

# $\beta$ -葡聚糖和维生素C对斑节对虾 生长和抗病力的效果<sup>\*</sup>

刘栋辉<sup>1</sup>, 阳会军<sup>2</sup>, 刘永坚<sup>1</sup>

(1. 中山大学生命科学学院鱼类营养研究室, 广东 广州510275;

2. 广东省农科院畜牧研究所水产研究室, 广东 广州510640)

**摘要:**探讨了啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂和维生素C的组合对斑节对虾生长和抗病力的效果。配制了5种实验饲料, 即每kg饲料中添加不同组合啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂和维生素C(0/0, 10/0, 1/0, 0/0.4, g), 每个试验组设计2个重复。体质量2~3g左右的斑节对虾(*Penaeus monodon*) 70尾于室外水泥池(3 m×2 m×1 m)中饲养30 d。饲养试验结束后每组选20尾虾注射溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)或白斑病毒做攻毒试验。结果发现啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂和维生素C的组合组显著提高斑节对虾的生长、存活率和血清蛋白, 显著降低饲料系数, 其效果和高剂量VC组是相当的。在攻毒试验中, 啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂和维生素C的组合大大提高注射白斑病毒虾的存活率, 而高剂量的VC不能达到相当的效果, 低剂量VC以及对照组的死亡率非常高。

**关键词:**斑节对虾(*Penaeus monodon*);  $\beta$ -葡聚糖; 维生素C

**中图分类号:** S963.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2002)04-0059-04

在水产养殖条件下, 高密度养殖所带来的多种多样的应激以及环境污染损害了养殖动物的防御系统而增加了动物对病害的易感性。已发现有20多种病毒可以感染虾类, 而对付这些病毒至今尚没有有效的方法, 其它传染性细菌病在虾类养殖中也很常见。据最近的研究报导, 应用免疫刺激物如 $\beta$ -1, 3-葡聚糖或维生素C来提高虾类的抗病力是一条很具吸引力的途径。

通过口服 $\beta$ -1, 3-葡聚糖对虾类具有免疫刺激效果。Rao<sup>[1]</sup>在饲料中添加 $\beta$ -1, 3-葡聚糖增强了斑节对虾对弧菌和SEMBV的抗病力。Liao<sup>[2]</sup>发现每kg饲料添加0.5~1g的一种来源于丝状真菌*Schizophyllum commune*  $\beta$ -1, 3-葡聚糖, 斑节对虾摄食10和20 d后对注射*V. damsela*攻毒的抵抗力增强。Song<sup>[3]</sup>在虾苗培育期用 $\beta$ -1, 3-葡聚糖浸泡而在虾养殖期在饲料中添加 $\beta$ -1, 3-葡聚糖使斑节对虾对*V. vulnificus*和WSBV的抵抗力增强。Verlhao<sup>[4]</sup>研究了虹鳟饲料中添加酵母 $\beta$ -葡聚糖和维生素C的综合免疫刺激效果, 发现饲料维生素C和酵母 $\beta$ -葡聚糖以4 g:1 g/kg饲料时显著提高补体激活的旁路途径和吞噬细胞的化学发光反应, 并在接种疫苗后增加抗体的产生。Madsen<sup>[5]</sup>则发现虹鳟摄食富含酵母 $\beta$ -葡聚糖和维生素C的饲料在暴发由*Flavobacterium psychrophilum*引起的虹鳟幼鱼综合症(RTFS)时脊

柱畸形程度减少, 但这类研究在对虾中尚未见报导。

本研究的目的是在饲料中添加酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂和维生素C的组合通过饲养和注射致病细菌或病毒做攻毒试验以探讨酵母 $\beta$ -葡聚糖和维生素C的组合对斑节对虾生长和抗病力的效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验样品, 饲料

啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂: 一种由广东省农科院畜牧所水产研究室提供, 商品名为“特免王”, 主要成分为 $\beta$ -1, 3-葡聚糖和甘露聚糖; 另一种为本研究室自制, 参考文[6]的步骤, 啤酒酵母先采用次氯酸钠氧化, 然后用二甲亚砷抽提所制得的一种可溶性细胞壁 $\beta$ -1, 3-葡聚糖制剂(SBG), 主要成分为 $\beta$ -1, 3-葡聚糖。维生素C采用多聚VC磷酸酯, 商品名“三宝高稳C”, VC效价10%, 惠州三宝生物化学科技有限公司生产。根据斑节对虾的营养需要设计了5组饲料(组成见表1), 采用双螺杆挤压机制成粒径为1.2 mm的颗粒, 自然晒干, 贮存于-15℃的冰箱中备用。

