两种多糖对齐口裂腹鱼免疫性能的影响

王洪杰[1]，邬应龙[*1]，冯莉梅[1]，杨 敏[1]，郑俏然[2]，严秋萍[1]，吕珍珍[1]，何 梅[1]
（1. 四川农业大学 食品学院，四川 雅安 625014；2. 长江师范学院 生命科学与技术学院，重庆 408100）

摘要：探讨 OKGM、OKGMS 两种多糖对齐口裂腹鱼免疫性能的影响，将齐口裂腹鱼随机分为 7 组，两种多糖添加剂量分别为质量分数 0.4%、0.8%、1.6%，饲喂 60 d，测定齐口裂腹鱼血清免疫及抗氧化指标，并采用 RT-PCR 技术检测组织 MyD88、IRF7 基因相对表达量。结果表明，$OKGMS_{1.6}$ 组能显著提高齐口裂腹鱼血清 IgM 活性、ACH50 含量；$OKGMS_{0.4}$、$OKGMS_{0.8}$、$OKGM_{0.4}$、$OKGM_{0.8}$ 组均能显著降低血清 MDA 的含量；OKGMS 与 OKGM 均能提高血清 SOD 活性；OKGMS 能上调齐口裂腹鱼肠道 MyD88 基因 mRNA 相对表达量及肝脏、脾脏、中肾 IRF7 基因 mRNA 相对表达量；OKGM 能上调肠道、头肾、中肾 MyD88 基因 mRNA 相对表达量及肠道、肝脏、脾脏、中肾 IRF7 基因 mRNA 相对表达量。结果表明：适量添加 OKGM、OKGMS 能提高齐口裂腹鱼抗氧化活性及免疫性能。

关键词：氧化魔芋葡甘露聚糖；氧化魔芋葡甘露聚糖硫酸酯；齐口裂腹鱼；超氧化物歧化酶；髓样分化因子；干扰素影响因子
中图分类号：TS 254.1　　**文献标志码**：A　　DOI：10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.01.021

Effect of Two Kinds of Polysaccharide on Immune Performance of *Schizothorax Prenanti*

WANG Hongjie[1]，*WU Yinglong*[*1]，*FENG Limei*[1]，*YANG Min*[1]，*ZHENG Qiaoran*[2]，*YAN Qiuping*[1]，*LV Zhenzhen*[1]，*HE Min*[1]
（1. College of Food Science，Sichuan Agricultural University，Ya'an 625014，China；2. College of Life Science and Technology，Yangtze Normal University，Chongqing 408100，China）

Abstract：The experiment was conducted to investigate the effects of oxidized konjac glucomannan and oxidized konjac glucomannan sulfates on immune performance of *Schizothorax prenanti*. The *Schizothorax prenanti* were randomly divided into 7 groups and each group included 3 replicates of 20 fish. The experiment lasted for 60 days with the treatment groups were contained 0.4%、0.8%、1.6% of OKGM and OKGMS. And body composition and serum biochemical indices were measured and MyD88、IRF7 mRNA level in tissue were determined by RT-PCR. Results：Content of IgM、ACH50 of OKGMS1.6 were significantly more than the control group；The content of MDA was significantly lower of group $OKGMS_{0.4}$、$OKGMS_{0.8}$、$OKGM_{0.4}$、$OKGM_{0.8}$ than the control group；

收稿日期：2016-03-11
基金项目：四川农业大学“211”工程双支计划项目(03571192)；四川省科技厅“三区”人才支持计划项目(044Z0123)。
*** 通信作者**：邬应龙(1963—)，男，博士，教授，博士研究生导师，主要从事功能性食品研究。E-mail：wuyinglong99@163.com
引用本文：王洪杰，邬应龙，冯莉梅，等. 两种多糖对齐口裂腹鱼免疫性能的影响[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(01)：139-146.

OKGMS、OKGM both increased the activity of SOD;OKGMS could up-regulate MyD88 mRNA level in gut and IRF7 mRNA level in liver、spleen and mesonephros;OKGM could increase MyD88 mRNA level in gut、headkidney and mesonephros and IRF7 mRNA level in gut、liver、spleen and mesonephros. Conclusions:Add the appropriate amount of OKGM and OKGMS could increase the antioxidant activity and immune functions of *Schizothorax prenanti*.

