

黄霉素对尼罗罗非鱼生长、微生态和免疫特性的影响

徐 勇¹, 胡彩虹¹, 熊 莉¹, 夏枚生²

(1 浙江大学 动物科学学院 动物分子营养学教育部重点实验室, 浙江 杭州 310029; 2 浙江大学 地球科学系, 浙江 杭州 310027)

[摘 要] 为了对黄霉素在水产养殖中的应用提供依据, 将 180 尾平均质量 3.90 g 左右的健康尼罗罗非鱼随机分为 2 组, 每组 3 个重复, 每重复 30 尾, 一组饲喂基础日粮(对照组), 另一组在基础日粮中添加 4 mg/kg 黄霉素, 以研究黄霉素对尼罗罗非鱼生长、微生态和免疫特性的影响。结果表明, 与对照组相比, 饲料中添加黄霉素使尼罗罗非鱼日增质量和特定生长率分别提高了 11.11% ($P < 0.05$) 和 5.38% ($P < 0.05$), 蛋白质效率和存活率均有提高的趋势, 饲料系数有降低的趋势, 但差异均不显著 ($P > 0.05$); 黄霉素使尼罗罗非鱼肠道细菌数量显著降低 ($P < 0.05$), 对皮肤和鳃细菌数量以及皮肤、鳃和肠道的菌群组成均无显著影响 ($P > 0.05$); 黄霉素显著提高了白细胞吞噬百分率 ($P < 0.05$), 对白细胞吞噬指数、血清和体表粘液的溶菌酶活性、红细胞 C_{3b} 受体花环百分率和 T 淋巴细胞活性 E 花环百分率均无显著影响 ($P > 0.05$)。说明黄霉素提高了尼罗罗非鱼的生长性能和机体免疫力。

[关键词] 黄霉素; 生长性能; 肠道菌群; 免疫性能; 尼罗罗非鱼

[中图分类号] S965.125

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)09-0029-06

Effects of flavomycin on growth performance, microbial ecology and immunity of Nile tilapia

XU Yong¹, HU Cai-hong¹, XIONG Li¹, XIA Mei-sheng²

(1 College of Animal Science, Zhejiang University, The Key Laboratory of Molecular Animal Nutrition of Ministry of Education, Hangzhou, Zhejiang 310029, China; 2 Department of Earth Science, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310027, China)

Abstract: A total of 180 Nile tilapia at an average initial body weight of 3.9 g were randomly allocated to 2 treatments, each of which had three replicates of 30 fish/tank and was used to investigate the effects of flavomycin on growth performance, intestinal microflora and immunity by providing applicable evidences of flavomycin in aquaculture. The fish received the same basal diet and flavomycin was added to the basal diet at 4 mg/kg. Compared with the control, supplementation with flavomycin significantly increased average daily weight gain and specific growth rate by 11.11% ($P < 0.05$) and 5.38% ($P < 0.05$), respectively. Supplementation with flavomycin had a tendency to improve feed conversion ratio, protein efficiency ratio and survivor ratio ($P > 0.05$). Addition of flavomycin significantly reduced the total intestinal aerobic bacterial counts. However, the total aerobic bacterial counts of the skin and gill as well as the composition of microflora from the skin, gill and intestine were not affected by flavomycin. Addition of flavomycin improved the phagocytic activity of leukocytes of Nile tilapia ($P < 0.05$) and had no significant effect on phagocytic index of leukocytes, lysozyme activity, percentage of erythrocyte C_{3b} receptor and erythrocyte active rosette of T lymphocyte of Nile tilapia. Supplementation with flavomycin promoted growth performances and immunity in Nile tilapia.

Key words: flavomycin; growth; intestinal microflora; immunity; Nile tilapia

[收稿日期] 2006-08-14

[作者简介] 徐 勇(1984 -), 男, 河南固始人, 在读硕士, 主要从事动物营养与饲料科学研究。

[通讯作者] 胡彩虹(1972 -), 女, 浙江东阳人, 副研究员, 主要从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: chhu@zju.edu.cn

黄霉素(Flavomycin)是一种新型的抗生素类饲料添加剂,因其具有抗菌作用强、性能稳定、与其他添加剂不产生拮抗作用、不产生耐药性、无残留、无污染等优点,在许多国家得到了广泛应用。在欧美与日本各国,因黄霉素不仅具有促进生产、提高饲料效率的特点,而且同时还具有无残留、不影响鱼类原有风味的特点,在水产业中很受欢迎。最近几年,我国畜牧工作者对黄霉素进行了大量的应用研究,但主要集中在肉鸡、猪和肉牛等畜禽上^[1-2]。虽然也有人就黄霉素对鲤鱼、鲫鱼、鳊鱼等水产动物的影响进行了一些报道,但主要集中在生长性能方面^[3-5],对水

