

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200909002

http://www.yykxjz.cn/

董兰芳, 张彩群, 刘家辉, 郑晓利, 童潼, 张琴, 王秀华, 杨慧赞. 酵母水解物对吉富罗非鱼生长、免疫力、抗氧化性及抗无乳链球菌感染的影响. 渔业科学进展, 2022, 43(1): 115-122

DONG L F, ZHANG C Q, LIU J H, ZHENG X L, TONG T, ZHANG Q, WANG X H, YANG H Z. Effects of yeast hydrolysate on growth, immunity, oxidation resistance, and anti-*Streptococcus agalactiae* activity of genetically improved farmed tilapia. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(1): 115-122

酵母水解物对吉富罗非鱼生长、免疫力、 抗氧化性及抗无乳链球菌感染的影响*

董兰芳^{1,2} 张彩群¹ 刘家辉¹ 郑晓利¹ 童潼^{1①}
张琴^{1,2} 王秀华³ 杨慧赞⁴

(1. 广西民族大学海洋与生物技术学院 广西多糖材料与改性重点实验室 广西高校微生物与植物资源利用重点实验室 广西 南宁 530006; 2. 广西海洋研究所有限责任公司 广西 北海 536000; 3. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 农业农村部海水养殖病害防治重点实验室 青岛市海水养殖流行病学与生物安保重点实验室 山东 青岛 266071; 4. 广西水产科学研究院 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室 广西 南宁 530021)

摘要 本研究旨在探究饲料中添加酵母水解物对吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长性能、免疫力和抗病力的影响。在基础饲料中添加0(对照组)、0.5%、1.0%、1.5%和2.0%的酵母水解物制成5种实验饲料,对5组初始体重为(25.80±0.45)g的吉富罗非鱼进行为期8周的养殖实验,每组3个重复,每个重复30尾鱼。实验结束后,每个重复选择12尾鱼进行无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)攻毒实验,每尾鱼腹腔注射0.2 mL浓度为 8.3×10^5 CFU/mL的菌液,连续观察14 d,统计累积死亡率。结果显示,随着酵母水解物添加量的增加,吉富罗非鱼终末体质量(FBW)和特定生长率(SGR)均呈先显著上升($P < 0.05$)后下降的趋势。回归分析表明,当SGR达到最大值时,对应的酵母水解物添加量为1.29%。罗非鱼血清一氧化氮合酶、酚氧化酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶和超氧化物歧化酶活性均随饲料中酵母水解物添加量的提高呈先上升后下降的趋势($P < 0.05$),添加量为1.5%时达最大值。饲料添加酵母水解物对吉富罗非鱼无乳链球菌的抵抗力有显著影响($P < 0.05$),除添加量为0.5%的实验组死亡率与对照组差异不显著外,其他实验组罗非鱼的死亡率均显著低于对照组($P < 0.05$)。本研究中,饲料添加酵母水解物可有效提高吉富罗非鱼的生长性能、免疫力和抗病力,且在添加量为1.5%时,效果最显著。

关键词 吉富罗非鱼; 酵母水解物; 生长; 免疫酶; 抗氧化酶; 无乳链球菌

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2022)01-0115-08

* 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科 AA17204044)、广西重点研发计划项目(桂科 AB16380073)、广西民族大学相思湖青年学者创新团队资助项目(2018RSCXSHQN02)和广西民族大学引进人才科研启动项目(2018KJQD14)共同资助 [This work was supported by Innovation-Driven Development Special Fund Project of Guangxi (AA17204044), Key Research and Development Programs of Guangxi (AB16380073), Innovation Team Fund Project of Young Xiangsi Lake Scholars of Guangxi University for Nationalities (2018RSCXSHQN02), and Scientific Research Foundation for the Introduced Talents of Guangxi University for Nationalities (2018KJQD14)]. 董兰芳, E-mail: 0xiao0dong@163.com

① 通讯作者: 童潼, E-mail: ttong1028@126.com

收稿日期: 2020-09-09, 收修改稿日期: 2020-10-19

酵母水解物也称复合酵母,作为一种新型的优质单细胞蛋白原料,是用内源酶及外源酶水解纯培养酵母而获得的酵母自溶物,富含大量核酸、各类核苷酸、游离氨基酸、小肽及B族维生素,同时含有一定量的细胞壁多糖,是一种新型的功能性蛋白原料(杨凡等, 2016)。酵母水解物中游离氨基酸占总蛋白比例在70%以上,细胞壁多糖水解生成的葡聚糖和甘露寡糖为17%~30%,核酸含量为15%以上(聂琴等, 2014)。诸多研究表明,酵母水解物中各类营养性功能物质对养殖动物的生长、免疫力等有积极促进作用。酵母水解物能够解决母猪便秘,提高其幼崽成活率,促进泌乳;能够提高育肥猪的生长和饲料利用,显著提高阶段性营养物质的表观消化率;能够增加幼龄猪进食量,降低腹泻率,提高免疫力,从而促进其生长;适度酶解后,水解物中的功能小肽和游离的氨基酸还能促进猪仔进食(伏润奇等, 2019; 周慧琦等, 2015)。酵母水解物富含大量核酸,而核酸能够调节禽类胃肠道微生物菌群,抑制有害微生物繁殖,促进禽类生长,提高出栏质量,降低料肉比(贺森等, 2015)。在水产动物方面,学者们研究了饲料添加酵母水解物或部分替代饲料中鱼粉对异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*) (杨凡等, 2015)、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*) (柳茜等, 2015)和凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) (熊家等, 2017)等水产动物的影响。

吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)是我国重要的罗非鱼养殖品种,具有生长快、规格齐、抗病力强等特点。其养殖管理简单,起捕率高,投资见效快,在广东、广西和海南等地已大规模人工养殖,有关在吉富罗非鱼生长过程中添加促生长剂或免疫增强剂的研究较多(汤菊芬等, 2016; 王坛等, 2019),但饲料添加酵母水解物对吉富罗非鱼的影响未见研究报道。本研究旨在探究酵母水解物对吉富罗非鱼生长性能、免疫力、抗氧化能力及抗无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)感染的影响,为酵母水解物在罗非鱼养殖生产中的应用提供基础数据和理论指导。

1 材料与方法

1.1 饲料配方与制作

参照罗非鱼的营养需要(National Research Council, 1993)并结合国内实际生产情况设计饲料配方,以豆粕和菜籽粕为主要蛋白源,鱼油和大豆卵磷脂为主要脂肪源,配制粗蛋白为34.28%、粗脂肪为4.69%的基础饲料,基础饲料配方及营养组成见表1。所有原料粉碎后过60目筛片,按配方将各原料按比例称

表1 基础饲料配方(%干物质)

原料 Ingredients	含量 Content
豆粕 Soybean meal	30.00
鱼粉 Fish meal	2.00
菜籽粕 Rapeseed meal	23.00
次粉 Wheat middlings	25.00
米糠粕 Rice bran meal	8.00
啤酒酵母 Beer yeast	2.00
鱼油 Fish oil	2.00
大豆卵磷脂 Soy lecithin	1.00
沸石粉 Zeolite powder	2.72
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.50
矿物质预混料 Mineral premix ^a	1.00
维生素预混料 Vitamin premix ^b	1.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.25
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.03
三氧化二铬 Cr_2O_3	0.50
营养组成 Proximate composition	
粗蛋白 Crude protein	34.28
粗脂肪 Crude lipid	4.69
灰分 Ash	7.35
总能 Gross energy/($\text{MJ}\cdot\text{kg}^{-1}$)	14.11

注: a: 每千克矿物质预混料含: $\text{CoSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.15 g; $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5.0 g; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50.0 g; KCl, 50.0 g; KI, 0.1 g; $\text{MgSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 101.7 g; $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 18.0 g; NaCl, 80.0 g; $\text{NaSeO}_3\cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.05 g; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 30.0 g。

b: 每千克维生素预混料含: V_A 棕榈酸盐, 3,000,000 IU; V_{D_3} , 1,200,000 IU; DL- α -生育酚, 80.0 g; 甲萘醌, 8.0 g; 硫胺-HCl, 10.0 g; 核黄素, 10.0 g; D-泛酸钙, 20.0 g; 吡哆醇-HCl, 8.0 g; 肌醇, 200.0 g; D-生物素, 1.5 g; 叶酸, 3.0 g; 氨基苯酸, 10.0 g; 烟酸, 20.0 g; $\text{V}_{B_{12}}$, 0.02 g; 维生素C多聚磷酸酯(35%), 50.0 g。

由北海恒兴水产科技有限公司友情提供。

Note: a: Containing the following in mineral premix (per kg): $\text{CoSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.15 g; $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 5.0 g; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 50.0 g; KCl, 50.0 g; KI, 0.1 g; $\text{MgSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 101.7 g; $\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 18.0 g; NaCl, 80.0 g; $\text{NaSeO}_3\cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.05 g; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 30.0 g.

b: Containing the following in vitamin premix (per kg): Retinal palmitate, 3,000,000 IU; V_{D_3} , 1,200,000 IU; DL- α -tocopherol acetate, 80.0 g; Menadione, 8.0 g; Thiamin-HCl, 10.0 g; Riboflavin, 10.0 g; D-calcium pantothenate, 20.0 g; Pyridoxine-HCl, 8.0 g; Meso-inositol, 200.0 g; D-biotin, 1.5 g; Folic acid, 3.0 g; Para-aminobenzoic acid, 10.0 g; Niacin, 20.0 g; $\text{V}_{B_{12}}$, 0.02 g; Ascorbyl polyphosphate (35%), 50.0 g.

Kindly provided by Beihai Hengxing Aquatic Technology Co., Ltd, China.

重,先将粉状原料混合均匀,再加入卵磷脂和鱼油后

混匀,之后加水制成湿面团,将湿面团分成小碎块后烘干、粉碎,称取5份等质量饲料,按0、0.5%、1.0%、1.5%和2.0%的比例添加酵母水解物(酵母水解物由湖北安琪酵母有限公司友情提供),分别混匀后加水重新制成湿面团,面团用实验室单螺杆膨化机将饲料制成2.0 mm×3.0 mm的颗粒,饲料调质温度控制在90℃~100℃。饲料颗粒于室内阴凉处风干后,保存在-20℃冰箱中备用。共制成5种实验饲料,分别记为对照组、Y0.5%、Y1.0%、Y1.5%和Y2.0%实验组,5种饲料的蛋白含量实测值分别为34.28%、34.31%、34.38%、34.42%和34.51%。

