

胡晓伟,上官静波,黎中宝,等. 饲料中添加壳寡糖对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)幼鱼的生长、消化和血清生化指标的影响[J]. 海洋学报, 2018, 40(2): 69—76, doi:10.3969/j.issn.0253-4193.2018.02.007

Hu Xiaowei, Shangguan Jingbo, Li Zhongbao, et al. Effects of dietary Chitosan oligosaccharide on the performance, digestion and serum biochemical indexes of the juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Haiyang Xuebao, 2018, 40(2): 69—76, doi: 10.3969/j.issn.0253-4193.2018.02.007

饲料中添加壳寡糖对花鲈(*Lateolabrax japonicus*) 幼鱼的生长、消化和血清生化指标的影响

胡晓伟^{1,2}, 上官静波^{1,2}, 黎中宝^{1,2*}, 杨敏^{1,2}, 徐安乐^{1,2}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省海洋渔业资源与生态环境重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: 本试验旨在研究壳寡糖对花鲈(*Lateolabrax japonicus*)幼鱼生长, 肠道消化, 血清生化指标及肠道菌群的影响。本试验选用 360 尾规格一致的花鲈幼鱼(19.37 g 左右)为研究对象。壳寡糖饲料添加浓度设为 6 组: 0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%、1.0%。设 3 个平行组, 养殖周期 45 d。结果显示: (1) 生长性能: 添加 0.6% 和 0.8% 两组的增重率、特定生长率与对照组相比有提高($P > 0.05$); (2) 肠道消化酶: 添加 0.6%~1.0% 的壳寡糖显著($P < 0.05$)提高胰蛋白酶活性, 0.4%~0.8% 的壳寡糖显著($P < 0.05$)提高了脂肪酶活性; (3) 肠道菌群: 0.6%~1.0% 的壳寡糖显著降低了沙门氏菌数量($P < 0.05$), 大肠杆菌的数量在 0.8% 时显著降低($P < 0.05$), 双歧杆菌的数量在 0.2%~0.6% 时显著增加($P < 0.05$); (4) 血清生化指标: 壳寡糖显著提高血清总蛋白和高密度脂蛋白胆固醇含量($P < 0.05$); (5) 血清非特异性免疫: 添加 0.6% 的壳寡糖显著降低丙二醛($P > 0.05$), 0.2% 的壳寡糖增强超氧化物歧化酶、碱性磷酸酶和过氧化物酶活性, 添加壳寡糖使溶菌酶的活性显著增强($P < 0.05$)。研究结果表明: 饲料中添加 0.6%~0.8% 的壳寡糖对花鲈幼鱼生长性能、血脂及肠道健康影响效果最佳。

关键词: 花鲈; 壳寡糖; 生长性能; 非特异性免疫; 肠道菌群

中图分类号: P917.4

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2018)02-0069-08

1 引言

近年来, 人们开始意识到抗生素引起的潜在危害, 如耐药性和残留等问题。许多科研人员致力于寻求替代抗生素物质, 如益生菌、益生元和植物提取物等来避免此类问题的发生。益生元不被消化酶消化, 但在肠道内被有益菌吸收利用, 产生的代谢产物和微量营养物质为机体提供能量和营养。目前一些益生元, 如果寡糖、甘露寡糖, 广泛应用于家禽饲料中, 作

为生长促进剂代替抗生素的使用。壳寡糖(chitosan oligosaccharides, COS)由 2~10 个氨基葡萄糖通过 β -1,4-糖苷键连接起来, 是天然糖中唯一存在的碱性氨基寡糖, 具有相对分子小, 水溶性好, 易吸收等特点^[1]。壳寡糖来源于甲壳素通过脱乙酰得到产物壳聚糖再降解获得^[2], 而甲壳素广泛存在于海产品和丝状菌丝中。有关研究表明, 益生元能够促进多种鱼类的生长、提高饲料利用率、增强免疫力及促进肠道有益菌的增殖。壳寡糖作为一种新兴的益生元, 在水产

收稿日期: 2017-07-15; 修订日期: 2017-11-02。

基金项目: 福建省科技重点项目(2015N0010); 厦门市科技项目(3502Z20143017)。

作者简介: 胡晓伟(1990—), 男, 福建省龙岩市人, 主要从事营养与饲料研究。E-mail: wyyhxw@163.com

* 通信作者: 黎中宝, 教授, 博士生导师, 主要从事海洋经济物种生态健康养殖和种群遗传学研究。E-mail: lizhongbao@jmu.edu.cn

养殖的应用越来越受到人们的关注,它具有促生长、降血脂、提高免疫力和改善肠道菌群结构的作用^[3-6]。由于具有独特的性能,作为益生元改善动物的健康和生长性能备受人们关注。花鲈(*Lateolabrax japonicus*),俗称七星鲈,属肉食性凶猛鱼类,其肉质细嫩鲜美,深受人们喜爱。花鲈生长速度快,广温广盐,主要分布于中国沿海,北到朝鲜半岛西岸南到越南沿海。本试验是通过检测花鲈幼鱼的生长性能,血清生化免疫指标来探讨不同浓度壳寡糖添加量对花鲈幼鱼整个机体的影响,从而为壳寡糖作为绿色添加剂在水产饲料中运用提供理论基础。

