

A3 α 肽聚糖对牙鲆不同组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响

周 进^{1,2}, 宋晓玲¹, 黄 健¹, 王秀华¹, 陈国福^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 上海水产大学 生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要: 研究了口服不同剂量的 A3 α 肽聚糖 (A3 α -PG) 对牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 体表粘液和组织中超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、酸性磷酸酶 (Acid phosphatase, ACP) 及碱性磷酸酶 (Alkaline phosphatase, AKP) 活性的影响。饲料中 A3 α -PG 添加量分别为 0 (对照), 0.05%, 0.10%, 0.20%, 0.40%, 0.80% 和 1.60% (质量比), 饲喂天数为 40 d。结果表明, 饲料中未添加 A3 α -PG 时, 牙鲆体表粘液、肾脏、肝脏和肌肉中 SOD、ACP 及 AKP 活性各异, 其中 SOD 活性从高到低依次为粘液、肝脏、肌肉、肾脏; ACP 活性大小依次为肝脏、肾脏、肌肉、粘液; AKP 活性大小依次为肾脏、肝脏、肌肉、粘液中则检测不到 AKP。饲料中添加 A3 α -PG 后, 实验组与对照组相比, 各组织中 SOD 活性变化不大, 未见显著性差异 ($P > 0.05$)。ACP 活性, 肌肉与粘液中未见显著提高; 而在肝脏中 0.05% 和 0.40% (质量比) 剂量组能显著提高其 ACP 活性, 与对照差异显著 ($P < 0.05$); 在肾脏中, 0.20% (质量比) 剂量组使其 ACP 活力得以显著提高 ($P < 0.05$)。AKP 活性呈现不同组织变化趋势各异, 肌肉中没有明显提高, 而在肾脏与肝脏中, 除两个低剂量组 (0.05% 和 0.10%) (质量比) 未能使 AKP 活力得以显著提高外, 其他剂量组与对照组相比均有显著提高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。本次研究结果表明, A3 α -PG 作为一种天然免疫多糖, 能对牙鲆体内氧化酶和水解酶系统产生积极地调理作用, 使其非特异性免疫力得到改善与提高, 可作为免疫增强剂使用, 建议其适宜添加量为 0.20% ~ 0.40% (质量比)。

关键词: A3 α 肽聚糖; 超氧化物歧化酶; 酸性磷酸酶; 碱性磷酸酶; 牙鲆

中图分类号: Q539; Q959.486 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2004)04-0296-06

多糖是一种广谱的非特异性免疫增强剂, 具有增强机体的细胞免疫和体液免疫, 激活巨噬细胞、促进抗体的形成、激活补体及诱导干扰素产生等功能^[1]。而利用免疫多糖来提高养殖生物的免疫功能和机体防御能力, 从而达到防治疾病的目的, 已经为越来越多的研究工作者所重视。目前应用于水产领域的多糖主要有葡聚糖、酵母聚糖、肽聚糖、脂多糖、海藻多糖以及虫草多糖等。类中, 肽聚糖 (Peptidoglycan, PG) 是革兰氏阳性菌细胞壁的主要成分, 近十多年来, 国内外不少学者已对其胞壁结构和生物学活性进行了较为详细的研究。Nagao 等^[2]指出, 由胞壁肽聚糖引起的巨噬细胞活力在动物中有种间差异性; Matsuo 等^[3]证实投喂肽聚糖能促进幼鳗的生长并提高抗病力; Yukinori 等^[4]研究表明用肽聚糖等多糖类饲喂鱼类或甲壳类, 能有效增强其免疫防御能力, 促进其生长; Itami 等^[5]报道, 黄尾鲷 (*Seriola quinqueradiata*) 口服双歧杆菌 PG, 能明显增

强其对杀鲙肠球菌 (*Enterococcus seriokida*) 的抵抗力, 有效控制该病原对黄尾鲷的侵扰, 减少养殖的损失。此外, 孟凡伦等^[6]也报道, 通过肌肉注射乳链球菌 SB900-PG 后, 可激活中国对虾体内的细胞防御体系, 表明利用肽聚糖来提高对虾免疫功能是一条可行的途径。本次实验主要研究了 A3 α -PG 对牙鲆体表粘液及组织中超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性的影响, 以期探讨 A3 α -PG 与牙鲆非特异性免疫力之间的关系, 为疾病防治寻找新的契机, 同时也为鱼类非特异性免疫研究积累基础资料。

1 材料与方法

1.1 A3 α 胞壁肽聚糖

A3 α 胞壁肽聚糖 (A3 α -PG) 由黄海水产研究所病害室从双歧杆菌细胞壁中提取制得。本次实验所用 PG 为非纯品。

收稿日期: 2003-10-08; 修订日期: 2004-01-14.

