

壳寡糖对杂交黄颡鱼“黄优1号”(黄颡鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂)生长性能与免疫机能的影响

李明波 沈凡 崔庆奎 齐飘飘 王银海 张海龙 丁运敏 沈志刚

EFFECTS OF DIETARY CHITOSAN OLIGOSACCHARIDE ON GROWTH PERFORMANCE AND IMMUNITY OF HYBRID YELLOW CATFISH “HUANGYOU NO. 1” *TACHYSURUS FULVIDRACO*♀×*TACHYSURUS VACHELLI*♂

LI Ming-Bo, SHEN Fan, CUI Qing-Kui, QI Piao-Piao, WANG Yin-Hai, ZHANG Hai-Long, DING Yun-Min, SHEN Zhi-Gang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2020.085>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”形态及性腺发育的比较

THE MORPHOLOGY AND GONAD DEVELOPMENT OF *PELTEOBAGRUS FULVIDRACO* AND ITS INTERSPECIFIC HYBRID “HUANGYOU NO. 1” WITH *PELTEOBAGGRUS VACHELLI*

水生生物学报. 2019, 43(6): 1231–1238 <https://doi.org/10.7541/2019.146>

杂交黄颡鱼与普通黄颡鱼幼鱼生长性能及耐低氧能力的比较

THE GROWTH CHARACTERISTICS AND HYPOXIA TOLERANT ABILITY OF YELLOW CATFISH AND HYBRID CATFISH

水生生物学报. 2019, 43(6): 1271–1279 <https://doi.org/10.7541/2019.151>

应用DNA分子标记鉴定黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼及其杂交种的研究

IDENTIFICATION OF *PELTEOBAGRUS FULVIDRACO*, *PELTEOBAGGRUS VACHELLI* AND THEIR INTERSPECIFIC HYBRID BY DNA MARKERS

水生生物学报. 2017, 41(2): 321–325 <https://doi.org/10.7541/2017.39>

饲料中添加谷胱甘肽对黄颡鱼幼鱼组织谷胱甘肽含量、免疫及抗氧化性能的影响

EFFECTS OF DIETARY SUPPLEMENTATION WITH GLUTATHIONE ON TISSUE GSH LEVEL, IMMUNITY, AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF JUVENILE YELLOW CATFISH (*PELTEOBAGURS FULVIDRACO*)

水生生物学报. 2018, 42(4): 728–735 <https://doi.org/10.7541/2018.089>

不同蛋白源对瓦氏黄颡鱼幼鱼生长和蛋白质代谢相关基因表达的影响

EFFECTS OF DIFFERENT PROTEIN SOURCES ON GROWTH PERFORMANCE AND METABOLISM-RELATED GENE EXPRESSION IN JUVENILE DARKBARBEL CATFISH (*PELTEOBAGRUS VACHELLI*)

水生生物学报. 2019, 43(4): 693–700 <https://doi.org/10.7541/2019.082>

饲料蛋白质水平对洛氏生长、非特异性免疫及蛋白质合成的影响

EFFECTS OF DIETARY PROTEIN LEVELS ON THE GROWTH PERFORMANCE, ACTIVITY OF NON-SPECIFIC IMMUNITY AND PROTEIN SYNTHESIS CAPACITY OF *RHYNCHOCYPRIS LAGOWSKII* DYBOWSKI

水生生物学报. 2018, 42(4): 709–718 <https://doi.org/10.7541/2018.087>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2020.085

壳寡糖对杂交黄颡鱼“黄优1号”(黄颡鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂)生长性能与免疫机能的影响

李明波^{1,2} 沈凡³ 崔庆奎⁴ 齐飘飘⁴ 王银海⁴ 张海龙⁴ 丁运敏⁵ 沈志刚⁴

(1. 潜江市水产技术推广中心, 潜江 433100; 2. 潜江市玉欣水产养殖专业合作社, 潜江 433100; 3. 北京听大洋科技发展有限公司, 北京 100081; 4. 华中农业大学水产学院, 农业部淡水生物繁育重点实验室, 池塘健康养殖湖北省工程实验室, 武汉 430070; 5. 武汉市武湖农业发展有限公司, 武汉 430331)

摘要: 为研究饲料中添加不同剂量壳寡糖(COS)对杂交黄颡鱼“黄优1号”(*Tachysurus fulvidraco* ♀ × *Tachysurus vachelli* ♂)生长性能、特异及非特异性免疫机能的影响, 试验分4组, 壳寡糖有效剂量分别以0、40、80和120 mg/kg添加到饲料中, 为期56d。结果显示: 120 mg/kg组特定生长率(SGR)显著高于对照组, 饲料系数(FCR)显著低于对照组($P < 0.05$); 随壳寡糖剂量增大, 蛋白质效率(PER)变化趋势与FCR相反。同时, 各剂量壳寡糖均能显著提高白细胞吞噬指数(PI, $P < 0.05$); 淋巴细胞转化率(LTR)随壳寡糖剂量增大而显著升高($P < 0.05$), 剂量达80 mg/kg后保持稳定($P > 0.05$); 高剂量试验组(80和120 mg/kg)溶菌酶活力和IgM水平显著高于低剂量组(40 mg/kg)和对照组($P < 0.05$)。研究结果表明: 在试验条件下, 饲料中添加壳寡糖能显著提升杂交黄颡鱼“黄优1号”生长速度, 降低饲料系数, 促进白细胞吞噬功能及淋巴细胞转化, 并能提高体液免疫水平, 建议有效剂量为80—120 mg/kg。

关键词: 壳寡糖; 杂交黄颡鱼; 生长性能; 特异及非特异免疫

中图分类号: S965.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2020)04-0707-10

几丁质存在于节肢动物外骨骼及一些真菌细胞壁中, 高温下经强碱溶液处理, 实现脱乙酰化, 形成壳聚糖(chitosan)^[1]。壳聚糖经酸解、物理降解或酶解, 形成壳寡糖(chitosan oligosaccharide, COS), 聚合度 ≤ 20 , 平均分子量 $< 3900 \text{ Da}$ ^[2]。壳寡糖又称几丁寡糖、低聚壳聚糖、寡聚 β -(1→4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 是目前所知唯一的正电荷碱性氨基葡萄糖低聚糖^[3], 因分子量低, 水溶性高, 其生物功能活性高于壳聚糖^[4]。壳寡糖能被动物小肠吸收, 不仅具益生元功能, 还能经血液循环到达肝、肾、脾、心、胸腺等靶器官, 起组织保护作用, 亦能结合巨噬细胞表面受体, 起调节免疫、抗炎、抗氧化作用^[4, 5]。同时, 壳寡糖安全性极高, 小鼠口服半致死浓度高于蔗糖($> 16 \text{ g/kg}$), 因此适用于养殖动物保健, 甚至可能成为抗生素替代品之一^[6]。食品安全问题现已成为养殖产业发展的重要制约因素, 2010年起农业部陆续发布1435、1759、2292号

公告, 禁止水产用兽药34种(计规格共57个), 其中抗菌、消毒类24种(计规格共41个)。近几年来, 政府、学者、消费者对水产“无抗时代”的呼声越来越高, 期待越来越强烈, 抗菌兽药减用方案及替代品亟待探索。

黄颡鱼(Yellow catfish, *Tachysurus fulvidraco*)属鲇形目(Siluriformes)、鲿科(Bagruidae)、拟鲿属(*Tachysurus*), 是近年来增长速度最快、受关注度最高的淡水名特养殖鱼类之一, 产量从2014年的 $33.4 \times 10^7 \text{ kg}$ 增至2018年的 $51.0 \times 10^7 \text{ kg}$, 在我国淡水养殖鱼类产量中排第9位^[7]。黄颡鱼生长存在明显雌、雄二态特征, 在相同饲养条件下, 雄性规格可高达雌性的3倍^[8]。针对黄颡鱼养殖过程中出现的规格差异, 我国科研人员已培育出两个黄颡鱼新品种: 以“超雄黄颡鱼”(YY)为父本生产“全雄黄颡鱼”; 以普通黄颡鱼为母本、瓦氏黄颡鱼(*Tachysurus vachelli*)为父本生产的杂交黄颡鱼“黄优1号”(黄颡