2 材料与方 法

2.1 试验饲料制备

在基础饲料中添加壳寡糖的量:0%(Control)、0.2%(Diet1)、0.4%(Diet2)、0.6%(Diet3)、0.8%(Diet4)、1.0%(Diet5),共6组。用面粉配平,以保持配方总量的平衡。基础饲料及营养水平见表1。壳寡糖购自青岛博智汇力生物科技有限公司(纯度不小于85%)。原料粉碎后过60目筛,充分混匀后制成颗粒大小2.5 mm的配合饲料,放入55℃烘箱中烘干,冷却后保存于-20℃备用。

表1 基础饲料配方及营养水平(干物质基础)

Tab.1 Feed ingredients and nutrient content of basal diet (% as dry mass)

原料	含量/%
鱼粉	46.7
豆粕	21.0
面粉	15.0
玉米蛋白粉	3.6
酵母粉	2.0
鱼油	3.5
豆油	2.5
卵磷脂	2.6
多维	0.6
多矿	0.5
胆碱	0.5
磷酸二氢钙	1.5
合计	100

续表 1

原料	含量/%
营养水平	
粗蛋白质	50.62
粗脂肪	9.56
水分	12.01
灰分	12.56

注:鱼粉:粗蛋白质 74.35%,粗脂肪 8.43%;豆粕:粗蛋白质 48.25%,粗脂肪 1.06%。

2.2 饲养管理

养殖试验在集美大学水产学院海水试验场进行。花鲈幼鱼购于福建省漳浦县锦兴育苗场。暂养期间对花鲈进行淡化直至纯淡水中养殖,暂养2周。选取360尾规格一致的幼鱼(19.37±0.196)g,随机分到18个循环过滤缸(80 cm×45 cm×45 cm),每缸20尾,设3个平行组。每日饱食投喂2次(8:00—8:30, 18:00—18:30),并及时收集残饵和清除粪便,每天换水两次,每次换水1/3。养殖周期为45 d。养殖期间观察期花鲈摄食情况、死亡情况等及时记录下来。

2.3 样品采集与处理

养殖结束后,24 h饥饿处理。用丁香油水门汀对鱼进行麻醉处理后对各试验缸鱼进行整体称重和计数。每缸随机取5尾鱼测体重和体长,然后用1 mL注射器对其尾静脉取血,血样放在4℃下静置12 h,4℃、3 500 r/min条件下离心10 min取上清液(血清)保存于-80℃备用。随机取5尾鱼,人道处死后保存于-20℃下用于体成分分析。最后10尾进行解剖取肠,其中5尾鱼肠道组织液氮速冻保存于-80℃,用于肠道消化酶的测定,另外5尾鱼肠道在无菌条件下,取出内容物用于菌落的测定。

2.4 肠道菌群的测定

取约0.5 g肠道内容物按1:9(质量:体积)加入到4.5 mL无菌生理盐水中,振荡离心制得浓度为 10^{-1} 原液,逐级稀释到 10^{-5} 。双歧杆菌使用双歧杆菌培养基琼脂培养;大肠杆菌用伊红美蓝琼脂(EMB)培养;沙门氏菌使用亚硫酸铋琼脂培养,以上培养基均购于青岛高科园海博生物科技有限公司。每板涂100 μ L,大肠杆菌和沙门氏菌置37℃下有氧培养24 h,双歧杆菌在37℃下厌氧培养72 h。每个稀释梯度3个平行。培养结束后,挑选菌落30~300的培养基进行平板计数。计算方法采用每克肠道菌落形成单

位即 cfu/g(稀释倍数×平均菌落×10)。

2.5 指标检测

2.5.1 常规营养成分分析

全鱼和饲料样品 75℃ 烘干 24 h 后,再调成 105℃ 烘干至恒重,测定绝干状态下失水比例,粉碎后备用。用自动定氮仪(rapid N)测粗蛋白;粗脂肪用索式抽提法测量;把样品放在电炉里灼烧至无烟再放到马弗炉在 550℃ 下烤 8 h 测粗灰分。

2.5.2 血清生化和免疫及肠道消化指标测定

用酶标仪(Biotek)测总蛋白(TP),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、总胆固醇(TC)含量,超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)、脂肪酶活性的测定。

丙二醛(MDA),过氧化氢酶(CAT),溶菌酶(LZM),胰蛋白酶,淀粉酶的活性用 UV-1200 型紫外分光光度计测量。所测指标均用南京建成生物研究所提供试剂盒。

2.6 数据统计与分析

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

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

存活率($SR, \%$) = $100 \times N_t / N_0$

肥满度($CF, \%$) = $100 \times W_t / L^3$

饲料转化率($FCR, \%$) = $100 \times (F_1 - F_2) / (W_t - W_0)$

式中, W_0 为初体质量(g); W_t 为末体质量(g); d 为养殖天数; N_0 为初始尾数; N_t 为成活尾数; L 为鱼体长度(cm); F_1 为投饵饲料干质量; F_2 为残饵干质量。

