

网络出版时间:2020-01-20 13:39 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2020.08.001
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.s.20200119.0923.018.html

益生菌制剂对凡纳滨对虾生长、营养代谢及抗氧化能力的影响

樊 英¹, 王晓璐¹, 刘洪军¹, 王友红¹, 李 乐¹, 盖春蕾¹, 许 拉¹,
叶海斌¹, 穆川川², 马星坤²

(1 山东省海洋生物研究院 山东省海水养殖病害防治重点实验室/山东省海水健康养殖工程技术研究中心, 山东 青岛 266104;

2 山东滨州北海经济开发区海洋与渔业局, 山东 滨州 251907)

【摘 要】【目的】研究饲料中添加地衣芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长性能、营养代谢及抗氧化能力的影响。【方法】将凡纳滨对虾幼虾随机分成 3 组, 对照组投喂仅用蛋白液包裹的基础饲料, 试验组分别投喂含活菌量达 10^8 CFU/g 的凝结芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌的试验饲料, 养殖周期为 28 d。于试验第 7, 14, 21 和 28 天取样, 测定血清总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、一氧化氮(NO)含量及谷氨酰胺合成酶(GS)、苹果酸脱氢酶(MDH)、脂肪酶(LPS)、己糖激酶(HK)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮合酶(NOS)活性和总抗氧化能力(T-AOC); 试验结束后测定凡纳滨对虾的生长性能和肌肉营养成分。【结果】(1) 与对照组比较, 2 个试验组凡纳滨对虾的终末体质量显著提高($P < 0.05$), 饲料系数显著降低($P < 0.05$), 肌肉中粗蛋白质、肌糖原含量和呈味氨基酸总量显著提高($P < 0.05$); 凝结芽孢杆菌组血清中 TP、TC 及 TG 含量与对照组差异显著($P < 0.05$), 地衣芽孢杆菌组 TG 含量显著高于对照组($P < 0.05$)。 (2) 凝结芽孢杆菌组 GS 活性在试验第 14 天显著高于其他 2 个组($P < 0.05$); 2 个试验组 HK 活性在第 21 天显著高于对照组($P < 0.05$); 凝结芽孢杆菌组 MDH 活性在第 21 天显著高于对照组($P < 0.05$); 2 个试验组 LPS 活性在第 7 天显著高于对照组($P < 0.05$), 2 个试验组之间无显著差异($P > 0.05$)。 (3) 凝结芽孢杆菌组 T-AOC 活性在试验第 7 天最高(55.21 U/mL), 地衣芽孢杆菌组在第 14 天最高(45.08 U/mL), 均显著高于对照组($P < 0.05$); 2 个试验组 CAT 活性在第 21 天最高, SOD 活性在第 7 天最高, 均显著高于对照组($P < 0.05$), 而 2 个试验组之间无显著差异($P > 0.05$); 凝结芽孢杆菌组 GSH-PX 活性在第 28 天最高(957.30 U/mL), 地衣芽孢杆菌组在第 21 天最高(932.25 U/mL), 均显著高于对照组($P < 0.05$); 凝结芽孢杆菌组 NOS 活性和 NO 含量均在第 14 天最高, 显著高于对照组($P < 0.05$); 地衣芽孢杆菌组 NO 含量在第 28 天最高, 显著高于对照组($P < 0.05$)。【结论】地衣芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌均可作为饲料添加剂使用, 提高凡纳滨对虾的生长性能, 增强其营养物质代谢水平, 提高其抗氧化能力。

【关键词】 凝结芽孢杆菌; 地衣芽孢杆菌; 凡纳滨对虾; 营养代谢; 抗氧化能力

【中图分类号】 S963.7; S966.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2020)08-0001-09

Effect of probiotics supplementation on growth, nutrient metabolism and antioxidant capacity of *Litopenaeus vannamei*

FAN Ying¹, WANG Xiaolu¹, LIU Hongjun¹, WANG Youhong¹, LI Le¹, GAI Chunlei¹,
XU La¹, YE Haibin¹, MU Chuanchuan², MA Xingkun²

(1 Shandong Province Key Laboratory for Disease Control in Mariculture, Healthy Mariculture Engineering Research Center of

【收稿日期】 2019-09-25

【基金项目】 国家虾蟹产业技术体系项目(CARS-48); 山东省现代农业产业技术体系虾蟹类产业创新团队项目(SDAIT-13)

【作者简介】 樊 英(1980—), 女, 山东荣成人, 副研究员, 硕士, 主要从事水产动物健康养殖及病害防治研究。

E-mail: fy_fy123@126.com

【通信作者】 盖春蕾(1982—), 男, 山东莱阳人, 助理研究员, 硕士, 主要从事水产动物健康养殖及病害防治研究。

E-mail: chunlei317@163.com

Shandong Province, Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao, Shandong 266104, China;

