



# 益生菌作为健康调节剂 在水产养殖中的研究进展

孙冬岩 孙笑非 王文娟

(北京都润科技有限公司, 北京 100081)

**摘要:** 益生菌被认为是新型的功能性产品, 对水生动物的肠道菌群具有潜在的影响。益生菌在宿主体内可以调节肠道菌群、增强免疫力、减少疾病和压力、改善营养状况, 还可以调节水质。益生菌的益生作用有助于提高动物生产性能, 改善饲料营养价值。益生菌应用在水产养殖中可降低疾病风险和提高了生产率。

**关键词:** 益生菌; 水产养殖; 肠道菌群

**中图分类号:** S 816.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2813 (2021) 06-0129-03

**Doi:** 10.13557/j.cnki.issn1002-2813.2021.06.031

水产品是我国发展最快的食品产业之一<sup>[1]</sup>。水生动物与其外部环境关系密切。高饲养密度、水体污染以及不科学的饲养会增加细菌、真菌和病毒性疾病的风险<sup>[2]</sup>。抗生素作为常见的疾病预防药物应用于水产养殖, 主要针对病原体(气单胞菌、大肠杆菌、慢肠弧菌、副溶血性弧菌、霍乱弧菌等)的进化和传播<sup>[3]</sup>。水产养殖中广泛使用抗生素和广谱化学药品会杀死大多数有益菌及病原菌, 影响水生生物的生长, 甚至导致死亡。将益生菌与膳食补充剂配伍使用, 通过多种机制抑制致病菌是有效的产品开发策略和抗生素治疗的替代选择<sup>[4]</sup>。益生菌通过调节微生物群落结构在维持肠道健康中起至关重要的作用。在水产养殖中, 微生物可独立于宿主动物繁殖以应对疾病。此外, 益生菌通过水产养殖系统中的不同机制消除有机废物和污染物。益生菌可提供更好的非特异性疾病防护, 改善水体环境<sup>[5]</sup>。文章综述益生菌在水产养殖领域复杂微生物群落中的功效和作用机理的研究进展, 为益生菌制剂的开发与应用提供参考。

## 1 益生菌与肠道微生物群落的关系

水生动物肠道为体内微生物提供生存空间、作用位点及营养, 营造对微生物群落有利的环境。平衡的微生物群落可以维持肠道健康<sup>[6]</sup>。疾病发生时, 肠道中的天然微生物群落会被破坏导致一系列健康问题<sup>[7]</sup>。补充益生菌恢复肠道正常的微生物群落是改善鱼类健康的有效方法。然而, 不同品种鱼体内的益生菌差异很大。微球菌属、肠球菌属、细菌杆菌属、希瓦氏菌属、乳酸菌和假单胞菌属很难在鱼类的肠道中成为优势菌群<sup>[8]</sup>。希瓦氏菌、芽孢杆菌和产碱杆菌对吉罗鱼有益生作用, 能够有效改善微生物组

成, 有利于微生态平衡<sup>[9]</sup>。

益生菌可显著诱导肠道菌群产生多种代谢产物——挥发性短链脂肪酸, 在维持鱼类肠道健康中起重要作用<sup>[10]</sup>。肠道菌群的益生调节作用不局限于水产动物的日龄和成熟度, 益生菌对各生长阶段的动物均具有益生效果。给虹鳟鱼补充益生菌能够有效增加鱼体内有益芽孢杆菌的比例; 枯草芽孢杆菌可定植在肠道上皮表面, 增强免疫力, 降低氧化应激, 增加血清溶菌酶浓度, 增强特殊细胞的吞噬活性, 针对气单胞菌的致病性为机体提供保护作用<sup>[11]</sup>。在黑花鲈、月光鱼、孔雀鱼和剑尾鱼日粮中添加枯草芽孢杆菌, 肠黏膜表面的枯草芽孢杆菌数量显著增加<sup>[12]</sup>。日粮中添加红球菌和枯草芽孢杆菌, 罗非鱼肠道菌群发生显著变化, 各自比重均增加<sup>[13]</sup>。变形菌门细菌是参与鱼类中有机化合物的矿化和养分循环过程的重要成员<sup>[14]</sup>。

乳酸杆菌具有很高的定植特性, 可以在肠道上皮表面保留更长的时间。益生菌及其他环境因素共同在抗体产生、应力释放和抗性定植方面对肠道微生物群调节有很大影响<sup>[15]</sup>。益生菌对肠道黏膜表面的微生物操纵特性取决于多种外部环境(水质、温度和pH值等)和内部因素(鱼的生长阶段、益生菌的结合强度、添加益生菌的持续时间等)。任何因素的改变均会影响益生菌的使用效率。