### 1.2 实验虾、饲养、样品采集和分析

体质量为2~3g左右的斑节对虾苗70尾饲养在室外水泥池(3 m×2 m×1 m)中, 每天按体质

\* 收稿日期: 2001-09-26

基金项目: 广东省“百项工程”资助项目(99B06502X)

作者简介: 刘栋辉(1972-), 男, 讲师; E-mail: ls59@zsu.edu.cn

表 1 试验饲料的组成

Tah 1 Composition of the experiment diets

| 饲料名称                 | w/%  |        |      |        |
|----------------------|------|--------|------|--------|
|                      | 对照 1 | 低 VC 组 | SBG  | 高 VC 组 |
| 秘鲁鱼粉                 | 38.0 | 38.0   | 38.0 | 38.8   |
| 面粉                   | 21.2 | 21.1   | 20.1 | 20.8   |
| VC 磷酸酯 <sup>1)</sup> | 0    | 0.1    | 0.1  | 0.4    |
| 特免王 <sup>2)</sup>    | 0    | 0      | 1.0  | 0      |
| SBG <sup>3)</sup>    | 0    | 0      | 0    | 0.1    |
| 其它组分 <sup>4)</sup>   | 40.8 | 40.8   | 40.8 | 40.8   |

1) 三宝高稳 C, VC 效价 10%, 惠州三宝生物化学科技有限公司生产; 2) 特免王: 主要成分为β-1, 3 葡聚糖和甘露聚糖; 3) SBG: 可溶性细胞壁β-1, 3 葡聚糖制剂; 4) 其它组分包括 (w/%) 花生粕: 10.0; 大豆浓缩蛋白: 10.0; 啤酒酵母: 5.0; 虾头粉: 7.0; 鱿鱼内脏粉: 3.0; 复合矿物质: 2.4; 复合维生素: 0.2; 大豆磷脂: 1.0; 氯化胆碱: 0.2; 鱼油: 1.0; 粟米油: 1.0

量的 5% 分 3 次投喂饲料, 每个试验组设计 2 个重复, 养殖期间每天充气 8 h (0: 00—8: 00), 试验期间不换水。饲养时间为 30 d, 30 d 后检查每池的虾数量并称重, 每池随机抽取 3 尾虾取血淋巴于 5 000 r/min 下离心 10 min, 测定血淋巴比重, 同时取上层血清用微量凯氏定氮法检测蛋白质含量。

全部数据采用单因素方差分析处理, 若有显著差异存在则用 Duncans 多重比较法确定组间差异。

1.3 抗病力测量方法

饲养结束后, 彻底清洗并用漂白粉将水泥池消

毒, 将池水加至 30 cm 深, 每池取 20 尾虾, 每尾虾注射 50 μL 海水活溶藻弧菌液 (10<sup>8</sup> CFU/mL); 另取 20 尾虾放于另一水泥池内, 每尾虾注射 50 μL 出现斑节对虾白斑综合症典型症状且处于濒死状态的病虾匀浆病毒粒子滤过液; 再取 20 尾虾放于第 3 水泥池内, 每尾虾注射 50 μL 生理盐水。检查 24 h 内可能由于操作机械损伤而非感染至死的虾, 每组继续投喂原来的实验饲料, 记录 7 d 内虾的累计死亡情况, 计算相对存活百分比 (RPS)。

$$RPS\% = \frac{\text{注射细菌或病毒的虾存活率}}{\text{注射生理盐水的虾的存活率}} \times 100$$

2. 结果与讨论

2.1 斑节对虾的生长、存活和饲料系数

斑节对虾饲养 30 d 后, 其特定生长率、存活率和饲料系数见表 2。由表 2 可知, 特定生长率和存活率以 SBG 组、特免王组和高 VC 组显著高于低 VC 组和对照组, 但各试验组之间以及低 VC 组和对照组之间没有显著差异。饲料系数则正好相反, 以 SBG 组、特免王组和高 VC 组显著高于低 VC 组和对照组, 但各试验组之间以及低 VC 组和对照组之间没有显著差异。由此可见, 饲料中添加β-葡聚糖制剂以及高剂量 VC 有助于斑节对虾的生长和存活, 有利于提高饲料效率, 使饲料系数降低, 但低剂量的 VC 显然对斑节对虾的生长和存活在本试验期间内没有表现出有益效果。

