

网络优先数字出版时间:2016-05-12

网络优先数字出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/45.1075.N.20160512.1517.018.html>

外源核苷酸对大菱鲆幼鱼生长和溶菌酶活力的影响^{*}

Effect of a Nucleotide-enriched Diet on the Growth and Lysozyme Activity in Juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus*)

刘莹^{1,2}, 刘名^{1,2}, 于超勇^{1,2}, 宋静静^{1,2}, 官曙光^{1,2}, 徐涛³, 于道德^{1,2*}*

LIU Ying^{1,2}, LIU Ming^{1,2}, YU Chaoyong^{1,2}, SONG Jingjing^{1,2}, GUAN Shuguang^{1,2}, XU Tao³, YU Daode^{1,2}

(1. 山东省海洋生物研究院, 山东青岛 266104; 2. 山东省海水养殖工程技术研究中心, 山东青岛 266104; 3. 山东省渔业技术推广站, 山东济南 250013)

(1. Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao, Shandong, 266104, China;

2. Mariculture Engineering Research Center of Shandong Province, Qingdao, Shandong, 266104, China; 3. Shandong Province Fisheries Technology Extension Station, Jinan, Shandong, 250013, China)

摘要:【目的】研究外源核苷酸对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)幼鱼生长和免疫力的影响,为核苷酸营养在大菱鲆养殖上的推广应用提供依据。【方法】以鱼粉为主要蛋白源,在基础饲料中分别添加不同含量的核苷酸,添加量(W/W)分别为0.00%,0.01%,0.03%,0.10%,0.30%,0.50%。在人工养殖的情况下(自然光照,水温11.0~16.3℃),对初始体质量为12.07~12.29 g的大菱鲆幼鱼进行核苷酸营养的外源添加实验,分别在4周和8周对不同组别的生长和生态转化效率进行定期测定。然后在8周实验结束时,对大菱鲆血清中溶菌酶活力进行测定。【结果】随着在基础饲料中核苷酸添加量的增加,大菱鲆的特定生长率逐渐减小,且大菱鲆生态转化效率实验组小于对照组,而血清中溶菌酶活性实验组高于对照组。【结论】核苷酸对大菱鲆幼鱼的生长无明显的促进或抑制作用,对血清中的溶菌酶活性具有促进作用。

关键词:核苷酸 大菱鲆幼鱼 生长 溶菌酶

中图分类号:S963 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-7378(2016)02-0116-06

Abstract:【Objective】The research of exogenous nucleotides (EN) effecting on growth and innate immunity of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*), which provides the evidence for the popularization and application of *Scophthalmus* cultivation.【Methods】With a basal diet formulated from fish meal containing 47% crude protein and 11% lipid by adding exogenous nucleotides of 0.00%, 0.01%, 0.03%, 0.10%, 0.30%, 0.50%, respectively (W/W).

Each diet was distributed by hand to triplicate groups of 15 fish and the growth trial lasted 8 weeks.【Results】At the end of 4 weeks and 8 weeks, the special growth rate and ecological conversion efficiencies were the same for all groups. Although a reverse relationship was found between the special growth rate and EN

Although a reverse relationship was found between the special growth rate and EN

收稿日期:2016-03-29

修回日期:2016-05-09

作者简介:刘莹(1990—),女,研究实习员,主要从事海洋生物学研究。

* 山东省农业良种工程“优质抗病速生鱼类良种选育——速生耐温工厂化适养品种-大菱鲆选育”和山东省现代农业产业体系鱼类创新团队项目(SDAIT-14-011-04)资助。

** 通讯作者:于道德(1978—),男,副研究员,主要从事海水养殖研究,E-mail:wensente@163.com。

levels, also, a weaker relationship was found between the ecological conversion efficiencies and EN levels. The activity of lysosomal enzymes is promoting. **【Conclusion】** We conclude that, EN is not having positive or negative on growth rate of *S. maximus*, at least at the stage of juvenile. However, elevated activity of lysosomal enzymes in blood serum indicates its promotion of innate immunity.

