

新型饲料添加剂药性菌质对鲫生长免疫与养殖水体的影响

周业飞, 张李阳, 张敦林

(南京晓庄学院, 江苏 南京 211171)

摘要: 将药用真菌灵芝接种于固体培养基进行固体发酵, 得到药性菌质, 并将其作为饲料添加剂, 分别按 0.5%、1.0%、2.0% 的比例添加到鲫基础日粮中, 通过检测鲫肝、肠中溶菌酶含量和养殖水体的 pH、氨氮、溶氧等指标以及称其体重, 以研究其对鲫非特异性免疫功能及促生长的影响和药性菌质对养殖水体的影响。结果表明, 在饲料中添加一定比例的药用真菌发酵产物都能够提高鲫肝、肠溶菌酶活性水平, 其中以在日粮中添加比例为 0.5% 的肝中溶菌酶活性最高 ($P < 0.05$); 而添加 1.0% 的肠中溶菌酶活性最高 ($P < 0.05$); 添加 1.0% 的鲫体增重比对照组提高了 2.9%, 而不同比例的药性菌质对水质的 pH 高于对照组, 水中氨氮浓度低于对照组, 与对照组相比溶氧量变化甚小, 试验组各项测定结果呈现一定的波动, 但试验组与对照组间各项测定指标均无显著差异 ($P > 0.05$)。药性菌质可改善鲫的非特异性免疫功能、促进其生长、增强鱼体代谢, 但对养殖水体影响较小。

关键词: 药用真菌; 鲫; 溶菌酶; 养殖水体

中图分类号: S963.73 文献标志码: A 文章编号: 1674-3075(2008)02-0031-04

近年来, 我国水产养殖业发展迅速, 集约化程度较以前有很大的提高, 但由于长期高密度养殖, 饲料的利用率相对较低, 导致大量残饵沉入水底, 既浪费了资源, 又使大量的蛋白质、氮和磷及动物的排泄物残留在养殖池中, 引起池水富营养化, 塘底也形成了一层厚厚的沉积物。通过在动物的日粮中加入一定量的饲料添加剂, 可改善养殖水体的污染状况, 又能提高机体抗应激能力和免疫功能 (Lall & Olivier, 1993)。

20 世纪 80 年代末, 南京中医药大学药用菌与中药生物技术研究所, 用真菌槐栓菌 *Trametes robiniophila* Murray (槐耳) 研发新药成功。槐耳菌在农副产品 (玉米芯、麦麸等) 所组成的营养基质上固体发酵。营养基质仅为真菌的生命活动提供所需的碳、氮、维生素等各种营养, 从而生长菌丝体并产生多种次生代谢物质, 存在于菌体细胞内外, 其中许多具有生物活性成分, 基质经发酵后形成药用菌质 (槐耳菌质、药材)。其具有很好的抗乙肝作用, 已成为国家一类新药 (庄毅, 2002)。而在此基础上发展起来的药性菌质, 即将药用真菌接种到营养基质和药性基质 (中药) 进行固体发酵而得, 已证实其能提高肉鸡的免疫力和促进肉鸡的生长 (张李阳等, 2005)。

本研究以灵芝作为固体发酵菌种, 得到药性菌质并将其按一定的比例添加到鲫的日粮中, 通过测定鲫肝、肠中溶菌酶含量及鱼增重情况, 观察药性菌质对鲫非特异性免疫的影响和生长状况, 同时测定养殖水体的 pH、氨氮、溶氧等指标, 研究药性菌质对养殖水体的影响, 从而为药性菌质在水产动物上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 药性菌质的制备

将灵芝接种到营养基质和药性基质上进行固体发酵, 得到发酵产物即为药性菌质, 60℃ 烘干、粉碎, 备用。

1.2 实验动物

实验所用鲫购自江苏南京市凤凰西街菜场。

1.3 实验动物分组及饲养管理

选取个体差异不大的鲫, 随机分成 4 组, 2 池 / 组, 5 尾 / 池进行饲养试验。采用加热棒调温, 试验鱼每天喂 2 次, 按其体重日投饵率 2% 左右, 并根据鱼的摄食情况适当增减。每天记录投饵量和水温, 并清除水箱内粪便和污物, 定期换水, 每隔 5 d 换水 1 次。

