

不饱和脂肪酸对黄鳝部分非特异性免疫和代谢指标的影响

杨鸷劼, 邢旭文, 徐增洪

(中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 农业部水生动物遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 江苏 无锡 214081)

摘要: 在不含脂肪酸的黄鳝基础饲料中, 按正交法 [$L_9(3^4)$] 分别添加亚油酸 ($C_{18:2n-6}$)、亚麻酸 ($C_{18:3n-3}$) 和 EPA+DHA ($C_{20:5n-3}+C_{22:6n-3}$), 人工投喂饲养野生黄鳝 (*Monopterus albus*), 31 d 后测定实验黄鳝血清溶菌酶 (Lysozyme, LSZ)、总超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量和血细胞吞噬活性。评价实验组及对照组的非特异性免疫水平、自由基 (Free radical, FR) 代谢以及脂质过氧化状态。采用 SPSS11.5 软件, Duncan 多重比较实验组间差异。实验结果显示, 实验组血清 LSZ 活性均有不同程度的提高, 最高为 94.90 U/mL ($P<0.05$); 血细胞吞噬率为 2.6%~11.47%, 吞噬指数介于 0.02~0.227 之间, 实验组比对照组血细胞吞噬率和吞噬指数显著提高 ($P<0.01$); 血清 SOD 及 CAT 活性分别在 116.95~333.44 U/mL 及 9.48~17.81 U/mL 之间, 无显著差异 ($P>0.05$), 但 MDA 含量比对照组有不同程度的下降, 其中第 4 组 MDA 为 6.48 nmol/mL, 有极显著差异 ($P<0.01$)。结果表明: 添加不饱和脂肪酸后, 黄鳝血清 LSZ 活性和血细胞吞噬能力增加最明显的组合为 $C_{18:3n-3}$ 、 $C_{18:2n-6}$ 和 EPA+DHA, 添加量分别为 1.30%、1.55% 和 0.25%, 可显著增加黄鳝非特异性免疫功能, 而此时血清中 FR 代谢水平处于相对平衡状态。[中国水产科学, 2008, 15(4): 600-605]

关键词: 黄鳝; 不饱和脂肪酸; 溶菌酶; 自由基; 血细胞吞噬能力

中图分类号: S94 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2008)04-0600-06

黄鳝 [*Monopterus albus* (Zuiewu)], 在鱼类分类学上隶属合鳃目 (Synbranchiformes), 合鳃科 (Synbranchidae), 黄鳝属 (*Monopterus* Lacépède), 为底栖生活鱼类。近年来黄鳝已成为渔业产业结构调整中人工养殖重要物种之一。

不饱和脂肪酸 (Unsaturated Fatty Acid, UFA) 是鱼类生长所必需的能量和营养物质, 其中 $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{18:3n-3}$ 、 $C_{22:6n-3}$ 和 $C_{20:5n-3}$ UFA 在机体内具有较广泛的生理功能和生物学效应, 对免疫系统也具有调节作用。 $n-3$ 主要对机体免疫产生一定的抑制作用, $n-6$ 有一定的免疫促进作用, 两者的合理比例对调节鱼类的免疫力至关重要, 两者在体内由同一种酶催化其代谢, 从而影响机体免疫机制发生竞争效应^[1]。Irshad 等^[2] 在尼罗叉尾鲷饲料中添加 UFA 可提高吞噬活性; Pilarczyk^[3] 在鲤饲料中添加 UFA 可增加鲤抗体产生细胞数量, 提高鲤的特异性免疫功能; Puangkaew 等^[4] 在虹鳟饲料中添加 UFA, 巨噬细胞杀灭细菌的能力提高, 抗体

含量增加。然而, UFA 在体内代谢过程中很容易被氧化成为自由基 (Free radical, FR)。过高的 FR 水平将给机体的生命力带来一定的影响。

在对黄鳝人工配合饲料的研究中, 尚未见 UFA 对黄鳝非特异性免疫水平和 FR 影响的研究报道。本研究通过向配合饲料中添加不同比例的亚油酸 ($C_{18:2n-6}$)、亚麻酸 ($C_{18:3n-3}$) 和 EPA+DHA ($C_{20:5n-3}+C_{22:6n-3}$ 以质量比 1:1 混合), 观察其对黄鳝血清溶菌酶活性 (Lysozyme, LSZ) 和血细胞吞噬活性的影响, 同时通过测定血清总超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 和丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量变化, 观察黄鳝血清中 FR 的代谢情况及脂质过氧化的状态, 旨在为黄鳝营养免疫学的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 基础饲料和实验油脂 基础饲料为不含脂

收稿日期: 2007-08-10; 修订日期: 2007-09-24.