1.2 实验动物养殖管理

吉富罗非鱼由国家级广西南宁罗非鱼良种场提供。实验在广西民族大学水产养殖多功能实验室进行,罗非鱼先在3 m³的白色大塑料桶内暂养1周,暂养期间饲喂基础饲料。暂养结束后,挑选规格均一、活力好的罗非鱼450尾[初始体重为(25.80±0.45)g],随机分成5组,每组3个重复,每个重复30尾鱼。鱼苗随机分配到室内淡水循环系统中的15个容积为150 L的玻璃缸中。养殖实验持续8周,5个实验组分别饲喂5种实验饲料,每日按鱼体质量的2%~5%投喂,根据每天各组罗非鱼的实际摄食情况进行适当调整,每天投喂2次,投喂时间为08:00和17:00,每次投喂后2 h内吸除残饵和粪便,每天换水1/3。饲养期间连续充气,水温为28℃~31℃,pH为7.2~7.6,氨氮含量不超过0.05 mg/L,溶解氧含量不低于5 mg/L。

1.3 样品的采集与处理

8周饲养实验结束,停食24 h后,从每缸中随机取5尾鱼,用注射器从罗非鱼尾静脉采血,置于Eppendorf管中,4℃静置1 h后,4℃ 6000 r/min离心10 min,取血清置于-80℃冰箱备用。剩余的鱼进行称重,计算罗非鱼的特定生长率(specific growth rate, SGR),计算公式如下:

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

式中, W_0 和 W_t 分别为平均初始体质量(initial body weight, IBW)和平均终末体质量(final body weight, FBW), t 为实验天数。

1.4 免疫指标的测定

血清一氧化氮合酶(NOS)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)活性采用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定。

血清酚氧化酶(PO)活性的测定:参考曹俊明等

(2011)的方法略作改动,以L-DOPA为底物,把10 μL血清加入96孔酶标板中,然后向各孔中加入200 μL浓度为0.1 mol/L、pH为7.0的磷酸盐缓冲液,最后向各样品孔中加入10 μL浓度为0.01 mol/L的L-DOPA,室温下温育10 min后,立刻放入酶标仪中,在490 nm下测定酶活动力学。以实验条件下每毫升样品每分钟OD_{490 nm}增加0.001定义为1个酶活力单位。

血清蛋白浓度测定:采用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度(Bradford, 1976),以牛血清蛋白为标准。

1.5 无乳链球菌攻毒实验

养殖结束后,进行无乳链球菌攻毒实验。攻毒所用无乳链球菌菌种由广西海洋生物技术重点实验室提供。每个重复选择罗非鱼12尾进行攻毒实验,每尾鱼腹腔注射0.2 mL浓度为 8.3×10^5 CFU/mL的菌液。连续观察14 d,统计累积死亡率(accumulative mortality rate, AMR)。

1.6 数据的统计分析

采用SPSS 19.0软件对实验结果进行统计分析,数据采用平均值±标准误(Mean±SE)($n=3$)表示,若差异达到显著($P<0.05$),则用Tukey多重比较分析各组数据之间的差异。

2 结果与分析

2.1 酵母水解物对吉富罗非鱼生长的影响

由表2可知,各处理组间FBW和SGR存在显著差异($P<0.05$),随着酵母水解物添加量的增加,FBW和SGR均呈先上升后下降的趋势,并在Y1.5%组达到最大值。虽然各组成活率无显著差异($P>0.05$),但添加酵母水解物实验组稍高于对照组。吉富罗非鱼SGR和饲料酵母水解物添加量的二次曲线回归方程为 $y = -0.2524x^2 + 0.6534x + 1.5725$ ($R^2 = 0.9577$),当SGR达到最大值时,对应的酵母水解物添加量为1.29%。

2.2 酵母水解物对吉富罗非鱼血清非特异性免疫酶活性的影响

由表3可知,随着饲料中酵母水解物添加量的提高,罗非鱼血清NOS、PO和ACP活性均呈现不同程度先上升后下降的趋势,且均在Y1.5%组达到最大值($P<0.05$)。

2.3 酵母水解物对吉富罗非鱼血清抗氧化酶活性的影响

由表4可知,与非特异性免疫酶相同,罗非鱼血

表2 饲料中添加酵母水解物对吉富罗非鱼生长的影响(平均值±标准误, $n=3$)
Tab.2 Effect of yeast hydrolysate on the growth of GIFT tilapia (Means±SE, $n=3$)

饲料组 Dietary treatments	平均初始体质量 Average IBW/g	平均终末体质量 Average FBW/g	成活率 Survival rate/%	特定生长率 SGR/(%·d ⁻¹)
对照组 Control	25.44±0.23	60.97±2.73 ^a	91.11±2.94	1.56±0.07 ^b
Y0.5%	25.99±0.33	74.72±2.54 ^b	93.33±0	1.88±0.05 ^b
Y1.0%	25.84±0.22	76.00±1.98 ^b	94.44±1.11	1.93±0.05 ^{ab}
Y1.5%	25.90±0.32	79.57±2.54 ^b	93.33±1.92	2.00±0.08 ^{ab}
Y2.0%	25.80±0.26	73.60±1.61 ^b	94.44±1.11	1.87±0.03 ^a
方差分析 ANOVA				
<i>P</i>	0.688	0.002	0.655	0.003

注: 同列中上标字母相同表示差异不显著($P>0.05$), 下同

Note: Data in each column with the same superscripts have no significant differences ($P>0.05$). The same as below

