

$\beta(1,3)$ -葡聚糖对水产动物免疫系统的调节功效

Effects of $\beta(1,3)$ -glucan on aquatic animals immune system

孙翠慈¹, 王安利², 胡俊荣³

(1. 河北大学生命科学学院, 保定 071002; 2. 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631; 3. 华南师范大学图书馆, 广州 510631)

中图分类号: Q539; S917.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)03-0059-05

近来我国集约化养殖程度不断提高,但随之带来的是病害的频繁发生。入世后由于发达国家实行“绿色壁垒”对我国水产品的检验标准更加严格。与往年相比,仅对欧盟地区我国水产品出口量下降竟达66%,损失惨重,这给我们敲响了警钟。虽然疫苗是预防疾病最可靠的方法,但至今大部分病毒的疫苗尚未开发出来,且疫苗不具有广谱性,因此仅依赖疫苗是不够的。免疫增强剂虽没有疫苗的专一性,作用时效较疫苗短,且治疗病菌感染的效果略低于化学药物,但免疫增强剂的优点是无药残,抗菌谱广,使用安全,若与疫苗共用还可大大提高疫苗的效价,因此免疫增强剂已逐渐替代化学药物成为控制疾病的有力工具之一。 $\beta(1,3)$ -葡聚糖是一种非特异性免疫增强剂,对多种动物有免疫增强作用。水生甲壳动物主要以非特异性的防御机制抵御病原的侵害。尽管鱼类和爬行类具有特异性免疫机制,但未进化到哺乳动物的水平,其非特异性免疫系统仍扮演重要角色,尤其是刚孵化后特异性免疫系统尚未发育或发育不完善的仔稚鱼,只能依赖非特异性免疫机制抵御外来侵害^[1],因此 $\beta(1,3)$ -葡聚糖对水产动物疾病预防具有广阔的应用前景。

1 $\beta(1,3)$ -葡聚糖作用机理

研究发现水产动物的非特异性免疫系统存在识别 β -葡聚糖的受体^[2,3]。当 $\beta(1,3)$ -葡聚糖进入动物体内,与体液因子及免疫细胞上的特异受体结合,从而则可激活体内的免疫系统。在鱼类非特异性免疫系统中,巨噬细胞和嗜中性粒细胞起着关键作用,此类细胞上的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖受体与 $\beta(1,3)$ -葡聚糖结合,促进巨噬细胞的向病灶迁移,提高活性氧自由基产量和血细胞溶解作用,使机体的杀寄生虫、杀菌活性、抗病毒活性和抗应激反应能力提高。另外 β

(1,3)-葡聚糖与鱼类体液中补体片段结合,激活了补体系统,产生广泛的免疫调节反应^[4]。在体外实验中 $\beta(1,3)$ -葡聚糖可以刺激大西洋鲑(*Salmo salar* L.)^[5]和金赤鲷(*Pagrus auratus*)^[6]巨噬细胞呼吸爆发,大西洋鲑的嗜中性粒细胞活性也增强。在甲壳动物体内, $\beta(1,3)$ -葡聚糖通过结合其血清中受体 $\beta(1,3)$ -葡聚糖结合蛋白(BGBP)连接到血淋巴颗粒细胞膜表面发生反应,使颗粒细胞释放出丝氨酸,丝氨酸继续激活酚氧化酶原发生级联放大反应,使酶原变为具有活性的酚氧化酶,并且中间反应产生大量黑色素和醌过氧化物等活性物质,它们通过多种方式和途径参与机体的防御反应^[7]。酚氧化酶系统不仅存在于甲壳动物体内,在贝类中也发挥着重要作用。 $\beta(1,3)$ -葡聚糖与鱼类疫苗共同使用,也可以增强机体的特异性免疫系统。1996年Verlhac等认为对鱼类而言 $\beta(1,3)$ -葡聚糖颗粒连接到巨噬细胞受体上改变了细胞膜的结构,使巨噬细胞对抗原的加工和呈递作用更有效^[8]。

2 $\beta(1,3)$ -葡聚糖对水产动物免疫功能的影响

$\beta(1,3)$ -葡聚糖是目前研究最深入的多糖,在自然界中广泛存在,如真菌多糖、细菌糖蛋白、海藻多

收稿日期: 2002-10-18; 修回日期: 2003-03-10

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(021098)

作者简介: 孙翠慈(1977-),女,河北保定人,河北大学硕士研究生,研究方向: 水产动物营养与免疫; 王安利, 通讯作者 E-mail: wanganl@sclu.edu.cn.

