

复合益生菌制剂对大西洋鲑(*Salmo salar*)生长、 消化酶和非特异性免疫指标的影响*

刘淑兰¹ 陈娟¹ 李杰¹ 刘豪¹ 胡佳平¹
张黎黎¹ 韩厚伟¹ 孙国祥² 王纯²

(1. 山东东方海洋科技股份有限公司 烟台 264003; 2. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

摘要 选取体质健康、均重为(180±28) g 的大西洋鲑(*Salmo salar*) 420 尾, 随机分成 4 组(对照组和 3 个不同菌剂水平的实验组), 每组 3 个重复, 每个重复 35 尾。对照组投喂基础饲料, 实验组分别投喂添加 1%、3% 和 5% 芽孢杆菌和酵母菌复合益生菌制剂(BSCP)的基础饲料 42 d。结果发现, 大西洋鲑投喂 1%–5% 的 BSCP 后生长性能得到明显改善, 增重率显著升高($P<0.05$), 饵料系数和死亡率显著降低($P<0.05$); 饲料蛋白质的表观消化率呈升高的趋势, 5% 组蛋白质消化率具有显著性差异($P<0.05$), 但其脂肪表观消化率显著降低($P<0.05$); 实验组肠道和肝脏蛋白酶和脂肪酶活性有不同程度的升高, 但其中 5% 组肝脏脂肪酶活性显著降低($P<0.05$); 实验组肝脏免疫指标表现出不同程度的改善, 但其血清免疫指标无明显变化, 仅中高剂量组 SOD 活性显著降低($P<0.05$)。结果表明, BSCP 可以显著提高大西洋鲑的生长性能, 提高部分消化酶活性和蛋白质的消化率, 并在一定程度上促进大西洋鲑的非特异性免疫能力, 其饲料中适宜添加水平为 3%。

关键词 益生菌; 大西洋鲑; 生长; 消化酶; 非特异性免疫指标

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)05-0100-07

大西洋鲑(*Salmo salar*)是一种营养价值较高的世界性养殖鱼类, 其肉质鲜美、富含必需脂肪酸和类胡萝卜素, 被公认为天然的绿色食品。由于野生资源有限, 目前市场上销售的大多数大西洋鲑来自人工养殖。而养殖过程中的人工管理操作和长期饱食投喂配合饲料对鱼体的生理功能造成不利影响, 导致其免疫力和生长速度降低。微生态制剂通过改善宿主肠道微生态平衡、提供营养物质、刺激免疫功能等作用, 可以提高养殖动物的生产性能(张艳等, 2005), 是近年来促进养殖鱼类生长和健康类物质的研究热点之一。

不同种类的益生菌对机体的作用机制不同, 复合添加通常能够达到作用互补或增强的效果(Oelschlaeger, 2010; 赵剑闯等, 2010)。目前, 市场上已存在的微生态制剂多为两种或两种以上益生菌的复合制剂, 饲料

行业应用最为广泛的益生菌种类主要包括芽孢杆菌(*Bacillus*)、乳酸菌以及酵母菌(徐鹏等, 2012), 其中, 芽孢杆菌或乳酸菌的单一或复合添加剂是近年来国内外的研究热点, 而关于芽孢杆菌和酵母菌复合添加对鱼体影响的研究则较为少见。本文通过研究饲料中添加不同剂量芽孢杆菌和酵母菌复合发酵菌剂对大西洋鲑的生长性能、消化率、消化酶活性和非特异性免疫能力的影响, 探究复合益生菌制剂的促进效果及其在饲料中的适宜添加量, 为其在生产中应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 实验设计及材料

从 2014 年山东东方海洋科技股份有限公司培育

* 国家国际科技合作专项项目“鱼类全自动循环水养殖系统与技术的引进开发”(2014DFA31030)资助 [This work was supported by the National Special Project for International Scientific and Technological Cooperation “Introduction and Development of Fish Automatic Recirculating Aquaculture Systems and Technology” (2014DFA31030)]. 刘淑兰, E-mail: liujj2007101@126.com

的降海后的大西洋鲑中, 选择 420 尾规格一致、体质健康、体重为(180±28) g 的大西洋鲑, 随机分为 4 组, 分别为对照组和 3 个添加不同水平复合益生菌剂的实验组, 每组 3 个重复, 每个重复 35 尾, 置于 12 个独立的室内循环水养殖系统。实验期为 42 d。

