

# 甘露寡糖对半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis* Günther)稚鱼生长、肠道发育和非特异性免疫水平的影响\*

于朝磊<sup>1,2</sup> 常青<sup>1①</sup> 吕云云<sup>1,2</sup>

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

**摘要** 通过投喂经甘露寡糖强化的卤虫无节幼体,探索其对半滑舌鲷稚鱼(初始体长为1.4 cm左右)生长性能、肠道发育和非特异性免疫水平的影响。试验设两个处理组(对照组和甘露寡糖组),分别投喂经裂壶藻或甘露寡糖+裂壶藻强化的卤虫无节幼体。试验进行34 d,每17 d取样1次。结果显示,17 d时甘露寡糖组体长显著大于对照组( $P<0.05$ )。两组间的特定生长率和存活率无显著性差异( $P>0.05$ )。RNA/DNA和protein/DNA的比值在17 d时两组间均无显著性差异( $P>0.05$ );34 d时甘露寡糖组的RNA/DNA和protein/DNA比值均大于对照组。甘露寡糖组17 d时淀粉酶比活力和34 d时胰蛋白酶比活力显著高于对照组( $P<0.05$ )。甘露寡糖组的过氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶和溶菌酶活性均显著高于对照组( $P<0.05$ )。甘露寡糖组的微绒毛长度和皱襞高度显著大于对照组( $P<0.05$ );黏膜厚度大于对照组,但无显著性差异( $P>0.05$ )。试验结果表明,甘露寡糖可以提高半滑舌鲷稚鱼肠道发育和非特异性免疫水平。

**关键词** 甘露寡糖;半滑舌鲷;生长;肠道发育;非特异性免疫

中图分类号 S96 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2014)06-0053-07

甘露寡糖(Mannan oligosaccharide, MOS)又称甘露低聚糖或葡甘露寡聚糖,是由几个甘露糖分子或甘露糖与葡萄糖通过 $\alpha(1-2)$ 、 $\alpha(1-3)$ 、 $\alpha(1-6)$ 、 $\beta(1-4)$ 及 $\beta(1-3)$ 糖苷键连接而成的寡聚糖(周景等,2011;徐磊等,2012)。有研究表明,甘露寡糖可以提高鱼类的存活率、生长性能和非特异性免疫能力(Liu *et al.*, 2013; Torrecillas *et al.*, 2013),被广泛应用在水产养殖中。此外,甘露寡糖可以通过增加鱼类肠道绒毛的高度、一致性和完整性来改善肠道功能(Yilmaz *et al.*, 2007; Dimitroglou *et al.*, 2010)。作为一种新型环保的益生元,甘露寡糖在水产养殖中应用前景广阔。

半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis* Günther)隶属

鲽形目(Pleuronectiformes)、舌鲷科(Cynoglossidae)、舌鲷属(*Cynoglossus* Buchanan-Hamiltou),是我国海水养殖中重要的经济鱼类。近年来,半滑舌鲷人工繁殖技术的研究取得了重大进展(柳学周等,2006;吕庆凯等,2012),但是仔稚鱼期通常会出现生长缓慢、死亡率高、摄食率低且消化器官发育异常等问题,其中主要是由于消化道发育不完善以及养殖水体病原微生物导致。本研究旨在通过甘露寡糖强化卤虫投喂半滑舌鲷稚鱼,来验证甘露寡糖是否能够增加半滑舌鲷稚鱼生长性能、消化道发育和非特异性免疫水平。研究结果为促进海水鱼类消化道发育和健康生长提供一个途径。

\* 国家自然科学基金青年科学基金项目(31101913)资助。于朝磊, E-mail: wdmmy19871125@163.com

① 通讯作者: 常青, 研究员, E-mail: changqing@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2014-03-15, 收修改稿日期: 2014-03-31

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物与饲养管理

本试验于 2013 年 5–6 月在山东省海阳市黄海水产股份有限公司完成。试验动物采用人工繁殖、同一批卵孵化的半滑舌鲷稚鱼, 稚鱼刚开始俯底, 初始体长为 1.4 cm 左右。