基金项目: 国家“863”高技术研究发展计划 (2003AA622060) 资助。

作者简介: 周 进, 男 (1977-), 上海水产大学硕士, 主要从事水产病害研究。

通讯作者: 宋晓玲, 黄 健, E-mail: Aquadis@public.qd.sd.cn

1.2 实验动物

实验用牙鲆购自烟台市海阳养殖场, 选择体态健康、无病无畸的个体, 体重为 (39.0 ± 6.1) g, 在实验室水族缸内驯养 3 周后用于实验。

1.3 饵料制备

饲喂饵料选用黄海水产研究所生产的“金海力”牌商品鱼料(粉状), 制粒前拌入 40% 的鲜鱼糜作为粘合剂。A3 α -PG 先与鱼糜充分混合, 再一同与粉状商品料逐级均匀混合, 以确保所加 A3 α -PG 在饲料中的均一性。添加入饲料中的 PG 水平(质量比)分别为 0(对照)、0.05%、0.10%、0.20%、0.40%、0.80% 和 1.60%。借用小型制粒机制成适口的湿颗粒饵料, 于 -18°C 保存, 室温解冻后投喂。

1.4 实验设计与投喂

实验共分 6 个实验组和 1 个对照组, 每组牙鲆 32 尾, 分养于 7 个体积为 550 L 水族缸内。实验全过程采用微流水养殖(日换水量约为 300%), 连续充气($\text{OD} \geq 7.0$ mg/mL), 日吸底排污 2 次。实验期间水温 $(17 \pm 3)^{\circ}\text{C}$, pH 7.2 ± 0.2 。日投饵 2 次(9:00 am, 16:00 pm), 投饵量约为鱼体重的 4% (质量比)。

1.5 样品的制备

实验至 40 d 后, 各组统一取样, 其中肝脏、肾脏(文中指头肾)、肌肉的获取采用常规法, 体表粘液的收集参照陈昌福等^[7]和 Irie 等^[8]的方法进行。先用洁净海水冲洗鱼体表, 去除部分污物, 后用灭菌生理盐水洗涤 1~2 次, 再用吸水纸吸掉多余水分。用洁净玻片从鱼体鳃盖后缘开始轻轻刮取体表粘液, 将 Eppendorf 管置于鱼体尾部, 借助重力收集粘液入管内。

1.6 样品的处理

组织匀浆, 分别取牙鲆的肌肉、肝脏和肾脏, 经灭菌生理盐水润洗, 用吸水纸吸去表面水分并称重, 取各组织块 0.2 g, 加入组织块重 9 倍体积的生理盐水(1.5%)中, 冰浴匀浆后于 4°C 条件下离心($10\,000$ r/min, 20 min), 取上清液待测。粘液的处理, 先将收集有粘液的 Eppendorf 管于 4°C 冰箱放置 2~4 h, 或 4°C 下低速离心, 用枪头吸掉管底部的重力水, 称重, 记录数据。以空 Eppendorf 管(20 个管的平均值)扣除管的重量后, 将所得的粘液净重, 同样加入 9 倍重量的生理盐水, 匀浆、离心。后续操作同上。

1.7 组织蛋白含量及酶活力检测方法

各组织中蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法, 以牛血清白蛋白为标准。

SOD、ACP 和 AKP 活力测定, 均采用南京建成生物公司提供的检测试剂盒, 相应操作参照说明书进行。其中, SOD 活力按黄嘌呤氧化酶法, 活力单位定义为每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中抑制 SOD 率达 50% 时, 所对应的 SOD 量为一个亚硝酸盐单位 (NU/mg Protein)。ACP 和 AKP 活力的测定采用磷酸苯二钠法, 以每 g 组织蛋白在 37°C 与底物作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个单位 (U/g Protein)。