鲑鳟鱼配合饲料购于北京汉业科技有限公司, 基础营养成分为水分 6.6%、粗蛋白 44.2%、粗脂肪 22.4%、灰分 10.6%。

复合益生菌制剂(Complex-probiotic-preparation, BSCP)为解淀粉芽孢杆菌 CGMCC 10149 菌株(*Bacillus amyloliquefaciens* V4 CGMCC 10149)和胶红酵母菌 CGMCC 1013 菌株(*Rhodotorula mucilaginosa* CGMCC 1013)的混合发酵液, 其中, 解淀粉芽孢杆菌为具有抗杀鲑气单胞菌的筛选菌株。两种益生菌均采用 LB 培养基分别发酵培养, 以 1:1 比例混合后测得混合发酵液中芽孢杆菌含量为 2.5×10^9 CFU/ml, 酵母菌含量为 10×10^{10} CFU/ml, 菌液干物质含量约为 4.1%, 由中国科学院微生物研究所提供。BSCP 以体积(ml)/饲料重(g)分别为 1%、3% 和 5% 的剂量喷洒到饲料中, 晾干。菌液和饲料储存于 4℃ 冰箱备用。

1.2 养殖管理

大西洋鲑于小型室内封闭循环水系统养殖, 每个养殖池水体为 300 L, 初始养殖密度约为 21 kg/m³。实验鱼暂养 14 d, 基本恢复正常后开始正式实验, 每天 08:00 和 15:00 饱食投喂 2 次, 投喂率为 1.0%–1.4%, 每次投饵后排污, 记录饲料残饵数、投喂量、死亡数和水温。每 5 d 测定一次氨氮和亚硝氮。养殖用水为恒温的地下岩层过滤海水, 水质优良。实验期间水温为 9–12℃, 溶解氧 >7 mg/L, 氨氮 <0.6 mg/L, 亚硝氮 <0.3 mg/L。

1.3 样品采集及处理

实验初始和结束时, 称重每池全部实验鱼。正式实验开始后, 每 7 d 收集每个养殖池粪便, 用于测定饲料表观消化率。投喂实验结束时, 每池随机取 3 尾大西洋鲑, 用 50 mg/L 的 MS-222 麻醉后尾静脉抽血, 血液置于肝素钠润湿的 2 ml 离心管中, 4000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 用于非特异性免疫指标的测定。抽血后鱼体解剖, 取肠道和肝脏, 去除脂肪组织, 于 -80℃ 冰箱保存。

粗酶液制备: 将上述组织解冻, 称重后加入 9 倍体积的 0.9% 无菌生理盐水, 组织匀浆机以 11000 r/min 匀浆 2 min, 然后 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 保存于 -80℃, 用于测定消化酶和非特异性免疫指标。

1.4 测定指标与方法

表观消化率采用 4 mol/L 盐酸不溶性灰分法进行测定(Vandenberg *et al*, 2008)。组织总蛋白含量、消化酶活性和非特异性免疫指标均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定。蛋白酶活力测定采用福林-酚法, 淀粉酶活力测定采用碘-淀粉比色法, 脂肪酶活力测定采用化学比色法, 溶菌酶活力测定采用自身对照法, 酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)和碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)活性测定采用磷酸苯二钠比色法, 超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化酶法(羟胺法)。

生长性能指标及表观消化率相关计算公式如下:

$$\text{增重率}(\%) = (W_t - W_0) / W_0 \times 100$$

$$\text{特定生长率(SGR, \%)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100$$

$$\text{投喂率}(\%) = W_f / [(W_0 + W_t) / 2] / t \times 100$$

$$\text{饲料系数(FCR)} = W_f / (W_t - W_0)$$

$$\text{死亡率}(\%) = (N_t - N_0) / N_0 \times 100$$

$$\text{干物质表观消化率}(\%) = (1 - A_1 / A_2) \times 100$$

$$\text{蛋白质表观消化率}(\%) = (1 - A_1 \times P_2 / A_2 \times P_1) \times 100$$

$$\text{脂肪表观消化率}(\%) = (1 - A_1 \times F_2 / A_2 \times F_1) \times 100$$

式中, t 为养殖天数, W_0 和 W_t 分别为实验初和实验末鱼总体重(g), W_f 为饲料总投喂量(g), N_0 和 N_t 分别为实验初和实验末鱼体存池数, A_1 和 A_2 分别为饲料和粪便中盐酸不溶性灰分含量, P_1 和 P_2 分别为饲料和粪便中蛋白质含量, F_1 和 F_2 分别为饲料和粪便中脂肪含量。

