

张维娜, 夏飞, 谢骏, 等. 凝结芽孢杆菌 JSSW-07 对异育银鲫生长及免疫功能的影响[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(3): 630-637.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.03.027

凝结芽孢杆菌 JSSW-07 对异育银鲫生长及免疫功能的影响

张维娜^{1,2}, 夏飞¹, 谢骏³, 高亮¹, 孙梅¹, 陈秋红¹, 匡群¹, 邹苏艳⁴, 张宪中⁵

(1. 江苏省苏微微生物研究有限公司, 江苏 无锡 214063; 2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 3. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081; 4. 江苏宜兴天石饲料有限公司, 江苏 宜兴 214200; 5. 无锡市水产技术指导站, 江苏 无锡 214000)

摘要: 为研究在饲料中添加不同含量的凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼生长、免疫功能的影响, 选取平均体质量为 (17.70±0.07) g 的健康异育银鲫幼鱼随机分为 4 组, 3 组试验组饲料中分别添加质量分数为 0.1%、0.3%、0.5% 的凝结芽孢杆菌菌粉 (含菌量为 5.0×10⁸ CFU/g), 对照组饲料中不添加凝结芽孢杆菌。试验结果表明: (1) 在饲料中添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌能够显著提高鱼体的增质量率 (WGR)、特定增长率 (SGR) ($P<0.05$), 并能够显著降低饵料系数 (FCR) ($P<0.05$)。 (2) 各试验组的白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC) 数量和血红蛋白 (HGB) 浓度均无显著差异 ($P>0.05$)。 (3) 添加 0.5% 凝结芽孢杆菌能显著提高碱性磷酸酶 (ALP)、谷草转氨酶 (AST) 活性及总蛋白质 (TP) 含量 ($P<0.05$); 添加 0.3% 凝结芽孢杆菌能显著降低碱性磷酸酶 (ALP)、谷丙转氨酶 (ALT) 活性 ($P<0.05$); 添加 0.1% 凝结芽孢杆菌能显著降低碱性磷酸酶 (ALP) 活性 ($P<0.05$); 添加凝结芽孢杆菌对葡萄糖 (GLU)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 含量无显著影响。 (4) 添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌能显著提高肝脏的总抗氧化能力 (T-AOC) 及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性 ($P<0.05$), 有效抑制丙二醛 (MDA) 的生成; 添加 0.1% 凝结芽孢杆菌能显著提高肝脏的过氧化氢酶活性 ($P<0.05$), 对肝脏的抗氧化能力、超氧化物歧化酶活性无显著影响 ($P>0.05$), 不能抑制丙二醛的生成。可见, 饲料中添加 0.3% 凝结芽孢杆菌可较好地促进异育银鲫幼鱼的生长, 提高机体免疫力。

关键词: 异育银鲫; 凝结芽孢杆菌; 生长; 免疫

中图分类号: S965.117 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)03-0630-08

Growth and immunity of *Carassius gibelio* in response to *Bacillus coagulans* JSSW-07

ZHANG Wei-na^{1,2}, XIA Fei¹, XIE Jun³, GAO Liang¹, SUN Mei¹, CHEN Qiu-hong¹, KUANG Qun¹, ZOU Su-yan⁴, ZHANG Xian-zhong⁵

(1. Jiangsu Suwei Microbiology Research Co., Ltd., Wuxi 214063, China; 2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China; 3. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China; 4. Jiangsu Yixing Tianshi Feed Co., Ltd., Wuxi 214200, China; 5. Wuxi Aquatic Technology Extension Station, Wuxi 214063, China)

收稿日期: 2014-12-23

基金项目: 江苏省水产三新工程项目 (Y2014-3)

作者简介: 张维娜 (1985-), 女, 江苏无锡人, 本科, 助理研究员, 研究方向为应用微生物。 (E-mail) zhangweina4045@163.com

通讯作者: 谢骏, (E-mail) 87838718@qq.com

Abstract: The effects of different supplement levels of *Bacillus coagulans* on growth performance and immunity function of juvenile *Carassius gibelio* were studied in experiment. The fish with an initial average body weight of