基金项目: 科技部农业科技成果转化资金资助 (05EFN216900378).

作者简介: 杨鸷劼 (1963-), 副研究员, 从事水生动物疾病学研究. Tel: 0510-85550245; E-mail: yangyj@ffrc.cn

通讯作者: 邢旭文. Tel: 0510-85550414; E-mail: bingxw@ffrc.cn

肪的原料,营养水平设计及混合维生素、氨基酸、矿物质和氨基酸组成参考陶亚雄等^[5]、杨代勤等^[6-7]、Halver等^[8]方法。

红花籽油购自东海粮油工业公司,亚麻籽油购

自吴江市金扬油厂,鲑鱼油和 EPA/DHA 混合油脂购自无锡市迅达化学品厂。检测各油脂中 $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{18:3n-3}$ 、 $C_{20:5n-3}$ 和 $C_{22:6n-3}$ 含量(表1)。

表1 实验油脂中不饱和脂肪酸含量

Tab.1 Unsaturated fatty acids composition of experimental oils					%
不饱和脂肪酸 UFA	红花籽油 Safflower seed oil	亚麻籽油 Linseed oil	鲑鱼油 Mackerel oil	EPA/DHA 混合油 EPA/DHA mixed oil	
$C_{18:2n-6}$	60.87	25.09	3.6	1.45	
$C_{18:3n-3}$	0.34	42.72	2.1	0.94	
$C_{20:5n-3}$			8.2	41.08	
$C_{22:6n-3}$			18.6	33.26	

1.1.2 实验仪器与试剂 检测仪器为 UV-2800 型紫外可见分光光度计。饲料中 UFA 含量测定使用 Trace MS 气相色谱仪(美国)。黄鳝血清免疫学指标测定用微壁溶球菌(*Micrococcus lysodeikticus*)冻干粉、溶菌酶标准品、SOD 与 MDA 测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;TC-199 培养液、肝素、牛血清白蛋白标准品购自上海生物工程公司;

金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)由哈尔滨卫生防疫站提供。

1.2 方法

1.2.1 饲养方法 按正交法 [$L_9(3^4)$] 在基础饲料中添加不同比例的 UFA,制成颗粒饲料,以 50~60 °C 烘至含水量 10% 以下,按 JY/T003-1996 方法检测 $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{18:3n-3}$ 和 EPA+DHA(表2)。

表2 饲料中不饱和脂肪酸含量

Tab.2 Contents of unsaturated fatty acids in feed						
实验组 Group	A	B	C	$C_{18:2n-6}/\%$	$C_{18:3n-3}/\%$	EPA+DHA/%
1	1	1	3	0.95	0.58	0.77
2	1	2	1	0.97	1.12	0.21
3	1	3	2	1.05	1.47	0.55
4	2	1	2	1.35	0.55	0.55
5	2	2	3	1.35	1.10	0.81
6	2	3	1	1.30	1.55	0.25
7	3	1	1	1.66	0.58	0.27
8	3	2	2	1.65	1.09	0.59
9	3	3	3	1.57	1.55	0.76

注: A、B、C 为亚油酸、亚麻酸和混合酸(EPA + DHA); 其所在列阿拉伯数字表示水平编号。

Note: A, B and C indicate LA, LNA and mixed acids of EPA and DHA respectively. Digits under A, B and C show the level codes.

