

·研究简报·

饲料铜的添加量对南美白对虾生长、 血液免疫因子及组织铜的影响

郭志勋¹, 陈毕生¹, 徐力文¹, 郑石轩², 湛波², 刘立鹤², 程开敏²

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所 农业部渔业生态环境重点开放实验室
广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300; 2. 湛江粤海饲料有限公司, 广东 湛江 524002)

摘要: 通过在饲料中分别加入不同水平的硫酸铜, 初步研究了饲料铜的添加量与南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*) 生长、血液免疫因子及组织中铜分布的关系。饲料铜元素的添加量分别为 0、7.5、15、30、45 mg/kg。研究表明, 铜的含量对南美白对虾生长影响显著, 添加水平 30 mg/kg 的实验组生长速度显著高于其他组($P < 0.05$), 成活率各组间差异不显著。实验组对虾的酚氧化酶(PO)和超氧化物歧化酶(SOD)的活力都高于对照组, 其中当添加水平为 30 mg/kg 时, 两种酶的活力均最强。对虾肌肉铜的含量各组间无显著差异, 为 (4.27 ± 1.83) mg/kg, 个体间差异非常大; 肝胰脏(包括淋巴器官)铜的最高含量为 210.36 mg/kg, 最低为 33.78 mg/kg(空白对照组), 明显高于肌肉中的含量。研究表明, 饲料铜的含量对对虾生长影响显著, 并影响对虾的免疫能力; 肝胰脏是对虾体内铜的主要积累器官。

关键词: 铜; 南美白对虾; 生化指标

中图分类号: S963.734

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2003)06-0526-03

营养免疫学是一新兴的研究领域。在目前对虾免疫的研究中, 人们的目光多集中在免疫多糖, 如 IPS、酵母多糖等对对虾免疫的影响上, 但对微量元素与免疫因子的关系却鲜有研究^[1-3]。铜是对虾血淋巴蓝蛋白及其他一些金属酶类的重要组成成份, 是对虾维持正常生理功能及生长发育必须的微量元素之一; 但是作为一种重金属, 其含量对对虾免疫因子的影响, 是值得深入探讨的问题; 另外, 铜在虾体内的积累会影响产品品质, 排入水体会造成环境污染^[6-8]。因此, 合理控制饲料中铜元素的含量对于养殖对虾的免疫抵抗力、品质以及环境保护具有重要的意义。本文将以南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*) 为研究对象, 研究饲料铜的添加量对对虾生长、免疫因子及其在虾体内残留量的影响。

1 材料与方法

1.1 饲料制备

取粤海饲料有限公司的无铜商品饲料, 在饲料中添加不同水平的硫酸铜(分析纯), 每 kg 饲料铜元素的添加量分别

为 0、7.5、15、30、45 mg, 制粒, 晒干, 冷藏备用。

1.2 实验动物

南美白对虾规格见表 1。

1.3 实验设计

实验于 2001 年 9 月 28 日至 11 月 30 日在粤海饲料有限公司东山岛实验基地进行。南美白对虾养在不同的桶中, 随机分成 5 组, 记录初重, 每组 3 桶, 桶的容积为 300 L, 每桶中养殖对虾 30 尾, 其中 1 组为对照组。实验早期, 依据对虾体重, 按其体重的 8%~10% 投喂, 每天早、中、晚各投喂 1 次, 在试验过程中, 根据对虾的生长及采食状况, 调整投饵量, 以下一次投喂时无残饵为准。在实验中期(实验开始后的第 30 天)称重, 实验结束时称重, 并采血、肌肉和肝胰脏(包括淋巴器官), 计算生长速度以及成活率。

1.4 酚氧化酶(PO)和超氧化物歧化酶(SOD)