表 2 斑节对虾摄食不同饲料 30 d 后的特定生长率、存活率和饲料系数<sup>1)</sup>

Tah 2 Special growth rates (SGR), survival rates (SR) and feed conversion ratios (FCR) of the grass shrimp fed experiment diets respectively for 30 days

| 饲料名称                | w/%                     |                        |                        |                        |                        |
|---------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                     | 对照组                     | 低 VC 组                 | 特免王组                   | SBG                    | 高 VC 组                 |
| 初始总质量/g             | 170.2                   | 167.4                  | 171.7                  | 158.2                  | 183.3                  |
| 初始尾数                | 70                      | 70                     | 70                     | 70                     |                        |
| 末总质量/g              | 327.8                   | 309.2                  | 485.2                  | 466.4                  | 526.8                  |
| 末尾数                 | 56.5                    | 57.5                   | 70                     | 65.5                   |                        |
| 特定生长率 <sup>2)</sup> | 12.21±0.23 <sup>a</sup> | 2.07±0.02 <sup>a</sup> | 3.53±0.17 <sup>b</sup> | 3.65±0.16 <sup>b</sup> | 3.58±0.12 <sup>b</sup> |
| 存活率 <sup>3)</sup>   | 280.7±0.7 <sup>a</sup>  | 82.1±2.1 <sup>a</sup>  | 100±0.0 <sup>b</sup>   | 93.6±0.7 <sup>b</sup>  | 96.4±0.7 <sup>b</sup>  |
| 饲料系数 <sup>4)</sup>  | 32.18±0.31 <sup>a</sup> | 2.35±0.02 <sup>a</sup> | 1.10±0.1 <sup>b</sup>  | 1.03±0.07 <sup>b</sup> | 1.07±0.06 <sup>b</sup> |

1) 同一行数据右上角不同英文字母表示存在显著差异 (P<0.05);

2) 特定生长率 =  $\left[ \exp \frac{\ln \text{末总质量} - \ln \text{初总质量}}{30} - 1 \right] \times 100$ ;

3) 存活率 = 末尾数/初始尾数 × 100;

4) 饲料系数 =  $\frac{\text{投饲总质量}}{\text{末总质量} - \text{初始总质量}}$

2.2 斑节对虾的血清蛋白含量和血淋巴比重

斑节对虾摄食不同试验饲料 30 d 后, 其血清蛋白质含量和血淋巴比重见表 3。由表 3 可知, 血

清蛋白含量以特免王组、SBG 组、高 VC 组和低 VC 组显著高于对照组, 特免王组、SBG 组、高 VC 组和低 VC 组之间没有显著差异。血淋巴比重在各组

之间无显著差异。从以上数据可以认为, 饲料中的 VC 对血清中的蛋白含量有显著提高的作用, 添加葡聚糖制剂对血清蛋白的含量没有表现出协同效果。甲壳类的防御体系主要由两部分组成, 细胞防御包括血淋巴细胞和定居的吞噬细胞, 形成小结以

及包囊; 体液防御包括酚氧化酶 (PO) 和酚氧化酶原 (proPO) 激活体系, 杀菌素和凝集素。添加 VC 和葡聚糖制剂虽然使血清蛋白含量提高, 但是否使酚氧化酶激活体系的活性增强尚待进一步的实验验证。

表 3 斑节对虾摄食不同饲料 30 d 后的血清蛋白含量和血淋巴比容<sup>1)</sup>

Tah 3 Serum protein content and hemolymph ratio of the grass shrimp fed experiment diets respectively for 30 days

| 饲料名称                | w/%                    |                        |                        |                        |                        |
|---------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                     | 对照组                    | 低 VC 组                 | 特免王组                   | SBG                    | 高 VC 组                 |
| 血清蛋白 (g/100 mL)     | 5.07±0.42 <sup>a</sup> | 6.68±0.12 <sup>b</sup> | 7.14±0.28 <sup>b</sup> | 7.26±0.28 <sup>b</sup> | 7.37±0.21 <sup>b</sup> |
| 血淋巴比容 <sup>2)</sup> | 13.4±1.5               | 14.2±1.7               | 14.6±2.1               | 14.5±1.8               | 14.8±2.3               |