收稿日期: 2019-09-19; 修订日期: 2020-02-16

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金(2662017QD035); 湖北省自然科学基金(2018CFB215)资助 [Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2662017QD035); Natural Science Foundation of Hubei Province (2018CFB215)]

作者简介: 李明波(1978—), 男, 本科; 研究方向为淡水名特鱼类养殖技术。E-mail: 274126860@qq.com

通信作者: 沈志刚, 副研究员; 研究方向为鱼类性别分化和生长二态性。E-mail: zgshen2017@mail.hzau.edu.cn

鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂,下同)。目前,杂交黄颡鱼“黄优1号”(2019年全国水产原种和良种审定委员会审定新品种)因规格相对整齐、生长快、存活率高、耐低氧、耐运输等优势^[9-11],养殖需求逐年增长。

近年来,黄颡鱼上市规格要求提高,养殖成本上涨,价格存在较大波动,因此,养殖者对该品种生长速度、饲料利用、存活与抗病力的要求日趋严苛。

已有研究显示,壳聚糖对黄颡鱼生长、免疫具一定积极作用^[12,13]。但壳寡糖对黄颡鱼或杂交黄颡鱼的影响及剂量效应,尚未见研究报道。此外,现有壳寡糖对鱼类免疫机能影响的研究,主要关注非特异性免疫,其对鱼类特异性免疫,尤其特异性细胞免疫的影响鲜有报道。本研究旨在评价饲料添加不同剂量壳寡糖对“黄优1号”生长性能、饲料利用、特异及非特异性免疫的影响,以期为黄颡鱼功能性添加剂的选择提供理论基础,并为鱼类免疫学研究提供数据资料。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验鱼初始群体为1200尾9月龄秋繁杂交黄颡鱼,获自湖北黄优源渔业发展有限公司(湖北省武汉市江夏区)。从中随机筛选体重33—40 g的健康个体420尾作为试验鱼。不人为干预雌、雄初始规格差异,但保证各组性比差异不显著,且与试验鱼来源群体(捕自池塘的1200尾)性比接近。将试验鱼饲养于12个容积为1 m³的网箱,每网箱35尾,将12个网箱随机分配至4个试验组,每组3个重复。试验鱼从池塘转入网箱暂养7d(暂养期间投基础饲料)。试验开始前测定所有个体体长和体重,并根据雄性具生殖突的特性记录性比,初始体重(36.46±0.59) g,体长(12.99±0.10) cm,性比1.04(♂:♀),体重变异系数(21.21±3.02)%,各组间差异不显著。

1.2 试验饲料

试验饲料由北京科澳协力饲料有限公司订制加工。基础饲料配方见表1。壳寡糖(COS,含量为10%)通过喷涂工艺添加,水溶组分的喷涂设置于烘干后,油脂喷涂前。

1.3 试验分组

试验设4组,壳寡糖(10%)添加量分别为0(C组,对照组)、400 mg/kg(T1组,有效剂量40 mg/kg)、800 mg/kg(T2组,有效剂量80 mg/kg)、1200 mg/kg(T3组,有效剂量120 mg/kg)。每组3个网箱,规格、密度同1.1所述。试验为期56d。

壳寡糖(纯度为10%)获自中国科学院大连化学物理研究所,脱乙酰度≥95%,聚合度2—8,分子

表1 试验基础配方及营养成分(风干物质基础)

Tab. 1 Ingredients and chemical analysis of the basal diets (air-dried basis)

| 原料Ingredient | 用量Content (g/kg) | 化学成分Chemical composition | 含量Percentage (%) |
|-------------------------------------|------------------|--------------------------|------------------|
| 秘鲁鱼粉(日本级) Peruvian fishmeal | 180 | 粗蛋白CP | 42.13 |
| 国产鱼粉Domestic fish meal | 80 | | |
| 猪肉粉Pork powder | 80 | 粗脂肪EE | 9.48 |
| 血球蛋白粉Spray-dried animal blood cells | 20 | | |
| 豆粕43 Soybean meal 43 | 220 | 赖氨酸Lys | 2.82 |
| 膨化大豆Extruded soybean | 80 | | |
| 玉米蛋白粉Corn gluten meal | 60 | 蛋氨酸Met | 0.97 |
| 鱼油Fish oil | 10 | | |
| 豆油Soybean oil | 30 | 总磷Tpho | 1.52 |
| 小麦Wheat meal | 180 | | |
| 次粉Wheat middling meal | 24 | 水分Moisture | 9.65 |
| 磷酸二氢钙 Monocalcium phosphate | 15 | | |
| 氯化胆碱(60%)Choline chloride (60%) | 3 | 粗灰分Ash | 10.98 |
| 预混料Premix* | 10 | | |
| 赖氨酸(98%) Lysine | 3 | 总能kcal/kg | 4529.05 |
| 蛋氨酸Methionine | 1.5 | | |
| 叶黄素(黄色素4%) Lutein (Uranidin 4%) | 2 | | |
| 抗氧化剂(EQ+BHA) Antioxidant (EQ+BHA) | 0.3 | | |
| 食盐NaCl | 1.2 | | |
| 合计Total (kg) | 1 000 | | |

注: *包括维生素预混料及矿物质预混料, 配方如下: 维生素(kg预混料): VA 2500000 IU; VD₃ 50000 IU; VE 6700 IU; VB₁ 1.5 g; VB₂ 5 g; VB₆ 7 g; 烟酸20 g; 泛酸钙15 g; 生物素0.1 g; 叶酸0.4 g; 肌醇20 g; VB₁₂ 0.01 g; VK₃ 2 g; VC酯30 g; 矿物质(g/kg预混料): 铜2.5; 铁64; 锰13; 锌19; 碘0.021; 硒0.07; 钴0.016; 镁96; 钾0.05

Note: Vitamin (IU or g/kg premix): retinyl acetate, 2500000 IU; cholecalciferol, 50000 IU; all-rac- α -tocopherol, 6700 IU; thiamine, 1.5 g; riboflavin, 5; pyridoxine hydrochloride, 7; nicotinic acid, 20; D-ca pantothenate, 15; biotin, 0.1; folic acid, 0.4; inositol, 20; cyanocobalamin 0.01; menadione, 2; ascorbate phosphate 30. Mineral (g/kg premix): Cu 2.5, Fe 64, Mn 13, Zn 19, I 0.021, Se 0.07, Co 0.016, Mg 96, K 0.05

量≤2000 Da, 载体为麦芽糊精。

1.4 饲养管理

试验于湖北黄优源渔业发展有限公司开展。网箱架设于黄颡鱼育成土池塘中,位于池塘自动投饵机的另一侧,网孔1 cm。池深2.2 m,池总面积13340 m²(20亩),叶轮式增氧机配置0.9 W/m²(0.6 kW/

亩)。NH₃-N、NO₂⁻、H₂S每7天测1次,DO及水温每日监测,自然光照。期间水温26—32℃,NH₃-N≤0.3 mg/L,NO₂⁻≤0.05 mg/L,H₂S<0.02 mg/L,pH 7.6—8.8,DO>3.8 mg/L。每日2次投喂,06:30及18:30,投饵机开启,吸引池中鱼群聚集于靠近投饵机侧后,开始对网箱投喂,以防试验料吸引池塘中黄颡鱼。每次投喂至表观饱食。称差重计每日采食量。