1.8 数据统计

数据采用 SPSS11.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 实验结果以 $\text{Mean} \pm \text{SD}$ ($n = 4$) 计。

2 结果

2.1 A3 α -PG 对牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中 SOD 活性的影响

在未添加 A3 α -PG 时, 不同组织中的 SOD 活力大小是各异的。从大到小依次为粘液、肝脏、肌肉、肾脏。然而, 在添加了 PG 后, 各组织中的 SOD 活力也未见明显变化, 经统计分析, 不同组织中的 SOD 活性与对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$) (图 1)。但是在肝脏与肌肉中, 实验组之间存在个别差异显著现象(肝脏, 0.10% 组和 1.60% 组; 肌肉, 0.80% 和 1.60% 组) ($P < 0.05$)。

2.2 A3 α -PG 对牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中 ACP 活性的影响

图 2 中可以看出, 未投喂 A3 α -PG 时, 牙鲆各组织中 ACP 活性各不相同, 其中以肝脏中活性最高, 肾脏次之, 肌肉和粘液中含量最低。添加 PG 后, 组织中 ACP 活力呈现不同的变化趋势。从肝脏中来看, 总体为上升趋势, 实验组 ACP 活性与对照组相比有不同程度的提高, 经显著性检验, 在 0.05% 和 0.40% (质量比) 两个剂量组, 与对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05$), 而其他组无显著差异 ($P > 0.05$)。同样在肾脏中, 也仅见 0.20% (质量比) 剂量组与对照组有显著差异 ($P < 0.05$), 其余各组无明显变化。然而, 肌肉与粘液中的 ACP 活性, 实验组与对照组相比无明显提高, 差异不显著 ($P > 0.05$)。

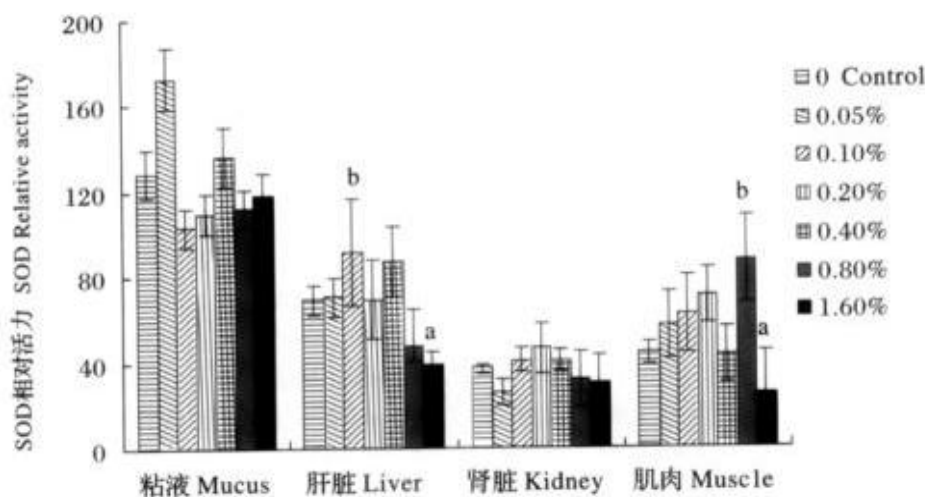


图1 A3 α -PG(不同添加量)对牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中SOD活性的影响

注:误差用标准误差表示,b与a表示组间差异显著($P < 0.05$)

Fig.1 Effect of A3 α -PG (Different additional level) on SOD activities in different tissues of flounder

Note: Error bars represent SD; a and b mean significantly different between groups