1.4 试验场地及水源

本试验在实验室水族箱中进行, 配备有充氧泵。整个试验过程温度控制在 22~25℃。

1.5 实验设计

实验基础日粮的主要成分为鱼粉 20%、豆粕 30%、玉米 27%、麸皮 18%、预混料 5%。在此基础

收稿日期: 2007-06-25

基金项目: 南京晓庄学院院级科研项目 (青年专项), 编号 2005NXY48

作者简介: 周业飞, 1977 年生, 男, 江苏沐阳人, 助教, 在读博士, 主要从事动物免疫与畜禽饲料添加剂方向的研究。

上, 试验 1 组为在基础日粮中添加 0.5% 的药性菌质, 试验 2 组添加 1%, 试验 3 组添加 2%; 对照组则饲喂正常基础日粮。因此, 本实验应制成 4 种饲料, 分别混合均匀后压制直径为 2~3 mm 的颗粒饲料烘干以备使用。本试验周期为 60 d, 具体饲喂方案见表 1。

表 1 药性菌质饲喂方案

Tab 1 Feed scheme with medicinal fungiferm entation substance

组别	第 1~14 天	第 15~55 天	第 56~60 天
对照组	基础日粮	基础日粮	基础日粮
试验 1 组	基础日粮	基础日粮 + 0.5% 药性菌质	基础日粮
试验 2 组	基础日粮	基础日粮 + 1% 药性菌质	基础日粮
试验 3 组	基础日粮	基础日粮 + 2% 药性菌质	基础日粮

1.6 检测指标

在第 60 天称其体重, 分别采集鲫的肝、肠, -20℃ 保存备用, 以进行溶菌酶测定, 方法为试管比浊法。采用 pH 酸度计, 每 3d 测 1 次水的 pH; 采用溶氧计每周测 1 次水的溶氧量; 采用纳氏比色法, 每周测 1 次氨氮值。

1.7 数据处理

所有数据均以平均值 ± 标准差表示。采用 SPSS 统计软件的 ANOVA 方差分析和 Duncan's 多重比较检验组间差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 不同比例药性菌质对鲫肝、肠溶菌酶的影响

不同比例药性菌质对鲫肝、肠溶菌酶的影响结果见表 2。试验 1、2 组鲫的肝溶菌酶分别比对照组显著性提高了 73.2% 和 30.9% ($P < 0.05$), 而试验 3 组只比对照组提高了 1.0%, 差异不显著 ($P > 0.05$)。试验 2、3 组鲫的肠溶菌酶分别比对照组提高了 45.9% 和 43.6% ($P < 0.05$), 而试验 1 组只比对照组提高了 4.1%, 差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 不同比例药性菌质对鲫体增重的影响

不同比例药性菌质对鲫增重结果见表 3。试验

1、2、3 组分别比对照组增重了 0.6 g、1.0 g 和 0.5 g, 即分别增重了 1.8%、2.9%、1.5%。

2.3 不同比例药性菌质对养殖水体 pH 的影响

不同比例药性菌质对养殖水体 pH 的影响详见表 4。

试验组投料量的药性菌质对水质的 pH 值有升高作用, 试验 3 组的 pH 值的升高比试验 2 组升高的明显, 试验 2 组的 pH 值的升高比试验 1 组升高的明显, 但都差异均不显著 ($P > 0.05$)。

2.4 药性菌质对养殖水体溶氧量的影响

药性菌质对养殖水体溶氧量的影响见表 5。

表 2 不同比例药性菌质对鲫肝、肠溶菌酶的影响

Tab 2 The effect of different proportions on liver Lysozyme in *Carassius auratus*

组别	肝溶菌酶 /		肠溶菌酶 /	
	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$		$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	
对照组	1.94 ± 0.25 ^a	2.66 ± 0.05 ^a	2.66 ± 0.05 ^a	2.66 ± 0.05 ^a
试验 1 组	3.36 ± 1.05 ^b	2.77 ± 0.22 ^a	2.77 ± 0.22 ^a	2.77 ± 0.22 ^a
试验 2 组	2.54 ± 0.23 ^b	3.88 ± 0.46 ^b	3.88 ± 0.46 ^b	3.88 ± 0.46 ^b
试验 3 组	1.96 ± 0.30 ^a	3.82 ± 0.52 ^b	3.82 ± 0.52 ^b	3.82 ± 0.52 ^b

注: 上角标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The same letters of upper corner mean non-significant while the different letters mean significant

表 3 不同比例药性菌质对鲫体重的影响

Tab 3 The effect of different proportions medicinal fungus fermentation substance on body gain weight in *Carassius auratus*

组别	尾均增重 /g
对照组	34.0 ^a
试验 1 组	34.6 ^a
试验 2 组	35.0 ^a
试验 3 组	34.5 ^a

注: 上角标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The same letters of upper corner mean non-significant while the different letters mean significant

表 4 不同比例药性菌质对水质 pH 的影响

Tab 4 The effect of medicinal fungus fermentation substance on pH quality of water