糖、高等植物多糖等都含有 $\beta(1,3)$ -葡聚糖。不同来源的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖分子结构、分子量不同,但是具有生物活性的主要是含 $\beta-(1,3)$ 苷键主链的 β -葡聚糖。

2.1 真菌多糖

酵母 (*S. cerevisiae*) 细胞壁成分的 90% 是葡聚糖、甘露糖及几丁质。采用腹腔注射的方式酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖,可以使鱼类溶菌酶活性增加、释放超氧阴离子数量增加、补体系统由旁路途径激活及吞噬细胞的吞噬杀菌能力提高,并且大西洋鲑对鲁克氏耶尔森氏菌 (*Yersinia ruckeri*)、鳗弧菌 (*V. anguillarum*) 及杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 的抵抗力^[9-11]和斑点叉尾 (*Ictalurus punctatus*) 抗鲑爱德华氏菌 (*E. ictaluri*)^[12] 能力增强^[20-23]。1994 年 Sung^[13] 采用浸浴方式 (0.5 和 1.0 g/L 酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖) 处理斑节对虾 (*Penaeus monodon*), 发现对虾的酚氧化酶和溶菌酶活性均有提高,且对创伤弧菌 (*V. vulnificus*) 的抵抗力增强,但作用仅持续了 18 d。除此之外,非洲鲇鱼 (*Clarias gariepinus*) 长期口服添加酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的饵料,30 d 后 NBT-阳性细胞数量达到高峰,溶菌酶活性提高并持续 50 天高于对照组^[14]。

目前用于水产动物防病研究的药用真菌有裂褶菌、小核菌、云芝、赤芝、香菇和灰树花等。多糖是主要的药用成分之一。这些真菌多糖多为杂多糖,分子结构、分子量各异,但是基本上都包含 $\beta(1,3)$ -葡聚糖结构。云芝、裂褶菌、小核菌和香菇多糖可以通过旁路途径激活鱼类的补体系统,使 NBT-阳性细胞数量增加,吞噬活性和溶菌酶活性增强。实验证明上述多糖可明显提高鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)、罗非鱼和鱼 (*Seriola quinqueradiata*) 抗迟缓爱德华氏菌 (*Edwardsiella tarda*)、嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 和链球菌能力 (*Streptococcus* sp.)^[15-18]。从裂褶菌中提取的肽葡聚糖也具有杀菌作用,银大麻哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*) 经注射或口服这种肽聚糖后均对杀鲑气单胞菌的防御能力增强^[19]。

李红权^①用注射方式比较灰树花多糖、赤芝多糖和香菇多糖对日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 和日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 的效果,结果三者都具有显著的免疫刺激作用,灰树花多糖效果最佳。2000 年 Cheng 等^[20] 用裂褶菌多糖投喂斑节对虾 24 h 后其血细胞吞噬活性大大增强,超氧阴离子产量增加,这种免疫作用可持续 40 d。

2.2 海藻多糖

从褐藻 *Laminaria hyperborea* 中提取的海藻多糖主要成分为 $\beta-(1,3)$ D-葡聚糖。体内和体外实验都

表明,能够激活大西洋鲑和蓝毛足鲈 (*Trichogaster trichopterus*) 的前肾细胞和白细胞的活性,使蓝毛足鲈对嗜水气单胞菌抵抗力增强。在体外实验中,硫化海藻多糖效果比未硫化的多糖刺激效果显著,吞噬细胞产生的过氧化物产量更多,酸性磷酸酶活性更高。这可能是硫酸化的海藻多糖在水中溶解度大大提高所致^[21-24]。我国研究人员^[25-27] 用海藻多糖免疫中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 和栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*), 也有很好的免疫增强作用。1994 年 Dalmo 等采用放射性示踪原子跟踪海藻多糖在鱼类体内的扩散及靶位,发现其前肾细胞比血清中海藻多糖含量高,如果采用非注射方式,肠道后部为吸收部位^[28]。然而其他多糖诸如酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖和中药多糖等多糖在水产动物体内分布和扩散的研究很少,有待于深入研究。研究表明^[16] 取自 *Laminaria digitata* 的海藻多糖免疫效果不佳,对嗜水气单胞菌和迟缓爱德华氏菌的感染无抵抗作用。这可能是因为藻的种类不同或者提取方式不同,影响了海藻多糖的使用效果。