2 Marine and Fisheries Bureau of Shandong Binzhou Beihai, Binzhou, Shandong 251907, China)

Abstract:【Objective】A 28-day experiment was conducted to investigate the effects of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus coagulans* on growth performance, nutrient metabolism and antioxidant capacity of *Litopenaeus vannamei*.【Method】*L. vannamei* were randomly allocated to 3 groups, those in the control group were fed with a basal diet wrapped with albumen, and those in the experimental groups were fed with basal diets supplemented with *B. coagulans* (10^8 CFU/g) and *B. licheniformis* (10^8 CFU/g), respectively. Samples were taken on the 7th, 14th, 21st and 28th days of the experiment. The contents of total protein (TP), total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and nitric oxide (NO) and the activities of glutamine synthetase (GS), malic dehydrogenase (MDH), lipase (LPS), hexokinase (HK), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), nitric oxide synthetase (NOS) and total antioxidant (T-AOC) were measured. At the end of the experiment, the growth performance and muscle nutrients of *L. vannamei* were measured.【Result】(1) Compared with the control group, the final weight increased significantly and the feed conversion ratio decreased ($P < 0.05$) in the two experiment groups. *B. licheniformis* and *B. coagulans* increased the contents of crude protein, muscle glycogen and total amino acids in muscle ($P < 0.05$). The contents of TP, TC and TG in serum of *B. coagulans* group changed to varying degrees ($P < 0.05$), with significant difference in TG content of *B. licheniformis* group ($P < 0.05$). (2) The activity of GS reached the maximum on the 14th day in the *B. coagulans* group, and the differences were significant compared with the other two groups ($P < 0.05$). The activities of HK in two experiment groups were the highest on the 21st day and significantly different from the control group ($P < 0.05$). The activity of MDH in the *B. coagulans* group was the highest on the 21st day and significantly different from the control group ($P < 0.05$). The activities of LPS in two experiment groups were highest on the 7th day, which were significantly different from the control group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between *B. coagulans* group and *B. licheniformis* group ($P > 0.05$). (3) The activity of T-AOC was the highest in *B. coagulans* group (55.21 U/mL) on the 7th day and in *B. licheniformis* group (45.08 U/mL) on the 14th day with significant differences with the control group ($P < 0.05$). The activity of CAT in the two experiment groups reached the highest on the 21st day, and the activity of SOD reached the highest on the 7th day. They were significantly higher than the control group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between *B. coagulans* group and *B. licheniformis* group ($P > 0.05$). The activity of GSH-Px in *B. coagulans* group reached the highest level on the 28th day (957.30 U/mL), while that in *B. licheniformis* group reached the highest level on the 21st day (932.25 U/mL), and they were significant than that in the control group ($P < 0.05$). The activity of NOS and the content of NO in *B. coagulans* group reached the highest levels on the 14th day, and they were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The content of NO in *B. licheniformis* group reached the highest level on the 28th day, and it was significantly higher than in the control group ($P < 0.05$).【Conclusion】Adding *B. licheniformis* and *B. coagulans* in diet could improve the growth performance, nutrient metabolism level, oxygen metabolism and antioxidant capacity of *L. vannamei*.

Key words: *Bacillus coagulans*; *Bacillus licheniformis*; *Litopenaeus vannamei*; nutrient metabolism; antioxidant capacity

对虾养殖业一直是世界及中国水产养殖的重要支柱产业,其中凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是养殖产量较高的优良品种之一。随着养殖规模的

快速发展,传统养殖方式的缺点日益显露,设施化和集约化程度不高、流行病大面积暴发、养殖环境极度恶化、抗生素药物滥用等,最终导致养殖发展失衡、

环境污染严重、食品安全危及人类健康等一系列问题。因此,研发高效、绿色、环境友好型生物饲料是对虾养殖业持续健康发展中亟待解决的问题之一。

益生菌制剂是一种无毒副作用、绿色高效的生物饲料添加剂,已经在水产行业广泛使用。目前常用的益生菌主要包括芽孢杆菌类、乳酸菌类、酵母菌类和光合细菌等^[1-2]。益生菌制剂是一类活体微生物制剂,可参与宿主体各个功能系统的运转,其通过促进营养物质的吸收来提高宿主生长性能,通过促进肠道微绒毛的生长、优化微生物菌群结构而维护宿主肠道健康,通过分泌多种酶和不同分子大小的代谢物而提高饲料转化率和利用率,其还可作为肠道抗菌肽分泌的促进剂^[3-6]。研究表明,添加 0.5%植物乳酸杆菌(*Lactobacillus plantarum*)可提高凡纳滨对虾特定生长率,降低饲料系数,提高消化酶活性和肠上皮细胞高度^[7];不同添加量的丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)可以提高凡纳滨对虾的生长性能和机体的粗蛋白含量,增加肠道短链脂肪酸(SCFA)含量,调节肠道消化能力和免疫功能,从而提高抗氨胁迫的能力^[8];口服 10⁴ CFU/g 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和 10⁸ CFU/g 地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)60 d 均可改善凡纳滨对虾生长性能、饲料利用率和免疫功能^[9];不同剂量的凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*),不仅可在

一定程度上促进凡纳滨对虾的生长,而且能改善非特异性免疫功能^[10]。但有关地衣芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌对凡纳滨对虾营养代谢及抗氧化能力影响的研究还鲜见报道。为此,本试验分析了地衣芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长性能、营养代谢和抗氧化能力的影响,以期为对虾饲料添加剂的研发和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

基础饲料为凡纳滨对虾幼虾饲料(粒径 150~250 μm),由青岛赛格林生物工程有限公司提供,其营养水平如表 1 所示。

将购自中国普通微生物菌种保藏管理中心(CGMCC)的凝结芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌采用营养肉汁培养基(蛋白胨 10.0 g,牛肉浸取物 3.0 g,NaCl 5.0 g,蒸馏水 1.0 L,pH 7.0)活化扩大培养,使菌液细菌含量达 10¹⁰ CFU/mL。将不同的菌液分别稀释后均匀喷洒到基础饲料中,不断搅拌,混合 10 min,阴凉处晾干,利用蛋白液粘合包裹,制成对虾适用的成品饲料(活菌量均达 10⁸ CFU/g),4 ℃保存备用;对照组基础饲料用蛋白液包裹处理,阴凉处晾干。

表 1 基础饲料营养水平(风干基础)
Table 1 Ingredients and nutrient levels of basal diets (dry basis) g/kg

养分 Nutrient ingredients	含量 Content	养分 Nutrient ingredients	含量 Content
粗蛋白质 Crude protein	≥460	赖氨酸 Lysine	≥25
粗脂肪 Crude fat	≥40	总磷 Total phosphorus	≥9
粗纤维 Crude fiber	≤80	水分 Moisture	≤120
粗灰分 Crude ash	≤170		