数据采用 SPSS 19.0 软件进行分析,采用单因素方差分析,若有差异显著,再用 Duncan 进行组间多重比较, $P < 0.05$ 为显著性差异。试验结果用平均值±标准差(Mean±SD)表示。

3 结果

3.1 饲料中添加壳寡糖对花鲈生长性能的影响

由表 2 可知,与对照组相比, FBW 、 WGR 、 SGR 在 Diet3、Diet4 均有一定程度提高,高于其他组,但与对照组相比差异不显著($P > 0.05$); SR 、 CF 在各组间不存在显著性差异($P > 0.05$)。 FCR 在各组之间不存在差异,但在 Diet4 有降低,但效果不明显($P > 0.05$)。 SGR/FCR 在 Diet4 高于对照组($P > 0.05$)。

表 2 添加壳寡糖对花鲈幼鱼生长性能的影响(%)

Tab.2 Effects of dietary chitosan oligosaccharide on the growth of the juvenile Japanese seabass (%)

指标	对照组	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5
初重(IBW)/g	19.5±0.28	19.27±0.50	19.06±0.44	19.58±0.11	19.51±0.51	19.30±0.78
末重(FBW)/g	69.83±2.85 ^{cd}	63.78±3.96 ^{ab}	62.54±3.68 ^a	72.18±3.66 ^d	71.57±3.36 ^{cd}	64.78±4.24 ^{abc}
增重率(WGR)	257.99±9.59 ^{abc}	231.23±24.17 ^a	228.38±22.8 ^a	268.71±18.92 ^c	266.81±8.75 ^{bc}	235.44±8.49 ^{ab}
特定生长率(SGR)	2.83±0.06 ^{ab}	2.66±0.17 ^a	2.64±0.16 ^a	2.90±0.11 ^b	2.89±0.05 ^b	2.69±0.06 ^{ab}
饲料转化率(FCR)	1.24±0.057 ^{ab}	1.3±0.067 ^b	1.37±0.094 ^b	1.28±0.08 ^b	1.05±0.081 ^a	1.4±0.025 ^b
存活率(SR)	96.39±3.13	100±0.00	98.15±3.21	100±0.00	100±0.00	98.25±3.04
肥满度(CF)	1.26±0.019	1.3±0.031	1.28±0.045	1.26±0.175	1.3±0.031	1.18±0.133
SGR/FCR	2.29±0.22 ^{ab}	2.06±0.30 ^a	1.96±0.33 ^a	2.29±0.32 ^{ab}	2.79±0.40 ^b	1.92±0.09 ^a

注:表中同一行数据上标字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。下表同。

3.2 饲料中添加壳寡糖对花鲈体成分的影响

由表 3 可知,实验组中的粗脂肪(Crude fat)、粗

蛋白(Crude protein)、水分(Moisture)、灰分(Ash)与对照组相比没有显著性差异($P > 0.05$)。

表 3 壳寡糖对花鲈体成分的影响(湿重%)

Tab.3 Effects of dietary chitosan oligosaccharide on body composition of the juvenile Japanese seabass (wet weight%)

指标	对照组	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5
粗脂肪	9.07±0.35	8.94±0.12	8.38±1.12	8.4±1.04	8.66±0.68	8.85±0.83
粗蛋白	17.34±1.16	16.63±0.10	17.30±0.46	17.06±0.59	16.73±1.00	17.10±0.47
水分	68.33±1.19	69.23±0.54	69.09±1.06	69.57±0.95	69.89±1.93	69.22±0.19
灰分	4.77±0.34	4.51±0.08	4.51±0.16	4.89±0.51	4.31±0.29	4.52±0.09

3.3 饲料中添加壳寡糖对花鲈幼鱼肠道菌的影响

由表 4 可知,沙门氏菌(*salmonella*)数量随着壳寡糖添加量的增加而减少,在 Diet3、Diet4 和 Diet5 显著降低($P < 0.05$);在 Diet3、Diet4 大肠杆菌(*E.coli*)

含量显著降低($P < 0.05$);双歧杆菌(*Bifidobacterium*)数量随着壳寡糖添加的量增加先增加后减少,在 Diet1、Diet3 和 Diet4 显著大于对照组($P < 0.05$)。

表 4 壳寡糖对花鲈幼鱼肠道主要菌群数量的影响 (lg cfu/g)

Tab.4 Effects of dietary chitosan oligosaccharide on intestinal microorganisms of the Juvenile Japanese seabass (lg cfu/g)

指标	对照组	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	7.09±0.06 ^c	6.71±0.09 ^{bc}	6.81±0.04 ^c	6.30±0.59 ^{ab}	6.25±0.05 ^a	6.00±0.04 ^a
大肠杆菌 <i>E.coli</i>	7.06±0.07 ^{cd}	7.22±0.02 ^d	6.81±0.18 ^b	7.19±0.03 ^d	6.34±0.09 ^a	6.92±0.04 ^{bc}
双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>	7.94±0.08 ^c	8.14±0.05 ^d	8.12±0.04 ^d	8.10±0.05 ^d	7.47±0.03 ^a	7.66±0.03 ^b

