup>、克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*)<sup>[14]</sup>、低眼无齿鲢 (*Pangasianodon hypophthalmus*)<sup>[15]</sup> 的特定生长率和增重率, 降低饲料系数, 改善生长性能。本实验结

表 4 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹血清生化指标的影响

Tab. 4 Effects of oligo-chitosan added to diet on the serum biochemical indexes of *E. sinensis*

项目 items	低聚壳聚糖/(mg/kg) oligo-chitosan				SEM	P值 P-value
	0	25	50	100		
血清总蛋白/(g/L) TP	31.79	31.13	37.97	30.13	1.60	0.300
白蛋白/(g/L) ALB	4.12	2.67	3.46	2.78	0.28	0.217
尿素氮/(mmol/L) BUN	0.78	0.67	0.51	0.62	0.06	0.425
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.21	0.20	0.18	0.19	0.01	0.449
总胆固醇/(mmol/L) TC	0.40	0.39	0.36	0.39	0.01	0.535

表 5 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹非特异性免疫的影响

Tab. 5 Effects of oligo-chitosan added to diet on non-specific immunity of *E. sinensis*

项目 items	低聚壳聚糖/(mg/kg) oligo-chitosan				SEM	P值 P-value
	0	25	50	100		
酚氧化酶/(U/mmL) PO	0.30 <sup>b</sup>	0.38 <sup>ab</sup>	0.46 <sup>a</sup>	0.43 <sup>a</sup>	0.19	0.010
溶菌酶/(U/mL) LZM	1.05	1.05	1.09	1.08	0.01	0.628
碱性磷酸酶/(U/mL) AKP	3.87 <sup>b</sup>	4.42 <sup>ab</sup>	4.98 <sup>a</sup>	4.84 <sup>a</sup>	0.15	0.021
酸性磷酸酶/(U/mL) ACP	4.31	4.40	4.47	4.51	0.03	0.155

表 6 日粮添加低聚壳聚糖对中华绒螯蟹抗氧化能力的影响

Tab. 6 Effects of oligo-chitosan added to diet on antioxidant capacity of *E. sinensis*

项目 items		低聚壳聚糖/(mg/kg) oligo-chitosan				SEM	P值 P-value
		0	25	50	100		
可食内脏 edible viscera	超氧化物歧化酶/(U/mg protein) SOD	34.23 <sup>b</sup>	35.29 <sup>b</sup>	37.54 <sup>a</sup>	36.11 <sup>ab</sup>	0.42	0.028
	总抗氧化能力/(U/mg protein) T-AOC	1.58	1.78	1.85	1.67	0.08	0.669
	过氧化氢酶/(U/mg protein) CAT	0.97 <sup>b</sup>	1.20 <sup>ab</sup>	1.31 <sup>a</sup>	1.23 <sup>a</sup>	0.05	0.046
	丙二醛/(nmol/mg protein) MDA	3.18	3.18	2.30	2.96	0.18	0.282
肌肉 muscle	超氧化物歧化酶/(U/mg protein) SOD	16.40 <sup>b</sup>	18.16 <sup>ab</sup>	19.39 <sup>a</sup>	18.52 <sup>ab</sup>	0.50	0.044
	总抗氧化能力/(U/mg protein) T-AOC	1.11	1.16	1.31	1.23	0.04	0.335
	过氧化氢酶/(U/mg protein) CAT	2.64 <sup>b</sup>	2.90 <sup>ab</sup>	3.32 <sup>a</sup>	3.03 <sup>ab</sup>	0.08	0.038
	丙二醛/(nmol/mg protein) MDA	1.11	1.09	1.03	1.07	0.03	0.849

