

3 种益生菌配伍对异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 生长、消化及肠道菌群组成的影响*

刘文斌 尹君 方星星 王恬^①

(南京农业大学动物科技学院 南京 210095)

摘要 选用 196 尾 1 龄异育银鲫[体重为 $(30 \pm 2)g$], 随机分成 4 组, 其中, 1 组为对照组, 2、3、4 为试验组, 1 组投喂的为基础饲料, 2、3、4 组投喂的饲料是在基础饲料中分别添加 $100\mu g/g$ 地衣芽孢杆菌、 $100\mu g/g$ 地衣芽孢杆菌与 $100\mu g/g$ 低聚木糖、 $100\mu g/g$ 地衣芽孢杆菌与 $300\mu g/g$ 复合酶制剂, 在室内流水养殖系统中饲养 112 天。研究 3 种益生菌及其配伍对异育银鲫生长、消化及肠道菌群组成等的影响。结果表明, 2、3、4 组异育银鲫的增重率比 1 组(对照)均有提高, 并分别比对照组提高了 23.97%、43.78% 和 18.36% ($P < 0.05$)。试验组的营养物质表观消化率、肠道酶活性及肝胰脏蛋白酶 mRNA 表达量与对照组相比均有提高且差异显著 ($P < 0.05$)。在肠道菌群组成上, 各试验组大肠杆菌数和乳酸杆菌均比对照组少且差异显著 ($P < 0.05$); 而在肠道芽孢杆菌方面, 除芽孢杆菌与酶制剂配伍组外, 其余两试验组对芽孢杆菌均有促生长作用, 芽孢杆菌与寡糖配伍组对芽孢杆菌的促生长作用明显 ($P < 0.05$)。由此可见, 芽孢杆菌、低聚木糖、复合酶制剂及它们的配伍物可以促进异育银鲫的生长, 提高饲料利用率, 促进肠道有益微生物的生长和抑制有害微生物, 并且能提高肝胰脏蛋白酶 mRNA 表达量和肠道酶活性。

关键词 益生菌, 异育银鲫, 生长, 消化, 肠道菌群, 胰蛋白酶 mRNA 表达量

中图分类号 S963

饲料中的药物添加剂容易破坏水产动物肠道的微生态平衡, 降低其营养价值, 经常使用会产生耐药性、残留及水体污染等问题(丁彦文等, 2000; Elisabetta *et al.*, 2002; Eleonor *et al.*, 2002)。研制和开发无毒、无副作用、天然的免疫生长促进剂是水产营养研究的热点。益生菌是有益于动物生长和健康的化学与生物类添加剂总称, 包括活菌制剂、酶制剂、寡糖、多糖等。目前, 单一益生菌在水产动物养殖中应用研究报道较多, Kozasa (1986) 报道益生菌可以提高动物饲料利用率, 刘波等(2005)用地衣芽孢杆菌添加于饲料中饲喂异育银鲫后发现, 芽孢杆菌能提高鱼类对营

养物质的消化率, 从而促进生长。华雪铭等(2001)在饲料中添加芽孢杆菌和硒酵母可提高异育银鲫的生长及抗病力。张宏福等(2001)研究表明, 异麦芽低聚糖会改变早期断奶仔猪肠道菌群。陈代文等(2005)添加益生菌和寡糖于断奶仔猪日粮中能显著提高营养物质消化率, 且益生菌和寡糖对能量、有机物质、干物质消化率存在显著的互作效应。徐勇等(2002)发现低聚木糖对青春双歧杆菌的增殖作用。而芽孢杆菌、寡糖、酶制剂等配伍物对水产动物养殖的协同作用至今报道很少。本研究中作者应用芽孢杆菌、寡糖、酶制剂等 3 种益生菌及相互配伍添加到异育

* 国家 863 项目资助, 2002AA2Z4061 号; 江苏省科技攻关项目资助, PJ2003-39 号。刘文斌, 博士, 副教授, E-mail: wbliu@njau.edu.cn