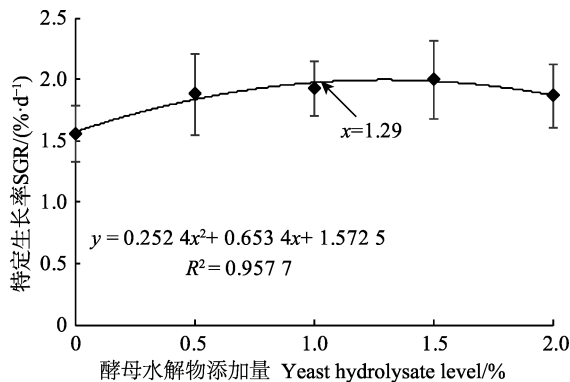


图1 吉富罗非鱼 SGR 与饲料酵母水解物添加水平的回归分析

Fig.1 Regression analysis between SGR of GIFT tilapia and yeast hydrolysate level

清 CAT 和 SOD 活性也随饲料中酵母水解物添加量的提高呈现不同程度先上升后下降的趋势, 且均在 Y1.5% 组达到最大值($P<0.05$)。

2.4 饲料添加酵母水解物对吉富罗非鱼抗无乳链球菌感染能力的影响

由表 5 可知, 饲料添加酵母水解物对吉富罗非鱼抗无乳链球菌感染的能力产生显著影响($P<0.05$), 除

Y0.5% 实验组外, 其他实验组(酵母水解物添加 1.0% 及以上)罗非鱼的死亡率均显著低于对照组($P<0.05$), 说明酵母水解物能显著提高吉富罗非鱼对无乳链球菌的抵抗力。

3 讨论

3.1 酵母水解物对吉富罗非鱼生长性能的影响

酵母水解物对养殖动物影响的研究主要集中在陆生动物, 它能够提高鸡、猪、牛等的生长性能和免疫力(付润奇等, 2019; 周慧琦等, 2015; 贺森等, 2015; Oeztuerk *et al.*, 2016; 李建明等, 2015)。近年来, 在水产动物中应用的研究也越来越广泛。研究表明, 酵母水解物能显著提高加州鲈(*Micropterus salmoides*) 的生长速度和饲料蛋白质效率, 提高其饲料利用率, 且加州鲈生长性能最优时酵母水解物的适宜添加量为 1.51%~1.69% (曾本和等, 2016)。凡纳滨对虾的增重率、特定生长率和蛋白质效率也随酵母水解物添加量的增加而增加, 酵母水解物添加量为 5% 的对虾的生长性能显著高于对照组(熊家等, 2018)。随着酵母水解物添加量的增加, 草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)

表3 饲料中添加酵母水解物对吉富罗非鱼血清非特异性免疫酶活性的影响(平均值±标准误)

Tab.3 Effects of yeast hydrolysate on nonspecific immune enzyme activities of GIFT tilapia (Mean±SE)

饲料组 Dietary treatments	一氧化氮合酶 NOS/(U·g ⁻¹ prot)	酚氧化酶 PO/(U·mL ⁻¹)	酸性磷酸酶 ACP/(U·g ⁻¹ prot)
对照组 Control	12.64±1.77 ^a	45.64±3.57 ^a	103.89±3.42 ^a
Y0.5%	14.94±1.70 ^{ab}	47.78±5.09 ^a	110.79±5.22 ^{ab}
Y1.0%	16.42±0.41 ^{ab}	51.33±7.02 ^{ab}	112.03±1.97 ^{ab}
Y1.5%	19.01±1.13 ^b	61.11±2.78 ^b	126.94±1.73 ^b
Y2.0%	17.33±1.02 ^{ab}	55.38±4.86 ^{ab}	104.58±5.05 ^a
方差分析 ANOVA			
<i>P</i>	0.018	0.020	0.010

表 4 饲料中添加酵母水解物对吉富罗非鱼血清抗氧化酶活性的影响(平均值±标准误)

Tab.4 Effects of yeast hydrolysate on antioxidant enzyme activities of GIFT tilapia (Mean±SE)

饲料组 Dietary treatments	过氧化氢酶 CAT/(U·g ⁻¹ prot)	超氧化物歧化酶 SOD/(U·g ⁻¹ prot)
对照组 Control	14.22±0.45 ^a	49.58±1.78 ^a
Y0.5%	13.99±0.79 ^a	72.58±4.63 ^b
Y1.0%	27.47±1.18 ^b	115.01±8.22 ^c
Y1.5%	32.34±1.24 ^c	134.95±6.78 ^d
Y2.0%	28.93±1.19 ^{bc}	112.26±11.47 ^c
方差分析 ANOVA		
P	0	0

表 5 饲料中添加酵母水解物对吉富罗非鱼抗无乳链球菌感染能力的影响(平均值±标准误)

Tab.5 Effects of yeast hydrolysate on disease resistance to *S. agalactiae* of GIFT tilapia (Mean±SE)

饲料组 Dietary treatments	累积死亡率 Accumulative mortality rate/%
对照组 Control	61.11±2.78 ^a
Y0.5%	52.78±2.78 ^a
Y1.0%	38.89±2.78 ^b
Y1.5%	27.78±2.78 ^b
Y2.0%	36.11±2.78 ^b
方差分析 ANOVA	
P	0

的增重率、特定生长率和蛋白质效率均呈先降低后升高再降低的趋势,添加量为 1.5%~1.7%时获得最佳生长性能(曾本和等, 2015)。也有研究表明, 酵母水解物对某些养殖品种的生长率没有显著影响, 如添加 0.5%酵母水解物饲料对大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)的生长无显著影响(时博等, 2018)。饲料添加 0.1%、0.2%、0.3%酵母水解物, 齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)的生长性能无显著变化(杨军等, 2019)。添加 0.5%、1%、2%酵母水解物, 凡纳滨对虾的成活率、增重率与对照组相比, 差异不显著(迟淑艳等, 2016)。这可能跟养殖品种的敏感性以及同一品种酵母水解物添加方式和添加量不同有关, 5%酵母水解物能显著改善凡纳滨对虾的生长性能, 而 0.5%~2%添加量对其无显著影响(熊家等, 2018; 迟淑艳等, 2016)。有关酵母产品对罗非鱼生长的研究已有报道, 高桂平等(2018)研究表明, 饲料添加酵母、酵母 RNA、酵母 RNA+β-葡聚糖复合物均能提高吉富罗非鱼幼鱼的生长性能, 且单独添加 0.04%酵母 RNA 对幼鱼的促生长效果最好; 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长率随饲料海洋红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)添加