果表明, 日粮添加低聚壳聚糖可显著降低中华绒螯蟹的饲料系数, 提高可食内脏指数, 并在一定程度上改善其增重率, 与上述研究结果一致。双歧杆菌、乳酸菌等有益菌群进行新陈代谢时可分泌合成多种维生素及胞外酶产物, 有效弥补凡纳滨对虾内源酶分泌量的不足, 进而促进对虾对营养物质的消化吸收<sup>[16]</sup>。同时, 双歧杆菌等有益菌还能分泌多种消化酶促进动物肠道中矿物质钙、磷、镁等离子的解离, 提高动物对矿物质的吸收<sup>[17]</sup>。低聚壳聚糖能够促进双歧杆菌等有益菌群的增殖, 调节肠道微生物区系平衡, 改善肠道形态结构, 进而促进营养物质的消化和吸收<sup>[18-19]</sup>。因此, 低聚壳聚糖可能是通过对中华绒螯蟹肠道菌群结构及肠道形态的改善, 进而提高其生长性能。

低聚壳聚糖可与胆固醇等脂类物质、胆汁酸结合, 促进脂质的排出及转化, 进而干扰动物对日粮脂肪的消化吸收<sup>[20]</sup>。王红权等<sup>[21]</sup>研究发现, 日粮添加壳聚糖可有效提高草鱼的增重率, 减少草鱼背肌的粗脂肪含量, 降低饲料系数及内脏指数。本实验得到了相似的结果, 饲料中添加低聚壳聚糖显著降低了中华绒螯蟹可食内脏和肌肉的粗脂肪含量。

### 3.2 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹血清生化指标和非特异性免疫功能的影响

血清总蛋白、胆固醇、尿素氮、白蛋白等血清指标是反映动物机体蛋白质代谢和氨基酸转化平衡的重要指标, 被广泛用于动物营养状态、健康状态和适应状态的评估<sup>[22]</sup>。血清中蛋白

质的主要作用是维持血液渗透压、保证物质交换和运输、修复破损组织; 胆固醇和甘油三酯是合成细胞膜的重要组成成分, 同时胆固醇还是性激素和皮质激素等激素的前体, 参与激素的合成和运输<sup>[23]</sup>。本实验结果显示: 血清总蛋白、白蛋白等指标呈现出先上升后下降的趋势, 血清胆固醇、甘油三酯和尿素氮含量在数值上较对照组有所下降, 这与马利等<sup>[24]</sup>的实验结果类似。目前关于低聚壳聚糖在水产动物上的研究主要集中在鱼类上, 关于中华绒螯蟹的报道较少, 作为无脊椎动物, 其消化方式、消化途径、肠道结构等与已研究报道的动物差异较大, 这可能是导致实验结果与已有研究报道存在差异的原因。

中华绒螯蟹免疫系统不完善, 缺乏特异性免疫系统, 非特异性免疫成为其重要的防御手段<sup>[25]</sup>, 因此, 酚氧化酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和溶菌酶在中华绒螯蟹免疫防御和免疫识别中起重要作用<sup>[26-27]</sup>。酚氧化酶被激活后, 可促进血细胞进行吞噬、凝固等免疫活动; 血细胞在吞噬时, 因呼吸爆发可产生多种活性氧, 能有效杀灭细菌。溶菌酶是吞噬细胞杀菌的物质基础, 可水解革兰氏阳性菌细胞壁中黏肽的乙酰氨基多糖, 并裂解释放形成水解酶体系清除机体中的异物。李振达等<sup>[28]</sup>在饲料中添加壳寡糖后发现, 凡纳滨对虾血清溶菌酶的活性显著提高。王兰等<sup>[29]</sup>研究指出, 低分子量壳聚糖可显著提高长江华溪蟹 (*Sinopotamon yangtsekiense*) 血清溶菌酶、碱性磷酸酶、酸性磷酸酶和酚氧化酶活性。本实验中, 日粮添加低聚壳聚糖显著

提高了血液酚氧化酶和碱性磷酸酶活性,与上述结果一致。低聚壳聚糖能够提高水产动物非特异性免疫功能的机理可能与低聚壳聚糖能够提高巨噬细胞的吞噬功能,促进脾脏中干扰素、白介素等细胞因子的分泌有关<sup>[6,30]</sup>。

