

虾类免疫系统及其免疫增强剂的研究

作者:宋理平 宋晓亮 董文 周洪琪 华雪铭 期号:2005年第22期

近年来我国水产养殖规模不断扩大,集约化和工厂化程度越来越高,但养殖水域污染日趋严重,导致病害的频繁发生,严重困扰着水产养殖业的健康发展。特别是对虾养殖业中的严重疾病,使中国水产业蒙受了巨大损失。以对虾养殖为例,1988年至1992年间,对虾养殖业年产值约40多亿元(不含对虾育苗产值),年创汇5~7亿美元,但是由于自1993年起病毒性疾病的爆发流行,对虾养殖年产量由20多万吨跌至7万吨,直接经济损失35亿元,到现在尚无有效的治疗方法。与此同时,大量抗生素及其它药物的使用,污染了水体,降低了水产品品质。使用疫苗是预防疾病的可靠方法,但至今大部分病毒的疫苗尚未开发出来,且疫苗不具有广谱性,操作可行性差。开发无药残、抗菌谱广、食用安全、增强免疫功能的添加剂,成为当前水产饲料研究的热点。目前,研发了绿色免疫增强剂并成功应用于水产动物的病害防治工作,取得了显著成绩。

1 虾类的免疫系统

水产动物在长期生命进化过程中形成了独有的免疫系统,虾类的免疫系统还很不成熟,主要以非特异性免疫(Non-specific immunity)为主。非特异性免疫是指生物在长期进化过程中形成的、属于先天所有、相对稳定、无特殊的抵抗病原体的天然抵抗能力。它包括细胞免疫和体液免疫两个方面,虾体内的细胞免疫和体液免疫作用紧密相关,血细胞可合成并释放体液免疫因子,细胞免疫反应又受到体液免疫因子的介导和影响。

1.1 细胞免疫

虾类具有开放式血液循环,在防止外来病原微生物入侵时能够建立正确快速的诱导防卫机制,血细胞在此诱导机制中起重要作用。按形态学分类,血细胞分为透明细胞(Hyaline cell)、半颗粒细胞(Semigranular cell)和颗粒细胞(Granular cell)。

透明细胞缺少大的细胞内颗粒,还缺乏酚氧化酶(PO)活性,吞噬作用是这类细胞的基本性能,体外活化的酚氧化酶原系统的组分可激活这种细胞的吞噬能力。透明细胞中含有的谷氨酰胺转移酶(transglutaminase)可使血浆中可溶性的凝固素原(coagulogen)变为不可溶的凝固素(coagulin),产生凝血反应。

半颗粒细胞含有大量的小细胞质颗粒和少量的酚氧化酶原,具有包裹、储存和释放酚氧化酶原(propo)系统及细胞毒性作用。这类细胞通过脂多糖(LSP)或 β -葡聚糖的诱导而脱颗粒,脱去颗粒后可具有吞噬活性,其活跃的脱颗粒作用与识别异物的能力有关,因此它是机体防御反应的关键细胞。

颗粒细胞与前两种细胞相比体积较大,胞内含有大量的颗粒,颗粒内含有大量propo,具有储存和释放propo系统及细胞毒性作用。这种细胞无吞噬能力,附着和扩散能力较差,用脂多糖处理不能诱导脱颗粒作用,但是可以通过76kD因子或与 β -1,3-葡聚糖结合蛋白结合而导致脱颗粒。当用活化的PO系统组分处理时,颗粒细胞可迅速发生脱颗粒作用,释放出更多有活性的PO。

以上3种细胞存在协同作用。半颗粒细胞对异物敏感,如脂多糖等可使它释放propo组分,这种信号可直接作用于透明细胞,诱导其发生吞噬作用,同时颗粒细胞释放出更多的酚氧化酶原组分,从而使血细胞发生免疫反应。

虾类血细胞在其免疫防御中的作用可归结为:①通过识别、吞噬、包裹、结节形成排除异物。②通过细胞聚集释放血清凝固所需的因子,启动凝固过程,参与伤口愈合。③开启并激活propo系统。propo系统是丝氨酸蛋白酶和其它因子组成的复杂酶级联系统,无论从组成、激活方式还是从免疫功能上非常类似于高等动物的补体系统。propo系统可被 β -葡聚糖、脂多糖(LPS)、肽聚糖(PG)、胰蛋白、十二烷基磺酸钠(SDS)等激活,产生一系列的活性物质,如黑色素、76kD蛋白、 α 2-巨球蛋白等。它可通过多种方式参与宿主的防御反应,包括提供调理素、促进血淋巴细胞吞噬作用、包裹作用和结节作用形成以及介导凝集和凝固、产生杀菌物质等。propo系统的成分直接参与细胞间信息的传递。④参与血细胞重要分子的合成与释放,如 α -巨球蛋白、凝集素、抗菌肽等。

1.2 体液免疫

相对于细胞免疫而言,虾类的体液免疫研究要多一些。一般认为,虾类体液中不含有免疫球蛋白,然而体液中含有的凝集素、溶菌酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、过氧化氢酶(CAT)以及血细胞释放的propo激活系统等体液免疫因子,能以不同的途径消灭异物,并抵御病原体的侵袭。