(17.70±0.07) g were randomly divided into four groups with 3 replicates per group and 30 fish per replicate. The fish in the control group were fed with basal diet, and three experimental groups were fed with basal diet supplemented with *B. coagulans* at the dose of 5.0×10^8 CFU/g (mass fraction levels 0.1%, 0.3%, 0.5%, respectively). The experiment lasted for 45 d. The weight gain rate (WRG) and specific growth rate (SGR) of the fish feeding on 0.3% and 0.5% *B. coagulans* diets were significantly higher than those of control ($P < 0.05$), and the feed conversion rate (FCR) was significantly lower than that of control ($P < 0.05$). The white blood cell count (WBC), red blood cell count (RBC), hemoglobin content (HGB) had no significant difference ($P > 0.05$) among groups. Compared with control, the content of total protein (TP) and the activities of ALP and AST of the fish feeding on 0.5% *B. coagulans* diet increased significantly ($P < 0.05$), the activities of ALP and alanine ALT of the fish feeding 0.3% *B. coagulans* diet decreased significantly ($P < 0.05$), and the activity of ALP of the fish feeding on 0.1% *B. coagulans* diet decreased significantly ($P < 0.05$). The contents of glucose, total cholesterol (TC), total triglyceride (TG) were not affected by *B. coagulans* supplementation ($P > 0.05$). Compared with control, the total antioxidant capacity (T-AOC) and the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were significantly improved in the fish feeding on 0.3% and 0.5% *B. coagulans* diets ($P < 0.05$), and the accumulation of malonaldehyde (MDA) was effectively inhibited in the two experimental groups. The supplementation of 0.1% *B. coagulans* improved liver catalase (CAT) activity ($P < 0.05$), but did not affect the activities of SOD and T-AOC ($P > 0.05$), and did not inhibit the generation of MDA. In conclusion, the diet supplemented with 0.3% *B. coagulans* can promote the growth of juvenile *Carassius auratus gibelio* and enhance the immunity function.

Key words: *Carassius gibelio*; *Bacillus coagulans*; growth; immunity

在水产养殖中,水生动物频繁遭受各类应激因子的刺激,容易导致其机体免疫力降低,病害频繁发生。目前,有关鱼类病害的传统防治方法多是使用抗生素,大量、盲目使用抗生素不但防治效果差,并且还容易造成药物残留、耐药性增加、鱼类内脏机能损伤等许多不良后果^[1]。近年来,在水产养殖中益生菌的使用已日趋普遍。Verschuere 等^[2]认为,益生菌是一类活的微生物制剂,通过改善养殖环境、增强机体抗病能力、提高饲料营养价值或饲料利用率、调节宿主或环境微生物菌群平衡而对宿主产生有益作用。目前,益生菌在水产养殖业中的应用方式主要包括3种:改良养殖水体的水质;控制病原,生物防治;作为营养性饲料添加剂,提高动物生长性能。益生菌因其安全、有效的优点正逐步替代抗生素在水产养殖中的使用。

芽孢杆菌是水产养殖行业应用最广泛的益生菌之一^[3-5]。芽孢杆菌能够分泌蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶等,促进营养物质在水生动物消化道的分解和吸收,提高饲料的利用率和消化率。同时,芽孢杆菌被证明具有抗菌活性,能够产生细菌素(抗菌肽),对水产动物具有免疫刺激作用。凝结芽孢杆菌是一种既产乳酸又产芽孢的乳酸菌,已被中国农业部列入饲料添加剂质量保护期内的新型饲料添加剂,美国食品药品监督管理局(FDA)也将凝结芽孢杆菌列为“普遍认为安全”

的杆菌类。凝结芽孢杆菌作为一种新型的芽孢杆菌,在水产养殖中具有广阔的应用前景。但是目前凝结芽孢杆菌在水产养殖应用方面的研究较少,考察其对异育银鲫生长、免疫影响的报道很少。因此,本试验在异育银鲫基础日粮中添加凝结芽孢杆菌 JSSW-07 粉剂,考察凝结芽孢杆菌作为饲料添加剂对鲫鱼生长、生理生化指标的影响,为研究微生物生态制剂对水生动物的作用机理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 菌株来源

凝结芽孢杆菌(菌株 JSSW-07)制剂(菌浓度为 5.0×10^8 CFU/g)由江苏省苏微微生物研究有限公司经发酵、过滤、烘干制备而得,经中国科学院微生物研究所鉴定为凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)。

1.2 试验鱼及饲养管理

试验用异育银鲫幼鱼由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心南泉基地提供,采用循环流水控温系统进行养殖。试验前,先用基础饲料驯养 14 d。选择健康、质量基本一致[初始体质量为 (17.7±0.07) g]的异育银鲫,随机分为 4 组,每组 3 次重复,每个重复 30 尾鱼。试验期间,每天投喂 2 次(8:00 至 8:30, 15:30 至 16:00),直至表观饱食为止,日投饵量为鱼体质量的 3%~4%,并且根据

生长和摄食的情况作适当调整。养殖期间水温为 24.5 ℃ 左右, pH 7.6 ~ 7.8, 溶氧大于 5 mg/L, 氨态氮小于 0.01 mg/L。试验周期为 42 d。