Key words: nucleotide, juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*), growth, lysozyme

0 引言

【研究意义】大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)作为我国北方地区海水养殖的主要鱼种,在掀起第4次海水养殖浪潮的同时,也充分暴露出我国海水养殖的弊端:养殖环境不断恶化,病害日趋严重,传统的抗生素和化学药物的使用引起耐药性菌株增加等等,这些已成为制约养殖业可持续发展的瓶颈^[1-4]。面对世界鱼粉蛋白紧缺的现状,水产业界开始反思我国大菱鲆养殖业的出路,必须开展种质优化、加强良种选育,改善传统养殖模式,优化饵料配比,才能够维持我国大菱鲆养殖业甚至整个水产业的可持续发展,完善我国海水鱼类养殖大产业架构^[5-6]。核酸是一切生物遗传的物质基础,是合成蛋白质、组成细胞的重要生理活性物质。核酸及其相关物质具有抗氧化作用,可作为内源性自由基清除剂和抗氧化剂,具有抗衰老、增强免疫功能等作用^[7]。由于动物能在自己体内合成核苷酸,缺乏时通常无特异性缺乏症,并且饲料中的核苷酸含量很低,因此长期以来人们一直视其为非必需营养素。

【前人研究进展】随着水产养殖业的发展,人们在对象鱼、海鲈、虹鳟、河豚、鲤鱼等鱼类及龙虾的养殖过程中发现,添加核苷酸可促进幼鱼早期组织发育,影响鱼类摄食行为和非必需氨基酸的合成,增强鱼类机体抗病力,同时还能通过增强亲鱼饵料的营养来强化幼鱼的体质^[7-8]。Burrells等^[9-10]的研究确定核苷酸作为鱼类营养的概念,并在全球水产营养领域引起轰动。随着对核苷酸饲料添加剂研究的不断深入,大多数研究已经确定核苷酸的外源添加能促进水产动物的生长发育,提高水产动物的免疫力^[11]。目前核苷酸作为一种半必需营养物质,已广泛应用于食品、医药和饲料等多个领域。**【本研究切入点】**为促进大菱鲆养殖业的可持续发展,优化饵料配比,在人工养殖的情况下(自然光照,水温11~16.3℃),对大菱鲆幼鱼进行核苷酸营养的外源添加实验。**【拟解决的关键问题】**通过对大菱鲆的生长性能和血清中溶菌酶活力的统计分析,探讨其对鱼类

生长及其免疫机能的影响,以期核苷酸营养在大菱鲆养殖上的推广应用提供科学依据,为研制开发鲆鲽类无公害环保配合饲料提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验饲料

基础饲料的配比参照文献^[12](表1),其营养成分如表2所示。在此基础上,分别添加质量比为0.01%,0.03%,0.10%,0.30%,0.50%核苷酸作为实验饲料,对照组为基础饲料,各组饲料用全自动渔用饲料机加工成3.0 mm × 3.0 mm的颗粒,在50℃恒温下干燥12 h,干燥颗粒置于-20℃冰箱备用。

表1 基础饲料配方(%)

Table 1 Formulation of experimental diets (%)

原料 Ingredient	含量 Contents
鱼粉 Fish meal	54.00
高筋面粉 Bread flour	15.00
次粉 Wheat middling	19.40
鱼油 Fish oil	6.70
大豆卵磷脂 Soybean lecithin	1.00
维生素预混料 Vitamin premix	1.00
矿物质预混料 Mineral premix	2.00
VC磷酸酯 C ₆ H ₆ O ₉ P(35%)	0.10
氯化胆碱 Choline chloride(50%)	0.30
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.50

表2 基础饲料的营养成分

Table 2 Nutritional composition of experimental diets

营养成分 Nutrition composition	含量 Contents
粗蛋白 Crude protein	47.22%
粗脂肪 Crude lipid	11.47%
灰分 Ash	12.63%
总能量 Gross energy	20.66 kJ/g