试验设对照组和试验组。对照组投喂经裂壶藻强化的卤虫无节幼体(卤虫无节幼体干重营养成分: 粗蛋白占 52.79%, 粗脂肪占 25.32%); 试验组投喂裂壶藻和甘露寡糖(奥特奇生物制品中国有限公司)强化的卤虫无节幼体; 每组设 3 个重复。试验鱼随机分配在 6 个直径 1 m、高 1 m 的圆柱形养殖桶中, 每桶 200 尾鱼, 暂养 2 d 后正式开始试验。水位 50 cm 左右, 流水养殖, 连续充气, 每天投喂两次(08:00 和 20:30), 投喂量为 5 个/ml。投喂时水位保持在 20 cm 左右, 并停止向缸中注水, 投喂 1 h 后流水。试验期间水温保持在 18–23℃。

投喂试验鱼的卤虫无节幼体均强化 12 h。采用直接强化法将强化物质准确称量后混合匀浆, 通过 300 目筛绢, 直接溶于强化水体中。强化密度为每毫升水体约 200 个卤虫无节幼体。强化剂用量参照 Salze 等(2008): 裂壶藻 100 g/m<sup>3</sup>; 甘露寡糖用量占强化水体重量的 0.2%。试验前用红色食物染料将甘露寡糖染色, 然后投喂给孵化后 48 h 的卤虫无节幼体, 观察发现, 经甘露寡糖强化的卤虫无节幼体消化道颜色明显比未强化颜色深, 这说明可以通过强化方法将甘露寡糖带到卤虫体内。

### 1.2 取样与分析

**1.2.1 取样** 每 17 d 取样 1 次, 每桶取 20 尾用于体重和体长的测定, 10 尾用于酶活性的测定。试验结束时取样 1 次, 用于 DNA/RNA 指标、肠道组织切片材料和免疫指标的测定, 采样时间为每日第 1 次投饵之前进行, 取样后放于 -80℃ 冷冻保存。

**1.2.2 样品的处理** 取腹腔部分(鳃盖骨后缘至肛门后缘)放入离心管中, 加入 4 倍质量比的冰冷双蒸水进行匀浆。匀浆液在 4℃ 条件下 3300 g/min 离心 3 min, 然后取上清液, 稀释成适当的浓度用于测定酶活(淀粉酶和胰蛋白酶)和免疫指标(超氧化物歧化酶、溶菌酶、过氧化氢酶、过氧化物酶和一氧化氮合酶)。

**1.2.3 肠道组织切片的制备** 取全鱼, 先用 Davidesdous 液固定 24 h, 然后置于 70% 乙醇中保存。经过乙醇脱水和石蜡包埋后, 用 LEICA RM2235 型切片机连续切片, 切片厚度为 6 μm, 进行 H.E 染色。

用中性树脂封片, 在 Nikon E800 型显微镜下观察、拍照。

### 1.3 指标测定与方法

#### 1.3.1 生长性能计算

特定生长率  $SGR(\%/d) = (\ln \text{末均干重} - \ln \text{初均干重}) / \text{饲养天数} \times 100$

存活率  $SR(\%) = (\text{试验开始时的鱼尾数} - \text{死亡的鱼尾数}) / \text{试验开始时的鱼尾数} \times 100$

**1.3.2 生理生化指标的测定** 胰蛋白酶活性的测定参照 Eranlger 等(1961), 略有改动。以 N- $\alpha$ -benzoyl DL-arginine p-nitroanilide (BAPNA) 作为测定的底物, 步骤如下: 27 μl 的双蒸水加到 150 μl BAPNA 溶液中, 于 25℃ 平衡 5 min。加入样品 3 μl, 25℃ 反应 10 min。最后加入 30 μl 30% 乙酸终止反应。读取  $OD_{410\text{nm}}$  值, 通过标准曲线计算胰蛋白酶含量。制作标准曲线时, 将 3 μl 样品换成 3 μl 0–400 μg/ml 胰蛋白酶梯度溶液, 其余步骤相同。

淀粉酶、总蛋白和免疫指标均采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。

核酸的测定参照 Buckley 等(1987)和 Kuropat 等(2002)的方法。

每组选取 5 个肠道组织切片, 进行肠微绒毛(肠道上皮细胞表面伸出的细长指状突起)长度、粘膜(肠道内壁的粘膜层)厚度和皱襞(黏膜和黏膜下层向腔面形成的突起)高度的测量, 观察肠道发育情况。