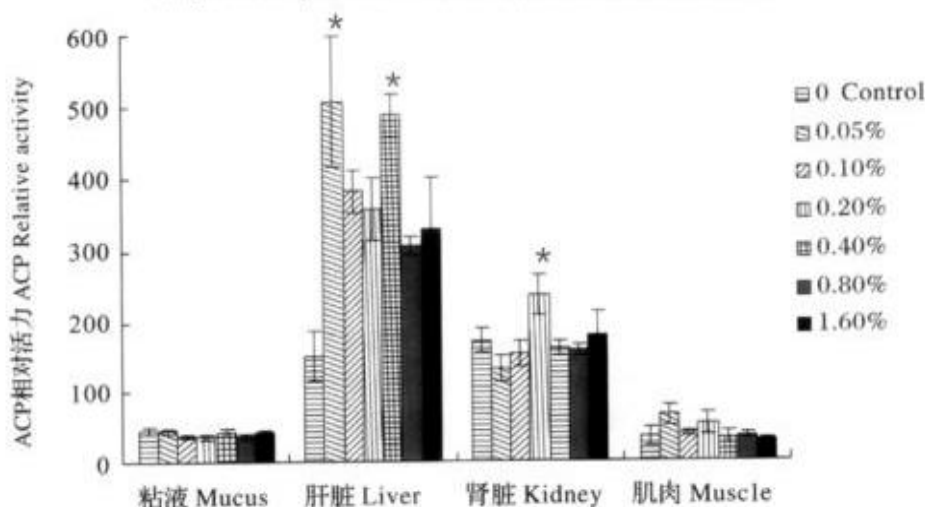


图2 A3 α -PG(不同添加量)对牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中ACP活性的影响

注:误差用标准误差表示,* $P < 0.05$ 与对照相比

Fig.2 Effect of A3 α -PG (Different additional level) on ACP activities in different tissues of flounder

Note: Error bars represent SD; significantly different compare with control ($P < 0.05$)

2.3 A3 α -PG对牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中AKP活性的影响

从牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中AKP活性的测定结果(图3)来看,在未添加PG的情况下,不同组织中AKP活性各异,其中以肾脏中AKP活力最高,肝脏次之,肌肉中最低,粘液中则检测不到AKP活力。而添加了PG的实验组,除肌肉中无明显变化外,在肾脏和肝脏中,各剂量组与对照组相比

其AKP活力均有提高。统计分析表明,肾脏中除2个低剂量组外(0.05%和0.10%,质量比),其余各组与对照组相比,均有显著差异($P < 0.05$)。其中尤以0.20%(质量比)剂量组增幅最大。同样,肝脏中AKP活力,0.10%、0.40%、0.80%和1.60%(质量比)剂量组与对照组相比具有显著差异,其中0.80%(质量比)组提高了近3.5倍,与对照差异极显著($P < 0.01$)。

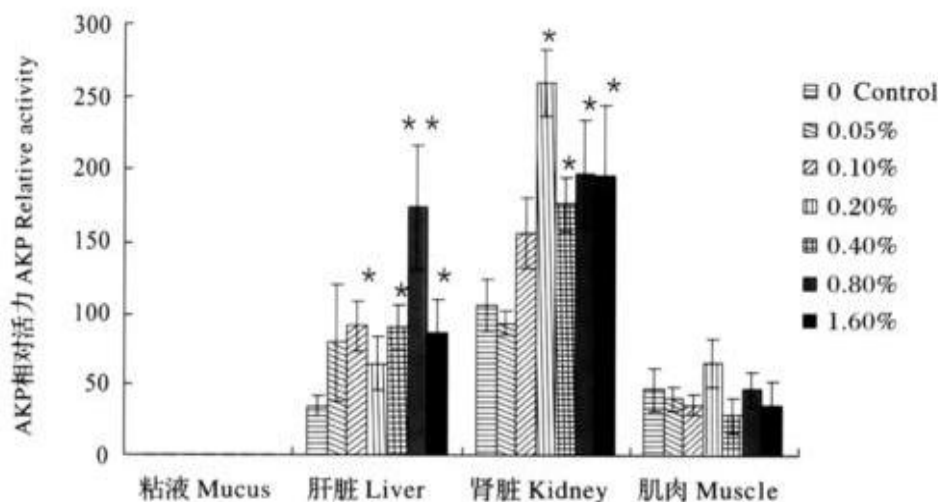


图3 A3 α -PG (不同添加量) 对牙鲆体表粘液、肝脏、肾脏及肌肉中 AKP 活性的影响

注: 误差用标准误差表示, * $P < 0.05$ 与对照相比, ** $P < 0.01$ 与对照相比

Fig. 3 Effect of A3 α -PG (Different additional level) on AKP activities in different tissues of flounder

Note: Error bars represent SD; * Significantly different compared with control; ** Very significantly different compared with control