试验结束前5d,每平行取5尾(用于淋巴细胞转化率检测),用150 mg/L MS-222溶液麻醉,胸鳍下注射植物血凝素(PHA-P)(合肥博美生物科技有限公司第一分公司)。PHA-P用Jeager's液溶解至2.4 μg/mL,剂量为8 μg/g鱼体重,注射后用红线捆背鳍硬棘标记,放回原网箱。3d后按原剂量第2次注射。

1.5 样品采集

在56d饲养结束后,禁食24h,MS-222溶液(100 mg/L)麻醉,测所有未标记试验鱼体长(BL)、体重(BW),判断性别,记终末尾数,并计算如下参数:

特定生长率(Specific growth rate, SGR, %/d)=100×(ln W_t -ln W_0)/ t ;

体重变异系数(Coefficient of variation, CV, %)=100×(SD_w/W_t)

蛋白质效率(Protein efficiency rate, PER)=($\sum W_t$ - $\sum W_0$)/ W_p

饵料系数(Feed conversion ratio, FCR)= $W_p/(\sum W_t$ - $\sum W_0)$

肥满度(Condition factor, CF, g/m³)=100× W_t/L^3

存活率(Survival rate, SR, %)=100× N_t/N_0

式中, W_0 为初始鱼体重(g), W_t 为终末鱼体重(g), W_p 为摄入饲料总量(g), $\sum W_t$ 为终末鱼体总重(g), $\sum W_0$ 为初始鱼体总重(g), W_p 为摄入的饲料蛋白质总量(g), L 为终末鱼体长(cm), t 为试验天数(d); N_0 为初始尾数, N_t 为终末尾数; SD_w 为平行内体重标准差。

注射PHA-P并标记5尾,于尾柄脊柱下动(静)脉取抗凝血(1 mL注射器,以肝素钠浸润),用于淋巴细胞转化率测定。

每平行随机取10尾(未标记鱼),于尾柄脊柱下动(静)脉取抗凝血(1 mL注射器,以肝素钠浸润)。0.2 mL全血用于白细胞吞噬活性测定,其他用于制血浆,测定生化指标。抗凝血于冰盒中沉降1h,4℃下1500 r/min离心40min,取上清得血浆,于-20℃冰箱暂存。

1.6 检测项目

淋巴细胞转化率 参照文献[14]的方法,血涂片观察。推血制片,甲醇固定,瑞氏-吉姆萨混合

染色,油镜下计数200个淋巴细胞。转化为母细胞的淋巴细胞呈阿米巴或圆形,胞相对疏松,胞浆较休止期丰富,直径增大,胞质蓝色。休止形淋巴细胞直径相对小,核致密,深蓝紫色,胞浆极少,核与细胞膜常相切。过度形特征间于母细胞形和休止形之间。

转化率(%)=100×(过度形+母细胞形)/淋巴细胞总量

白细胞吞噬活性 白细胞吞噬活性用血涂片观察,取0.2 mL抗凝全血与金黄色葡萄球菌(南京进优生物技术有限公司)液0.1 mL混合,28℃水浴1h,推血制片,甲醇固定10min,晾干,瑞氏染色30s,吉姆萨染色10min,蒸馏水洗,晾干。

吞噬百分率(%)=100×(N 个白细胞中参与吞噬的细胞数/ N)

吞噬指数= N 个白细胞中被吞噬的细菌数/ N

溶菌酶活性 溶菌酶活性,购买溶壁微球菌(南京建成生物工程有限公司),与待测血浆混合,570 nm处测吸光度 A_0 ,37℃水浴30min,测吸光度 A 。

$U=(A_0-A)/A_0$

补体含量 补体C3(g/L)、C4(g/L)含量用酶联免疫试剂盒测定(上海晶抗生物工程有限公司)。

免疫球蛋白含量 IgM(μg/L)含量用酶联免疫试剂盒测定(上海晶抗生物工程有限公司)。

1.7 数据统计

以平均值(Mean)±标准差(SD)表示,不同组间终末数据进行Shapiro-wilk法正态性检验及Levene法方差同质性检验,方差齐(Sig>0.05),进行单因素方差分析(One-way ANOVA)及最小显著差异法(LSD)法多重比较。以不同性别初始体重变异系数为协变量,做协方差分析(Covariance analysis),若对终末数据存在显著影响,则求校正结果。将试验鱼分雌、雄统计生长性能,做双因素方差分析(Two-way ANOVA),以性别为一自变量,剂量为另一自变量,LSD法多重比较。统计软件SPSS 19.0,显著性水平设为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 生长性能

在试验结束时,壳寡糖有效剂量120 mg/kg组体重显著高于0和40 mg/kg组($P=0.003$; $P=0.042$),0、40和80 mg/kg三组间差异不显著($P>0.05$)。有效剂量120 mg/kg组特定生长率显著高于0组($P=0.003$)、40 mg/kg组($P=0.048$),0、40和80 mg/kg三组间差异不显著($P>0.05$)。120 mg/kg组饵料系数显著低于0组($P=0.003$),与40和80 mg/kg组差异不

显著($P>0.05$), 0、40和80 mg/kg三组间差异不显著($P>0.05$)。有效剂量120 mg/kg组蛋白质效率显著高于0组($P=0.006$), 0、40和80 mg/kg三组间差异不显著($P>0.05$, 表2)。存活率于各组间无显著差异($P=0.944$, 表2)。

双因素方差分析显示, 壳寡糖剂量与性别两因

素, 对试验鱼特定增长率、终末体重均有显著影响($P<0.05$), 两因素间无交互作用($P>0.05$, 表3)。

壳寡糖有效剂量120和80 mg/kg两组雄性特定增长率显著高于0组雄性($P<0.001$, $P=0.015$)。四组雌性生长性能无显著差异($P>0.05$, 表3)。

协方差分析显示, 雌性初始体重变异系数显著

表2 壳寡糖(10%)对杂交黄颡鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effects of dietary chitosan oligosaccharide (10% purity) levels on growth performance of hybrid yellow catfish "Huangyou No.1" *Tachysurus fulvidraco* ♀ × *Tachysurus vachelli* ♂

| 指标Index | COS有效剂量Dose (mg/kg) | | | |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | 0 | 40 | 80 | 120 |
| 终末体重Final BW (g) | 81.69±2.04 ^b | 85.98±1.98 ^b | 86.49±3.33 ^{ab} | 92.03±4.31 ^a |
| 终末肥满度Final CF (g/m ³) | 1.79±0.04 | 1.76±0.03 | 1.74±0.08 | 1.75±0.08 |
| 终末体重变异系数Final CV (%) | 24.10±1.58 | 26.79±1.28 | 25.77±6.04 | 26.45±1.51 |
| 特定增长率SGR (%/d) | 1.43±0.07 ^b | 1.53±0.03 ^b | 1.55±0.05 ^{ab} | 1.65±0.09 ^a |
| 饲料系数FCR | 1.84±0.08 ^a | 1.73±0.03 ^{ab} | 1.70±0.03 ^{ab} | 1.63±0.08 ^b |
| 蛋白质效率PER | 1.29±0.06 ^b | 1.37±0.02 ^{ab} | 1.39±0.04 ^{ab} | 1.47±0.07 ^a |
| 存活率SR (%) | 97.14±4.95 | 98.10±3.30 | 96.19±6.60 | 98.10±1.65 |

注: 每行标注不同小写字母, 表示差异显著($P<0.05$); 下同

Note: Means in the same row with different letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same applies below