① 通讯作者: 王恬, 教授, 博导, E-mail: tianwang@njau.edu.cn

收稿日期: 2005-10-14, 收修改稿日期: 2005-12-12

银鲫饲料中,探讨它们对鱼类的生长、免疫、肠道内菌群和内源酶活性及其表达量的影响和协同作用,为益生菌在水产动物养殖中科学应用和开发环保型饲料提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验鱼种及益生菌

试验鱼选用异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)1龄鱼种,体重为(30±2)g,购于南京市水产良种场。地衣芽孢杆菌制剂,每克产品含 2×10^{10} 个芽孢菌数,由美国雅来大药厂提供。低聚木糖产品,由江苏康维生物有限公司提供,含量为35%。复合酶制剂(八宝威),含有蛋白酶、淀粉酶等八种以上微生物酶,由美国建明工业公司提供。

1.2 鱼类养殖试验

随机将196尾异育银鲫鱼种分成4组,每组

设3个重复,共用12个水族箱(规格为0.85m×0.45m×0.55m),每箱16尾鱼。其中,1组投喂的为基础饲料,2、3、4组投喂的饲料是在基础饲料中分别添加100μg/g地衣芽孢杆菌、100μg/g地衣芽孢杆菌与100μg/g低聚木糖、100μg/g地衣芽孢杆菌与300μg/g复合酶制剂。各组饲料逐级混和均匀,再加水拌匀,用小型绞肉机制成颗粒,自然晾干后放入-20℃冰箱中储藏备用。基础饲料配方见表1。

异育银鲫驯化养殖10天后投喂添加试验饲料,每天投饵率3%左右,分别在8:30、13:30与18:30各投喂一次,1h后观察吃食情况,并将多余饲料吸出,估算余饵量。饲养过程采用流水养殖系统,水温为(25±2)℃,溶氧4mg/L以上,早晚各吸污一次。共饲养112天,其中前期驯化10天,正式试验102天。

表1 异育银鲫基础饲料配方与营养水平(%)

Tab. 1 Formulation and nutrition levels of the diets for *C. auratus gibelio* (%)

配 方	比例(%)	营养水平	比例(%)
豆粕	18	干物质	88.82
棉粕	16	粗蛋白	35.16
菜粕	26	粗脂肪	4.45
花生粕	11	灰分	12.68
次粉	18	有效磷	0.89
预混料*	1	钙	0.91
磷酸二氢钙	1.8	蛋氨酸+胱氨酸	1.13
氟石粉	2.5	赖氨酸	1.58
玉米蛋白粉	1.7		
棉粕酶解物	0		
鱼粉	2		
鱼油	2		

* 添加剂含氨基酸、微量元素和维生素等(由南京华牧动物研究所提供)

1.3 表观消化率与酶活性测定

养殖试验30天后,用含1% Cr₂O₃指示剂试验饲料投喂鱼类,每天喂料2h后收集粪便,收集时用捞网捞起条状粪便,用镊子选择新鲜、外表带有包膜、尽可能完整粪便放在干净培养皿中,在60℃的烘箱中烘干,保存在-26℃条件下待测干物质、粗蛋白表观消化率。其中干物质测定用

烘箱烘干(105℃)法,蛋白质采用凯氏定氮法,Cr₂O₃含量采用湿式灰化定量法。

鱼类养殖112天,试验结束后取样并称重,每组取6尾异育银鲫,于冰盘上解剖,取出肠道和肝胰脏,剔除脂肪组织,用4℃冷却去离子水冲洗,然后用滤纸轻轻吸干水分,放入-26℃冰箱中冷却保存,供测酶活性之用。酶活性测定参照

刘波等(2005)。

1.4 肠道菌群培养与计数

试验结束时,每组取4尾鱼采样。取肠中食糜0.2g于无菌离心管中,加入无菌0.85%生理盐水1.8ml,制成原液,然后依次进行 10^1 — 10^6 倍稀释。取100 μ l稀释液以平板涂布法接种于培养基上,大肠杆菌采用麦康凯琼脂培养基、乳酸杆菌采用乳酸杆菌专用培养基、芽孢杆菌采用芽孢杆菌专用培养基等,大肠杆菌与芽孢杆菌37℃有氧培养,乳酸杆菌37℃有氧培养48h后,选择平均菌落数为30—300的稀释度用于菌落计数。计算方法采用每克食糜菌落形成单位即CFU/g(平均菌落 \times 稀释倍数 \times 10)。