3.4 饲料中添加壳寡糖对花鲈幼鱼肠道消化酶的影响

从表 5 中可知,与对照组相比,在 Diet3、Diet4 和 Diet5 的肠道胰蛋白酶(Trypsin)活性有显著性增强

($P < 0.05$);肠道脂肪酶(Lipase)的活力均有提高,在 Diet2、Diet3 和 Diet4 有显著性提高($P < 0.05$);肠道淀粉酶(AMS)的活力在 Diet2 有提高($P > 0.05$),其他各实验组都下降但不显著($P > 0.05$)。

表 5 壳寡糖对花鲈幼鱼肠道消化酶的影响

Tab.5 Effects of dietary chitosan oligosaccharide on digestive enzymes in the gut of the Juvenile Japanese seabass

指标	对照组	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5
胰蛋白酶/U·mgprot ⁻¹	256.96±17.56 ^a	260.53±34.6 ^a	208.04±17.46 ^a	357.83±34.97 ^b	415.46±38.67 ^c	318.1±23.79 ^b
脂肪酶/U·mgprot ⁻¹	0.828±0.054 ^a	0.952±0.113 ^{ab}	1.055±0.094 ^{bc}	1.137±0.087 ^c	1.058±0.078 ^{bc}	0.964±0.058 ^{ab}
淀粉酶/U·mgprot ⁻¹	0.255±0.067 ^{bc}	0.151±0.048 ^{ab}	0.386±0.123 ^c	0.096±0.075 ^a	0.214±0.06 ^{ab}	0.181±0.063 ^{ab}

3.5 饲料中添加壳寡糖对花鲈血清生化指标的影响

从表 6 可知,实验组血清总蛋白(TP)含量显著提高($P < 0.05$);总胆固醇(TC)在 Diet2 的含量显著提高($P < 0.05$),其他实验组均有降低但不存在显著

性差异($P > 0.05$);甘油三酯(TG)在各组间差异不存在显著性($P > 0.05$);高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量均有提高,除了 Diet4 不显著外($P > 0.05$),其他各组均有显著差异($P < 0.05$)。

表 6 壳寡糖对花鲈血清生化指标的影响

Tab.6 Effects of dietary chitosan oligosaccharide on serum biochemical indexes of the juvenile Japanese seabass

指标	对照组	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5
总蛋白 TP(g/L)	44.62±1.96 ^a	58.06±0.89 ^b	73.22±2.54 ^d	63.88±3.83 ^c	58±3.17 ^b	61.94±2.66 ^{bc}
总胆固醇(TC)/mmol·gprot ⁻¹	5.67±0.35 ^a	5.60±0.41 ^a	6.48±0.32 ^b	5.49±0.29 ^a	5.57±0.15 ^a	5.41±0.25 ^a
甘油三酯(TG)/mmol·L ⁻¹	2.42±0.15	2.55±0.08	2.77±0.2	2.61±0.07	2.5±0.17	2.51±0.12
高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)/mmol·L ⁻¹	5.07±0.34 ^a	6.13±0.18 ^b	6.05±0.41 ^b	6.04±0.48 ^b	5.53±0.29 ^{ab}	6.98±0.32 ^c

3.6 饲料中添加壳寡糖对花鲈幼鱼血清非特异性免疫的影响

从表 7 可知,丙二醛(MDA)的含量在 Diet3 显著

降低($P < 0.05$),而其他各实验组均提高,在 Diet2 尤为明显($P < 0.05$);在 Diet1 超氧化物歧化酶(SOD)活性显著提高($P < 0.05$);碱性磷酸酶(AKP)活性除

了 Diet1 有提高($P>0.05$),其余各实验组均降低并且 Diet2、Diet3 显著性降低($P<0.05$);各实验组的溶菌酶(LZM)的活性均增强, Diet2、Diet3 和 Diet5 显著

性增加($P<0.05$)活性增强了约 13.11%~48.79%;过氧化氢酶(CAT)活性在 Diet1 有提高($P>0.05$),其他各实验组均显著性降低($P<0.05$)。

表 7 壳寡糖对花鲈幼鱼血清非特异性免疫的指标的影响

Tab.7 Effects of dietary chitosan oligosaccharide on Nonspecific immunity index in serum of the juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)