实验黄鳝采自宝应湖野生群体,挑选体健无伤、规格相近个体,体长 (34.5 ± 2.4) cm, 鱼体质量 (37.8 ± 3.5) g。共设 9 个实验组和 1 个对照组,每组两个平行,分别放养在 20 个聚乙烯网箱中($1 \text{ m} \times 1 \text{ m} \times 1.5 \text{ m}$, 规格为 20 目),每箱 50 尾。实验组分别投喂脂肪含量不同的饲料,对照组投喂不含脂肪的基础饲料,每天投喂 1 次,投喂量为鱼体质量的 4%,水温 26~33 °C。饲养 31 d 后每网箱随机抽取 5

尾($n=5$),用于血清 LSZ、SOD、CAT、MDA 和血细胞吞噬活性测定。

1.2.2 血清制备 无菌注射器于黄鳝尾动脉取血,1% 肝素抗凝,4 °C 冰箱过夜,2 500 r/min 离心 5 min,取上层血清,-20 °C 保存备用。

1.2.3 血清 LSZ 活性测定 参考 Hutmark 等^[9]、王雷等^[10]、Chen 等^[11] 的方法进行相应的调整。以微壁溶球菌冻干粉为底物,用 PBS (0.01 mol/L,

pH 6.4) 稀释菌液终质量浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$, LSZ 标准液浓度 2 000 U/mL, 待测血清 200 μL 。涡旋混匀器混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min, 冰水浴 3 min 终止反应, 530 nm, 测定各管透光度 T , 标准管透光度 T_0 。按下列公式计算 LSZ 活性:

$$\text{LSZ 活性} = \frac{T}{T_0} \times \text{标准管浓度, 单位 U/mL}.$$

1.2.4 血细胞吞噬活性 金黄色葡萄球菌悬液制备: 取金黄色葡萄球菌 24 h 琼脂平板培养物, PBS (0.015 mol/L pH 7.2) 洗涤 3 次, 100 $^{\circ}\text{C}$ 15 min 灭活, 取热灭活金黄色葡萄球菌混悬液于 TC-199 液中, 比浊法调整浓度至 5×10^7 CFU/mL, 置 4 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

取鲜血 100 μL 与抗凝剂 50 μL 置细胞培养板混匀; 每孔加灭活金黄色葡萄球菌悬液 100 μL 混匀; 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 烛缸内恒温培养 30 min。取培养液 1 滴推片, Giemsa 染色 10 min, PBS 浸洗 5 min, 油镜观察。计数 200 个中性粒细胞, 记录吞噬细菌的细胞数及每个中性粒细胞吞入的细菌数, 按公式计算吞噬率和吞噬指数。

吞噬率 = (200 个中性粒细胞中吞噬细菌的细胞数 / 200) $\times$ 100%

吞噬指数 = 200 个中性粒细胞中吞噬的细菌总数 / 200

1.2.5 血清总 SOD 活性测定 取待测血清样品

30 μL , 按黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性, 操作按试剂盒要求进行 ($< 25^{\circ}\text{C}$), 测定 OD_{550} 。以每毫升反应液中 SOD 抑制率达 50 % 时所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位 (U/mL)。

1.2.6 血清 CAT 活力测定 CAT 活力测定参考蒋传葵^[12], 测定 OD_{405} , 以每毫升血清 25 $^{\circ}\text{C}$ 时每分钟分解 1 μmol 的 H_2O_2 的量为一个酶活力单位 (U/mL)。

1.2.7 血清 MDA 含量测定 取待测血清样品 20 μL , 按硫代巴比妥酸比色法, 测定 MDA 含量, 操作按试剂盒测定要求进行, 标准品浓度 10 nmol/mL, 测定 OD_{532} , 检测结果以 nmol/mL 表示。

1.3 数据处理分析

数据统计采用 SPSS11.5 软件, Duncan 多重比较检验实验组间差异, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。血细胞吞噬能力活性实验数据采用 t 检验检测实验组与对照组的差异 ($|t| > t_{0.01}$, $P < 0.01$), 对吞噬率和吞噬指数进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 血清 LSZ、SOD、CAT 和 MDA 活性

血清对照组 LSZ 活性为 27.28 U/mL, 实验组为 38.62~94.90 U/mL, 均显示出不同程度的提高 (表 3), 其中 94.90 U/mL 显示出显著差异 ($P < 0.05$)。