Keywords: oxidized konjac glucomannan,oxidized konjac glucomannan sulfates,*Schizothorax prenanti*,SOD,myeloid differentiation factor,interferon regulator factor

氧化魔芋葡甘露聚糖（Oxidized konjac glucomannan,OKGM）是由魔芋葡甘露聚糖(KGM)经适当的氧化剂处理降解后精制而成的性质优良的可溶性膳食纤维,具有安全性高、成本低等特点,能促进正常和免疫低下动物免疫器官的发育,提高机体免疫力[1]。研究表明,OKGM在预防和治疗肠道癌、心血管病、提高免疫力方面发挥重要作用[2]。研究发现,多糖硫酸化可改善其生物活性,且多糖的生物活性与硫酸化取代度相关[3]。氧化魔芋葡甘露聚糖硫酸酯（Oxidized konjac glucomannan sulfates,OKGMS）是由OKGM经磺化剂化学修饰而得到的产物,研究表明,多糖硫酸酯具有抗病毒、抗氧化、增强免疫力等功能[4]。有学者研究发现,OKGMS比活菌制剂性质更稳定,对外界环境及机体内环境具有较高的耐受性,能更好地发挥其功效[5]。

齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)属鲤形目,鲤科鱼类,主要分布于长江上游、大渡河、青衣江及汉江的上游。齐口裂腹鱼是一种冷水性经济鱼类,味道鲜美、肉质细嫩,具有较高的营养价值和经济价值[6]。近年来,随着齐口裂腹鱼的人工繁殖技术的提高,逐步开始了大规模养殖,但齐口裂腹鱼为低等脊椎动物,不具备成熟的特异性免疫系统而主要依靠先天性免疫,对环境的适应能力较差[7]。

目前,已有研究表明日粮添加一定量OKGM能提高鱼类免疫性能[8],但添加剂量有待进一步研究,而OKGMS相关研究主要集中在体外抗肿瘤[9]、抗氧化[10]等方面,在鱼类体内的研究还未见报道。作者以OKGM和OKGMS为试验材料，以齐口裂腹鱼为研究对象,探讨饲喂不同剂量OKGM及OKGMS对齐口裂腹鱼体血清免疫及抗氧化指标的影响,并通过实时荧光定量PCR(RT-PCR)技术检测齐口裂腹鱼免疫相关基因髓样分化因子88（Myeloid differentiation factor 88,MyD88)、干扰素影响因子7(Interferon regulator factor 7,IRF7)在肠道、肝脏、脾脏、头肾、中肾中的相对表达量,以期为今后OKGM和OKGMS在调节机体免疫及在食品中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

齐口裂腹鱼购买于四川省雅安市天泉县鱼泉乡雅鱼场同一批孵化的鱼种，质量为（80.37±5）g/尾;OKGM实验室自制,黏均相对分子质量9.8×10^3;OKGMS实验室自制，黏均分子量1.6×10^5，取代度1.44；反转录试剂盒:TaKaRa公司产品；丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒:南京建成生物工程研究所产品;鱼总补体(ACH50)、鱼免疫球蛋白M(IgM)试剂盒:上海雅吉生物科技有限公司产品;琼脂糖:Spain公司产品;荧光定量八连板：美国Bio-Rad公司产品。

1.2 仪器与设备

凝胶成像系统：美国Bio-Rad公司产品;PCR仪器:美国Bio-Rad公司产品;微量移液器:德国Eppendorf公司产品；水平电泳槽、电泳仪：美国Bio-Rad公司产品;荧光定量PCR仪器:美国Bio-Rad公司产品;Centrifuge 5810R高速低温离心机:德国Eppendorf公司产品。

1.3 试验方法

1.3.1 试验饲料配方及饲养 参照鱼类营养需要和Zheng等[11]齐口裂腹鱼饲料配方设计试验饲料,配方见表1,试验饲料充分混合后加工成直径1 mm的颗粒饲料,干燥并密封保存于4 ℃冰箱下备用。

1.3.2 饲养管理 选择体质健康的齐口裂腹鱼420尾,按试验设计分为7个组,每组60尾,分为3个重复,每天投喂鱼体质量2.0%的饲料,早中晚各一次。

1.3.3 取样 饲养60 d后进行采样，采样前禁食24 h并称重。从尾静脉取血,血液于4 ℃条件下静置30 min,3 500 r/min 4 ℃离心15 min取上清液,

表 1　试验饲料的组成

Table 1　Composition and nutrient levels of the experimental diets(dry matter)

原料	质量分数/%						
	Control	$OKGM_{0.4}$	$OKGM_{0.8}$	$OKGM_{1.6}$	$OKGMS_{0.4}$	$OKGMS_{0.8}$	$OKGMS_{1.6}$
鱼粉	42.0	–	–	–	–	–	–
面粉	20.0	–	–	–	–	–	–
豆粕	21.0	–	–	–	–	–	–
淀粉	10.0	9.6	9.2	8.4	9.6	9.2	8.4
OKGM	0	0.4	0.8	1.6	–	–	–
OKGMS	0	–	–	–	0.4	0.8	1.6
菜油	3.0	–	–	–	–	–	–
麸皮	1.0	–	–	–	–	–	–
磷酸二氢钙	1.5	–	–	–	–	–	–
矿物质	1.0	–	–	–	–	–	–
多维+胆碱	0.5	–	–	–	–	–	–

