

何 琴,王 利,段荟芹,等. 枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对鲫鱼生长性能、血清学指标和肠道微生物多样性的影响[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(1): 142-147.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.01.017

枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对鲫鱼生长性能、血清学指标和肠道微生物多样性的影响

何 琴¹, 王 利¹, 段荟芹¹, 苟小兰²

(1. 西南民族大学动物科学国家民委重点实验室, 四川 成都 610041; 2. 恺迪苏重庆有限公司, 重庆 401220)

摘要: 为探讨在饲料中添加枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对鲫鱼生长发育、免疫机能及肠道菌群的影响, 将 900 尾鲫鱼分为 3 个试验组, 分别饲喂基础饲料(S1)、添加枯草芽孢杆菌与粪肠球菌混合饲料(S2)和添加枯草芽孢杆菌饲料(S3), 在饲喂 47 d 后检测 3 组鲫鱼的生长性能、免疫指标和肠道菌群生物多样性。结果显示, 添加枯草芽孢杆菌和粪肠球菌混合饲料组鲫鱼的增质量率、特定生长率和饵料系数均显著高于其他组($P < 0.05$), 该组鲫鱼血清的丙二醛(MDA)含量显著下降且低于其他 2 组($P < 0.05$), 超氧化物歧化酶(SOD)和碱性磷酸酶(AKP)活性较其他 2 组显著升高($P < 0.05$); 3 组鲫鱼肠道菌群中多为厚壁菌门和变形菌门, 共有优势菌属均为梭菌属, 其中枯草芽孢杆菌和粪肠球菌混合饲料饲养组(S2 组)鲫鱼的肠道菌群更具多样性。由此可见, 枯草芽孢杆菌和粪肠球菌可有效促进鲫鱼生长, 改善鲫鱼肠道菌群结构, 增强其免疫机能。

关键词: 枯草芽孢杆菌; 粪肠球菌; 益生菌; 鲫鱼; 免疫指标; 肠道菌群

中图分类号: S965.117 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2023)01-0142-06

Effects of *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, serum biochemical indices and intestinal microflora of *Carassius auratus*

HE Qin¹, WANG Li¹, DUAN Hui-qin¹, GOU Xiao-lan²

(1. The Key Laboratory of Animal Science of State Ethnic Affairs Commission, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China; 2. Calyseo (Chongqing) Co., Ltd., Chongqing 401220, China)

Abstract: In order to study the effects of *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* on the growth, immune function and intestinal flora of *Carassius auratus*, 900 healthy crucian carps were divided into three experimental groups and fed with basal feed (S1), mixed feed of *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* (S2) and *Bacillus subtilis* feed (S3), respectively. Growth performance, immune indices and intestinal microflora diversity of *Carassius auratus* in the three groups were detected after feeding for 47 days. The results showed that the weight gain rate, specific growth rate and feed conversion ratio of crucian carps in S2 group were significantly higher than those in other groups ($P < 0.05$). The content of malondialdehyde in serum of crucian carps in S2 group was significantly decreased and lower than that in other groups ($P < 0.05$), and the activities of superoxide dismutase (SOD) and alkaline phosphatase (AKP) were significantly higher than those in other

groups ($P < 0.05$). The intestinal dominant floras of *Carassius auratus* in the three groups were mainly composed of Firmicutes and Proteobacteria, while the common dominant genus was *Clostridium*. Compared with the S1 group and S3 group, the intestinal flora of crucian carp in the S2 group was more diverse. In conclusion, *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* can effectively pro-

收稿日期: 2022-03-07

基金项目: 西南民族大学中央高校基本科研业务专项资助项目
(2022NYXXS035)

作者简介: 何 琴(1998-), 女, 四川宜宾人, 硕士研究生, 主要从事
微生物发酵饲料研究。(E-mail) 1594009935@qq.com

通讯作者: 王 利, (E-mail) qinxin916@aliyun.com

mote the growth of *Carassius auratus*, improve the intestinal flora structure of *Carassius auratus* and enhance their immune function.