1.5 胰蛋白酶 mRNA 表达量测定

试验结束后,每组取4尾鱼采样,取异育银鲫敲击脑部,致使鱼类昏迷,快速解剖提取肝胰脏中胰管周围的组织200mg左右,加入1ml Trizol Regent,快速匀浆,15—30℃静置5min,加入0.2ml Trizol Regent 颠倒15s,15—30℃静置3min,4℃离心15min(1500r/min),取上清液0.5ml加入0.5ml 异丙醇混匀,15—30℃静置10min,4℃离心10min(1500r/min),弃上清液,加入1ml 75%乙醇洗涤

RNA沉淀,4℃离心5min(10000r/min),弃上清液,将沉淀RNA真空干燥5min,以20 μ l DEPC处理水溶解。将RNA溶液稀释为0.5 μ g/ml,立即用于后续测定。测定方法参照王梁燕等(2004)。

1.6 数据统计与分析方法

实验数据用Microsoft Excel作初步处理,SPSS(Ver. 11.5)软件包进行统计分析。实验各组之间的差异采用单因子方差(One-Way ANOVA)分析,多重比较采用最小显著差数法(LSD),结果用平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 益生菌对异育银鲫生产性能的影响

由表2可知,试验组鱼类的增重率比对照组均有提高,其中以芽孢杆菌和寡糖配伍组增重率最高,比对照组提高了43.78% ($P < 0.05$),其次为芽孢杆菌添加组,增重率比对照组提高了23.97% ($P < 0.05$);酶制剂与芽孢杆菌配伍添加组增重率也比对照组提高了18.36% ($P < 0.05$)。饵料系数变化与增重率相反,各试验组与对照组相比,饵料系数均有下降,且差异显著($P < 0.05$),即添加芽孢杆菌等益生菌各试验组均可促进异育银鲫的生长,降低饵料系数,提高饲料利用率。

表2 益生菌对异育银鲫生产性能的影响

Tab.2 Effects of probiotics on the performance of *C. auratus gibelio*

组别	尾数	初均重(g)	末均重(g)	增重率(%)	饵料系数
1	48	32.26 \pm 0.66	62.89 \pm 1.36	94.97 \pm 3.33 ^a	3.37 \pm 0.12 ^a
2	48	32.83 \pm 1.05	71.48 \pm 2.47	117.73 \pm 15.89 ^b	2.81 \pm 0.35 ^b
3	48	31.83 \pm 1.26	75.29 \pm 2.95	136.55 \pm 26.60 ^c	2.50 \pm 0.41 ^c
4	48	31.68 \pm 1.26	67.28 \pm 2.27	112.40 \pm 11.15 ^b	2.90 \pm 0.51 ^b

注:同一列小写字母不同者差异显著($P < 0.05$),相同者差异不显著($P > 0.05$)。下同

2.2 益生菌对异育银鲫蛋白酶活性与表观消化率的影响

由表3可知,各试验组的蛋白质表观消化率与对照组都比对照组高,且差异显著($P < 0.05$)。酶制剂与芽孢杆菌配伍组的蛋白表观消化率最高,其次为芽孢杆菌组、芽孢杆菌与寡糖配伍组,分别比对照组高7.36%、7.22%和7.07%。与对照组的干物质表观消化率相比,试验组干物质表观消化率均提高,且差异显著($P < 0.05$),芽孢杆菌与寡糖配伍组最高,其次为芽孢杆菌组,最后为酶制剂与芽孢杆菌配伍组。结果显示,各种益

生素及配伍组合均能提高异育银鲫的表观消化率和干物质表观消化率。

各试验组异育银鲫的食糜蛋白酶活性与对照组相比差异均显著($P < 0.05$),芽孢杆菌组、芽孢杆菌与寡糖配伍组、芽孢杆菌与酶制剂配伍组的食糜蛋白酶活分别比对照组高了91.44%、104.66%、84.09%,尤其以芽孢杆菌和寡糖配伍组最高,其次为芽孢杆菌组。与对照组相比,各试验组的肠道蛋白酶活性均有提高,且差异显著($P < 0.05$)。但是与食糜蛋白酶活有所不同的是,肠道蛋白酶活最高组是芽孢杆菌与酶制剂配伍组,比对照组