1.3 日粮

对照组饲喂的基础日粮为鲫鱼商品料(表 1), 由通威公司提供。试验日粮为基础日粮分别添加质量分数为 0.1%、0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌制剂(菌浓度为 5.0×10^8 CFU/g)。

表 1 异育银鲫基础日粮

Table 1 The basal diet of *Carassius gibelio*

日粮组成	含量(%)
鱼粉	9
豆粕	20
棉粕	10
菜粕	23
小麦	16
大豆油	3
酒糟蛋白质	8
米糠	10
添加剂	1

1.4 样品采集

采样前禁食 24 h, 每次采样于上午 8:00 开始, 环境温度控制在 26 ℃ 左右, 每个桶随机选取 3 尾鱼, 每组 9 尾异育银鲫幼鱼, 每次采样都是在同等条件下进行。将幼鱼迅速捞起, 尾静脉采血, 每尾鱼的血液均分为 2 份, 一份血液加入抗凝管中, 24 h 内进行血细胞测定, 另一份血液于 4 ℃ 条件下 10 000 r/min 离心 5 min, 制备得到的血清于 -20 ℃ 冻存备用。采完血后的鱼称质量、量体长, 并且剖开腹部, 剥离出肝脏称质量。

1.5 测定方法

1.5.1 血液常规参数的测定 白细胞(WBC)、红细胞(RBC)数量及血红蛋白(HGB)浓度在深圳迈瑞全自动五分类动物血液细胞分析仪(BC-5300 VEt)上测定, 试剂购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.5.2 血液生化指标的测定 血糖(Glu)、胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、总蛋白质(TP)含量和谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)活性均在深圳迈瑞全自动生化分析仪(BS-

400)上测定, 试剂盒购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司。

1.5.3 肝脏抗氧化指标的测定 肝脏样品解冻后, 用 4 ℃ 生理盐水冲洗干净并用滤纸吸干, 称质量。将样品与生理盐水按 1:9 的比例在冰浴中匀浆, 制成 10% 匀浆液。匀浆液在 4 ℃、3 000 r/min 条件下离心 10 min, 上清液保存于 -80 ℃ 冰箱中。肝脏上清液蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定。过氧化物酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC)分别采用嘌呤氧化酶法、紫外比色法、氧化还原法比色法、WST-1 法测定, 测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。测定方法参照试剂盒说明书。

1.6 生长性能相关指标的计算

按照下列公式^[6]计算异育银鲫幼鱼生长性能相关指标: 增质量率 $WGR = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$, 特定生长率 $SGR = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$, 饵料系数 $FCR = F_1 / (W_t - W_0)$, 成活率 $SR = 100 \times N_t / N_0$, 肝体比 $HSI = 100 \times W_h / W_b$, 肥满度 $CF = 100 \times W_b / L^3$, 式中, W_0 为试验开始时鱼平均体质量, W_t 为结束时平均体质量, t 为饲喂天数, F_1 为每尾鱼平均摄食饲料总质量(风干样), N_t 为收获尾数, N_0 为放养尾数, W_h 为结束时每尾鱼肝脏质量, W_b 为结束时每尾鱼体质量, L 为结束时每尾鱼体长。

1.7 数据统计与分析

采用 SPSS(Ver. 11.5) 软件 Duncan's 多重比较检验各组间的差异。

2 结果与分析

2.1 日粮中不同含量凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼生长性能的影响

由表 2 可知, 与对照组相比, 在基础日粮中添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌能够显著提高鱼体的增质量率、特定增长率($P < 0.05$), 并能够显著降低饵料系数($P < 0.05$), 存活率、肝体比、肥满度与对照组相比均无显著差异($P > 0.05$)。基础日粮中添加 0.1% 凝结芽孢杆菌的试验组与对照组相比各指标间均无显著差异($P > 0.05$)。

2.2 日粮中不同含量凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼血液常规指标的影响

试验结果(表 3)显示, 各组之间白细胞和红细胞数量及血红蛋白浓度无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 日粮中不同含量凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼生长性能的影响

Table 2 Effect of various *B. coagulans* levels on growth performance of juvenile *C. gibelio*

凝结芽孢杆菌添加量 (%)	增质量率 (WG) (%)	特定生长率 (SGR) (%)	饵料系数 (FCR)	存活率 (SR) (%)	肝体比 (HSI) (%)	肥满度 (CF) (%)
0 (对照)	69.70±5.35a	1.19±0.11a	1.83±0.21a	99.30±1.15	1.95±0.11	2.95±0.05
0.1	72.13±3.45a	1.21±0.05a	1.78±0.03a	100.00±0.00	1.97±0.15	2.93±0.05
0.3	87.27±8.90b	1.34±0.09b	1.51±0.05b	100.00±0.00	2.11±0.17	2.85±0.04
0.5	94.45±5.25b	1.49±0.02b	1.37±0.11b	100.00±0.00	1.90±0.20	2.97±0.07

