

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.01308

饲料中添加重组抗菌肽对吉富罗非鱼生长性能及免疫力的影响

姜珊^{1,2}, 王宝杰¹, 刘梅¹, 蒋克勇¹, 官魁^{1,2}, 王雷¹

1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071;

2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049

摘要: 以吉富罗非鱼(genetically improved farmed tilapia, GIFT)幼鱼(体质量 $10.68 \text{ g} \pm 0.53 \text{ g}$)为研究对象, 在实验饲料中分别添加 0、5、10、20、50 mg/kg 重组中国明对虾抗菌肽以及 100 mg/kg 氟苯尼考, 并于实验结束时进行注射攻毒(嗜水气单胞菌)。通过 8 周的养殖实验, 研究了饲料中添加抗菌肽对吉富罗非鱼幼鱼的生长性能、免疫指标以及攻毒实验的影响。结果显示, 饲料中添加 5 ~ 10 mg/kg 抗菌肽可以显著提高罗非鱼的增重率、红细胞总数以及过氧化氢酶的活性, 当添加量为 5 mg/kg 时, 特定生长率最高; 当添加量为 50 mg/kg 时, 肝脏的超氧化物歧化酶与血清中溶菌酶活性较对照组显著降低($P < 0.05$); 添加 100 mg/kg 氟苯尼考组较对照组能显著提高红细胞总数; 当添加量为 5 ~ 20 mg/kg 时, 嗜水气单胞菌攻毒后的死亡率显著降低($P < 0.05$), 以 5 mg/kg 组存活率最高, 氟苯尼考组差异不显著。结论认为, 饲料中添加适量重组抗菌肽对幼鱼有一定的促生长作用, 并能提高部分免疫指标以及攻毒后的存活率, 但过高剂量的抗菌肽对幼鱼的生长与部分酶指标有一定的负面影响, 因此建议抗菌肽的添加量不超过 20 mg/kg。本研究旨在为对虾抗菌肽在罗非鱼饲料中的合理应用提供实验依据。

关键词: 重组抗菌肽; 吉富罗非鱼; 生长; 免疫; 攻毒实验

中图分类号: S943

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)06-1308-07

抗菌肽是广泛存在于细菌、动植物体内的一类小分子多肽, 具有广谱杀灭细菌、真菌、病毒、肿瘤和原虫等作用, 是先天性免疫的重要组成部分^[1-2]。作为一种新型的抗菌制剂, 具有无耐药性、无污染等优点, 随着研究的深入, 愈有替代抗生素之势^[3]。目前已有实际应用的抗菌肽有蝇蛆抗菌肽、天蚕素、蜂毒素以及其他商业化的产品^[4-6]。

目前对抗菌肽在养殖中的应用研究主要集中在畜禽养殖与对虾养殖中, 评价指标主要是生长性能、免疫相关指标、肠道微生物菌群、血液常规指标等^[4, 7-10]。但应用于鱼类养殖的研究较少且主要集中在评测抗菌肽对鱼体生长性能的影响上^[11]。在确定重组中国明对虾抗菌肽体外抑菌活性的基

础上, 本研究旨在探讨饲料中添加不同剂量抗菌肽对罗非鱼幼鱼生长性能及免疫力的影响。

1 材料与方法

1.1 重组抗菌肽的制备

抗菌肽为重组毕赤酵母表达的中国明对虾抗菌肽-对虾素 3-2, 该蛋白等电点为 9.414, 分子量约 7.7 kD, C 末端有 6 个丝氨酸, 形成 3 个分子内二硫键, N 末端有 3 个脯氨酸与 6 个甘氨酸。该表达体系由本实验室构建, 经 20 L 发酵罐发酵后, 将发酵液离心, 收集上清液, 15% Tricine SDS-PAGE 电泳后, Quantity One 软件分析条带, 分析得知重组对虾素占总蛋白含量的 40%, Bradford

收稿日期: 2011-03-22; 修订日期: 2011-05-10.

基金项目: 国家 863 计划资助项目(2006AA100311).