量的增加呈先增加后降低的趋势(杨铿等, 2016)。与上述研究结果类似, 本研究中吉富罗非鱼的生长性能随着酵母水解物添加量的增加而显著提高, 添加量为 1.5%时, SGR 达到最大值; 继续加大酵母水解物的添加量, 吉富罗非鱼的生长率没有继续提高, 反而有一定降低。酵母水解物富含天然核苷酸、小肽、游离氨基酸、葡聚糖、甘露寡糖和 B 族维生素等营养功能性物质, 能补充养殖动物快速生长期内源核苷酸合成的不足, 修复肠道, 改善肝功能, 促进生长发育(杨凡等, 2016; 聂琴等, 2014)。然而, 过多的核苷酸可能对肝脏的脱嘌呤过程造成负担(刘莹等, 2016), 这可能是高酵母水解物添加量实验组吉富罗非鱼生长率有所降低的原因。另外, 王永宏等(2013)研究表明, 连续投喂 β-葡聚糖会使动物机体长期处于免疫激活状态, 造成营养物质重分配进而对生长性能造成负面影响。回归分析表明, 本实验条件下, 吉富罗非鱼酵母水解物的最适添加量为 1.29%。

3.2 酵母水解物对吉富罗非鱼血清免疫酶和抗氧化酶活性的影响

本研究中, 吉富罗非鱼的免疫酶(NOS、PO 和 ACP)和抗氧化酶(CAT 和 SOD)活性均随饲料中酵母水解物添加量的增加而显著提高, 在添加量为 1.5%时达到最大值, 而后出现一定的降低, 这与生长率变化趋势一致。酵母水解物富含特有的核苷酸、葡聚糖和甘露寡糖等功能性成分, 可能是提高吉富罗非鱼免疫力和抗氧化能力的原因。核苷酸是生物体内遗传物质的基本单位, 也是蛋白质合成必需的中间体, 在细胞结构、代谢、能量和功能调节等方面具有重要作用(许群等, 2004)。研究表明, 饲料添加外源核苷酸能显著提高凡纳滨对虾碱性磷酸酶活力和总抗氧化能力(许丹丹等, 2011), 也能显著提高鳃中 PO 及血清和肝脏中溶菌酶(LZM)活性(曹俊明等, 2011); 酵母核苷酸添加组鲤鱼的血清 LZM、SOD 和 CAT 活性显著升高(向泉等, 2011); 外源核苷酸也能显著提高奥尼罗非鱼肝脏内 SOD 和 CAT 活力(韩春艳等, 2018)。而 β-葡聚糖作为一种新型的天然免疫增强剂, 通常以 β-1,3-糖苷键为主链, 以 β-1,6-糖苷键为支链, 其特殊的键连接方式和分子内氢键的存在造成螺旋型的分子结构, 很容易被免疫系统接受, 可以提高鱼类的免疫力(杜建等, 2018; Misra *et al.*, 2006; Ai *et al.*, 2007)。高桂平等(2018)研究证实, β-葡聚糖可提高吉富罗非鱼血浆中 SOD、CAT、LZM 和 ACP 活力。另外, 酵母水解物富含 B 族维生素, B 族维生素通过提高血清 LZM 和 ACP 以及总铁结合力增强鱼类杀菌和抑菌能

力, 进而增强鱼类非特异性免疫力。因此, 酵母水解物能显著提高吉富罗非鱼的免疫力和抗氧化力, 但过量添加酵母水解物并不能强化已处于正常状态的免疫系统。

3.3 酵母水解物对吉富罗非鱼抗无乳链球菌感染能力的影响

罗非鱼是无乳链球菌最敏感的宿主, 无乳链球菌给罗非鱼产业带来巨大的经济损失(苏友禄等, 2019)。研究表明, 鱼类对疾病的抵抗力存在着物种间和个体间的差异, 具有良好免疫力的罗非鱼更能抵御无乳链球菌的侵袭。朱佳杰等(2015)评估了不同品系罗非鱼抗无乳链球菌病的性能, 从感染死亡率来看, 奥尼罗非鱼的抗病性能优于其他品系, 吉富罗非鱼的感染死亡率最高; 饲喂添加植物提取物(樟树皮、平喘草、印楝叶及木瓜种子)饲料的尼罗罗非鱼的免疫力显著高于对照组, 无乳链球菌的患病率也显著低于对照组(Kareem *et al.*, 2016)。张永政(2017)研究显示, 饲料中添加黄柏(*Phellodendron amurense*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和磺胺嘧啶都能不同程度地提高罗非鱼非特异性免疫指标和抗无乳链球菌感染能力。本研究中酵母水解物能显著提高吉富罗非鱼的免疫能力和抗氧化能力, 从而表现出良好的无乳链球菌免疫保护作用, 显著降低了无乳链球菌感染的累积死亡率, 且累积死亡率的降低程度与免疫酶和抗氧化酶活性的提高程度呈正相关, 添加量为 1.5% 实验组的累积死亡率最低。