### 1.4 统计分析

试验结果以平均数±标准误差表示, 经 SPSS 17.0 处理, 使用配对样本进行 *t* 检验分析(Paired-samples *t*-test)。结果用平均数±标准误差(Mean±SD)表示。每组 3 个平行, 差异显著水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼生长与成活率的影响

不同试验组的生长指标见表 1。半滑舌鲷稚鱼的体长在 17 d 时, 甘露寡糖组显著大于对照组 ( $P < 0.05$ ), 34 d 时两组间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 17 d 和 34 d 时甘露寡糖组的特定生长率均大于对照组, 但无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 两组间的存活率在 17 d 和 34 d 均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 核酸和蛋白比值分析

如表 2 所示, RNA/DNA 和 protein/DNA 的比值在 17 d 时, 两组间均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 在 34 d 时,

**表 1 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼生长与成活率的影响**  
Tab.1 Effects of MOS on the growth and survival rate of the postlarvae of *Cynoglossus semilaevis* Günther

指标 Parameters	组别 Treatment	
	甘露寡糖组 MOS group	对照组 Control group
1 d 体长 Body length(cm)	2.43±0.06 <sup>a</sup>	2.38±0.07 <sup>b</sup>
34 d 体长 Body length(cm)	3.68±0.09	3.49±0.06
17 d 特定生长率 Specific growth rate(%/d)	8.74±0.44	8.53±0.64
34 d 特定生长率 Specific growth rate(%/d)	8.34±0.12	8.21±0.20
存活率 Survival rate(%)	86.92±12.15	89.76±1.56

注: 表中同行相同上标或者无上标表示差异不显著 ( $P>0.05$ ), 不同上标字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。下表同

Note: Data within the same row with same superscript or no superscript are not significantly different ( $P>0.05$ ), the different superscript letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ). The same in the below

**表 2 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼核酸比值的影响**  
Tab.2 Effects of MOS on the nucleic acid ratio of the postlarvae of *C. semilaevis* Günther

指标 Parameters	组别 Treatment	
	甘露寡糖组 MOS group	对照组 Control
17 d RNA/DNA	7.00±1.84	8.17±4.88
34 d RNA/DNA	9.53±0.23 <sup>a</sup>	4.75±0.06 <sup>b</sup>
17 d protein/DNA	53.91±1.28	52.91±2.93
34 d protein/DNA	62.49±4.81	41.16±4.16

甘露寡糖组的 RNA/DNA 和 protein/DNA 比值均大于对照组, 并且 RNA/DNA 比值存在显著性差异 ( $P<0.05$ )。

### 2.3 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼肠道消化酶活力的影响

如表 3 所示, 17 d 时甘露寡糖组淀粉酶比活力显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 34 d 时两组间淀粉酶比活力无显著性差异 ( $P>0.05$ ); 17 d 时两组间胰蛋白酶比活力无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 34 d 时甘露寡糖组胰蛋白酶比活力显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。

### 2.4 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼非特异性免疫水平的影响

如表 4 所示, 在 34 d 时, 甘露寡糖组的一氧化氮合酶(NOS)活性小于对照组, 但无显著性差异 ( $P>0.05$ ); 甘露寡糖组的过氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和溶菌酶(LSZ)活性均显著大于对照组 ( $P<0.05$ )。

### 2.5 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼肠道组织结构的影响

各组试验鱼的肠道发育情况如表 5 和图 1 所示。

**表 3 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼消化酶比活力的影响**  
Tab.3 Effects of MOS on the digestive enzyme relative activities of the postlarvae of *C. semilaevis* Günther

指标 Parameters	组别 Treatment	
	甘露寡糖组 MOS group	对照组 Control
17 d 淀粉酶比活力 Amylase relative activity (U/mg protein)	0.63±0.04 <sup>a</sup>	0.56±0.05 <sup>b</sup>
34 d 淀粉酶比活力 Amylase relative activity (U/mg protein)	0.38±0.05	0.37±0.06
17 d 胰蛋白酶比活力 Trypsin relative activity (U/g protein)	84.02±3.18	81.83±12.18
34 d 胰蛋白酶比活力 Trypsin relative activity (U/g protein)	70.54±1.44 <sup>a</sup>	59.97±4.50 <sup>b</sup>

**表 4 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼非特异性免疫水平的影响**  
Tab.4 Effects of MOS on the non-specific immunity level of the postlarvae of *C. semilaevis* Günther