指标	对照组	Diet1	Diet2	Diet3	Diet4	Diet5
丙二醛(MDA) (nmol·mgprot ⁻¹)	16.06±2.06 ^b	18.54±2.41 ^b	29.27±4.25 ^c	11.17±1.67 ^a	16.57±1.97 ^b	20.36±0.32 ^b
超氧化物歧化酶(SOD)/U·mL ⁻¹	15.15±1.33 ^c	26.07±1.99 ^d	13.73±0.29 ^{bc}	12.35±0.5 ^b	7.59±0.68 ^a	8.39±0.77 ^a
碱性磷酸酶(AKP)/金氏单位·mL ⁻¹	2.34±0.28 ^b	2.52±0.31 ^c	1.89±0.16 ^a	1.83±0.21 ^a	2.03±0.13 ^{ab}	2.09±0.19 ^{ab}
溶菌酶(LZM)/U·mL ⁻¹	244.94±27.62 ^a	312.59±21 ^b	357.04±24.98 ^{cd}	364.44±20.37 ^d	277.04±23.76 ^{ab}	320±23.41 ^{bc}
过氧化氢酶(CAT)/U·mL ⁻¹	68.8±8.78 ^a	73.2±4.83 ^a	54.47±2.29 ^b	55.16±5.89 ^b	54.8±6.08 ^b	54.65±8.03 ^b

4 讨论

4.1 壳寡糖对花鲈幼鱼生长性能的影响

益生元是否促进生长,受益生元的来源、鱼种类、饲料组成等因素影响。Refstie 等^[7]研究发现投喂大豆寡糖后的大西洋鲑(*Salmo salar*)的 WGR、FCR 均优于对照组。在饲料中添加 0.4% 壳寡糖显著提高鲟鲈 SGR^[8]。壳寡糖显著提高虹鳟 SGR^[9]。孙立威等^[10]为期 10 周的罗非鱼饲养试验,结果显示添加壳寡糖的实验组 WGR 和 FCR 均优于未添加组。本试验结果表明,饲料中添加壳寡糖量在 0.6%、0.8% 对花鲈幼鱼 WGR 具有促进作用。但添加量为 0.2%、0.4% 和 1.0% 对 WGR 具有抑制作用。寡糖对促生长一般通过改变肠道菌群、消化酶、矿物质的吸收来影响机体的生长性能。

本试验中,添加壳寡糖降低了沙门氏菌数量。添加 0.4%、0.8% 壳寡糖显著降低了大肠杆菌数量。添加 0.2%、0.4% 和 0.6% 壳寡糖显著增加了双歧杆菌的数量。与此同时添加量为 0.6%、0.8% 壳寡糖提高花鲈幼鱼的 WGR。这说明改善肠道菌群与提高花鲈幼鱼的生长性能存在相关性。寡糖具有改善肠道菌群,促进有益菌增殖的作用。低聚木糖有效促进青春双歧杆菌增殖,同时有益菌利用寡糖产生短链脂肪酸和降低肠道内环境 pH^[11]。短链脂肪酸能为肠黏膜细胞提高能量、促进细胞代谢、生长和防止肠功能紊乱^[12],从而促进肠黏膜对营养物质的吸收和利用。低 PH 环境下不利于大肠杆菌和沙门氏菌等有害菌的生长,却有助于双歧杆菌等有益菌增殖,同时促进

Ca 溶解和吸收。Zafar 等^[13]证实寡糖可以增加钙的生物利用度和保持力。Jung 等^[14]证实壳寡糖有助于吸收和保持钙的能力。非消化性寡糖能提高一些矿物质的吸收、骨骼的形成,对骨代谢有一定的影响^[15]。

水产动物中肠道消化酶对营养物质的吸收利用非常重要,消化酶活力的提高能提高饲料转化率,促进生长性能。胰蛋白酶的作用主要是选择性的水解食物中的蛋白质为小分子可吸收的物质,利于消化吸收。谭崇桂等^[16]研究甘露寡糖对凡纳滨对虾的影响,当添加量 0.4% 时可以显著提高胃蛋白酶活性。Sang 等^[17]研究得出,添加 0.4% 甘露寡糖显著提高小龙虾蛋白酶和肝脏脂肪酶的活性。本试验中添加 0.6% 和 0.8% 壳寡糖显著增强胰蛋白酶和脂肪酶的活力,同时这两组的特定生长率也大于对照组。说明壳寡糖通过增强胰蛋白酶和脂肪酶的活力来增加食物的消化利用,从而促进花鲈的生长。壳寡糖促进消化酶活性的作用,可能与寡糖有助于肠黏膜上皮细胞的排列,并能改善肠绒毛高度、厚度有关。但添加 0.2%、0.4% 和 1.0% 的壳寡糖的特定生长率低于对照组具有抑制作用。郑炫禹等^[18]提供了一种含有壳寡糖作为有效成分,抑制淀粉酶的活性从而达到糖分解抑制效果。说明添加一定量的壳寡糖会对消化酶有一定的抑制作用,从而抑制机体的生长。本试验添加壳寡糖的淀粉酶活力低于对照组,这与郑炫禹等的发明专利相符合。这也可能是导致本试验增长率和特定生长率不显著的原因之一。