### 3.3 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹抗氧化能力的影响

动物机体内拥有一套完整的抗氧化体系,超氧化物歧化酶和过氧化氢酶都属于抗氧化体系中的酶系,在机体抗氧化过程中起重要作用,反映了中华绒螯蟹的抗应激能力<sup>[26]</sup>。超氧化物歧化酶作为衡量虾蟹类免疫反应和抗氧化应激能力的重要指标,是生物机体抗氧化体系中避免细胞受到氧化伤害的关键酶之一,是构成氧化应激的重要防线<sup>[31]</sup>。过氧化氢酶作为重要的抗氧化酶,它能够清除机体中产生的自由基,避免机体受到伤害<sup>[32]</sup>。有报道指出,提高抗氧化能力可有效抑制氧化酶活性,减少氧化应激引起的细胞和组织损伤,提高机体抗应激能力,并改善动物肌肉品质<sup>[32-33]</sup>。低聚壳聚糖能够通过清除体内多余自由基、抑制细胞内自由基生成、改善内源性抗氧化剂活性等作用来抑制自由基的积累,从而改善机体的抗氧化性能、缓解氧化应激损伤<sup>[34]</sup>。此外,低聚壳聚糖能够调节肠道菌群结构,促进益生菌生长,进而促进矿物质元素的吸收和维生素的生成,而许多矿物质元素又与功能酶的激活有关,从而间接影响机体的抗氧化性能。李振达等<sup>[35]</sup>研究表明,日粮添加低聚壳聚糖可显著提高三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)的超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性。本实验中,50和100 mg/kg低聚壳聚糖添加组中华绒螯蟹可食内脏指数和肌肉超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性较对照组显著提高,与上述结果一致。

## 4 结论

饲料中添加低聚壳聚糖能够改善中华绒螯蟹的生长性能、非特异性免疫和抗氧化能力,降低机体的脂肪沉积。本实验条件下,日粮低聚壳聚糖添加量为50 mg/kg时效果较好。

### 参考文献 (References):

[1] 王海华,庄平,冯广朋,等. 长江赣皖段中华绒螯蟹成

体资源变动及资源保护对策[J]. *浙江农业学报*, 2016, 28(4): 567-573.

Wang H H, Zhuang P, Feng G P, *et al.* Present situation of *Eriocheir sinensis* resources and protection countermeasures in Jiangxi and Anhui reaches of Yangtze River[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2016, 28(4): 567-573(in Chinese).

[2] 张磊,王锦旭,杨贤庆,等. 海洋动物多糖的研究进展[J]. *食品工业*, 2018(1): 211-215.

Zhang L, Wang J X, Yang X Q, *et al.* Research progress of marine animal polysaccharides[J]. *The Food Industry*, 2018(1): 211-215(in Chinese).

[3] 袁春营,张艳,崔青曼. 低聚壳聚糖对中华绒螯蟹免疫功能的影响[J]. *中国饲料*, 2014(6): 27-30.

Yuan C Y, Zhang Y, Cui Q M. Effects of chitooligosaccharide on the immune function of *Eriocheir sinensis*[J]. *China Feed*, 2014(6): 27-30(in Chinese).

[4] 黄德娟,谈华平. 功能性低聚糖[J]. *生物学通报*, 2005, 40(12): 19-21.

Huang D J, Tan H P. Functional oligo saccharides[J]. *Bulletin of Biology*, 2005, 40(12): 19-21(in Chinese).

[5] 皮宇,陈青,孙丽莎,等. 低聚壳聚糖的生物学活性及其在畜禽生产中的应用[J]. *饲料博览*, 2013(12): 31-35.

Pi Y, Chen Q, Sun L S, *et al.* The biological activity of oligo-chitosan and application in animal production[J]. *Feed Review*, 2013(12): 31-35(in Chinese).

[6] 丁科,徐倩倩,夏文锐,等. 低聚壳聚糖在家禽生产中的应用[J]. *饲料工业*, 2019, 40(10): 17-21.