表 3 益生菌对异育银鲫鱼种营养物质表观消化率和消化酶活性的影响

Tab. 3 Effect of probiotics on the apparent digestibility coefficient and digestive enzymes activity of nutrition of *C. auratus gibelio*

组别	食糜蛋白酶活性(U)	肠道组织蛋白酶活性(U)	粗蛋白表观消化率(%)	干物质表观消化率(%)
1	554.9 ± 26.5 ^a	776.5 ± 23.3 ^a	88.2 ± 1.7 ^a	66.8 ± 1.1 ^a
2	1062.3 ± 11.3 ^b	1018.3 ± 37.1 ^b	94.5 ± 0.4 ^b	74.6 ± 0.3 ^b
3	1213.4 ± 67.4 ^b	1035.9 ± 15.4 ^b	94.4 ± 0.1 ^b	74.8 ± 0.7 ^b
4	1021.5 ± 38.9 ^b	916.3 ± 41.4 ^b	94.7 ± 0.3 ^b	73.6 ± 0.6 ^b

注:蛋白酶活性的定义:1g 食糜或组织在 30℃, pH = 7.0 的条件下,每分钟水解酪蛋白产生 1μg 酪氨酸的酶量为 1 个蛋白酶活力单位(U)

高出 35.19%, 其次为芽孢杆菌与寡糖配伍组, 比对照组高 33.42%, 最后为芽孢杆菌组, 比对照组高 31.15%。

2.3 益生菌对异育银鲫肠道菌群的影响

由表 4 可知, 在大肠杆菌数量上面, 各实验组均比对照组大幅减少且差异显著 ($P < 0.05$)。芽孢杆菌组的肠道中大肠杆菌数量最少, 比对照组减少了 89.68%; 其次为芽孢杆菌和寡糖配伍组, 比对照组减少了 89.53%; 芽孢杆菌和酶制剂配伍组中大肠杆菌也比对照组减少了 58.14%。芽孢杆菌方面, 除酶制剂组外, 各种添加剂对芽

孢杆菌均有促生长作用且差异显著 ($P < 0.05$)。芽孢杆菌与寡糖配伍组对芽孢杆菌的促生长作用有其明显, 芽孢杆菌的数量是对照组的 1.73 倍; 芽孢杆菌组的数量是对照组的 1.63 倍; 相反, 酶制剂与芽孢杆菌配伍组抑制了芽孢杆菌的生长, 数量比对照减少了 60.32%。在各试验组乳酸杆菌的数量减少了, 且差异显著 ($P < 0.05$)。酶制剂与芽孢杆菌组的乳酸杆菌数量最少, 比对照组减少了 67.62%, 其次为芽孢杆菌组, 减少了 57.21%, 最后为芽孢杆菌与寡糖配伍组, 比对照组减少了 54.61%。

表 4 益生菌对异育银鲫食糜中芽孢杆菌、乳酸杆菌及大肠杆菌数量的影响

Tab. 4 Effects of probiotics S on the quantities of *E. coli* and *Lactobacillus* and *Bacillus* of the chyme in the gut of *C. auratus gibelio*

组别	大肠杆菌数	芽孢杆菌数	乳酸杆菌数
1	1063 ± 89 ^a	441 ± 195 ^a	1012 ± 120 ^a
2	109 ± 3 ^b	1098 ± 703 ^a	443 ± 77 ^b
3	111 ± 8 ^b	1125 ± 452 ^a	459 ± 138 ^b
4	445 ± 35 ^b	163 ± 71 ^a	327 ± 89 ^b

注:肠道食糜菌群数量用 lgCFU/g 肠道内容物表示

2.4 益生菌对异育银鲫胰蛋白酶 mRNA 表达量的影响

由表 5 可知, 试验各组的异育银鲫肝脏中胰蛋白酶 mRNA 表达水平以芽孢杆菌和寡糖配伍试

验组最高 ($P < 0.05$), 比对照组提高 254.10%, 其次为芽孢杆菌试验组 ($P < 0.05$), 比对照组提高 81.21%。酶制剂与芽孢杆菌配伍组的异育银鲫胰蛋白酶 mRNA 表达水平反而低于对照组。

