

DOI: 10.12264/JFSC2020-0580

饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤生长、血液指标和抗氧化指标的影响

张春暖¹, 普畅畅¹, 袁小玉¹, 黄海龙¹, 张洁¹, 郭梦格¹, 祝焱彬²

1. 河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471000;

2. 盐城恒兴饲料有限公司, 江苏 盐城 224100

摘要: 本研究旨在研究饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌(*Lactobacillus delbrueckii*)对锦鲤(*Cyprinus carpio*)生长、血液指标和抗氧化指标的影响。选取锦鲤 360 尾随机分为 4 个处理组, 每组 3 个重复, 第 1 组投喂基础日粮(D1), 第 2 组投喂基础日粮+0.3%果寡糖(D2), 第 3 组投喂基础日粮+ 1×10^7 德式乳酸菌(D3), 第 4 组投喂基础日粮+0.3%果寡糖和 1×10^7 德式乳酸菌(D4)。结果表明: 投喂 D4 组饲料的锦鲤增重率、特定生长率和蛋白质效率最高, 显著高于对照组($P < 0.05$), 且该组的饵料系数最低; 肠道蛋白酶活性在 D4 组最高, 显著高于对照组和 D2 组($P < 0.05$), 各实验组的脂肪酶活性都显著高于对照组($P < 0.05$), D2 组的淀粉酶显著高于对照组($P < 0.05$), 但各实验组并无显著差异($P > 0.05$)。各实验组谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)酶活性以及甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)含量与对照组相比均有降低, 其中 D4 组 AST、ALT 活性和 TC 含量显著低于对照组($P < 0.05$); 各组血清总蛋白和白蛋白均无显著差异($P > 0.05$)。血液免疫指标和肝脏抗氧化指标在实验组都有不同程度的升高, 其中溶菌酶(LYS)、酸性磷酸酶(ACP)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化酶(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)活性以及补体 C3 含量在 D3 组和 D4 组均显著高于对照组($P < 0.05$), 但是和 D2 组差异并不显著($P > 0.05$), 补体 C4 的含量在实验组含量都显著高于对照组($P < 0.05$); AKP 和 GPX 活性各组之间差异均不显著($P > 0.05$); MDA 含量在 D3 组和 D4 组显著低于对照组($P < 0.05$), 各实验组之间差异不显著($P > 0.05$)。结论认为, 锦鲤饲料中添加 0.3%果寡糖和 1×10^7 德式乳酸菌可提高锦鲤的生长性能、肠道消化酶活性, 改善其免疫和抗氧化功能, 且果寡糖和德式乳酸菌配伍使用效果更佳。

关键词: 果寡糖; 德式乳酸菌; 锦鲤; 生长; 免疫; 抗氧化

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)08-1001-10

近年来, 水产养殖中抗生素的使用日益突出, 绿色、环保、安全、高效的饲料添加剂受到人们的关注。如何获得既无药物残留、无副作用, 还能促进动物生长, 增强机体免疫的饲料添加剂, 成为科研工作者关注的焦点。果寡糖(Fructooligosaccharide, FOS)广泛存在于大多数植物中, 是一种天然饲料添加剂, 具有提高水产动物的免疫力、改善肠道微生物区系、降低血清胆固醇、促进营养物质吸收利用等生理功能^[1], 已有研究表明果寡糖有提高水产动物的增重率, 降低饵料

系数, 增强动物免疫力和抗氧化功能, 降低死亡率的显著效果^[2-3], 在水产上作为新型饲料添加剂受到人们的青睐。

德式乳酸菌(*Lactobacillus delbrueckii*)是一种优质、安全的益生菌, 已有研究报道德式乳酸菌有增强鱼类对饲料的利用率、提高生长性能、促进机体免疫和调节肠道微生物平衡等多种功效^[4-7]。研究发现益生菌和益生元联用, 可以有效提高益生菌对鱼体的保护效果^[8]。Addo 等^[9]发现, 芽孢杆菌和半纤维素提取物联合使用效果好于单一使

收稿日期: 2020-12-15; 修订日期: 2021-01-22.

基金项目: 国家自然科学基金项目(32002405); 河南省自然科学基金项目(202010464025S).