2.3 其他来源的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖

有研究者把从大麦中提取的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖以注射或浸浴的方式免疫虹鳟,1~2 d 内贴壁 NBT 阳性细胞数量迅速增加,超出对照组 1 倍,尽管 2 d 后一些细胞无贴壁能力,但可继续释放过氧化基团,吞噬细胞的吞噬率增长 100%^[29]。在注射嗜水气单胞菌后,大麦多糖使罗非鱼和鲤鱼存活率大大提高 (分别为 80% 和 60%)。注射迟缓爱德华氏菌后这 2 种鱼的存活率分别为 70% 和 50%^[17]。另外用来自细菌 *Bifidobacterium thermophilum* 的肽葡聚糖投喂五条 (*Seriola quinqueradiata*), 结果对 *Enterococcus seriolicida* 的抵抗力增强^[30]。

3 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的抗应激和佐剂效应以及其它作用

动物处于应激状态时,体内分泌糖皮质激素和皮质甾等激素水平上升,由此引起血淋巴细胞、巨噬细胞和嗜中性粒细胞和溶菌酶的活性急剧下降,动物的免疫系统受到抑制。此时机体极易受到养殖水体中机会病原体的侵染。当机体处于正常生理水平时, $\beta(1,3)$ -葡聚糖可以通过提高机体免疫功能来增强对感染病原的抵抗力,防患于未然。而且当机体处于应激

① 李红权. 真菌多糖对对虾免疫功能的影响. 河北大学硕士学位论文. 2001.

状态 $\beta(1,3)$ -葡聚糖还可降低由此造成免疫抑制带来的危害。有实验表明从虹鳟被运输的前 4 周开始投喂含 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的饵料。运输前测得吞噬细胞吞噬率除空白对照组没有变化外,其余各组均有提高。运输 2 h 后,所有实验组的血浆中皮质醇和糖皮质激素增加,非特异性免疫活动受到影响,一周之后,对照组和添加 0.5%、1% 的实验组中仍然存在糖皮质激素。添加 0.1% 的实验组在运输后各种非特异性免疫指标降幅最小,而且除此组外,其他各组均自发感染屈挠杆菌(*Flexibacter columnaris*)^[31, 47]。2002 年 Sahoo 等^[32]用黄曲霉毒素注射南亚野鲮(*Labeo rohita*)造成免疫力降低,然后投喂含 0.1% $\beta(1,3)$ -葡聚糖的饵料 60 天,在第 30 天时注射迟缓爱德华氏菌疫苗,结果投喂 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的实验组比未投喂的对照组死亡率明显降低。

Baulny 等^[33]1996 年将酵母葡聚糖和鳟弧菌疫苗一起长期投喂大菱鲂(*Scophthalmu maximus*),表明酵母葡聚糖具有佐剂作用。虽然此前 Robertsen 1990 年等^[9]用酵母葡聚糖注射给大西洋鲑使其抗鳟弧菌能力增加,但 Baulny^[33]单独投喂葡聚糖,未使大菱鲂产生抗鳟弧菌效果。与此类似的是,1993 年 Røstad 等^[34]将酵母葡聚糖单独注射大西洋鲑并没有提高机体抗杀鲑气单胞菌能力,但是与一种商业疫苗共同注射使该疫苗的相对保护力由 8% 提高到 88%。经检测,疫苗中加入酵母葡聚糖后,使机体对杀鲑气单胞菌的 A 抗原的抗体滴度升高,但对 LPS(脂多糖)和 ECF(胞外产物)的抗体滴度并未有明显提高。