Key words: *Bacillus subtilis*; *Enterococcus faecalis*; probiotics; crucian carp; immune index; intestinal flora

近年来,益生菌成为研究领域的热点,越来越多的证据表明益生菌在动物养殖方面具有显著的优势与功效^[1]。抗生素的大量使用已经对人类和生态环境产生了一定的毒副作用,而益生菌具有活性抗体的作用,能有效改善肠道健康,平衡菌群,提高动物免疫力,在一定程度上能代替抗生素发挥其抑菌作用^[2]。益生菌添加剂作为理想的抗生素替代品,已被广泛用于疾病预防与控制^[3-4]。添加益生菌的饲料,不仅具有更高的营养价值,还能更有效地促进动物健康。目前,益生菌被广泛添加到饲料中或直接拌料饲喂。随着中国对水产养殖业的重视,人们发现抗生素的滥用对水体造成了大量的污染,水产品的质量不断下降^[5]。通过初步研究发现,益生菌在水生动物中的应用可以在一定程度上促进水产动物有益菌的有效生长,同时抑制有害菌的生长,促进水产动物的健康,预防和减少水产动物病害^[5]。

枯草芽孢杆菌和粪肠球菌是在渔用饲料中较常应用的2种益生菌,它们通过在水产动物的肠道中定植从而改善水产动物的生长性能,同时达到提升其免疫机能的效果^[6]。枯草芽孢杆菌是一类广泛存在于大自然中的好氧型革兰氏阳性菌,为中国批准的19种饲料添加剂益生菌中的一类,目前在食品、制药、农作物生产和畜牧业等领域多有应用^[7-8]。粪肠球菌具有抑菌作用,属于乳酸菌属,是一种革兰氏阳性兼性厌氧菌,其次级代谢产物如细菌素和部分多糖等抑菌物质对许多病害微生物的生长和繁殖都具有抑制作用,同时粪肠球菌还能产生有机酸等多种代谢产物调节动物肠道pH,从而抑制有害菌的生长^[9-10]。将枯草芽孢杆菌和粪肠球菌2种菌的复合菌通过饲料添加方式作用于动物产生的影响,仅在改善水貂^[11] (*Neovison vison*)、蓝狐^[12] (*Alopex lagopus*)和断奶仔猪^[13]等哺乳动物的生长和免疫性能上有少量研究,在水产动物中鲜有报道。

鲫鱼是中国重要的经济淡水养殖鱼类,经过多代的人工育种已形成遗传稳定品系,具有一定研究价值^[14-15]。随着国内市场对鲫鱼需求的增加,渔民广泛应用集约化养殖模式,滥用抗生素,使得流行性鱼病的爆发状况日益严重,如何使用益生菌低成本防治鱼

病成为目前研究的重点^[16]。本试验旨在探讨在饲料中添加枯草芽孢杆菌和粪肠球菌及其复合菌对鲫鱼生长发育、血清学指标和肠道微生物多样性的影响,从而为2种益生菌的下一步应用提供科学资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

健康鲫鱼平均体质量(100 ± 20) g,购自成都市某水产科技有限公司。对照组(S1)投喂基础饲料,复合益生菌组(S2)投喂添加枯草芽孢杆菌和粪肠球菌的混合饲料,单一菌组(S3)投喂添加枯草芽孢杆菌的混合饲料。基础饲料为成都市某水产公司的鱼用膨化配合饲料153号(2.0~3.0目),配方略作改动,其组成和主要营养成分见表1。试验用鲫鱼使用基础饲料暂养1周,试验期间保证溶解氧 >5.0 mg/L,水温(27 ± 3) °C, pH 7.5~8.5,每天固定时间投喂3次饲料,日投饵量为试验鱼体质量的1%~3%。枯草芽孢杆菌和粪肠球菌活菌种由西南民族大学动物科学国家民委重点实验室提供,活菌浓度分别为 1.5×10^8 CFU/ml和 2.0×10^8 CFU/ml。

1.2 动物饲养

按100尾/箱的放养密度,将900尾鲫鱼随机放入9口试验网箱内(1.0 m×1.6 m×2.0 m),每3个网箱为1个试验组。试验期间根据鲫鱼每周的饮食和生长情况对摄食量进行调整,饲养周期为47 d。每天观察并记录鲫鱼的摄食活动和死亡情况,并及时称量死亡的鱼并查明死亡原因。