指标 Parameters	组别 Treatment	
	甘露寡糖组 MOS group	对照组 Control
一氧化氮合酶 NOS (U/mg protein)	6.79±0.68	6.91±0.37
超氧化物歧化酶 SOD(U/mg protein)	53.86±1.55 <sup>a</sup>	42.99±3.34 <sup>b</sup>
过氧化氢酶 CAT (U/mg protein)	13.72±3.13 <sup>a</sup>	6.36±1.30 <sup>b</sup>
过氧化物酶 POD (U/mg protein)	13.28±0.86 <sup>a</sup>	9.47±0.08 <sup>b</sup>
溶菌酶 LSZ (U/ml)	853.68±138.20 <sup>a</sup>	334.48±104.90 <sup>b</sup>

**表 5 甘露寡糖对半滑舌鲷稚鱼肠道显微结构指标的影响**  
Tab.5 Effects of MOS on the intestinal microscopic structure parameters of the postlarvae of *C. semilaevis* Günther

指标 Parameters	组别 Treatment	
	甘露寡糖组 MOS group	对照组 Control
微绒毛长度 Length of microvilli (μm)	2.48±0.29 <sup>a</sup>	1.66±0.08 <sup>b</sup>
黏膜厚度 Thickness of mucosa (μm)	25.52±1.55	23.05±0.27
皱襞高度 Highness of fold (μm)	195.52±18.37 <sup>a</sup>	120.14±12.68 <sup>b</sup>

甘露寡糖组的微绒毛长度和皱襞高度显著大于对照组 ( $P<0.05$ ); 黏膜厚度大于对照组, 但无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

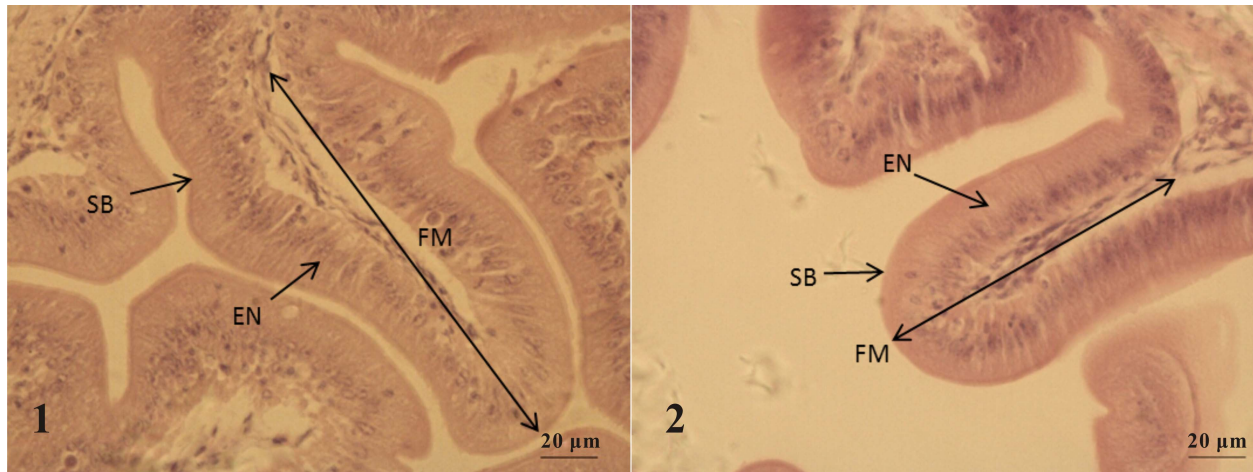


图 1 MOS 对半滑舌鳎稚鱼肠道组织的影响

Fig.1 Effects of MOS on the intestine structure of the postlarvae of *C. semilaevis* Günther

1. MOS 组肠道组织纵切; 2. 对照组肠道组织纵切

1. Longitudinal sagittal section of intestine structure of tongue fish postlarvae in MOS group;  
2. Longitudinal sagittal section of intestine structure of tongue fish postlarvae in control group  
EN: 肠上皮细胞 Enteroocytes; SB: 纹状缘 Striated Border; FM: 皱襞 fold of mucous membrane