1.2 试验动物的养殖管理

2018-12-17—2019-01-14,在山东省滨州市北海经济开发区友发水产有限公司工厂化车间进行为期 28 d 的对虾养殖试验。选取规格一致且均匀的健康凡纳滨对虾(初始体质量(IBW)为(2.2±0.1)g/尾)在养殖箱(80 cm×60 cm×70 cm,养殖水体约 300 L)中暂养 1 周,然后随机分成 3 组,每组 3 个重复,每个重复 100 尾虾。对照组投喂无任何添加、仅经蛋白液包裹处理的基础饲料;凝结芽孢杆菌组投喂含有 10⁸ CFU/g 凝结芽孢杆菌、经蛋白液包裹处理的试验饲料;地衣芽孢杆菌组投喂含有 10⁸ CFU/g地衣芽孢杆菌、经蛋白液包裹处理的试验饲料。试验中饲料投喂量为虾体质量的 8%~10%,

每天分 5 次投喂(06:00、10:00、14:00、18:00、22:00),根据当日天气、残饵和饲养条件具体调整投喂量。养殖过程中每天上午 10:00 换水 1 次,换水量为总水体的 30%,水温维持在 28~29 ℃,pH 为 8.0~8.5,盐度为 35‰~36‰,溶氧量为(7.5±0.5) mg/L,水体总氨氮量低于 0.5 mg/L。

1.3 指标的检测

1.3.1 生长及饲料利用指标 28 d 的投喂试验结束后,停食 1 d,称量每个重复对虾的质量,计算增重率(Weight gain rate, WGR)、特定生长率(Specific growth rate, SGR)及饲料系数(Feed coefficient rate, FCR),统计成活率(Survival rate, SR)。计算公式:WGR=(末均体质量-初均体质量)/初均体

质量 $\times 100\%$;SGR=(ln 末均体质量－ln 初均体质量)/试验天数 $\times 100\%$;FCR=饲料摄入量/(终末体质量－初始体质量);SR=(终末活对虾尾数/初始活对虾尾数) $\times 100\%$ 。

1.3.2 肌肉营养成分指标 28 d 的投喂试验结束后,停食 1 d,每个重复中随机抽取 20 尾试验对虾,采集其肌肉组织,－20 ℃ 保存,用于常规营养成分分析。水分含量采用 105 ℃ 烘干法(GB/T 6435－1986)测定,粗蛋白含量采用凯氏定氮法(GB/T 5009.5－2016)测定,粗脂肪含量采用氯仿-甲醇抽提法(GB/T 5009.6－2016)测定,粗灰分含量采用 550 ℃ 灰化法(GB/T 5009.4－2016)测定。呈味氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸)总含量采用氨基酸自动分析仪(GB 5009.124－2016)测定。肌糖原含量采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定。

1.3.3 血清生化指标 试验过程的第 7,14,21 和 28 天,采用 1.0 mL 一次性注射器从对虾心脏采集 0.2 mL 血液(每个重复取 6 尾虾血样,混合成一个样品),立即于 4 ℃ 下 5 000 r/min 离心 10 min,取上清,－80 ℃ 保存备测。采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定第 28 天试验对虾血清中总蛋白(TP)、总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)含量。

1.3.4 营养代谢相关酶活性 采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定第 7,14,21,28 天血清样

品中谷氨酰胺合成酶(GS)、苹果酸脱氢酶(MDH)、脂肪酶(LPS)、己糖激酶(HK)的活性。

1.3.5 抗氧化能力相关酶活性 采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定第 7,14,21,28 天血清样品的总抗氧化能力(T-AOC)、一氧化氮(NO)含量及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮合酶(NOS)的活性。

1.4 数据统计分析

试验所得数据均表示为“平均值 $\pm$ 标准误”(n=3);对数据进行 SPSS 19.0 单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 比较分析,以 $P<0.05$ 作为差异的显著性水平。

2 结果与分析

2.1 益生菌制剂对凡纳滨对虾生长、饲料利用的影响

由表 2 可知,试验期间 3 组虾的成活率均为 100%。投喂试验结束后,凝结芽孢杆菌组和地衣芽孢杆菌组对虾终末体质量均显著高于对照组($P<0.05$),饲料系数均显著低于对照组($P<0.05$);地衣芽孢杆菌组增重率、特定生长率均显著高于对照组($P<0.05$);凝结芽孢杆菌组和地衣芽孢杆菌组对虾终末体质量、增重率、特定生长率和饲料系数均无显著差异($P>0.05$)。

表 2 益生菌制剂对凡纳滨对虾生长性能和饲料利用的影响(n=3)

Table 2 Effects of dietary probiotics supplementation on growth performance and feed utilization of *Litopenaeus vannamei* (n=3)

组别 Groups	初始体质量/(g·尾 ⁻¹) IBW	终末体质量/(g·尾 ⁻¹) FBW	增重率/% WGR
对照组 Control group	2.19 $\pm$ 0.05 a	4.60 $\pm$ 0.26 a	110.04 $\pm$ 0.17 a
凝结芽孢杆菌组 <i>B. coagulans</i> group	2.21 $\pm$ 0.05 a	5.36 $\pm$ 0.08 b	142.53 $\pm$ 0.02 ab
地衣芽孢杆菌组 <i>B. licheniformis</i> group	2.16 $\pm$ 0.06 a	5.55 $\pm$ 0.08 b	156.94 $\pm$ 0.10 b
组别 Groups	饲料系数 FCR	特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	成活率/% SR
对照组 Control group	1.93 $\pm$ 0.02 a	2.64 $\pm$ 0.28 a	100 $\pm$ 0.00 a
凝结芽孢杆菌组 <i>B. coagulans</i> group	1.50 $\pm$ 0.04 b	3.16 $\pm$ 0.02 ab	100 $\pm$ 0.00 a
地衣芽孢杆菌组 <i>B. licheniformis</i> group	1.43 $\pm$ 0.01 b	3.37 $\pm$ 0.14 b	100 $\pm$ 0.00 a

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

Note: Values in the same column with different small letter superscripts are significantly different ($P<0.05$). The same as below.