放置于–20 ℃冰箱备用;取血后迅速取出肝脏、脾脏、头肾、中肾、肠道,用密封袋装样后放入液氮中迅速降温,转移至–80 ℃冰箱备用。研磨样品时向研钵内不断补充液氮以保持样品处于低温状态防止RNA 降解,待样品磨成粉末状,用耳勺取适量至编好号的离心管中,并立即置于液氮中,样品全部取完后转移至–80 ℃冰箱中保存备用。

1.3.4　血清免疫及抗氧化指标测定　按照试剂盒说明书测定血清中免疫球蛋白(IgM)、总补体(ACH50)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)指标。

1.3.5　总 RNA 提取和 cDNA 模板制备　按照TRNzol 总 RNA 提取试剂盒说明书提取肠道、肝脏、脾脏、头肾、中肾 RNA,用 1%琼脂糖凝胶检测提取产物的完整性,并用核酸蛋白定量仪检测 RNA 纯度。A_{260}/A_{280} 介于 1.8~2.2 之间时,说明提取的 RNA 质量合格,可用于后续试验。RNA 检测合格后,用反转录试剂盒将其反转录为 cDNA,用于荧光定量测定基因相对表达量。

1.3.6　引物设计及鉴定　齐口裂腹鱼 β–actin 基因引物由实验室提供,MyD88 基因及 IRF7 基因参照 NCBI 斑马鱼、草鱼、鲤鱼序列,应用 Primer Premier 5.0 软件设计引物,由华大基因公司合成,引物序列如表 2 所示。

1.3.7　荧光定量　采用 10 μL 反应体系(3.5 μL DEPC 水、5 μL SYBR® Premix Ex Taq™(2×)、1 μL cDNA、0.25 μL 上下游引物)将反转录的 cDNA 进行 PCR 扩增,扩增程序如下:95 ℃,3 min;95 ℃,10 s,不同引物相应退火温度,30 s,39 个循环;扩增完毕后,迅速降温到 65 ℃进行熔解曲线分析,然后以 0.5 ℃/s 的速率从 65 ℃递增至 95 ℃,连续测定样品荧光强度以获取溶解曲线。

表 2　PCR 引物序列

Table 2　Sequences of primers for PCR

基因	引物序列(5'→3')	PCR 产物片段长度/bp	退火温度/℃
IRF7–F	CAACGAGAACCCTTACGACAA	142	59.2
IRF7–R	GAGGACGGATAATGCGATAGA		
MyD88–F	TTGGAACAGACTGAACGCAACC	125	56.3
MyD88–R	ATGACCACCACCATCCTCTTGC		
β–actin–F	GATTCGCTGGAGATGATGCT	218	55.8
β–actin–R	CGTTGTAGAAGGTGTGATGCC		

1.3.8　基因序列分析及分子系统树的构建　用 1.0%琼脂糖凝胶检测 PCR 扩增产物的完整性及特异性,若有和目的片段大小一致的单一明亮条带,回收 PCR 产物送至华大基因测序,同一样品测序 2 次。测得基因序列采用 DNAMAN 软件进行拼接和分析,利用 MEGA 5.0 软件构建系统进化树。

1.3.9　数据处理　采用循环阈值(Cycle threshold,Ct)法比较各组织中目的基因 mRNA 的相对表达量,以 β–actin 作为内参基因来弥补组织之间的差异。所得数据用 SPSS 20.0 软件进行方差分析,并进

行 Duncan 多重比较,数据以平均值±标准误表示。

2 结 果

2.1 两种多糖对齐口裂腹鱼血清免疫及抗氧化指标的影响

由表 3 可知,OKGMS1.6 组能显著提高齐口裂腹鱼血清 IgM 活性、ACH50 质量分数 (P<0.05),其他剂量组均可提高血清 IgM 质量分数,但未达到显著水平;$OKGMS_{0.4}$、$OKGMS_{0.8}$、$OKGM_{0.4}$、$OKGM_{0.8}$ 组均能显著降低血清 MDA 的质量分数(P<0.05),说明这两种多糖对血清 MDA 的质量分数有一定的影响。OKGMS 与 OKGM 均能提高血清 SOD 活性,且 OKGMS 各剂量组均达到显著水平。

表 3 OKGM 与 OKGMS 对齐口裂腹鱼血清免疫及抗氧化指标的影响

Table 3 Effect of OKGM and OKGMS on serum immune and antioxidant index of *Schizothorax prenanti*