作者简介: 姜珊 (1983-), 女, 博士研究生, 研究方向为水产病害防治. E-mail: jiangshan.foru@163.com

通信作者: 王雷, 研究员, 博士生导师. E-mail: wanglei@ms.qdio.ac.cn

试剂盒测定蛋白质量浓度为 0.25 mg/mL, 因此抗菌肽的质量浓度约为 0.1 mg/mL。对对虾素 3-2 的体外抑菌活性进行分析, 得出其对嗜水气单胞菌的最小抑菌浓度 MIC 为 0.525 μmol/L(待发表)。

1.2 实验设计与饲料

基础饲料为市售商品化的罗非鱼饲料(江苏天福莱集团公司), 为膨化浮性颗粒饲料, 主要营养成分见表 1。在 1 kg 基础饲料的基础上分别添加 5、10、20、50 mg 的对虾素 3-2, 对照组 1 为添加了 100 mg 的氟苯尼考(郑州瑞达药业)的饲料, 对照组 2 为基础饲料。将所添加的制剂喷洒于颗粒饲料表面, 自然阴干后, 用 250 mL 0.5% 的海藻酸钠包埋, 自然阴干, 备用。

表 1 基础饲料的组成(风干基础)

Tab. 1 Basic composition of basal diet (air-dry basis) %		
组成 composition	含量 contents	%
粗蛋白 crude protein	34.3	
粗灰分 crude ash	12.5	
粗纤维 crude fiber	6.3	
钙 calcium	1.8	
总磷 total phosphorus	1.2	
食盐 common salt	1.9	
水分 moisture	11.5	
赖氨酸 lysine	1.9	

1.3 实验鱼与饲养管理

吉富罗非鱼(genetically improved farmed tilapia, GIFT)购自山东胶州罗非鱼良种场, 选用 1 200 尾体长(8.16±0.19) cm, 体质量(10.68±0.53) g 的健康罗非鱼, 分为 6 个处理组, 每个实验组 2 个重复, 每个重复 100 尾鱼, 驯化暂养 7 d。实验鱼饲养在含 0.8 m³ 水的圆型水槽中, 持续充氧, pH 7.91±0.03, 水温(23±1)℃, 溶氧(5.81±0.07) mg/L, 氨氮(0.10±0.01) mg/L, 光照时间 12L 12D。每天投喂饲料 3 次, 时间分别为 8:00、13:00、18:00, 日投喂率为罗非鱼体质量的 1.5%~2%, 视摄食情况进行调整, 投饵 1.5 h 后清理残饵与粪便, 每天换水 1/3, 实验周期为 56 d。

1.4 样品采集

饲养结束后, 统计罗非鱼的死亡率。每组随机

取 5 尾鱼, 尾静脉采集血液, 分别制备血清与测定血细胞总数, 分离肝脏与脾脏制备肝脾匀浆液。

1.5 指标测定与分析方法

1.5.1 生长性能指标测定 各指标计算公式如下:

增重率 (weight gain rate, WGR, %) =(终末体质量量-初始体质量量) × 100/初始体质量。成活率 (survival rate, SR, %) =实验结束时鱼尾数 × 100/实验开始时鱼数。特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) =(ln 终末平均体质量-ln 初始体质量)/饲养天数 × 100。

1.5.2 生理生化指标测定 白细胞、血小板、红细胞、血红蛋白数由 BC-2800 全自动血细胞分析仪(武汉勤康医疗设备有限公司)测定。

称取一定量的肝脏, 加入 9 倍质量预冷的生理盐水, 冰水浴中匀浆, 制成 10% 的匀浆液, 5 000 r/min 离心 15 min, 分离上清。采用南京建成生物研究所的测定盒测定测定超氧化物歧化酶(SOD)与过氧化物酶(CAT)活性。

用上述同样方法制成 10% 的脾匀浆液, 脾与血清中溶菌酶(LZM)活性的测定与计算方法参照陈玉春的方法^[12]。

1.5.3 攻毒实验 实验用嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)购自中国普通微生物菌种保藏管理中心, 接种于营养琼脂培养基进行菌苗的复壮, 挑取少量菌落于营养肉汤培养基中, 30℃ 培养 18 h 后, 用灭菌生理盐水清洗后, 4 000 r/min 离心 5 min, 收集菌体稀释到适宜浓度。养殖实验结束后, 每个实验组随机取 15 尾罗非鱼进行攻毒实验, 每个实验组两次重复。用无菌注射器从肛门前 5 mm 处向腹腔注射 10⁶ CFU/g 鱼体的嗜水气单胞菌, 统计 5 d 内鱼体的死亡量情况, 计算死亡率(mortality rate, MR)。