### 3 讨论

许多研究表明, 甘露寡糖可以促进畜禽幼体动物生长(侯玉洁等, 2012; 李梅等, 2010; White *et al.*, 2002; Zhao *et al.*, 2012)。但是, 国内外对于甘露寡糖是否能够促进水产动物生长争议比较大(Dimitroglou *et al.*, 2010; 徐磊等, 2012)。经过 34 d 的试验, 甘露寡糖组和对照组之间的特定生长率之间无显著性差异, 这一结果与在军曹鱼(*Rachycentron canadum* L.) (Salze *et al.*, 2008)、大西洋鲑(*Salmo salar*) (Grisdale-Helland *et al.*, 2008)和白鲟(*Diplodus sargus* L.) (Dimitroglou *et al.*, 2010)仔鱼的研究结果一致, 但与(Torrecillas *et al.*, 2007; Staykov *et al.*, 2007)的研究结果相反。值得一提的是, 在本研究中, 34 d 时, 甘露寡糖组的 RNA/DNA 和 protein/DNA 比值均大于对照组, 并且 RNA/DNA 比值存在显著性差异( $P < 0.05$ ); 甘露寡糖和对照组关于 protein/DNA 差异水平为  $P = 0.054$ , 从某种意义上说, 二者之间的水平也存在着一定差异。RNA/DNA 和 protein/DNA 比值是仔稚鱼生长潜能的重要指标, 其比值增大反映了仔稚鱼蛋白合成和生长的能力增强(Clemmesen *et al.*, 1994; Tanaka *et al.*, 2007; Vinagre *et al.*, 2008), 这表明甘露寡糖可以一定程度上促进幼体动物的生长。甘露寡糖组的体长在 17 d 时显著高于对照组, 34 d 时甘露寡糖组的体长和干重虽然与对照组没有显著性差异但大于对照组, 也说明了这一问题。

关于甘露寡糖对幼体动物存活率是否有影响, 目

前的研究结果争议较大。黄辨非等(2011)对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)的研究中, 试验组随着投喂甘露寡糖时间的增长, 死亡率呈明显下降的趋势, 且与对照组之间存在极显著差异。本研究中, 甘露寡糖组和对照组存活率无显著性差异。这与刘爱君等(2009)对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)稚鱼和 Zhang 等(2012)对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的研究结果相同。

目前, 关于甘露寡糖对动物消化酶活性的影响报道极少, 仅在对奥尼罗非鱼的研究中有所报道: 在饲料中添加 0.25%、0.50%和 0.75%的甘露寡糖, 均显著提高了奥尼罗非鱼胃蛋白酶和肠蛋白酶的活性(刘爱君等, 2009)。本研究中, 17 d 时甘露寡糖组淀粉酶比活力显著高于对照组, 34 d 时甘露寡糖组胰蛋白酶比活力显著高于对照组。淀粉酶在动物体内有着重要的生理生化功能(Ma *et al.*, 2001)。胰蛋白酶不仅是水解和消化蛋白质的主要酶, 也是胰腺酶的激活剂(Chen *et al.*, 2003)。淀粉酶和胰蛋白酶是胰腺组织成熟的重要指标(Peulen *et al.*, 2000)。这可能表示, 甘露寡糖对胰腺的发育有一定的积极作用。

SOD、POD、CAT、NOS 和 LSZ 在动物机体非特异免疫防御中发挥着重要作用。SOD 是一种能够催化超氧化物通过歧化反应转化为氧气和过氧化氢的酶, 它广泛存在于各类动物、植物、微生物中, 是一种重要的抗氧化剂, 保护暴露于氧气中的细胞(董亮等, 2013)。在 35 日龄断奶仔猪日粮中添加 0.3%甘露寡糖可极显著提高 SOD 活性(岳文斌等, 2002)。