试验表明 $\beta(1,3)$ -葡聚糖还有促生长作用。在斑节对虾饵料中添加 0.01% 的肽 $\beta(1,3)$ -葡聚糖,可以促进对虾生长,饲料转化率增大,但是添加 0.1% 就没有这种效果^[35],Sung 等^[13]1994 年采用浸浴的方法,使斑节对虾生长加快,但浸浴剂量也很关键,浓度为 0.5 和 1 g/L 的效果要好于 0.25 和 2 g/L^[13]。这表明促生长作用与剂量有一定关系。但是也有试验表明向虹鳟投喂含肽 $\beta(1,3)$ -葡聚糖饵料,观察 60 天后肽聚糖对仔鱼没有促生长作用^[36]。李红权用灰树花多糖添加量分别为 0.05%、0.75% 和 0.1% 投喂日本沼虾 4 周,也未发现多糖的促生长作用,而且添加量 0.05% 和 0.1% 的实验组生长状况甚至略低于对照组^①。因此对于葡聚糖促生长作用与剂量之间的关系需要进一步研究。

4 应用 $\beta(1,3)$ -葡聚糖需注意的几个问题

当 $\beta(1,3)$ -葡聚糖添加量适宜时水产动物的

免疫有促进作用,过量反而有副作用。Sung 等^[13]1994 年用 $\beta(1,3)$ -葡聚糖浸浴斑节对虾,尽管在 0.5、1、2 g/L 的浓度下比对照组生长快,但 2 g/L 的实验组的斑节对虾鳃有病变现象,因为浓度太高致使鳃对渗透压的调节负担过大。另有报道过量投喂含肽 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的饵料对斑节对虾的生长和存活率都有副作用^[37]。Scholz 1999 年等^[38]也发现在饵料中添加 0.1% 啤酒酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖长期投喂南美白对虾(*Penaeus vannamei*),表现出免疫抑制作用,存活率甚至低于对照组。Matsuo K 等^[39]曾报道给虹鳟连续投喂肽 $\beta(1,3)$ -葡聚糖,第 56 天时的保护能力低于第 28 天。因此现在对长期口服 $\beta(1,3)$ -葡聚糖是否有效仍然存在争议。Scholz 认为如果长期投喂葡聚糖,剂量是一个关键问题,但他未排除葡聚糖制备方法也可影响活性的因素。Yano 等^[16]用 10 种不同结构的多糖免疫鲤鱼,发现带有 1~6 键连接分支的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖如裂褶菌多糖、小核菌多糖、香菇多糖在感染爱德华氏菌和嗜水气单胞菌后的保护效果好于没有分支结构的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖,如细菌凝胶聚糖、海藻多糖、酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖。并且从旁途径激活的补体活性来看,香菇多糖和小核菌多糖的效果大大高于细菌凝胶聚糖、海藻多糖以及酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖,推测 1~6 键也起着重要作用。不同来源的 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的分子结构与分子量都有一定差异,因此免疫水平也就存在一定差异^[40]。在医学研究领域里,目前对 $\beta(1,3)$ -葡聚糖同抗肿瘤活性的构效关系研究较为彻底。 $\beta(1,3)$ -葡聚糖的主链组成、分支度和支链组成、相对分子量大小、高级构象、溶解度等都是影响活性的主要因素。从酵母菌中提取到的葡葡甘露聚糖的活性可能与 D-葡萄糖的含量和键合方式有关^[41]。现在工业生产多糖方法是发酵,培养基不同以及提取方式不同都可能使多糖的结构发生变化,因此功效也就有差异。这也可能是在酵母 $\beta(1,3)$ -葡聚糖对水产动物试验中的重复性差的原因之一。目前的研究多偏重于应用,而对葡聚糖结构成分检测研究不够。

实际操作中葡聚糖的给予方式也是一个重要因素。虽然注射引发的免疫作用最快,但是持续时间较短,而且易产生应激反应。对于幼鱼更不易操作。因此

① 李红权. 真菌多糖对对虾免疫功能的影响. 河北大学硕士学位论文.