2.2 益生菌制剂对凡纳滨对虾肌肉营养成分和血清生化指标的影响

由表 3 可知,凝结芽孢杆菌组和地衣芽孢杆菌组对虾粗蛋白、呈味氨基酸总量、肌糖原和甘油三酯含量均显著高于对照组($P<0.05$);凝结芽孢杆菌组对虾血清粗灰分含量、总蛋白及总胆固醇含量均显著高于对照组($P<0.05$),粗脂肪含量与对照组

无显著差异($P>0.05$);地衣芽孢杆菌组粗脂肪含量显著低于对照组($P<0.05$),与凝结芽孢杆菌组无显著差异($P>0.05$),粗灰分含量与对照组及凝结芽孢杆菌组均无显著差异($P>0.05$),呈味氨基酸总量显著高于凝结芽孢杆菌组($P<0.05$),而总胆固醇含量显著低于凝结芽孢杆菌组($P<0.05$)。

表 3 益生菌制剂对凡纳滨对虾肌肉营养成分和血清生化指标的影响($n=3$)

Table 3 Effects of dietary probiotics supplementation on body nutrition components and serum biochemical items of *Litopenaeus vannamei* ($n=3$)

组别 Groups	水分/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Moisture	粗蛋白/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Crude protein	粗脂肪/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Crude lipid	粗灰分/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Ash	呈味氨基酸总量/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Delicious amino acids
对照组 Control group	761.4 $\pm$ 0.05 a	210.7 $\pm$ 0.14 a	12.5 $\pm$ 0.03 a	15.4 $\pm$ 0.04 a	87.8 $\pm$ 0.08 a
凝结芽孢杆菌组 <i>B. coagulans</i> group	745.3 $\pm$ 0.01 a	226.3 $\pm$ 0.35 b	11.4 $\pm$ 0.03 ab	17.0 $\pm$ 0.01 b	89.7 $\pm$ 0.03 b
地衣芽孢杆菌组 <i>B. licheniformis</i> group	746.9 $\pm$ 0.02 a	226.0 $\pm$ 0.25 b	10.7 $\pm$ 0.04 b	16.4 $\pm$ 0.02 ab	98.4 $\pm$ 0.04 c

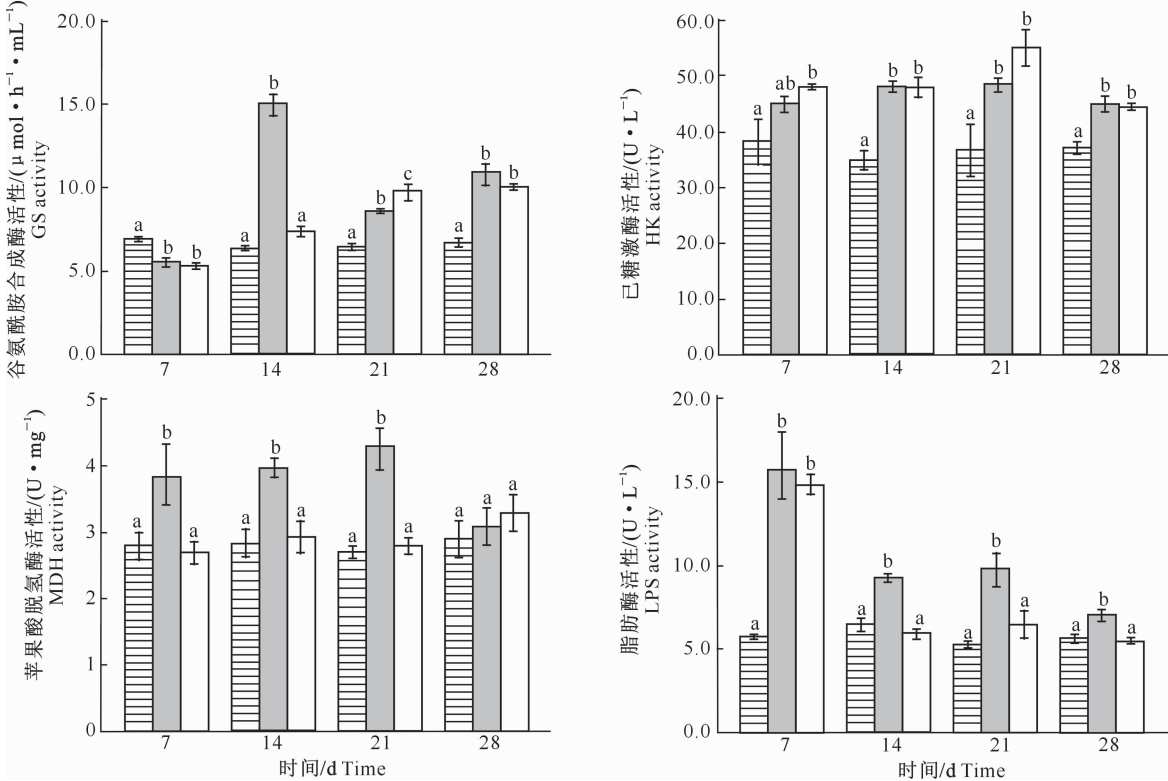
组别 Groups	肌糖原/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) Muscle glycogen	总蛋白/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Total protein	总胆固醇/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Total cholesterol	甘油三酯/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) Triglyceride
对照组 Control group	1.90 $\pm$ 0.04 a	2.58 $\pm$ 0.29 a	2.46 $\pm$ 0.01 a	0.40 $\pm$ 0.02 a
凝结芽孢杆菌组 <i>B. coagulans</i> group	2.54 $\pm$ 0.13 b	3.41 $\pm$ 0.17 b	2.85 $\pm$ 0.03 b	0.49 $\pm$ 0.01 b
地衣芽孢杆菌组 <i>B. licheniformis</i> group	2.30 $\pm$ 0.05 b	2.97 $\pm$ 0.16 ab	2.43 $\pm$ 0.01 a	0.50 $\pm$ 0.03 b