1.1.2 样品及试验地

实验所用大菱鲆为当年人工培育的同一批苗种,共400尾。试验地点为山东省海洋生物研究院鳌山卫鱼类试验基地。

1.1.3 仪器

ME104E 电子分析天平、photoLab 6600 紫外可见分光光度计、因斯特 pH 计、Eppendorf 移液枪、Eppendorf 小型台式离心机。

1.1.4 药品

(1) 磷酸钠缓冲液

准确称取 35.8 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 于 78.4 mL 蒸馏水中,并用玻璃棒搅拌使之溶解;另外称取 15.6 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 于 96.4 mL 蒸馏水中,使之溶解;最后用移液管分别移取 17.8 mL 磷酸氢二钠溶液、82.2 mL 磷酸二氢钠溶液于烧杯中,用 pH 计测得 pH 值为 6.15。

(2) 溶壁微球菌悬液

称取 0.0202 g 溶壁微球菌粉置于 100 mL 磷酸钠缓冲液中,得到浓度为 0.2 mg/mL 的菌液, -20°C 条件下保存备用。

1.2 核苷酸营养的外源添加

实验前准备:将幼鱼用饲料暂养 2 周以适应养殖环境。实验开始前,大菱鲆饥饿 24 h,选择大小均匀、体格健壮的大菱鲆幼鱼,核苷酸添加量为 0.00% 为对照组;另设 5 组实验组,核苷酸添加量 (W/W) 分别为 0.01%, 0.03%, 0.10%, 0.30%, 0.50%, 记为实验 1, 2, 3, 4, 5 组。每组分 3 个平行组,共 18 个实验组。实验所用养殖桶(总体积 400 L, 水体体积 300 L) 均为玻璃纤维桶。海水为自然海水经沙滤以及紫外消毒处理,采用循环流水系统,每桶进水量(流水速度) 1.0 L/min。每天投喂两次,分别于 9:00 和 16:00 进行投喂至饱食。整个实验过程水温条件维持在 $13\sim 15^\circ\text{C}$, 溶氧 5 mg/L 以上,盐度 28‰~30‰。

1.3 生长性能的测定

在喂养 4 周与 8 周后分别进行称重,并计算饵料使用量,然后根据公式计算出特定生长率和生态转换效率:特定生长率 $R_{\text{SG,W}} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$, 式中 W_t 为大菱鲆实验后的质量, W_0 为实验前的质量, t 为时间;生态转换效率 $E_g = (P_t / I_t) \times 100\%$, 式中 P_t 、 I_t 分别为一定时间内体质量增长量 (g) 和摄食量 (g)。

1.4 溶菌酶活力的测定

1.4.1 样品收集

喂养 8 周时,每组取 5 尾样品,取血,室温下静置 1 h,待其凝固后置 4°C 冰箱保持 4 h,然后于 4°C 条件下以 4 000 r/min 离心 15 min,收集血清,保存于 4°C 冰箱中,供血清溶菌酶活性测定用。

1.4.2 溶菌酶活力的测定

参照王雷等^[11]的方法,略作修改。以溶壁微球菌 (Sigma 公司产品) 为底物,按下列步骤进行:取溶壁微球菌悬液 1 950 μL 放入比色皿中,加入 50 μL 血清混匀, 25°C 下反应,分别在 0.5 min 和 4.5 min 时测其在 530 nm 处的吸光值 OD, 然后根据酶活力的定义 (每分钟减少 0.001 吸光度的样品量 (mL)), 测定溶菌酶活力。

1.5 统计分析

实验结果均以平均值 \pm 标准误表示。所得数据使用统计软件 SPSS17.0 在 $\alpha = 0.05$ 水平下进行单因素方差 (ANOVA) 分析。数据经方差分析后进行 Tukey 组间多重比较分析检验, $P > 0.05$ 认为结果差异不显著, $P < 0.05$ 认为结果差异显著。