表 5 各组异育银鲫胰蛋白酶 mRNA 起始拷贝数

Tab. 5 Initial copy quantity of trypsin mRNA from hepatopancreas of *C. auratus gibelio* in four groups

组别	1	2	3	4
胰蛋白酶 mRNA 起始拷贝数	21725 ± 9188 ^a	39367 ± 19948 ^{ab}	76929 ± 14185 ^b	11963 ± 3423 ^a

3 讨论

3.1 益生菌对异育银鲫生产性能的影响

无论是芽孢杆菌,芽孢杆菌和寡糖配伍组,还是芽孢杆菌和酶制剂配伍,都能够促进异育银鲫的生长,提高增重,降低饵料系数,此结果与已报道的研究成果类似(肖明松等,2005)。芽孢杆菌、寡糖、酶制剂及它们的配伍物可以促进水产动物的生长,提高增重率,降低饵料系数,其可能的原因是多方面的,包括营养物质消化率的提高、消化道酶活力的增加及酶 mRNA 表达量的增加、肠道内有害微生物的减少、免疫力的增强等。

现有研究表明,芽孢杆菌能产生多种酶类,如:蛋白酶、淀粉酶和果胶酶等,而且许多酶是动物体本身不具有的酶,在饲料中添加芽孢杆菌,可提高异育银鲫肠道、肝胰脏的蛋白酶活和淀粉酶活性(刘小刚等,2002;刘波等,2005)。芽孢杆菌在动物体内还能产生有效的酶促活性因子,这些活性因子提高了宿主的消化酶活性(Koushik *et al.*,2002)。寡糖对水产动物体内酶活影响的报道不多,肖明松等(2005)报道果寡糖能够明显增强鲤鱼肠道蛋白酶活力和肝胰脏蛋白酶活力。寡糖促进酶活增加的可能是促进有益菌如双歧杆菌、乳酸杆菌等的增殖,可产生蛋白等物质分解酶,从而提高内容物中消化酶的活性。加上芽孢杆菌分泌的酶,故在食糜酶活性方面,本试验结果中寡糖与芽孢杆菌配伍组的酶活是最高。酶制剂主要原理除了直接补充内源酶不足外,还可以增加鱼类本身不产生的一些酶,提高酶活性和消化吸收率。

本试验结果中,食糜的蛋白酶活性是芽孢杆菌和寡糖配伍组最高,而芽孢杆菌与酶制剂组合组最低,可见芽孢杆菌与寡糖配伍可以显著增加益生菌的数量引起益生菌分泌的胞外酶弥散到食糜中,食糜蛋白酶增多,酶活性显著提高;而肠道组织蛋白酶活性是酶制剂与芽孢杆菌配伍组最高而芽孢杆菌组最低,说明酶制剂可以促进异育银鲫本身加快分泌内源蛋白酶,而内源蛋白酶的分泌点在肠道上皮细胞上,测定时有可能上皮细胞并未脱落,因此,肠道中的蛋白酶活性反而是酶制剂组最高。由此可见酶制剂的作用是可

以提高动物内源蛋白酶分泌,从而促进消化率,促使动物生长。

3.2 益生菌对异育银鲫肠道微生物的影响

肠道微生物是动物完整消化系统的组成部分,消化系统对营养物质的消化、吸收能力部分地依赖于肠道中微生物分布的种类和数量。肠道中微生物的种类决定了营养物质的代谢过程的范围、微生物的数量决定了代谢的程度。有研究表明,饲用芽孢菌能使有益菌群增殖,产生蛋白类拮抗物质,同时芽孢杆菌可以和有害微生物进行竞争,拮抗肠道病原细菌,维持和调整肠道微生态平衡作用(胡东兴,1996¹⁾),刘波等(2005)用地衣芽孢杆菌作为添加剂饲喂异育银鲫后发现鱼体肠道内芽孢杆菌、乳酸杆菌数量均有提高,而大肠杆菌数量减少。