3 讨论

超氧化物歧化酶是生物体内一种重要的抗氧化酶,可以清除体内多余的自由基,使自由基的产生与消除处于一个动态平衡中,从而免除自由基对生物分子的损伤,并对延缓衰老有重要意义^[9]。研究发现, SOD 活性与生物体的免疫水平密切相关,对于增强巨噬细胞的防御能力和整个机体的免疫功能有重要作用,常用来评判免疫调节剂对机体非特异性免疫力的影响^[10-12]。

本次研究结果表明,未投喂 A3 α -PG 的对照组中,牙鲆各组织中 SOD 活性不同,以粘液中最高,肝脏中次之,肌肉和肾脏中相对较低。这主要是由于粘液作为机体免疫保护的第一道屏障,不仅担负着润滑鱼体,维持体内渗透压,而且在防御超氧化物阴离子($O_2^{\cdot-}$)毒性,抗外界损伤方面扮演着重要角色^[13]。这就需要较强的抗氧化体系,以维护内环境的正常生理功能^[13-14]。而肝脏中表现出的较高 SOD 活性,主要与肝脏中脂类含量丰富有关。肝脏中所积累的大量脂肪酸携带有较多的自由基,需要较强的抗氧化酶系统,以维护肝脏的正常代谢^[9,15-16]。而投喂了 A3 α -PG 的实验组,其相应组织中 SOD 活性变化不明显,这一结果与王秀华^[17]研究 A3 α -PG 对日本对虾抗氧化系统影响的结果一致。刘恒等^[11]则报道免疫多糖投喂凡纳对虾,其血淋巴内的 SOD 活力有一定的提高。而艾春香

等^[15-16]研究表明, V_C 和 V_E 作用于河蟹,其组织中 SOD 活性呈下降趋势。另据牟海津等^[18]研究证实,采用海藻多糖和虫草多糖刺激栉孔扇贝,其血清和血细胞中 SOD 活性有提高,而在肝脏提取液中 SOD 变化不大。究其原因,本研究者可以认为,不同的免疫增强剂对不同种属其相应组织中的 SOD 活力,其调节能力各异。另外,基于本次的研究结果,可初步认为, A3 α -PG 对调节牙鲆上述组织中的抗氧化能力是有限的。

作为高等动物体内巨噬细胞溶酶体的标志酶 - 酸性磷酸酶,在体内直接参与磷酸基团的转移与代谢,主要存在于生物体各脏器、血细胞和骨髓当中^[19]。本次实验发现,未添加 PG 的实验组,各组织中的 ACP 活性以肝脏中最高,肾脏中次之,肌肉与粘液中最低。这一结果与牟海津等^[18]研究栉孔扇贝 ACP 的分布,及艾春香等^[15-16]研究河蟹组织中 ACP 活性的情况基本一致。也与高等脊椎动物体内 ACP 在不同组织中的分布大体相同^[20]。添加肽聚糖后,肌肉与粘液中 ACP 活力实验组与对照组基本一致,仅在肝脏(0.05% 和 0.40% 组)和肾脏(0.20% 组)中有显著提高($P < 0.05$),而其他剂量组,虽与对照比有部分提高,但未见显著差异。究其原因,一方面是由于 ACP 存在明显的组织差异性,另一方面可能是由于酶活力在个体间存在差异的缘故。酸性磷酸酶是一种重要的水解酶,亦是溶酶体酶的重要组成部分,在鱼类等低等脊椎动物及软体

动物中,溶酶体酶具有防御和消化的双重作用,它的水解作用成为机体攻击异物的主要机制之一,在酸性条件下,ACP可通过水解作用将表面带有磷酸酯的异物破坏清除掉^[21]。免疫诱导 ACP 活性的提高,有不少实验证实了这一结果^[6,11,15-16,18]。但其活性的提高与免疫制剂的种类、实验动物的种属以及实验条件有关。Cheng^[22]认为,软体动物及低等无脊椎动物的溶酶体酶是一种可诱导的“保护性”体液因子,起着与高等动物获得性体液免疫相似的作用,然而这些酶的存在是先天性的,属非特异性免疫因子,诱导作用只能提高其合成的数量和活性,但受到一定条件的制约。