指标	IgM/(μg/mL)	ACH50/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)	SOD/(U/mL)
Control	1.45±0.08^{a}	39.06±2.01^{a}	2.56±0.34^{a}	52.16±0.93^{a}
$OKGMS_{0.4}$	1.53±0.09^{a}	40.82±1.79^{ab}	2.07±0.55^{bc}	55.58±0.70^{c}
$OKGMS_{0.8}$	1.47±0.03^{a}	38.89±2.45^{a}	1.86±0.13^{c}	55.33±0.80^{bc}
$OKGMS_{1.6}$	2.12±0.15^{b}	58.68±3.19^{b}	2.36±0.16^{ab}	54.59±0.69^{bc}
$OKGM_{0.4}$	1.73±0.22^{ab}	49.12±1.45^{ab}	1.75±0.10^{cd}	53.43±0.61^{abc}
$OKGM_{0.8}$	1.63±0.42^{ab}	36.88±2.81^{a}	1.43±0.70^{d}	53.67±1.02^{abc}
$OKGM_{1.6}$	1.63±0.22^{ab}	47.06±3.48^{ab}	2.40±0.21^{ab}	53.16±0.20^{ab}

2.2 基因引物片段长度验证

将 MyD88 和 IRF7 基因的 RT-PCR 扩增产物用 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测,结果如图 1 所示,产物电泳条带单一明亮,且产物长度与目的片段一致,说明引物设计合理。

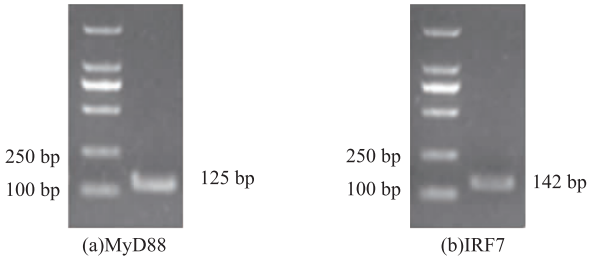


图 1 基因 RT-PCR 产物电泳图

Fig. 1 Amplication product of RT-PCR for MyD88 and IRF7 gene

2.3 基因部分序列克隆及序列相似度分析

如图 2,3 所示,克隆得到的齐口裂腹鱼 MyD88 基因片段为 125 bp,经 DNAMAN 软件处理可知,所得 MyD88 cDNA 片段编码 41 个氨基酸。齐口裂腹鱼 IRF7 基因片段为 142 bp,所得 IRF7 cDNA 片段编码 47 个氨基酸。

从氨基酸序列比对结果表 4,5 可以看出,齐口裂腹鱼 MyD88 基因与其他鱼类的相似性较高,在 81%~97%之间,其中与鲤鱼、鲫鱼相似性最高,均为 97%,其次是赤眼鳟等鲤科鱼类,分别为 95%、93%和 91%,说明 MyD88 基因与鲤科鱼同源性较高。IRF7 基因与其他鱼类的相似性为 69%~87%,鲤鱼、鲫鱼、草鱼分别为 91%、87%、87%,其次是斑马鱼,相似性为 87%,与墨西哥脂鲤、斑点雀鳝相似性较低分别为 76%和 69%。说明 IRF7 基因与鲤科鱼同

```
1     TTGGAACAGACTGAATACAACCTGAAGCTGTGTGTCTTTGACCGAGACGTCCTTCCTGGC
1       L  E  Q  T  E  Y  N  L  K  L  C  V  F  D  R  D  V  L  P  G
61    ACGTGTGTGTGGACCATCACCAGTGAGCTCATAGAGAAAAGGTGCAAGAGGATGGTGGTG
21      L  C  V  W  T  I  T  S  E  L  I  E  K  R  C  K  R  M  V  V
121   GTCAT
41      V
```

图 2 齐口裂腹鱼 MyD88 基因 cDNA 片段及推测氨基酸序列

Fig. 2 Partial nucleotide sequence of MyD88 gene and the deduced amino acids sequence of *Schizothorax prenanti*

```
1    CAACGAGAACCCTTACGACAAAGCGAAGTGGCGATCCGCGATTTCCGTTGTGCACTTCAT
1     Q  R  E  P  L  R  Q  S  E  V  A  I  R  D  F  R  C  A  L  H
61   AGTCTAAAAAACTTTGAGATGTTAGAGGATCACTCCAAAGATCAGGACGACCAACACAAA
21    S  L  K  N  F  E  M  L  E  D  H  S  K  D  Q  D  D  Q  H  K
121  GTCTATCGCATTATCCGTCCTC
41    V  Y  R  I  I  R  P
```

图 3　齐口裂腹鱼 IRF7 基因 cDNA 片段及推测氨基酸序列

Fig. 3　Partial nucleotide sequence of IRF7 gene and the deduced amino acids sequence of *Schizothorax prenanti*

源性较高。

表 4　齐口裂腹鱼和其他鱼类 MyD88 基因预测氨基酸的相似度

Table 4　Similarity of predicted amino acid sequences of *Schizothorax prenanti* MyD88 to other fish

种类	氨基酸序列相似度/%	基因登录号
鲫鱼	97	GU321987.2
鲤鱼	97	GU321987.2
赤眼鳟	95	KR604719.1
麦瑞加拉鲮	93	JN247432.1
胡子鲶	91	JQ990986.1
亚马逊花鳉	84	XM_008396199.1
中华鲟	81	HM776034.1

