

低分子量壳聚糖对鲤鱼生长和消化酶活性的影响

任国锐¹, 李瑞金^{1,2}, 王 兰^{1,*}

(1.山西大学生命科学学院, 山西 太原 030006; 2.山西大学环境科学与工程研究中心, 山西 太原 030006)

摘要:旨在探讨低分子量壳聚糖(low molecular weight chitosan, LMWC)对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)生长和消化酶活性的影响。采用单因子浓度梯度法, 设基础饲料组和质量分数分别为0.25%、0.50%、0.75%、1.0% LMWC组; 分别在30、45、60d对不同组鲤鱼质量增加率、投饵系数以及肝胰脏和肠道淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶的活性进行动态分析。结果表明: 随着LMWC添加量增加和时间延长, 与对照组相比, 鲤鱼质量增加率、淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶活性都呈现逐渐升高的趋势, 投饵系数呈现逐渐下降的趋势。在45、60d时0.75% LMWC组鲤鱼的质量增加率, 淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶活性相对于对照、0.25%、0.50%、1.0% LMWC组, 升高趋势最为明显。1.0% LMWC组鲤鱼随着时间延长, 质量增加率和消化酶(淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶)活性的升高趋势逐渐变缓; 饲料中添加不同质量分数的LMWC对鲤鱼消化酶活性的影响不同, 0.75%为LMWC的最适添加量。

关键词: 鲤鱼; 质量增加率; 投饵系数; 淀粉酶; 脂肪酶; 胰蛋白酶; 低分子量壳聚糖

Effect of Dietary Supplementation with Low Molecular Weight Chitosan on Growth and Digestive Enzyme Activities in Common Carp (*Cyprinus carpio*)

REN Guo-rui¹, LI Rui-jin^{1,2}, WANG Lan^{1,*}

(1. School of Life Sciences, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. Research Center of Environmental Science and Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: This study aimed to examine the effect of dietary supplementation with low molecular weight chitosan (LMWC) on common carp growth and digestive enzyme activities. Basal diet group was used as control and LMWC groups at increasing gradient concentrations (0.25%, 0.50%, 0.75% and 1.0%) were established. Body weight gain, feed coefficient and the activities of amylase, lipase and trypsin in the hepatopancreas and gut were analyzed after feeding for 30, 45 d and 60 d. When compared with control group, body weight gain and the activities of amylase, lipase and trypsin showed a gradual upward trend, whereas an opposite trend was observed for feed coefficient with increasing dietary LMWC supplementation and feeding time. After 45 d and 60 d of feeding, a more striking increase in body weight gain and the activities of amylase, lipase and trypsin was found for 0.75% LMWC group compared with control group and 0.25%, 0.50% and 1.0% LMWC groups. For 1.0% LMWC group, the increasing trend of body weight gain and digestive enzyme activities gradually slowed down with increasing feeding time. Dietary LMWC supplementation in different proportions had different effects on digestive enzyme activities in common carps and the optimal dosage was 0.75%.

Key words: *Cyprinus carpio*; body weight gain; feed coefficient; amylase; lipase; trypsin; low molecular weight chitosan

中图分类号: Q956

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)01-0008-05

甲壳素是1811年法国学者Braconnot从蘑菇中提取的一种类似于纤维素的物质, 广泛存在于虾蟹壳中。壳聚糖是由甲壳素脱酰基而来, 属于含氨基的均态直链多糖衍生物, 是天然物质中存在的唯一一种碱性多糖。一般

来讲, 脱乙酰度>75%的甲壳素即称为壳聚糖^[1], 脱乙酰度越高、分子量越小的壳聚糖生物活性越强。近年来, 壳聚糖具有的促生长作用^[2-3]、抗菌、抗氧化^[4-5]和提高免疫作用^[6-8]等功效更加显著, 特别是低分子量壳

收稿日期: 2011-10-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970361); 山西省科技攻关项目(20100311050)