2.3 益生菌制剂对凡纳滨对虾营养代谢相关酶活性的影响

图 1 显示,第 14 天凝结芽孢杆菌组 GS 活性显著高于对照组和地衣芽孢杆菌组($P<0.05$),比对照组提高了近 1.4 倍;地衣芽孢杆菌组 GS 活性在第 28 天最高,但与凝结芽孢杆菌组无显著差异($P>0.05$)。凝结芽孢杆菌组和地衣芽孢杆菌组 HK 活性均在第 21 天达到最高,显著高于对照组($P<0.05$),而这两组之间无显著差异($P>0.05$)。

凝结芽孢杆菌组 MDH 活性第 21 天达最高,显著高于对照组和地衣芽孢杆菌组($P<0.05$),而地衣芽孢杆菌组与对照组之间无显著差异($P>0.05$)。凝结芽孢杆菌组和地衣芽孢杆菌组血清 LPS 活性均在第 7 天达到最高,显著高于对照组($P<0.05$),而凝结芽孢杆菌组和地衣芽孢杆菌组无显著差异($P>0.05$);随着时间的延长,2 个试验组 LPS 活性均大幅度降低。

▨ 对照组 CK; ▩ 凝结芽孢杆菌组 *B.coagulans* group; □ 地衣芽孢杆菌组 *B.licheniformis* group



同一时间不同组别相比,柱上标注不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。图 2 同
Different lowercase letters mean significant difference ($P<0.05$). The same in Fig. 2

图 1 益生菌制剂对凡纳滨对虾血清营养代谢酶活性的影响

Fig. 1 Effect of probiotics on serum nutrient metabolism of *Litopenaeus vannamei*

2.4 益生菌制剂对凡纳滨对虾抗氧化功能相关酶活性的影响

由图 2 可知,凝结芽孢杆菌组凡纳滨对虾血清 T-AOC、SOD 活性在第 7 天达最高,显著高于对照组($P<0.05$);CAT 活性在第 21 天最高,显著高于对照组($P<0.05$),而与地衣芽孢杆菌组无显著差异($P>0.05$);GSH-Px 活性在第 28 天最高,显著高于对照组($P<0.05$);NOS 活性、NO 含量在第 14 天最高,显著高于对照组($P<0.05$)。地衣芽孢杆

菌组 T-AOC 活性在第 14 天最高,显著高于对照组和凝结芽孢杆菌组($P<0.05$);CAT、GSH-Px 活性在第 21 天最高,显著高于对照组($P<0.05$);SOD 活性在第 7 天最高,显著高于对照组($P<0.05$),与凝结芽孢杆菌组无显著差异($P>0.05$);NOS 活性在第 14 天最高,与对照组和凝结芽孢杆菌组均无显著差异($P>0.05$);NO 含量在第 28 天最高,显著高于对照组($P<0.05$),但与凝结芽孢杆菌组无显著差异($P>0.05$)。