表3 壳寡糖(10%)用量对不同性别杂交黄颡鱼生长性能的影响

Tab. 3 Effects of dietary chitosan oligosaccharide (10%) supplemental levels and gender on the final body weight, final condition factor, final coefficient of variation and specific growth rate of hybrid yellow catfish

| 项目Item | 终末体重Final body weight (g) | 终末肥满度Final condition factor (%) | 终末体重变异系数Final coefficient of variation (%) | 特定增长率Specific growth rate (%/d) |
|----------------------|---------------------------|---------------------------------|--|---------------------------------|
| 雄性Male | | | | |
| 0 | 84.50±4.42 ^c | 1.76±0.05 | 21.61±1.88 | 1.45±0.05 ^c |
| 40 mg/kg | 89.17±2.68 ^{bc} | 1.77±0.03 | 25.40±4.68 | 1.53±0.08 ^{bc} |
| 80 mg/kg | 93.87±2.40 ^{ab} | 1.76±0.07 | 20.83±7.12 | 1.66±0.08 ^{ab} |
| 120 mg/kg | 96.39±2.24 ^a | 1.79±0.13 | 24.48±1.39 | 1.69±0.07 ^a |
| 雌性Female | | | | |
| 0 | 79.06±4.34 | 1.82±0.02 | 21.47±1.82 | 1.40±0.05 |
| 40 mg/kg | 82.46±5.08 | 1.78±0.10 | 24.47±6.76 | 1.52±0.11 |
| 80 mg/kg | 79.05±2.61 | 1.84±0.11 | 27.53±3.48 | 1.45±0.05 |
| 120 mg/kg | 87.81±5.60 | 1.78±0.08 | 23.34±5.06 | 1.63±0.11 |
| 不考虑雌雄Sexes excluded | | | | |
| 0 | 81.78±4.92 ^b | 1.80±0.06 | 21.54±1.66 | 1.43±0.05 ^c |
| 40 mg/kg | 85.82±5.16 ^b | 1.79±0.07 | 24.93±5.22 | 1.52±0.09 ^{bc} |
| 80 mg/kg | 86.46±8.42 ^b | 1.82±0.11 | 24.18±6.21 | 1.55±0.13 ^{ab} |
| 120 mg/kg | 92.09±6.25 ^a | 1.80±0.09 | 23.91±3.37 | 1.64±0.09 ^a |
| 不考虑分组Groups excluded | | | | |
| 雄性Male | 90.98±5.42* | 1.77±0.07 | 23.08±4.26 | 1.57±0.11* |
| 雌性Female | 83.70±5.39 | 1.82±0.08 | 24.20±4.59 | 1.50±0.12 |
| 双因素方差分析Two-way ANOVA | | | | |
| 有效剂量Dose | $P=0.003$ | $P=0.872$ | $P=0.609$ | $P=0.002$ |
| 性别Gender | $P=0.001$ | $P=0.125$ | $P=0.554$ | $P=0.037$ |
| 剂量×性别Dose×Gender | $P=0.202$ | $P=0.647$ | $P=0.410$ | $P=0.163$ |

注: *表示差异显著($P<0.05$)

Note: Superscripted "*" indicates significant difference determined by Two-way ANOVA

影响雌性($P=0.006$)及完整群体特定生长率($P=0.030$, 表 4)。

校正去除协变量(雌性初始体重变异系数)的影响后,雌性特定生长率受壳寡糖显著影响($P=0.011$)。同时,完整群体特定生长率于不同剂量壳寡糖下的差异显著程度,比不校正时提升,0 组完整群体特定生长率显著低于有效剂量 80 mg/kg 组($P=0.003$)和 120 mg/kg 组($P=0.002$, 表 5)。

2.2 免疫机能

饲料添加壳寡糖(10%)对试验鱼白细胞计数无显著影响($P>0.05$, 图 1)。

表 4 初始体重变异系数对杂交黄颡鱼特定生长率影响的协方差分析

Tab. 4 Covariance analysis of effects of initial intact CV, initial ♂ CV, initial ♀ CV on SGR of hybrid yellow catfish

| 受影响指标 Affected Index | 影响来源 Source | 自由度 df | 均方 Mean square | F 值 F value | P 值 P value |
|-----------------------------------|----------------|-----------|-------------------|----------------|----------------|
| 完整群体 Entire population | Dose | 3 | 0.027 | 4.644 | $P=0.040$ |
| | Initial CV | 1 | 0.014 | 3.326 | $P=0.111$ |
| 特定生长率 SGR of entire population | Dose | 3 | 0.025 | 5.797 | $P=0.026$ |
| | Initial ♀ CV | 1 | 0.016 | 7.0279 | $P=0.030$ |
| | Dose | 3 | 0.028 | 12.380 | $P=0.003$ |
| | Initial ♂ CV | 1 | 0.003 | 0.602 | $P=0.463$ |
| 雄性特定生长率 ♂SGR | Dose | 3 | 0.027 | 6.161 | $P=0.022$ |
| | Initial ♂ CV | 1 | <0.001 | 0.046 | $P=0.837$ |
| 雌性特定生长率 ♀SGR | Dose | 3 | 0.022 | 8.272 | $P=0.011$ |
| | Initial ♀ CV | 1 | 0.042 | 15.531 | $P=0.006$ |

注: 显著性水平 $\alpha=0.05$
Note: Significant level $\alpha=0.05$

表 5 校正协变量(雌性初始体重变异系数)后壳寡糖(10%)剂量对特定生长率的影响

Tab. 5 Effects of dietary chitosan oligosaccharide (10%) supplemental levels on SGR of hybrid yellow catfish with covariate (Initial ♀ CV) adjusted

| 组别 Group | 有效剂量 Dose (mg/kg) | 雌性特定生长率 SGR (%/d) | | 95%置信区间95% confidence interval | |
|--------------|----------------------|----------------------|------------------|--------------------------------|---------------|
| | | 平均值 Mean | 标准误 Std.error | 下限Lower bound | 上限Upper bound |
| 雌性 Female | 0 | 1.374 ^b | 0.039 | 1.301 | 1.446 |
| | 40 | 1.510 ^{ab} | 0.047 | 1.439 | 1.580 |
| | 80 | 1.545 ^a | 0.039 | 1.453 | 1.636 |
| | 120 | 1.568 ^a | 0.034 | 1.488 | 1.648 |
| 完整 Intact | 0 | 1.409 ^b | 0.028 | 1.341 | 1.476 |
| | 40 | 1.523 ^{ab} | 0.027 | 1.458 | 1.587 |
| | 80 | 1.628 ^a | 0.036 | 1.542 | 1.714 |
| | 120 | 1.644 ^a | 0.030 | 1.542 | 1.686 |

注: 模型中协变量(雌性初始体重变异系数)在 19.4661% 处进行估计

Note: Covariates appearing in the model are evaluated at the following values: ♀ICV=19.4661%

细胞免疫 壳寡糖(10%)显著影响白细胞吞噬指数($P=0.004$),有效剂量 40 mg/kg 组显著高于 0 组($P=0.002$), 3 个添加壳寡糖的组间差异不显著($P>0.05$)。白细胞吞噬百分比于各组间无显著差异($P>0.05$, 图 1)。

壳寡糖(10%)对试验鱼淋巴细胞转化率影响显著($P=0.001$),有效剂量 40 mg/kg 组显著高于 0 组($P=0.009$),有效剂量升至 80 mg/kg, 淋巴细胞转化率进一步显著提升($P=0.047$),有效剂量 120 mg/kg 组与 80 mg/kg 组无显著差异($P>0.05$, 图 1)。

试验鱼白细胞鉴别见图 2, 形态描述如下:

红细胞: 成熟红细胞卵圆形, 表面光滑, 细胞核居中, 瑞氏-吉姆萨染色紫红; 幼稚红细胞核较大, 紫色, 胞质瑞士-吉姆萨染色下灰蓝色。

血栓细胞: 胞体小, 纺锤形、卵圆形、圆形, 细胞核 W-G 染色紫红, 胞质灰白或不着色, 部分裸核。

淋巴细胞: 核质比最大的细胞, W-G 染色核紫红, 胞质蓝色。休止淋巴细胞核与膜常向切, 母型淋巴细胞胞浆丰富, 常呈圆形, 直径增大, 过度型间于二者之间。

中性粒细胞: 细胞核 W-G 染色紫红, 与胞膜相切, 细浆丰富, 内含小颗粒, 核质比小于单核细胞。

单核细胞: 白细胞中个体最大, 细胞核圆形或

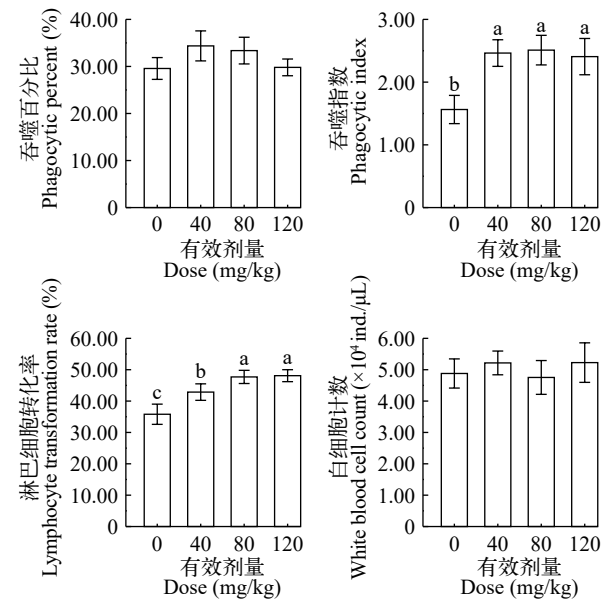


图 1 壳寡糖(10%)对杂交黄颡鱼细胞免疫的影响

Fig. 1 Effects of dietary chitosan oligosaccharide (10%) supplemental levels on white blood cell phagocytic percent, Phagocytic index, lymphocyte transformation rate and white blood cell count of hybrid yellow catfish

标注不同小写字母, 表示差异显著($P<0.05$); 下同

Means with different letters indicated significant differences determined by LSD ($P<0.05$). The same applies below

不规则,核质比大于中性粒细胞,小于淋巴细胞,常见巨大伪足。

体液免疫 壳寡糖(10%)添加可显著提高试验鱼外周血溶菌酶活力($P=0.022$)。有效剂量80 mg/kg时,显著高于0 ($P=0.032$)及40 mg/kg($P=0.035$),与120 mg/kg时差异不显著($P>0.05$,图3)。

壳寡糖对外周血补体C3、C4含量无显著影响($P>0.05$,图3)。

随壳寡糖有效剂量增加,外周血IgM含量的变化趋势与溶菌酶类似,80及120 mg/kg组显著高于0和40 mg/kg($P<0.05$,图3)。

3 讨论

3.1 壳寡糖对杂交黄颡鱼生长性能的影响

壳寡糖(COS)对鱼类生长性能具积极作用已多见报道,其促生长机理通常被归结为以下3点:(1)保护肠黏膜,改善上皮组织结构^[15-17];(2)促进矿物质吸收,这与消化道pH调节及壳寡糖自身的(-NH₂)、(-OH)两个官能团有关^[16, 18, 19];(3)提高消化酶活力,但未确认内源性(试验对象消化腺分泌)或外源性(消化道内微生物分泌)^[20, 21]。在壳寡糖促进陆生动物生长性能的报道中,则有更丰富的机理阐述。对

于畜、禽,炎症反应会通过以下4个途径抑制生长:(1)影响神经体液调节;(2)造成线粒体功能紊乱;(3)干扰三大营养代谢;(4)增大能量支出^[22-24]。壳寡糖能结合巨噬细胞表面位点,抑制多种蛋白激酶磷酸化,阻断信号通路,实现炎症抑制,故有利于生长^[25, 26]。对鱼类,壳寡糖亦能抑制肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素1 β (IL-1 β)等炎症因子,提升抗炎因子白介素10(IL-10)的表达水平,以减弱炎症反应^[27, 28]。可以推测,炎症抑制作用,也是壳寡糖促进鱼类生长的原因之一。鱼类炎症反应对生长性能的影响方式,有待进一步研究。

由表6可知,壳寡糖对水产动物生长速度、饲料利用的有效改善剂量在0.1—10 g/kg。如此巨大的差异显然不能用试验动物品种不同解释(同品种相似规格的不同报道间仍有巨大差异),更可能是由试验所用壳寡糖自身特性导致。有学者定义聚合度 ≤ 20 ,平均分子量 < 3900 Da的壳聚糖水解产物为壳寡糖^[2],但未形成标准,目前不同来源的壳寡糖聚合度、分子量有较大差异。而聚合度、分子量对壳寡糖在小肠中的可吸收性存在巨大影响^[29]。在能明确聚合度或分子量的已有报道中(分子量 ≤ 5600 Da),促水产动物生长有效剂量在0.1—1 g/kg,

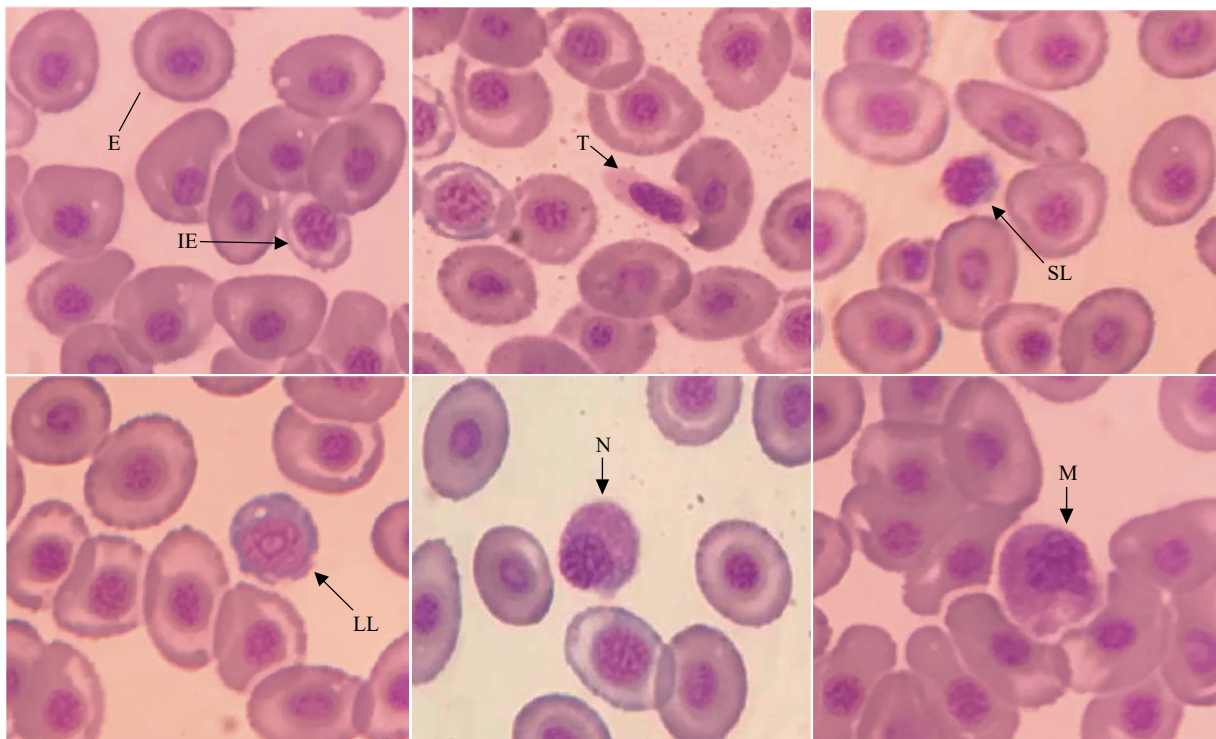


图2 杂交黄颡鱼血细胞形态示例

Fig. 2 Microstructure of peripheral blood cells of hybrid yellow catfish

E. 红细胞; IE. 幼红细胞; T. 血栓细胞; SL. 小淋巴细胞; LL. 大淋巴细胞; N. 嗜中性粒细胞; M. 单核细胞

E. Erythrocyte; IE. Immature Erythrocyte; T. Thrombocyte; SL. Small Lymphocyte; LL. Large Lymphocyte; N. Neutrophil Granulocyte; M. Monocyte