4.2 壳寡糖对花鲈幼鱼血清生化指标的影响

高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)作为一种“好”胆固醇,主要作用是将血液中的胆固醇脂运输到肝脏中。本试验中添加壳寡糖对花鲈甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC)没有显著影响,但显著提高 HDL-C 含量。黄鑫玮等^[3]和刘含亮等^[9]分别研究壳寡糖对建鲤和虹鳟的影响,对 TC 和 TG 均没有显著影响,但显著提高 HDL-C 含量。Li 等^[19]发现壳寡糖能提高肉鸡的 HDL-C 含量。壳寡糖灌胃大鼠 60 d, TG 与正常组无显著差异,胆固醇有轻度升高^[20]。血清总蛋白(TP)来自肝脏合成和肠道的吸收,主要维持血液渗透压,并且对脂类运输也非常重要。TP 对动物的生长发育至关重要。TP 来源受阻将会抑制生长,但通过静脉注射白蛋白便可以恢复正常生长^[21]。TP 的高低能反应动物机体的免疫应激状态,处于胁迫、疾病等应激状态下鱼类中的 TP 含量会下降^[22]。本试验中 TP 含量显著提高。Yang 等^[23]研究发现壳寡糖能提高断奶仔猪 TP 含量。壳寡糖对虹鳟 TP 有提高^[9]。本试验与其他人研究相近,说明添加壳寡糖对花鲈幼鱼血清中 TG 和 TC 没有影响,但具有提高血清中 TP 和 HDL-C 含量作用,有助于脂肪代谢。

4.3 壳寡糖对花鲈幼鱼血清非特异性免疫的影响

非特异性免疫在鱼类免疫防御方面发挥重要作用。溶菌酶(LZM)的作用主要是破坏细胞壁使细菌内容物流出达到杀死细菌的目的。常青等^[24]研究壳聚糖对花鲈的影响,发现短期投喂可以提升 LZM 的活性。Lin 等^[25]在饲料中添加壳寡糖有效的提高鲤鱼 LZM 的活性。沈锦玉等^[5]研究得出壳寡糖有效提高中华绒螯蟹血清 LZM 和 SOD 活性。与对照组相比,本实验中血清 LZM 活性提高了 13.11%~48.79%,证实上述壳寡糖可以提高血清 LZM 的观点。

参考文献:

- [1] Swiatkiewicz S, Swiatkiewicz M, Arczewska-Wlosek A, et al. Chitosan and its oligosaccharide derivatives (Chito-oligosaccharides) as feed supplements in poultry and swine nutrition[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2015, 99(1): 1-12.
- [2] 陈海燕, 张彬, 何勇松. 壳寡糖的研究进展和应用前景[J]. *广东畜牧兽医科技*, 2007, 32(2): 17-20, 29.
Chen Haiyan, Zhang Bin, He Yongsong. Research progress and application foreground of chitosan oligosaccharide[J]. *Guangdong Journal of Animal and Veterinary Science*, 2007, 32(2): 17-20, 29.
- [3] 黄鑫玮, 杨莎莎, 刘毅, 等. 壳寡糖对幼建鲤生长性能、脂肪代谢、非特异性免疫功能和肠道健康的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(7): 2106-2114.
Huang Xinwei Yang Shasha Liu Yi, et al. Effect of dietary chitosan on growth performance, lipid metabolism, non-specific immune function and intestinal health of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(7): 2106-2114.
- [4] 蔡胜昌, 张利民, 张德瑞, 等. 壳寡糖与低聚木糖对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼生长、体组成和血液生化指标的影响[J]. *渔业科学进展*, 2015, 36(6): 29-36.
Cai Shengchang, Zhang Limin, Zhang Derui, et al. Effects of chitosan oligosaccharide and Xylo-oligosaccharide on the growth performance, body

超氧化物歧化酶(SOD)是水产动物中重要抗氧化因子、天然活性氧自由基去除剂^[26]。丙二醛(MDA)是油脂酸败的重要有害物质之一,间接反映了动物细胞损失程度。碱性磷酸酶(AKP)主要水解动物体内的磷酸单脂化合物。过氧化氢酶(CAT)作为一种酶类清除剂,清除体内产生的过氧化氢。本试验结果显示,添加 0.2%壳寡糖 SOD、AKP、CAT 活性均有提高,但其他各组低于对照组。添加量 0.6%时 MDA 显著降低,其他添加量均提高。蔡胜昌等^[4]在大菱鲆饲料中添加壳寡糖降低了 SOD 和 AKP 活性。壳寡糖有效抑制建鲤、肉鸡血清中 MDA 产生^[3,27]。本试验中,添加量 0.6%的 MDA 与其他人研究相近,但是其他各组均高于对照组。分析原因:壳寡糖对花鲈免疫不但没有产生促进作用反而起到一定的抑制作用。这是因为壳寡糖具有广谱抗菌活性,分子中的氨基离子极容易与溶液中的氢离子结合,使壳寡糖分子带正电荷吸附在菌体表面形成一层膜阻止细菌细胞内运输^[28]。小分子的壳寡糖通过渗透作用进入细胞内部,与细胞溶液中的阴离子吸附,干扰细菌细胞的正常代谢^[29]。因此添加壳寡糖导致受损的细胞增加,MDA 含量增加,同时分泌和合成相关酶受阻。从而导致花鲈血清中 SOD、AKP、CAT 活性降低。本试验中壳寡糖对免疫起到抑制作用,SOD、AKP、CAT 活性变化曲线在添加量 0.2%时高于对照组,而其他各组均低于对照组,因此添加剂量低于 0.2%时是否对免疫有促进影响,此观点还有待进一步研究。