表 5　齐口裂腹鱼和其他鱼类 IRF7 基因预测氨基酸的相似度

Table 5　Similarity of predicted amino acid sequences of *Schizothorax prenanti* IRF7 to other fish

种类	氨基酸序列相似度/%	基因登录号
鲤鱼	91	KF844251.1
鲫鱼	87	AY177629.1
草鱼	87	GQ141741.1
斑马鱼	83	BC058298.1
墨西哥脂鲤	76	XM_007228044.2
斑点雀鳝	69	XM_015338028.1

2.4　分子系统树的构建及分析

由 MyD88 基因的分子系统树图 4 可知,鲤鱼先与鲫鱼聚到一起,然后与齐口裂腹鱼聚为一类(Bootstrap value=66),形成一个鲤科鱼类小分支;再与团头鲂和大菱鲆聚在一起,形成一个鲤科鱼类大分支(Bootstrap value=88);斑点叉尾鮰鱼与印度囊鳃鲶聚为一类形成鲶形目小分支(Bootstrap value=98),最后所有鱼类聚为一类,再与恒温动物牛和绵羊聚到一起。IRF7 基因的分子系统树如图 5 所示,齐口裂腹鱼与青海湖裸鲤聚到一起,然后与鲤鱼聚为一类(Bootstrap value=77),形成一个鲤科鱼类小分支;然后与草鱼、鲫鱼、斑马鱼、墨西哥脂鲤聚为一类形成鲤科鱼类大分支(Bootstrap value=77);最后与墨西哥脂鲤、欧洲鳗鲡形成鱼类大分支。

从电泳、序列克隆测序结果及序列比对分析结果可知,本试验所设计的 MyD88、IRF7 基因的引物能有效地扩增出对应的目的基因片段,且引物特异性良好,可用于后续试验。

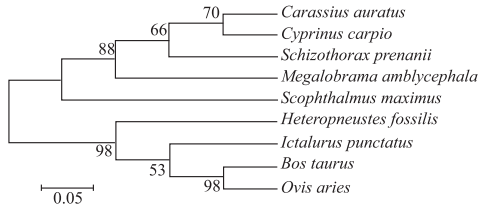


图 4　齐口裂腹鱼 MyD88 基因分子系统树

Fig. 4　Phylogenetic tree of MyD88 gene of *Schizothorax prenanti*

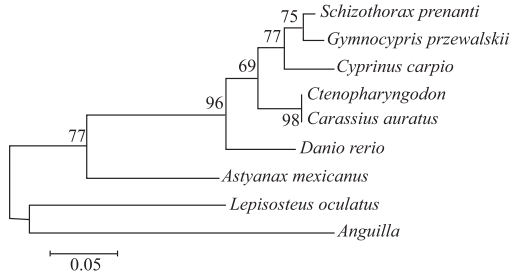


图 5　齐口裂腹鱼 IRF7 基因分子系统树

Fig. 5　Phylogenetic tree of IRF7 gene of Schizothorax prenanti

2.5　两种多糖对齐口裂腹鱼 MyD88、IRF7 基因表达的影响

两种多糖对齐口裂腹鱼不同组织中 MyD88 基因相对表达量的影响结果如图 6–10 所示,不同剂量的两种多糖均能提高肠道 MyD88 基因相对表达量,且 $OKGMS_{0.4}$、$OKGM_{0.8}$ 组达到显著水平($P<0.05$);$OKGM_{1.6}$ 能显著提高头肾 MyD88 基因相对表达量($P<0.05$);$OKGM_{0.4}$ 能显著提高中肾 MyD88 基因相对表达量($P<0.05$);两种多糖各剂量组对齐口裂腹鱼肝脏和脾脏 MyD88 基因相对表达量均无显著影响($P>0.05$)。