1.6 数据统计与分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 结果以平均值($\bar{x}$) ± 标准误差(SE)表示。显著水平为 P=0.05。

2 结果与分析

2.1 罗非鱼幼鱼的生长情况

抗菌肽对罗非鱼幼鱼生长性能的影响见表 2。

表 2 不同处理对罗非鱼增重率以及特定生长率的影响
Tab. 2 Effects of different groups on growth and feed efficiency in tilapia (GIFT)

$n=4; \bar{x} \pm SE$

指标 index	氟苯尼考/(mg·kg ⁻¹) florfenicol		抗菌肽/(mg·kg ⁻¹) antimicrobial peptide			
	100	5	10	20	50	对照组 control
初始体质量/g initial weight	10.47±0.05 ^a	10.64±0.06 ^a	10.91±0.11 ^a	10.90±0.02 ^a	10.62±0.19 ^a	10.55±0.12 ^a
终末体质量/g final weight	18.70±0.17 ^c	21.30±0.36 ^a	19.70±0.31 ^c	18.97±0.26 ^{de}	18.29±0.12 ^c	18.62±0.12 ^c
成活率/% SR	97.5±0.5 ^{ab}	98.5±0.5 ^a	97.5±0.5 ^{ab}	97.5±0.5 ^{ab}	97 ^{ab}	96.5±0.5 ^b
增重率/% WGR	77.08±1.56 ^{cd}	99.79±3.39 ^a	82.28±2.89 ^c	75.60±2.46 ^{de}	71.84±1.20 ^c	75.60±1.31 ^{de}
特定生长率/ (%·d ⁻¹) SGR	1.04±0.02 ^c	1.4±0.03 ^a	1.05±0.03 ^c	0.99±0.02 ^{cd}	0.97±0.02 ^d	1.01±0.02 ^{cd}

注：表中同行中肩注相邻字母表示各组间差异显著 ($P<0.05$)；相间字母表示各组间差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: In the same line, the adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and the isolated letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$).

由表 2 可见, 5 mg/kg 添加组的终末体质量极显著地高于其余各组, 当添加量升高到 20 mg/kg 时, 与对照组差异不显著, 但 50 mg/kg 组的终末体质量低于其余各组; 5 mg/kg 添加组幼鱼的成活率显著高于对照组, 其余各组差异不显著。随着抗菌肽添加量的增加, 幼鱼的增重率逐渐下降, 5 mg/kg 组的增重率极显著高于其余各组, 10 mg/kg 组显著高于其余添加组, 但与氟苯尼考组差异不显著; 特定生长率的变化趋势与增重率相似, 不同的是 10 mg/kg 组除与 5 mg/kg 差异极显著外与其余各组差异均不显著。

2.2 罗非鱼幼鱼的生理生化指标

2.2.1 血液常规指标 抗菌肽对罗非鱼幼鱼生理生化指标的影响见表 3。由表 3 可以看出, 随着抗菌肽添加量的增加, 白细胞数量呈现递减的趋势, 50 mg/kg 组显著低于 5 mg/kg 组与氟苯尼考组, 与对照组差异不显著; 血小板总数随着抗菌肽剂量的升高而升高, 50 mg/kg 组达到最大, 各组间差异不显著; 随着剂量的升高红细胞总数总体呈现下降的趋势, 当饲料中抗菌肽的添加量大于 10 mg/kg 时, 红细胞总数与对照组差异不显著, 氟苯尼考组显著高于对照组; 由于血红蛋白是血细胞中的一种蛋白, 所以两者变化趋势相似, 20 mg/kg 组的血红蛋白浓度显著低于 5 mg/kg 组与

氟苯尼考组, 其余各组间差异不显著。

2.2.2 肝脏中超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 CAT 活性与血清溶菌酶 LYM 活性 抗菌肽对肝脏抗氧化酶以及血清中 LYM 的影响见表 4。由表 4 可见, 当添加量为 5 mg/kg 时 CAT 的活性最高, 显著高于 20 mg/kg、50 mg/kg 以及对照组, 与 10 mg/kg 与氟苯尼考组差异不显著; SOD 活性的变化趋势同 CAT 相似, 但 50 mg/kg 组显著低于其余各组; 饲料中添加氟苯尼考时血清中 LYM 的活性最高, 随着抗菌肽添加量的升高, LYM 活性升高, 以 20 mg/kg 组活性最高, 50 mg/kg 的 LYM 活性显著低于其余各组, 其余各组之间差异不显著。