应多采用浸浴和口服方式。由于影响葡聚糖活性的因素很多,以往的许多实验可比性较差,故用这两种方式给予葡聚糖时,一定要慎重考虑剂量以及免疫时间的设置。随着研究的深入,我们会对葡聚糖及其作用机理有更进一步的了解,并能够将其更加合理地应用到水产养殖业中去。

参考文献:

- [1] Skjermo J, Vodstein, O. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae[J]. **Aquaculture**, 1999, **177**(1-4): 333-343.
- [2] Ainsworth A J. A β -glucan inhibitable zymosan receptor on channel catfish neutrophils[J]. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 1994, 41:141-152.
- [3] Engstad R E, Robersten B. Recognition of yeast cell wall glucan by Atlantic salmon (*Salmo salar* L) macrophages [J]. **Dev Comp Immunology**, 1993, 17: 319-330.
- [4] Yano T. The nonspecific immune system: humoral defense [A]. Iwama G, Nakarishi T. The Fish Immune System [M]. London Academic press, 1996, 105-157.
- [5] Jorgensen J B, Robersten B. Yeast β -glucan stimulate respiratory burst activity of Atlantic salmon (*Salmo salar* L) macrophages[J]. **Dev Comp Immunology**, 1995, 19: 43-57.
- [6] Mathew T C, Peter J H, Wayne H, et al. The efficacy of a commercial β -glucan preparation, EcoActivaTM, on stimulating respiratory burst activity of head-kidney macrophages from pink snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2001, 11: 661-672.
- [7] Albores F V, Plascencia Y G. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response[J]. **Aquaculture**, 2000, 191: 13-21.
- [8] Verlhac V, Gabaudan J, Obach A, et al. Influence of dietary glucan and vitamin C on non-specific and specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. **Aqua**, 1996, 143: 123-133.
- [9] Robersten B, Rostad G, Engstad R, et al. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls[J]. **J Fish Dis**, 1990, 13: 391-400.
- [10] Engstad R E, Robersten B, Frivold E. Yeast glucan induces increase in activity of lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood[J]. **Fish Shellfish Immunol**, 1992, 2: 287-297.
- [11] Jorgensen J B, Lunde H, Robersten B. Peritoneal and head kidney cell response to intraperitoneally injected yeast glucan in Atlantic salmon, *Salmo salar* L[J]. **J Fish Dis**, 1993, 16: 313-325.
- [12] Chen D, Anisworth A J. Glucan administration potentiates immune defense mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafineque[J]. **J Fish Dis**, 1992, 15: 295-304.
- [13] Sung H H, Koum G H, Song Y L. Vibrosis resistance induced by glucan treatment in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. **Fish Pathology**, 1994, 29: 11-17.
- [14] Yoshida T, Kruger R, Inglis V. Augmentation of non-specific protection in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), by the long-term oral administration of immunostimulants[J]. **J Fish Dis**, 1995, 18: 195-198.
- [15] Yano T, Mangindaan P E P, Matsuyama H. Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio* to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some $\beta(1,3)$ -glucans[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1989, 55: 1 815-1 819.
- [16] Yano T, Matsuyama H, Mangindaan P E P. Polysaccharide-induced protection of carp, *Cyprinus carpio* L., against bacterial infection[J]. **J Fish Dis**, 1991, 14: 577-582.
- [17] Wang W S, Wang D H. Enhancement of the resistance of tilapia and grass carp to experimental *Aeromonas hydrophila* and *Edwardsiella tarda* infections by several polysaccharides[J]. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, 1997, 20: 261-270.
- [18] Matsuyama H, Mangindaan R E P, Yano T. Protective effect of schizophyllan and scleroglucan against *Streptococcus* sp. infection in yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) [J]. **Aquaculture**, 1992, 101: 197-203.
- [19] Nikl L, Albright L J, Evelyn T P T. Influence of seven immunostimulants on the immune responses of coho salmon to *Aeromonas salmonicida* [J]. **Dis Aquat Org**, 1991, 12: 7-12.
- [20] Cheng F C, Houng Y C, Mao S S, et al. Immunomodulation by dietary β -1, 3-glucan in the brooders of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2000, **10**(6): 505-514.
- [21] Dalmo R A, Ingebrigtsen K, B?gwald J. Accumulation of immunomodulatory laminaran [$\beta(1,3)$ -D-glucan] in the spleen and kidney of Atlantic salmon, *Salmo salar* L[J]. **Journal of Fish Diseases**, 1995, 18:

- 545 – 553.
- [22] Dalmo R A, B?gwald J, Ingebrigtsen K. The im – munomodulatory effect of laminaran [$\beta(1,3) - D - glu - can$] on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., anterior kidney leucocytes after intraperitoneal, peroral and peranal administration[J]. **J Fish Dis**, 1996, 19:449 – 457.
- [23] Dalmo R A, Martinsen B, Horsberg T E, *et al.* Prophylactic effect of $\beta(1,3) - D - glu$ can (laminaran) against experimental *Aeromonas salmonicida* and *Vibrio salmonicida* infections[J]. **Journal of Fish Diseases**, 1998, 21:459 – 462.
- [24] Samuel M, Lam T J, Sin Y M. Effect of laminaran [$\beta(1,3) - D - glu$ can] on the protective immunity of blue gourami, *Trichogaster trichopterus*. Against *Aeromonas hydrophila*[J]. **Fish and Shellfish Immunology**, 1996, 6:443 – 454.
- [25] 牟海津,江晓路,刘树青,等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(3):463 – 468.
- [26] 刘树青,江晓路,牟海津等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶,磷酸酶和过氧化物酶的作用[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3):278 – 283.
- [27] 江晓路,刘树青,张朝晖等. 多糖对中国对虾免疫功能的影响[J]. 中国水产科学, 1999, 16(1),66 – 68.
- [28] Dalmo R A, Ingebrigtsen K, Horsberg T E, *et al.* Intestinal absorption of immunomodulatory laminaran and derivatives in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.[J]. **Journal of Fish Diseases**, 1994, 7: 579 – 589.
- [29] Jeney G, Anderson D P. Glucan injection or bath exposure given alone or in combination with a bacterin enhance the non – specific defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. **Aquaculture**, 1993, 116: 315 – 329.
- [30] Itami T, Kondo M, Uozu M, *et al.* Enhancement of resistance against *Enterococcus seriolocida* infection in yellowtail, *Seriola quinqueradiata* (Temminck and Schlegel), by oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum*[J]. **J Fish Dis**, 1996, 18: 307 – 315.
- [31] Jeney G, Galeotti M, Volpatti D, *et al.* Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan[J]. **Aquaculture**, 1997, 154: 1 – 15.
- [32] Sahoo P K, Mukherjee S C. The effect of dietary im – munomodulation upon *Edwardsiella tarda* vaccination in healthy and immunocompromised Indian major carp (*Labeo rohita*)[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 2002, 12(1): 1 – 16.
- [33] Baulny M O D, Quentel C, Fournier V, *et al.* Effect of long – term oral administration of $\beta - glu$ can as an immunostimulant or an adjuvant on some non – specific parameters of the immune response of turbot *Scophthalmus maximus*[J]. **Dis Aquat. Org**, 1996, 26, 139 – 147.
- [34] R?rstad G, Aasjord P M, Robetsen B. Adjuvant effect of a yeast glucan in vaccine against furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. **Fish & Shellfish Immunology**, 1993, 3: 179 – 190.
- [35] Boonyaratpalin S, Boonyaratpalin M, Supamattaya K, *et al.* Effects of peptidoglycan (PG) on growth, survival, immune responses, and tolerance to stress in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*[A]. Shariff M, Subasighe R P, Arthur J R. Diseases in Asian Aquaculture Vol. 1. 11. Fish Health Section[C], Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 1995, 469 – 477.
- [36] Matsuo K, Miyazano I. The influence of long – term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1993, 59: 1 377 – 1 379.
- [37] Boonyaratpalin S M, Boonyaratpalin K, Supamattaya, *et al.* Effects of peptidoglycan (PG) on growth, survival, immune response and tolerance to stressor in black tiger prawn (*Penaeus monodon*). Aquatic Animal Health and Environment[J]. **Abstract of second Symposium on Disease in Asian Aquaculture**, 1993, 5.
- [38] Scholz U, Garcia G, Ricque D, *et al.* Enhancement of vibriosis resistance in juvenile *Penaeus vannamei* by supplementation of diets with different yeast products[J]. **Aquaculture**, 1999, 176: 271 – 283.
- [39] Matsuo K, Miyazano I. The influence of long – term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1993, 59: 1 377 – 1 379.
- [40] 诸葛健,赵振锋,方慧英. 功能性多聚糖的构效关系[J]. 无锡轻工大学学报. 2002, 21(2):209 – 212.
- [41] 田庚元. 多糖类免疫调节剂的研究和应用[J]. 化学进展, 1994, 6(2):114 – 124.

(本文编辑 张培新)