1.3 生长指标测定

养殖47 d后,每组随机取5尾鱼,测定鲫鱼的平均增质量率(Weight gain, WGR)、特定生长率(Specific growth rate, SGR)、饵料系数(FCR)和存活率(Survival rate, SR)。计算公式:(1)增质量率WG(%)= $(W_t - W_0) / W_0 \times 100$; (2)饵料系数(FCR)=投饵总量/增质量; (3)特定生长率SGR(%)= $(\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100$; (4)存活率SR(%)= $N_t / N_i \times 100$ 。式中, W_t 是试验第 t 天时鱼质量(g), W_0 是初始鱼质量(g), t 是饲养周期(d), N_t 是试验结束时鲫鱼的尾数, N_i 是试验开始时鲫鱼的尾数。

表 1 基础日粮组成及营养成分(风干基础)

Table 1 Basic diet composition and nutrients (air-dry basis)

原料	含量(%)	营养成分	含量(%)
鱼粉	32.00	粗蛋白质	31.0
大豆浓缩蛋白	25.00	粗纤维	12.0
豆粕	6.00	粗脂肪	5.0
木薯粉	5.00	粗灰分	15.0
小麦粉	7.00	钙	0.5
小麦蛋白粉	3.00	总磷	1.0
干血细胞粉	5.00	赖氨酸	1.3
α -纤维素	3.54	氯化钠	1.3
磷酸二氢钙	11.60	水分	14.0
卵磷脂	2.00		
鱼油	5.00		
大豆油	4.00		
食盐	0.20		
预混料	1.10		
合计	100.00		

预混料为每 1 kg 饲料提供维生素 A 2 800 IU, 维生素 B₁ 3 mg, 维生素 B₂ 3 mg, 维生素 B₆ 8 mg, 维生素 B₁₂ 0.1 mg, 维生素 C 250 mg, 维生素 D₃ 500 IU, 维生素 K₃ 0.7 mg, 维生素 E 14 mg, 叶酸 2 mg, 肌醇 270 mg, 泛酸钙 20 mg, 烟酸 50 mg, 硫酸亚铁 90 mg, 硫酸锰 30 mg, 硫酸锌 55 mg, 亚硒酸钠 0.2 mg, 氯化钴 100 mg, 硫酸镁 100 mg, 硫酸铜 12 mg。营养水平均为实测值。

1.4 血清学指标测定

鲫鱼禁食 24 h, 每组随机取 5 尾鱼, 通过尾柄静脉取血, 静置离心以获取血清, 4 ℃ 保存, 测定其丙

二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)和碱性磷酸酶(AKP)活性。

1.5 肠道菌群多样性测定

每组随机取 5 尾鱼, 使用 75% 浓度的酒精消毒鲫鱼体表, 在无菌环境中取其肠道内容物置于 2 ml EP 管中, -80 ℃ 保存。样品由北京诺禾致源生物信息科技有限公司进行测序分析。

1.6 数据处理

试验结果以平均值±标准差($\bar{X} \pm SD$)表示, 用 SPSS 24.0 单因素方差分析(One-Way ANOVA)分析原始数据, 采用 Duncan's 法进行多重比较, 以 $P < 0.05$ 表示组间差异显著。

2 结果与分析

2.1 枯草芽孢杆菌与粪肠球菌对鲫鱼生长性能的影响

添加枯草芽孢杆菌与粪肠球菌的饲料对鲫鱼生长性能的影响见表 2。试验 47 d 后, S2 组的鲫鱼增质量率和特定生长率显著高于 S1 和 S3 组($P < 0.05$), 饵料效率显著低于 S1 和 S3 组($P < 0.05$)。同对照组相比, S2 组鲫鱼增质量率和特定生长率显著提高($P < 0.05$), 分别提高 140.55% 和 107.8%, 而饵料系数显著降低($P < 0.05$), 降低了 58.8%, 各组成活率无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 不同益生菌添加饲料对鲫鱼生长性状的影响

Table 2 Effects of different probiotic combinations on growth performance of *Carassius auratus*