而仅于市场采购壳寡糖商品,未明确聚合度或分子量的试验中,促生长有效剂量高达2—10 g/kg(表6)。可见,脱离聚合度或分子量开展壳寡糖应用研究,将在一定程度上失去可比较性。本试验所用壳寡糖聚合度2—8,分子量2000 Da,应用120 mg/kg时(以壳寡糖纯品计)对杂交黄颡鱼生长速度及饲料利用产生了显著影响,与能明确所用壳寡糖分子量≤5600 Da的报道中所述剂量接近^[17, 18, 20, 21, 30]。

双因素方差分析显示,在本试验条件下,杂交黄颡鱼仍表现出一定程度雌、雄生长差异。但直至试验结束,雄性平均规格>90 g,雌性平均仅比雄性小约7 g,差异微弱,推测生产中对成品鱼捕捞及售出不会形成明显影响。

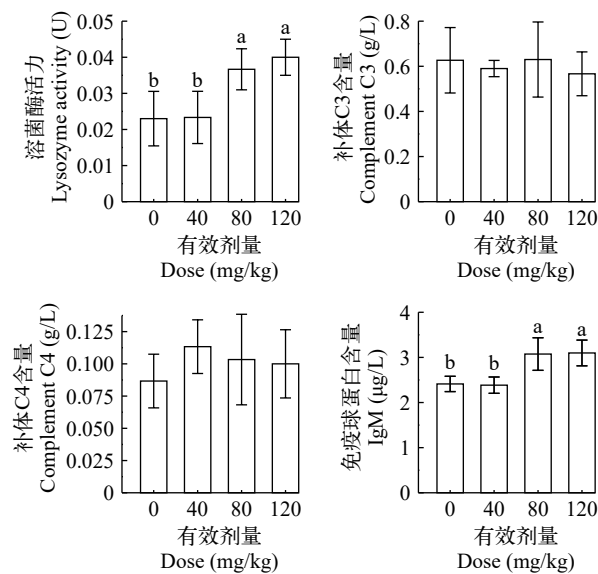


图3 饲料壳寡糖(10%)水平对杂交黄颡鱼体液免疫的影响

Fig. 3 Effects of different dietary chitosan oligosaccharide (10%) levels on the humoral immunity of hybrid yellow catfish

在本试验中,壳寡糖对杂交黄颡鱼完整群体生长速度的有效促进剂量为120 mg/kg,但双因素方差分析显示,对雄性仅80 mg/kg。与雄性相比,完整群体对壳寡糖添加量的不敏感归因于:本试验中雌性生长性能,似乎与壳寡糖剂量不相关。雌性的这一表现令人费解。推测成因,可能是雌性中的小规格个体,作为群体的最弱小者,受“社会性干扰”效应的影响,生长缓慢^[33]。当雌性规格差异较大,“社会性干扰”效应更加突显,致使壳寡糖有限的促生长作用不能体现。在本试验中,以各平行初始雌性体重变异系数为协变量做协方差分析,发现该变量对生长有显著影响,校正(通过回归模型的协方差分析将协变量在19.4661%处统一估计)后发现,雌性生长速度亦受壳寡糖剂量的显著影响,印证了上述推测。

3.2 壳寡糖对杂交黄颡鱼免疫机能的影响

在本试验中,不同剂量壳寡糖未能显著改变杂交黄颡鱼外周血白细胞数。事实上,外周血白细胞数未必能准确反映动物免疫力,当动物处于炎症反应或某些胁迫中,白细胞数很可能显著提升,但不表示免疫力强。如在低溶氧条件下饲养黄颡鱼,外周血白细胞数显著高于饱和溶氧条件下,但其他指标及攻毒结果均证明低氧导致黄颡鱼免疫力显著低下^[34]。白细胞吞噬活性则更具参考价值。本研究结果显示,壳寡糖显著促进杂交黄颡鱼白细胞吞噬活性,该促进作用主要体现在白细胞平均吞入细菌个数增多,而非使参与吞噬的白细胞数量升高。对巴丁鱼(*Pangasianodon hypophthalmus*)的研究呈类似结果^[30]。但有文献报道不同结果,即壳寡糖能增加参与吞噬的白细胞数量^[16]。同一品种(虹鳟 *Oncorhynchus mykiss*),相近初始规格(50 g/尾和60 g/

表6 已有报道中壳寡糖的有效剂量(以壳寡糖纯品计)

Tab. 6 Effective doses of chitosan oligosaccharide reported in literatures

| 品种Species | 规格Initial BW (g) | 有效剂量Effective doses (g/kg) | | | 壳寡糖描述Description of COS used in the test | 文献来源Literature sources |
|--|------------------|----------------------------|-----|---------------------|--|------------------------|
| | | SGR or WGR | FCR | | | |
| 红鳍东方鲀 <i>Takifugu rubripes</i> | 129.2 | 1 | 1—2 | 聚合度2—8分子量2000 Da | Su等 ^[20] , 2017 | |
| 巴丁鱼 <i>Pangasianodon hypophthalmus</i> | 20.21—21.07 | 0.1 | / | 辐射法降解壳聚糖分子量5600 Da | Nguyen等 ^[30] , 2017 | |
| 南美白对虾 <i>Litopenaeus vannamei</i> | 0.23 | 0.1—0.25 | 0.1 | 聚合度2—8分子量2000 Da | 黄钦成等 ^[17] , 2017 | |
| 虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i> | 61.23—61.74 | 0.1 | 0.1 | 分子量3000 Da | 刘含亮等 ^[18] , 2012 | |
| 花鲈 <i>Lateolabrax japonicus</i> | 19.37 | 6 | 8 | 获自青岛某公司未述聚合度、分子量 | 胡晓伟等 ^[19] , 2018 | |
| 建鲤 <i>Cyprinus carpio</i> | 8.78 | 6—9 | / | 获自青岛某公司未述聚合度、分子量 | 黄鑫玮等 ^[16] , 2015 | |
| 大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i> | 12.2 | 0.5 | 0.5 | 聚合度4—5分子量700—800 Da | 张艺等 ^[21] , 2012 | |
| | 15.46 | 10 | 10 | 获自青岛某公司未述聚合度、分子量 | 蔡胜昌 ^[31] , 2015 | |
| 罗非鱼 <i>Oreochromis niloticus</i> | 3.81 | 5 | 5 | 获自济南某公司未述聚合度、分子量 | 孙立威等 ^[15] , 2011 | |
| | 3.02 | 3 | 1 | 获自济南某公司未述聚合度、分子量 | 田娟等 ^[32] , 2013 | |

尾), 周期基本一致(50d和49d)的不同报道, 在壳寡糖能否增加参与吞噬的白细胞数方面, 仍存在不同结果^[18, 35]。这可能与剂量有关, 即低剂量时仅影响吞噬指数, 高剂量时吞噬百分比也受显著影响。