同一竖栏中不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

表 3 日粮中不同含量凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼血常规参数的影响

Table 3 Effect of various *B. coagulans* levels on blood parameters of juvenile *C. gibelio*

凝结芽孢杆菌添加量 (%)	白细胞 (WBC) 数量 ($\times 10^9$ 个/L)	红细胞 (RBC) 数量 ($\times 10^{12}$ 个/L)	血红蛋白 (HGB) 浓度 (g/L)
0 (对照)	317.19±11.00	0.71±0.04	99.53±6.02
0.1	320.19±5.35	0.73±0.05	102.77±3.45
0.3	325.64±10.94	0.76±0.06	107.67±5.85
0.5	325.68±4.03	0.75±0.03	109.53±4.39

2.3 日粮中不同含量凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼血清生化指标的影响

试验至第 14 d, 添加 0.5% 凝结芽孢杆菌试验组碱性磷酸酶 (ALP) 活性和总蛋白质 (TP) 含量均显著低于添加 0.1% 和 0.3% 凝结芽孢杆菌试验组及对照组 ($P < 0.05$), 第 28 d 时各试验组及对照组

之间 ALP 活性和 TP 含量均无显著差异 ($P > 0.05$); 至第 42 d 时添加 0.5% 凝结芽孢杆菌试验组血清中 ALP 活性和 TP 含量均显著高于 0.1%、0.3% 凝结芽孢杆菌试验组及对照组 ($P < 0.05$), 而添加 0.1%、0.3% 凝结芽孢杆菌试验组 ALP 活性和 TP 含量与对照组无显著差异 ($P > 0.05$) (表 4)。

表 4 凝结芽孢杆菌对异育银鲫血清生化指标的影响

Table 4 Effect of *B. coagulans* on serum biochemical indexes of juvenile *C. gibelio*

测定时间	凝结芽孢杆菌添加量 (%)	碱性磷酸酶 (ALP) 活性 (U/L)	总蛋白质 (TP) 含量 (g/L)	总胆固醇 (TC) 含量 (mmol/L)	甘油三酯 (TG) 含量 (mmol/L)	葡萄糖 (GLU) 含量 (mmol/L)	谷草转氨酶 (AST) 活性 (U/L)	谷丙转氨酶 (ALT) 活性 (U/L)
第 14 d	0 (对照)	11.95±4.66a	30.19±2.69a	4.58±0.39	2.05±0.32	8.78±1.87	137.07±19.37	3.21±0.69
	0.1	10.86±1.23a	30.35±0.93a	4.05±0.29	2.34±0.39	7.77±1.23	116.56±9.89	3.01±0.88
	0.3	12.55±3.73a	32.40±1.30a	4.13±0.13	2.03±0.14	9.96±0.73	122.91±3.70	3.41±0.71
	0.5	5.73±2.15b	21.44±6.89b	4.47±1.07	2.39±0.43	7.22±1.37	126.98±15.89	2.88±1.08
第 42 d	0 (对照)	4.87±0.74b	32.99±5.00b	4.71±1.13	2.19±0.26	16.98±6.38	111.90±8.40b	4.11±1.32a
	0.1	5.32±2.01b	29.65±1.37b	4.23±0.67	2.24±0.28	17.23±3.34	101.35±8.87b	4.21±1.12a
	0.3	5.49±1.73b	32.46±2.41b	4.44±1.43	2.27±0.20	18.19±3.98	105.66±10.28b	1.51±0.25b
	0.5	13.24±5.97a	47.06±4.07a	4.52±1.68	2.59±0.75	16.48±3.76	145.33±9.23a	4.03±1.29a

同一竖栏中同一测定时间不同小写字母表示差异达 0.05 显著水平。

与对照组相比, 在饲料中添加 0.1%、0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌制剂试验组异育银鲫幼鱼血清中总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、葡萄糖 (GLU) 含量均无显著差异 ($P > 0.05$), 其中血清中 GLU 含量