4 结论

本研究证明, 饲料添加酵母水解物可有效提高吉富罗非鱼生长性能、免疫力及抗病力, 添加量为 1.5% 时, 效果最显著。酵母水解物作为促生长剂和免疫增强剂, 在提高吉富罗非鱼生长性能和抗病能力方面有重要意义。

参 考 文 献

- AI Q H, MAI K S, ZHANG L, *et al.* Effects of dietary β -1,3 glucan on innate immune response of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Fish and Shellfish Immunology*, 2007, 22(4): 394–402
- BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1/2): 248–254
- CAO J M, XU D D, HUANG Y H, *et al.* Effects of dietary nucleotides on growth performance, tissue biochemical composition and non-specific immunity of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(4): 594–603 [曹俊明, 许丹丹, 黄燕华, 等. 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾生长、组织生化组成及非特异性免疫功能的影响. *水产学报*, 2011, 35(4): 594–603]
- CHI S Y, NIE Q, HUANG W W, *et al.* Study on suitable proportion of yeast hydrolyzate replacement of fishmeal in feed of *Litopenaeus vannamei*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(4): 728–735 [迟淑艳, 聂琴, 黄吴文, 等. 凡纳滨对虾饲料中酵母水解物替代鱼粉适宜比例的研究. *水生生物学报*, 2016, 40(4): 728–735]
- DU J, CHEN D W, YU B, *et al.* Effects of β -glucan on growth performance, carcass performance and meat quality of growing-finishing pigs. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(9): 3634–3642 [杜建, 陈代文, 余冰, 等. β -葡聚糖对生长育肥猪生长性能、胴体性能和肉品质的影响. *动物营养学报*, 2018, 30(9): 3634–3642]
- FU R Q, CHEN D W, ZHENG P, *et al.* Effects of yeast hydrolyzate on growth performance, serum immunity and antioxidant capacity and fecal microflora of weaned piglets. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(1): 351–359 [伏润奇, 陈代文, 郑萍, 等. 酵母水解物对断奶仔猪生长性能、血清免疫和抗氧化能力及粪便菌群的影响. *动物营养学报*, 2019, 31(1): 351–359]
- GAO G P, PENG Q, FENG J. Effects of dietary yeast, yeast RNA, β -glucan, yeast RNA and β -glucan on growth and immune performance of juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Open Journal of Fisheries Research*, 2018, 5(1): 6–14 [高桂平, 彭淇, 冯健. 饲料中添加酵母、酵母 RNA、 β -葡聚糖和酵母 RNA + β -葡聚糖对吉富罗非鱼幼鱼生长和免疫性能的影响. *水产研究*, 2018, 5(1): 6–14]
- HAN C Y, ZHENG Q M, DENG Q R. Effects of exogenous nucleotides on growth and antioxidant status of tilapia. *Journal of Jiaying University (Natural Science)*, 2018, 36(5): 39–44 [韩春艳, 郑清梅, 邓茜壬. 外源核苷酸对罗非鱼生长发育及抗氧化能力的影响. *嘉应学院学报(自然科学)*, 2018, 36(5): 39–44]
- HE M, HUANG X, DAI J J, *et al.* Effects of two different types of yeast hydrolyzate on growth performance, intestinal morphology of broiler. *Feed Industry*, 2015, 36(16): 60–63 [贺淼, 黄鑫, 戴晋军, 等. 两种不同类型酵母水解物对肉鸡生长性能、肠黏膜形态的影响. *饲料工业*, 2015, 36(16): 60–63]
- KAREEM Z H, ABDELHADI Y M, CHRISTIANUS A, *et al.* Effects of some dietary crude plant extracts on the growth and gonadal maturity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their resistance to *Streptococcus agalactiae* infection. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2016, 42(2): 757–769
- LI J M, SHI L, YU J Y. Effect of yeast hydrolysate on production performance of dairy cows. *Today Animay Husbandry and Veterinary Medicine*, 2015(6): 55–56 [李建明, 施丽, 于进永. 酵母水解产物对奶牛生产性能的影响. *今日畜牧兽医*, 2015(6): 55–56]
- LIU Q, YANG W J, WU Z, *et al.* Effects of yeast hydrolysate on non-specific immunity and anti-stress abilities of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Feed Industry*, 2015, 36(18): 33–37 [柳茜, 杨文娇, 吴振, 等. 酵母水解物对大菱鲆幼鱼非特异性免疫及抗应激能力的影响. *饲料工业*, 2015, 36(18): 33–37]
- LIU Y, LIU M, YU C Y, *et al.* Effect of a nucleotide-enriched diet on the growth and lysozyme activity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Journal of Guangxi Academy of Sciences*, 2016, 32(2): 116–121 [刘莹, 刘名, 于超勇, 等.