## 2 益生菌与黏膜免疫的关系

鱼类具有良好的黏膜免疫功能。对鱼类黏膜免疫的研究主要集中在硬骨鱼类中。硬骨鱼的黏膜相关淋巴组织可分为3类: 皮肤相关淋巴组织、肠相关淋巴组织和鳃相关淋巴组织。姜红焯等<sup>[16]</sup>发现, 鱼类具有鼻咽相关淋巴组织。鱼的黏膜分泌物中含有多种抗菌肽, 可抑制病原体<sup>[17]</sup>。皮肤黏液层直接与水接触, 是鱼类的第一道防御屏障。在淋巴组织中, 肠相关淋巴组织最重要。鱼类缺少派尔集合淋巴结。但是, 肠相关淋巴组织包含其他重要成分, 如浆细胞、巨噬细胞、淋巴细胞等是机体防御所必需

第一作者: 孙冬岩, 硕士, 助理研究员, 研究方向为微生物饲料添加剂。

收稿日期: 2021-03-22

的细胞。益生菌通过增加与细胞介导的黏膜防御有关的粒细胞和淋巴细胞的数量(10%~30%)来调节鱼的黏膜免疫力。Picchiatti等<sup>[19]</sup>研究鲷鱼肠相关淋巴组织,发现口服益生菌菌株(植物乳杆菌和果酸乳杆菌)的混合物可提高鲷鱼肠相关淋巴组织抗体和粒细胞的产量。通常鱼类的浆细胞产生3种类型的抗体,即IgM、IgD和IgZ。IgT、IgZ与鱼的肠黏膜免疫力有关。IgM是负责抵抗入侵病原体的一般免疫球蛋白,在补充益生菌的鱼肠黏液中该抗体的水平升高。益生菌的使用还增加幼鱼肠道固有层中产生IgM的B细胞数量<sup>[19]</sup>。

蜡状芽孢杆菌可通过增加绒毛高度(14.5%)、绒毛面积(28.6%)、绒毛重量及增强白细胞浸润和杯状细胞数量对肠道产生显著的改善作用<sup>[9]</sup>。目前,在鱼类黏膜免疫力的研究中,免疫接种是一种有效的抗病方法,但在水产养殖领域仍有局限性<sup>[20]</sup>。对鱼进行疫苗接种以增强肠道黏膜免疫力比全身免疫力更有效。益生菌在抵抗多种病原体方面已体现出较好的效果,而使用黏膜疫苗能够延长保护期,是提高鱼免疫力的首选方法<sup>[21]</sup>。

### 3 益生菌在水产养殖中的作用

益生菌可以通过降低水产动物死亡率改善水生环境质量,或通过提高宿主对病原体的抵抗力产生有益效果<sup>[22]</sup>。

#### 3.1 维持水质

益生菌参与水产养殖中有机养分的转化,有助于改善水质。有机质富集和含氮废物(包括铵和氨)是水产养殖中的常见问题。目前,采用益生菌维持池塘中NH<sub>3</sub>、NO<sub>2</sub>、NO<sub>3</sub>平衡的研究不多。将不同的光合细菌、芽孢杆菌、硝化剂和反硝化剂结合在一起的配伍使用较为流行。益生菌能够将有机物转化为二氧化碳。建议在池塘(养殖水体)中保持较高的益生菌水平,以减少有机碳负荷,改善水质和鱼类健康<sup>[23]</sup>。

#### 3.2 改善生长与存活率

益生菌可以有效促进不同品种鱼类的生长性能。在印尼须鲷饲料中添加粪肠球菌(10<sup>7</sup>~10<sup>9</sup> CFU/g)可以显著增加其体重<sup>[3]</sup>。鱼类养殖过程中,持续添加益生菌可以增强多种免疫因子的表达从而维持健康,还可以通过占据物理空间减少肠道黏液层的病原体负荷<sup>[2]</sup>。益生菌在宿主营养的增强中也起着至关重要的作用。Hamdan等<sup>[24]</sup>报道,饲喂乳酸杆菌属益生菌菌株的尼罗罗非鱼体重增加,体内粗脂肪和总蛋白含量显著增加。喂食含有枯草芽孢杆菌和链霉菌属菌的益生菌制剂的黑磷虾、黄磷虾和孔雀鱼生长性能和成活率均有所提高<sup>[25]</sup>。

#### 3.3 改善养分利用率

益生菌对水生动物胃肠道健康的改善体现在营养物质的消化和能量的产生两个方面。宿主中益生菌可以改变肠道相关微生物群落,提高肠道内消化酶(包括蛋白酶、淀粉酶、纤维素酶、植酸酶等)水平<sup>[2,26]</sup>。在白虾和双壳类动物中,很少有细菌可以有效激活蛋白酶、脂肪酶、淀粉