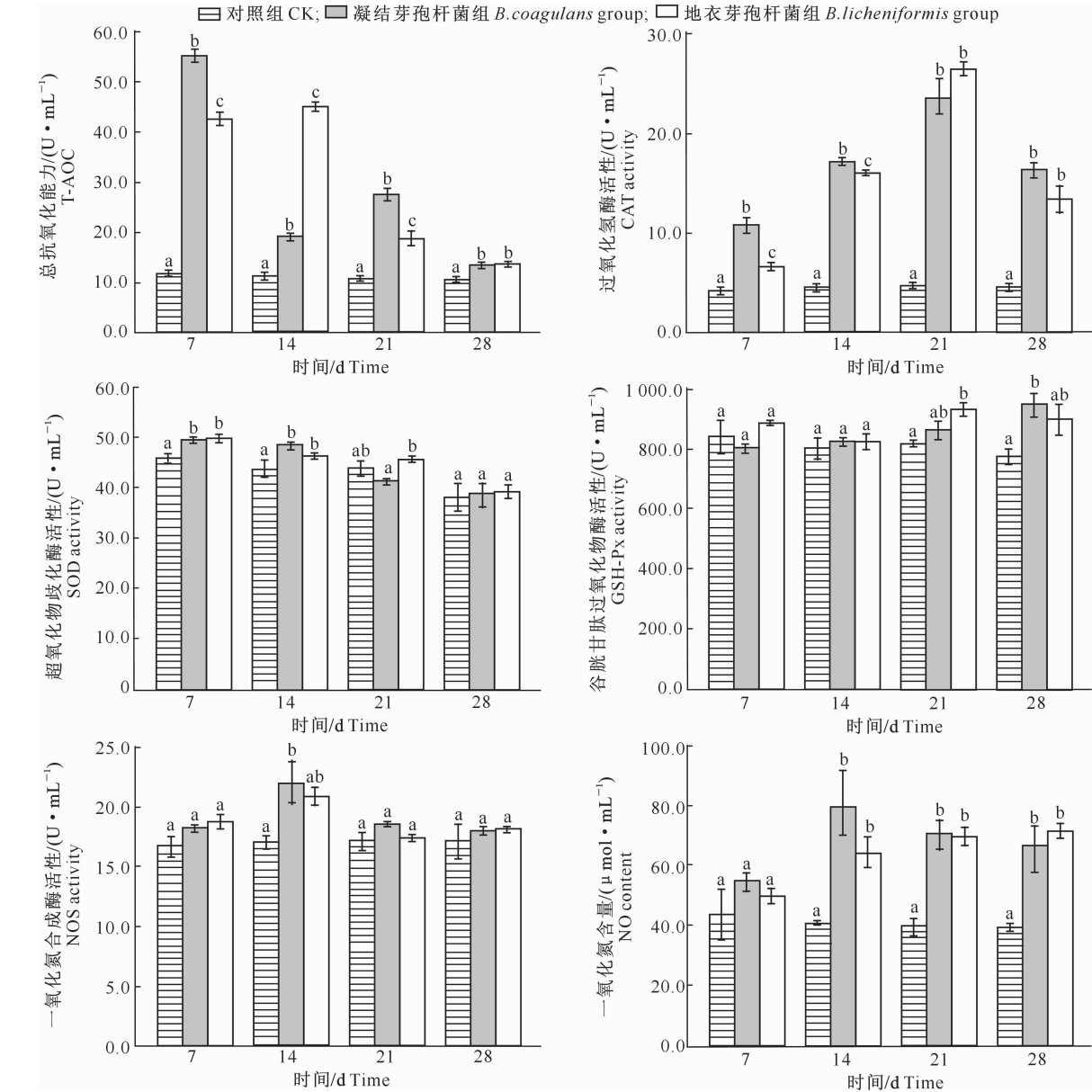


图 2 益生菌制剂对凡纳滨对虾血清抗氧化能力的影响

Fig. 2 Effect of probiotics on serum antioxidant capacity of *Litopenaeus vannamei*

3 讨论

3.1 益生菌制剂对凡纳滨对虾生长性能的影响

生长性能是反映养殖动物机体响应外源添加剂

的重要指标之一。凝结芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌都是芽孢杆菌属常用的益生菌,可作为饲料添加剂使用,其通过促进食物消化、提高饲料利用率、促进营养物质吸收等多种途径来增强动物的生长性

能^[4,11-13]。本研究结果显示,地衣芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌均能有效地提高凡纳滨对虾的生长性能,降低饲料系数,而且地衣芽孢杆菌效果更为明显,这可能是因为地衣芽孢杆菌能够分泌活性较强的蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶等消化酶,促进饲料中营养物质的降解,使凡纳滨对虾对饲料的吸收利用更加充分,从而促进其更快地生长。李军亮等^[14]研究表明,低鱼粉饲料中添加不同剂量枯草芽孢杆菌可增强凡纳滨对虾生长性能,改善蛋白质效率和饲料系数,提高虾体的非特异性免疫力和抗病力。汪波等^[10]研究发现,凝结芽孢杆菌可提高凡纳滨对虾的成活率、增重率和特定增长率,并可显著降低饲料系数。Madani 等^[9]研究表明, 10^4 和 10^8 CFU/g 枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌均可改善凡纳滨对虾的生长性能、饲料利用率和免疫功能参数,并对虾体成分产生显著影响。本研究结果显示,凝结芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌均不同程度地改善了凡纳滨对虾肌肉中粗蛋白质含量、呈味氨基酸总量和肌糖原含量,以及对虾血清中总蛋白、胆固醇和甘油三酯含量。当然,也有研究显示,益生菌对养殖对虾生长及体成分没有明显影响^[15-16]。这些研究结果的差异可能是由益生菌不同、供试虾体不同以及养殖环境不同等因素造成的。

3.2 益生菌制剂对凡纳滨对虾营养代谢相关酶活性的影响

GS 是生物体内氮同化的关键酶之一,而且可控制氮代谢,影响蛋白质效率。本研究结果显示,试验第 14 天凝结芽孢杆菌显著促进了血清中 GS 酶活性的提高,且与地衣芽孢杆菌组差异显著,这可能是由于凝结芽孢杆菌菌体本身可合成多种氨基酸,又可提高蛋白酶活性,对蛋白质代谢有更强的促进作用。饲料中蛋白质的吸收量增加通常与一系列的其他代谢变化有关^[17-18]。HK 是糖代谢过程中的关键酶,其活力大小与糖源底物有关^[19]。本研究结果表明,第 21 天地衣芽孢杆菌组 HK 活性更强,说明地衣芽孢杆菌的添加可提高对虾对糖原的利用率,催化糖酵解过程,从而增强机体的代谢活动。然而,随着时间的延长,HK 活性呈现降低趋势,可能的原因是对虾机体在生命系统运转过程中对此产生了适应,糖酵解活动趋于平缓,并将能量进行了转换,以平衡其他的营养物质代谢。MDH 可参与多种代谢途径,尤其是脂肪代谢,在脂肪代谢过程中它不仅参与酶的调控,也参与细胞器之间的能量代谢^[20]。LPS 具有多种催化能力,可作为脂肪代谢过程中重要的

衡量指标之一^[21]。本研究中,凝结芽孢杆菌的代谢产物主要为乳酸,乳酸参与三羧酸产生大量的丙酮酸,丙酮酸进入脂肪合成途径,间接促进脂肪代谢相关酶的活性,因此凝结芽孢杆菌组虾体的 MDH 和 LPS 活性较高。另有学者从肠道微生物变化方面研究了益生菌的作用^[22],据此推测本研究结果可能是由于凝结芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌与凡纳滨对虾肠道内微生物相互作用,从而提高了微生物代谢、分泌和平衡,这有待进一步研究。