2 结果与分析

2.1 核苷酸对大菱鲆生长性能的影响

经单因素方差分析:5 个实验组和对照组之间的特定生长率和生态转化效率差异不显著 ($P > 0.05$)。

由图 1 可以看出:4 周后,核苷酸添加量为 0.01% 的实验组与对照组之间差异显著 ($P < 0.05$), 其特定生长率明显低于对照组;其余各实验组与对照组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 且其余各实验组的特定生长率也都低于对照组。另外,各实验组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 说明饲料中核苷酸添加量的不同对于大菱鲆的特定生长率影响不显著。由此可知,在此阶段饲料中添加核苷酸对大菱鲆的生长并无促进作用,还可能存在一定的抑制作用。

4 周后,核苷酸添加量为 0.01% 时,大菱鲆的特定生长率最低,说明在此浓度下,核苷酸对大菱鲆生长的抑制作用较强;当添加量 $\geq 0.03\%$ 时,大菱鲆的特定生长率呈逐渐下降趋势,说明添加量越大,核苷酸的抑制作用越显著。

8 周后,各实验组与对照组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 且各实验组的特定生长率也都低于对照组 (图 1), 说明在此阶段,饲料中添加核苷酸对大菱鲆的生长无促进作用,且可能存在一定的抑制作用。核苷酸添加量为 0.30% 时 (8 周),大菱鲆的特定生长率最小。

从图 2 可以看出,不论 4 周还是 8 周,各实验组与对照组之间差异都不显著 ($P > 0.05$), 说明饲料中核苷酸添加量的不同对于大菱鲆的生态转化效率

影响都不显著。当核苷酸添加量为 0.10% 时,不论哪一周,此实验组的生态转化效率均大于对照组,而添加其他浓度时,各组的生态转化效率都小于对照组。说明对整体而言,此阶段核苷酸的添加对大菱鲂的生长并无促进作用。

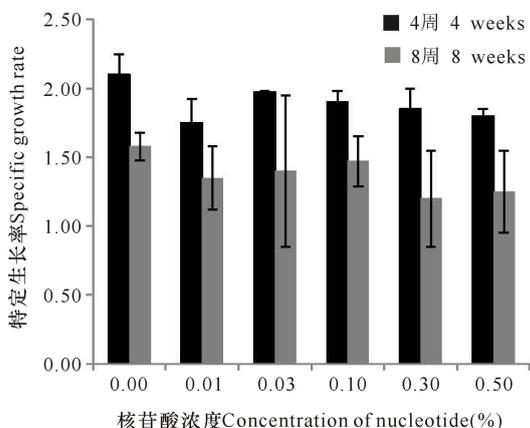


图1 核苷酸浓度对大菱鲂特定生长率的影响

Fig. 1 Effect of nucleotide concentration on the specific growth rate of *Scophtthalmus maximus*

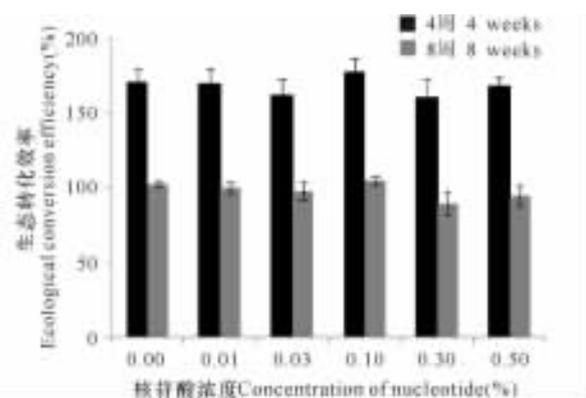


图2 核苷酸浓度对大菱鲂生态转化效率的影响

Fig. 2 Effect of nucleotide concentration on the ecological conversion efficiency of *Scophtthalmus maximus*

2.2 核苷酸对大菱鲂溶菌酶活力的影响

经单因素方差分析,5个实验组和对照组之间的大菱鲂溶菌酶活力差异显著 ($P < 0.05$)。由图3可知:当核苷酸添加量为 0.10% 和 0.50% 时,其组中的大菱鲂血清中溶菌酶活力与对照组之间差异显著 ($P > 0.05$),而其他实验组和对照组之间差异不显著。实验3组与实验1,5组之间差异显著 ($P > 0.05$);实验5组与实验2,3,4组之间差异显著 ($P > 0.05$),说明在饲料中添加核苷酸对大菱鲂血清中的溶菌酶活力影响很大。当核苷酸添加量为 0.10% 时,大菱鲂血清中溶菌酶的活力最小,且小于对照组;当添加量为其他浓度时,各实验组的溶菌酶