1.2.1 凝集素

许多种无脊椎动物体内含有使外源颗粒凝集的凝集素,其主要有两种存在方式:一种是存在于血清中的可溶性凝集素,它可以同异物分子表面的糖基决定簇发生结合,从而导致异物的凝集;另一种存在于血细胞或结合在细胞表面,使血细胞可以通过这种凝集素分子的介导同异物进行结合,从而对异物分子进行吞噬或包裹。甲壳动物如龙虾、蟹的凝集素在血淋巴中可以引起异物凝集,有助于机体消灭来自血淋巴系统的入侵微生物,加强体液对入侵微生物的作用和防止潜在传染性病原体危害机体。由于凝集素表面有特异性糖基决定簇的受体,因此可根据颗粒表面的糖基组分来区分自己和异己,充当识别因子。对虾血淋巴液的凝集活力比现有资料报道的其它动物的高,在测定各种病虾的凝集素活性时,发现病虾的严重程度与凝集素活力呈负相关,建议可作为中国明对虾健康与否的一个血液化学指标。此外,凝集素还具有高度的调理作用,可在吞噬细胞和异物颗粒之间形成分子连接,促进吞噬细胞对异物的吞噬作用。

1.2.2 免疫酶

对虾的免疫酶主要存在于血细胞和血淋巴中,目前研究较多的有LSZ、SOD、ACP、AKP、CAT、PO等。LSZ是一种碱性蛋白,能水解革兰氏阳性细菌细胞壁中的乙酰氨基多糖,使之裂解,从而破坏和消除侵入的细菌,在机体的防御中发挥重要作用。

SOD和CAT具有消除自由基的功能。体内产生的自由基具有杀菌的功能,在健康的生物体内,其内环境中自由基的产生与消除处于动态平衡中。当SOD和CAT活性降低时,生物体内的自由基过多能破坏一些体内重要的生化过程,导致代谢混乱,正常生理功能失调,体内免疫水平下降,潜在的病原被激活引发虾类疾病。

AKP和ACP直接参与磷酸基团的代谢与转移,并与DNA、RNA、蛋白质、脂质等代谢有关,对钙质吸收和甲壳的形成具有重要作用。ACP是溶酶体的标志酶,在酸性环境中,ACP可通过水解作用将表面带有磷酸酯的异物破坏降解掉。AKP只是在碱性环境中起作用,也是溶酶体的一部分。

1.2.3 溶血素

溶血素是指对虾血清中能够溶解脊椎动物红细胞的物质,溶血素与脊椎动物红细胞表面的特异性糖链结合后,使细胞膜发生破坏溶解,是无脊椎动物免疫防御系统中一种重要的非特异性免疫因子。其作用可能类似于脊椎动物的补体系统,可溶解破坏异物细胞,参与调理作用。溶血素活性的高低反应了机体识别和排除异种细胞能力的大小。

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 9700

相关文章

- 维生素B6和苏氨酸对动物免疫...
- 中草药对动物的免疫增强作用...
- 共轭亚油酸的免疫应激调控作...
- 维生素A的免疫学研究进展
- 中草药饲料添加剂对生长肥育...
- 维生素E对动物免疫的调控作用...
- 免疫增强剂有机硒在生长猪上...
- 免疫型人工乳对1~6日龄乳...
- 稀土元素对动物免疫功能的影响...
- 动物肠道免疫的构成与功能
- 海洋生物寡糖对养殖类海洋无...

合作伙伴



1. 2. 4 凝固蛋白 (CP)

凝固蛋白不能与外界异物直接起作用，但在血细胞释放的谷氨酰胺转移酶和血浆钙离子存在时，不同CP分子之间的游离赖氨酸和谷氨酸之间形成共价键，从而使虾类的血淋巴发生凝固，防止机体血淋巴的流失。

2 虾类免疫增强剂

中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)、斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 和凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 为我国目前养殖较多的三大对虾种类。自1993年全国养殖对虾因感染对虾白斑综合症病毒 (WSSV) 而发生大规模爆发性流行病以来，中国明对虾养殖业遭受了毁灭性打击，世界上其它对虾养殖国家和地区也出现类似的情况。使用抗生素进行防治，会产生抗药性细菌，并且对环境造成污染，给人类食物的安全造成隐患。因此，在采取其它防病措施的同时，人们已开始把注意力转移到如何调动或激活虾类自身的免疫系统，提高其非特异性免疫功能和抗病力，以达到预防和抵抗虾病的目的。目前通过提高水产动物自身免疫力来抵抗疾病的发生已成为研究的热点。免疫增强剂是指单独或同时与抗原使用均能增强机体免疫应答的物质，按其功能可以分为两大类：一类是增强水产动物的非特异性免疫功能；另一类是增强由疫苗诱导的特异性免疫机能（又称佐剂作用）。对于水产动物前者研究的较多，即主要是通过提高非特异性免疫机能来增强水产动物的抗疾病感染能力。水产动物的非特异性免疫机能受多种因素的影响，在生产实践中应用免疫增强剂提高机体的健康水平，具有作用广泛和安全性高等特点，适宜于作为饲料添加剂来开发，也便于在水产养殖中推广应用。利用免疫增强剂预防、控制疾病，当前在水产养殖上有较好的效果，国内外已报道多种免疫增强剂具有增强鱼虾免疫功能、提高鱼虾抗病力的作用，如化学合成物（左旋咪唑、FK-565等）、多糖类（海藻多糖、灵芝多糖、壳聚糖等）、寡糖类（甘露寡糖、果寡糖等）、细菌提取物（ β -葡聚糖、肽聚糖、脂多糖等）、微生物（疫苗、微生态制剂等）、中草药、蛋白多肽类、维生素类（VC、VE等）。