植物血凝素(PHA)为有丝分裂原, 在离体时均可与淋巴T细胞膜受体结合, 激活腺苷酸环化酶, 升高cAMP水平, 促进DNA合成, 故能刺激淋巴细胞由休止型向母型转化。该转化率体现动物特异性细胞免疫能力, 但血涂片光镜观察时, T、B细胞难以区分, 故计算总淋巴细胞转化率^[14, 34]。本试验结果表明, 壳寡糖对杂交黄颡鱼特异性细胞免疫促进作用显著, 用量0—80 mg/kg(以壳寡糖计)内作用强度递增, 后趋于稳定。壳寡糖对鱼类淋巴细胞转化率的影响以往未见报道。但有报道显示, 壳寡糖显著提高了青鱼(*Mylopharyngodon piceus*) IL-2 mRNA表达量, IL-2是T细胞生长因子, 能促进T细胞活化^[28], 该报道从另一角度说明了壳寡糖对特异性细胞免疫有促进作用。

溶菌酶活力是壳寡糖对鱼类免疫系统影响的报道中最常被观测的指标之一, 普遍发现壳寡糖对其有显著促进作用。壳寡糖对巴丁鱼外周血溶菌酶活力的显著促进剂量为50 mg/kg^[30], 对虹鳟^[18]、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)^[36]的报道中剂量较高。在本试验中添加80 mg/kg显著改变溶菌酶比活力, 与巴丁鱼结果接近。

在试验结束时, 各组血清补体C3、C4含量未见显著差异。这一静态结果未必能充分反应壳寡糖对试验鱼补体系统的作用。原因在于: (1)外周血补体含量相同的情况下, 免疫细胞补体受体的亲和力可能不同; (2)已有报道显示, 饲料添加不同剂量壳聚糖投喂黄颡鱼, 30d时不同组间C3含量差异显著, 但投喂至60d, 组间差异不再显著^[12]。本试验饲养56d, 一次性取样, 可能错过了试验因素对补体含量影响显著的时间点。

随壳寡糖添加量增加, 免疫球蛋白IgM含量的变化趋势与溶菌酶类似, 表明试验鱼特异性体液免疫能力被提升。本试验场地为养殖企业生产基地, 不便安排攻毒。壳寡糖对黄颡鱼在不同病原攻毒下的保护率有待研究报道。

4 结论

在本试验条件下, 饲料中添加壳寡糖120 mg/kg(以纯品计), 能显著提高杂交黄颡鱼“黄优1号”生长速度; 添加40—80 mg/kg(以纯品计), 能显著提高“黄优1号”特异及非特异性免疫能力, 表现为白细胞吞噬指数、淋巴细胞转化率、溶菌酶活力、免

疫球蛋白含量的显著提升; 壳寡糖的应用研究, 应明确聚合度或分子量, 否则无法比较分析。

参考文献:

- [1] Singla A K, Chawla M. Chitosan: some Pharmaceutical and biological aspects: an update [J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2001, **53**: 1047-1067.
- [2] Lodhi G, Kim Y S, Hwang J W, et al. Chitoooligosaccharide and its derivatives: preparation and biological applications [J]. *BioMed Research International*, 2014: 1-13.
- [3] Wang M, Zang S Z, Xin Y, et al. The effects of mice intestinal tract on the absorption rate and components of Chito-oligosaccharide [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2013, **25**(10): 1143-1144, 1148. [王敏, 臧师竹, 辛毅, 等. 小鼠肠道对壳寡糖的吸收率及吸收成分的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2013, **25**(10): 1143-1144, 1148.]
- [4] Wang Y L, Xu W, Zuo R, et al. Effect of dietary chitosan oligosaccharide complex with Ce (IV) on growth, immunity and disease resistance against *Vibrio splendidus* of sea cucumber, *Apostichopus japonicas* [J]. *Aquaculture Research*, 2017, **48**(3): 1158-1167.
- [5] Zeng L T, Qin C Q, Wang W, et al. Absorption and distribution of chitosan in mice after oral administration [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, **71**(3): 435-440.
- [6] 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**: 1-12.
- [7] China Bureau of Fisheries. China Fishery Statistical Yearbook [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2019: 31. [中华人民共和国渔政局, 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2019: 31.]
- [8] Shen Z G. Study on sex control and sex-determining mechanism in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* and bluegill sunfish *Lepomis macrochirus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014: 1-106. [沈志刚. 黄颡鱼与蓝鳃太阳鱼性别控制及性别决定机制研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014: 1-106.]
- [9] Hu W H, Dan C, Guo W J, et al. The morphology and donad development of *Pelteobagrus fulvidraco* and its interspecific hybrid “Huangyou No. 1” with *Pelteobagrus vachelli* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(6): 1231-1238. [胡伟华, 丹成, 郭稳杰, 等. 黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”形态及性腺发育的比较 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(6): 1231-1238.]
- [10] Sun J X, Han G K, Liu Y, et al. The growth characteristics and hypoxia tolerant ability of yellow catfish and hybrid catfish [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(6): 1271-1279. [孙俊霄, 韩广坤, 刘娅, 等. 杂交黄颡鱼与普通黄颡鱼幼鱼生长性能及耐低氧能力的比较 [J]. *水生生物学报*, 2019, **43**(6): 1271-1279.]
- [11] Wang L Y, Qi P P, Chen M, et al. Effects of sex steroid hormones on sexual size dimorphism in yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, **44**(2): 379-388. [王凌宇, 齐飘飘, 陈敏, 等. 性类固醇激素对黄颡鱼雌雄生长二态性的影响 [J]. *水生生物学报*, 2020, **44**(2): 379-388.]