综上所述,结合花鲈幼鱼生长性能、肠道消化酶、肠道菌群、血清生化指标和非特异性免疫的指标考虑,认为添加 0.6%~0.8%壳寡糖对花鲈幼鱼的生长发育作用效果最佳。

- composition and serum biochemistry of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(6): 29—36.
- [5] 沈锦玉, 刘向, 曹铮, 等. 免疫增强剂对中华绒螯蟹免疫功能的影响 [J]. *浙江农业学报*, 2004, 16(1): 25—29.
Shen Jinyu, Liu wen, Cao Zheng, et al. Effect of immunity-stimulants on immunity function of *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2004, 16(1): 25—29.
- [6] 潘金露. 饲料中壳寡糖和褐藻酸寡糖对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 消化及肠道菌群的影响 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2016.
Pan Jinlu. Effect of chitosan oligosaccharide and alginate oligosaccharide on digestive ability and gastrointestinal microbial community of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016.
- [7] Refstie S, Storebakken T, Roem A J. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens [J]. *Aquaculture*, 1998, 162(3/4): 301—312.
- [8] Lin Shimei, Mao Shuhong, Guan Yong, et al. Dietary administration of chitooligosaccharides to enhance growth, innate immune response and disease resistance of *Trachinotus ovatus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2012, 32(5): 909—913.
- [9] 刘含亮, 孙敏敏, 王红卫, 等. 壳寡糖对虹鳟生长性能、血清生化指标及非特异性免疫功能的影响 [J]. *动物营养学报*, 2012, 24(3): 479—486.
Liu Hanliang, Sun Minmin, Wang Hongwei, et al. Effects of Chito-oligosaccharides on growth performance, serum biochemical indices and non-specific immunity function of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(3): 479—486.
- [10] 孙立威, 文华, 蒋明, 等. 壳寡糖对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、非特异性免疫及血液学指标的影响 [J]. *广东海洋大学学报*, 2011, 31(3): 43—49.
Sun Liwei, Wen Hua, Jiang Ming, et al. Effect of dietary chitosan on growth performance, non-specific immunity and hematological parameters of juvenile GIFT Tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2011, 31(3): 43—49.
- [11] 张晓萍, 勇强, 余世袁. 青春双歧杆菌体外代谢低聚木糖的研究 [J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2010, 34(1): 5—8.
Zhang Xiaoping, Yong Qiang, Yu Shiyuan. *In vitro* fermentation of xylooligosaccharides by *Bifidobacterium adolescentis* [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2010, 34(1): 5—8.
- [12] 王子花, 申瑞玲, 李文全. 短链脂肪酸的产生及作用 [J]. *畜牧兽医科技信息*, 2007(2): 12—13.
Wang Zihua, Shen Ruiling, Li Wenquan. The production and function of short chain fatty acids [J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2007(2): 12—13.
- [13] Zafar T A, Weaver C M, Zhao Yongdong, et al. Nondigestible oligosaccharides increase calcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats [J]. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134(2): 399—402.
- [14] Jung W K, Moon S H, Kim S K. Effect of chitooligosaccharides on calcium bioavailability and bone strength in ovariectomized rats [J]. *Life Sciences*, 2006, 78(9): 970—976.
- [15] 黄纪明, 白树民, 朱德兵, 等. 低聚异麦芽糖对模拟失重大鼠肠道益生菌以及钙代谢和骨矿盐密度影响的初步研究 [J]. *中国微生态学杂志*, 2002, 14(4): 189—191.
Huang Jiming, Bai Shumin, Zhu Debing, et al. The effects of isomaltooligosaccharide on the gut probiotics and femur's BMD and calcium metabolism in simulating weightlessness rats [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2002, 14(4): 189—191.
- [16] 谭崇桂, 冷向军, 李小勤, 等. 多糖、寡糖、蛋白酶对凡纳滨对虾生长、消化酶活性及血清非特异性免疫的影响 [J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(1): 93—99.
Tan Chonggui, Leng Xiangjun, Li Xiaoqin, et al. Effects of polysaccharides, oligosaccharides and protease on growth, digestive enzyme activities and serum nonspecific immunity of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(1): 93—99.
- [17] Sang H M, Fotedar R, Filer K. Effects of dietary mannan oligosaccharide on the survival, growth, immunity and digestive enzyme activity of freshwater crayfish, *Cherax destructor* Clark (1936) [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(2): e629—e635.
- [18] 郑炫禹, 田熙英, 徐大方, 等. 含有壳寡糖的淀粉酶活性抑制用组合物 [P]. 中国: CN104884066A, 2015—09—02.
Zheng Xuanyu, Tian Xiyang, Xu Dafang, et al. Amylase-activity-inhibiting composition containing Chito-oligosaccharide [P]. CN: CN104884066A, 2015-09-02.
- [19] Li X J, Piao X S, Kim S W, et al. Effects of Chito-oligosaccharide supplementation on performance, nutrient digestibility, and serum composition in broiler chickens [J]. *Poultry Science*, 2007, 86(6): 1107—1114.
- [20] 刘冰, 刘万顺, 韩宝芹, 等. 壳寡糖及其衍生物对实验性糖尿病大鼠调节血脂和抗氧化作用 [J]. *山东大学学报: 理学版*, 2006, 41(4): 158—163.
Liu Bing, Liu Wanshun, Han Baoqin, et al. Effect of chitooligosaccharides and its derivatives on regulating plasma lipid and improving antioxidant ability in diabetic mouse induced by STZ [J]. *Journal of Shandong University*, 2006, 41(4): 158—163.
- [21] White W B, Bird H R, Sunde M L, et al. Viscosity of β -D-glucan as a factor in the enzymatic improvement of barley for chicks [J]. *Poultry Science*, 1983, 62(5): 853—862.
- [22] Magnadóttir B, Crispin M, Royle L, et al. The carbohydrate moiety of serum IgM from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2002, 12(3): 209—227.
- [23] Yang H S, Xiong X, Li J Z, et al. Effects of Chito-oligosaccharide on intestinal mucosal amino acid profiles and alkaline phosphatase activities, and serum biochemical variables in weaned piglets [J]. *Livestock Science*, 2016, 190: 141—146.