产动物的微生态和免疫的影响报道较少。本试验研究了黄霉素对尼罗罗非鱼生长、肠道菌群和免疫的影响,以期为黄霉素在水产养殖中的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄霉素(Flavomycin):市售进口黄霉素,德国赫司特公司生产,含黄霉素4%。尼罗罗非鱼由浙江武义水产良种场提供,为尼罗罗非鱼吉福品系。

试验用饲料参考罗非鱼的营养需求设计^[6],基础饲料组成及营养组成见表1。

表 1 尼罗罗非鱼基础饲料配方及其营养组成

Table 1 Ingredients and nutrient composition of diets

组分 Ingredients	含量/(g·kg ⁻¹) Content	营养成分 Nutrition composition	含量 Content
鱼粉 Fish meal	100	总能/(MJ·kg ⁻¹) Gross energy	18.1
豆粕 Soybean meal	300	粗蛋白/(g·kg ⁻¹) Crude protein	352
菜粕 Rapeseed meal	250	粗脂肪/(g·kg ⁻¹) Crude lipid	25
次粉 Wheat middlings	260	粗纤维/(g·kg ⁻¹) Fibre	68
玉米油 Corn oil	20	灰分/(g·kg ⁻¹) Ash	111
复合维生素 Vitamin premix	10		
复合矿物质 Mineral premix	50		
羧甲基纤维素 Carboxymethyl cellulose	10		

注:复合维生素中含维生素B₁1 g/kg,核黄素2 g/kg,维生素B₆1 g/kg,维生素B₁₂0.2 g/kg,维生素A0.4 g/kg,维生素D₃0.04 g/kg,维生素K₁8 g/kg,叶酸0.5 g/kg,泛酸钙4 g/kg,肌醇40 g/kg,烟酸15 g/kg,维生素E6 g/kg,胆碱600 g/kg,维生素C50 g/kg;复合矿物质中含氯化钠5 g/kg,硫酸镁75 g/kg,磷酸二氢钾160 g/kg,磷酸二氢钙100 g/kg,硫酸亚铁14.4 g/kg,乳酸钙17.6 g/kg,硫酸锌1.76 g/kg,硫酸锰0.8 g/kg,硫酸铜0.16 g/kg,氯化钴0.005 g/kg,碘酸钾0.015 g/kg。

Note:Vitamin premix thiamine 1 g/kg,riboflavin 2 g/kg,pyridoxine 1g/kg,cobalamin 0.2 g/kg,retinal 0.4 g/kg,cholecalciferol 0.04 g/kg,phyloquinone 8 g/kg,folic acid 0.5 g/kg,calcium pantotheniate 4 g/kg,inositol 40 g/kg,niacin 15 g/kg,tocopherol 6 g/kg, choline 600 g/kg,ascorbic acid 50 g/kg. Mineral premix NaCl 5 g/kg,MgSO₄ 75 g/kg,KH₂PO₄ 160 g/kg,Ca(H₂PO₄)₂ 100 g/kg, FeSO₄ 14.4 g/kg,(CH₂CHCOO)₂Ca·5H₂O 17.6 g/kg,ZnSO₄·7H₂O 1.76 /kg,MnSO₄·4H₂O 0.8 g/kg,CuSO₄·5H₂O 0.16 g/kg,CoCl₂·6H₂O 0.005 g/kg,KIO₃·6H₂O 0.015 g/kg.

1.2 尼罗罗非鱼饲养试验

选取平均体重为3.90 g左右的健康尼罗罗非鱼180尾作为试验鱼,暂养14 d后称质量,随机分为2组,一组饲喂基础日粮(对照组),另一组根据前人研究结果在基础日粮中添加4 mg/kg黄霉素(黄霉素组)^[3,7-8]。每组设3个重复,每重复30尾,试验期为8周。试验鱼在装有密闭式过滤循环系统的水族箱(100 cm×50 cm×50 cm)中饲养。以充分曝气除氯后的自来水为水源,每个水族箱配置一个10 L/min的虑清器,水温为25~28℃,ACO-318型空气压缩机24 h增氧,水中溶解氧为6.5~8.0 mg/L,pH为7.2~7.4。每天排污,排水1/3。投喂的饲料以天平称量,精确到0.01 g,每天08:00和16:00投饵2次。日投饵率为体重的3.5%。投饵30 min后将剩饵吸出,烘干称质量。在空白对照组水族箱中测定饵料的溶失率,以校对剩饵的量。每