表 3 黄鳝血清中 LSZ、SOD、CAT 和 MDA 活性

Tab.3 Activities of LSZ, SOD, CAT and MDA in serum of rice field eel

$n=5; \bar{X} \pm \text{SD}; \text{U/mL}$

组别 Group	LSZ	SOD	CAT	MDA
对照 Control	27.28 $\pm$ 1.27 ^b	170.46 $\pm$ 6.08	20.69 $\pm$ 1.37	32.76 $\pm$ 1.97 ^a
1	38.62 $\pm$ 2.63 ^{ab}	189.37 $\pm$ 16.27	17.81 $\pm$ 1.44	13.33 $\pm$ 1.00 ^b
2	50.91 $\pm$ 5.15 ^{ab}	116.95 $\pm$ 2.58	14.26 $\pm$ 1.37	16.76 $\pm$ 1.94 ^{ab}
3	81.56 $\pm$ 2.07 ^{ab}	201.30 $\pm$ 3.75	17.56 $\pm$ 1.21	7.67 $\pm$ 0.21 ^b
4	72.04 $\pm$ 6.10 ^{ab}	233.45 $\pm$ 4.05	10.32 $\pm$ 0.81	6.48 $\pm$ 0.16 ^b
5	75.85 $\pm$ 4.68 ^{ab}	182.80 $\pm$ 6.37	15.60 $\pm$ 1.25	10.00 $\pm$ 0.54 ^b
6	94.90 $\pm$ 1.29 ^a	173.55 $\pm$ 9.54	13.41 $\pm$ 1.14	11.14 $\pm$ 0.83 ^b
7	83.64 $\pm$ 4.65 ^{ab}	127.30 $\pm$ 7.69	11.58 $\pm$ 1.11	7.48 $\pm$ 0.74 ^b
8	80.35 $\pm$ 4.25 ^{ab}	242.26 $\pm$ 9.75	11.85 $\pm$ 1.12	12.78 $\pm$ 0.63 ^b
9	45.54 $\pm$ 1.22 ^{ab}	333.44 $\pm$ 32.72	9.48 $\pm$ 0.66	20.43 $\pm$ 1.39 ^{ab}

注: 同一列数据中有不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Values with different letters at the same column denote significant difference ($P < 0.05$).

血清 SOD 活性对照组为 170.46 U/mL (表 3), 实验组最低值为 116.95 U/mL, 最高值 333.44 U/mL, 多重比较检验血清中 SOD 活性差异不显著 ($P>0.05$)。

对照组 CAT 活力为 20.69 U/mL (表 3), 实验组为 9.48~17.81 U/mL, 与对照组相比较有一定降低, 多重比较检验血清中 CAT 活力没有显著差异 ($P>0.05$)。

对照组 MDA 含量为 32.76 nmol/mL (表 3), 实验组为 6.48~20.43 nmol/mL, 与对照组相比明显下降。多重比较检验实验组 6.48~13.33 nmol/mL, 显示出显著差异 ($P<0.05$), 其中 6.48 nmol/mL 差异极显著 ($P<0.01$)。

2.2 血细胞吞噬能力

实验测定结果 (表 4), 对照组血细胞的吞噬百分率为 0.60%, 吞噬指数 0.023; 实验组血细胞的吞噬百分率为 2.6%~11.47%, 吞噬指数 0.020~0.227, 其中实验组吞噬率和吞噬指数最高值分别为 11.47% 和 0.227, 实验组与对照组相比较吞噬率提高了 18.1 倍, 吞噬指数提高了 9.8 倍。检验结果显示, 实验组与对照组血细胞吞噬指数存在极显著差异 ($|t| = 6.515 > t_{0.01} = 5.841, P < 0.01$)。相关性分析显示: 相关系数 $r = 0.884$ (相关指数 $r^2 = 0.78$), 表示该相关系数达到显著水平, 呈强相关 ($0.67 \leq |r| < 1$)。 $|t| = > t_{0.01}, P < 0.01$)

表 4 试验组与对照组黄鳝吞噬细胞的吞噬能力
Tab.4 Phagocytic function of phagocyte in tested and control groups of field eel