1) 同一行数据右上角不同英文字母表示存在显著差异 ( $P<0.05$ ); 2) 血淋巴比容=  $\frac{1-\text{凝固后血清体积}}{\text{凝固前血淋巴体积}} \times 100$

2.3 斑节对虾对注射弧菌和白斑病毒的抵抗力

斑节对虾摄食不同试验饲料 30 d 后分别注射弧菌或白斑病毒滤过液 7 d 内的累计死亡率和相对存活率见表 4。由表 4 可知, 各试验组在注射 50  $\mu$ L 弧菌液后, 12 h 内的累计死亡率分别以对照组>低 VC 组>高 VC 组=特免王组>SBG 组, 相对存活率则正好相反, 以对照组<低 VC 组<高 VC 组=特免王组<SBG 组, 但 24 h 后, 所有试验组的累计死亡率均达 100%, 说明饲料中高含量的 VC 或添加  $\beta$ -葡聚糖制剂对注射弧菌这种急性的攻毒都只有有限的保护作用。摄食不同啤酒酵母  $\beta$ -葡聚糖制剂、不同含量 VC 磷酸酯饲料 30d 后注射斑节对虾白斑病毒, 72 h 内对照组和低 VC 组的累计死亡率已达 100%, 比特免王组、SBG 组和高 VC 组要高得多。72 h 后, 累计死亡率以高 VC 组>特免王

组>SBG 组, 而相对存活率以高 VC 组<特免王组< $\beta$ -葡聚糖组, 但特免王组和 SBG 组之间的差异不是很明显。到 168 h, 高 VC 组的累计死亡率已达 98.3%, 而特免王组和 SBG 组的累计死亡率也达 71.7%和 65.0%, 可见饲料中高含量的 VC 或添加  $\beta$ -葡聚糖制剂对注射病毒这种急性的攻毒都也只有有限的保护作用, 但饲料中高含量的 VC 或添加  $\beta$ -葡聚糖制剂的这种保护作用相对于对照来说是很显著的。 $\beta$ -葡聚糖对斑节对虾生长和抗病力的效果很可能是刺激血淋巴的结果, 已证实虾浸泡于 Macro-Gard 混悬液中时血淋巴产生更多的超氧游离基和过氧化氢。Sung<sup>[7]</sup> 也报道了相同的结果, 用  $\beta$ -1,3 葡聚糖浸泡处理斑节对虾可加速体内 *V. vulnificus* 清除, 增强酚氧化酶的活性和过氧化物的产生。

表 4 注射溶菌弧菌和白斑病毒后 7 d 内的累计死亡率和相对存活率

Tah 4 Accumulative death rates and relative survival rates of the grass shrimp after injected *V. alginolyticus* or white spots baculovirus (WSBV) %

| 饲料名称  | 累计死亡率 |        |      |      |        | 相对存活率 |        |       |       |        |
|-------|-------|--------|------|------|--------|-------|--------|-------|-------|--------|
|       | 对照组   | 低 VC 组 | 特免王组 | SBG  | 高 VC 组 | 对照组   | 低 VC 组 | 特免王组  | SBG   | 高 VC 组 |
| 注射弧菌  |       |        |      |      |        |       |        |       |       |        |
| 12 h  | 100   | 85.0   | 68.3 | 66.7 | 68.3   | 0     | 16.7   | 35.2  | 36.7  | 35.2   |
| 24 h  | 100   | 100    | 100  | 100  | 100    | 0     | 0      | 0     | 0     | 0      |
| 注射病毒  |       |        |      |      |        |       |        |       |       |        |
| 12 h  | 0     | 0      | 0    | 0    | 0      | 105.3 | 100    | 105.3 | 111.1 | 111.1  |
| 24 h  | 0     | 0      | 0    | 0    | 0      | 104.2 | 100    | 105.3 | 111.1 | 111.1  |
| 48 h  | 61.7  | 21.7   | 0    | 0    | 6.7    | 54.7  | 82.4   | 105.3 | 111.1 | 103.7  |
| 72 h  | 100   | 100    | 0    | 0    | 10.0   | 0     | 0      | 105.3 | 111.1 | 100    |
| 96 h  | 100   | 100    | 6.7  | 5.0  | 28.3   | 0     | 0      | 98.2  | 105.6 | 79.6   |
| 120 h | 100   | 100    | 21.7 | 21.7 | 61.7   | 0     | 0      | 82.4  | 87.0  | 42.6   |
| 144 h | 100   | 100    | 43.3 | 41.7 | 85.0   | 0     | 0      | 59.6  | 64.8  | 16.7   |
| 168 h | 100   | 100    | 71.7 | 65.0 | 98.3   | 0     | 0      | 29.8  | 38.9  | 1.9    |