作者简介: 任国锐(1984—), 男, 硕士研究生, 主要从事动物生理研究。E-mail: 2005310034@163.com

*通信作者: 王兰(1960—), 女, 教授, 博士, 主要从事动物环境与毒理学研究。E-mail: lanwang@sxu.edu.cn

聚糖(low molecular weight chitosan, LMWC)结构中含有一OH和一NH₂, 不仅具有甲壳素和壳聚糖的一些相似性质, 而且一些生理活性或功能更加显著, 具有极易溶于水、无抗原性、更易被生物吸收等诸多优点。因此, 对LMWC的开发利用得到许多学者的高度重视。

在水产养殖中, 壳聚糖作为饲料添加剂对鲫鱼(*Carassius auratus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、罗非鱼(*Tilapia*)、鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)等鱼类的生理生化特征进行了研究。结果表明, 适宜含量的壳聚糖能够促进鱼类生长, 而含量太高则会抑制生长^[9-11]。鲤鱼(*Cyprinus carpio*)是我国南北各地广泛分布的淡水鱼类, 也是我国养殖历史最为悠久的鱼类, 具有很高的经济价值。因此, 本实验选择鲤鱼作为实验材料。

在以往的研究中, 大多学者比较重视鱼类的生长速度、饲料利用率和消化酶活性等, 通过投喂饲料固定的时间后测定消化酶活性, 来研究饲料与消化酶的关系^[12-13], 而对实验过程中消化酶的变化情况并没有进行具体的分析。LMWC作为饲料添加剂对鲤鱼消化酶的动态变化更是鲜见报道。那么, LMWC添加到基础饲料后对鲤鱼是否具有促生长作用? 最适添加量是多少? 不同质量分数LMWC和不同时间鲤鱼消化酶活性有何变化? 鉴于此, 本研究以LMWC作为饲料添加剂, 探讨其最适添加量及对鲤鱼消化酶的动态变化, 从而为LMWC的应用提供一定的理论依据, 同时以期为水产养殖带来可能的经济效益。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

鲤鱼幼鱼购自太原市晋阳湖渔场, 体质量(30.3±1.7)g, 健康无伤病。饲养于实验室水族缸(70cm×50cm×40cm)中。放养前先用50mg/L的高锰酸钾对15个水族缸消毒30min, 清水洗缸之后, 每个缸中随机放入10尾, 用基础饲料饲养2周, 鱼摄食正常后实验开始, 每天按照体质量的2%投喂饲料(视水质混浊程度和鱼的摄食情况而定, 基本保证在30min内吃完为宜, 如果30min内还没有吃完, 应当适当减少投喂量), 每天投喂3次(上午8:30、下午12:30、下午16:30)。24h不间断充氧, 控制水温, 不定期吸取污物, 同时换去1/3水箱里的水, 冲入1/3曝气3d以上的水。饲养时间为8~10月, 期间水温保持在(25±1)℃, 溶氧量>5mg/L, pH6.5~7.5, 氨氮含量<0.3mg/L, 每个缸的饲养条件基本保持一致。

饲喂鲤鱼的基础饲料由鱼粉、次粉、豆粕、棉籽粕、菜籽粕、复合维生素、磷酸二氢钙、微量元素等组成, 其中粗蛋白30.7%、粗脂肪5.0%、粗灰分14.8%、水分11.2%、钙0.7%、磷0.83%。在饲料中分别添加质量分数为0.25%、0.50%、0.75%、1.0%的LMWC作为4个实验组, 基础饲料作为空白对照组。

LMWC(外观颜色为浅黄色小颗粒, 分子质量<5000D、脱乙酰度>85.2%、水分<7.7%、不溶物<1.0%) 济南海德贝海洋生物工程有限公司; 淀粉酶测定试剂盒、脂肪酶测定试剂盒、胰蛋白酶测定试剂盒南京建成生物公司。

1.2 仪器与设备

Spectra Max M5酶标仪 美国MD公司; XW-80A漩涡混合器 上海棱谱仪器仪表有限公司; HH-4水浴锅江苏金坛市金城国胜实验仪器厂; MM-49647-00电动匀浆器 德国Fluko公司; CPA225D电子天平 德国赛多利斯公司。