- [12] Shi C L. Effects of chitosan on non-specific immunity and growth of yellow catfish [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008: 1-67. [史春路. 壳聚糖对黄颡鱼非特异性免疫机能和生长的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008: 1-67.]
- [13] Li L J, Gong Q, Quan K Y, et al. Effects of dietary chitosan on growth and non-specific immunity of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, **26**(6): 2614-2619. [李丽鹃, 龚全, 权可艳, 等. 壳聚糖对黄颡鱼生长及非特异性免疫机能的影响 [J]. 西南农业学报, 2013, **26**(6): 2614-2619.]
- [14] Cong Y L, Ma J L, Deng X L, et al. Immunological Testing Technology and Clinical Practice [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 2002: 117-119. [丛玉隆, 马骏龙, 邓新立, 等. 免疫学检验技术与临床 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2002: 117-119.]
- [15] Tian J, Sun L W, Wen H, et al. Effect of dietary chitooligosaccharides on growth performance, gut flora and intestinal structure of juvenile GIFT tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, **20**(3): 561-568. [田娟, 孙立威, 文华, 等. 壳寡糖对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、前肠组织结构及肠道主要菌群的影响 [J]. 中国水产科学, 2013, **20**(3): 561-568.]
- [16] Huang X W, Yang S S, Liu Y, 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. [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.]
- [17] 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. [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.]
- [18] Liu H L, Sun M M, Wang H W, 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. [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.]
- [19] Hu X W, Shangguan J B, Li Z B, et al. Effects of dietary chitosan oligosaccharide on the performance, digestion and serum biochemical indexes of the juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) [J]. *Chinese Society for Dceanography*, 2018, **40**(2): 69-76. [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.]
- [20] Su P, Han Y, Jiang C, et al. Effects of chitosan-oligosaccharides on growth performance, digestive enzyme and intestinal bacterial flora of tiger puffer (*Takifugu rubripes* Temminck et Schlegel, 1850) [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2017, **33**(3): 458-467.
- [21] Cai S C. Effects of dietary supplementation of chitosan-oligosaccharides and xylo-oligosaccharide on growth performance, body composition, biochemistry of serum and non-specific immunity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015: 1-54. [蔡胜昌. 饲料中添加壳寡糖和低聚木糖对大菱鲆幼鱼生长性能、体成分、血液生化指标及非特异性免疫的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2015: 1-54.]
- [22] Sun H L, Yin C, Huang Y P, et al. Effects of LPS on Energy Metabolism of Pork *Longissimus dorsi* [C]. Animal Welfare and Healthy Farming Branch Establishment of Chinese Association of Animal Science and Veterinary Medicine, Proceedings of the Scale Health and Welfare Pig Summit Academic Forum, 2015: 62-70. [孙海林, 殷超, 黄燕平, 等. LPS处理对猪背最长肌能量代谢的影响 [C]. 中国畜牧兽医学会. 中国畜牧兽医学会动物福利与健康养殖分会成立大会暨首届规模化健康与福利养猪高峰学术论坛论文集. 2015: 62-70.]
- [23] Liu Y L, Lu J, Shi J X, et al. Advances in research on immune stress in pigs [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2008, **40**(2): 99-102. [刘玉兰, 鲁晶, 石君霞, 等. 猪免疫应激研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2008, **40**(2): 99-102.]
- [24] Cheng M L, Li C Q, Gao S Z, et al. Regulation of nutrient metabolism by the immune system [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2007, **22**(3): 442-447. [程美玲, 李长强, 高士争, 等. 免疫系统对营养代谢的调节 [J]. 云南农业大学学报, 2007, **22**(3): 442-447.]
- [25] Liu H T, Li W M, Huang P, et al. Chitosan oligosaccharides inhibit TNF- α -induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in human umbilical vein endothelial cells by blocking and ERK1/2 signaling pathways [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, **81**: 49-56.
- [26] Liu H T, Huang P, Ma P, et al. Chitosan oligosaccharides suppress LPS-induced IL-8 expression in human umbilical vein endothelial cells through blockade of P38 and Akt protein kinases [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2011, **32**: 478-486.
- [27] Yan F. Effects of Oligochitosan on LPS-induced head kidney macrophage activity of Yellow River carp [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2015: 1-79. [闫飞. 壳寡糖对脂多糖诱导的黄河鲤鱼头肾巨噬细胞活性的影响 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2015: 1-79.]
- [28] Xu Y Q, Gao W, Liu F J, et al. Effect of chito-oligosaccharide on serum biochemical indices and expression of IL-2, IL-8 and IL-10 mRNA in juvenile black carp *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Fisheries Science*, 2016, **35**(2): 157-161. [许友卿, 高巍, 刘富娟, 等. 壳寡糖添加量对青鱼幼鱼血清特定生化指标、肝和肠白介素IL-2、IL-8和IL-10 mRNA表达量的影响 [J]. 水产科学, 2016, **35**(2): 157-161.]
- [29] Chae S Y, Jang M K, Nah J W. Influence of molecular weight on oral absorption of water soluble chitosans [J]. *Journal of Controlled Release*, 2005, **102**: 383-394.
- [30] Nguyen N D, Dang V P, Le A Q, et al. Effect of oligochitosan and oligo- β -glucan supplementation on

- growth, innate immunity and disease resistance of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2017, **64**(4): 564-571.
- [31] Zhang Y, Xu W, Cui L Q, *et al.* Effects of chitosan oligosaccharides in diets of turbot (*Scophthalmus maximus*) on the growth and immune performance [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2012, **42**(10): 71-74. [张艺, 徐伟, 崔丽卿, 等. 壳寡糖对大菱鲆生长和免疫功能的影响 [J]. *中国海洋大学学报*, 2012, **42**(10): 71-74.]
- [32] Sun L W, Wen H, Jiang M, *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. [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.]
- [33] Sunde L M, Imsland A K, Folkvord A, *et al.* Effects of size grading on growth and survival of juvenile turbot at two temperatures [J]. *Aquaculture International*, 1998, **6**: 19-32.
- [34] Shen F, Fan Q X, Yang K, *et al.* The immune responses of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and its susceptibility to aeromonas hydrophila at different dissolved oxygen levels [J]. *Freshwater Fisheries*, 2010, **40**(4): 44-49,55. [沈凡, 樊启学, 杨凯, 等. 不同溶氧条件下黄颡鱼免疫机能及抗病力的研究 [J]. *淡水渔业*, 2010, **40**(4): 44-49,55.]
- [35] Cai X F, Luo L, Cao H N, *et al.* Effects of chitosan oligosaccharides on non-specific immune function of rainbow trout [J]. *Feed and Animal Husbandry*, 2006, **9**: 44-47. [蔡雪峰, 罗琳, 曹海宁, 等. 壳寡糖对虹鳟非特异性免疫功能影响的研究 [J]. *饲料与畜牧*, 2006, **9**: 44-47.]
- [36] Su P, Pan J L, Han Y Z, *et al.* Effects of dietary chitosan on hematological parameters and non-specific immunity of redfin puffer *Takifugu rubripes* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2016, **31**(1): 37-43. [苏鹏, 潘金露, 韩雨哲, 等. 壳寡糖对红鳍东方鲀血液指标和非特异性免疫指标的影响 [J]. *大连海洋大学学报*, 2016, **31**(1): 37-43.]

EFFECTS OF DIETARY CHITOSAN OLIGOSACCHARIDE ON GROWTH PERFORMANCE AND IMMUNITY OF HYBRID YELLOW CATFISH “HUANGYOU NO. 1” *TACHYSURUS FULVIDRACO*♀× *TACHYSURUS VACHELLI*♂

LI Ming-Bo^{1,2}, SHEN Fan³, CUI Qing-Kui⁴, QI Piao-Piao⁴, WANG Yin-Hai⁴, ZHANG Hai-Long⁴,
DING Yun-Min⁵ and SHEN Zhi-Gang⁴

(1. Fishery Technology Promotion Center of Qianjiang, Qianjiang 433100, China; 2. Yuxin Aquatic Products Cooperative of Qianjiang, Qianjiang 433100, China; 3. Beijing Smistyle Sci. & Tech. Development Co., Ltd, Beijing 100081, China; 4. Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture, Hubei Provincial Engineering Laboratory for Pond Aquaculture, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 5. Wuhan Wuhu Agricultural Development Co. Ltd, Wuhan 430331, China)

Abstract: To evaluate the effects of dietary chitosan oligosaccharide (COS) on growth performance, feed utilization, specific and non-specific immunity of hybrid yellow catfish *Tachysurus fulvidraco*♀×*Tachysurus vachelli*♂, a total of 420 fish with the initial body weight 33—40 g were randomly assigned to 4 treatments with 3 replicates. The fish were fed experimental diets supplemented with 0, 40, 80 and 120 mg/kg COS for 8 weeks. Specific growth rate (SGR) in 120 mg/kg COS group was significantly higher than that of 0 and 40 mg/kg groups ($P<0.05$). Feed conversion rate (FCR) of the 0 COS group was significantly higher than that of 120 mg/kg group. As the increase of COS dose, the variation trend of protein efficiency ratio (PER) was opposite to that of FCR. White blood cell count (WBC) was not significantly affected by COS treatment ($P>0.05$). COS significantly increased leukocyte Phagocytic index (PI) ($P<0.05$). Lymphocyte transformation rate (LTR) increased significantly with the increased COS dose from 0 to 80 mg/kg ($P<0.05$), and then remained unchanged after 80 mg/kg dosage ($P>0.05$). Lysozyme activity and IgM levels in 80 and 120 mg/kg COS treatment groups were significantly higher than the other two groups ($P<0.05$). The present results suggest that, under the current conditions, 80—120 mg/kg supplement of COS (effective dose) can increase the SGR, reduce the FCR, promote leukocyte phagocytosis and lymphocyte turnover, and increase lysozyme activity and immunoglobulin levels.

Key words: Chitosan oligosaccharide; Hybrid yellow catfish; Growth performance; Specific immunity and non-specific immunity