2.1 β -葡聚糖在虾类中的应用研究

2.1.1 β -葡聚糖的来源与结构

β -葡聚糖 (β -glucan) 是一类极性大分子化合物，可采用水、稀碱溶液提取，是当前研究最深入的一种多糖。不同来源的 β -葡聚糖分子结构、分子量不同，但具有活性的主要是含 β -1, 3-糖苷键的 β -葡聚糖。

β -葡聚糖的来源主要有真菌、海藻、植物等。含有 β -葡聚糖的真菌包括酵母（主要为 β -1, 3-葡聚糖）、香菇、裂褶菌、小核菌（以 β -1, 6支链为主的 β -1, 3葡聚糖）、北虫草以及云芝（含甘露糖、半乳糖和 β -1, 3-葡聚糖）。目前水产上研究较多的昆布多糖（ β -1, 3-葡聚糖）来源于海藻，资源丰富。含有 β -葡聚糖的植物包括大麦（含3%~11%）、燕麦（3.2%~6.8%）、黑麦（1%~2%）、小麦（<1%）。

2.1.2 β -葡聚糖的应用现状

β -葡聚糖作为一种广谱的非特异性免疫增强剂，在虾类上应用具有良好的免疫增强作用。Sung等采用浸浴方式（0.5和1.0g/l的酵母葡聚糖）处理斑节对虾，对虾的酚氧化酶和溶菌酶活性均有提高，对创伤弧菌 (*V. vulnificus*) 抵抗力增强，这种免疫增强作用持续了18d。用裂褶菌多糖投喂斑节对虾亲虾，24h后其血细胞吞噬活性大大增强，超氧阴离子产量增加，这种免疫增强的高峰出现在第24d，此后逐渐下降，这种免疫增强作用可持续6周。给中国明对虾注射海藻多糖和北虫草多糖，48h后显著增强血清中LSZ和过氧化物酶 (POD) 活性，72h后增强ALP和ACP活性。当用海藻多糖和北虫草多糖作为饲料添加剂饲喂中国明对虾20d，可明显提高对虾血细胞的吞噬能力、血清SOD和IPO活力。Itami在饲料中添加 β -葡聚糖（分离自 *Schizophyllum commune*）增强了日本囊对虾对弧菌的抵抗力，同时表明，葡聚糖饲喂量以每天每千克标准体重为100mg饲喂3d和饲喂量以每天每千克体重为50mg饲喂10d的组可以分别达到最高的吞噬指数。Su等、Chang等都以斑节对虾为研究对象，结果表明， β -葡聚糖可显著增强幼虾及成虾抗 *Vibrio damsela* 及WSSV感染的的能力。

β -葡聚糖还具有促进虾类生长的作用。阳会军等、陈云波等先后在斑节对虾和凡纳滨对虾饲料中添加了 β -葡聚糖，均能促进对虾的增重、存活，并降低了饵料系数。Sung等采用浸泡的方法使斑节对虾生长加快，但 β -葡聚糖的使用剂量很关键，剂量为0.5g/l和1.0g/l的效果要比0.25g/l和2.0g/l好。 β -葡聚糖在生产实际中并不表现出剂量与效应的线性关系，剂量过小，不能发挥促生长的作用；剂量过大，也会使水产动物产生生长抑制作用。另外，许国煊等在罗非鱼鱼种饲料中分别添加0.2%酵母细胞壁、0.2% β -葡聚糖，发现两者对罗非鱼促生长作用不显著。

2.1.3 β -葡聚糖的结构及作用机制

20世纪40年代，Louis博士发现酵母细胞中存在一种具有免疫增强作用的活性物质，到20世纪60年代，Nicholas博士发现这种活性物质为 β -1, 3-葡聚糖。 β -葡聚糖是一种天然提取物，分子量大约在6 500以上，大多为水不溶性或胶质的颗粒。它不同于一般常见的糖类（如淀粉，肝糖，糊糖等），一般糖类以1, 4-糖苷键相结合而成为线性分子，而 β -葡聚糖以1, 3-糖苷键为主链，沿主链随机分布着由 β -1, 6键连接的支链，呈梳状结构，分子易卷曲成螺旋结构。三股（超）螺旋是 β -葡聚糖的一种稳态化构象，富含 β -1, 6支链者更易形成，这种构象的热稳定性较好，一般能够耐受100℃以上的高温，此高度有序结构对于免疫活性的调节至关重要。

虾的血细胞膜上具有与 β -葡聚糖结合的蛋白受体，当 β -葡聚糖与其结合，连接到血淋巴颗粒细胞膜表面后发生反应，使颗粒细胞释放出丝氨酸，丝氨酸继续激活酚氧化酶原发生级联放大反应，提高机体的免疫功能。