- [24] 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.
Chang Qing, Liang Mengqing, Wang Jialin, et al. Influence of chitosan on the growth and non-specific immunity of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. Marine Fisheries Research, 2006, 27(5): 17—22.
- [25] Lin Shimei, Mao Shuhong, Guan Yong, 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.
- [26] Winston G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 1991, 100(1/2): 173—176.
- [27] 李阳, 常文环, 张姝, 等. 饲料添加壳寡糖和干酪乳杆菌对肉鸡生长性能、肌肉品质及抗氧化性能的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(5): 1450—1461.
Li Yang, Chang Wenhuan, Zhang Shu, et al. Effects of dietary chitosan oligosaccharide and *Lactobacillus casei* on growth performance, meat quality and antioxidant function of broilers [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(5): 1450—1461.
- [28] Helander I M, Nurmiaho-Lassila E L, Ahvenainen R, et al. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria [J]. International Journal of Food Microbiology, 2001, 71(2/3): 235—244.
- [29] 徐后国, 艾庆辉, 麦康森, 等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌和壳寡糖对大黄鱼幼鱼血清免疫指标的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2011, 41(7/8): 42—47.
Xu Houguo, Ai Qinghui, Mai Kangsen, et al. Effects of dietary administration of *Bacillus subtilis* and Chito-oligosaccharide on serum immune parameters of juvenile large croaker, *Pseudosciaena crocea* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2011, 41(7/8): 42—47.

Effects of dietary Chitosan oligosaccharide on the performance, digestion and serum biochemical indexes of the juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)

Hu Xiaowei^{1,2}, Shangguan Jingbo^{1,2}, Li Zhongbao^{1,2}, Yang Min^{1,2}, Xu Anle^{1,2}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Marine Fishery Resources and Eco-environment, Xiamen 361021, China)

Abstract: This research was conducted to evaluate the effects of dietary supplementation with Chitosan-oligosaccharide (COS) on the growth performance, digestion, serum biochemical indexes and intestinal flora. A total of 360 juvenile Japanese seabass were randomly assigned to six treatment diets that included COS at concentrations of 0%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0% for 45 d. Each treatment had 3 replicates with 20. The results showed: (1) The growth performance: The weight gain and specific growth rate of Diet3(0.6%) and Diet4(0.8%) were increased compared with the control group ($P > 0.05$); (2) The digestive ferment: The intestinal trypsin activity were significantly increased ($P < 0.05$) in the Diet3(0.6%), Diet4(0.8%) and Diet5(1.0%). Intestinal lipase activity was remarkably increased at Diet2(0.4%), Diet3(0.6%) and Diet4(0.8%) ($P < 0.05$). There was no significant difference in intestinal amylase activity ($P > 0.05$). (3) The serum biochemical indexes: Compared with the control group, the contents of the serum total protein and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was obviously increased ($P < 0.05$); (4) The nonspecific immunity: The contents of MDA was decreased significantly ($P > 0.05$) on the Diet3(0.6%). The activities of superoxide dismutase, alkaline phosphatase and peroxidase were all increased ($P > 0.05$) on the Diet1 (0.2%), and the serum lysozyme was significantly increased ($P < 0.05$). (5) Intestinal flora: The number of Salmonella in Diet3 (0.6%), Diet 4(0.8%) and Diet5(1%), and E. coli was significantly decreased ($P < 0.05$) in Diet(0.8%). The quantity of bifidobacteria increased significantly ($P < 0.05$) in Diet1(0.2%), Diet2(0.4%) and Diet3(0.6%). In conclusion, these results indicate that COS can enhance growth and immunity of juvenile Japanese seabass, and the optimum addition level was 0.6%~0.8% in diet.

Key words: *Lateolabrax japonicas*; chitosan-oligosaccharide; growth performance; non-specific immune; intestinal flora