2周称质量1次,调节投饵量。每天观察鱼的健康状况,记录投饵量、剩饵量及死亡尾数。

生长性能各指标的计算公式如下:

日增质量(DWG)/g=(BW_f-BW_i)/T,
特定生长率(SGR)/%=((ln BW_f-ln BW_i)/T)×100%,

蛋白质效率(PER)=(BW_f-BW_i)/(FI×PC),
饵料系数(FCR)=FI/(BW_f+BW_o-BW_i),
存活率(SR)/%=(S_{Nf}/S_{Ni})×100%。

式中,BW_f为终末质量(g),BW_i为初始质量(g),BW_o为死亡个体质量(g);T为试验饲养时间(d);FI为鱼所摄取的日粮量(g),PC为日粮中的蛋白质含量(g),S_{Ni}为初始存活数,S_{Nf}为终末存活数。

1.3 尼罗罗非鱼测试样品收集

饲养试验结束停饲24 h后,从每个水族箱中随机抽取10尾尼罗罗非鱼,每组30尾,共60尾,称质

量、采血,用MS-222麻醉剂麻醉,解剖取样。

1.3.1 肠道微生物样品采集 每箱取5尾鱼,用体积分数70%酒精擦洗鱼体表面,剖开后立即将前肠、中肠和后肠结扎取下,暂保存于4℃冰箱。

1.3.2 体表粘液的收集 用解剖刀刮取鱼体背部及腹部两侧的粘液1 mL,加入4 mL 8.5 g/L 灭菌生理盐水,匀浆,在4℃条件下,10 000 r/min 离心20 min,收集上清液置-20℃冰箱中保存。

麻醉解剖取样时,在鱼体中央区域的体表放置1块4 cm×4 cm的无菌样板,刮取样板所围区域进行皮肤取样,同时取出尼罗罗非鱼鳃和肠道。

1.4 尼罗罗非鱼皮肤、鳃和肠道菌群分析

将取出的皮肤、鳃和肠道用无菌生理盐水冲洗3~5次,剪碎后以体积比1:4加入无菌生理盐水,匀浆,制成原液。将皮肤、鳃和肠壁原液作10倍系列梯度稀释,取其中3个稀释度在淡水鱼类琼脂培养基(FWA)平板上涂布,于28~30℃下培养24~48 h后计数(A/g),并换算成lgA。

在各组细菌的分离平板中,选取菌落清晰、分散良好而且菌落数在30~300的平板,每种菌落类型选取3~5个代表性菌落作为代测菌株,接种在FWA斜面培养基上,于28℃培养24~48 h后置4℃冰箱中备用。细菌鉴定参照文献[9-10]的方法。

1.5 尼罗罗非鱼免疫指标的测定

1.5.1 血液白细胞吞噬活性测定 (1)嗜水气单胞菌悬液的制备。将嗜水气单胞菌接种于普通营养琼脂培养基斜面上,28℃下培养24~48 h。用无菌生理盐水(8.5 g/kg)洗下菌落,并稀释成一定浓度,加入终浓度1%的福尔马林,28℃灭活24 h,用无菌生理盐水调整细菌浓度为 3.47×10^8 /mL,保存于4℃冰箱中备用。(2)白细胞吞噬活性测定。参考文献[11]的方法测定。取抗凝血250 μL放入试管中,加入100 μL用福尔马林灭活的嗜水气单胞菌悬液(浓度为 3.47×10^8 /mL),混匀后在28℃下水浴60 min,每10 min摇匀1次,取出后,1 500 r/min离心5 min,弃上清液,吸取沉淀的表层制成血涂片,每组血样涂3片,自然干燥,甲醇固定3 min,瑞氏染色液染色5 min,晾干后置于油镜下观察,并按下列公式计算白细胞吞噬百分率(PP)和白细胞吞噬指数(PI):

$PP/\% = (100 \text{ 个吞噬细胞中参与吞噬的白细胞数}) \times 100\%$, $PI = (\text{被白细胞吞噬的细菌总数}) / (\text{参与吞噬的吞噬细胞数})$ 。