活力总体高于或等于对照组,由此表明在此阶段添加核苷酸能提高大菱鲂的溶菌酶活力,对大菱鲂的天然免疫功能具有一定促进作用。

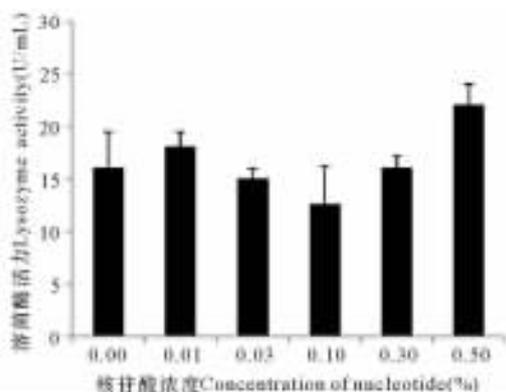


图3 核苷酸浓度对大菱鲂血清中溶菌酶活力的影响

Fig. 3 Effect of nucleotide concentration on the lysozyme activity of *Scophtthalmus maximus*

3 讨论

3.1 饲料中添加核苷酸对大菱鲂生长性能的影响

一般认为在正常条件下,动物自身的核苷酸合成途径就足够满足其生长。Borda等^[13]发现外源性核苷酸能在鱼和甲壳类等水产动物的早期生长阶段促进其生长,满足其早期发育时所需要的快速细胞复制。早在1983年,Person-Le Ruyet进行的大菱鲂幼鱼(大约100 mg/尾)试验就证实投喂含次黄嘌呤的日粮能显著促进大菱鲂的生长,并提高其存活率^[14]。随后的研究表明,对大约230 mg的大菱鲂幼鱼,投喂次黄嘌呤(10 d或20 d)同样能显著增加其体重。有学者认为,次黄嘌呤促生长作用是由于其能改善饲料适口性,具有诱食作用,能提高摄食率,并减少营养物质的流失,或者是在新陈代谢过程中起作用^[15]。除次黄嘌呤,核苷酸代谢物对罗非鱼幼鱼^[16]和虹鳟鱼^[17]也表现出促生长作用。因此,核苷酸对鱼类早期发育阶段的促生长作用是毋庸置疑的^[7]。

虽然Li等^[18]提出核苷酸在鱼类的幼鱼阶段或养成期的生长作用不明显,但是却没有关于核苷酸的负面报道,而本实验研究结果却表明:随着核苷酸添加量的增加,大菱鲂的特定生长率总体上逐渐降低,生态转化效率总体上是实验组小于对照组,说明在该阶段添加核苷酸对生长无促进作用,无论是分开的两个4周,还是8周的生长都是以对照组最佳。虽然核苷酸添加量为0.10%时,大菱鲂的生态转化效率较高,但是其特定生长率并不十分突出,其可能

的原因如下:

(1)实验用鱼为大菱鲂幼鱼,此阶段的鱼体主要处于生长阶段,与早期发育所需要的快速细胞复制^[13]不同,因此该阶段的核苷酸促生长作用不明显;

(2)过多的核苷酸可能造成肝脏在脱嘌呤过程的负担,因而降低生长率;

(3)本实验配方中鱼粉的含量过高可能会掩盖核苷酸的作用,因为大部分核苷酸试验都是基于低含量鱼粉的前提下进行的^[7];

(4)虽然在鱼粉替代实验中,核苷酸可能起到很好的替代作用,但是不可忽视核苷酸的毒副作用,需根据鱼的种类对核苷酸的用量进行调整。

3.2 饲料中添加核苷酸对大菱鲂溶菌酶活性的影响

溶菌酶是广泛存在于鱼类体液、血清和巨噬细胞中的一种水解酶,是生物机体在免疫反应过程中分泌的具有溶解细菌作用的非特异性免疫因子,在鱼类的免疫防御中发挥重要作用^[19]。