组别	初均质量(g)	末均质量(g)	增质量率(%)	饵料系数	成活率(%)	特定生长率(%/d)
S1	92.75±1.06	117.75±0.71a	26.68±0.69a	2.26±0.40b	94.00±4.24	0.51±0.007a
S2	95.04±0.64	156.05±2.89b	64.18±2.93b	0.93±0.03a	98.00±4.24	1.06±0.04b
S3	93.30±1.41	120.76±1.07a	29.86±0.81a	2.01±0.09b	95.00±5.66	0.56±0.01a

S1 为普通饲料饲养对照组, S2 为枯草芽孢杆菌与粪肠球菌混合饲料饲养组, S3 为枯草芽孢杆菌混合饲料单一菌组。同一列数据后小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 枯草芽孢杆菌与粪肠球菌对鲫鱼血清学指标的影响

复合益生菌组(S2)对鲫鱼血清中 MDA 含量及 SOD 和 AKP 的活性有明显的影响($P < 0.05$) (表 3)。复合益生菌组鲫鱼的血清 MDA 含量低于对照组, SOD 活性和 AKP 活性高于对照组($P < 0.05$)。

2.3 枯草芽孢杆菌与粪肠球菌对鲫鱼肠道细菌分布的影响

对各组样品总 DNA 的 16S rDNA V4 区共测得 70 511 条标记(Total Tags)和 5 395 条低频 Tags(U-

nique Tags), 样品数据所得原始序列为 73 449~79 357 条。用 Usearch 在 97% 的一致性下进行聚类, 覆盖率达到 97% 以上, 说明测序数据合理, 测序深度已经覆盖到样品中绝大部分物种。香农指数反映了样品中细菌多样性及细菌分布均匀程度。

肠道菌群丰富度稀释曲线表明, 在序列测定量增加初期, 操作分类单元(OTU)数量迅速增加, 而当序列测定量超过一定程度时, OTU 数目缓慢上升, 并逐步趋于平稳。这说明鲫鱼肠道大部分微生物的种类已被发现, 各组样品的测序总量可以较完

整地阐述各组鲫鱼的肠道微生物菌群的构成。

表 3 不同益生菌对鲫鱼血清 MDA 含量、SOD 和 AKP 活性的影响
Table 3 Effects of different probiotics on malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD) activity and alkaline phosphatase (AKP) activity in *Carassius auratus* serum

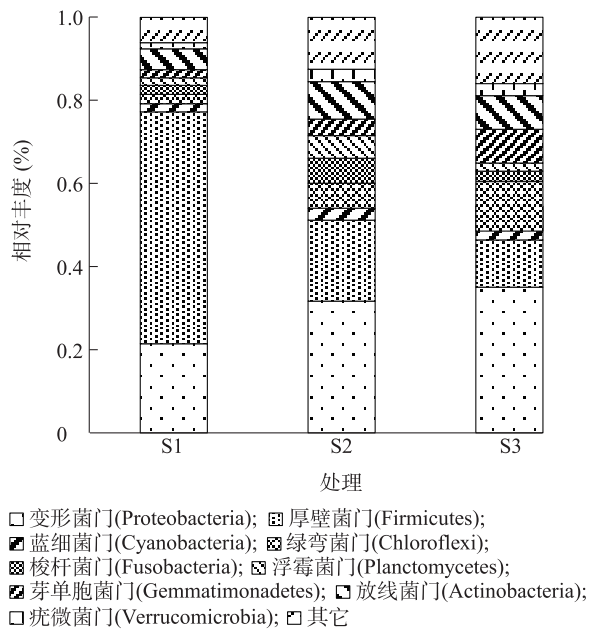
组别	丙二醛含量 (mmol/mL)	超氧化物歧化酶活性 (U/mL)	碱性磷酸酶活性 (U/mL)
S1	21.50±0.33b	26.71±2.31a	6.50±1.11a
S2	14.03±4.09a	46.59±10.96b	8.54±1.52b
S3	19.19±2.36b	34.66±9.19ab	6.83±0.95ab