酶和纤维素酶参与消化过程。短乳杆菌和枯草芽孢杆菌在肠道内能够产生更多的植酸酶(肌醇六磷酸),提高对植酸的利用。假单胞菌属、短杆菌属、微细菌属、农杆菌属和葡萄球菌属微生物对北极红点鲑的营养和代谢生理过程有正向效果<sup>[27]</sup>。李军亮等<sup>[28]</sup>研究表明,低鱼粉凡纳滨对虾饲料中补充枯草芽孢杆菌可有效改善虾对蛋白质的利用率,降低饲料系数,提高生长性能。不同的益生菌菌株通过调控宿主肠道微生物数量而发挥重要作用,尤其是通过合成脂肪酸、矿物质、维生素和必需氨基酸来发挥作用。

#### 3.4 抑菌作用

与病菌竞争宿主肠道黏膜层附着位点可能是防止病原体定植的一种机制。细菌在黏液和上皮表面的黏附能力在鱼类肠道的形成过程中必不可少。微生物在体组织表面的黏附对于致病性感染的初始阶段很重要,与病原体竞争性黏附可能是益生菌首先发挥的作用。益生微生物具有黏液结合蛋白,有助于加速黏附过程。益生菌产生的多种化学物质对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均具有杀灭或抑制作用。这些抑制物质来源不同,包括蛋白质物质(溶菌酶和不同种类的蛋白酶)、化学物质(过氧化氢)和铁螯合化合物(如铁盐)。乳酸菌产生的细菌素可通过影响化学或能量竞争来改变种群之间的关系。抑菌物质可以有效抑制病原体的增殖,从而减少病原体负荷<sup>[29]</sup>。

#### 3.5 增强免疫系统

益生菌可以作为免疫刺激剂发挥益生作用。将益生菌用作免疫增强剂是提高水产养殖成功率的实用方法<sup>[30]</sup>。益生菌可增强鲤鱼物种的免疫反应和抗病性,减少畸形。可能的机制是细胞免疫和体液免疫反应。当以维罗那氏气单胞菌、缓慢弧菌和富集黄杆菌的饲料喂养鱼时,白介素1b(IL-1b),肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )和溶菌酶-C的表达增加<sup>[31]</sup>。有些鱼类的髓过氧化物酶、溶菌酶、补体C3,白蛋白和免疫球蛋白水平、呼吸爆发活性和血白细胞的吞噬活性由于益生菌的补充而得到改善<sup>[32-33]</sup>。采用益生菌(含量为10 CFU/g日粮)持续补充14 d,将微生物相关分子模式与免疫原性细胞(如树突状细胞、巨噬细胞)上的病原体模式识别受体结合而起到免疫调节剂的作用。细胞内信号传导级联,导致活化的T细胞释放特定的细胞因子和白介素,发挥抗病毒、促炎或抗炎作用。但是,暂不清楚益生菌制剂对免疫学参数表达的具体作用<sup>[34]</sup>。

### 4 展望

益生菌虽然可以从多方面体现出对水产动物的益生效果,但是仍然存在一定的局限性。筛选目的菌株过程中,菌株针对病原菌所产生的抗菌化合物或细菌素很少具有物种特异性,从而影响菌株的使用效率。因此,有益菌株改良对于提高益生菌的效率是非常必要的。运用分子生物学技术,如重组技术、诱变等,改善目的菌株的遗传组成是一个有效手段。