1.5.2 溶菌酶活性的测定 (1)菌液的制备。参考

文献[12]的方法进行。在37℃条件下,将溶壁微球菌在LB琼脂培养基中培养48 h,用0.01 mol/L、pH 7.0的PBS冲洗菌落,再分别用PBS清洗3次,丙酮和乙醚清洗3次。清洗的菌体经风干后,用pH 6.4、0.67 mol/L PBS稀释至透光率达30%~40%(波长530 nm),将此菌液作为测定溶菌酶活性的底物。(2)溶菌酶活性的测定。参考文献[13]的方法稍作修改。取各组鱼的溶菌酶样品(血清和体表粘液上清液)各0.1 mL,置25℃冰浴锅中预热5 min,然后加入2.8 mL已预热的菌液,立即计时,至2 min时加入1滴5 mol/L KOH溶液以终止反应,立即用0.5 cm比色皿于640 nm波长测其透光率 T_1 。再取各组鱼溶菌酶样品各0.1 mL,加入1滴5 mol/L KOH溶液摇匀,25℃冰浴箱中预热5 min后加入2.8 mL已预热的菌液,在同样温度下至2 min时同法测定其透光率 T_0 。 $\Delta T = (T_1 - T_0)$, ΔT 为透光率的差值,即溶菌酶透光率的变化。从标准曲线上可计算血清和体表粘液中溶菌酶活性。

1.5.3 红细胞 C_{3b} 受体花环试验 参考郭峰^[14]的方法进行。具体步骤为:(1)从鱼的尾动脉采血5滴,分别置于离心管中,用8.5 g/L生理盐水洗涤、离心2次(2 000 r/min 5 min),弃去上清液,取沉淀物用显微计数法配制成浓度为 1.25×10^7 /mL红细胞悬液。(2)用少量生理盐水溶解 C_{3b} 致敏酵母,然后洗涤,离心1次(2 000 r/min 5 min),洗涤的同时充分混匀,使其在显微镜下呈单个分离状态,最后配成浓度为 1×10^8 /mL C_{3b} 致敏酵母悬液。(3)将 C_{3b} 致敏酵母悬液与红细胞悬液各100 μL等量混合,28℃水浴孵育30 min后,再加入等量生理盐水稀释,用50 μL体积分数0.25%戊二醛固定,轻轻摇匀。(4)玻片制备。每尾鱼制备3片,涂片薄厚均匀,高倍镜(400倍)下每视野7~8个红细胞为宜,涂片后冷风吹干,甲醇固定,瑞氏染色液染色。(5)镜检,计数。计算形成的红细胞 C_{3b} 受体花环的百分率(以1个红细胞粘附2个或2个以上 C_{3b} 致敏酵母为1个花环),作为 C_{3b} 受体活性的指标。

1.5.4 T淋巴细胞活性E花环试验 参考杜念兴^[15]的方法进行。具体步骤为:(1)从鱼的尾部动脉抽血数滴,滴入肝素钠处理过的离心管中,摇匀。再加入等量的Hanks液稀释,摇匀。另取一只离心管,加入适量的淋巴细胞分离液,将稀释后的鱼血液沿管壁缓缓加于淋巴细胞分离液中($V(\text{血液}):V(\text{淋巴细胞分离液}) = 2:1$),2 000 r/min离心20 min。吸取淋巴细胞层,以5倍体积的Hanks液洗

涤(1 500 r/min,10 min)2 次。显微计数,以 Hanks 液配成 3×10^6 /mL 的淋巴细胞悬液。(2)取绵羊红细胞(SRBC),以 Hanks 液洗涤 3 次,配成 6×10^7 /mL 的绵羊红细胞悬液。(3)取淋巴细胞和绵羊红细胞各 100 μ L,再加入小牛血清 50 μ L,单向摇匀,立即离心(500 r/min,5 min),再单向摇匀,使沉下的细胞重新混悬,加入体积分数 0.8%戊二醛 100 μ L,4 $^{\circ}$ C 固定 15 min。单向摇匀,涂片,每尾涂 3 片。风干,甲醇固定 3 min,瑞氏染色液染色 5 min。(4)镜检,计数。计算形成的 T 淋巴细胞活性 E 花环的百分率(以 1 个 T 淋巴细胞上粘附 3 个或 3 个以上的绵羊红细胞为 1 个花环)。E 花环形成百分率/%=形成花环淋巴细胞数/(形成花环淋巴细胞数+未形成花环淋巴细胞数) $\times 100\%$ 。

1.6 数据统计方法

采用 t 检验,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示。

2 结 果

2.1 黄霉素对尼罗罗非鱼生长性能的影响

由表 2 可见,与对照组相比,饲料中添加黄霉素使尼罗罗非鱼日增质量和特定生长率分别提高了 11.11%($P < 0.05$)和 5.38%($P < 0.05$);蛋白质效率和存活率均有提高的趋势,饵料系数有减少的趋势,但差异均不显著($P > 0.05$)。