S1、S2、S3 见表 1 注。同一列数据后小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

经过序列比对,3 组鲫鱼肠道菌群样品在门水平上物种相对丰度(图 1),排名前 10 位的有:梭杆菌门(*Fusobacteria*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*)和酸杆菌门(*Acidobacteria*)。S1 组以厚壁菌门(55.81%)和变形菌

门(21.45%)为主,芽单胞菌门(1.94%)和疣微菌门(1.48%)的含量较低;S2 组以厚壁菌门(19.5%)和变形菌门(31.7%)为主,蓝细菌门(2.89%)和疣微菌门(2.98%)含量较低;S3 组以厚壁菌门(11.35%)和变形菌门(35.09%)为主,蓝细菌门(1.98%)和疣微菌门(2.97%)含量较低。3 组鲫鱼的优势菌门均为厚壁菌门和变形菌门。

3 组鲫鱼肠道菌群样品在属水平上物种相对丰度排名前 10 的有:微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、变形菌属(*Acidiferrobacter*)、丹毒丝菌属(*Dielma*)、柠檬酸细菌属(*Citrobacter*)、梭状芽胞杆菌属(*Clostridium sensu stricto* 1)、厌氧梭菌属(*Peptoclostridium*)、粘细菌属(*Haliangium*)、聚球藻属(*Synechococcus*)、梭菌属(*Romboutsia*)和杆菌属(*Cetobacterium*)。S1 组以梭菌属(*Romboutsia*) (36.98%)和厌氧梭菌属(14.95%)为主,S2 组以梭菌(*Romboutsia*) (5.91%)和丹毒丝菌属(*Dielma*) (5.41%)为主,S3 组以梭菌属(*Romboutsia*) (5.94%)和聚球藻属(*Synechococcus*) (4.12%)为主。3 组肠道优势菌属均以梭菌属(*Romboutsia*)为主。

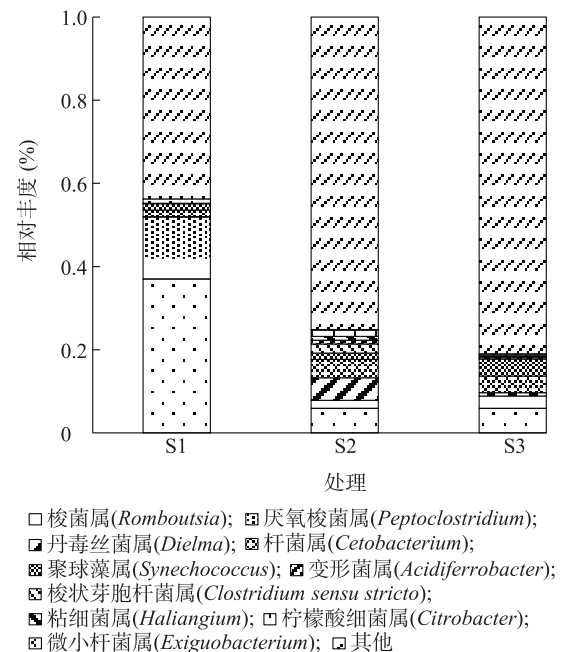


S1、S2、S3 见表 1 注。

图 1 已测序样品序列在门(左)和属(右)水平上的相对丰度

Fig.1 Relative abundance of sequenced sample sequences at the phylum (left) and genus (right) levels

S1、S2、S3 组样品菌群 OTU 总数分别为 3 573、4 964 和 4 698。3 个组共有的 OTU 数为 2 858,三者 OTU 总数的不同说明不同饲喂组的鲫鱼肠道菌群具有一定的保守性。S1 和 S2 组共有的 OTU 为



3 188 个,分别特有 385 和 1 776 个 OTU;S2 和 S3 组共有的 OTU 为 4 004 个,分别特有 960 和 694 个 OTU;S1 和 S3 组共有的 OTU 为 3 108 个,分别特有 465 和 1 590 个 OTU。S2 组与 S3 组和对照组 S1