寡糖是否能够促进肠道菌群改变还有争议,虽然寡聚糖不能被消化道内的消化酶消化,但大多数肠道有益菌如双歧杆菌、乳酸杆菌能产生一系列糖苷酶而将低聚糖作为其碳源,而梭状芽孢杆菌、真杆菌、肠杆菌或大肠杆菌等有害菌对其不能利用或代谢利用率很低,杨桂莘(1999)认为,这是因为各种细菌内消化低聚糖的酶的活性不同造成的,双歧杆菌中这些酶的活性显著高于其他肠道菌,而大肠杆菌等一些致病菌中不存在消化低聚糖的酶。本研究结果表明,寡糖可以显著地抑制致病性大肠杆菌地生长和有益菌芽孢杆菌的增殖。其可能的原因是寡糖能作为益生菌的增殖因子,从而促进有益微生物大量增殖,调节微生态平衡。而低聚木糖类物质能通过对肠道粘膜上皮的竞争性,能与病原菌的外源凝集素特异性结合,使病原菌不能在肠壁上粘附,而随低聚木糖排除体外,或产生抗菌物质阻止大肠杆菌、沙门氏菌等致病菌的粘附、定植,增强有益菌竞争优势,阻断其致病性产生。

酶制剂也可以改善肠道菌群状态。研究已发现外源酶在改善营养物质的消化吸收的同时也导致肠道微生物的变化(张宏福等,2001)。肠道微生物的变化仅仅是微生物对新环境的适应或这种变化对于使用外源酶制剂后动物的生理应答发挥重要作用。水产动物消化系统不分泌

1) 胡东兴,1996. 鲤体内地衣芽孢杆菌对气单孢菌生物拮抗及鱼免疫功能、酶活性影响的研究. 四川农业大学硕士学位论文

非淀粉多糖酶,饲料中的可溶性 NSP 在前肠不被消化。这些未被消化的可溶性 NSP 进入后肠,为有害厌氧微生物增殖发酵提供碳源。而酶制剂降解 NSP 后,产生的某些寡聚糖可防止有害菌在后肠道定植,减轻病原菌对机体的毒害,并且可促进部分有益微生物的增殖。事实上不同试验间动物微生物的数量差异极大,可能也是导致试验间不同结果的原因。本试验中酶制剂与芽孢杆菌的配伍组合促使不仅大肠杆菌数量的下降,其他菌数量也急剧下降,便有可能是以上原因造成。

3.3 益生菌对异育银鲫胰蛋白酶 mRNA 表达量的影响

基因的表达是一个复杂而精确的多级调控过程。在细胞外,涉及到由激素和受体介导的信号传递过程,在细胞内涉及到转录前染色质的活化、转录水平的调节、转录后的加工、翻译水平的调节及翻译后的修饰等。在这些调控步骤中,基因的转录是遗传信息传递过程中最具有选择性的步骤,也是基因表达调控的中心环节,基因表达的调控主要发生在转录水平。因此,对于鱼类消化酶基因表达的研究,多集中于探讨不同条件下消化酶基因 mRNA 表达水平的变化,以及 mRNA 表达水平与消化酶分泌水平之间的关系。

芽孢杆菌等益生菌对水产动物促生长机理的研究,一直停留在对水产动物生长性能及免疫、肠道微生物指标的测定上面,并未从分子方面着手。作者在本研究中为了进一步探明益生菌促进生长的内在机理,测定鱼类肝脏中的胰蛋白酶 mRNA 表达量,以期阐明这三种益生菌促进异育银鲫生长的分子机理。由本研究结果可知,试验各组的胰蛋白酶 mRNA 表达水平以芽孢杆菌和寡糖配伍试验组最高($P < 0.05$),其次为芽孢杆菌试验组($P < 0.05$)。酶制剂与芽孢杆菌配伍组的异育银鲫胰蛋白酶 mRNA 表达水平最低,这与消化酶活性、鱼类生产性能等指标成正相关,也初步表明益生菌提高酶活性的分子机制。