- 外源核苷酸对大菱鲂幼鱼生长和溶菌酶活力的影响. 广西科学院学报, 2016, 32(2): 116–121]
- MISRA C K, DAS B K, MUKHERJEE S C, *et al.* Effect of long term administration of dietary β -glucan on immunity, growth and survival of *Labeo rohita* fingerlings. *Aquaculture*, 2006, 255(1/2/3/4): 82–94
- National Research Council. Nutrient requirements of fishes. Washington D C, USA: National Academy Press, 1993, 55
- NIE Q, ZHOU X H, YANG F, *et al.* Comparison of nutritional value in yeast hydrolysate and squid visceral meal. *Chinese Feed*, 2014(11): 42–43 [聂琴, 周小辉, 杨凡, 等. 酵母水解物与乌贼副产品的营养价值比较. 中国饲料, 2014(11): 42–43]
- OEZTUERK H, EMRE B, BREVES G. Effects of hydrolysed yeasts on ruminal fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). *Veterinárni Medicina*, 2016, 61(4): 195–203
- SHI B, YU H H, LIANG X F, *et al.* Effects of yeast hydrolysate on growth performance, plasma biochemical indexes and hepatic tissue health of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(7): 2772–2781 [时博, 郁欢欢, 梁晓芳, 等. 酵母水解物对大口黑鲈生长性能、血浆生化指标以及肝脏组织健康的影响. 动物营养学报, 2018, 30(7): 2772–2781]
- SU Y L, LIU C, DENG Y Q, *et al.* Reseach on *Streptococcus agalactiae* disease in tilapia: A review. *Journal of Dalian Ocean University*, 2019, 34(5): 757–766 [苏友禄, 刘婵, 邓益琴, 等. 罗非鱼无乳链球菌的研究进展. 大连海洋大学学报, 2019, 34(5): 757–766]
- TANG J F, HUANG Y, CAI J, *et al.* Effects of a compound probiotics combined with Chinese herbal medicine on growth performance, intestinal flora and resistance to diseases of GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(4): 104–109 [汤菊芬, 黄瑜, 蔡佳, 等. 中草药复合微生态制剂对吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 生长、肠道菌群及抗病力的影响. 渔业科学进展, 2016, 37(4): 104–109]
- WANG T, ZHAO J X, LIU D L, *et al.* Effects of dietary lysozyme on the digestive tract structure and nutrient digestibility of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(6): 76–87 [王坛, 赵金鑫, 刘东来, 等. 饲用溶菌酶对吉富罗非鱼消化道组织结构及营养物质消化吸收的影响. 渔业科学进展, 2019, 40(6): 76–87]
- WANG Y H, YANG X Y, GUO Z L, *et al.* Effect of β -glucan on the non-specific immunity and growth of *Takifugu obscurus*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(6): 1247–1256 [王永宏, 杨小玉, 郭正龙, 等. β -葡聚糖对暗纹东方鲀幼鱼非特异性免疫及生长性能的影响. 中国水产科学, 2013, 20(6): 1247–1256]
- XIANG X, ZHOU X H, CHEN J, *et al.* Effects of yeast nucleotide on growth performance, body composition and immune indices of common carp (*Cyprinus carpio*). *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(1): 171–178 [向泉, 周兴华, 陈建, 等. 酵母核苷酸对鲤生长性能、体组成及血清免疫指标的影响. 动物营养学报, 2011, 23(1): 171–178]
- XIONG J, YUAN Y, LU Y, *et al.* Effects of yeast hydrolysate on growth performance, intestinal morphology and serum nonspecific immune enzyme activities of *Litopenaeus vannamei*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, 29(11): 4207–4215 [熊家, 袁野, 陆游, 等. 酵母水解物对凡纳滨对虾生长性能、肠道形态和血清非特异性免疫酶活性的影响. 动物营养学报, 2017, 29(11): 4207–4215]
- XIONG J, YUAN Y, LUO J X, *et al.* Effects of yeast hydrolysate on the growth performance, digestive enzyme activity, and intestinal morphology of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(5): 1012–1021 [熊家, 袁野, 罗嘉翔, 等. 酵母水解物对凡纳滨对虾生长、消化酶活性和肠道形态的影响. 中国水产科学, 2018, 25(5): 1012–1021]
- XU D D, CAO J M, HUANG Y H, *et al.* Effects of dietary nucleotides on growth performance, intestinal morphology and anti-oxidative activities of juvenile *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(5): 1115–1124 [许丹丹, 曹俊明, 黄燕华, 等. 饲料中添加核苷酸对凡纳滨对虾幼虾生长、肠道形态及抗氧化酶活性的影响. 中国水产科学, 2011, 18(5): 1115–1124]
- XUN Q, WANG A L. Effects of nucleotides on the feed intake, growth and immunity function of animals. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2004, 16(4): 13–17 [许群, 王安利. 核苷酸对动物摄食、生长与免疫功能的影响. 动物营养学报, 2004, 16(4): 13–17]
- YANG F, CHEN C F, YI J H, *et al.* Effects of autolyzed yeast on the growth and immune function of silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*). *Feed Industry*, 2015, 36(4): 60–64 [杨凡, 陈昌福, 易建华, 等. 酵母水解物对异育银鲫生长和免疫性能的影响. 饲料工业, 2015, 36(4): 60–64]
- YANG F, YI J H, NIE Q, *et al.* Application of yeast hydrolyzate in aquatic feed. *Chinese Feed*, 2016(16): 41–43 [杨凡, 易建华, 聂琴, 等. 酵母水解物在水产饲料中的应用. 中国饲料, 2016(16): 41–43]
- YANG J, FENG D P, DONG J F, *et al.* Effects of immunostimulants on the growth rate and non-specific immunity of *Schizothorax prenanti*. *Journal of Hydroecology*, 2019, 40(5): 78–83 [杨军, 冯德品, 董舰峰, 等. 免疫增强剂对齐口裂腹鱼生长性能和免疫功能的影响. 水生态学杂志, 2019, 40(5): 78–83]
- YANG K, LIN H Z, XIA D M, *et al.* Effect of dietary *Rhodotorula mucilaginosa* on the growth performance, digestive and immune enzymes activities of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *South China Fisheries Science*, 2016, 12(6): 51–58 [杨铿, 林黑着, 夏冬梅, 等. 饲料中海洋红酵母对尼罗罗非鱼幼鱼生长性能、消化酶及免疫酶活性的影响. 南方水产科学, 2016, 12(6): 51–58]
- ZENG B H, XIANG X, YANG W J, *et al.* Effects of yeast hydrolysate on growth and body composition of juvenile *Ctenopharyngodon idellus*. *Feed Industry*, 2015, 36(16): 16–19 [曾本和, 向泉, 杨文娇, 等. 酵母水解物对草鱼生长性能和体成分的影响. 饲料工业, 2015, 36(16): 16–19]
- ZENG B H, YANG W J, WU Z, *et al.* Effects of yeast hydrolyzate on growth and immune enzyme index of juvenile *Micropterus salmoides*. *Feed Industry*, 2016, 37(14): 11–15 [曾本和, 杨文娇, 吴振, 等. 酵母水解物对加州鲈幼鱼生长性能及免疫酶指标的影响. 饲料工业, 2016, 37(14): 11–15]
- ZHANG Y Z. Immunostimulatory effects of artificial feed supplemented with *Phellodendron amurense* Rupr. on tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) against *Streptococcus agalactiae*. Master's Thesis of Hainan University, 2017 [张永政. 黄柏