实验组 Group	吞噬率 /% Phagocytic rate	吞噬指数 Phagocytic index
对照组 Control	0.60	0.023
1	5.83	0.078
2	2.60	0.020
3	6.50	0.150
4	5.52	0.125
5	7.00	0.078
6	11.47	0.227
7	11.25	0.211
8	9.83	0.215
9	6.50	0.150

3 讨论

鱼类免疫分为特异性免疫和非特异性免疫, 其中非特异性免疫主要通过物理屏障、吞噬作用和溶菌作用等清除病原和外来异物的入侵。在自然生态条件下, 黄鳝具有极强的生命力和抗病力, 这是长期自然选择的结果。早在 1968 年人们就开始注意到饲料成分对养殖鱼类抗病能力的影响, 当饲料中某种营养物质缺乏或平衡失调会影响鱼类的免疫功能, 导致鱼类对各种寄生虫和病原菌的抵抗力下降^[13]。

LSZ 是鱼类非特异性免疫系统的重要组成部分, 反映了机体非特异性免疫水平。不同鱼类的各种器官组织中 LSZ 含量不同^[14]。血液在鱼体各部位的循环流动能够使 LSZ 分布得更加广泛, 使那些自身不能产生免疫细胞的组织同样可以含有 LSZ^[15]。周小秋等^[16]在保持饵料中不饱和脂肪酸总量不变情况下改变 $n-3$ 与 $n-6$ 比值, 对幼建

鲤 (*Cyprinus carpio var Jian*) 血清 LSZ 活性的影响极显著。曹俊明等^[17]发现向饲料中添加 1% 的 $C_{18:2n-6}$ 和 1% $C_{18:3n-3}$ 或 1% $C_{18:2n-6}$ 和 0.5% 的 C_{n-3} 系列高度不饱和脂肪酸能明显降低草鱼肝胰脏的脂肪含量和升高内脏的脂质水平。鱼类对脂肪的需求有一定的范围, 适量的脂肪能促进鱼类的生长, 脂肪过多则会造成浪费, 甚至还会导致脂肪肝等一系列营养性疾病^[18]。本实验中, 在黄鳝饲料中添加不同比例 UFA, 与对照组相比较血清中 LSZ 有不同程度的提高。这个结果与 Montero 等^[19]认为鱼类血清中的 LSZ 活性与饵料中的脂肪酸构成无关的观点不同。本研究黄鳝血清中 LSZ 活性为 94.90 U/mL ($P < 0.05$) 时, 其饲料中 UFA $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{18:3n-3}$ 和 EPA+DHA 含量分别为 1.30%、1.55% 和 0.25%。

鱼类的血细胞吞噬活性是鱼类非特异性免疫的主要指标之一, 其吞噬能力的高低直接反映出鱼类非特异性免疫能力的大小。本研究中, 当饲料

中 UFA $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{18:3n-3}$ 和 EPA+DHA 含量分别为 1.30%、1.55% 和 0.25% 时,吞噬率和吞噬指数分别为 11.47% 和 0.227 ($P < 0.01$),吞噬率和吞噬指数比对照组分别提高了 18.1 倍和 9.8 倍,相关系数也达到显著水平。

FR 具有高度的化学活性,正常体内 FR 处于不断产生与清除的动态平衡中,是机体有效的防御系统。脂质中 UFA 易受 FR 的破坏发生脂质过氧化反应,严重影响机体生理功能,引起细胞功能的极大紊乱。SOD 和 CAT 等在清除体内多余 FR 能力方面起重要作用。SOD 活性与生物体的免疫水平密切相关,对于增强细胞的防御能力和整个机体的免疫功能具有重要作用^[20-21];CAT 主要参与活性氧代谢过程,使 H_2O_2 发生歧化生成 H_2O 和氧分子,保护生物体组织免受毒害,发挥重要作用^[22-23];MDA 是脂质过氧化反应的最终产物,间接反映了机体细胞受 FR 攻击的严重程度。SOD、CAT 和 MDA 是衡量 FR 代谢状态的主要指标,能比较准确地反映机体内 FR 的代谢情况,反映细胞内清除 FR 即抗氧化的能力,在清除 FR 预防生物分子损伤方面有着十分重要的作用^[24-26]。MDA 含量的明显降低,表示降低了 FR 对 UFA 的氧化作用。CAT 活力的降低显示出抗氧化酶活性增强了机体抗氧化能力,有效地清除了 FR。当黄鳢饲料中 UFA $C_{18:2n-6}$ 、 $C_{18:3n-3}$ 和 EPA+DHA 的添加量为 1.30%、0.55% 和 0.25% 时,黄鳢血清中 FR 的产生和清除以及脂质过氧化的水平均处于相对平衡状态。