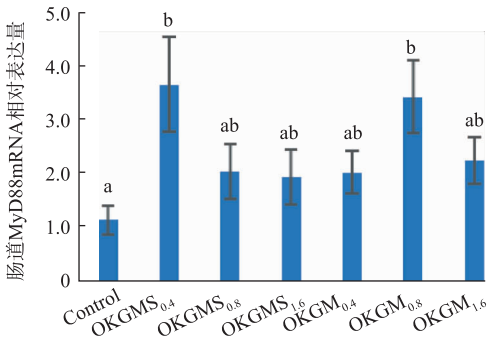


图 6 肠道 MyD88 基因表达水平图

Fig. 6 MyD88 gene expression level in gut

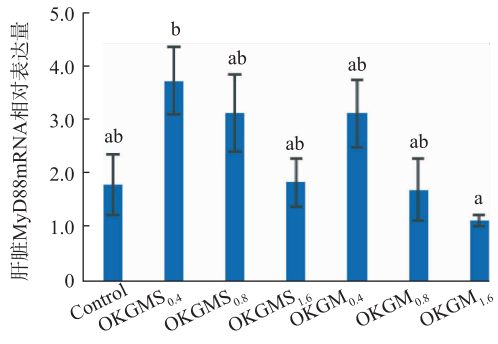


图 7 肝脏 MyD88 基因表达水平

Fig. 7 MyD88 gene expression level in liver

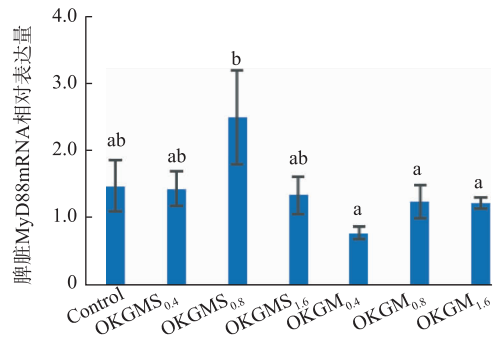


图 8 脾脏 MyD88 基因表达水平

Fig. 8 MyD88 gene expression level in spleen

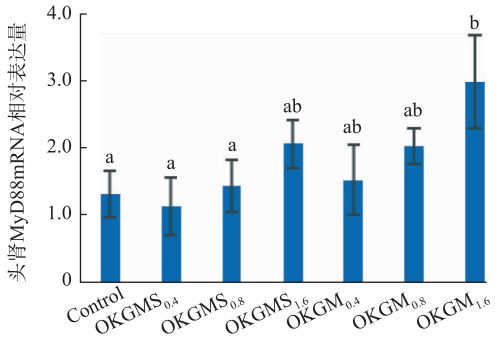


图 9 头肾 MyD88 基因表达水平

Fig. 9 MyD88 gene expression level in headkidney

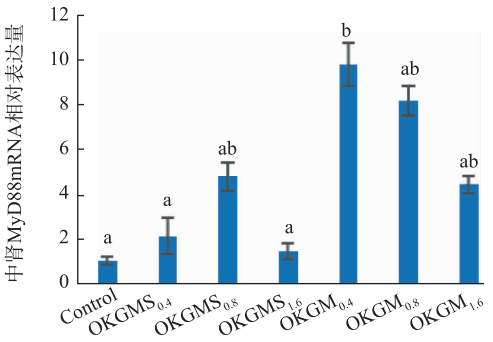


图 10 中肾 MyD88 基因表达水平

Fig. 10 MyD88 gene expression level in mesonephros

两种多糖对齐口裂腹鱼组织 IRF7 基因相对表达量的影响结果如图 11-15 所示，OKGMS 和 OKGM 均能提高肠道 IRF7 基因相对表达量，$OKGM_{0.4}$、$OKGM_{1.6}$ 组达到显著水平（$P<0.05$）；$OKGMS_{0.4}$、$OKGM_{0.8}$ 能显著提高肝脏 IRF7 基因相对表达量（$P<0.05$）；$OKGMS_{1.6}$ 和 $OKGM_{0.8}$ 显著上调脾脏 IRF7 基因相对表达量（$P<0.05$）；$OKGMS_{1.6}$ 与 $OKGM_{1.6}$ 能提高齐口裂腹鱼中肾 IRF7 基因相对表达量（$P<0.05$）；两种多糖各剂量组对齐口裂腹鱼头肾 IRF7 基因相对表达量均无显著影响（$P>0.05$）。