2.2 肽聚糖

肽聚糖是细菌细胞壁的组成成分，由氨基糖骨架和肽链组成，不同来源的肽聚糖组成有特异性，肽聚糖被水解后，其活性常会增加，具有包括佐剂在内的多种生物活性。用肽聚糖投喂斑节对虾发现，试验组斑节对虾不仅存活率、生长速度、饲料转化率明显高于对照组，而且血细胞的吞噬活性、抗病力也显著高于对照组。王秀华等在凡纳滨对虾饲料中添加肽聚糖制剂饲喂35d，0.05%的添加量使对虾血清中PO活力最高，0.25%添加组对虾血清中ACP、AKP活力最高，但对血清中LSZ活性影响不明显，提出饲料添加适量（0.05%）肽聚糖制剂，可使对虾体液免疫因子总体活力达到最高水平，饲料中肽聚糖制剂含量过高对对虾非特异免疫力的作用效果反而不佳。Itami等在室内用添加肽聚糖的饲料投喂日本囊对虾，并用对虾病毒 (WSSV) 进行浸浴感染，试验组的成活率在85%~100%，对照组为15%~30%。Itami等用饲喂量每天每千克标准体重0.2mg的肽聚糖投喂鲟鱼7d后进行攻击，接着再进行21d饲喂。结果表明，吞噬指数上升，抗感染能力增强。孟凡伦等用乳链球菌SB900肽聚糖对中国明对虾进行肌肉注射，使对虾血淋巴中的抗菌活力、溶菌活力、PO、SOD具有不同程度的诱导作用，体外试验表明，肽聚糖对PO具有一定的激发作用，认为利用肽聚糖提高对虾免疫系统的功能是一条可行途径。郭玉娟等在凡纳滨对虾饲料中添加A3a肽聚糖，添加量为10mg/kg，采用7d投喂试验饲料+7d投喂对照组饲料的方式，养殖80~90d，可使凡纳滨对虾成活率及产量提高30%左右。

2.3 脂多糖 (LPS)

革兰氏阴性细菌的细胞壁成分，也是细菌内毒素的主要物质，不仅可引起有机体良好的体液免疫应答，而且也可提高机体的非特异性免疫功能。简纪常等用溶藻弧菌脂多糖对石斑鱼进行腹腔注射，并在免疫后第7、14、28、56d进行血清中抗体效价、SOD、LSZ、PO以及抗菌活力的测定。结果表明，免疫指标均有提高，在第56d时进行攻毒，鱼的免疫保护率也有提高。LPS可促进大西洋鲑巨噬细胞的分裂且提高其吞噬活性和鱼体抗感染的能力。用10 μ g/ml LPS刺激斑点叉尾鲴培养的单层细胞，可以使其释放白介素-1样分子。体重14g的日本囊对虾按每千克体重口服20、40、100 μ g成团泛菌LPS后，血细胞的吞噬指数分别在第1、5、7d达最高峰，成活率分别为75.0%、64.7%、52.9%，对照组为0。

把LPS作为免疫增强剂在水产动物上进行病害预防时，应注意两方面问题：一是使用安全性的问题。由于LPS对水产动物具有一定毒性，在高剂量时会引起死亡，所以应设法降低它的毒性，同时还要保留其抗原性。另一个是免疫保护率低的问题。LPS对水产动物免疫保护率较低的原因是由于LPS的抗原性较弱，只有提高LPS的抗原性，才能提高其对养殖动物的保护性。

2.4 壳聚糖

又名可溶性甲壳素或甲壳胺，是甲壳素有效成分之一。甲壳素亦称几丁质、甲壳质、壳多糖，广泛存在于昆虫、甲壳类动物虾蟹外壳及真菌细胞中。甲壳素部分脱乙酰基产物为壳聚糖，全部脱乙酰基产物为甲壳胺。用玻璃钢培育罗氏沼虾和斑节对虾苗，在水体中添加壳聚糖，可抑制气单胞菌和弧菌的生长繁殖、增强抗病力、提高虾苗的成活率，同时也具有促生长作用。沈锦玉等分别对中华绒螯蟹注射和口服壳聚糖均显著提高了血清中LSZ、SOD活性。虹鳟注射、浸浴或口服壳聚糖后对杀鲑气单胞菌的抵抗力增强，无论是注射还是浸浴都使血清中的杀菌能力 (NBT)、O-2酶原活力增强，总Ig浓度增大。

2.5 维生素

维生素是维持动物健康、促进生长发育所必需的一类低分子有机化合物，在体内不能由其它物质合成或合成量很少，不能满足正常的生理需求，因而必须由食物提供。如果长期摄入不够或利用不足，会导致动物的物质代谢和能量代谢障碍，从而出现生长不良、发育迟缓、抗病应激能力下降甚至死亡等反应。集约化养殖条件下，营养丰富而均衡的饲料是获得养殖成功的关键因素之一。维生素有不可替代的作用，VC和VE是两种对水产动物具有免疫增强作用的维生素。

2.5.1 VC在虾类中的应用研究

VC又名抗坏血酸，为六碳的多羟基内酯，具有酸性和强还原性，在动物体内既可以作为受氢体，又可作为供氢体，生理功能极为广泛，如羟基、谷胱甘肽、血红蛋白、铁离子、叶酸等的还原作用，氨基酸、胆固醇等代谢物的羟化作用，以及对细胞的吞噬作用和抗体形成的促进作用。但虾类自身不能合成VC，必须从外界获得。

饲料中添加VC可提高水产动物机体的免疫水平。艾春香认为，VC影响虾、蟹的非特异性免疫系统，使LSZ和补体活性增强，促进抗体的产生，从而提高虾蟹类的防病能力。王伟庆等报道，中国明对虾血细胞对金黄色葡萄球菌的吞噬能力随着饲料中VC添加量的增加而增强。一定量的VC能够提高中国明对虾血清的杀菌活力。用弧菌对日本囊对虾稚虾进行攻毒，VC缺乏组的存活率为14%，而每千克饲料中添加50mg VC组存活率为80%。Kontara等给白对虾每千克饲料中分别投喂0、40和1500mg VC，然后用弧菌攻毒，一周累计死亡率分别为73%、63%和0。