4 结论

在黄鳢配合饲料中添加不同比例的 UFA,使黄鳢血清 LSZ 活性和血细胞吞噬能力达到最佳水平的优化组合为 A-2、B-3、C-1,其 $C_{18:3n-3}$ 、 $C_{18:2n-6}$ 和 EPA+DHA 的添加量分别为 1.30%、1.55% 和 0.25%,而此时血清中 FR 代谢水平处于相对平衡状态。

在影响动物体免疫功能的各因素中,营养是最重要和最易调控的因素。利用饲料营养学方法提高水产动物的免疫力和抗病力,是实现健康养殖、生产绿色水产品 and 保证水产养殖业可持续发展的途径。随着脂肪酸营养研究的不断深入,人们逐步认识到脂肪酸是体内活性物质的前体,能发挥特殊的生理功能。对“无公害食品行动计划”的实施和绿色水产品的生产及水产养殖业的可持续发展必将产生深远的影响。

致谢:段金荣、刘波同志帮助处理实验数据,特此致谢!

参考文献:

- [1] 刘平,佟建明. 多不饱和脂肪酸对机体免疫功能影响的研究进展[J]. 动物科学与动物医学,2004,21(5): 39-40.
- [2] Irshad Ali, Steele J E. Hypertrehalosemic hormones Increase the concentration of free fatty acids in trophocytes of the cockroach (*Pevneta clmericana*) fat body[J]. Comp B Hem Physiol, 1997, 118A(4): 1 225 1 231.
- [3] Pilarczyk A. Impact of genetic and dietary factors on immune response of carp[J]. Rozprawy-Akademia-Rolnicza-w-Szczecinie, 1998, 181: 62.
- [4] Puangkaew J, Kiron V, Somamoto T, et al. Watanabe Nonspecific immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) in relation to different status of vitamin E and highly unsaturated fatty acids[J]. Fish & Shellfish Immunol, 2004, 16: 25-39.
- [5] 陶亚雄,林浩然. 黄鳢自然性反转的研究[J]. 水生生物学报, 1991, 15(3): 275-277.
- [6] 杨代勤,陈芳,李道霞,等. 黄鳢食性的初步研究[J]. 水生生物学报, 1997, 21(1): 24-30.
- [7] 杨代勤,陈芳,李道霞,等. 黄鳢的营养素需要量及饲料最适能量蛋白比[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 259-262.
- [8] Halver J E. Formulating practical diets for Fish [M]. Fish Res Bd Can, 1970, 33(4): 1 932 1 939.
- [9] Hulmark D, Steiner H, Rasmuson T, et al. In immunity, purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia* [J]. Eur J Biochem, 1980, 106: 7 16.
- [10] 王雷,李光友,毛远兴. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J]. 海洋与湖泊, 1995, 26(2): 179-185.
- [11] Chen S C, Yoshida T, Adams A, et al. Non-specific immune response of Nile tilapia, *Oreochromis nilotica*, to the extracellular products of *Mycobacterium* spp. and to various adjuvants[J]. J Fish Dis, 1998, 21: 39-46.
- [12] 蒋传葵,金承德. 工具酶的活力测定 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [13] 周兴华,陈建,向泉. 水生动物营养免疫学研究进展[J]. 兽药与饲料添加剂, 2002, 7: 32-34.
- [14] 陈昌福,罗宇良,蔡冰. 饲养水温对草鱼溶菌酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 1996, 3(3): 24 30.