Ding K, Xu Q Q, Xia W R, *et al.* Application of chitosan oligosaccharide in poultry production[J]. *Feed Industry*, 2019, 40(10): 17-21(in Chinese).

[7] 段杉,彭喜春,彭志英,等. 低聚壳聚糖的制备及应用[J]. *中国食品添加剂*, 2002(5): 66-71, 22.

Duan S, Peng X C, Peng Z Y, *et al.* The preparation and application of chito-oligosaccharide[J]. *China Food Additives*, 2002(5): 66-71, 22(in Chinese).

[8] 张严伟,陈跃平,李斌,等. 低聚壳聚糖对福瑞鲤生长、非特异性免疫及抗氧化指标的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2014, 23(5): 726-732.

Zhang Y W, Chen Y P, Li P, *et al.* Effects of dietary chitosan-oligosaccharide on the growth performance, nonspecific immunity and antioxidant parameters of FFRC Strain Common Carp[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2014, 23(5): 726-732(in Chinese).

- [9] Lin S M, Mao S H, Guan Y, *et al.* Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*)[J]. *Aquaculture*, 2012, 342-343: 36-41.
- [10] 孙飞, 何杰, 叶元土, 等. 壳寡糖对异育银鲫生长性能、肠道组织结构和非特异性免疫功能的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(12): 5153-5163.
- Sun F, He J, Ye Y T, *et al.* Effects of chitosan oligosaccharide on growth performance, intestinal structure and non-specific immune function of Crucian Carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(12): 5153-5163(in Chinese).
- [11] 钟国防, 吴国忠, 张明辉. 饲料中添加壳聚糖季铵盐对凡纳滨对虾生长及非特异免疫的影响[J]. *水生生物学学报*, 2016, 40(4): 712-719.
- Zhong G F, Wu G Z, Zhang M H. Effects of adding chitosan quaternary ammonium salt in diets on the growth performance and nonspecific immunity of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 712-719(in Chinese).
- [12] 徐佳倩, 吴旭干, 张鹏超, 等. 池塘养殖中华绒螯蟹二龄雄体生长、性腺发育和第二性征的变化[J]. *动物学杂志*, 2016, 51(3): 434-448.
- Xu J Q, Wu X G, Zhang P C, *et al.* Growth, gonadal development and secondary sexual characteristics of pond-reared male Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) during the second year culture[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2016, 51(3): 434-448(in Chinese).
- [13] 黄钦成, 申光荣, 谭北平, 等. 饲料中添加壳寡糖和/或霉菌毒素吸附剂对凡纳滨对虾生长性能、非特异性免疫力及抗病力的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(11): 4036-4047.
- Huang Q C, Shen G R, Tan B P, *et al.* Effects of dietary chitosan oligosaccharide and/or mycotoxin adsorbent on growth performance, nonspecific immunity and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(11): 4036-4047(in Chinese).
- [14] 任秀芳, 周鑫, 张萍, 等. 壳聚糖对克氏原螯虾存活、血清生化指标和非特异性免疫功能的影响[J]. *淡水渔业*, 2013, 43(3): 77-82.
- Ren X F, Zhou X, Zhang P, *et al.* The effects of dietary chitosan supplementation on the survival, serum biochemical indicators and non-specific immunity of *Procambarus clarkii*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2013, 43(3): 77-82(in Chinese).
- [15] Nguyen N D, Van Dang P, Le A Q, *et al.* Effect of oligochitosan and oligo- $\beta$ -glucan supplementation on growth, innate immunity, and disease resistance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)[J]. *Bio-technology and Applied Biochemistry*, 2017, 64(4): 564-571.
- [16] Nichols D S. Prokaryotes and the input of polyunsaturated fatty acids to the marine food web[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 219(1): 1-7.
- [17] 陈晓瑛, 曹俊明, 黄燕华, 等. 饲料中添加低聚木糖对凡纳滨对虾幼虾生长性能、非特异性免疫力、抗氧化功能及对抗对虾白斑综合征病毒能力的影响[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(8): 2397-2407.
- Chen X Y, Cao J M, Huang Y H, *et al.* Xylo-oligosaccharides supplementation affects growth performance, non-specific immunity, antioxidant function and anti-white spot syndrome virus capacity of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(8): 2397-2407(in Chinese).
- [18] Zhao C, Wu Y J, Liu X Y, *et al.* Functional properties, structural studies and chemo-enzymatic synthesis of oligosaccharides[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 66: 135-145.
- [19] Khambualai O, Yamauchi D K, Tangtaweewipat S, *et al.* Growth performance and intestinal histology in broiler chickens fed with dietary chitosan[J]. *British Poultry Science*, 2009, 50(5): 592-597.
- [20] 黎秋平. 不同分子量壳聚糖对麒麟鸡脂质代谢的影响及其机理研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015.