## 参考文献

- [1] 联合国粮食及农业组织. 2020年世界渔业和水产养殖状况[R]. 联合国粮食及农业组织, 2020.
- [2] Banerjee G, Nandi A, Ray A K. Assessment of hemolytic activity, enzyme production and bacteriocin characterization of *Bacillus subtilis* LR1 isolated from the gastrointestinal tract of fish[J]. Archives of Microbiology, 2017,199(1): 115–124.
- [3] Allameh S K, Yusoff F M, Ringø E, et al. Effects of dietary mono- and multiprobiotic strains on growth performance, gut bacteria and body composition of Japanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850) [J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(2): 367–373.
- [4] Bandyopadhyay P, Mishra S, Sarkar B, et al. Dietary *Saccharomyces cerevisiae* boosts growth and immunity of IMC *Labeo rohita* (Ham.) juveniles[J]. Indian Journal of Microbiology, 2015, 55(1): 81–87.
- [5] Nandi A, Banerjee G, Dan S K, et al. Evaluation of *in vivo* probiotic efficiency of *Bacillus amyloliquefaciens* in *Labeo rohita* challenged by pathogenic strain of *Aeromonas hydrophila* MTCC 1739[J]. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2018, 10(2): 391–398.
- [6] Giatsis C, Sipkema D, Ramiro-Garcia J, et al. Probiotic legacy effects on gut microbial assembly in tilapia larvae[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 33965.
- [7] Egerton S, Culloty S, Whooley J, et al. The gut microbiota of marine fish [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 873.
- [8] Lobo C, Moreno-Ventas X, Tapia-Paniagua S, et al. Dietary probiotic supplementation (*Shewanella putrefaciens* Pdp11) modulates gut microbiota and promotes growth and condition in Senegalese sole larviculture[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2014, 40(1): 295–309.
- [9] Asaduzzaman M, Peiihata S, Akter S, et al. Effects of host gut-derived probiotic bacteria on gut morphology, microbiota composition and volatile short chain fatty acids production of Malaysian Mahseer *Tor tambroides*[J]. Aquaculture Reports, 2018, 9: 53–61.
- [10] Allameh S K, Ringø E, Yusoff F M, et al. Dietary supplementation of *Enterococcus faecalis* on digestive enzyme activities, short chain fatty acid production, immune system response and disease resistance of Javanese carp (*Puntius gonionotus* Bleeker 1850) [J]. Aquaculture Nutrition, 2017, 23(2): 331–338.
- [11] Newaj-Fyzul A, Adesiyunz A A, Mutani A, et al. *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)[J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 103(5): 1699–1706.
- [12] Ghosh A, Sinha A, Sahu C. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes[J]. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(4): 289–299.
- [13] Martínez Kathia C, María del Carmen M D, Aida H P, et al. Effect of two probiotics on bacterial community composition from biofloc system and their impact on survival and growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 2018, 6(2): 525–533.
- [14] Cardona E, Gueguen Y, Magré K, et al. Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system [J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1): 157.
- [15] Kelly C, Salinas I. Under pressure: Interactions between commensal microbiota and the teleost immune system[J]. Frontiers in Immunology, 2017, 8: 559.
- [16] 姜红桦, 黄艳, 余新炳. 鱼的黏膜免疫研究进展[J]. 热带医学杂志, 2015, 15 (8): 1150–1153.
- [17] Fuochi V, Volti G L, Camiolo G, et al. Antimicrobial and anti-proliferative effects of skin mucus derived from *Dasyatis pastinaca* (Linnaeus, 1758)[J]. Marine Drugs, 2017, 15: 342.
- [18] Picchietti S, Mazzini M, Taddei A R, et al. Effects of administration of probiotic strains on GALT of larval gilthead seabream: Immunohistochemical and ultrastructural studies[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2007, 22(1/2): 57–67.
- [19] Salinas I, Zhang Y A, Oriol Sunyer J. Mucosal immunoglobulins and B cells of teleost fish[J]. Developmental and Comparative Immunology, 2011,35(12): 1346–1365.
- [20] Liu S, Du Y, Sheng X, et al. Molecular cloning of polymeric immunoglobulin receptor-like (pIgRL) in flounder (*Paralichthys olivaceus*) and its expression in response to immunization with inactivated *Vibrio anguillarum*[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2019, 87: 524–533.
- [21] Munang'andu H M, Mutoloki S, Evensen Ø. An overview of challenges limiting the design of protective mucosal vaccines for finfish[J]. Frontiers in Immunology, 2015, 6: 542.
- [22] 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]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [23] Wang Y M, Wang Y G. Advance in the mechanisms and application of microecologies in aquaculture[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2008, 29: 72–75.
- [24] Hamdan A M, El-Sayed A F, Mahmoud M M. Effects of a novel marine probiotic, *Lactobacillus plantarum* AH 78, on growth performance and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 120(4): 1061–1073.
- [25] Tan L T, Chan K G, Lee L H, et al. *Streptomyces* bacteria as potential probiotics in aquaculture[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 79.
- [26] Ghosh K, Banerjee S, Moon U M, et al. Evaluation of gut associated extracellular enzyme-producing and pathogen inhibitory microbial community as potential probiotics in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. International Journal of Aquaculture, 2017, 7(23): 143–158.
- [27] Priyodip P, Prakash P Y, Balaji S. Phytases of probiotic bacteria: Characteristics and beneficial aspects[J]. Indian Journal of Microbiology, 2017, 57(2): 148–154.
- [28] 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.
- [29] Ringø E, Hoseinifar S H, Ghosh K, et al. Lactic acid bacteria in finfish—an update[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 1818.
- [30] Dawood M A O, Koshio S. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: A review[J]. Aquaculture, 2016,454: 243–251.
- [31] Wu Z Q, Jiang C, Ling F, et al. Effects of dietary supplementation of intestinal autochthonous bacteria on the innate immunity and disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Aquaculture, 2015, 438: 105–114.
- [32] Chi C, Jiang B, Yu X B, et al. Effects of three strains of intestinal autochthonous bacteria and their extracellular products on the immune response and disease resistance of common carp, *Cyprinus carpio*[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2014, 36(1): 9–18.
- [33] Giri S S, Sukumaran V, Oviya M. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2013, 34(2): 660–666.
- [34] Akhter N, Wu B, Memon A M, et al. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2015, 45(2): 733–741.