1.5 数据统计与分析

所有数据均以平均值±标准误(Mean±SE)表示, 用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 若存在显著差异, 则进行 Duncan 多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 复合益生菌制剂对大西洋鲑生长性能的影响

BSCP 对大西洋鲑生长性能的影响见表 1。与对照组相比, 大西洋鲑投喂添加 1%–5% BSCP 的饲料 42 d 后, 增重率和 SGR 均分别升高约 21% 和 16% ($P < 0.05$), 饲料系数和死亡率分别降低 15% 和 47% ($P < 0.05$)。1% 组和 3% 组总摄食量和摄食率较对照组高 17% 和 13% ($P > 0.05$), 5% 组高于前三者, 且具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

表1 复合益生菌制剂对大西洋鲑生长性能的影响

Tab.1 Effects of the BSCP on the growth performance of Atlantic salmon ($n=3$, Mean \pm SE)

项目 Items	对照组	1%组	3%组	5%组
	Control group	1% group	3% group	5% group
初均重 Initial weight (g)	181.80 \pm 1.61	182.39 \pm 2.58	177.13 \pm 1.23	179.39 \pm 2.20
末均重 Final weight (g)	303.19 \pm 5.72 ^b	328.24 \pm 6.37 ^a	320.60 \pm 5.29 ^{ab}	325.17 \pm 3.66 ^a
总摄食量 Total feed intake (kg)	3.69 \pm 0.10 ^b	4.37 \pm 0.17 ^{ab}	4.29 \pm 0.20 ^{ab}	4.46 \pm 0.06 ^a
摄食率 Feed intake rate (%)	1.13 \pm 0.03 ^b	1.27 \pm 0.04 ^{ab}	1.28 \pm 0.03 ^{ab}	1.32 \pm 0.02 ^b
增重率 Weight gain rate (%)	66.85 \pm 4.50 ^b	80.12 \pm 5.80 ^a	81.01 \pm 3.35 ^a	81.27 \pm 0.67 ^a
饲料系数 Feed coefficient	1.15 \pm 0.06 ^a	0.96 \pm 0.01 ^b	0.96 \pm 0.02 ^b	1.01 \pm 0.10 ^b
特定生长率 Specific growth rate (%/d)	1.22 \pm 0.06 ^b	1.40 \pm 0.13 ^a	1.41 \pm 0.04 ^a	1.42 \pm 0.10 ^a
死亡率 Mortality rate (%)	9.52 \pm 1.90 ^a	4.76 \pm 0.95 ^b	4.76 \pm 0.95 ^b	5.71 \pm 0.85 ^b

注：同行肩标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)

Note: In the same line, values with different superscripts were significantly different ($P<0.05$)

2.2 复合益生菌制剂对大西洋鲑饲料表观消化率的影响

BSCP 对大西洋鲑的饲料表观消化率的影响见表2。与对照组相比，大西洋鲑投喂5%的BSCP后，蛋白质表观消化率升高8%($P<0.05$)，但其脂肪的表观消化率显著降低0.4%($P<0.05$)，而1%组和3%组与对照组无显著差异($P>0.05$)。投喂BSCP使鱼体饲料干物质的表观消化率呈现升高的趋势，但各组间无显著差异($P>0.05$)。

2.3 复合益生菌制剂对大西洋鲑消化酶活性的影响

BSCP 对大西洋鲑消化酶活性的影响见表3。大西洋鲑投喂BSCP后，肝脏蛋白酶活性均显著升高($P<0.05$)，肠道蛋白酶活性随添加量而升高，3%组和5%组较对照组提高31%($P<0.05$)。肠道和肝脏脂肪酶活性随添加量的升高呈先升高后降低的趋势，3%组

肠道和肝脏脂肪酶活性最高且显著高于对照组47%和32%($P<0.05$)，而5%组的肝脏脂肪酶活性却显著低于其他各组($P<0.05$)。复合益生菌对大西洋鲑肝脏和肠道中的淀粉酶活性无显著影响($P>0.05$)。