2.3 攻毒实验

饲料中添加抗菌肽对嗜水气单胞菌攻毒实验的影响见表 5。由表 5 可以看出, 饲料中添加适量抗菌肽可以显著降低攻毒死亡率, 但当添加量为 50 mg/kg 时死亡率与对照组差异不显著; 氟苯尼考组的死亡率稍低于对照组, 并且差异不显著。

3 讨论

3.1 饲料中添加抗菌肽对罗非鱼幼鱼增重率和特定生长率的影响

抗菌肽作为一种新型饲料添加剂, 已经在畜牧业中得到应用^[4, 13], 有研究表明, 在肉鸭日粮中添加蚕抗菌肽 AD-酵母制剂可以促进肉鸭的生长^[14]。在水产养殖方面, 宋理平等^[15]在凡纳滨对

表 3 不同处理组对罗非鱼部分血液常规指标的影响
Tab. 3 Effects of different groups on white blood cell (WBC), blood platelet (PLT), red blood cell (RBC) and hemoglobin (HGB) in tilapia (GIFT)

指标 index	氟苯尼考/(mg·kg ⁻¹) florfenicol		抗菌肽/(mg·kg ⁻¹) antimicrobial peptide			
	100	5	10	20	50	对照组 control
白细胞/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹) WBC	84.60±9.70 ^a	87.70±7.00 ^a	68.50±5.20 ^{ab}	60.95±7.15 ^{ab}	55.65±6.35 ^b	66.20±10.30 ^{ab}
血小板/ (×10 ⁹ ·L ⁻¹) PLT	105.33±16.15 ^a	101.25±14.35 ^a	105.00±13.71 ^a	106.25±9.88 ^a	113.50±20.77 ^a	109.00±7.51 ^a
红细胞/ (×10 ¹² ·L ⁻¹) RBC	2.21±0.29 ^a	2.40±0.04 ^a	1.95±0.12 ^a	1.71±0.13 ^b	1.84±0.09 ^b	1.85±0.16 ^b
血红蛋白/ (g·L ⁻¹) HGB	130.50±14.50 ^{ab}	138.50±1.50 ^{ab}	109.50±1.50 ^{bc}	98.00±2.00 ^c	110.50±9.50 ^{abc}	114.50±10.50 ^{abc}

注: 表中同行中肩注相邻字母表示差异显著 ($P<0.05$); 相间字母表示差异极显著 ($P<0.01$).
Note: In the same line, the adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and the isolated letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$).

表 4 不同处理组对肝脏中 CAT、SOD 活性以及血清中 LZM 活性的影响
Tab.4 Effects of different groups on enzyme activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in liver and lysozyme (LZM) in serum

指标 index	氟苯尼考/(mg·kg ⁻¹) florfenicol		抗菌肽/(mg·kg ⁻¹) antimicrobial peptide			
	100	5	10	20	50	对照组 control
CAT	801.08±36.65 ^{ab}	1216.53±100.18 ^a	1199.43±167.08 ^a	895.85±60.75 ^{ab}	661.83±229.151 ^b	780.73±124.91 ^b
SOD	101.30±2.40 ^a	107.35±6.85 ^a	86.87±10.44 ^a	91.45±7.63 ^a	80.71±2.66 ^b	83.78±12.22 ^a
LZM	328.57±42.86 ^a	266.67±33.33 ^a	273.81±40.48 ^a	290.48±4.76 ^a	171.43±38.10 ^b	290.48±14.29 ^a

注: 表中同行中肩注相邻字母表示组间差异显著 ($P<0.05$); 相间字母表示组间差异极显著 ($P<0.01$).
Note: In the same line, the adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and the isolated letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$).

表 5 注射嗜水气单胞菌对各实验组罗非鱼死亡率的影响
Tab. 5 Effects of different groups on the death rates of tilapia (GIFT) after injected *Aeromonas hydrophila*

指标 index	氟苯尼考/(mg·kg ⁻¹) florfenicol		抗菌肽/(mg·kg ⁻¹) antimicrobial peptide			
	100	5	10	20	50	对照组 control
攻毒后的死亡率/% MR after injection	72.15±7.85 ^a	41.45±1.45 ^b	44.20±2.50 ^b	45.55±1.15 ^b	66.65±13.35 ^a	73.35±6.65 ^a
未攻毒的死亡率/% MR without injection	0	0	0	0	0	0

注: 表中同行中肩注相邻字母表示差异显著 ($P<0.05$); 相间字母表示差异极显著 ($P<0.01$).
Note: In the same line, the adjacent letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and the isolated letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$).