基于哺乳类(主要是人类和啮齿类)的研究发现,核苷酸能影响巨嗜细胞的吞噬作用^[20-21]和自然杀伤细胞的活性^[22]。对鱼类的研究也证明外源核苷酸能影响其先天性免疫系统的激素分泌和细胞组分^[7]。Sakai等^[23]证明外源核苷酸能增加鲤鱼体内血清补体和溶菌酶的活性,增强巨嗜细胞的吞噬作用和肾脏超氧阴离子合成。Ramadan等^[24]通过嗜水气单胞菌的免疫接种方式,证实外源核苷酸能使罗非鱼体液免疫和细胞免疫显著增强。

本实验结果显示:实验组的大菱鲂溶菌酶活力高于等于对照组(除0.03%、0.10%外),当核苷酸添加量为0.50%时大菱鲂的溶菌酶活力最大,实验组说明饲料中添加核苷酸对大菱鲂血清中溶菌酶活力具有一定促进作用,与以上相关报道相符,初步说明外源核苷酸可导致大菱鲂幼鱼免疫作用增强,增强其免疫防御能力和抵抗疾病的能力。

但从图3分析,在添加量为0.03%、0.10%时溶菌酶活力比对照组要小,造成上述情况的原因可能由以下几点:一是大菱鲂血清中的溶菌酶活力与核苷酸添加剂量、投喂周期和方式有关;二是在实验过程中存在一些非主观性因素,比如在测溶菌酶活力时,反应温度、试剂的pH值等都可能导致实验的偏差。

4 结论

高含量核苷酸对鱼类生长无促进作用,且可能

存在一定的抑制作用。在全球鱼粉蛋白危机的今天,我们在寻找新型蛋白源以及替代产品需要慎重,核苷酸作为半必需营养素在鱼类营养上的应用仍需进一步地研究。

参考文献:

- [1] 潘连德,陈辉. 药物防治的临床药理学与水产药理学问题[J]. 水产科技情报,1998,25(4):169-173.
PAN L D, CHEN H. Clinical pharmacology and aquatic materia medica in pharmacal treatment and prevention [J]. Fisheries Science & Technology Information, 1998,25(4):169-173.
- [2] 范文辉,黄健,王秀华,等. 养殖大菱鲂溃疡症病原菌的分离鉴定及系统发育分析[J]. 微生物学报,2005,45(5):666-670.
FAN W H, HUANG J, WANG X H, et al. Identification and phylogenetic study of pathogenic bacteria causing ulcer disease of cultured turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(5):666-670.
- [3] 史成银,王印庚,黄健,等. 大菱鲂病毒性疾病研究进展[J]. 高技术通讯,2003,13(9):99-105.
SHI C Y, WANG Y G, HUANG J, et al. The progress on viral diseases research of turbot *Scophthalmus maximus* [J]. High Technology Letters, 2003, 13(9): 99-105.
- [4] 邹玉霞,张培军,莫照兰,等. 大菱鲂出血症病原菌的分离和鉴定[J]. 高技术通讯,2004,14(4):89-93.
ZOU Y X, ZHANG P J, MO Z L, et al. Isolation and identification of the pathogenic bacteria from *Scophthalmus maximus* [J]. High Technology Letters, 2004, 14(4):89-93.
- [5] 雷霖霖,马爱军,陈超,等. 大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.)养殖现状与可持续发展[J]. 中国工程科学, 2005,7(5):30-34.
LEI J L, MA A J, CHEN C, et al. The present status and sustainable development of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) culture in China [J]. Engineering Science, 2005, 7(5):30-34.
- [6] 雷霖霖. 我国海水鱼类养殖大产业架构与前景展望[J]. 海洋水产研究,2006,27(2):1-9.
LEI J L. Outlook of the marine fish culture industry in China [J]. Marine Fisheries Research, 2006, 27(2): 1-9.
- [7] LI P, GATLIN III D M. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications [J]. Aquaculture, 2006, 251(2/3/4):141-152.
- [8] MACKIE A M. The chemical basis of food detection in the lobster *Homarus gammarus* [J]. Marine Biology,