2.4 复合益生菌制剂对大西洋鲑非特异性免疫指标的影响

BSCP 对大西洋鲑非特异性免疫指标的影响见表4。投喂大西洋鲑BSCP 42 d后，血清和肝脏SOD活性随添加量的升高呈先降后升的趋势，3%组最低，较对照组显著降低($P<0.05$)。5%组肝脏ACP显著高于对照组和1%组($P<0.05$)，与3%组无显著差异($P>0.05$)。随着复合益生菌剂量的增加，肝脏溶菌酶和AKP的活性呈先升后降的趋势，且1%和3%组溶菌酶活性显著升高($P<0.05$)。BSCP对大西洋鲑血清溶菌酶、ACP和AKP的活性均无影响($P>0.05$)。

表2 复合益生菌制剂对大西洋鲑饲料表观消化率的影响

Tab.2 Effects of the BSCP on the apparent digestibility coefficient of Atlantic salmon ($n=3$; Mean \pm SE; %)

项目 Items	干物质 Dry-matter	蛋白质 Protein	脂肪 Lipid
	Control group	1% group	3% group
对照组 Control group	69.33 \pm 1.88	87.49 \pm 0.98 ^b	98.10 \pm 0.31 ^a
1%组 1% group	70.59 \pm 1.62	88.20 \pm 3.25 ^{ab}	97.83 \pm 0.20 ^{ab}
3%组 3% group	71.01 \pm 1.51	92.29 \pm 2.70 ^{ab}	97.93 \pm 0.21 ^{ab}
5%组 5% group	72.16 \pm 1.20	94.07 \pm 2.28 ^a	97.67 \pm 0.08 ^b

表3 复合益生菌制剂对大西洋鲑消化酶活性的影响

Tab.3 Effects of the BSCP on the digestive enzyme activities of Atlantic salmon ($n=3$; Mean \pm SE; U/mg prot)

项目 Items	对照组 Control group	1%组 1% group	3%组 3% group	5%组 5% group
	肠道			
淀粉酶 Amylase	0.31 \pm 0.04	0.27 \pm 0.06	0.35 \pm 0.05	0.29 \pm 0.08
脂肪酶 Lipase	42.30 \pm 2.86 ^b	54.13 \pm 7.79 ^{ab}	70.21 \pm 1.20 ^a	43.93 \pm 9.42 ^b
蛋白酶 Protease	101.27 \pm 13.37 ^b	107.74 \pm 12.22 ^b	130.27 \pm 12.52 ^a	134.52 \pm 9.25 ^a
肝脏				
淀粉酶 Amylase	0.42 \pm 0.08	0.42 \pm 0.08	0.47 \pm 0.12	0.45 \pm 0.14
脂肪酶 Lipase	30.94 \pm 4.13 ^b	35.56 \pm 3.07 ^{ab}	41.03 \pm 3.84 ^a	23.63 \pm 2.35 ^c
蛋白酶 Protease	20.25 \pm 4.26 ^b	32.55 \pm 3.50 ^a	33.12 \pm 5.93 ^a	36.07 \pm 5.45 ^a

3 讨论

不同种类的益生菌所具有的生理特性不同,其在体内发挥的主要作用也有所差异(Oelschlaeger, 2010)。芽孢杆菌具有稳定性好、抗逆性强、存活率高等特点(李海兵等, 2008),在极端环境下可以形成孢子。本研究中,复合发酵菌液中的活性芽孢杆菌喷洒到饲料表面以后,由于环境不适,会以孢子形式进入鱼体消化道,在肠道迅速萌发成营养型菌体(周小辉等, 2009),进而发挥其所具有的多种作用。酵母菌由于其结构的特殊性,具有较好稳定性,能耐受高酸环境,进入肠道后可以合成多种维生素和消化酶(李海兵等, 2008; 楚杰等, 2006),且本身含有多种益生因子,是良好的功能性营养型饲料添加剂,芽孢杆菌和酵母菌复合投喂的效果明显优于单一菌种。

表 4 复合益生菌制剂对大西洋鲑非特异性免疫指标的影响

Tab.4 Effects of the BSCP on the nonspecific immune indices of Atlantic salmon ($n=3$; Mean \pm SE)