- Li Q P. Effects of different molecular weight chitosans on lipid metabolism of Frizzled chickens and its underlying mechanisms[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2015(in Chinese).
- [21] 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.
- Wang H Q, Zhao Y R, Yu J B, *et al.* Effects of chitosan on growth and nutritional composition of muscle in *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2008, 34(5): 576-578(in Chinese).
- [22] 乔丽红, 赵颖, 倪红玉, 等. 低聚壳聚糖对断奶仔猪血
- 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- 清生化指标、抗氧化性能和粪便微生物的影响[J]. 粮食与饲料工业, 2013(3): 47-50.
- Qiao L H, Zhao Y, Ni H Y, *et al.* Effect of oligochitosan on serum biochemical indices, antioxidant properties and faecal microorganism of weanling piglets[J]. *Cereal & Feed Industry*, 2013(3): 47-50(in Chinese).
- [23] 骆作勇, 王雷, 王宝杰, 等. 不同投喂模式对奥利亚罗非鱼血液生化指标与生长性能的影响[J]. *中国水产科学*, 2007, 14(5): 743-748.
- Luo Z Y, Wang L, Wang B J, *et al.* Relationships between growth performance and blood biochemical indices in tilapia *Oreochromis aureus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, 14(5): 743-748(in Chinese).
- [24] 马利, 曹俊明, 吴建开, 等. 壳寡糖对南美白对虾生长和血清生化指标的影响[J]. *淡水渔业*, 2016, 36(2): 6-8.
- Ma L, Cao J M, Wu J K, *et al.* Effects of oligochitosan levels on growth and serum biochemical indices in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, 36(2): 6-8(in Chinese).
- [25] Cornick J W, Stewart J E. Partial characterization of a natural agglutinin in the hemolymph of the lobster, *Homarus americanus*[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1973, 21(3): 255-262.
- [26] Rengpipat S, Rukpratanporn S, Piyatiratitivorakul S, *et al.* Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus S11*)[J]. *Aquaculture*, 2000, 191(4): 271-288.
- [27] Hernández-López J, Gollas-Galván T, Vargas-Albores F. Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 1996, 113(1): 61-66.
- [28] 李振达, 陈小娥, 廖智, 等. 壳寡糖对凡纳滨对虾生长和免疫力的影响[J]. *南方水产科学*, 2011, 7(4): 36-42.
- Li Z D, Chen X E, Liao Z, *et al.* Effects of chitooligosaccharides on growth and immunity of *Litopenaeus vannamei*[J]. *South China Fisheries Science*, 2011, 7(4): 36-42(in Chinese).
- [29] 王兰, 王茜, 吉晋芳, 等. 低分子量壳聚糖对长江华溪蟹免疫功能的影响[J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 2009, 32(4): 627-633.
- Wang L, Wang Q, Ji J F, *et al.* Effects of low molecular weight chitosan on immune function of *Sinopotamon yangtsekiense*[J]. *Journal of Shanxi University (Natural Science Edition)*, 2009, 32(4): 627-633(in Chinese).
- [30] 常美楠, 朱亚如, 赵元, 等. 功能性低聚糖及其缓解机体过敏反应的研究进展[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(6): 2090-2096.
- Chang M N, Zhu Y R, Zhao Y, *et al.* Research progress of functional oligosaccharides alleviate body allergic reaction and its mechanism[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(6): 2090-2096(in Chinese).
- [31] Hhuseyin O, Recep C, Engin Y, *et al.* Fate of aflatoxin M1 in Kasha cheese[J]. *Journal of Food Safety*, 2007, 27(1): 82-90.
- [32] 张坤生, 田荟琳. 过氧化氢酶的功能及研究[J]. *食品科技*, 2007, 2007(1): 8-11.
- Zhang K S, Tian H L. Research and function of catalase in organism[J]. *Food Science and Technology*, 2007, 2007(1): 8-11(in Chinese).
- [33] 黄家强, 姜云芸, 郭慧媛, 等. 硒蛋白基因W和N与鸡肉品质的相关性研究[J]. *中国食品学报*, 2016, 16(11): 83-88.
- Huang J Q, Jiang Y Y, Guo H Y, *et al.* Association analysis between selenoprotein genes (*Selw* and *Seln*) and meat quality traits in chicken[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2016, 16(11): 83-88(in Chinese).
- [34] Liu H T, Li W M, Xu G, *et al.* Chitosan oligosaccharides attenuate hydrogen peroxide-induced stress injury in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Pharmacological Research*, 2009, 59(3): 167-175.
- [35] 李振达, 陈小娥, 廖智, 等. 壳寡糖对三疣梭子蟹免疫力的影响[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2011, 30(1): 27-32.
- Li Z D, Chen X E, Liao Z, *et al.* Effect of chitooligosaccharides on immunity in *Portunus trituberculatus*[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2011, 30(1): 27-32(in Chinese).