1.3 方法

1.3.1 实验设计

采用单因子浓度梯度法, 对基础饲料组和质量分数分别为0.25%、0.50%、0.75%、1.0% LMWC组鲤鱼分别在30、45、60d时, 进行质量增加率、投饵系数以及肝胰脏和肠道淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶的活性动态分析。

1.3.2 样品处理

分别在LMWC添加处理30、45、60d后, 取各个LMWC组个体($n=6$), 用冰冻去离子水冲洗干净鱼体, 将其放于冰盘上, 分别取肝胰脏和肠道组织, 用剪刀将肠道纵向剪开, 并用冰冻去离子水冲洗干净肠道内容物, 冲洗干净后剪下后肠, 用吸水纸吸干表面水分后称质量(≤ 100 mg), 淀粉酶和脂肪酶用0.86%生理盐水作为匀浆介质, 胰蛋白酶用胰蛋白酶匀浆介质在冰上用电动匀浆器充分匀浆, 将匀浆液在4℃、10000r/min离心10min, 取肝胰脏和肠道匀浆上清液, 加入离心管中, -80℃保存, 用于淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶的测定。

1.3.3 测定方法

用酶标仪测定吸光度, 以计算酶活力。淀粉酶活力采用碘-淀粉显色法, 活性定义为每毫克组织蛋白在37℃与底物作用30min, 水解10mg淀粉定义为1个酶活力单位; 脂肪酶活力定义为在37℃条件下, 每毫克组织蛋白在反应体系中1min每消耗1 μ mol底物为1个酶活力单位; 胰蛋白酶活性定义为在pH8.0、37℃条件下, 每毫克组织蛋白中含有的胰蛋白酶每分钟使吸光度变化0.003为一个酶活力单位。

1.3.4 数据处理

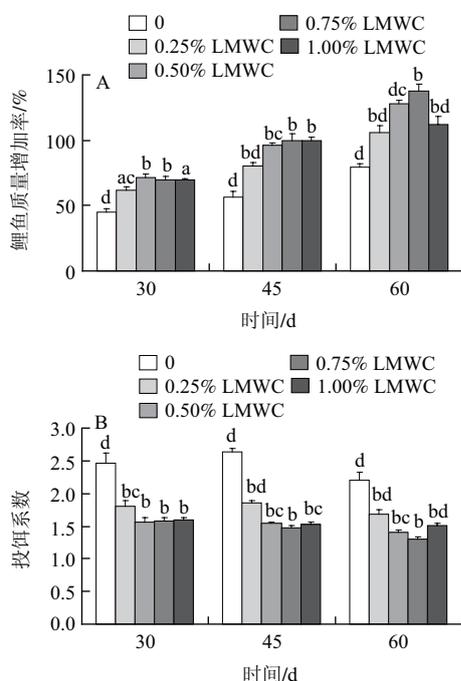
实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 利用SPSS15.0软件统计分析, 检验数据的正态分布性, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA-LSD法)进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 LMWC对鲤鱼质量增加率和投饵系数的影响

由图1可知, 用不同质量分数LMWC投喂30、45、

60d, 鲤鱼的质量增加率和投饵系数均有所变化, 其中质量增加率提高, 而投饵系数降低。图1A显示, 鲤鱼的质量增加率在同一LMWC质量分数不同时间或同一时间不同质量分数LMWC组均高于对照组并随着LMWC质量分数的增加逐渐升高, 表现出显著或极显著差异($P < 0.05$; $P < 0.01$), 其中0.75% LMWC组效果最明显。45、60d时间段, 1.0% LMWC组质量增加率的增量小于0.75% LMWC组, 且在60d时, 极显著低于0.75% LMWC组($P < 0.01$)。图1B显示, 鲤鱼的投饵系数随着LMWC添加量的增加和投喂时间延长逐渐降低, 呈现极显著性差异($P < 0.01$)。在45d时, 1.0% LMWC组投饵系数显著高于0.75% LMWC组($P < 0.05$); 60d时, 1.0% LMWC组投饵系数极显著高于0.75% LMWC组($P < 0.01$)。



a. 与对照组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); b. 与对照组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$); c. 与0.75% LMWC组相比, 差异显著 ($P < 0.05$); d. 与0.75% LMWC组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。