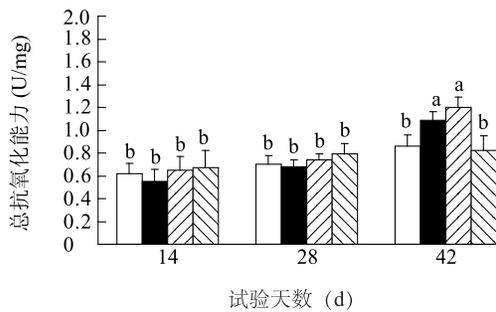
随着养殖时间的延长呈现不断上升的趋势。

试验前期 (14 d) 及中期 (28 d), 各试验组及对照组之间异育银鲫幼鱼血清中谷草转氨酶 (AST) 活性、谷丙转氨酶 (ALT) 活性无显著差异

($P>0.05$)。至第42 d, 0.5% 凝结芽孢杆菌制剂试验组鱼体中 AST 活性显著高于 0.1%、0.3% 凝结芽孢杆菌制剂试验组及对照组 ($P<0.05$), 而 0.3% 凝结芽孢杆菌制剂试验组鱼体中谷丙转氨酶 (ALT) 活性显著低于 0.1%、0.5% 凝结芽孢杆菌制剂试验组及对照组 ($P<0.05$)。

2.4 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼肝脏抗氧化指标的影响

试验至 42 d, 添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组鱼体总抗氧化能力 (T-AOC) 显著高于第 14 d、第 28 d 鱼体 T-AOC ($P<0.05$)。与对照组相比, 试验前期、中期各试验组 T-AOC 与对照均无显著差异 ($P>0.05$), 至后期, 添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌的试验组 T-AOC 显著高于对照组与添加 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组 ($P<0.05$), 添加 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组 T-AOC 与对照组无显著差异 ($P>0.05$) (图 1)。



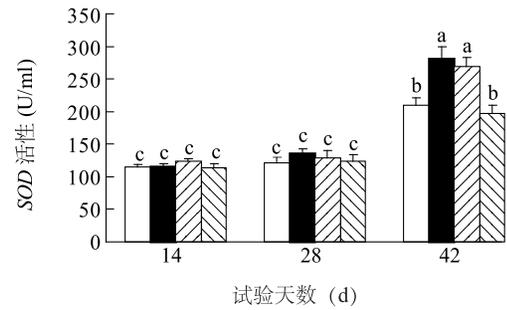
□ 添加0.1%凝结芽孢杆菌; ■ 添加0.3%凝结芽孢杆菌;
▨ 添加0.5%凝结芽孢杆菌; ▩ 对照组

不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

图 1 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼总抗氧化能力 (T-AOC) 的影响

Fig. 1 Effects of *B. coagulans* on total antioxidant capacity (T-AOC) of juvenile *C. gibelio*

第 42 d, 添加 0.1%、0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组以及对照组鱼体超氧化物歧化酶 (SOD) 活性均显著高于第 14 d、第 28 d ($P<0.05$), 呈现不断升高的趋势。与对照组相比, 试验前期、中期, 各试验组及对照组间 SOD 活性均无显著差异 ($P>0.05$)。至 42 d, 添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌的试验组 SOD 活性均显著高于对照组 ($P<0.01$); 添加 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组 SOD 活性与对照组间无显著差异 ($P>0.05$) (图 2)。



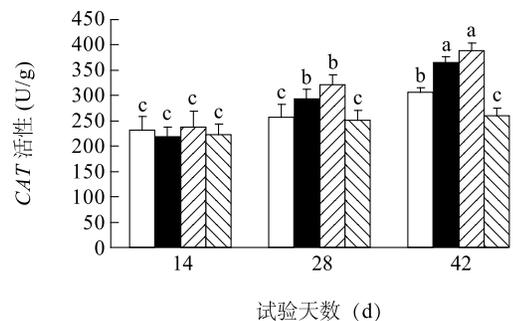
□ 添加0.1%凝结芽孢杆菌; ■ 添加0.3%凝结芽孢杆菌;
▨ 添加0.5%凝结芽孢杆菌; ▩ 对照组

不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

图 2 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

Fig. 2 Effects of *B. coagulans* on superoxide dismutase (SOD) activity of juvenile *C. gibelio*

第 42 d, 添加 0.1%、0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组过氧化氢酶 (CAT) 活性较第 14 d、第 28 d 均显著提高 ($P<0.05$), 对照组 CAT 活性无显著变化 ($P>0.05$) (图 3)。第 14 d 时, 各试验组与对照组无显著差异 ($P>0.05$), 但至试验中、后期, 添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组 CAT 活性均显著高于 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组和对照组 ($P<0.05$)。试验后期, 饲料中添加 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组 CAT 活性显著高于对照组 ($P<0.05$)。