虾的饲料中添加了重组抗菌肽制剂, 摄食量较大, 相对增重率得到显著提高; 陈冰等^[10]发现在凡纳滨对虾饲料中添加家蝇抗菌肽, 增重率与特定生长率都优于对照组; 黄沧海等^[11]养殖罗非鱼幼鱼时发现, 饲料中添加中农肽宝有利于提高罗非鱼的肥满度。从本实验中罗非鱼的生长结果可以看出, 在饲料中适量添加抗菌肽可以显著促进罗非鱼幼鱼的生长, 可能是因为抗菌肽抑制肠道有害菌而起到促进生长的作用。但值得注意的是, 过高

的剂量阻碍罗非鱼的生长, 可能与抗菌肽也抑制了肠道有益菌的生长, 影响鱼体的消化吸收有关^[10, 16]。

3.2 饲料中添加抗菌肽对罗非鱼幼鱼生理生化指标的影响

红细胞中含有血红蛋白, 血红蛋白能与氧结合, 起到血液中氧运输的作用。实验发现, 抗菌肽的添加显著增加了红细胞数量, 分析可能是由于抗菌肽改善幼鱼的消化吸收功能, 从而影响了血液成分。在王建华研究抗菌肽对断奶仔猪血常规

指标影响的研究中,有相似报道^[9]。

白细胞作为免疫细胞是机体防御的重要组成部分,它通过吞噬作用和产生抗体等方式来消灭病原微生物。在动物体内白细胞总数与种类百分比是相对稳定的。从血液常规分析中可以看出,添加了 5、10、20 mg/kg 抗菌肽以及 100 mg/kg 氟苯尼考的各实验组的白细胞数量变化不显著($P<0.05$),说明一定量抗菌肽与抗生素的添加不会损伤鱼体的免疫防御能力;但添加剂量达到 50 mg/kg 时,白细胞减少,反而削弱机体抗菌能力^[17]。

血小板的主要功能是促进止血与加速凝血,同时还有维护血管壁完整性的功能。实验结束后,各组间血小板总数差异不显著,稍见增高的趋势,说明抗菌肽的使用不会破坏血小板的功能。

血红蛋白是高等生物体内运载氧的一种蛋白质,它的数量相比红细胞总数能更好地反映机体运氧的能力。本实验中,抗菌肽剂量的增加未对血红蛋白浓度产生显著影响,说明抗菌肽对血液运氧能力的影响不大。

3.3 饲料中添加抗菌肽对肝脏中 CAT、SOD 活性以及血清中 LZM 活性的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内一种清除超氧化物自由基的酶,它可以催化超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$ 歧化为 H_2O_2 和 O_2 ,从而消除自由基对机体的损害。因此体内 SOD 活性的高低反映了器官组织抗氧化能力的大小,是机体免疫水平以及健康状况的重要指标。CAT 主要集中于红细胞与过氧化物酶体中,它的主要作用就是催化 H_2O_2 分解为 H_2O 与 O_2 ,以抵御生物体受到氧化损伤。溶菌酶是非特异性免疫的主要成分,可以直接分解细菌,起到抵抗细菌感染的作用。抗氧化酶与溶菌酶作为机体免疫系统的组成部分,其活性的高低直接反映了机体的免疫防御能力。实验发现,饲料中添加 5 mg/kg 与 10 mg/kg 抗菌肽时,CAT 活性显著提高,SOD 活性提高了 28.1%,说明适量地添加抗菌肽可以提高机体抗氧化酶活力,该结论与陈冰等的研究结果相似^[10];但过高剂量(50 mg/kg)对 SOD 与 LZM 的活性有显著的负面影响,可能高剂量的抗菌肽毒性太强,破坏了肝脏的组织结构