图1 LMWC对鲤鱼质量增加率和投饵系数的影响

Fig.1 Effect of dietary LMWC supplementation on body weight gain and feed coefficient in common carps

2.2 LMWC对鲤鱼肝胰脏和肠道淀粉酶活性的影响

由图2可知, 用不同质量分数LMWC投喂30、45、60d, 鲤鱼肝胰脏和肠道淀粉酶活性均呈现逐渐升高的趋势。图2A显示, 鲤鱼肝胰脏淀粉酶在同一质量分数LMWC不同时间或同一时间不同质量分数LMWC均高于对照组并随着LMWC添加量增加逐渐升高, 中、高添加量组与对照组相比表现出了显著性或极显著性差异 ($P < 0.05$; $P < 0.01$)。在45、60d, 1.0% LMWC组质量增加率的增量小于0.75% LMWC组, 且显著低于0.75% LMWC组 ($P < 0.05$)。图2B显示, 鲤鱼肠道淀粉酶活性随

着LMWC添加量增加和投喂时间延长逐渐升高。45d时, 0.50%、0.75%和1.0% LMWC组与对照组相比呈现出了显著性差异 ($P < 0.05$); 60d时, 0.50%和1.0% LMWC组与对照组相比呈现出了显著性差异 ($P < 0.05$), 0.75% LMWC组与对照组相比呈现出了极显著性差异 ($P < 0.01$)。60d时, 1.0% LMWC组淀粉酶活性显著低于0.75% LMWC组 ($P < 0.05$)。

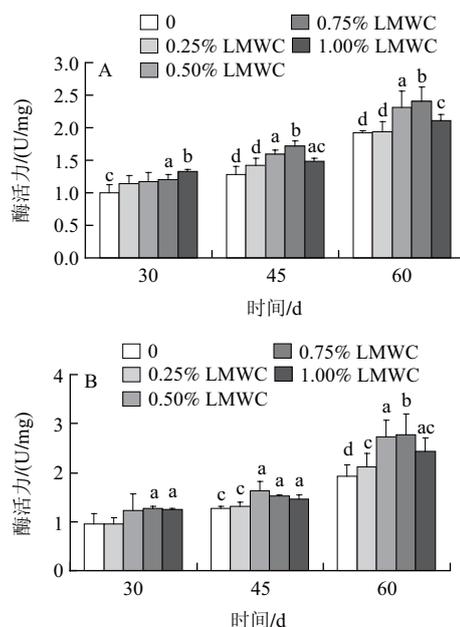


图2 LMWC对鲤鱼肝胰脏(A)和肠道(B)淀粉酶活性的影响

Fig.2 Effect of dietary LMWC supplementation on amylase activity in the hepatopancreas and gut of common carps

2.3 LMWC对鲤鱼肝胰脏和肠道脂肪酶活性的影响

由图3可知, 用不同质量分数LMWC投喂30、45、60d, 鲤鱼肝胰脏和肠道脂肪酶活性均呈现逐渐升高的趋势。图3A显示, 鲤鱼肝胰脏脂肪酶活性在同一质量分数不同时间或同一时间不同质量分数均高于对照组并随着添加量的增加逐渐升高, 且中、高添加量组与对照组相比表现出了显著性或极显著性差异 ($P < 0.05$; $P < 0.01$), 其中0.75% LMWC组效果最明显。30、45、60d时间段, 1.0% LMWC组肝胰脏脂肪酶活性增加量小于0.75%组脂肪酶活性的增加量, 且在45d时, 1.0% LMWC显著低于0.75% LMWC组 ($P < 0.05$); 60d时, 1.0% LMWC极显著低于0.75% LMWC组 ($P < 0.01$)。图3B显示, 鲤鱼肠道脂肪酶活性随着LMWC添加量的增加和投喂时间延长逐渐升高。45d时, 0.50%和1.0% LMWC组与对照组相比呈现出了显著性差异 ($P < 0.05$), 0.75% LMWC组与对照组相比呈现出了极显著性差异 ($P < 0.01$); 60d时, 0.50%和1.0% LMWC组与对照组相比呈现出了显著性差异 ($P < 0.05$), 0.75% LMWC组与对照组相比呈现出了极显著性差异 ($P < 0.01$)。但是在45、60d时, 1.0% LMWC组显著低于0.75% LMWC组 ($P < 0.05$)。