实验结果还表明,适量添加 A3 α -PG 能增强牙鲆相应组织中 AKP 活性,且在一定的范围内,随着 PG 含量的增加,AKP 活性增强。没有添加 PG 的对照组,AKP 在组织中的分布也表现出较大的差异性,其差异从大到小依次为肾脏、肝脏、肌肉、粘液,这可能与头肾作为免疫器官有关,而肝脏中较高 AKP 活性的原因,是因为在脊椎动物中,它与骨髓一同构成体液(如血清)中 AKP 的主要来源^[19]。添加 PG 的实验组,AKP 活性在肌肉中没有明显变化,而在肾脏与肝脏中,除 2 个低剂量组(0.05% 和 0.10% 质量比)外,其余各组活性有显著提高($P < 0.05$)。肾脏中增幅最大的为 0.20% (质量比)组,升高百分率达 159.7%,在肝脏中增幅最大的是 0.80% 组,比对照组提高了近 3.5 倍,显示出极显著差异($P < 0.01$)。但当饲料中 A3 α -PG 含量上升为 0.40%~1.60% (质量比)时,牙鲆肾脏中 AKP 活性反而不及 0.20% (质量比)组。同样肾脏中 AKP 活性,最高剂量组 1.60% (质量比)要低于 0.80% (质量比)组。这是否意味着饲料中 A3 α -PG 含量过高,反而影响了机体的正常代谢从而抑制了 AKP 活性,其原理还有待于进一步研究。运用多糖类物质提高生物体 AKP 活性,已有过不少报道^[6,17,23-25]。AKP 是一种重要的水解酶,能直接参与有机磷的代谢,亦与 DNA、蛋白质及脂类的代谢有关。它对钙质的吸收、骨骼的形成具有重要作用。AKP 水平的提高,可以加速牙鲆相应组织的物质代谢,为 ADP 磷酸化形成 ATP 提供所需的无机磷,积累更多能量,从而促进牙鲆生长,也间接增强了其非特异性免疫能力。

SOD、ACP 和 AKP 是机体重要的体液免疫指标,在机体防御过程中起积极作用。添加了 A3 α -

PG 能部分改善牙鲆组织中 SOD 活性,并能显著提高其相应组织的 ACP 和 AKP 活力,对牙鲆非特异性免疫力有明显的调节作用。由此可见,A3 α -PG 在促进牙鲆健康生长的同时,在一定程度上也提高了其非特异性免疫功能。标示着该多糖可作为一种有效的免疫增强剂应用在养殖中。据本研究结果,结合实验室前期工作,并从经济学角度考虑,建议其适宜添加量为 0.20% 到 0.40% (质量比)。

致谢:实验期间得到集美大学陈政强副教授的大力帮助和黄海水产研究所梁萌青研究员提供的设备支持,在此谨表谢意!

参考文献:

- [1] Masahiro S. Current research status of fish immunostimulants[J]. Aquaculture, 1999, 172: 63-92.
- [2] Nagao S. Microbiol [J]. Immunol, 1992, 36(11): 155-171.
- [3] Mutsuo K, Miyazano I. The influence of long-time administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1993, 59: 1377-1379.
- [4] Yukinori T, Kobayashi M. Peptidoglycan of gram-negative bacteria, yeast and fungus in feed for fish and crustacean [J]. Kikai Tokkyo Koho, 1992, 3(3): 14.
- [5] Itami T, Kondo M, Uozu M, et al. Enhancement of resistance against *Enterococcus seriolicida* infection in yellowtail, *Seriola quinqueradiata* (Temminck and Schlegel), by oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum* [J]. J Fish Dis, 1996, 19: 185-187.
- [6] 孟凡伦,马桂荣,孔健. 乳链球菌 SB900 肽聚糖对中国对虾免疫功能的影响[J]. 山东大学学报(自然科学版), 1999, 34(1): 88-93.
- [7] 陈昌福,罗宇良,蔡冰,等. 实验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.
- [8] Irie T, Watarai S, Kodama H. Humoral immune response of carp (*Cyprinus Carpio*) induced by oral immunization with liposome-entrapped antigen [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2003, 27: 413-421.
- [9] 方允中,李文杰. 自由基与酶[M]. 北京:科学出版社, 1994, 67-69.
- [10] 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]. 海洋与湖泊, 1994, 25(5): 481-486.
- [11] 刘恒,李光友. 免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究[J]. 海洋与湖泊, 1998, 29(2): 113-118.
- [12] 丁美丽,林林,李光友,等. 有机污染对中国对虾体内环境的影响研究[J]. 海洋与湖泊, 1997, 28(1): 7-12.
- [13] 梁明山,刘煜,曾宇,等. 泥鳅体表粘液超氧化物歧化酶的发现[J]. 西南农业学报, 1999, 12(4): 120-121.
- [14] 罗克. 动物粘膜免疫系统研究进展[J]. 福建畜牧兽医.