2.2 黄霉素对尼罗罗非鱼皮肤、鳃和肠道菌群数量及组成的影响

2.2.1 皮肤、鳃和肠道细菌数量 由表 3 可见,与对照组相比,饲料中添加黄霉素使尼罗罗非鱼肠道细菌数量显著降低($P < 0.05$),但对皮肤和鳃的细

菌数量均无显著影响($P > 0.05$)。

表 2 黄霉素对尼罗罗非鱼生长性能的影响

Table 2 Effect of flavomycin on the growth performance of Nile tilapia

项目 Index	对照组 Control	黄霉素组 Flavomycin
初始质量/g Initial body weight	4.08 $\pm$ 0.08	3.97 $\pm$ 0.06
终末质量/g Final body weight	29.46 $\pm$ 1.75 b	31.88 $\pm$ 2.43 a
日增质量/g Average daily weight gain	0.45 $\pm$ 0.01 b	0.50 $\pm$ 0.02 a
特定生长率/% Specific growth rate	3.53 $\pm$ 0.03 b	3.72 $\pm$ 0.11 a
蛋白质效率 Protein efficiency ratio	1.41 $\pm$ 0.17	1.53 $\pm$ 0.08
饵料系数 Feed conversion ratio	1.38 $\pm$ 0.11	1.29 $\pm$ 0.07
存活率/% Survivor ratio	94.44 $\pm$ 1.93	96.67 $\pm$ 3.34

注:同一行数据后标不同字母者差异显著($P < 0.05$)。下表同。

Note:Different letters in the same row mean significant difference ($P < 0.05$). The following tables are the same.

表 3 黄霉素对尼罗罗非鱼皮肤、鳃和肠道细菌数量的影响

Table 3 Effects of flavomycin on total aerobic bacterial counts of the skin,gill and intestine

组别 Group	lg A		
	皮肤 Skin	鳃 Gill	肠道 Intestine
对照组 Control	3.94 $\pm$ 0.39	5.24 $\pm$ 0.38	6.47 $\pm$ 0.51 a
黄霉素组 Flavomycin	4.09 $\pm$ 0.42	5.08 $\pm$ 0.43	5.41 $\pm$ 0.52 b

2.2.2 皮肤、鳃和肠道菌群组成 由表 4 可见,对照组和黄霉素组尼罗罗非鱼皮肤的优势菌群是气单胞菌属和黄杆菌属,鳃的优势菌群是黄杆菌属,肠道优势菌群是气单胞菌属和肠杆菌科。表明黄霉素对尼罗罗非鱼皮肤、鳃和肠道的菌群组成无明显影响。

表 4 黄霉素对尼罗罗非鱼皮肤、鳃和肠道菌群组成的影响

Table 4 Effects of flavomycin on the composition of microflora from the skin,the gill and the intestine of Nile tilapia

样品 Sample	组别 Group	Aer	Pse	Fla	Mor	Aci	Ent	Mic	Alc	Bac	Vib	其他 Other
皮肤 Skin	对照组 Control	36.1 $\pm$ 3.8	5.4 $\pm$ 4.6	30.9 $\pm$ 2.5	6.2 $\pm$ 1.1	9.4 $\pm$ 1.1	5.3 $\pm$ 0.9	6.1 $\pm$ 0.8	-	-	-	0.6 $\pm$ 0.1
	黄霉素组 Flavomycin	37.8 $\pm$ 4.3	4.1 $\pm$ 5.8	32.3 $\pm$ 3.1	4.7 $\pm$ 1.3	8.5 $\pm$ 1.0	4.3 $\pm$ 1.1	7.2 $\pm$ 1.1	-	-	-	1.1 $\pm$ 0.6
鳃 Gill	对照组 Control	13.1 $\pm$ 1.5	12.7 $\pm$ 1.4	34.2 $\pm$ 4.1	13.2 $\pm$ 2.1	9.7 $\pm$ 1.5	4.4 $\pm$ 0.8	-	6.6 $\pm$ 0.8	5.6 $\pm$ 0.6	-	0.5 $\pm$ 0.3
	黄霉素组 Flavomycin	14.5 $\pm$ 1.3	11.9 $\pm$ 1.6	33.9 $\pm$ 5.2	12.8 $\pm$ 1.9	10.5 $\pm$ 1.2	3.9 $\pm$ 0.6	-	7.1 $\pm$ 1.2	4.2 $\pm$ 0.8	-	1.2 $\pm$ 0.8
肠道 Intestine	对照组 Control	40.2 $\pm$ 4.1	10.4 $\pm$ 1.6	9.8 $\pm$ 1.1	-	4.1 $\pm$ 1.1	18.6 $\pm$ 3.7	3.5 $\pm$ 1.5	6.6 $\pm$ 1.1	-	5.3 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 1.2
	黄霉素组 Flavomycin	37.4 $\pm$ 4.5	12.8 $\pm$ 2.1	8.6 $\pm$ 1.4	-	2.9 $\pm$ 1.4	15.2 $\pm$ 3.5	2.2 $\pm$ 1.2	7.7 $\pm$ 1.5	2.1 $\pm$ 0.8	6.5 $\pm$ 1.1	3.6 $\pm$ 2.3