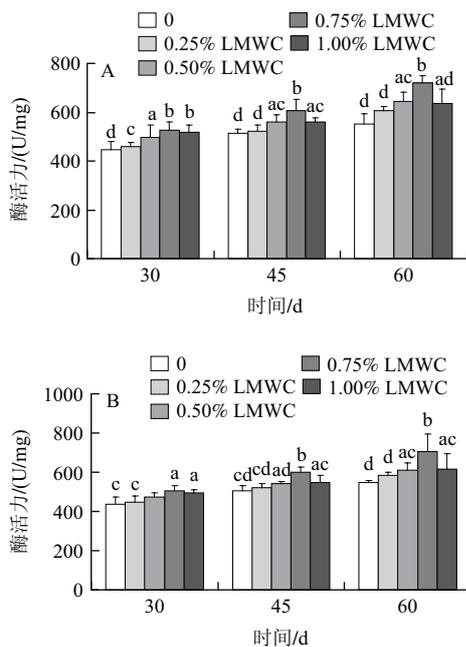


图3 LMWC对鲤鱼肝胰脏(A)和肠道(B)脂肪酶活性的影响

Fig.3 Effect of dietary LMWC supplementation on lipase activity in the hepatopancreas and gut of common carps

2.4 LMWC对鲤鱼肝胰脏和肠道胰蛋白酶活性的影响

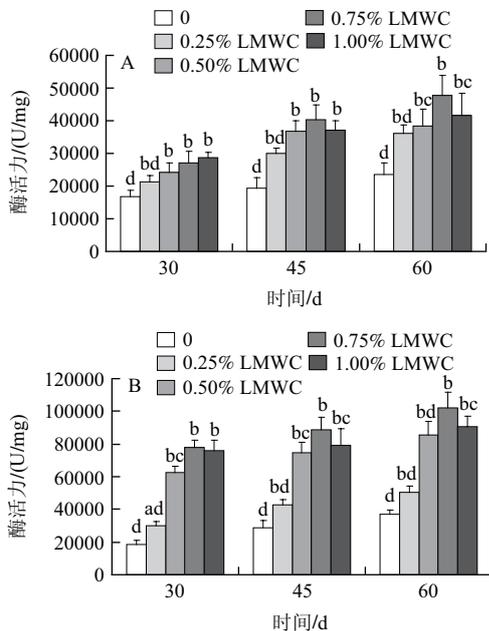


图4 LMWC对鲤鱼肝胰脏(A)和肠道(B)胰蛋白酶活性的影响

Fig.4 Effect of dietary LMWC supplementation on trypsin activity in the hepatopancreas and gut of common carps

由图4可知,用不同质量分数LMWC投喂30、45、60d,肝胰脏和肠道胰蛋白酶活性均呈现逐渐升高的趋势。图4A显示,鲤鱼肝胰脏胰蛋白酶在同一添加量不同时间或同一时间不同添加量均高于对照组并随着添加量

的增加逐渐升高,表现出极显著差异($P < 0.01$)。60d时,1.0% LMWC组鲤鱼肝胰脏胰蛋白酶活性显著低于0.75% LMWC组($P < 0.05$)。图4B显示,鲤鱼肠道胰蛋白酶随着LMWC添加量升高和投喂时间延长逐渐增加,0.50%、0.75%和1.0% LMWC组与对照组相比呈现出了极显著性差异($P < 0.01$)。在45、60d时,1.0% LMWC组显著低于0.75% LMWC组($P < 0.05$)。