组别	日 期							
	11-21	11-25	11-29	12-03	12-07	12-12	12-15	12-19
对照组	6.39 ^a	7.44 ^a	7.13 ^a	6.99 ^a	7.43 ^a	7.24 ^a	7.10 ^a	6.70 ^a
试验 1 组	6.68 ^a	7.55 ^a	7.22 ^a	7.19 ^a	7.54 ^a	7.43 ^a	7.21 ^a	6.86 ^a
试验 2 组	6.87 ^a	7.69 ^a	7.35 ^a	7.40 ^a	7.54 ^a	7.62 ^a	7.38 ^a	7.21 ^a
试验 3 组	7.06 ^a	7.77 ^a	7.42 ^a	7.44 ^a	7.47 ^a	7.62 ^a	7.54 ^a	7.46 ^a

注: 上角标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The same letters of upper corner mean non-significant while the different letters mean significant

表 5 药性菌质对水体溶氧量的影响

mg/mL

Tab 5 The effect of medical fungus fermentation substance on dissolved oxygen quality of water

组别	日 期							
	11- 21	11- 25	11- 29	12- 03	12- 07	12- 12	12- 15	12- 19
对照组	9.35 ^a	10.64 ^a	10.57 ^a	9.97 ^a	11.90 ^a	12.23 ^a	12.37 ^a	8.91 ^a
试验 1组	9.22 ^a	10.59 ^a	10.34 ^a	10.22 ^a	11.83 ^a	12.86 ^a	12.36 ^a	8.95 ^a
试验 2组	9.81 ^a	10.71 ^a	10.72 ^a	10.60 ^a	12.05 ^a	12.71 ^a	12.70 ^a	8.58 ^a
试验 3组	9.67 ^a	10.66 ^a	10.88 ^a	8.82 ^a	11.45 ^a	12.60 ^a	12.40 ^a	8.90 ^a

注: 上角标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The same letters of upper corner mean non-significant while the different letters mean significant.

从表 5 可看出, 水体中的溶氧量在一定程度范围内发生变化, 但差异均不显著 ($P > 0.05$)。

2.5 药性菌质对养殖水体氨氮的影响

药性菌质对养殖水体氨氮的影响结果见表 6。NH₄Cl 标准溶液进行显色时其吸光度与浓度 (A-C) 关系如图 1 所示。

从表 6 中可以得出, 试验 1、2、3 组的氨氮质量浓度分别为 0.541、0.304、0.403 mg/L, 对照组浓度为 0.634 mg/L; 各试验组与对照组之间存在一定的差异, 但差异并不显著 ($P > 0.05$)。

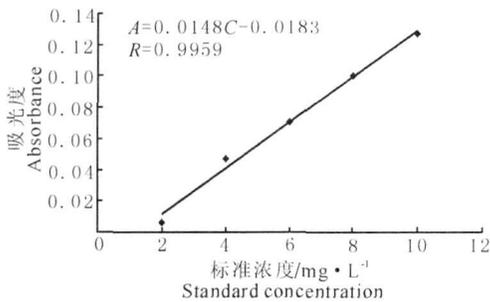


图 1 标准曲线的 A-C 关系

Fig 1 Standard Curve between the absorbances and the concentration of NH₄Cl

表 6 不同比例药性菌质对水体氨氮的影响

Tab 6 The effect of medical fungus on fermentation substance ammonia quality of water

组别	氨氮 /mg · L ⁻¹
对照组	0.634 ± 0.074 ^a
试验 1组	0.541 ± 0.092 ^a
试验 2组	0.304 ± 0.047 ^a
试验 3组	0.403 ± 0.086 ^a

注: 上角标字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: The same letters of upper corner mean non-significant while the different letters mean significant.

3 讨论

3.1 对鲫肝、肠中溶菌酶的影响

溶菌酶主要针对革兰氏阳性菌发挥作用, 对一

些革兰氏阴性菌如嗜水气单胞菌也有作用, 溶菌酶的活性是决定吞噬细胞对所吞噬的致病菌能否被杀灭的物质基础之一 (Sivicki A K et al 1994)。溶菌酶作为机体非特异免疫因子之一, 参与机体多种免疫反应, 在机体正常防御功能和非特异免疫中, 具有保持机体生理平衡的重要作用。可改善和增强巨嗜细胞吞噬和消化功能, 激活白细胞吞噬功能, 并能改善细胞抑制剂所导致的白细胞减少, 从而增强机体的抵抗力。因此, 测定鱼类溶菌酶含量在一定程度上能反映鱼类非特异性免疫状态。本研究中, 试验组鲫的肝、肠中的溶菌酶含量都显著高于对照组, 这表明在日粮中添加药性菌质能够提高鲫非特异性免疫功能。鲫与许多其它淡水鱼的生物学特性基本一致, 根据本实验结果, 可以预见药性菌质能够适应现代鱼类养殖业追求优质高产、高密度集约化养殖的需要, 可增强鱼类抗应激能力和免疫功能, 减少病害的发生。