### 3 结 论

通过以上的结果我们可以认为,在饲料中添加啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂对斑节对虾的增重、存活率有显著的提高,能显著降低饲料系数,这种效果和添加高含量的 VC 磷酸酯的效果是相当的。饲料中添加 VC 磷酸酯能显著提高斑节对虾血清蛋白质的含量,而添加啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂和 VC 的配伍并不能使这种作用得到加强。但通过注射弧菌和病毒的攻毒试验可以发现,添加啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂大大提高了斑节对虾的抗病力,这种效果是饲料中高含量的 VC 磷酸酯相对来说不可比较的。VC 磷酸酯和啤酒酵母 $\beta$ -葡聚糖制剂提高斑节对虾抗病力的具体机理尚待进一步的探讨。

#### 参考文献:

[1] RAO A V P, PANCHAYUTHAPANI D, MURIHY A, et al. Resistance to diseases in tiger shrimp *Penaeus monodon* through incorporation of Glucan in feed [J]. Fish Chimes, 1996, 16: 41—42.

[2] LIAO I C, SU M S, CHANG C F, et al. Enhancement of the resistance of grass prawn *Penaeus monodon* against *Vibrio damsela* infection by  $\beta$ -1, 3-glucan [J]. Journal of the Fisheries Society of Taiwan, 1996, 23: 109—116.

[3] SONG Y L, LIU J J, CHAN L C, et al. Glucan-induced disease resistance in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. Dev Biol Stand, 1997, 90: 413—421.

[4] VERLHAC V, GABAUDAN J, OBACH A, et al. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 1996, 143: 123—133.

[5] MADSEN L, DALSGAARD I. Vertebral column deformities in farmed rainbow trout [J]. Aquaculture, 1998, 171: 41—48.

[6] OHNO N, VCHIYANA M, TSUZUKI A, et al. Solubilization of yeast cell wall  $\beta$ -1, 3-glucan by sodium hypochlorite oxidation and dimethylsulfoxide extraction [J]. Carbohydr Res, 1999, 316: 161—172.

[7] SUNG H H, CHANG H J, HE C H, et al. Phenoloxidase activity of hemocytes derived from *Penaeus monodon* and *Macrobrachium rosenbergii* [J]. J Invertebr Pathol, 1996, 71 (1): 26—33.

## Effect of Dietary Yeast $\beta$ -glucan and Vitamin C on Growth Performance and Disease Resistance of Grass Shrimp (*Penaeus monodon*)

LIU Dong hui<sup>1</sup>, YANG Hui jun<sup>2</sup>, LIU Yong jian<sup>1</sup>

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275, China;

(2. Aquaculture laboratory, Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The effect of various combinations of yeast  $\beta$ -glucan preparation and vitamin C on growth performance and disease resistance of grass shrimp (*Penaeus monodon*) was investigated. Five diets including following combinations of yeast  $\beta$ -glucan preparation and vitamin C (g/kg) (0/0, 0/0.1, 10/0.1, 1/0.1, 0/0.4) were prepared. Each dietary treatment included two duplications. 70 juvenile shrimps were deposited in outdoors pool (3 m $\times$ 2 m $\times$ 1 m) and fed trial diet for 30 days. Then *Vibrio alginolyticus* or WSBV were injected into shrimps to check disease resistance of grass shrimp. It was found the combinations of yeast  $\beta$ -glucan preparation and vitamin C significantly increased special growth rate (SPR), survival rate (SR), serum protein content, which were comparable to effects of high dose of dietary vitamin C. In the disease resistance experiments, the best survival rates in shrimp injected WSBV versus *Vibrio alginolyticus* were achieved with diets containing combinations of yeast  $\beta$ -glucan preparation and vitamin C. High mortalities occurred in shrimps fed control or only low dose vitamin diets.

**Key words:** grass shrimp (*Penaeus monodon*);  $\beta$ -glucan; vitamin C