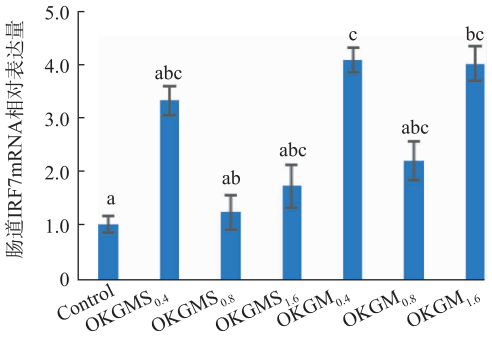


图 11 肠道 IRF7 基因表达水平

Fig. 11 IRF7 gene expression level in gut

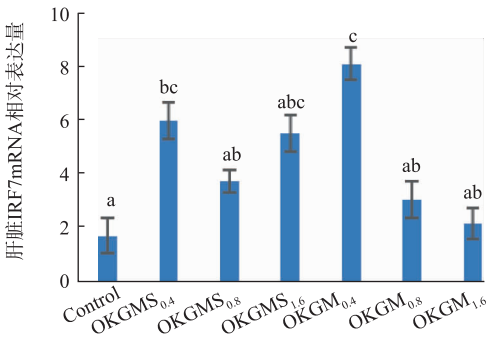


图 12 肝脏 IRF7 基因表达水平

Fig. 12 IRF7 gene expression level in liver

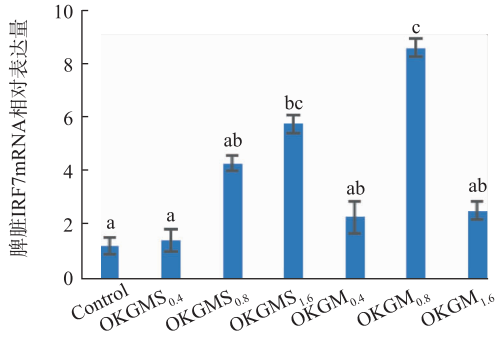


图 13　脾脏 IRF7 基因表达水平

Fig. 13　IRF7 gene expression level in spleen

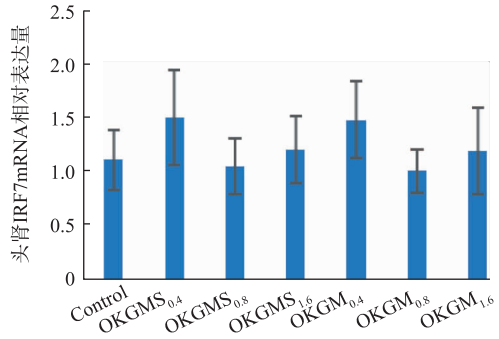


图 14　头肾 IRF7 基因表达水平

Fig. 14 IRF7 gene expression level in headkidney

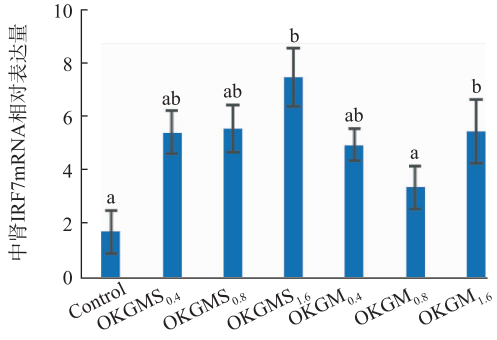


图 15　中肾 IRF7 基因表达水平

Fig. 15　IRF7 gene expression level in mesonephros

3 讨　论

IgM 在鱼类血清中的含量高于哺乳动物，是反应免疫性能的重要指标,在鱼类特异性免疫中起着重要作用[12]。多糖具有免疫活性,可通过激活机体的补体途径,增强机体的特异性免疫应答,进而引起血清 IgM 含量的上升。从两种多糖对齐口裂腹鱼血清免疫指标的影响结果可以看出,OKGMS、OKGM 对齐口裂腹鱼免疫性能有一定影响,$OKGMS_{1.6}$ 能显著提高齐口裂腹鱼血清 IgM、ACH50 的含量,OKGM 组能提高血清中 IgM、ACH50 的含量但未达到显著水平,可能是由于添加剂量较少,未能引起显著的影响。在其他鱼类中也有相似报道。Cerezuela 等[13]研究发现,金头鲷日粮添加扁藻与三角褐指藻饲喂两周后,其血清 IgM 含量显著提高。Aramli 等[14]研究表明,在鲟鱼日粮添加 β 葡聚糖饲喂 6 周能提高血清 ACH50 含量,且质量分数 0.2%、0.3%剂量组影响显著。血清 MDA 的含量可反映出脂质的过氧化程度,从而间接地反映出机体细胞损害的严重程度。从抗氧化指标可以看出,与对照组相比,OKGMS、OKGM 能显著降低血清 MDA 含量并提高 SOD 活性。Zheng 等[15]研究发现,齐口裂腹鱼日粮添加不同剂量高低相对分子质量 OKGM 均能显著提高 SOD 活性,降低血清 MDA 含量。在其他鱼类上也有相似的报道,白东清等[16]研究发现日粮添加一定剂量黄芪多糖能显著提高黄颡鱼体内 SOD 活性,降低 MDA 含量。

MyD88 作为 Toll 样受体信号转导中的关键转接分子,是信号传导的核心环节,在鱼类免疫反应中发挥着重要作用[17],在脾脏、肠道、肝脏等组织中均有表达。IRF7 可参与机体免疫应答、调节机体内干扰素对外界刺激的反应,提高机体免疫功能[18]。目前,关于 MyD88、IRF7 基因的研究多集中在分子特性与克隆及细菌感染对其在机体表达量的影响等方面,而多糖对 MyD88、IRF7 在组织中表达量的影响研究较少[19-20]。作者发现,日粮添加 OKGMS 及 OKGM 能上调齐口裂腹鱼组织中 MyD88、IRF7 基因相对表达量,但在有些组织影响不显著,说明这两种多糖具有提高齐口裂腹鱼免疫性能的作用,作用效果与多糖种类、添加剂量及组织差异性相关。

4 结　语

OKGMS 及 OKGM 能提高齐口裂腹鱼血清免疫指标及抗氧化活性,提高组织中免疫相关基因的表达量,可作为一种免疫增强剂添加到饲料中提高机体免疫性能及抗氧化活性。