项目 Items		对照组 Control group	1%组 1% group	3%组 3% group	5%组 5% group
血清 Serum (U/ml)	溶菌酶 Lysozyme	16.51 \pm 3.46	14.46 \pm 1.15	15.88 \pm 1.66	14.29 \pm 1.12
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	5.63 \pm 0.54	6.17 \pm 0.54	5.70 \pm 0.33	6.12 \pm 0.40
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	21.31 \pm 4.10	20.75 \pm 2.77	22.08 \pm 3.05	20.48 \pm 1.64
	超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	85.12 \pm 5.86 ^a	78.84 \pm 6.97 ^{ab}	71.42 \pm 5.34 ^b	79.32 \pm 5.47 ^{ab}
肝脏 Liver (U/mg prot)	溶菌酶 Lysozyme	14.72 \pm 1.82 ^b	20.54 \pm 1.18 ^a	20.48 \pm 3.47 ^a	17.47 \pm 1.43 ^{ab}
	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	140.28 \pm 8.20 ^b	139.02 \pm 15.67 ^b	161.53 \pm 13.25 ^{ab}	165.46 \pm 12.60 ^a
	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	27.85 \pm 3.55	31.90 \pm 2.85	32.46 \pm 2.40	28.39 \pm 4.35
	超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase	92.57 \pm 14.56 ^a	93.03 \pm 8.38 ^a	71.99 \pm 3.95 ^b	82.07 \pm 6.74 ^{ab}

3.2 复合益生菌对消化酶活性的影响

益生菌的促生长机理包含多个方面,其中一个非常重要的方面是其本身能够分泌多种消化酶,并能够通过促进肠道中其他益生菌的繁殖间接促进消化酶的分泌,增强营养物质的消化吸收(李文华等, 2013; 李桂英等, 2013),从而使大西洋鲑肠道中蛋白酶和脂肪酶的活性明显升高,尤其是益生菌制剂添加水平达到 3%以上的组。益生菌分泌的消化酶使鱼体对摄入饲料的消化吸收加快,促进肠道食糜排空,使大西洋鲑的摄食率提高。鱼体为了适应摄食量的增加对消化机能进行适应性改变,促使肝脏中消化酶的合成水平适应性升高(Stumpf *et al.*, 2014),因此,投喂 BSCP 后大西洋鲑肝脏中的蛋白酶活性显著升高。这使其对肠道内蛋白质的消化吸收更加充分,饲料干物质和蛋白质的表观消化率提高,饲料系数降低。

值得注意的是,投喂 5%水平 BSCP 的大西洋鲑

3.1 益生菌对水产动物的促生长作用

投喂益生菌可以促进养殖动物的生长性能已得到广泛证实。芽孢杆菌单独或配合多糖使用能够明显促进鲟鱼(*Acipenser baeri*) (刘晓勇等, 2011; 高欣等, 2009)、鲫鱼(*Carassius auratus*) (刘波等, 2006)、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*) (李丽鹃等, 2013)和罗非鱼(*Oreochromis niloticus*) (付天玺等, 2008)等多种鱼类的生长,活性酵母菌或其干粉对重口裂腹鱼(*Schizothorax davidi*) (何敏等, 2008)、罗非鱼(Abu-Elala *et al.*, 2013)和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*) (陈昌福等, 2005)等的生长也具有类似的促进作用。本研究中,大西洋鲑投喂芽孢杆菌和酵母菌的复合发酵液后,生长性能得到显著升高,摄食率明显升高,饵料系数降低,与上述研究的结果相似。

肝脏脂肪酶活性略有降低,其对脂肪的消化率也显著降低,这种现象可能是由于投喂的益生菌促进了肠道内乳酸杆菌的增殖(刘波等, 2006)。在对哺乳动物的研究中,发现乳酸菌具有降低脂肪吸收的作用,其作用机理是乳酸菌能够抑制胰脂肪酶的活性(Matsumura, 2010),这可能在某种机理上影响了鱼体肝胰脏脂肪代谢相关酶的基因表达(Qiao *et al.*, 2015),进而影响了肝脏脂肪酶的活性,但具体的作用机理尚需进一步研究。这种现象表明,对鱼体投喂不适剂量的益生菌可能对某些生理功能产生不利影响。

3.3 复合益生菌制剂对非特异性免疫指标的影响

芽孢杆菌和酵母菌含有的抗原类物质具有诱导刺激动物机体先天性免疫的作用,能够增强机体的抗病菌感染能力(刘宗英等, 2005; Selim *et al.*, 2015)。本研究中投喂益生菌后大西洋鲑肝脏溶菌酶和 ACP 活性升高,这表明肝脏中巨噬细胞的分泌和吞噬活