对罗非鱼生长性能、非特异性免疫及抗无乳链球菌感染能力的研究. 海南大学硕士研究生学位论文, 2017]

ZHOU H Q, LI B, YAN F Y, *et al.* Effects of yeast hydrolysate on production performance and blood physiological and biochemical indexes of sows. *Chinese Feed*, 2015(3): 38–41 [周慧琦, 李彪, 燕富永, 等. 酵母水解物对母猪生产性能和

和血液生理生化指标的影响. *中国饲料*, 2015(3): 38–41]

ZHU J J, ZHOU Y, TAN Y, *et al.* Evaluation on the resistance of different tilapia cultivars to *Streptococcus agalactiae*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2015, 43(10): 168–170 [朱佳杰, 周宇, 谭芸, 等. 不同品系罗非鱼抗无乳链球菌病性能的评估. *安徽农业科学*, 2015, 43(10): 168–170]

(编辑 马瑾艳)

Effects of Yeast Hydrolysate on Growth, Immunity, Oxidation Resistance, and Anti-*Streptococcus agalactiae* Activity of Genetically Improved Farmed Tilapia

DONG Lanfang^{1,2}, ZHANG Caiqun¹, LIU Jiahui¹, ZHENG Xiaoli¹, TONG Tong^{1①}, ZHANG Qin^{1,2}, WANG Xiuhua³, YANG Huizan⁴

(1. School of Marine Science and Biotechnology, Guangxi University for Nationalities, Guangxi Key Laboratory for Polysaccharide Materials and Modifications, Guangxi Colleges and Universities Key Laboratory of Utilization of Microbial and Botanical Resources, Nanning, Guangxi 530006, China; 2. Guangxi Ocean Research Institute Co., Ltd, Beihai, Guangxi 536000, China; 3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Laboratory of Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao); Key Laboratory of Maricultural Organism Disease Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Key Laboratory of Maricultural Epidemiology and Biosecurity of Qingdao, Qingdao, Shandong 266071, China; 4. Guangxi Academy of Fishery Sciences, Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic Breeding and Healthy Aquaculture, Nanning, Guangxi 530021, China)

Abstract This study aimed to investigate the effects of yeast hydrolysate on the growth performance, immunity, oxidation resistance, and anti-*Streptococcus agalactiae* activity of genetically improved farmed tilapia (GIFT). Five experimental diets were prepared by adding 0 (control group), 0.5%, 1.0%, 1.5%, and 2.0% yeast hydrolysate to the basic diet of these fish. GIFT with an initial weight of (25.80±0.45) g were randomly divided into five groups and were cultured for 8 weeks. After the breeding test, 12 fish from each group were selected for the *S. agalactiae* challenge test. Each fish was injected intraperitoneally with 0.2 mL bacterial solution at a concentration of 8.3×10⁵ CFU/mL, and the cumulative mortality was counted for 14 days. The results showed that the final body weight and specific growth rate (SGR) increased significantly at first ($P<0.05$) and then decreased with the increase in the concentration of yeast hydrolysate. Regression model analysis showed that the most suitable dietary yeast hydrolysate level reached the highest SGR at 1.29%. The activities of nitric oxide synthase, phenol oxidase, acid phosphatase, catalase, and superoxide dismutase increased ($P<0.05$) at first and then decreased under the increased dietary yeast hydrolysate level; the peak was reached on supplementation with 1.5% yeast hydrolysate. Dietary yeast hydrolysate significantly influenced the resistance of GIFT to *S. agalactiae* ($P<0.05$). Except for the 0.5% yeast hydrolysate test group, the cumulative mortalities of the other test groups (1.0% yeast hydrolysate supplementation or more) were significantly lower than the cumulative mortality of the control group ($P<0.05$). In this study, the addition of yeast hydrolysates to the diet of GIFT significantly improved their growth performance, immunity, and disease resistance, and the 1.5% yeast hydrolysate-supplemented test group showed the best results.

Key words *Oreochromis niloticus* (GIFT); Yeast hydrolysate; Growth; Immune enzyme; Antioxidase; *Streptococcus agalactiae*

① Corresponding author: TONG Tong, E-mail: ttong1028@126.com