- 1973,21(2):103-108.
- [9] BURRELLS C, WILLIAMS P D, SOUTHGATE P J, et al. Dietary nucleotides: A novel supplement in fish feeds: 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) [J]. *Aquaculture*, 2001, 199(1/2): 171-184.
- [10] BURRELLS C, WILLIAMS P D, FORNO P F. Dietary nucleotides: A novel supplement in fish feeds. I. Effects on resistance to disease in salmonids [J]. *Aquaculture*, 2001, 199(1/2): 159-169.
- [11] LEONARDI M, SANDINO A M, KLEMPAU A. Effect of a nucleotide-enriched diet on the immune system, plasma cortisol levels and resistance to infectious pancreatic necrosis (IPN) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Bull Eur Assoc Fish Pathol*, 2003, 23: 52-59.
- [12] 刘兴旺. 大菱鲂及半滑舌鳎蛋白质营养生理研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010: 66.
- LIU X W. The Study on Protein Nutrition Physiology of Turbot *Scophthalmus maximus* Linnaeus and Haif-Smooth Tongue-Sole, *Cynoglossus semilaevis* Gunther [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010: 66.
- [13] BORDA E, MARTINEZ-PUIG D, CORDOBA X. A balanced nucleotide supply makes sense [J]. *Feed Mix*, 2003, 11: 24-26.
- [14] PERSON-LE RUYET J, MENU B, CADENA-ROA M, et al. Use of expanded pellets supplemented with attractive chemical substances for the weaning of turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1983, 14: 676-678.
- [15] MÉTAILLER R, CADENA-ROA M, PERSON-LE RUYET J. Attractive chemical substances for the weaning of Dover sole (*Solea vulgaris*): Qualitative and quantitative approach [J]. *Journal of the World Mariculture Society*, 1983, 14(1/2/3/4): 679-684.
- [16] RAMADAN A, ATEF M, AFIFI N A. Effect of the biogenic performance enhancer (Ascogen "S") on growth rate of tilapia fish [J]. *Acta Vet Scand*, 1991, 87: 304-306.
- [17] ADAMEK Z, HAMACKOVA J, KOURIL J, et al. Effect of ascogen probiotics supplementation on farming success in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and wells (*Silurus glais*) under conditions of intensive culture [J]. *Krmiva (Zagreb)*, 1996, 38: 11-20.
- [18] LI P, LEWIS D H, GATLIN D M. Dietary oligonucleotides from yeast RNA influence immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2004, 16(5): 561-569.
- [19] MAGNADÓTTIR B. Innate immunity of fish (overview) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20(2): 137-151.
- [20] GIL A. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides [J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2002, 56(Suppl. 3): S1-S4.
- [21] GRIMBLE G K, WESTWOOD O M R. Nutrition and Immunology: Principles and Practice, in *Nucleotides* [M]. GERSHWIN M E, GERMAN J B, KEEN C L, (eds.). New Jersey: Humana Press Inc, 2000: 135-144.
- [22] CARVER J D, COX W I, BARNES L A. Dietary nucleotide effects upon murine natural killer cell activity and macrophage activation [J]. *J Parenter Enteral Nutr*, 1990, 14(1): 18-22.
- [23] SAKAI M, TANIGUCHI K, MAMOTO K, et al. Immunostimulant effects of nucleotide isolated from yeast RNA on carp, *Cyprinus carpio* L. [J]. *J Fish Dis*, 2001, 24(8): 433-438.
- [24] RAMADAN A, AFIFI N A, MOUSTAFA M M, et al. The effect of ascogen on the immune response of Tilapia fish to *Aeromonas hydrophila* vaccine [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1994, 4(3): 159-165.

(责任编辑:米慧芝)