保证机体最佳生长的VC需要量小于机体最佳免疫状态的需要量，增加饲料中VC含量，能明显增强抗外界压力及抗病能力。Navarre和Halver给虹鳟（体重1~10g）投喂VC，投喂量为正常需要量的1、5、10、20倍，进行攻毒和抗体产生量的检测，发现投喂量为5或10倍时细菌攻毒后的存活率最大、体液抗体产生量最多。

饲料中适量添加VC具有促生长作用，过量反而抑制虾类的生长。VC能促进斑节对虾的生长，当饲料中VC含量为0.06%时增重率最高，含量继续升高时，对虾的生长开始下降。VC具有促进对虾脱壳的作用，在饲料中含量适宜时脱壳率增加，生长加快，但VC添加过多，其脱壳频率及生长率都下降。王伟庆和李爱杰在中国明对虾饲料中添加VC多聚磷酸酯（LAPP）也得到相似的结论。

VC参与甲壳最外层的硬化，此硬化层是由一种外壳蛋白和苯醌经交联作用而成，而体内苯醌的形成需要VC的参与。VC的含量影响虾的蜕壳与周期。当VC缺乏时虾类蜕壳频率低，蜕壳周期长，过量的VC也能使虾的蜕壳率降低。目前对VC影响体液免疫的机制尚不清楚，Li等认为大剂量的VC对水产动物体液免疫反应的显著影响，可能与组织中VC库的大小有关，当摄食大剂量VC时，组织中VC转化成代谢物抗坏血酸硫酸盐贮存起来，以调节组织中VC库的大小，当组织中VC下降时，抗坏血酸硫酸盐水解成VC，这个过程由抗坏血酸硫酸盐-硫酸酶催化，该酶的活性由组织中VC通过反馈抑制来调节，当组织中VC的量大大超过VC库的调节能力时，组织中VC的增加就促进了体液免疫提高。

在VC化学结构中，高度活泼的第2位碳原子上的羟基很不稳定，容易被空气氧化。水产饲料在加工过程中一般都经过熟化、造粒、烘干和包装等工序，饲料中VC很容易在加工和储藏过程中丧失活性。VC的保护方法有两种：一种是物理方法，用纤维素或硅酮等做包膜，经一定的加工工艺制成包膜VC；另一种是化学方法，将VC中高活泼的羟基用酸加以酯化，使VC形成性质稳定的衍生物，包括VC的硫酸酯、单磷酸酯、双磷酸酯及多聚磷酸酯等衍生物，稳定性强于包膜VC，但VC含量低于包膜VC。

不同剂型对中国明对虾的促生长作用不同。VC-多聚磷酸酯效果好于包膜VC，但都好于不添加组。稳定性VC比结晶VC促生长效果好，添加结晶VC比不添加VC的对照组好，在稳定型VC中，VC-磷酸酯镁和VC-硫酸酯较好，而VC-多聚磷酸酯较差。而张淑华等进行的户外性试验中，VC-多聚磷酸酯效果好于VC-硫酸酯。

2.5.2 VE在虾类中的应用研究

VE又称生育维生素或抗不育因子，按结构分为生育酚和生育醇两类。当前作为饲料添加剂用的VE为 α -生育酚醋酸酯，较单体VE稳定，它能促进动物体生长，抑制脂类和脂肪酸的自动氧化，清除自由基，有助于机体形成重要的抗氧化机制，改善虾类的抗病能力。此外，脂溶性的VE与磷脂的多不饱和脂肪酸存在于机体组织的细胞膜中，在保护细胞免受氧化损伤、保护生物膜免受自由基攻击、保持细胞膜完整性等方面起主要作用。如果VE缺乏，则会导致动物机体对环境压力变动的敏感性增加，抗病力下降。

VE能提高大菱鲂的吞噬作用和增强斑点叉尾鲷巨噬细胞的数量，饲料中缺乏VE会降低大西洋鲑的血清补体活性和金鲫替代性补体途径的活性。因此，在饲料中添加适量VE后，可促进水生动物巨噬细胞增殖，加快吞噬作用，增强体液免疫活性。艾春香等在河蟹饲料中添加VE，组织中SOD活性随着VE添加量的升高而显著降低，原因是VE在河蟹饲料中充分发挥其良好抗氧化功能，降低了诱导性酶SOD的活性，ACP和AKP活性随着VE添加量的增加而显著升高，增强了机体的非特异性免疫功能。VE提高水生动物免疫抗病的效果还受到诸多因素包括饲料中其它营养物质的影响。例如，用含不同剂量VE和硒的饲料投喂自然感染分枝乳酸杆菌的大鳞大麻哈鱼，结果发现，高VE和高硒饲料组没有死亡，低VE和高硒或高VE和低硒饲料组的死亡率分别为31%和3%。但也有例外，大西洋鲑对疥疮病的非特异性抵抗力、抗体水平及血清补体反应的杀菌能力与饲料VE含量（0~25mg/kg）无关，注射灭活杀鲑气单胞菌的试验鱼一个月后的体液免疫反应在饲料处理间也无差异。

2.6 微生态制剂 (Microecologics)