## Effects of oligo-chitosan supplementation on growth performance, body composition, non-specific immunity, and antioxidant capacity of *Eriocheir sinensis*

ZHANG Gan<sup>1</sup>, ZHANG Ruiqiang<sup>1</sup>, LINGHU Kechuan<sup>1</sup>, ZHOU Weiren<sup>2</sup>,  
JIANG Ying<sup>3</sup>, ZHOU Yanmin<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. Institute of Livestock Sciences, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China;

3. Jiangsu Jinkangda Group, Xuyi 211700, China)

**Abstract:** This study was aimed to investigate the effects of dietary oligo-chitosan supplementation on growth performance, body composition, non-specific immunity, and antioxidant capacity of *Eriocheir sinensis*. A total of 288 crabs with uniform individuals [average initial weight (16.20±1.30) g] were allocated into 4 groups with 6 replicates of 12 crabs each, and fed a basal diet supplemented with 0 (control group), 25, 50, and 100 mg/kg oligo-chitosan, and the formal trial was 56 days. Compared with the control group, dietary supplementation with 50 and 100 mg/kg oligo-chitosan reduced the feed conversion ratio of *E. sinensis* and increased the edible visceral index. The inclusion of 50 mg/kg oligo-chitosan reduced the crude fat contents of the muscles and edible viscera, increased the superoxide dismutase and catalase activities of muscles and edible viscera. Compared with the control group, dietary supplementation with 50 mg/kg oligo-chitosan increased the alkaline phosphatase and phenoloxidase activities of *E. sinensis*. The results suggested that the addition of oligo-chitosan improved the growth performance, non-specific immunity, and antioxidant capacity, decreased the body fat deposition of *E. sinensis*. The effect is better when the dosage of oligo-chitosan inclusion in the diet is 50 mg/kg.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*; oligo-chitosan; growth performance; non-specific immunity; antioxidant

**Corresponding author:** ZHOU Yanmin. E-mail: zhouym6308@163.com

**Funding projects:** Jiangsu Modern Agriculture (river crab) Industrial Technology System (JATS [2019] 441)