参 考 文 献

- 丁彦文,艾红,2000.微生物在水产养殖中的应用.湛江海洋大学学报,20(1):68—73
- 王梁燕,洪奇华,张耀州,2004.实时定量 PCR 技术及其应用.细胞生物学杂志,26(1):61—66
- 华雪铭,周洪琪,邱小琼等,2001.饲料中添加芽孢杆菌和硒酵母对异育银鲫的生长及抗病力的影响.水产学报,25(5):448—453
- 刘波,刘文斌,王恬,2005.地衣芽孢杆菌对异育银鲫消化机能和生长的影响.南京农业大学学报,28(4):80—84
- 刘小刚,周洪琪,华雪铭,2002.微生态制剂对异育银鲫消化酶活性的影响.水产学报,26(5):448—452
- 杨桂苹,1999.双歧杆菌的有关酶系.微生物通报,26(1):56—58
- 肖明松,陈庆榆,鲍方印等,2005.果寡糖对鲤鱼生长性能及消化酶的影响.水利渔业,25(6):92—93
- 张宏福,徐秀容,卢庆萍,2001.异麦芽低聚糖对早期断奶仔猪肠道主要菌群的影响.动物营养学报,13(3):47—51
- 陈代文,王万祥,张克英等,2005.酸化剂、益生菌和寡糖对断奶仔猪生产性能的影响及其互作效应研究.四川农业大学学报,23(4):454—460
- 徐勇,江华,勇强,2002.低聚木糖对青春双歧杆菌的增殖.食品科学,26(1):15—17
- Eleonor A Tendencia, Leobert D dela Peña, 2002. Level and percentage recovery of resistance to oxytetracycline and oxolinic acid of bacteria from shrimp ponds. Aquaculture, 213:1—13
- Elisabetta Chelossia, Luigi Vezzullib, Anna Milanoc *et al.*, 2002. Antibiotic resistance of benthic bacteria in fish-farm and control sediments of the Western Mediterranean. Aquaculture, 219:83—97
- Kozasa M, 1986. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding. Microbial Aliment Nutr, 164:351—358
- Koushik Ghosh, Sen S K, 2002. Characterization of bacilli isolated from the gut of rohu, *Labeo rohita*, fingerlings and its significance in digestion. Journal of Applied Aquaculture, 12:3

FORMULATION OF THREE PROBIOTICS ON THE GROWTH, DIGESTIBILITY AND INTESTINAL MICROORGANISMS IN *CARASSIUS AURATUS GIBELIO* CARP

LIU Wen-Bin, YIN Jun, FANG Xing-Xing, WANG Tian

(College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095)

Abstract 196 *Carassius auratus gibelio* carps were divided randomly into 4 groups in our experiment in terms of the feed provided. Group 1 was the control fed with regular feed, whereas Groups 2, 3, and 4 were fed enriched with probiotics by adding 100 $\mu\text{g/g}$ *Bacillus licheniformis*, 100 $\mu\text{g/g}$ *B. licheniformis* + 100 $\mu\text{g/g}$ xylooligosaccharides, and 100 $\mu\text{g/g}$ *B. licheniformis* + 300 $\mu\text{g/g}$ enzymes, respectively. The experiment lasted 112 days. The growth rate and other indicators were recorded at the end of experiment. The results showed that the growth rate for Groups 2, 3, and 4 were 23.97%, 43.78% and 18.36% higher than that of the control respectively ($P < 0.05$); other indicators in Groups 2—4 including apparent digestibility coefficient of nutrient, intestine proteolytic activity and expression level of trypsinogen mRNA were also higher. The amounts of *E. coli* and *Lactobacillus* in the test groups were much lower than that of the control, showing significance among the groups ($P < 0.05$). The growth of *licheniformis* was promoted in the test groups except for Group 3. On the other hand, all the additive-enriched groups showed negative influence on the growth of *Lactobacillus* ($P < 0.05$). In conclusion, *B. licheniformis*, xylooligosaccharides, enzymes compound and their combinations can enhance the growth of the carp, and inhibit harmful microorganisms from multiplication, and improve the activities of enzymes in intestine and trypsinogen mRNA expression.

Key words Prebiotics, *Carassius auratus gibelio* carp, Growth, Digestibility, Intestinal microorganisms, Expression level of trypsinogen mRNA