性增强。

机体内 SOD 的活性变化与超氧阴离子自由基水平有关,后者主要来源于吞噬细胞清除细菌时呼吸爆发产生(邢宇坤等,2004),因此,在正常生理条件下,SOD 的活性变化与侵染宿主的病原菌数量有一定的关系。本研究中,投喂 3%的复合益生菌制剂后大西洋鲑 SOD 活性显著降低,这与 Tovar-Ramírez 等(2010)研究中饲喂黑鲈(*Dicentrarchus labrax*)活性酵母菌后 SOD 活性及其表达量降低的结果一致。其具体机理可能是益生菌具有抑制肠道有害菌的作用,投喂芽孢杆菌和酵母菌提高了肠道内有益菌的数量(刘波等,2006;何敏等,2008),使肠道中有害菌的数量及其感染机会减小,鱼体呼吸爆发的频率降低,SOD 活性伴随超氧阴离子水平的降低而降低。在对同一实验的菌群结构研究中发现,大西洋鲑肠道中芽孢杆菌和乳酸菌的比例增加,而弧菌的比例有所降低,表明了以上论述的可能性。然而,添加 5%水平的复合益生菌制剂后 SOD 活性有所升高,其原因可能是过量投喂益生菌扰乱了肠道微生态平衡。

本研究与众多学者研究结果不同的是,投喂益生菌后大西洋鲑血清中大部分非特异性免疫指标均无明显变化,推测可能与养殖环境和鱼体生理状态有关。血清免疫指标代表整个机体在某一条件下所处的免疫状态,其在无应激状态下一般处于正常水平,而在受到较严重的刺激后可表现出波动性的变化。本研究中,大西洋鲑所处养殖条件较佳,应激因子极少,这可能是造成其血清免疫指标无明显差异的原因。而在后续的杀鲑气单胞菌攻毒实验 24 h 后,血清各项非特异性免疫指标均有所上升,与上述规律相符。

4 结 论

综上所述,饲料中添加芽孢杆菌和酵母菌的复合益生菌制剂可以提高大西洋鲑某些消化酶和肝脏非特异性免疫酶的活性,进而可以显著促进大西洋鲑的生长,提高饲料蛋白质的消化率,但 5%的添加水平不利于大西洋鲑对饲料脂肪的消化吸收。因此,在本实验条件下,复合益生菌制剂的适宜添加水平为 3%。

参 考 文 献

Abu-Elala N, Marzouk M, Moustafa M. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. *International Journal of Veterinary Sciences and Medicine*, 2013, 1(1): 21–29