- 2000, 22(5): 44-49.
- [15] 艾春香, 陈立侨, 高露娇, 等. V_C 对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响[J]. 台湾海峡, 2002, 21(4): 431-438.
- [16] 艾春香, 陈立侨, 高露娇, 等. V_E 对河蟹血清和组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响[J]. 台湾海峡, 2003, 22(1): 24-31.
- [17] 王秀华. 肽聚糖对对虾免疫因子的作用及其在对虾养殖中的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2003. 18-47.
- [18] 牟海津, 江晓路, 刘树青, 等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(3): 463-468.
- [19] 朱忠勇. 实用医学检验学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1997. 368-378.
- [20] 宋善俊. 临床医师手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 185-200.
- [21] 陈竞春, 石安静. 贝类免疫学研究概况[J]. 水生生物学报, 1996, 20(1): 74-78.
- [22] Cheng T C. The role of lysosomal hydrolases in molluscan cellular response to immunologic challenge[J]. Comp Pathobiol, 1978, 4: 59-71.
- [23] 王宏田, 张培军. 重组酵母菌对牙鲆非特异性免疫能力的影响[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(6): 631-635.
- [24] 孙虎山, 李光友. 脂多糖对栉孔扇贝血清和细胞中7种酶活性的影响[J]. 海洋科学, 1999, 4: 54-57.
- [25] 刘树青, 江晓路, 牟海津, 等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 278-283.

Effect of A3 α peptidoglycan (PG) on SOD, ACP, and AKP activities in different tissues of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*

ZHOU Jin^{1,2}, SONG Xiao-ling¹, HUANG Jie¹, WANG Xiu-hua¹, CHEN Guo-fu^{1,2}

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Biology Science & Technology College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The A3 α peptidoglycan (A3 α -PG) was prepared from *Bifidobacterium thermophilum*. Peptidoglycan is a long-chain polysaccharides and is a good stimulator of non-specific defence mechanism in animals including fish. The effect of A3 α -PG on superoxide dismutase (SOD), acid phosphatase (ACP) and alkaline phosphatase (AKP) activities in different tissues of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, an important seawater fish used in intensive farming, was studied by supplying various A3 α -PG levels in diets. The purpose of this study was to determine if peptidoglycan administration could enhance the activity of antioxidant and hydrolytic enzyme. The experimental dietary levels of A3 α -PG were 0 (control), 0.05%, 0.10%, 0.20%, 0.40%, 0.80% and 1.60% (w/w) respectively. After 40 days feeding, the results indicated that the activities of SOD were mucus > liver > muscle > kidney, the activities of ACP liver > kidney > muscle > mucus and the activities of AKP kidney > liver > muscle in control (without supplying A3 α -PG). The activity of AKP in mucus were not detected. Compared with control, the SOD activity was unaffected in different tissues at different A3 α -PG levels. The activities of ACP were not observed significant increases in muscle and mucus, while in liver, when A3 α -PG supplement levels were 0.05% and 0.40% (w/w), the activities of ACP significantly increased ($P < 0.05$). The same phenomenon was observed in kidney when A3 α -PG supplement level was 0.20% (w/w). The activities of AKP, there were various in the different tissues. The AKP activity in muscle tissue was not enhanced obviously. While those of in kidney and liver were significantly promoted with A3 α -PG supplement increasing in the range from 0.20% to 1.60% (w/w) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In conclusion, as an immunopolysaccharide, A3 α -PG can regulate the antioxidant enzyme and hydrolytic enzyme, and improve the non-specific immunity. For the immunomodulatory effect of A3 α -PG. Taking the economy and efficiency into account, it is suggested that the feasible dosage should be 0.20% - 0.40% (w/w).

Key words: A3 α peptidoglycan; superoxide dismutase; acid phosphatase; alkaline phosphatase; *Paralichthys olivaceus*

Corresponding author: SONG Xiao-ling, HUANG Jie. E-mail: Aquadis@public.qd.sd.cn