3.2 对鲫生长的影响

在日粮中按一定比例添加药性菌质对鲫的生长有一定的促进作用, 这可能是由于药性菌质中含有一些生物活性物质及未知生长因子, 可为鲫提供营养, 起强化营养、调节机体生理功能的作用, 因而能够显著地提高鲫生长潜力。但并不是随着添加量的增加, 促长作用越明显, 根据本实验结果, 以添加 1.0% 的比例为宜。

3.3 对养殖水体 pH 的影响

随着药性菌质的量的增加, pH 有所上升, 但在鲫生长的正常范围内, 不影响其正常生长。

3.4 对水体溶氧量的影响

溶氧是指溶解在水中的氧气, 它与水温成反比, 是各种水生生物生存的必要条件之一 (Torrisen J & Christianen R, 1995)。试验测得的数据表明, 添加药性菌质后, 对溶氧没有显著的影响。鲫对溶氧的要求较高 (6.5~9.0 mg/mL), 由于静水养殖系统本身溶氧量小且易消耗, 为确保在试验期内鲫能正常活

动,在整个试验过程进行了增氧,因此在 60 d 的试验期内各试验水体的溶氧量基本保持一致,仅随着水温的变化略有起伏。这说明药性菌质对水体的溶氧影响不大。

3.5 对水体氨氮的影响

氨氮的排量在一定程度上反映了生物体对食物中蛋白质的利用率。排量比例大,反映了生物体对蛋白质的利用率低;反之,则说明生物体对蛋白质的利用率高(Jantrarotai W et al 1998)。试验组的水质中,氨氮比对照组低,可能是由于药性菌质可以使鲫提高蛋白质的利用率,从而使水质中氨氮的含量降低。

综合分析,以在鲫日粮中添加 1.0% 比例的药性菌质对提高鲫的非特异性免疫力及体增重的效果最明显,且对鲫的养殖水体无影响。

参考文献:

庄毅. 2002 药用真菌新型(双向性)固体发酵工程[J]. 中

国食用菌, 21(4): 3-6

张李阳,周业飞,虞蔚岩,等. 2005 药用真菌发酵产物调控肉鸡内分泌及免疫力的研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 26(4): 16-19

Jantrarotai W, Sltaslt P, Viputhanuh as T, et al. 1998 Protein and energy levels for maximum growth diet utilization yield of edible flesh and protein sparing of hybrid *Clarias catfish* [J]. World Aquacult Soc 29: 281-289

Lall S P & Olivier G. 1993 Role of micronutrients in immune response and disease resistance in fish [J]. Fish Nutrition in Practice, 61: 101-118

Siwicki A K, Anderson D P, Rumsey G L. 1994 Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protects against furunculosis [J]. Vet Immunol Immunopathol 41: 125-139

Torrissen J & Christianen R. 1995 Requirements for carotenoids in fish diets [J]. Appl Ichthyol 11: 225-230

(责任编辑 万月华)

The Effect of Non-Specific Immunological Function and Culturing Water when Fed the New Feed Additive Medical Fungus Fermentation Substance to *Carassius auratus*

ZHOU Ye-fei ZHANG Li-yang ZHANG Dun-lin

(Department of Life Science, Nanjing Xiaozhuang College, Jiangsu Nanjing 211171, China)

Abstract The medicinal fungus was inoculated through solid fermentation which its fungal fermentation substance was fed to *Carassius auratus* as feed additive. The experimental *carassius auratus* was fed by adding medicinal fungal fermentation substance in the formulated diet for common carp in the proportion of 0.5%, 1.0%, 2.0% separately. The effect of fungal fermentation substance on non-specific immunological function and growth performance was studied by lysozyme activity of liver and intestine in *carassius auratus* and body weight. The result showed that the diet supplemented with medicinal fungi fermentation substance could improve the level of lysozyme activity of intestine and liver in *Carassius auratus*. Especially, the effect on liver is significant when the dosage of 0.5% was applied ($P < 0.05$); the effect on the intestine is significant with the dosage of 1.0% ($P < 0.05$); The body weight gain of the *Carassius auratus* was enhanced by 2.9% than the contrast group with the dosage of 1.0%. The experimental pH was non-significantly higher than the contrast group, the concentration of ammonia was non-significantly lower than the contrast group with no change in dissolved oxygen ($P > 0.05$). The results suggest that the non-specific immunological function and growth performance of *Carassius auratus* could be enhanced by the medicinal fungi fermentation substance, without disturbing the quality of culturing water.

Key words medicinal fungus; *Carassius auratus*; lysozyme; culturing water