饲料中添加甘露寡糖也能够显著提高奥尼罗非鱼 SOD 活性(刘爱君等, 2009), 这与本研究的结果一致。POD 是以过氧化氢为电子受体催化底物氧化的酶, 可催化过氧化氢氧化酚类和胺类化合物, 具有消除过氧化氢和酚类、胺类毒性的双重作用。CAT 是催化过氧化氢分解成氧和水的酶, 存在于所有已知的动物的各个组织中, 特别在肝脏中以高浓度存在。CAT 能在一定程度上消除活性氧自由基, 维系膜系统的稳定性, 降低细胞的受伤害程度(夏斌等, 2011)。关于甘露寡糖对动物 CAT 和 POD 活性的影响报道很少。本研究中, 甘露寡糖能够促进半滑舌鲷稚鱼的 CAT 和 POD 活性。王芳等(2007)研究表明, 补充 1–2 g/kg 的 MOS 可提高小鼠肝脏组织 CAT 活性。NOS 能够催化 L-精氨酸生成一氧化氮(NO), 广泛存在于各组织器官中。NO 在多种生物中是一种免疫与调控因子, 还可以调解由感染引起的炎症, 并可以进行免疫抑制(Eisenstein *et al*, 1994), 因此 NOS 的活力能够在一定程度上反映生物的健康状况与抗病力水平(张胜根等, 2011)。目前尚未有关于甘露寡糖对动物 NOS 活性的影响的报道。在本研究中, 两试验组 NOS 差异不显著。NOS 有 3 种同工酶亚型: 神经元型 NOS (Nitronal NOS, nNOS, 也称 I 型)、内皮细胞型 NOS (endothelial NOS, eNOS, m 型)和诱导型 NOS (Inducible NOS, iNOS, II 型), 前两种又称为构成型 NOS (cNOS), 含量较稳定(苏岭等, 2010)。iNOS 主要在炎症和免疫刺激下表达(Chakravorty *et al*, 2003)。这或许是因为机体内没有发生炎症和大的免疫刺激, 所以两试验组间 NOS 活性差异不显著。

LSZ 作为鱼类非特异性免疫的重要组成成分, 在鱼体的防御机制中起着重要作用(姜柯君等, 2013)。LSZ 不仅能水解细菌细胞壁而致细菌死亡, 还可诱导调节其他免疫因子的合成与分泌(郑清梅等, 2006)。本研究发现, 甘露寡糖可以增加半滑舌鲷稚鱼 LSZ 活性。这与 Staykov 等(2007)对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和李洋(2011)<sup>1)</sup>对建鲤幼鱼(*Cyprinus carpio* Var. Jian)的研究结果一致。甘露寡糖提高动物非特异性免疫可能与增加肠道微绒毛密度和长度、增强肠黏膜免疫功能有关; 也可能是因为甘露寡糖可以通过对病原微生物的识别、黏附和排除作用调节非特异性免疫防御系统, 可结合肠黏膜上皮细胞受体, 竞争性排除病原微生物, 打断病原菌附着–繁殖–致病的途径, 使病原菌排出体外, 保护动物健康(陈小兵等, 2005);

或者是因为甘露寡糖作为一种生长代谢的营养物质, 可促进一些有益菌的生长繁殖, 对一些致病有抑制作用, 从而增强动物机体非特异性免疫。

肠道微绒毛长度、黏膜厚度和皱襞高度是反映肠道发育成熟的重要指标(Uda *et al*, 2003)。研究表明, MOS 可以增加白鲷(*Diplodus sargus* L.) (Dimitroglou *et al*, 2010a)、真鲷(*Sparus aurata*) (Dimitroglou *et al*, 2010b)、欧洲海鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*) (Torrecillas *et al*, 2011、2013)的微绒毛长度、密度及异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*) (徐磊等, 2012)的肠褶皱皱襞高度。本研究中, 甘露寡糖组的微绒毛长度和皱襞高度显著大于对照组; 黏膜厚度也大于对照组, 但无显著性差异。

#### 4 结论

本试验条件下, MOS 强化卤虫无节幼体能够促进半滑舌鲷稚鱼肠道的发育成熟和提高非特异性免疫水平。MOS 作为一种新型绿色饲料添加剂, 具有环保、安全、结构稳定等特点, 还能够促进动物消化道发育和提高非特异性免疫的功能, 是替代抗生素的理想选择。但 MOS 在动物营养上的作用机理和适合的添加量还不十分清楚, 有待进一步的研究。