微生态制剂又称微生态调节剂 (Microecological modulator)，是一类根据微生态学原理而制成的含有大量有益菌的活菌制剂，有的还含有它们的代谢产物或添加有益菌的促进因子，具有维持宿主的微生态平衡、调整其失调的微生态和提高健康水平的功能，进而提高饲料的利用率 and 生长率，增强机体的非特异性免疫能力。吴垠等从健康中国明对虾肠道中分离筛选出无毒、无害菌群 (JX5、JX6)，并制成微生态制剂作为饲料添加剂饲喂中国明对虾，30d后进行人工感染攻毒试验，结果表明，试验组中国明对虾的成活率明显高于未添加组，并延迟死亡高峰时间。Rengpipat等研究Bacillus S11菌株对斑节对虾的免疫保护作用，通过90d的试验发现，饲喂含有Bacillus S11菌株的斑节对虾生长良好，抗菌能力增强，即使受到107个/ml致病菌哈维氏弧菌 (V. harvey) 的人工感染，其存活率高于对照组。免疫学研究发现，Bacillus S11菌株的抗病保护作用通过以下两种途径而获得：一方面激活细胞和体液免疫系统，从而提高水产动物的免疫力；另一方面通过在虾的消化道中竞争排斥作用，减少肠道中的有害菌群，降低有害菌的致病机会。

微生态制剂防治疾病的机理为益生菌通过竞争作用调节宿主体内菌群结构，包括竞争粘附位点、对化学物质或可利用资源的争夺以及对铁的争夺；其次，益生菌在生长过程中产生抑菌物质，如乳酸菌产生乳酸、乳酸菌素、过氧化氢等，对病原微生物具有抑制作用；另外，有些益生菌具有良好的免疫刺激作用，增强机体免疫功能。

此外，益生菌还具有水质净化作用。光合细菌能直接消耗利用水中有机物、铵氮，还可利用硫化氢，并可通过反硝化作用除去水中的亚硝酸盐，从而改善水质。Moriarty向养殖水体中加入某些特定的芽孢杆菌，可以使水体中发光弧菌等有害弧菌数量大大降低，试验池对虾的成活率大大高于对照组。在养殖水体中加入微生态制剂，凡纳滨对虾室内养殖成活率高于对照组10%~15%，池塘养殖中国明对虾45d，试验组比对照组对虾平均体长增长15%左右。

微生态制剂在水产养殖中的使用方法有3种：①注射或浸泡水产动物；②作为饲料添加剂；③直接加入水环境。注射或浸泡的方法使微生态制剂直接与动物接触，能尽快刺激动物的免疫系统，注意使用浓度和剂量，才能取得最大的免疫效果。微生态制剂的主要组分是活的微生物，饲料加工过程会破坏微生物的存活力和稳定性，使得作为饲料添加剂应用效果不佳。当将微生态制剂直接接种入养殖水体时，要注意养殖水体的水环境是否适合有益菌的生存和繁殖，有益菌的加入要求使水体中有益菌成为优势菌群，才能发挥最大效果。

2.7 低聚糖

又称寡糖，是由2~10个单糖分子组成的一族糖类的总称。自然界中低聚糖的种类也有上千种以上，其中低聚甘露糖、低聚果糖、低聚麦芽糖、低聚乳糖等不能被水产动物消化道所分泌的消化酶水解，但当它到达后肠时，能被其中的乳酸杆菌、双歧杆菌、肠细菌等有益微生物所利用，促进肠道有益微生物的增殖，同时又有抑制大肠杆菌、沙门氏菌等有害细菌生长繁殖和把病原菌带出体外的作用。20世纪60年代曾有报道，低聚糖可以增强动物免疫功能；80年代中后期随着微生态理论的发展，发现低聚糖能选择性的被有益菌所利用，日本率先将低聚糖开发成饲料添加剂，但因价格昂贵而未被推广；90年代中后期随着饲料安全、人体健康、环境保护日益受重视，抗生素被严格控制使用，低聚糖则因其无污染、无残留的优越性被再次利用，并能够从生产上降低成本。日本、加拿大、欧洲已先后将它用作饲料添加剂，日本有40%的猪饲料添加了低聚糖，同时在水产动物饲料上也有应用。我国自1998年在畜禽方面开始该项研究。低聚糖作为免疫增强剂可以通过注射和口服途径影响动物的免疫功能，但对水产动物养殖生产来说，最实用、最经济的方式是将其用作饲料添加剂。甘露寡糖（低聚甘露糖）是目前水产上的唯一寡糖类免疫增强剂，可减少肠道病原菌的数量，增强非洲蛤嗜中性细胞活性。章剑在蟹饲料中添加

0.1%~0.2%果聚寡糖,效果显著,能使饲料系数下降到1.3以下。

2.8 中草药

在水产动物上用作饲料添加剂的中草药均是被脊椎动物试验证明具有免疫增强作用或双向免疫调节作用的药物,而且以补益类中草药如党参、白术和清热解毒药如板蓝根、黄连等为主,所选药物大部分富含多糖、生物碱、有机酸、氨基酸和微量元素等成分。但每一种有效成分对机体免疫系统的调节方式各不相同。多糖类具有刺激网状内皮系统、诱导淋巴细胞和脾脏T细胞的增生、增强吞噬细胞活性、提高NK细胞的杀伤活力和诱导产生干扰素等功能,提高机体的免疫反应能力。有机酸类能增强巨噬细胞的吞噬功能,增强机体免疫机能。甙类可诱导细胞产生 γ -干扰素、白细胞介素-2和淋巴毒素等,增加T细胞的数量,提高巨噬细胞的吞噬活性。大多数清热解毒类中草药含有的生物碱、黄酮、香豆精等能抑制或杀灭多种病原微生物。黄连素可与DNA形成复合物,抑制DNA合成。黄柏能影响细菌的呼吸,抑制RNA合成。金银花可作用于细菌的细胞壁,抑制细胞壁的合成。黄芪、艾蒿可刺激细胞产生干扰素,直接抑制或破坏病毒、病菌的增殖能力。