相比,总菌群种类及特有菌群种类更多。

3 讨论

3.1 枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对鲫鱼生长性能的影响

益生菌能通过多种渠道提高多种动物的生长性能,其中最为普遍的是益生菌能在宿主动物体内分泌合成多种营养物质参与机体的代谢过程^[17],从而改善宿主动物肠道对营养物质的利用,促进动物的生长与繁殖^[18-20]。在日粮中添加益生菌或复合益生菌,对樱桃谷肉鸭^[21]和蛋雏鸡^[22]等家禽、梅花鹿^[23]、水貂^[11]、绵羊^[24]、山羊^[25]、断奶仔猪^[13]、奶牛^[26]和犊牛^[27]等动物的肠道微生物都具有改善作用,能显著提高其日增质量,促进动物的生长发育,提高动物的生长性能。目前,枯草芽孢杆菌对水产动物益生调节作用已经在许多水产动物试验中得到验证,如枯草芽孢杆菌作用于乌鳢^[17]、奥尼罗非鱼^[28]、鲤鱼^[29-30]、斑马鱼^[31]、杂交鲟^[32]等水产动物,它们的相对生长率和特定生长率均能提高,同时其还对水产动物的生长、存活以及饵料利用都有一定的调节作用,能显著提高鱼类的生长性能。粪肠球菌在水产养殖中的研究报道较为少见。在沙玉杰^[33]的报道研究中,饲料中添加粪肠球菌后,凡纳滨对虾肝胰腺蛋白酶和脂肪酶活性显著提高。本试验中,添加复合益生菌(S2组)的鲫鱼特定生长率和饵料系数显著高于对照组(S1组),且促生长效果最好,其促生长机理可能为:(1)枯草芽孢杆菌和粪肠球菌在鲫鱼肠道中可以分泌多种消化酶,同时通过提高鲫鱼肠道内消化酶的活性来协助分解饲料中的营养素,从而促进饲料的消化吸收,提高饲料的利用率。(2)枯草芽孢杆菌作为一种需氧菌,可以通过消耗鲫鱼体内的游离氧,从而促进鲫鱼体内有益厌氧菌的生长繁殖,抑制有害好氧菌的生长。同时枯草芽孢杆菌定植于肠道后可以产生多种有机酸,从而营造出有利于粪肠球菌生长的酸性环境,进而促进粪肠球菌在鲫鱼体内的定植与生长。(3)在鲫鱼体内,枯草芽孢杆菌和粪肠球菌可能代谢产生多种营养物质供鲫鱼利用,如挥发性脂肪酸和多种维生素等,从而促进鲫鱼生长^[34]。

3.2 枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对鲫鱼血清学指标的影响

血清酶活性是反映鱼类免疫状态的主要指标之一。*AKP*是血液中一种低特异性的单脂肪酶,*AKP*活性越高表示吞噬细胞对血液中异物的降解速率越大。

黄燕华等^[35]研究发现,在奥尼罗非鱼的饲料中添加粪肠球菌后,鱼血清中*AKP*活性显著提高,说明将粪肠球菌作为添加剂添加到奥尼罗非鱼饲料中,会显著提高它们的免疫力。*SOD*在一定水平上反映水产动物抗氧化状态及对外部环境应激的能力^[17]。杨虹等^[17]在乌鳢的饲料中加入含枯草芽孢杆菌的复合益生菌,发现复合益生菌能够显著提高溶菌酶(*LZM*)和*SOD*的活性。丙二醛(MDA)既可反映细胞损伤程度又可以反映脂质过氧化程度,因此,MDA可以间接地反映动物的免疫状态^[36]。孙盛明等^[37]研究发现,血清中*SOD*活性和MDA含量往往成反比,二者在测定动物血清学指标时具有相互补充的作用,枯草芽孢杆菌可以提高团头鲂*SOD*等抗氧化酶的活性,降低团头鲂体内的MDA积累。在本试验中,与S1组和S3组相比,S2组的处理可以更有效地提高鲫鱼血清中*AKP*和*SOD*的活性并降低MDA含量,这与黄燕华等^[35]的研究结果一致。