注:- 未检测到该菌;Aer. 气单胞菌属;Pse. 假单胞菌属;Fla. 黄杆菌属;Mor. 莫拉氏菌属;Aci. 不动杆菌属;Ent. 肠杆菌科;Mic. 微球菌属;Alc. 产碱菌属;Bac. 芽孢杆菌属;Vib. 弧菌属。

Note:- . Not detected;Aer. Aeromonas;Pse. Pseudomonas;Fla. Flavobacterium;Mor. Moraxella;Aci. Acinetobacter;Ent. Enterobacteriaceae;Mic. Micrococcus;Alc. Alcaligenes;Vib. Vibrio;Bac. Bacillus.

2.3 黄霉素对尼罗罗非鱼免疫机能的影响

由表 5 可见,与对照组相比,饲料中添加黄霉素使尼罗罗非鱼白细胞吞噬百分率显著提高 ($P <$

0.05),但对尼罗罗非鱼白细胞吞噬指数、血清和体表粘液溶菌酶活性、红细胞 C_{3b} 受体花环和 T 淋巴细胞活性 E 花环百分率均没有显著影响 ($P > 0.05$)。

表 5 黄霉素对尼罗罗非鱼免疫机能的影响

Table 5 Effects of flavomycin on immunity of Nile tilapia

组别 Group	白细胞吞噬 百分率/ % Phagocytic percent	白细胞吞 噬指数 Phagocytic index	溶菌酶活性/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Lysozyme		红细胞 C_{3b} 受体花 环百分率/ % Percentage of erythrocyte C_{3b} receptor	T 淋巴细胞活性 E 花环百分率/ % Percentage of erythrocyte active rosette of T
			血清 Serum	体表粘液 Body mucus		
对照组 Control	9.64 $\pm$ 1.05 b	1.56 $\pm$ 0.35	87.36 $\pm$ 12.43	315.26 $\pm$ 20.19	10.83 $\pm$ 1.31	7.25 $\pm$ 1.43
黄霉素组 Flavomycin	14.75 $\pm$ 4.08 a	1.78 $\pm$ 0.16	93.72 $\pm$ 7.98	326.08 $\pm$ 26.17	11.19 $\pm$ 0.68	7.98 $\pm$ 1.78

3 讨 论

3.1 黄霉素对尼罗罗非鱼生长性能的影响

王雪虹等^[4]报道,饲料中添加黄霉素的两个试验组对生长缓慢的欧洲鳗具有明显的促生长效果,增重率分别提高了 53.2 %和 38.2 %,饲料节约了 36.6 %和 25.7 %;谢骏等^[16]报道,日本鳗黑仔中添加黄霉素可促进生长,降低饲料系数,节约饲料,提高经济效率。本试验结果表明,饲料中添加黄霉素可显著的提高尼罗罗非鱼的日增质量和特定生长率,对蛋白质效率、存活率均有提高趋势,对饵料系数有减少的趋势。本试验结果与前人报道一致。

3.2 黄霉素对尼罗罗非鱼皮肤、鳃和肠道菌群数量和组成的影响

大多研究报道气单胞菌属和肠杆菌科在鱼肠道中占优势。本试验中,尼罗罗非鱼皮肤的优势菌群是气单胞菌属和黄杆菌属,鳃的优势菌群是黄杆菌属,肠道优势菌群是气单胞菌属和肠杆菌科,显示鱼体不同部位可能由不同的菌群组成。黄霉素是一种大分子物质,在消化道不被吸收,发挥作用后,即以原型排除体外,在机体组织中不残留。黄霉素的抑菌作用是通过干扰构成细胞壁的结构物质——肽聚糖层状结构阻碍其生物合成,导致细菌细胞的破裂,从而抑制细菌的增殖^[17]。本试验中,投喂黄霉素饲料后,尼罗罗非鱼肠道细菌数量显著下降,对皮肤、鳃和肠道菌群组成均无显著影响。