□ 添加0.1%凝结芽孢杆菌; ■ 添加0.3%凝结芽孢杆菌;
▨ 添加0.5%凝结芽孢杆菌; ▩ 对照组

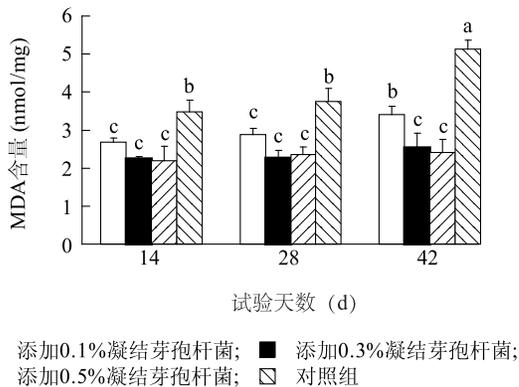
不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

图 3 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

Fig. 3 Effects of *B. coagulans* on catalase (CAT) activity of juvenile *C. gibelio*

在试验过程中, 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组和对照组丙二醛 (MDA) 含量呈现逐渐上升的趋势。

0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组 MDA 含量均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 且两组间无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4)。试验前期、中期, 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组 MDA 含量与 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组无显著差异 ($P > 0.05$), 但第 42 d 时, 0.1% 凝结芽孢杆菌试验组 MDA 含量显著高于另外两组 ($P < 0.05$), 但显著低于对照组 ($P < 0.05$)。



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 4 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 4 Effects of *B. coagulans* on malonaldehyde (MDA) content of juvenile *C. gibelio*

3 讨论

3.1 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼生长的影响

益生菌菌体含有丰富的蛋白质, 可作为蛋白质源饵料或饲料添加剂。益生菌可在水产动物肠道内定殖, 同时产生多种营养物质, 参与水产动物的新陈代谢, 有利于水产动物的生长。潘康成等^[7]发现在鲤鱼饲料中添加 0.1% 的芽孢杆菌, 对鲤鱼生长具有明显的促进作用。慈丽宁等^[8]在团头鲂基础日粮中添加乳酸芽孢杆菌 (*M. amblycephala*), 结果表明与对照组相比, 添加乳酸芽孢显著提高了鱼体增质量率、蛋白质效率、特定增长率。

本试验结果表明, 与对照相比, 饲料中添加 0.3% 和 0.5% 的凝结芽孢杆菌均能显著提高鱼体的增质量率、特定增长率, 显著降低饵料系数, 这可能是由于饲料中添加的凝结芽孢杆菌能够在肠道内分泌脂肪酶、蛋白酶等多种消化酶类, 促进异育银鲫幼鱼对饲料中营养成分的利用, 进而加强了饲料的利用价值, 促进异育银鲫幼鱼的生长。但饲料中添

加 0.1% 的凝结芽孢杆菌对异育银鲫的生长性能没有显著的促进作用, 这说明在饲料中添加的凝结芽孢杆菌需要达到一定的量才能促进异育银鲫的生长。因此, 结合当前凝结芽孢杆菌微生态制剂及异育银鲫的市场行情, 在饲料中添加适宜浓度的凝结芽孢杆菌可降低养殖成本, 促进养殖户增产增收。

3.2 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼血液常规指标的影响

血液作为鱼体内一个非常重要的组成成分, 与鱼类的机体代谢、营养状况以及疾病等有着非常密切的关系。因此, 血液常规指标的变化被广泛地用来评价鱼类的健康、营养以及对环境的适应状况, 是重要的生理、病理和毒理学指标^[9-11]。

本试验中, 凝结芽孢杆菌试验组异育银鲫幼鱼的红细胞数量和血红蛋白浓度与对照组相比均没有显著性差异, 也没有随凝结芽孢杆菌在饲料中添加量的增加而发生变化, 此结果与微生态制剂 (EM) 对建鲤 (*Cyprinus carpio* var. *Jiaon*)^[12]、大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 及鲫鱼 (*Carassius auratus*)^[13] 血液指标影响的试验中发现红细胞数量及血红蛋白浓度有增加的趋势但没有显著性差异的结果一致。凝结芽孢杆菌不能促进异育银鲫血液中血细胞和血红蛋白的生成。试验中异育银鲫血液中白细胞数量没有显著变化, 表明鱼体处于健康状态, 凝结芽孢杆菌没有致病性。

3.3 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼血液生化指标的影响

血清总蛋白主要由血清球蛋白和血清白蛋白构成, 血清总蛋白含量高, 说明动物营养状况良好^[14]。与对照组相比, 饲料中添加 0.5% 凝结芽孢杆菌的试验组鱼体血清总蛋白含量显著提高, 添加 0.1%、0.3% 凝结芽孢杆菌试验组与对照组之间差异不显著。因此, 在饲料中添加适量的凝结芽孢杆菌制剂能够提高鱼体的循环抗体水平, 促进机体对蛋白质的吸收。