3.3 枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对鲫鱼肠道菌群多样性的影响

水产动物肠道内微生物种群的变化与其免疫机能息息相关。变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门是脊椎动物肠道内的主要菌群^[38-39]。胡娟^[31]报道,在鲤鱼的饲料中添加枯草芽孢杆菌,鲤鱼体内的梭杆菌门显著增加,其中能产生维生素B₁₂的鲸杆菌丰度显著增加,而水产动物常见病原体变形菌门的柠檬酸杆菌属和气单胞菌属丰度显著降低,说明在鲤鱼饲料中添加枯草芽孢杆菌能改善鲤鱼肠道菌群结构,有效增加鲤鱼肠道有益菌的比例,抑制病原微生物的生长繁殖。本试验中,3组样品的优势菌群主要由厚壁菌门和变形菌门组成,均以梭菌属(*Clostridium*)为优势菌属。与S1比,S2组和S3组的优势菌门和优势菌属的丰度有不同程度的升高或降低,其中丹毒丝菌属数量增多,厌氧梭菌属数量大幅降低,推测2种外源益生菌的添加对部分厌氧梭菌属有拮抗作用。S2组的杆菌属数量明显多于S1组和S3组,推测粪肠球菌与枯草芽孢杆菌可相互促进定植。S2组的放线菌数量多于S1组和S3组,放线菌可以产生多种次级代谢产物来抑制病原菌生长,改善鲫鱼肠道环境^[36]。

参考文献:

- [1] SHOKRYAZDAN P, FASELEH J M, LIANG J B, et al. Probiotics: from isolation to application[J]. J Am Coll Nutr, 2017, 36(8):666-676.