王雷等利用富含免疫多糖、生物碱成分的数种中草药制成药饵对中国明对虾进行投喂,结果发现,中国明对虾的发病率和死亡率显著降低,体内的抗菌、溶菌活力及酚氧化酶活性等免疫指标均有提高。李义等在罗氏沼虾饲料中添加1%、2%、3%复方中草药添加剂,饲喂14d后,试验组的血细胞吞噬百分比和吞噬指数、血清溶菌酶活性及酚氧化酶活性均显著提高,经嗜水气单胞菌攻毒后,试验组的免疫保护率也明显提高。崔青曼等在河蟹饲料中添加0%、0.5%、0.1%复方中草药添加剂,能显著提高河蟹的血细胞吞噬活性、血清杀菌活力、血清凝集效价及抗感染能力,说明该中草药添加剂可极大增强河蟹机体免疫功能。杜爱芳从大蒜中提取大蒜油,配以从多种中草药中提取的皂甙类天然活性物质,配成复方制剂,以0.2%添加到饲料中,结果表明,对虾血细胞吞噬率、杀伤率、吞噬指数和对虾血淋巴中的溶菌活力有极显著提高,血细胞杀伤指数和酚氧化酶活力显著提高;溶藻弧菌攻毒后,对虾免疫保护率提高86%,说明该添加剂经对虾口服后,可显著提高机体免疫功能,有效预防对虾受溶藻弧菌的感染。

2.9 藻粉在虾类中的应用研究

当前我国人工养殖的藻类主要是大型海藻,年产量约100万吨,主要用于食品和工业提胶。我国加工生产的配合饲料中很少使用藻粉,使藻粉这一丰富资源难以得到充分的开发利用。然而,藻粉含有较多的蛋白质、糖类、脂质、多种维生素,钙、磷、钠、镁等矿物质以及铁、锌、铜和锰等微量元素,还含有多种具有生物活性的物质,如未知生长因子、色素、免疫物质、抗应激作用的物质和抗菌、抗病毒的物质(海藻多糖、甘露醇、核苷类、萜类、大环内酯,生物碱)等。藻粉作为添加剂在水产饲料上应用可提高水产动物机体的免疫力,改善我国水产养殖上滥用药物现象。同时,人工养殖藻类可以改善水域生态环境,保护水生生物资源。

用藻粉作为饲料添加剂,既能补充配合饲料营养成分的不足,满足养殖水产动物的营养需求,又能增强水产动物的抗病能力。潘国英等在日本囊对虾饲料中添加2%的石莼藻粉,发现对虾成活率比对照组提高8.69%,增重率比对照组提高173%,饲料系数也由4.05下降到3.64。周岐存等在罗氏沼虾饲料中添加藻粉,3%藻粉组的增重率显著高于对照组,投喂同样的配合饲料,室外水泥池(内生浒苔等海藻)养殖对虾生长速度明显快于养殖在室内水泥池的对虾。在凡纳滨对虾饲料中添加0%、3%、6%、9%、12%不同含量的藻粉,经30d饲养,结果表明,3%组的增重和蛋白质效率显著高于其它各组,未添加组生长最差。

大多数海藻含有不同成分的生物胶,如海藻胶、褐藻胶等,与饲料混合后可成为水产动物饲料的优良天然粘合剂,因此,藻粉可作为饲料的粘合剂。

3 影响免疫增强剂作用效果的因素

免疫增强剂主要通过非特异性免疫系统起作用,其效果受到诸多因素的影响。

3.1 免疫增强剂的给予时间

水产动物与其它动物一样,在受到较强烈的应激性刺激后,其免疫机能受到抑制而容易遭受病原体感染。处于这种状态下的动物就需要免疫增强剂,使其尽快恢复正常的免疫防御水平。然而,对于免疫防御机能处于正常水平的动物,给予免疫增强剂后,有可能使正常的免疫应答机能受到抑制。相反的观点则认为免疫增强剂在动物产生应激、生产性能受损或受病原菌侵害之前应用。作为一种抗应激物质,动物体内一旦疾病已经爆发,就不能直接被用作治疗疾病,因此在动物易受病原菌感染前使用免疫增强剂更为有效。因此,了解免疫增强剂的作用规律和特点及水产动物的体质状况,才是正确把握免疫增强剂使用时间的关键。如从益生菌的接种到开始发挥作用,一般需3~5d,这段时间称为效应的预备时间,因此在发病前的3~5d接种使益生菌在动物体内或环境中成为优势种群,才能达到防病治病的目的。多糖、中草药类等免疫增强剂也应根据其效应预备时间的长短来确定适宜的使用时间。

3.2 免疫增强剂的给予途径、剂量和周期

注射、浸泡和口服是3种常用的给予途径。如注射法是判定 β -葡聚糖免疫增强效果的最常用方法,但这种方法工作量大,也往往给虾体造成严重的应激,而且当水产动物较小的时候不能使用,在生产实际中实用性较差。浸泡法对水产动物造成的应激性较小,但免疫增强剂往往通过鳃和皮肤进入体内,吸收量较小,若要达到与注射相同的有效浓度,势必加大浸泡浓度,增加成本,而且对免疫功能的增强是短暂的,需多次浸泡。口服法是当前普遍采用的一种实用方法,对水产动物不产生伤害,适用于各个阶段的生长个体,但效果有时不如注射明显。