PO 活力的测定参照王雷等^[3]的测定方法, 以 L-dopa 为底物测定。SOD 活力的测定参照邓碧玉等^[9]改良的连苯三酚自氧化法。

1.5 肌肉和肝胰脏铜含量的测定

参照国标 GB17378.6-1998。

收稿日期: 2003-03-17; 修订日期: 2003-07-21

作者简介: 郭志勋(1970-), 男, 助理研究员, 硕士, 现从事渔业生物病害防治研究。E-mail: guozx@263.net

通讯作者: 陈毕生。Tel: 020-84195177

表 1 饲料中铜含量对南美白对虾不同指标的影响

Table 1 Effect of copper level of feed on different parameters of *L. vannamei*

铜添加量/ (mg·kg ⁻¹ 饲料) Copper content in feed	初始体重/g Primary body weight	中期体重/g Medium-term body weight	终期体重/g Final body weight	前期生长速度 /(g·d ⁻¹) Prior period growth rate	后期生长速度 /(g·d ⁻¹) Later period growth rate	平均生长速度 /(g·d ⁻¹) Average growth rate	成活率/% Survival rate	肝铜含量/ (mg·kg ⁻¹ 肝组织) Copper content in liver	肌肉铜含量/ (mg·kg ⁻¹ 肌肉) Copper content in muscle
0	16.97±1.00	126.89±4.42	171.55±7.62	0.0975 ±0.0012	0.0592 ±0.0038	0.0823 ±0.0013	95.6±7.7	33.78	3.773±0.84
7.5	16.67±0.40	129.73±8.33	182.21±15.85	0.0997 ±0.0070	0.0688 ±0.0090	0.0877 ±0.0078	96.7±5.8	51.01	4.376±1.28
15	16.72±0.07	129.76±3.61	168.47±1.90	0.1009 ±0.0049	0.0512 ±0.0048	0.0804 ±0.0012	96.7±3.3	158.49	3.013±1.60
30	16.48±0.27	133.18±0.67	188.47±1.70	0.1035* ±0.0017	0.0725* ±0.0026	0.0906* ±0.0018	97.8±1.9	156.36	4.655±2.02
45	16.83±0.13	129.51±2.84	169.35±5.59	0.1005 ±0.0035	0.0527 ±0.0066	0.0808 ±0.0017	96.7±3.3	210.36	5.552±3.02

*表示此值显著高于其他各组($P<0.05$)
* Significant different compared with other groups ($P<0.05$)

1.6 统计分析

利用 SPSS 统计软件中的 ANOVA 功能($P<5\%$)。

2 结果

2.1 生长速度

如表 1 所示, 实验前期, 各实验组对虾个体的生长速度在 0.097 5~0.103 5 g/d 对照组最低, 每 kg 饲料添加 30 mg 铜的实验组生长最快; 实验结束, 各实验组对虾个体的生长速度在 0.051 2~0.072 5 g/d 之间; 无论在实验前期还是结束, 只有每 kg 饲料添加 30 mg 铜的实验组的生长速度显著高于其他各组, 其他各组间差异不显著。

2.2 成活率

各实验组的成活率在 95.6%~97.8%, 差异不显著, 见表 1。

2.3 肌肉和肝胰脏铜含量

如表 1 所示, 各实验组肌肉铜的含量为 3.01~5.55 mg/kg, 平均为(4.27±1.83) mg/kg, 各组间差异不显著, 但个体间差异非常大; 对照组肝胰脏铜含量最低, 为 33.75 mg/kg, 添加量为 45 mg/kg 饲料的实验组最高, 为 210.35 mg/kg。肝胰脏铜含量大大高于肌肉。

2.4 PO 和 SOD 活力

如表 1、2, 在各组间, 投喂铜添加量为 30 mg/kg 的饲料的实验组的 PO 活力最高, 为 9.8 U; SOD 的活力也以添加量为 30 mg/kg 的饲料的实验组为最高, 为 507 U; 对照组最低, 为 357 U。很显然, SOD 对饲料铜的反应要比 PO 敏感的多。

3 讨论

铜对虾类来说是一种非常重要的元素, 它不仅与许多酶有关, 如赖氨酸氧化酶、细胞色素氧化酶、酪氨酸酶、过氧化物歧化酶等, 它还是虾类血液中血蓝蛋白的重要组分, 对氧在体内的运输起着重要的作用。刘存义等^[10]认为, 中国对虾对饲料铜的需要量为 53 mg/kg 左右, 本研究发现, 在基础

饲料中添加 30 mg/kg 铜时, 南美白对虾生长速度最快, 对成活率没有显著影响。这说明基础饲料中的铜能够满足南美白对虾维持生存和生长的需要, 但却不能满足其最佳生长以及最大程度的利用饲料营养成分的需要。

表 2 饲料中铜添加量对对虾 PO 和 SOD 活力的影响

Table 2 Effects of copper level of feed on PO and SOD activities in *L. vannamei*

铜添加量/(mg·kg ⁻¹ 饲料) Copper content in feed	PO 活力/U PO activity	SOD 活力/U SOD activity
0	6	357
7.5	8.3	379
15	6.2	442
30	9.8	507
45	8.3	486

酚氧化酶是甲壳动物的酚氧化酶原激活系统的产物, 在识别异物、释放调理素促进血细胞的吞噬和包裹以及产生杀灭和排除异物的凝集素和溶菌酶等免疫功能方面发挥着重要的作用, 同机体的免疫功能有直接的关系^[11]。而 SOD 具有消除自由基的功能, 当 SOD 酶活力降低时, 生物体内自由基积累过多, 将导致代谢紊乱、正常生理功能失调, 免疫及防御水平下降, 容易引起疾病的发生^[12]。本研究发现, 饲料铜的含量对南美白对虾的血清 SOD 和 PO 活力都有一定影响, 当基础饲料中添加 30 mg/kg 铜时, 二者的活力最高, 但饲料铜对 SOD 活力的影响比 PO 显著, 因为铜是 SOD 的组成成份^[13], 而 PO 的激活受钙离子调节^[14], 铜可能以间接方式对其产生影响的反映。

在本实验的添加范围内, 饲料铜的添加量对肌肉组织铜的含量没有显著影响, 并且远远低于 50 mg/kg 的无公害食品标准^[15]; 但对肝胰脏中的含量却有明显的影响, 特别是当铜的添加量超过 15 mg/kg 时, 其含量是对照组的 4.6 倍; 当添加量为 45 mg/kg, 其含量是对照组的 6.4 倍; 添加量为 30 mg/kg 与添加 15 mg/kg 时, 肝胰脏中铜的含量没有明显的差异。这说明了饲料铜的添加量为 30 mg/kg 是合适的, 当添