3 讨论

鱼类消化酶对鱼类的生长发育具有极其重要的作用。鲤鱼是杂食性动物,消化系统包括口腔、咽、食管、肠道、肛门和肝胰脏,其消化酶主要分布于肝胰脏和肠道,包含蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶。消化酶作为一种消化器官分泌的蛋白质,主要作用是专一地催化一种或一类化学反应,并且相比其他无机催化剂具有明显高效性。通过消化酶的消化作用,鲤鱼将摄入的营养物质消化分解成可被鱼类吸收的小分子物质,再经过循环系统运输到组织细胞里面,从而获得用于维持其自身生长发育和繁殖后代等生命活动的物质和能量^[14]。

LMWC水溶性好,与生物体有良好的亲和作用,在生物体内易被分解吸收,还具有促生长、抗菌、抗氧化和提高动物免疫力^[2-8]等生物学功能,有望成为非常理想的绿色饲料添加剂。有研究表明,LMWC具有天然生物活性,作为饲料添加剂可提高罗非鱼的肠道、肝胰脏的蛋白酶、淀粉酶以及肝脏极低密度脂蛋白(VLDL)的活性,增强机体对营养物质的消化吸收和脂肪转化^[15-16]。

本实验结果表明,饲料中添加不同含量的LMWC对鲤鱼消化酶活性影响不同,适量地添加LMWC可促进鲤鱼生长,最适宜添加量为质量分数0.75% LMWC。可能有如下三方面原因:1)降低投饵系数,提高饲料利用率。投饵系数是饵料用量与养殖鱼类质量增加的比值,可反映出饵料的营养效果。营养价值高,饵料系数低,饵料效率就高^[17]。LMWC具有吸附特性,添加到鱼类饲料中可起到吸附的作用,相对于不加LMWC的饲料,能减少有效营养成分的溶解损失,使鱼类有效摄食吸收,促进生长^[1]。本实验结果发现,由于LMWC的吸附性,添加LMWC的饲料在水中稳定,使投饵系数低,有利于鲤鱼摄食。2)添加LMWC能提高鲤鱼消化酶活力,促进鱼类生长。鲤鱼的机械消化能力很差,而消化功能的强弱很大程度上取决于消化酶活性,提高鱼体的消化酶活性就能提高鱼体的消化功能,鱼体对营养物质的吸收也就会增加^[15]。许多学者证实了添加适宜的壳聚糖对鱼类生长有促进作用。翟少伟等^[18]研究表明,昆虫源壳聚糖的添加显著提高了鲫鱼(*Carassius auratus*)的特定生长率和蛋白质效率,质量分数为0.5%的壳聚糖能显著提高鲫鱼肠道淀粉酶和蛋白酶的活性。陈勇等^[19]研究表明,添加0.5%、0.75%和1.0%壳聚糖可以显著提高异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)的特定生长率和蛋白质效率,显著降低异育银鲫的饲料系数,添加0.5%壳聚糖可以显