免疫增强剂种类多,而且在生产实践中并不表现出剂量和效应的线性关系。剂量过小,不能发挥免疫增强的作用;剂量过大,会使水产动物产生免疫抑制。Sung等采用不同浓度 β -葡聚糖浸浴方式处理斑节对虾,发现0.5mg/ml效果最好;1mg/ml次之;2mg/ml则使斑节对虾的鳃出现萎缩,产生负面效果。Scholz在凡纳滨对虾饲料中添加不同的酵母产品,研究其免疫增强效果,其中自啤酒酵母分离的 β -葡聚糖添加量为0.1%时,效果不理想,可能是添加量过大,起到了抑制作用。Roberston等报道,0.1~1.0 μ g/ml的 β -葡聚糖溶液处理鱼的巨噬细胞可以增强呼吸爆发;而10 μ g/ml则无增强效果;50 μ g/ml则出现抑制作用。Chang等也发现类似现象。又如低聚糖对肠道细菌所起的增殖、排阻及对机体功能的增强必须有一定的浓度,若添加量不足,效果不明显,高浓度的低聚糖引起的高渗透压容易使细菌脱水死亡,从而在抑制有害菌的同时也抑制了有益菌的生长。因此在使用免疫增强剂时要注意选择使用剂量,使用不当可能会出现负面效果。

免疫增强剂的效果也受到使用周期的影响。从经济成本的角度考虑,人们总希望用最低浓度的免疫增强剂,在最短的时间内取得最佳的免疫效果。将美洲红点鲑外壳聚糖或葡聚糖注射或浸泡30min,观察处理后1、2、3、7、14、21、28d抵抗鲑气单胞菌的能力,结果发现,14d后的免疫能力下降。试验证明,免疫增强剂采用口服途径使用,效果亦会随着使用时间的延长而下降。虹鳟每天口服一定量的肽聚糖(6 μ g或60 μ g),到28d时感染鳃弧菌,发现存活率要高于对照组,而在56d时存活率显著低于对照组。用裂褶菌多糖投喂斑节对虾亲虾,24h后其血细胞吞噬活性大大增强,超氧阴离子产量增加,这种免疫增强的高峰出现在24d,此后逐渐下降,这种免疫增强作用可持续6周。其余免疫增强剂的情况如何,不得而知,尽管为何引起水产动物免疫反应降低的原因还不清楚,但却提醒我们有必要研究每一种免疫增强剂的使用时间。此外,对水产动物来说,免疫增强剂究竟应该连续使用,还是间断使用?如连续使用,应持续多长时间?若间隔使用,间隔时间又是多少?迄今为止,相关报道不多。Lopez对凡纳滨对虾采用7d投喂 β -葡聚糖、7d投喂对照饲料方式,日增重率、酚氧化酶活性、累积胁迫指数提高,效果要好于一直投喂 β -葡聚糖组。因此,选用合理的给予途径、适宜的剂量和使用周期是免疫增强剂应用中需要解决的问题。

3.3 免疫增强剂的使用方式

迄今为止,人们习惯于单独使用某一种免疫增强剂或将某一类的不同种免疫增强剂混合使用,很少有人将不同种类的免疫增强剂混合使用。应该说,不同的免疫增强剂具有不同的作用,若将它们混合使用或许能够起到互补作用,也可能产生拮抗作用。倘若前者,则可使受试动物抵抗多种疾病,补充单一免疫增强剂或疫苗特异性较强的作用,并可降低成本,增加收益。因此,哪些免疫增强剂可以联合使用也是值得研究的一个内容。刘栋辉等在斑节对虾饲料中添加啤酒酵母 β -葡聚糖和VC混合物,饲喂3d后,结果表明,啤酒酵母 β -葡聚糖和VC混合物的组合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,其效果和高剂量的啤酒酵母组或VC组是相当的。在攻毒试验后,啤酒酵母 β -葡聚糖和VC混合物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。华雪铭等发现用芽胞杆菌和硒酵母混合投喂育苗银鲫时,对嗜水气单胞菌的抵抗力要强于芽胞杆菌单独投喂。

4 结语

综上所述, 目前已报道的增强虾类免疫功能的物质较多, 但对免疫增强剂使用效果的评价尚无统一标准。当前, 虾类接受刺激后, 所测虾类免疫功能指标包括血细胞吞噬率、吞噬指数、血清溶菌活力、抗菌活力、PO、SOD、ACP、AKP、过氧化物酶 (POD) 活力、溶血活力、凝集素活力等, 急需建立一套稳定的虾类免疫增强剂的评价指标。

VC、 β -葡聚糖和藻粉具有无毒、无残留、不产生耐药性等优点, 但研究其对中国明对虾生长和相关免疫酶活性影响的报道较少, 本研究旨在为免疫增强剂在中国对虾养殖业上的应用提供理论依据。

(参考文献92篇, 刊略, 需者可函索)

(编辑: 高雁, snowyan78@tom.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有: 饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽 ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址: 沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编: 110036 投稿: E-mail: tg@feedindustry.com.cn 广告: E-mail: ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部: (024) 86391926 (传真) 编辑二部: (024) 86391925 (传真) 网络部、发行部: (024) 86391237 总编室: (024) 86391923 (传真)