- Chen CF, Yao J, Xiao ZM, *et al.* Effects of high active dry yeast on the growth and disease resistance of Chinese cashmere crab. *Journal of Yangtze University (Natural Science Edition)*, 2005, 2(5): 24–26 [陈昌福,姚娟,肖志猛,等.高活性干酵母对中华绒螯蟹生长和抗病力的影响.长江大学学报(自然科学版),2005,2(5):24–26]
- Chu J, Wang FS, Zhang DW. Research progress of biological function and disease prevention of *Saccharomyces boulardii*. *Chinese Journal of Pharmaceutical Biotechnology*, 2006, 13(1): 71–73 [楚杰,王凤山,张大伟.布拉酵母菌的生物学作用及防治疾病应用研究进展.药物生物技术,2006,13(1):71–73]
- Fu TX, Xu GH, Wu YC, *et al.* Effects of *Bacillus coagulans* on digestive enzyme activities, digestibility and growth performance of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Freshwater Fisheries*, 2008, 38(4): 30–35 [付天玺,许国焕,吴月嫦,等.凝结芽孢杆菌对奥尼罗非鱼消化酶活性、消化率及生长性能的影响.淡水渔业,2008,38(4):30–35]
- Gao X, Gai LQ, Li MY, *et al.* Effects of *Bacillus* spp. on the growth performance and digestibility of juvenile *Acipenser baeri*. *Journal of Hebei Normal University(Natural Science Edition)*, 2009, 33(3): 377–382 [高欣,盖力强,李美英,等.芽孢杆菌对西伯利亚鲟幼鱼摄食生长和消化率的影响.河北师范大学学报(自然科学版),2009,33(3):377–382]
- He M, Wang KY, Zhang Y, *et al.* Effects of compound microbiological preparation on growth, activities of digestive enzymes, intestinal microflora of *Schizothorax (Racoma) davidi* (*Sauvage*) and water quality parameters. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2008, 20(5): 534–539 [何敏,汪开毓,张宇,等.复合微生物制剂对重口裂腹鱼生长、消化酶活性、肠道菌群及水质指标的影响.动物营养学报,2008,20(5):534–539]
- Li GY, Sun Y, Song XL, *et al.* Potential probiotics supplement may impact intestinal digestive enzyme and bacteria composition of *Litopenaeus vannamei*. *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(4): 84–90 [李桂英,孙艳,宋晓玲,等.饲料中添加潜在益生菌对凡纳滨对虾肠道消化酶活性和菌群组成的影响.渔业科学进展,2013,34(4):84–90]
- Li HB, Song XL, Li Y, *et al.* Progress on probiotic bacteria in aquaculture. *Marine Fisheries Research*, 2008, 29(5): 94–99 [李海兵,宋晓玲,李赞,等.水产动物益生菌研究进展.海洋水产研究,2008,29(5):94–99]
- Li LJ, Gong Q, Quan KY, *et al.* Effects of dietary chitosan and probiotics on growth and non-specific immunity of *Pelteobagrus fulvidraco*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2013, 41(34): 13264–13266 [李丽鹃,龚全,权可艳,等.壳聚糖和益生菌对黄颡鱼生长性能及非特异性免疫机能的影.安徽农业科学,2013,41(34):13264–13266]
- Li WH, Liu JH. The biological function and application in

- aquaculture of *Bacillus*. *Feed and Husbandry: New Feed*, 2013(12): 11–14 [李文华, 刘建华. 饲用芽孢杆菌的生物学功能及其在水产养殖中的应用. *饲料与畜牧: 新饲料*, 2013(12): 11–14]
- Liu B, Xie J, Liu WB, *et al.* Effects of *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharides on digestive enzyme activities, growth and microflora in intestine in allogenyetic crucian carp. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(4): 336–340 [刘波, 谢骏, 刘文斌, 等. 地衣芽孢杆菌与低聚木糖对异育银鲫消化酶活性、肠道菌群及生长的影响. *大连水产学院学报*, 2006, 21(4): 336–340]
- Liu XY, Zhang Y, Qi Y, *et al.* Effects of *Bacillus subtilis* on growth, digestive enzyme activity, and non-specific immunity in hybrid sturgeon (*Acipenser baeri* ♂×*Acipenser schrenkii* ♀) juveniles. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(6): 1315–1320 [刘晓勇, 张颖, 齐茜, 等. 枯草芽孢杆菌对杂交鲟幼鱼生长性能、消化酶活性及非特异性免疫的影响. *中国水产科学*, 2011, 18(6): 1315–1320]
- Liu ZY, Yao J, Chen CF, *et al.* Effect of activity yeast cell on non-specific immune function and disease resistance in juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*) by oral administration. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2005, 24(2): 192–196 [刘宗英, 姚鹏, 陈昌福, 等. 高活性干酵母对中华鳖非特异性免疫功能和抗病力的影响. *华中农业大学学报*, 2005, 24(2): 192–196]
- Matsumura A. Inhibitory effects of probiotics on pancreatic lipase. *BIFIDUS—Flores, Fructus et Semina*, 2010, 24(4): 287–292
- Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions—A review. *International Journal of Medical Microbiology*, 2010, 300(1): 57–62
- Qiao Y, Sun J, Xia S, *et al.* Effects of different *Lactobacillus reuteri* on inflammatory and fat storage in high-fat diet-induced obesity mice model. *Journal of Functional Foods*, 2015, 14: 424–434
- Selim KM, Reda RM. Improvement of immunity and disease resistance in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, by dietary supplementation with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 44(2): 496–503
- Stumpf L, Tropea C, Greco LSL. Recovery growth of *Cherax quadricarinatus* juveniles fed on two high-protein diets: Effect of daily feeding following a cyclic feeding period on growth, biochemical composition and activity of digestive enzymes. *Aquaculture*, 2014, 433(1): 404–410
- Tovar-Ramírez D, Mazuraisa D, Gatesoupea JF, *et al.* Dietary probiotic live yeast modulates antioxidant enzyme activities and gene expression of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 2010, 300(1–4): 142–147
- Vandenberg GW, Noüe JDL. Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of feces collection and three digestibility markers. *Aquaculture Nutrition*, 2008, 7(4): 237–245
- Xing YK, Zhang W. Mechanisms of neutrophil respiratory burst and its inflammatory effects. *Basic Medical Sciences and Clinics*, 2004, 24(1): 1–6 [邢宇坤, 张伟. 中性粒细胞呼吸爆发的产生机制及其炎症效应. *基础医学与临床*, 2004, 24(1): 1–6]
- Xu P, Dong XF, Tong JM. Microbial feed additives: Major functions and its research advances. *Acta Zoonutrientia Sinica*, 2012, 24(8): 1397–1403 [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. *动物营养学报*, 2012, 24(8): 1397–1403]
- Zhang Y, Li QF, Wang YG, *et al.* Research status and application of probiotics to mariculture. *Marine Fisheries Research*, 2005, 26(6): 83–87 [张艳, 李秋芳, 王印庚, 等. 益生菌的研究现状及其在海水养殖中的应用. *海洋水产研究*, 2005, 26(6): 83–87]
- Zhao JC, Zhou B. Comparison of the action mechanism between lactic acid bacteria and *Bacillus*. *Feed and Husbandry: New Feed*, 2010(10): 39–41 [赵剑闯, 周勃. 乳酸菌与芽孢杆菌对机体作用机制的比较. *饲料与畜牧: 新饲料*, 2010(10): 39–41]
- Zhou XH, Li B. Study on the mechanism and application of *Bacillus subtilis*. *Feed Research*, 2009(10): 26–28 [周小辉, 李彪. 枯草芽孢杆菌的机制及应用研究. *饲料研究*, 2009(10): 26–28]