著提高异育银鲫肠道的淀粉酶活性。添加0.75%和1.0%壳聚糖可以显著提高肠道和肝胰脏的蛋白酶活性和肠道的淀粉酶活性。刘兴国等^[16]将添加壳聚糖的饲料投喂罗非鱼(*Tilapia*)发现, 0.5%壳聚糖组的饲料系数比对照组的饲料系数下降11.63%, 下降幅度最为显著; 1.0%、2.0%壳聚糖组的饲料系数也显著低于对照组; 0.25%壳聚糖组与对照组无显著性差异。同时发现实验组的蛋白效率与对照组相比也有显著差异。许多学者在对真鲷幼鱼(*Pagrosomus major*)^[10]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[20]、三角鲂(*Megalobrama terminalis*)^[21]等的研究中发现, 一般适宜添加水平为0.5%, 而在东方鲀(*Fugu obscurus*)幼鱼^[22]饲料中适宜水平为0.2%。本实验表明, 适量添加LMWC对鲤鱼生长有促进作用, 可以显著提高鲤鱼消化酶(淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶)活性, 消化酶活性的变化情况与鲤鱼质量增加率和投饵系数变化情况是相吻合的, 其原因可能是因为LMWC进入生物体后经代谢降解为低聚糖类, 增强了生物活性, 提高动物肝脏脂肪代谢的效率和肝脏的机体活力, 有利于生物体内微生态系统的改善, 增强消化酶的活性^[23-24]。3)壳聚糖添加量与鱼类生长密切相关。研究表明, 鱼类的生长不随着壳聚糖添加量的增加而不断增强, 在过量情况下甚至会抑制其生长。例如Shiau等^[24]在1999年研究发现, 罗非鱼(*Tilapia*)的质量增加率随壳聚糖添加量(2%、5%、10%)的增加而降低, 10%的壳聚糖会抑制罗非鱼的生长和饲料转化率。与Shiau等^[24]的研究相比, 刘兴国等^[16]用的壳聚糖的添加量较低(0.25%~2%), 促进了罗非鱼的生长。另外的研究证实, 添加10%的壳聚糖对真鲷、日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)和五条鲈(*Seriola quinqueradiata*)的生长有抑制作用^[11]。

本研究发现, 随着时间延长, 不同浓度LMWC组均提高鲤鱼的质量增加率, 同时降低了投饵系数, 与对照组相比有显著性或极显著性差异, 而其中又以添加0.75% LMWC效果最佳(图1)。饲料中添加0.5% LMWC能显著提高鲤鱼消化酶活性, 添加0.75% LMWC能显著甚至极显著提高鲤鱼消化酶活性, 在45d时添加1.0%的LMWC则会表现出一定的减缓作用, 但LMWC组消化酶活性相对于对照组来说存在显著性或极显著性差异(图2~4)。由实验结果可知, 随着时间延长, 在一定添加范围内, 随着LMWC添加量的提高, 促进作用会逐渐增强。这个研究结果也与许多学者研究结果相一致。但是当LMWC添加量达到1.0%时, 添加效果会比添加0.75%的LMWC弱。大多数学者在研究不同鱼类壳聚糖的添加剂量时发现, 最适添加量是0.50%, 这个结果与我们实验结果略有不同。研究表明, 壳聚糖脱乙酰度越大, 游离出的氨基、羟基和活性基团就越多, 生物活性也就越强; 而LMWC易于被生物体吸收, 其抗菌、免疫、抗氧化作用明显增强^[25]。采用本实验室制备的基础饲料, 添加了不同比例的分子质量<5000D、脱乙酰度>85.2%的LMWC, 因此, 本研究壳聚糖添加后对鲤鱼生长的影响与其他不同脱乙酰度和不同分子质量的壳聚糖的添加效果不尽相同。本研究表明, 添加0.50% LMWC也可以很好地促进鲤鱼生长, 但是添加0.75% LMWC时效果最好。因此,