3.3 黄霉素对尼罗罗非鱼免疫机能的影响

本研究结果表明,黄霉素使罗非鱼白细胞吞噬百分率显著提高,而对白细胞吞噬指数、溶菌酶活性、红细胞 C_{3b} 受体花环百分率和 T 淋巴细胞活性 E 花环百分率均无显著影响。抗菌素对机体免疫功能的影响十分复杂,由于其种类及用药剂量的不同,抗菌素对免疫功能的影响也有差异,某些抗菌素可以通过促进免疫细胞活性来增强机体的免疫功能,以

实现其抗菌活性或者直接产生抗菌作用^[18-19]。修建明等^[20]用金霉素饲喂肉仔鸡的试验结果证实了抗菌素的促长作用是通过抑制机体的免疫反应来实现的。但中华鳖经腹腔注射治疗剂量的红霉素、氯霉素和土霉素后,其白细胞吞噬活性没有发生明显的改变^[21]。这些结果表明,不同抗菌素对机体免疫功能作用可能还与受试动物种类、年龄、生理状况及抗菌素药物类型和剂量等有关。

研究证明,鱼类肠道存在正常的细菌群落,这些微生物群为宿主创造了生存的微环境,同时宿主也为其提供了生长繁衍的条件,两者相互依赖、相互制约,形成了统一的整体^[22]。正常菌群在宿主体内生存和增殖,对维持宿主组织器官的正常结构和功能有十分重要的作用^[23]。Siriat 等^[24]发现,益生菌 S11 可以通过激活体液免疫和细胞免疫,提高白细胞吞噬性能,并竞争性的清除消化道病原菌来提高虾的存活率和生长性能。Sami 等^[25]发现,饲料中添加几种不同水平的益生菌 LAB (ATCC53103) 均可明显提高彩虹鲑的免疫机能。动物机体的健康依赖于体内生态系统的平衡,肠道益生菌作为微生态的成员,在机体内环境平衡态上起着重要的调节作用,其不仅能向机体提供营养物质,还能参与机体营养物质的代谢,增强机体的免疫系统功能^[26]。本试验添加黄霉素减少了罗非鱼肠道细菌数量,可能与其提高罗非鱼白细胞吞噬性能相关。

[参考文献]

[1] 曾勇庆,孙传禹,刘万成,等. 黄霉素(flavomycin)对生长猪生产性能影响的研究[J]. 饲料广角,2004,17:41-43.
[2] 陈会良. 黄霉素对肉鸡增重和生化值的影响[J]. 兽药与饲料添加剂,2003,8(5):7-8.
[3] 高 鹏,罗 琳,李 昕,等. 国产和进口黄霉素对鲤鱼生产性能的比较[J]. 中国水产,2004(2):69-71.
[4] 王雪虹,陈颂军,徐黎明. 黄霉素对欧洲鳗僵鳃促生长初探[J]. 中国水产,1999(1):28-29.

- [5] 刘开永. 黄霉素在水产中的应用初探[J]. 河北渔业, 2004(1): 3-4, 17.
- [6] National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of Fish[M]. Washington D C: National Academy Press, 1993.
- [7] 张满隆, 邓理. 黄霉素在鲫鱼饲料中作用试验[J]. 水利渔业, 2003, 23(2): 39-40.
- [8] 罗莉, 梁全权, 唐显虹, 等. 国产和进口黄霉素对草鱼生产性能的比较[J]. 饲料博览, 2005(6): 43-45.
- [9] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [10] Holt J G, Krieg N R, Sneath P H A, et al. Bergey's manual of determinative bacteriology [M]. 9th Edition. Williams & Wilkins: Baltimore, 1993.
- [11] 李静, 陈昌福. 草鱼肾脏吞噬细胞吞噬活性的研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 1999, 36(5): 931-935.
- [12] 陈昌福, 纪国良. 草鱼血清、体表和肠粘液中溶菌酶物质活性及特征[J]. 华中农业大学学报, 1992, 11(3): 276-279.
- [13] Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout oncorhynchus mykiss[J]. Aquaculture, 2005, 243: 241-254.
- [14] 郭峰. 红细胞免疫功能的初步研究[J]. 中华医学杂志, 1982, 62(12): 715-716.
- [15] 杜念兴. 兽医免疫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 210-213.
- [16] 谢骏, 黄樟翰, 卢迈新, 等. 黄霉素对日本鳗促生长效果的研究[J]. 饲料工业, 2000, 21(4): 26-27.
- [17] 韩友文. 黄霉素——一种无公害的饲用抗生素[J]. 饲料博览, 2004(1): 45-47.
- [18] 李光辉. 抗菌药物对吞噬细胞功能的影响[J]. 国外医学内科学分册, 1998, 25(12): 523-529.
- [19] 黎勇. 抗生素免疫调节作用的研究进展[J]. 内江师范学院学报, 2005, 20(4): 77-80.
- [20] 佟建明, 张日俊, 萨仁娜, 等. 持续、低剂量金霉素对肉仔鸡免疫机能的抑制作用研究[J]. 中国农业科学, 2001, 34(2): 200-204.
- [21] 李莉, 陈昌福. 抗生素对中华鳖血液白细胞吞噬活性影响的研究[J]. 淡水渔业, 2000, 30(8): 27-29.
- [22] 葛莉莉. 鱼类肠道菌群研究概况[J]. 水利渔业, 2006, 26(4): 17-20.
- [23] 汤伏生, 朱晓燕, 张兴忠. 鲤鱼肠道细菌及其淀粉酶对宿主消化的影响[J]. 水产学报, 1994, 18(3): 177-182.
- [24] Siriat R, Sombat R, Somkiat P, et al. Immunity enhancement in black tiger shrimp by a probiont bacterium [J]. Aquaculture, 2000, 191: 271-288.
- [25] Sami N, Arthur C O, GÖran B, et al. Immune enhancement in rainbow trout by potential probiotic bacteria [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2003, 15: 443-452.
- [26] 毕晋明, 王永军. 动物肠道益生菌的生理功能及其在动物生产中的应用[J]. 饲料广角, 2006(11): 41-42.