3.3 益生菌制剂对凡纳滨对虾抗氧化功能的影响

凝结芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌进入宿主机体后参与并调控着整个抗氧化系统,激活虾体的抗氧化能力及非特异性免疫,从而保护机体免受氧化损伤及致病菌的侵害,提升动物健康水平。T-AOC 反映了机体总抗氧化防御水平;SOD 是最重要的活性氧消除酶;CAT 在活性氧消除系统中具有重要作用;GSH-Px 是一种重要的过氧化物分解酶,可保护机体细胞膜不受过氧化物的损害;NOS 通路是一个重要的抗菌系统,产生的 NO 可有效抵御致病菌的入侵。这些酶活性均与机体抗氧化功能有着密切关系^[22-28]。本试验第 7 天,凝结芽孢杆菌组 T-AOC 活性最高,地衣芽孢杆菌次之,对虾机体总抗氧化能力显著增强,这与胡毅等^[29]的研究结果相似。SOD 活性表现与 T-AOC 相似,但与对照组比较差异较小,CAT 活性在第 21 天最高,且地衣芽孢杆菌对 CAT 活性的促进作用比凝结芽孢杆菌效果更好,这与孟霄鹏等^[30]研究得出的益生菌可显著提高凡纳滨对虾 CAT 及 SOD 活性的结果一致。第 14 天,试验组表现出更高的 NOS 活性和 NO 含量,其原因可能是凡纳滨对虾受到外源益生菌的调控后引发体内 NOS 的表达,同时产生大量的 NO,这与王苓等^[31]、王明阳等^[32]的研究结果相似。

4 结 论

饲料中添加活菌量达 10^8 CFU/g 的地衣芽孢杆菌和凝结芽孢杆菌能够有效地提高凡纳滨对虾的生长性能,改善肌肉成分和血清生化指标,提高血清中蛋白质、脂肪、糖等营养物质代谢相关酶的活性,提高虾体的抗氧化能力。

[参考文献]

- [1] 徐 鹏,董晓芳,佟建明.微生物饲料添加剂的主要功能及其研究进展 [J].动物营养学报,2012,24(8):1397-1403.
Xu P, Dong X F, Tong J M. Microbial feed additives: major

- functions and its research advances [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(8): 1397-1403.
- [2] 沙玉杰. 乳酸菌对凡纳滨对虾益生机理的研究 [D]. 山东青岛: 中国科学院海洋研究所, 2016.
Sha Y J. Studies on probiotic mechanism of lactic acid bacteria in *Litopenaeus vannamei* [D]. Qingdao, Shandong: Institute of Oceanography, Chinese Academy of Sciences, 2016.
 - [3] 李桂英. 对虾肠道益生菌对凡纳滨对虾非特异免疫力和抗病力影响的研究 [D]. 山东青岛: 中国海洋大学, 2011.
Li G Y. Studies on effect of multispecies probiotics on nonspecific immunity and resistance to WSSV of *Litopenaeus vannamei* [D]. Qingdao, Shandong: Ocean University of China, 2011.
 - [4] Zhao J, Ling Y H, Zhang R Z, et al. Effects of dietary supplementation of probiotics on growth, immune responses, and gut microbiome of the abalone *Haliotis diversicolor* [J]. Aquaculture, 2018, 493: 289-295.
 - [5] Daruosh A A, Elahe S, Hojatollah J, et al. Efficacy of two commercial and indigenous probiotics, *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunophysiology and resistance response of juvenile white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Aquaculture, 2018, 496: 43-49.
 - [6] 艾红英, 彭富强, 黄娟, 等. 益生菌益生作用的新机制—作为肠道抗菌肽分泌的促进剂 [J]. 中国兽医学报, 2016, 36(6): 1076-1080.
Ai H Y, Peng F Q, Huang J, et al. A new mechanism of probiotic effect of probiotics as an accelerator of intestinal antibacterial peptide secretion [J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2016, 36(6): 1076-1080.
 - [7] 郑晓婷, 段亚飞, 董宏标, 等. 植物乳酸杆菌对凡纳滨对虾生长、消化酶活性和肠道组织形态的影响 [J]. 水产科学, 2016, 35(1): 1-6.
Zheng X T, Duan Y F, Dong H B, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* on growth performance, gut histology and activity of digestive enzymes in pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Fisheries Science, 2016, 35(1): 1-6.
 - [8] Duan Y F, Zhang Y, Dong H B, et al. Effect of dietary *Clostridium butyricum* on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 65: 25-33.
 - [9] Madani N S H, Adorian T J, Farsani H G, et al. The effects of dietary probiotic Bacilli (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) on growth performance, feed efficiency, body composition and immune parameters of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae [J]. Aquaculture Research, 2018, 49: 1926-1933.
 - [10] 汪波, 曾佳丽, 黎于汾, 等. 凝结芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长和免疫的影响 [J]. 西北农业学报, 2016, 24(6): 10-15.
Wang B, Zeng J L, Li Y F, et al. Effects of *Bacillus coagulans* on growth performance and non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei* [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2016, 24(6): 10-15.
 - [11] Liu X F, Li Y, Li J R, et al. Isolation and characterisation of *Bacillus* spp. antagonistic to *Vibrio parahaemolyticus* for use as probiotics in aquaculture [J]. World Microbiol Biotechnol, 2015, 31: 795-803.
 - [12] 丁贤, 李卓佳, 陈永青, 等. 芽孢杆菌对凡纳对虾生长和消化酶活性的影响 [J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 580-584.
Ding X, Li Z J, Chen Y Q, et al. Effects of probiotics on growth and activities of digestive enzymes of *Penaeus vannamei* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(6): 580-584.
 - [13] 张盛静, 宋晓玲, 赵小金, 等. 饲料中添加益生菌对凡纳滨对虾抗感染和 5 种免疫基因表达的影响 [J]. 水产学报, 2015, 39(6): 899-907.
Zhang S J, Song X L, Zhao X J, et al. Effects of adding probiotics to the feed on anti-infection and five kinds of immune gene expression of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 39(6): 899-907.
 - [14] 李军亮, 杨奇慧, 谭北平, 等. 低鱼粉饲料添加枯草芽孢杆菌对凡纳滨对虾幼虾生长性能、非特异性免疫力及抗病力的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(5): 2212-2221.
Li J L, Yang Q H, Tan B P, et al. Effects of *Bacillus subtilis* supplemented in low fish meal diets on growth performance, non-specific immunity and disease resistance of juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(5): 2212-2221.
 - [15] Lin H, Li Z, Guo Z, et al. Effects of dietary probiotics on growth and biochemical composition of whole body of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. South China Fisheries Science, 2008, 4(6): 95-100.
 - [16] Yu M C, Li Z J, Lin H Z, et al. Effects of dietary medicinal herbs and *Bacillus* on survival, growth, body composition, and digestive enzyme activity of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture International, 2009, 17: 377-384.
 - [17] Mourot J, Guy G, Lagarrigue S, et al. Role of hepatic lipogenesis in the susceptibility to fatty liver in the goose (*Anser anser*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2000, 126(1): 81-87.
 - [18] 孙瑞健, 张文兵, 徐玮, 等. 饲料蛋白质水平与投喂频率对大黄鱼生长、体组成及蛋白质代谢的影响 [J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 281-289.
Sun R J, Zhang W B, Xu W, et al. Effects of dietary protein level and feeding frequency on the growth performance, body composition and protein metabolism of juvenile large yellow croakers, *Pseudosciaena crocea* R. [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 281-289.
 - [19] 杨品贤, 贾高旺, 夏辉, 等. 投喂频率和糖源组成对凡纳滨对虾糖代谢的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(5): 583-588.
Yang P X, Jia G W, Xia H, et al. Effects of feeding frequency and carbohydrate source composition on carbohydrate metabolism of Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(5): 583-588.