#### 参 考 文 献

- 王芳, 乐国伟, 施用晖, 等. 甘露寡糖对小鼠肝脏中自由基的清除及抗氧化酶活性的影响. 营养学报, 2007, 29(5): 466–469
- 李梅, 刘文利, 赵桂英, 等. 不同寡糖对仔猪免疫力和生产性能的影响研究. 安徽农业科学, 2010, 38(28): 15655–15657
- 刘爱君, 冷向军, 李小勤, 等. 甘露寡糖对奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)生长、肠道结构和非特异性免疫的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2009, 35(3): 329–336
- 吕庆凯, 梁萌青, 郑珂珂, 等. 饲料中添加不同脂肪源对半滑舌鲷亲鱼繁殖性能和仔鱼质量的影响. 渔业科学进展, 2012, 33(6): 44–52
- 陈小兵, 丁宏标, 乔宇. 甘露寡糖的益生作用、免疫机制与应用技术. 中国畜牧兽医, 2005, 32(8): 6–8
- 苏岭, 刘红柏, 王获, 等. 四种复方中药和黄芪多糖对鲫鱼生长、组织中 NO 含量与 NOS 活性的影响. 水产学杂志, 2010, 23(3): 11–15
- 张胜根, 邢克智, 孙敬锋, 等. 半滑舌鲷组织器官中一氧化氮含量和一氧化氮合酶活性的测定. 安徽农业科学, 2011, 39(12): 7295–7297

1) 李洋. 甘露寡糖对幼建鲤生长性能和非特异性免疫的影响. 四川农业大学博士学位论文, 2011, 5–8

- 岳文斌, 车向荣, 臧建军, 等. 甘露寡糖对断奶仔猪肠道主要菌群和免疫机能的影响. 山西农业大学学报(自然科学版), 2002, 22(2): 97-101
- 郑清梅, 吴锐全, 叶星. 水生动物溶菌酶的研究进展. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 483-487
- 周景, 邵庆均. 甘露寡糖在水产动物饲料中的应用. 湖南饲料, 2011, (4): 13-15
- 姜柯君, 王际英, 张利民, 等. 饲料中添加小肽对星斑川鲷幼鱼生长性能, 体组成及血清生化指标的影响. 动物营养学报, 2013, 25(1): 222-230
- 柳学周, 庄志猛, 马爱军, 等. 半滑舌鳎苗种生产技术的开发研究. 海洋水产研究, 2006, 27(2): 17-24
- 夏斌, 陈碧鹃, 李传慧, 等. 胜利原油对半滑舌鳎肝脏超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性的影响. 渔业科学进展, 2011, 32(1): 53-59
- 徐磊, 刘波, 谢骏, 等. 甘露寡糖对异育银鲫生长性能、免疫及 HSP70 基因表达的影响. 水生生物学报, 2012, 36(4): 656-664
- 黄辨非, 徐恩. 两种添加剂对斑点叉尾鲷养殖效果的观察. 科学养鱼, 2011(7): 65-66
- 董亮, 何永志, 王远亮, 等. 超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展. 中国农业科技导报, 2013, 15(5): 53-58
- Buckley LJ, Bulow FJ. Techniques for the estimation of RNA, DNA, and protein in fish. Iowa State University Press: Ames, IA 1987, 345-354
- Chen JM, Kukor Z, Le Maréchal C, et al. Evolution of tryptophan activation peptides. Mol Biol Evol, 2003, 20(11): 1767-1777
- Clemmesen C. The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration. Mar Biol, 1994, 118(3): 377-382
- Dimitroglou A, Merrifield DL, Spring P, et al. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilization, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 2010, 300(1): 182-188
- Dimitroglou A, Davies SJ, Sweetman J, et al. Dietary supplementation of mannanoligosaccharide on white sea bream (*Diplodus sargus* L.) larvae: effects on development, gut morphology and salinity tolerance. Aquaculture Res, 2010, 41(9): 245-251
- Eisenstein TK, Huang D, Meissler JJ, et al. Macrophage nitric oxide mediates immunosuppression in infectious inflammation. Immunobiol, 1994, 191(4): 493-502
- Grisdale-Helland B, Helland SJ, Gatlin III DM. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 2008, 283(1-4): 163-167
- Kuropat C, Mercaldo-Allen R, Caldarone E, et al. Evaluation of RNA concentration as an indicator of growth in young-of-the-year winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* and tautog *Tautoga onitis*. Mar Ecol Prog Ser, 2002, 230(1): 265-274
- Liu B, Xu L, Ge X, et al. Effects of mannan oligosaccharide on the physiological responses, HSP70 gene expression and disease resistance of Allogynogenetic crucian carp (*Carrasius auratus gibelio*) under *Aeromonas hydrophila* infection. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(6): 1395-1403
- Ma P, Sivaloganathan B, Reddy PK, et al. Ontogeny of  $\alpha$ -amylase gene expression in sea bass larvae (*Lates calcarifer*). Mar Biotechnol, 2001, 3(5): 463-469
- Peulen O, Deloyer P, Grandfils C, et al. Intestinal maturation induced by spermine in young animals. Livest Prod Sci, 2000, 66(2): 109-120
- Uda K, Tsujikawa T, Fujiyama Y, et al. Rapid absorption of luminal polyamines in a rat small intestine ex vivo model. J Gastroen Herpetol, 2003, 18(5): 554-559
- Salze G, Mclean E, Schwarz MH, et al. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval coibia. Aquaculture, 2008, 274(1): 148-152
- Staykov Y, Spring P, Denev S, et al. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquacult Int, 2007, 15(2): 153-161
- Tanaka Y, Gwak WS, Tanaka M, et al. Ontogenetic changes in RNA, DNA and protein contents of laboratory-reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. Fisheries Sci, 2007, 73(2): 378-384
- Torrecillas S, Makol A, Caballero MJ, et al. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish Shellfish Immunol, 2007, 23(5): 969-981
- Torrecillas S, Makol A, Benítez-Santana T, et al. Reduced gut bacterial translocation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). Fish Shellfish Immunol, 2011, 30(2): 674-681
- Torrecillas S, Makol A, Betancor MB, et al. Enhanced intestinal epithelial barrier health status on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. Fish Shellfish Immunol, 2013, 34(6): 1485-1495
- Vinagre C, Fonseca V, Maia A, et al. Habitat specific growth rates and condition indices for the sympatric soles *Solea solea* (Linnaeus, 1758) and *Solea senegalensis* Kaup 1858, in the Tagus estuary, Portugal, based on otolith daily increments and RNA-DNA ratio. J Appl Ichthyol, 2008, 24(2): 163-169
- White LA, Newman MC, Cromwell GL, et al. Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. J Anim Sci, 2002, 80(10): 2619-2628
- Yilmaz E, Genc MA, Genc E. Effects of dietary mannan oligosaccharides on growth, body composition, and intestine and liver histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Isr J Aquacult-bamid, 2007, 59(3): 182-188