(上接第 28 页)

- [5] 何大乾, 孙国荣, 沈洪民, 等. 肉鹅消化器官生长发育规律初探[J]. 上海农业学报, 2005, 21(3): 59-63.
- [6] 徐亚平, 肖传斌, 李奎, 等. 非洲鸵鸟主要消化器官的观测[J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(7): 44-46.
- [7] 肖传斌, 刘忠虎, 梁宏德, 等. 非洲鸵鸟食管组织学观察[J]. 河南农业大学学报, 2005, 39(1): 102-105.
- [8] 沈霞芬, 李秀云, 曹永汉, 等. 朱鹮消化系统的组织学观察[J]. 西北农业大学学报, 1998, 26(2): 75-79.
- [9] 贾东平, 彭克美, 姜国彦, 等. 东方白鹳消化器官的组织学研究: 二[J]. 野生动物, 1991, 59(6): 46-47.
- [10] 张子慧, 肖方, 袁伟静, 等. 一雄性丹顶鹤消化系统组织学观察[J]. 动物学杂志, 1999, 34(3): 39-40.
- [11] 彭克美, 冯悦平, 张登荣, 等. 鹈鹕消化器官的形态学研究[J]. 中国兽医学报, 1996, 16(4): 411-413.
- [12] 刘自逵, 刘进辉, 黄复深, 等. 秃鹫消化系统的解剖观察[J]. 经济动物学报, 1998, 2(3): 39-43.
- [13] 张子慧, 肖方. 黑颈鹤消化道的组织形态学观察[J]. 首都师范大学学报: 自然科学版, 2000, 21(1): 48-50.
- [14] Mitjans M, Bamioi G, Ferrer R. Mucosal surface area in chicken small intestine during development[J]. Cell and Tissue Research, 1997, 290(1): 71-78.
- [15] Iji P A, Saki A, Tivey D R. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet 1. Intestinal weight and mucosal development[J]. British Poultry Science, 2001, 42(4): 505-513.
- [16] Nistan Z, Ben-Avraham G, Zoref Z, et al. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching [J]. British Poultry Science, 1991, 32(3): 515-523.
- [17] Sell J I, Angel C R, Piquer F, et al. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys[J]. Poultry Science, 1991, 70(5): 1200-1205.
- [18] 刘永成. 固始鸡选育研究及其开发利用[J]. 农业科技通讯, 2000, 15(3): 19-20.
- [19] 魏法山, 韩瑞丽, 康相涛, 等. 不同性别固始鸡生长曲线的分析[J]. 河南畜牧兽医, 2005, 26(6): 4-5, 51.
- [20] 康相涛, 田亚东, 竹学军. 5~8 周龄固始鸡能量和蛋白质需要量的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2002, 38(5): 3-6.
- [21] 魏法山, 康相涛, 李国喜, 等. 固始鸡生长过程中不同类型肌纤维面积比变化[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(2): 7-11.
- [22] 崔党群. Logistic 曲线方程的解析与拟合优度测验[J]. 数理统计与管理, 2005, 24(1): 112-115.
- [23] 明道绪. 生物统计附实验设计[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 196-198.
- [24] 孙振纲, 丁效华. 概率论与数理统计[M]. 北京: 机械工业出版社, 2006: 247.
- [25] 罗克. 家禽解剖学与组织学[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1983: 65-68.