- [20] 魏胜娟, 咎林森, 王洪宝. 动物脂肪酸转运蛋白 1 的研究进展 [J]. 中国牛业科学, 2011, 37(4): 47-51.
Wei S J, Zan L S, Wang H B. Advances in the research of animal fatty acid transport protein 1 [J]. China Cattle Science, 2011, 37(4): 47-51.
- [21] Sánchez-Paz A, García-Carreño F, Hernández-López J, et al. Effect of short-term starvation on hepatopancreas and plasma energy reserves of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 340(2): 184-193.
- [22] Kumarn R, Raman R P, Jadhao S B, et al. Effect of dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* on gut microbiota, growth and immune response in giant fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879) [J]. Aquaculture International, 2013, 21: 387-403.
- [23] Wu F J, Xue Y, Liu X F, et al. The protective effect of eicosa-pentaenoic acid-enriched phospholipids from sea cucumber *Cucumaria frondosa* on oxidative stress in PC12 cells and SAMP8 mice [J]. Neurochem International, 2014, 64(1): 9-17.
- [24] Duan Y F, Zhang J S, Dong H B, et al. Oxidative stress response of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* to *Vibrio parahaemolyticus* challenge [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 46: 354-365.
- [25] Yao C L, Ji P F, Wang Z Y, et al. Molecular cloning and expression of NOS in shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2010, 28: 453-460.
- [26] Chen T, Wang N K, Jiang X, et al. Nitric oxide as an antimicrobial molecule against *Vibrio harveyi* infection in the hepatopancreas of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 42: 114-120.
- [27] Amaretti A, Nunzio M D, Pompei A, et al. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria; *in vitro* and *in vivo* activities [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(2): 809-817.
- [28] 李国明, 孙育平, 王国霞, 等. 饲料中添加谷胱甘肽对花鲈幼鱼生长性能、血清生化指标和抗氧化能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(7): 1-11.
Li G M, Sun Y P, Wang G X, et al. Effects of dietary glutathione on growth performance, serum biochemical indices and antioxidant capacity of juvenile *Lateolabrax japonicus* [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(7): 1-11.
- [29] 胡 毅, 谭北平, 麦康森, 等. 饲料中益生菌对凡纳滨对虾生长、肠道菌群及部分免疫指标的影响 [J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 244-251.
Hu Y, Tan B P, Mai K S, et al. Effects of dietary probiotic on growth, immunity and intestinal bacteria of juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(2): 244-251.
- [30] 孟霄鹏, 孟 阳, 王 悦, 等. 益生菌对凡纳滨对虾免疫功能及肠道菌群的影响 [J]. 水产科学, 2017, 36(1): 60-65.
Meng X P, Meng Y, Wang Y, et al. Effects of probiotics on immunologic functions and intestinal microflora in Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Fisheries Science, 2017, 36(1): 60-65.
- [31] 王 苓, 田相利, 董双林, 等. 两株芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长和血清非特异性免疫指标的影响研究 [J]. 中国海洋大学学报, 2017, 47(4): 14-21.
Wang L, Tian X L, Dong S L, et al. Effects of two *Bacillus* on growth performance and serum non-specific immunity of *Litopenaeus vannamei* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2017, 47(4): 14-21.
- [32] 王明阳, 田相利, 刘龙镇, 等. 饲料中添加凝结芽孢杆菌对凡纳滨对虾生长、血清非特异性免疫指标及抗病力的影响 [J]. 中国海洋大学学报, 2018, 48(S1): 11-18.
Wang Y M, Tian X L, Liu L Z, et al. Effects of *Bacillus coagulans* added to feed on the growth performance, serum non-specific immunity and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(S1): 11-18.