碱性磷酸酶 (ALP) 是生物体内普遍存在并参与生命活动的一种重要的代谢调控酶, 在水产养殖中, 水产动物正常生命活动受到动物自身 ALP 活性大小的影响^[15]。本试验中, 试验至第 42 d, 饲料中添加 0.5% 凝结芽孢杆菌的试验组鱼体 ALP 活性较第 14 d 时显著提高, 且活性远高于添加 0.1%、0.3% 凝结芽孢杆菌试验组与对照组, 而添加 0.1%、

0.3% 凝结芽孢杆菌试验组和对对照组 ALP 活性较第 14 d 时显著降低。说明凝结芽孢杆菌在鱼体中要达到一定的浓度才能对血清中的 ALP 活性产生影响,本试验结果与慈丽宁等^[7]的结果相似。

葡萄糖是机体所需能量的主要来源,许多研究结果表明其含量可以作为反映物理因子引起的压力或污染物胁迫的指标^[16]。本试验中,试验组和对对照组鱼体的血糖含量均明显增加,但试验组与对照组之间无显著差异($P>0.05$)。说明鱼体未受到外界压力或者有毒物质的威胁,凝结芽孢杆菌对异育银鲫的血糖无显著影响。

胆固醇是动物体内的一种重要类脂,通过生物转变,在动物生命代谢活动中发挥重要的作用^[17]。甘油三酯也是动物体内一种重要成分,但血清中甘油三酯过高有可能影响鱼类脂肪代谢进而形成营养性脂肪肝^[18]。本试验中,无论总胆固醇或甘油三酯含量,添加凝结芽孢杆菌试验组与对照组相比,均无显著差异($P>0.05$)。说明饲料中添加凝结芽孢杆菌没有引起鱼体脂肪代谢障碍,但同时也说明凝结芽孢杆菌不能促进异育银鲫的脂肪代谢。

谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)是临床上检查肝功能是否正常的重要指标。试验结果显示,与对照组相比,饲料中添加 0.5% 凝结芽孢杆菌试验组 AST 活性显著高于添加 0.1%、0.3% 凝结芽孢杆菌试验组和对对照组($P<0.05$);0.3% 凝结芽孢杆菌试验组 ALT 活性显著低于对照组和 0.1%、0.5% 凝结芽孢杆菌试验组($P<0.05$)。说明饲料中添加适量的凝结芽孢杆菌对肝细胞能起到一定的保护作用,但添加过量会对肝细胞造成一定程度的损害,其原因有待进一步研究。

3.4 凝结芽孢杆菌对异育银鲫幼鱼肝脏抗氧化指标的影响

水生动物在新陈代谢过程中,活性氧自由基的产生和消除保持着一种动态平衡。过多的氧自由基会引起脂质过氧化反应^[19]。丙二醛是脂质过氧化物的主要成分,具有很强的生物毒性^[20],其含量可间接反映细胞受损情况。超氧化物歧化酶具有很强的抗氧化防御功能,过氧化氢酶能催化 H_2O_2 生成水和氧气,清除多余的自由基,减少脂质的过氧化损伤^[21]。因此,超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性能够反映机体在环境胁迫下抗氧化系统的变化^[22]。总抗氧化能力是近几年广泛应用于衡量机体抗氧化

系统功能状况的综合性指标。沈文英等^[23]在养殖水体中使用芽孢杆菌后,三角帆蚌血清中的总抗氧化能力和 SOD 活性均显著升高。

本试验中,与对照组相比,饲料中添加 0.3%、0.5% 凝结芽孢杆菌能够显著提高肝脏的总抗氧化能力、过氧化氢酶及超氧化物歧化酶活性,有效抑制丙二醛的生成。该结果与沈文英等^[24]的饲料中添加枯草芽孢杆菌试验结果相一致。相关研究结果表明芽孢杆菌和乳酸菌均具有清除机体羟自由基、提高 CAT 活性以及抗脂质过氧化的能力^[25-26]。凝结芽孢杆菌兼具乳酸菌与芽孢杆菌的特点,其抗氧化作用可能有 2 个方面:一利用乳酸菌的特性,通过提高 SOD 活性和还原型谷胱甘肽(GSH)含量,促进机体的抗氧化作用;二利用芽孢杆菌的特性,通过分泌抗氧化酶或者作为激活剂促进机体分泌抗氧化酶,清除自由基,阻止脂质过氧化,抑制丙二醛的生成。因此,凝结芽孢杆菌作为一种新型的微生态制剂可有效提高水产动物的抗氧化功能,降低自由基对机体的损伤,预防和控制养殖过程中的病害发生和传播。综合本试验结果,在异育银鲫饲料中添加 0.3% 凝结芽孢杆菌较适宜。