加量小于或等于 45 mg/kg 时, 南美白对虾能够去除肌肉中多余的铜, 但在肝胰脏中有一定的积累, 且超过无公害食品标准。因此, 在本实验条件下, 铜的添加量不影响对虾肌肉的品质。

如表 1 所示, 肝胰脏铜的含量远远高于肌肉中铜的含量, 各组内差异达 8.9~52.8 倍, 这可能是由于两器官在对虾的生命活动中所发挥的生理功能不同造成的: 肌肉的主要功能是运动, 而肝胰脏的主要功能是解毒以及滤出外来异物, 并有大量血淋巴液流过, 而血淋巴中铜的含量几乎达到整个虾体铜含量的 40%^[10]。这也是当饲料铜的添加量增高时, 铜在肝胰脏中的积累速度超过肌肉的原因。

参考文献:

- [1] 刘树清, 江晓路, 牟海津, 等. 免疫多糖对对虾溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的影响[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 278—283.
- [2] 江晓路, 刘树清, 牟海津, 等. 真菌多糖对中国对虾血清及淋巴细胞免疫活性的影响[J]. 动物学研究, 1999, 20(1): 41—45.
- [3] 王雷, 李光友, 毛永兴. 口服免疫药物后中国对虾某些血淋巴因子的测定及方法研究[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(1): 34—41.
- [4] Chang C F, Su M S, Chen H Y, et al. Effect of dietary 1, 3-glucan on resistance to white spot syndrome virus (WSSV) in postlarval and juvenile *Penaeus monodon*[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1999, 36: 163—168.
- [5] Sritunyaluksana K, Sithisarn P, Withayachumrannkul B, et al. Activation of prophenoloxidase, agglutinin and antibacterial activity in haemolymph of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, by immunostimulants[J]. Fish & Shellfish Immunology, 1999, 9: 21—30.
- [6] 王维娜, 王安利, 刘存歧, 等. 饲料的铜含量对中国对虾生长及体内铜、锌和铁含量的影响[J]. 水产学报, 1997, 21(3): 258—261.
- [7] 艾春香. 铜对虾蟹类的营养作用[J]. 粮食与饲料工业, 2000, 4: 34—35.
- [8] 袁有宪, 曲克明, 刘立波, 等. 中国对虾卵子孵化及无节幼体变态对海水环境中铜的需要[J]. 海洋学报, 1995, 17(1): 83—89.
- [9] 邓碧玉, 袁勤生, 李文杰. 改良的苯三酚自氧化测定超氧化物歧化酶活性的方法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1991, 18(2): 163.
- [10] 刘存义, 李荷芳. 中国对虾矿物质营养的研究[J]. 海洋科学, 1995, 4: 32—37.
- [11] Soderhall K. Editorial. Invertebrate immunity [J]. Dev Comp Immunol, 1999, 23: 263—266.
- [12] 丁美丽, 林林, 李光友, 等. 有机污染对中国对虾体内环境影响的研究[J]. 海洋与湖沼, 1997, 28(1): 7—12.
- [13] 方允中, 郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 162—212.
- [14] Vlerie J S, Soderhall K. Cellular immune mechanisms in the Crustacean [C]. Symp. Zool Soc Lond., 1986: 59—79.
- [15] NY5073—2001. 无公害食品—水产品中有毒有害物质限量[S].

Effects of dietary copper on growth, immunological factors and tissue copper in *Litopenaeus vannamei*

GUO Zhi-xun¹, CHEN Bi-sheng¹, XU Li-wen¹, DENG Shi-xuan², ZHAN Bo², LIU Li-he², CHENG Kai-min²

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300 China;

2. Zhanjiang Yuehai Feed Company, LTD., Zhanjiang 524002, China)

Abstract: The designed levels of Cu²⁺ in diets were 0, 7.5, 15, 30 and 45 mg/kg, respectively. The experiment period was two months. The shrimp fed with the feed with Cu²⁺ 30 mg/kg grew faster than the other groups significantly. But the differences in survival rates were not significant. The activities of PO and SOD were influenced by the content of feed Cu²⁺ that they were highest when the Cu²⁺ level was 30 mg/kg feed. There were not significant differences in shrimp muscle copper content among different groups of which the average value was (4.27±1.83) mg/kg, but it varied obviously among the individuals. The highest content of the hepatopancreas Cu²⁺ was 210.36 mg/kg, and the lowest was 33.78 mg/kg (control group), which was higher than that in the muscle. The results showed that the dietary copper level has effects on growth rate and immunological function in *Litopenaeus vannamei*; the accumulation of copper in shrimp hepatopancreas is higher than that in muscle. The optimal dietary copper level is 30 mg/kg.

Key words: copper; *Litopenaeus vannamei*; biochemical index

Corresponding author: CHEN Bi-sheng.