- [15] 龙华. 水生动物 10 种非特异性免疫分子的研究进展 [J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2005, 2 (11): 67-72.
- [16] 周小秋, 李洪琴, 刘汉元, 等. ω 3UFA 和 ω 6UFA 对幼建鲤生产性能和免疫功能的影响 [J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41 (8): 27-29.
- [17] 曹俊明, 刘永坚, 劳彩玲, 等. 饲料中不同脂肪酸对草鱼组织脂质含量和脂肪酸构成的影响 [J]. 动物营养学报, 1997, 9 (3): 36-44.
- [18] 母昌考, 王春琳. 鱼类必需脂肪酸营养研究现状 [J]. 饲料工业, 2003, 24 (6): 44-46.
- [19] Montero D, Kalinowski T, Obach A, et al. Vegetable lipid sources for gilthead seabream (*Sparus aurata*): effects on fish health [J]. Aquaculture, 2003, (225): 353-370.
- [20] 王雷, 李光友, 毛远新, 等. 口服免疫性药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究 [J]. 海洋与湖沼, 1994, 25 (5): 481-486.
- [21] 丁美丽, 林林, 李光友, 等. 有机污染对中国对虾体内外环境的影响研究 [J]. 海洋与湖沼, 1997, 28 (1): 7-12.
- [22] 刘恒, 李光友. 免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究 [J]. 海洋与湖沼, 1998, 29 (2): 113-118.
- [23] Frank V, Eva V, James F D, et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction [J]. Plant Science, 2001, 161: 405-414.
- [24] 李光友. 中国对虾疾病与免疫机制 [J]. 海洋科学, 1995, 4: 1-3.
- [25] 方允中, 李文杰. 自由基与酶 [M]. 北京: 科学出版社, 1994: 67-69.
- [26] 孙虎山, 李光友. 栉孔扇贝血淋巴中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其性质的研究 [J]. 海洋与湖沼, 2000, 18 (6): 20-22.

Effects of non-specific immune and metabolism indices on *Monopterus albus* fed by feedstuff containing unsaturated fatty acids

YANG Yuan-jie, BING Xu-wen, XU Zeng-hong

(Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Open Laboratory for Genetic Breeding of Aquatic Animals and Aquaculture Biology, Ministry of Agriculture, Wuxi 214081, China)

Abstract: The feedstuff containing no fatty acids were added with linoleic acid, linolenic acid and EPA +DHA as additives and then were fed to *Monopterus albus* community from Baoying lake. The activity of lysozyme, catalase, superoxide dismutase, the phagocytic capacity of haemocyte and the content of malondialdehyde were measured. Data from above tests were analysed by SPSS11.5. The results showed that the LSZ content of test group increased to different extent with 94.90 $\mu\text{g/mL}$ as the highest of all test group bearing significant variation ($P<0.05$). The phagocytolytic rate was from 2.6% to 11.47% which increased by 18.1 times. The phagocytolytic index was between 0.020 and 0.227 which increased by 9.8. The phagocytolytic rate and phagocytolytic index had very significant variation ($P<0.01$). The activity of SOD was from 116.95 $\mu\text{g/mL}$ to 333.44 $\mu\text{g/mL}$, but it showed no significant difference between test group and control group ($P>0.05$). The activity of CAT was from 9.48 $\mu\text{g/mL}$ to 17.81 $\mu\text{g/mL}$, but the difference was not remarkable in multiple comparison test ($P>0.05$). The content of MDA was from 6.48 nmol/mL to 13.33 nmol/mL, decreased significantly compared with control group ($P<0.01$), and the value of 6.48 nmol/mL was remarkable lower than others ($P<0.01$). Thus it could be concluded that adding unsaturated fatty acids could affect lysozyme activity of serum and phagocytic capacity of haemocyte. The optimal content of linoleic acid, linolenic acid and EPA +DHA were 1.3%, 1.55% and 0.25% respectively. It was concluded that different proportion of unsaturated fatty acids in feedstuff could improve bacteriolysis and immune functions of *Monopterus albus* and safeguard FR metabolism in serum stay on a balanced status. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (4): 600-605]

Key words: *Monopterus albus*; lysozyme; free radical; phagocyte activity

Corresponding author: BING Xu-wen. E-mail: bingxw@ffrc.cn