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.
- [2] VERSCHUER L, ROMBAUT G, SORGELOOS E, et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture[J]. Microbiology and of Applied Bacteriology, 2000, 73:309-316.
- [3] 毛 涛,袁科平,韦扬帆. 固定化枯草芽孢杆菌净化池塘养殖水体的效果[J]. 江苏农业学报,2014,30(6):1355-1359.
- [4] 杨国庆,郭 娇,桂富荣. 紫茎泽兰的化感物质对土壤有效磷含量和巨大芽孢杆菌生长的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):137-140.
- [5] 夏彦飞,郑 伟,苏盼盼,等. 枯草芽孢杆菌 OKB105 菌株不同培养基发酵上清液的杀线活性[J]. 江苏农业科学,2014,42(12):144-147.
- [6] 廖英杰,刘 波,任鸣春,等. 赖氨酸对团头鲂幼鱼生长、血清生化及游离必需氨基酸的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(11): 1716-1724.
- [7] 潘康成,何清明,刘克林,等. 微生物添加剂对鲤鱼生长和消化酶活性的影响研究[J]. 饲料工业, 1997, 18(10): 41-42.
- [8] 慈丽宁,刘 波,谢 骏,等. 乳酸芽孢杆菌对团头鲂生长、免疫及抗病力的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(35): 21818-21821.
- [9] 明建华,谢 骏,徐 跑,等. 大黄素、维生素 C 及其配伍对团

- 头鲂生长、生理生化指标、抗病原感染以及两种 HSP70s mRNA 表达的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(9): 1447-1459.
- [10] 周 玉, 郭文场, 杨振国, 等. 鱼类血液学指标研究的进展[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(2): 163-165.
- [11] 何福林, 向建国, 李常健, 等. 水温对虹鳟血液学指标影响的初步研究[J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 363-369.
- [12] 黄永春, 王盛伦, 王全英, 等. 微生态制剂对建鲤血液指标及耗氧率的影响[J]. 集美大学学报, 1997, 2(4): 82-86.
- [13] 伍 莉, 陈鹏飞. 微生态制剂对大口鲈和鲫鱼生长及血液指标的影响[J]. 西南师范大学学报, 2007, 32(1): 26-28.
- [14] LEVY A, PERELMAN B, WANER T. Reference blood chemical values ostrich[J]. American Journal of Veterinary Research Struthio Camelus, 1989, 50(91): 1548-1550.
- [15] 陈清西, 张 酷, 庄总来, 等. 锯缘青蟹碱性磷酸酶分离纯化及部分理化性质研究[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29(4): 362-367.
- [16] REHULKA J, MINARIK B. Effect of lecithin on the haematological and condition indices of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) [J]. Aquaculture Research, 2003, 34(8): 617-627.
- [17] 周顺伍. 动物生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 138.
- [18] 程汉良, 夏德全, 吴婷婷, 等. 鱼类脂类代谢调控与脂肪肝[J]. 动物营养学报, 2006, 18(4): 294-298.
- [19] SARGIS R M, SUBBAIAH P V. Protection of membrane cholesterol by sphingomyelin against free radical-mediated oxidation[J]. Glycobiology, 2006, 40(12): 2092-2102.
- [20] 顾 军, 龚锦涵, 殷岳保, 等. 高压氧间断暴露及氧惊厥对大鼠抗氧化酶活性及脂质过氧化物含量的影响[J]. 中华航海医学杂志, 1995, 2(4): 31-34.
- [21] SIES H. Oxidative stress; oxidants and antioxidants [J]. Exp Physiol, 1997, 82(2): 291-295.
- [22] BURGENT T, BOEQUEUE G, PORTE C, et al. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea[J]. Marine Ecology Progress Series, 1996, 131: 125-141.
- [23] 沈文英, 余东游, 李卫芬, 等. 地衣芽孢杆菌对三角帆蚌消化酶活性、免疫指标和抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2009, 21(1): 95-100.
- [24] 沈文英, 李文芬, 梁 权, 等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌对草鱼生长性能、免疫和抗氧化功能的影响[J]. 动物营养学报, 2011, 23(5): 881-886.
- [25] SHEN W Y, FU L L, LI W F, et al. Effects of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on growth performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Aquaculture Research, 2010, 41: 1691-1698.
- [26] ITO M, OHISHI K, YOSHIDA Y. Antioxidative effects of lactic acid bacteria on the colonic mucosa of ironoverloaded mice [J]. Agriculture Food Chemistry, 2003, 51(15): 4456-4460.

(责任编辑:张震林)