Zhang J, Liu YJ, Tian LX, *et al.* Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol*, 2012, 33(4): 1027–1032.

Zhao PY, Jung JH, Kim IH. Effect of mannan oligosaccharides and fructan on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and diarrhea score in weanling pigs. *J Anim Sci*, 2012, 90(3): 833–839

(编辑 冯小花)

## Effects of Mannan Oligosaccharide on the Growth, Intestinal Development and Non-Specific Immunity of Tongue Sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther) Postlarvae

YU Chaolei<sup>1,2</sup>, CHANG Qing<sup>1①</sup>, Lü Yunyun<sup>1,2</sup>

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;  
2. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

**Abstract** Mannan oligosaccharide (MOS) could promote the growth, intestinal development and non-specific immune index of some marine fishes; however, the role of MOS in the *Cynoglossus semilaevis* Günther postlarvae is unclear. The tongue sole postlarvae with initial length about 1.4 cm were fed *Artemia*, enriched by *Schizochytrium* with the addition (MOS group) or absence of MOS (control group) to study the effects of MOS on the growth, intestinal development and non-specific immunity. The experiments lasted for 34 days, and the samples were collected at day 17 and day 34. The results indicated that MOS significantly enhanced the body length at day 17 but it did not reach a significant effect at day 34. The MOS did not affect the growth and survival rate at both day 17 and day 34. MOS did not have a significant function on the ratios of RNA/DNA and protein/DNA at day 17 but it had a significant effect at day 34. MOS dramatically increased the amylase specific activity at day 17 and enhanced trypsin specific activity at day 34. At the end of the experiment, the superoxide dismutase, catalase, peroxidase and lysozyme activities in the MOS group were significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ), but the nitric oxide synthase activity was not significantly different ( $P > 0.05$ ) between the two groups. The microvilli length and the fold highness of the MOS group were significantly greater compared with the control group ( $P < 0.05$ ); the mucosal thickness between the two groups were not significantly different ( $P > 0.05$ ). These results indicated that MOS could improve the intestinal development and non-specific immunity of *Cynoglossus semilaevis* Günther postlarvae.

**Key words** Mannan oligosaccharide; *Cynoglossus semilaevis* Günther; Growth; Intestinal development; Non-specific immunity

① Corresponding author: CHANG Qing, E-mail: changqing@ysfri.ac.cn