与血液组分,导致酶活性下降。由此可见,抗菌肽是否对机体产生毒性与使用剂量直接相关。

3.4 饲料中添加抗菌肽对攻毒实验的影响

鱼类感染致病菌后的死亡率高可以综合反映鱼类的抗病力及免疫力,在实验中采用该指标能够直接而可信地评价鱼体免疫机制^[18]。嗜水气单胞菌是淡水养殖鱼类的主要致病菌,每年给养殖业带来的损失十分严重^[19]。宋理平^[15]等研究发现,饲料中添加抗菌肽喂养凡纳滨对虾后抗病能力提高。本实验对饲喂抗菌肽一定周期后的罗非鱼进行嗜水气单胞菌的攻毒实验,结果发现,抗菌肽添加组的死亡率均不同程度地低于对照组与氟苯尼考组,充分证实抗菌肽的摄入可以显著提高罗非鱼的抗病能力,可能由于抗菌肽在鱼体内直接发挥杀菌的作用,也可能与抗菌肽提高了抗氧化酶与溶菌酶的活力有关。大量研究结果也表明,抗菌肽在体内除了能直接杀死病原菌,更多的时候是作为免疫效应因子来启动宿主的免疫防御体系,从而促进免疫功能来消除感染,保护宿主免受病原微生物的侵害^[20]。但高剂量抗菌肽却不能显著提高罗非鱼的成活率,可能是因为高剂量抗菌肽破坏了肠道菌群平衡,在杀灭肠道有害菌的同时破坏了有益菌的生长环境,也可能与免疫相关酶类的活性降低有关。

3.5 饲料中添加氟苯尼考与抗菌肽效果的比较

氟苯尼考是 20 世纪 80 年代后期成功研制的一种新型氯霉素类的广谱抗菌药,它可以抑制鲑气单胞菌、鳃弧菌、嗜水气单胞菌等,凭借着生物利用率高、组织渗透性强、半衰期长等特点,已经成为水产养殖中利用较多的抗生素^[21]。本实验中氟苯尼考添加量为说明书推荐的预防量,结果表明,氟苯尼考的添加除可以显著提高红细胞总数外,其余指标与对照组差异均不显著。与抗菌肽相比,氟苯尼考添加量较高,但防治效果较差,充分说明抗菌肽的潜力巨大,极有可能替代抗生素成为新型饲料添加剂。

3.6 抗菌肽安全性评价

本实验结果对抗菌肽的安全使用问题提出了质疑。研究发现,虽然高剂量抗菌肽对生长性能

以及攻毒后的存活率影响不显著, 但会显著降低部分免疫酶的活性。过高剂量的抗菌肽对宿主的毒性不容忽视^[2], 但目前的一些研究报告中对此方面涉及较少。Allison 等^[17]运用分子动力学模拟的方法说明抗菌肽 protegrin 对宿主细胞的毒性与理化结构之间的关系, 以此来筛选毒性较小抗菌肽。因此, 每种尝试应用于生产实践的抗菌肽均需评价其安全性, 说明其有效及安全剂量, 以便更好地利用。另外, 本实验的最低剂量设置可能过高, 对抗菌肽在不同动物、不同生长阶段的最适宜剂量的摸索仍需进一步研究, 以其获得最经济有效的添加剂量。

致谢: 感谢中国科学院海洋研究所刘明星教授在罗非鱼养殖过程中的指导, 并且感谢青岛摩力尔生物科技有限公司提供的养殖场地。

参考文献:

- [1] Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms[J]. Nature, 2002, 415(6870): 389–395.
- [2] Hancock R E W, Scott M G. The role of antimicrobial peptides in animal defenses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, Aug, 97(16): 8856–8861.
- [3] 杨绒, 陈松林. 水产动物抗菌肽的研究进展[J]. 生物技术通报, 2005(2): 1–5.
- [4] 吴强, 崔恒敏, 李英伦, 等. 蝇蛆对家禽肠道疾病的防治作用机理研究[J]. 养禽与禽病防治, 2010(2): 4–6.
- [5] 伍小松, 罗振福, 李俊波, 等. 天蚕素类抗菌肽的抗菌性能测定及其性质研究[J]. 动物营养与饲料科学, 2009, 36(2): 28–32.
- [6] 韦柳婵. 抗菌肽的作用机理及其在畜牧生产中的应用[J]. 中国饲料, 2004(5): 32–33.
- [7] 卢宇, 王素珍, 王凯民. 抗菌肽 S807 提高肉鸡生产性能的研究[J]. 广东畜牧兽医科技, 2010, 35(4): 17–20.
- [8] 刘忠渊, 徐涛, 王启贵, 等. 新疆家蚕抗菌肽对雏鸡生长性能及血清激素、理化指标的影响 [J]. 中国家禽, 2007, 29(22): 16–19.
- [9] 王建华, 伍淳操. 抗菌肽和蛋氨酸锌对断奶仔猪部分血液常规指标的影响[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(3): 127–130.
- [10] 陈冰, 曹俊明, 陈平洁, 等. 家蝇抗菌肽对凡纳滨对虾生长性能及免疫相关指标的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(2): 258–266.
- [11] 黄沧海, 李波, 王冬冬, 等. 抗菌肽对罗非鱼幼鱼生长性能的影响[J]. 营养饲料, 2009, 45(23): 53–56.
- [12] 陈玉春. 复方中草药对镜鲤(*Cyprinus carpio* L.)非特异性免疫及抗氧化功能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2008: 1–56.
- [13] 李子瑞. 抗菌肽在畜牧生产上的应用[J]. 饲料博览, 2010(8): 12–14.
- [14] 陈晓生, 刘为民, 温刘发, 等. 抗菌肽替代抗生素对肉鸭生产性能及血清代谢激素水平的影响[J]. 中国家禽, 2005, 27(5): 7–9.
- [15] 宋理平, 胡斌, 王爱英, 等. 抗菌肽对凡纳滨对虾生长和机体免疫的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2010, 30(3): 28–32.
- [16] 陈晓生, 张辉华, 周庆国, 等. 抗菌肽对肉鸭雏鸭期肠道主要微生物菌落的影响[J]. 兽药与饲料添加剂, 2006, 11(4): 1–2.
- [17] Langham A A, Khandelia H, Schuster B, et al. Correlation between simulated physicochemical properties and hemolytic activity of protegrin-like antimicrobial peptides: Predicting experimental toxicity[J]. Peptides, 2008, 29(7): 1085–1093.
- [18] 闫琳, 梅景良, 黄一帆. 加味玉屏风散对试验性免疫抑制黄鳝非特异性免疫功能的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(8): 345–350.
- [19] 沈锦玉, 陈月英, 沈智华, 等. 浙江养殖鱼类暴发性流行病病原的研究[J]. 科技通报, 1993, 9(6): 397–401.
- [20] 周洪波, 皮灿辉, 彭永鹤, 等. 抗菌肽在调节动物免疫力方面的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2009, 36(7): 45–48.
- [21] 徐力文, 廖昌容, 刘广锋. 氟苯尼考用于水产养殖的安全性[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 512–518.

Effects of recombinant antimicrobial peptides on growth and immunity in tilapia (GIFT)

JIANG Shan^{1,2}, WANG Baojie¹, LIU Mei¹, JIANG Keyong¹, GONG Kui^{1,2}, WANG Lei¹

1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Antimicrobial peptides have attracted considerable attention because of their potential use for therapy and prophylaxis. We evaluated the effects of dietary supplementation with recombinant antimicrobial peptide on growth, immunity, and performance in the protest test in tilapia (genetically improved farmed tilapia, GIFT) (initial body weight 10.68 ± 0.53 g). The fish were divided into six treatment groups and fed experimental diets containing 0, 5, 10, 20, or 50 mg/kg recombinant antimicrobial peptide (RAP) derived from *Fenneropenaeus chinensis* or 100 mg/kg florfenicol for 56 d. Weight gain, red blood cell numbers, and catalase activity were significantly higher in the groups supplemented with 5 and 10 mg/kg compared with the control. The specific growth rate was highest in the group given 5 mg/kg RAP. Liver superoxide dismutase activity and serum lysozyme activity were significantly lower in the group given 50 mg/kg RAP than in the control. Supplementation with 100 mg/kg florfenicol increased the number of red blood cells, but had no effect on the other indexes. Following infection with *Aeromonas hydrophila*, the death rate was significantly lower in groups fed between 5–20 mg/kg RAP than in the control. The survival was highest in the group fed 5 mg/kg. Our results suggest that dietary supplementation with appropriate levels of antimicrobial peptide improves growth, immunity, and performance in the protest test in tilapia. However, increasing the dose can lead to negative effects on growth and enzyme activity. Therefore, we recommend that supplementation should not exceed 20 mg/kg. Our results provide insight into the proper application of recombinant antimicrobial peptides to tilapia.

Key words: recombinant antimicrobial peptide; tilapia; growth performance; index of immunity; protest test

Corresponding author: WANG Lei. E-mail: wanglei@ms.qdio.ac.cn