在本实验条件下LMWC最适添加量为0.75%。

壳聚糖具有许多的特性和功能^[26-27], 关于壳聚糖如何发挥其自身作用改变鱼类生理功能, 目前研究非常少。本研究发现, 在基础饲料中加入不同质量分数的LMWC能显著提高鲤鱼的消化酶活性、降低投饵系数, 促进鲤鱼生长, 但其机制还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 蒋挺大. 壳聚糖[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 1-10.
- [2] 丁晓岚, 闫素梅, 塔娜. 壳聚糖对动物脂肪代谢及生长性能的影响[J]. 饲料工业, 2005, 26(12): 8-9.
- [3] 庄承纪, 刘劲科, 杨清友, 等. 壳多糖对罗氏沼虾、斑节对虾虾苗生长和抗菌防病作用的研究[J]. 湛江海洋大学学报, 1998, 18(3): 29-34.
- [4] 吉晋芳, 王兰, 王茜. 低分子量壳聚糖对镉染毒引起的氧自由基变化的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 73-77.
- [5] LI Ruijin, ZHOU Yanying, WANG Lan, et al. Low-molecular-weight-chitosan ameliorates cadmium-induced toxicity in the freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2011, 74(5): 1164-1170.
- [6] AYYARU G, VENKATESAN A. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of aeromonas hydrophila infection in ponds[J]. Aquaculture, 2006, 255: 179-187.
- [7] ANDERSON D P, SIWICKI A K. Duration of protection against aeromonas salmonicida in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion[J]. Prog Fish Cult, 1994, 56: 258-261.
- [8] ESTEBAN M A, MULERO V, CUESTA A, et al. Effects of injecting chitin particles on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.)[J]. Fish Shelf Immunol, 2000, 10: 543-554.
- [9] 胡品虎. 稀土甲壳素在河蟹养殖中的应用[J]. 水产养殖, 1999(5): 13-14.
- [10] 于东祥, 柳学周, 雷麒麟. 甲壳胺制剂对真鲷幼鱼的促生长作用研究[J]. 海洋水产研究, 2000, 21(3): 62-66.
- [11] KONO M, MATSUI T, SHIMIZU C. Effect of chitin, chitosan and cellulose diet supplements on the growth of cultured fish[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1987, 53(1): 125-129.
- [12] CORRÊA C F, de AGUIAR L H, LUNDSTEDT L M, et al. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2007, 147(Part A): 857-862.
- [13] PEDERSEN B H, UGELSTAD I, HJELMELAND K. Effects of a transitory, low food supply in the early life of larval herring (*Clupea harengus*) on mortality, growth and digestive capacity[J]. Marine Biology, 1990, 107(1): 61-66.
- [14] 陈进树. 鱼类消化酶研究进展[J]. 生物学教学, 2009, 34(12): 4-5.
- [15] 罗丹, 黄冠庆. 壳聚糖生理特性及在饲料添加剂中的作用[J]. 湖南饲料, 2008(1): 34-36.
- [16] 刘兴国, 宋理平. 壳聚糖作为罗非鱼饲料添加剂的效果研究[J]. 渔业现代化, 2004(1): 40-41.
- [17] 陈静, 刘波. 影响水产动物饲料系数的因素[J]. 科学养鱼, 2010(12): 66-68.
- [18] 翟少伟, 王敦, 黄沧海. 昆虫源壳聚糖对鲫鱼生长及肠道消化酶活性的影响[J]. 云南农业大学学报, 2009, 24(4): 566-569.
- [19] 陈勇, 周洪琪, 冷向军, 等. 壳聚糖对异育银鲫生长和消化酶的影响[J]. 中国水产科学, 2006, 13(3): 440-445.
- [20] 闫大伟, 华雪铭, 周洪琪. 壳聚糖对草鱼生长、抗病性能的影响[J]. 饲料工业, 2007, 28(12): 17-18.
- [21] 陆清儿, 刘新轶, 王宇希, 等. 壳聚糖及其复合物对三角鲂生长及鱼体养分的影响[J]. 杭州农业科技, 2008(2): 15-17.
- [22] 华雪铭, 周洪琪, 张宇峰, 等. 饲料中添加壳聚糖和益生菌对暗纹东方纯幼鱼生长及部分消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2005, 29(3): 299-304.
- [23] 刘明美, 吕宗友, 邓波波. 壳聚糖的生物活性及其在水产动物中的研究进展[J]. 饲料广角, 2011(2): 42-44.
- [24] SHIAU S Y, YU Y P. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in *Tilapia*, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*[J]. Aquaculture, 1999, 179(1/4): 439-446.
- [25] 赵盼, 王丽, 孟祥红. 壳聚糖及其衍生物的抗氧化性能及应用研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(15): 299-303.
- [26] 李梦云, 陈代文, 张克英. 壳聚糖的主要生理功能及其在动物生产中的应用[J]. 饲料工业, 2005, 26(12): 1-4.
- [27] ESCAFFRE A M, ZAMBONINO INFANTE J L, CAHU C L, et al. Nutritional value of soy protein concentrate for larvae of common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities[J]. Aquaculture, 1997, 153: 63-80.