参考文献:

[1] LIN Huimin,PANG Jie,FAN Linlin,et al. Advances in immunological activities of *Konjac glucomannan* [J]. **Chinese Pharmacological Bulletin**,2010(11):1404-1406.(in Chinese)

[2] HUANG Mingfa, ZHANG Shenglin. Healthy functions of *Konjac dietary* fiber [J]. **Food and Nutrition in China**, 2010(5): 75-77. (in Chinese)

[3] SHEN Jie, LIU Yujun, ZHANG Jue. Sulfated modification of extracellular polysaccharide from submerged fermentation of ganoderma lucidum[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2015(6): 666-671. (in Chinese)

[4] MAO Gennian, QU Jianbo, LI Xin, et al. Research progress in preparation technique of mannose-oligosaccharides and its derivatives[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2011(2): 366-368. (in Chinese)

[5] LIU Apeng, JIANG Yongming, ZHANG Li, et al. Effects of oligo-konjac glucomannansulfate on immunological activities of penaeus vannamei[J]. **Modern Agricultural Science and Technology**, 2012(13): 268-269. (in Chinese)

[6] XIA Xiaojie, WU Yinglong, FENG Jiao, et al. Effect of two kinds of polysaccharide on growth performance, body composition and serum biochemical indices of schizothorax prenanti tchang[J]. **Food Science**, 2015(17): 240-246. (in Chinese)

[7] ZOU Zhiying, WANG Qian, YANG Hong, et al. Cloning and expression of a myeloid differentiation factor 88 gene in tilapia *Oreochromis aureus*[J]. **Chinese Journal of Zoology**, 2013(6): 894-904. (in Chinese)

[8] ZHANG L, WU Y, WANG L, et al. Effects of oxidized konjac glucomannan (OKGM) on growth and immune function of *Schizothorax prenanti*[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2013, 35(4): 1105-1110.

[9] WANG J, ZHANG L, YU Y, et al. Enhancement of antitumor activities in sulfated and carboxymethylated polysaccharides of ganoderma lucidum[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2009, 57(22): 10565-10572.

[10] ZOU C, DU Y, LI Y, et al. Preparation of lacquer polysaccharide sulfates and their antioxidant activity in vitro [J]. **Carbohydrate Polymers**, 2008, 73(2): 322-331.

[11] ZHENG Q, WU Y, XU H. Effect of dietary oxidized konjac glucomannan on *Schizothorax prenanti* growth performance, body composition, intestinal morphology and intestinal microflora[J]. **Fish Physiology and Biochemistry**, 2015, 41(3): 733-743.

[12] VAN MUISWINKEL W B, NAKAO M. A short history of research on immunity to infectious diseases in fish[J]. **Developmental & Comparative Immunology**, 2014, 43(2): 130-150.

[13] CEREZUELA R, GUARDIOLA F A, GONZALEZ P, et al. Effects of dietary *Bacillus subtilis*, *Tetraselmis chuii*, and *Phaeodactylum tricornutum*, singularly or in combination, on the immune response and disease resistance of sea bream (*Sparus aurata* L.)[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2012, 33(2): 342-349.

[14] ARAMLI M S, KAMANGAR B, NAZARI R M. Effects of dietary β-glucan on the growth and innate immune response of juvenile *Persian sturgeon*, *Acipenser persicus*[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2015, 47(1): 606-610.

[15] ZHENG Q, WU Y, XU H, et al. The effects of dietary oxidized konjac glucomannan and its acidolysis products on the immune response, expression of immune related genes and disease resistance of *Schizothorax prenanti*[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2015, 45(2): 551-559.

[16] BAI Dongqing, WU Xuan, GUO Yongjun, et al. Effect of astragalus polysaccharides on antioxidant and nonspecific immune indices of yellow catfish (pelteobagrus fulvidraco) over long-term feeding[J]. **Chinese Journal of Animal Nutrition**, 2011(9): 1622-1630. (in Chinese)

[17] XU F, ZHANG Y, LI J, et al. Expression and function analysis of two naturally truncated MyD88 variants in the *Pacific oyster Crassostrea gigas*[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2015, 45(2): 510-516.

[18] SUN H, JIANG Z, MAO M, et al. Cloning and expression analysis of interferon regulatory factor 7 in the *Pacific cod*, *Gadus macrocephalus*[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2016, 49: 7-15.

[19] HU G, XIA J, LOU H, et al. Cloning and expression analysis of interferon regulatory factor 7 (IRF-7) in turbot, *Scophthalmus maximus*[J]. **Developmental & Comparative Immunology**, 2011, 35(4): 416-420.

[20] FENG Z, WANG Z, YANG M, et al. Polysaccharopeptide exerts immunoregulatory effects via MyD88-dependent signaling pathway[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2016, 82: 201-207.