- [2] 吴海峰,邓凤秋. 益生菌在饲料中的应用技术[J]. 畜牧兽医学报, 2021(11):163-164.
- [3] 孙冬岩,孙笑非,王文娟. 益生菌作为健康调节剂在水产养殖中的研究进展[J]. 饲料研究, 2021, 44(6):129-131.
- [4] EL-SAADONY M T, ALAGAWANY M, PATRA A K, et al. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview[J]. Fish Shellfish Immunol, 2021, 117:36-52.
- [5] WANG A R, RAN C, WANG Y B, et al. Use of probiotics in aquaculture of China—a review of the past decade[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2018, 86:734-755.
- [6] 张 雯,卞 丹,沈燕秋,等. 枯草芽孢杆菌抑菌活性物质鉴定、抑菌特性及发酵条件优化[J]. 中国食品学报, 2017, 17(12):105-115.
- [7] 王 源,赵文文,刁新平. 枯草芽孢杆菌的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(19):62-64.
- [8] AGRAWAL S, JANA U K, KANGO N. Heterologous expression and molecular modelling of L-asparaginase from *Bacillus subtilis* ETMC-2[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 192:28-37.
- [9] 徐亚飞,曾新福,乐 敏,等. 粪肠球菌在水产养殖中的应用研究进展[J]. 饲料广角, 2018(7):47-49.
- [10] 宝冠媛,郭海燕,佳木太,等. 一株粪肠球菌 8-1 所产抑菌物质的生物学特性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(18):147-151.
- [11] 乜 豪. 饲料中添加枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对水貂生产性能、消化代谢及免疫功能的影响[D]. 北京:中国农业科学院, 2018.
- [12] 贡 筱. 饲料中添加枯草芽孢杆菌和粪肠球菌对蓝狐生产性能、消化代谢及免疫功能的影响[D]. 北京:中国农业科学院, 2014.
- [13] 王汉星. 饲料添加枯草芽孢杆菌与粪肠球菌对断奶仔猪生长性能及肠道健康的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2020.
- [14] 桂建芳,周 莉,张晓娟. 鱼类遗传育种发展现状与展望[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33(9):932-939.
- [15] SONG J A, PARK H S, PARK Y S, et al. Exogenous cortisol and red light irradiation affect reproductive parameters in the goldfish *Carassius auratus*[J]. Fish Physiol Biochem, 2021, 47(6):1711-1724.
- [16] 刘永新,邵长伟,张殿昌,等. 我国水生生物遗传资源保护现状与策略[J]. 生态与农村环境学报, 2021, 37(9):1089-1097.
- [17] 杨 虹,谢明宝,于 辉,等. 2 种微生态制剂对乌鳢生长性能、肠道形态及免疫功能的影响[J]. 河南农业科学, 2019, 48(1):134-140.
- [18] 刘语涵,李 莉,张来斌,等. 新疆家蚕肠道菌群多样性分析[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(5):156-161.
- [19] 崔 莉,李 莹,冯 进,等. 热激联合牛蒡抗热保护剂对益生菌奶粉中益生菌喷雾干燥活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(10):166-169.
- [20] 耿宁宇,戴竹青,牛丽影,等. 膳食纤维调节肠道微生物对机体健康的影响研究进展[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(7):51-56.
- [21] 胡振华,杨永平,杨 宇,等. 枯草芽孢杆菌对樱桃谷肉鸭生长性能、免疫器官指数、肠道菌群及肠道形态的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(4):1504-1512.
- [22] 李玲茜,惠俊楠,吴 旻,等. 海洋红酵母菌和枯草芽孢杆菌对蛋雏鸡生长性能、肠道形态和免疫功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(3):88-94.
- [23] 崔一喆,王秋菊,苏 景,等. 复合益生菌制剂对离乳梅花鹿生长性能、粪便菌群及血液生化指标的影响[J]. 中国兽医学报, 2017, 37(1):129-133, 143.
- [24] 张俊瑜,丛少波,臧长江,等. 纳豆芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对绵羊生长性能、消化性能和血清生化指标的影响[J]. 中国饲料, 2019(19):34-38.
- [25] 卢佳伟,王金刚,高 琴,等. 不同益生菌对断奶山羊生长性能、血清生化指标以及粪便菌群的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(5):2752-2764.
- [26] 李 靖. 枯草芽孢杆菌对荷斯坦育成牛生长性能和瘤胃微生物区系的影响[D]. 泰安:山东农业大学, 2019.
- [27] 白 雪,吴妍妍,张文举. 复合微生态制剂和甘露寡糖对断奶犊牛粪便评分、血清免疫指标及抗氧化指标的影响[J]. 饲料研究, 2021, 44(14):9-13.
- [28] 赵峰,陆娟娟,夏中生,等. 果寡糖、枯草芽孢杆菌和金霉素对奥尼罗非鱼生长性能、血清生化指标和肠道菌群的影响[J]. 饲料研究, 2019, 42(4):123-128.
- [29] 胡 娟,高辰辰,药园园,等. 饲用枯草芽孢杆菌 HGcc-1 对鲤肝肠健康、血清补体及肠道菌群的影响[J]. 水产学报, 2021, 45(10):1753-1763.
- [30] 王红涛,冯 颖,明美玉,等. 枯草芽孢杆菌和蒲公英提取物对鲤鱼生长性能、血清生化指标、免疫指标及抗氧化功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2021, 57(12):234-239.
- [31] 胡 娟. 水产土著芽孢杆菌在鲤鱼和斑马鱼中的益生效应评价研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2021.
- [32] 张书环,吴金平,褚志鹏,等. 饲喂枯草芽孢杆菌对杂交鲢生长和肠道菌群结构的影响[J]. 海洋渔业, 2021, 43(1):71-80.
- [33] 沙玉杰. 乳酸菌对凡纳滨对虾益生机理的研究[D]. 青岛:中国科学院研究生院(海洋研究所), 2016.
- [34] 仇 明,王爱民,封功能,等. 枯草芽孢杆菌对斑点叉尾鲷生长性能及肌肉营养成分影响[J]. 粮食与饲料工业, 2010(7):46-49.
- [35] 黄燕华,周晓波,王国霞,等. 5 种乳酸菌对奥尼罗非鱼免疫和抗病力的影响[J]. 水产科学, 2014, 33(10):601-605.
- [36] 田 鑫. 邻苯二甲酸二丁酯、苯酚及苯并(a)芘暴露对斑马鱼抗氧化系统的影响研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2017.
- [37] 孙盛明,苏艳莉,张武肖,等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌对团头鲂幼鱼生长性能、肝脏抗氧化指标、肠道菌群结构和抗病力的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(2):507-514.
- [38] 李东亮. 感染嗜水气单胞菌草鱼肠道菌群结构研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2016.
- [39] 王晓彤,金黎明,宫小明,等. 枯草芽孢杆菌产生的抗菌物质的研究进展[J]. 轻工科技, 2018, 34(11):14-15.

(责任编辑:张震林)