(编辑 冯小花)

Effects of Complex-Probiotic-Preparation on the Growth, Digestive Enzymes and the Nonspecific Immune Indices of Atlantic Salmon (*Salmo salar*)

LIU Shulan¹①, CHEN Juan¹, LI Jie¹, LIU Hao¹, HU Jiaping¹, ZHANG Lili¹,
HAN Houwei¹, SUN Guoxiang², WANG Chun²

(1. Shandong Oriental Ocean Sci-Tech Co., Ltd, Yantai 264003;

2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Abstract The probiotic has various beneficial effects on fish such as improvements in nutrition, immunity and balance of intestinal micro-ecology. The combination of multiple probiotics is thought to be even more beneficial than single probiotic. *Lactobacillus*, *Bacillus* and yeast are the most widely used probiotic species in aquaculture. The effects of lactobacillus combined with bacillus have been extensively studied, whereas little is known about the combined effects of bacillus and yeast. In this study we investigated the effects of the compound preparation fermented by bacillus and yeast on the growth performance, digestive enzyme activities and the nonspecific immune indices of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Four hundred and twenty Atlantic salmons with an average body weight of (180 ± 28) g were randomly designated into 4 groups including one control group and three test groups. In each group there were 3 replicates of 35 fish. The control group was fed with the basal diet and test groups were fed with basal diet complemented with 1%, 3% or 5% complex-probiotic-preparation (BSCP) for 42 days. Compared to the control group, there was a higher weight gain and a lower feed conversion ratio and mortality ($P < 0.05$) in the test groups. The digestibility of protein rose along with the increase of BSCP. In the 5% group, there was a difference in protein digestibility ($P < 0.05$) and a reduction in lipid digestibility ($P < 0.05$). BSCP up-regulated the digestive enzyme activities in varied degrees, except that it down-regulated the liver lipase activity in the 5% group ($P < 0.05$). The liver immune indices were improved in test groups, however in the serum, BSCP induced little change except for the decrease of SOD activity in the 3% and 5% groups ($P < 0.05$). The results indicated that the BSCP could improve the growth performance of Atlantic salmon, enhance the activities of some digestive enzymes and protein digestibility, and promote the nonspecific immunity to some extent. The optimal dietary level of BSCP was determined to be 3%.

Key words Probiotic; *Salmo salar*; Growth; Digestive enzyme; Nonspecific immune indices

① Corresponding author: LIU Shulan, E-mail: liujj2007101@126.com