作者简介: 张春暖(1987-), 女, 副教授, 博士研究生, 从事水产动物营养与饲料的研究. E-mail: zhangchunnuan12@163.com

用益生菌。但是 Cerezuela 等^[10]研究发现了不同的结果,芽孢杆菌联合菊粉在调节金头鲷(*Sparus aurata*)促炎因子表达上的效果并不好于单一使用芽孢杆菌。关于果寡糖和德式乳酸菌联用对锦鲤的生长性能、消化酶和免疫指标活性的影响还未见报道。果寡糖与德式乳酸菌在鱼类肠道中的作用关系较为复杂,更有待进一步探讨研究。

锦鲤(*Cyprinus carpio*)体色鲜艳,金鳞赤尾,肉质鲜美,具有生长速度快,适应性强、易饲养、市场价格高等优点,但是目前大规模、高密度养殖,使其抗病力有所下降^[11],因此如何提高锦鲤健康状况,是研究者有待解决的问题之一。本研究旨在研究饲料中添加果寡糖、德式乳酸菌及其复合物对锦鲤的影响,探讨二者对锦鲤的作用效果及作用机理,为果寡糖和乳酸菌在水产饲料中的合理利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

根据锦鲤的营养需要配制实验用基础饲料,基础饲料的配方和营养水平组成见表 1,饲料原料购自洛阳奥华饲料有限公司,各饲料原料粉碎

度均过 60 目筛;果寡糖和德式乳酸菌分别与对应组的预混料混合均匀后(果寡糖和德式乳酸菌的添加量来自前期的实验结果),再加入到相应的基础饲料中,各成分经充分混匀后,然后加入鱼油、豆油和足够的水分,在绞肉机上挤压成直径为 2.5 mm 的颗粒,自然烘干后,放自封袋中保存于 4 ℃冰箱备用。

1.2 实验管理

养殖实验在河南科技大学动物科技学院水族科学实验室进行,实验用锦鲤由洛阳市李楼镇某养殖场提供,实验室条件下暂养 2 周(暂养池:1.6 m×1.0 m×0.8 m),暂养期间投喂基础日粮,驯化后,挑选体格均一、健康初重(12.5±0.5) g 的锦鲤 240 尾,将实验鱼随机分为 4 组,每组 3 个重复,每缸放 20 尾鱼,第 1 组投喂基础日粮(D1),第 2 组投喂基础日粮+0.3%果寡糖(D2),第 3 组投喂基础日粮+1×10⁷ 德式乳酸菌(D3),第 4 组投喂基础日粮+0.3%果寡糖和 1×10⁷ 德式乳酸菌(D4),实验在室内玻璃缸(长宽高:60 cm×40 cm×40 cm)中进行,水质条件:水温(25±1) ℃,溶氧≥6 mg/L,氨和亚硝酸盐<0.001 ppm, pH 7.3±0.3,光照:黑暗 14 h:10 h,每天对水质进行测定并记录,每隔两

表 1 饲料配方及营养组成(风干基础)
Tab. 1 Feed formulation and the nutrient composition of the diets (air dry basis)

原料/% ingredient		营养水平/% nutrient composition	
鱼粉 fish meal	5	粗蛋白质 crude protein	33.16
豆粕 soybean meal	32	粗脂肪 ether extract	6.52
棉粕 cottonseed meal	15	粗灰分 ash	4.93
菜粕 rapeseed meal	15		
豆油 soybean oil	2		
鱼油 fish oil	1		
麸皮 wheat bran	6		
次粉 wheat flour	21		
磷酸二氢钙 Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.8		
预混料 premix	1		
食盐 NaCl	0.2		

注:每千克预混料含以下矿物质(g/kg)和维生素(IU or mg/kg): CuSO₄·5H₂O 2 g, FeSO₄·7H₂O 25 g, ZnSO₄·7H₂O 22 g, MnSO₄·4H₂O 7 g, Na₂SeO₃ 0.04 g, KI 0.026 g, CoCl₂·6H₂O 0.1 g, 维生素 A 900000 IU, 维生素 D 200000 IU, 维生素 E 4500 g, 维生素 K₃ 220 mg, 维生素 B₁ 320 mg, 维生素 B₂ 1090 mg, VB₅ 2000 mg, VB₆ 500 mg, VB₁₂ 1.6 mg, VC 5 g, 泛酸 1000 mg, 叶酸 165 mg, 胆碱 60 g.
Note: Premix supplied the following minerals (g/kg) and vitamins (IU or mg/kg): CuSO₄·5H₂O, 2 g; FeSO₄·7H₂O, 25 g; ZnSO₄·7H₂O, 22 g; MnSO₄·4H₂O, 7 g; Na₂SeO₃, 0.04 g; KI, 0.026 g; CoCl₂·6H₂O, 0.1 g; vitamin A, 900000 IU; vitamin D, 200000 IU; vitamin E, 4500 mg; vitamin K₃, 220 mg; vitamin B₁, 320 mg; vitamin B₂, 1090 mg; vitamin B₅, 2000 mg; vitamin B₆, 500 mg; vitamin B₁₂, 1.6 mg; pantothenate, 1000 mg; vitamin C, 5 g; folic acid, 165 mg; choline, 60 g.

天换水 1 次, 换水量为总水量的 1/5, 每天投喂两次(8:00, 17:00)实验鱼, 初期日投喂量为鱼体重的 2%~5%, 后期根据增重情况和吃食情况进行调整, 本养殖实验持续 8 周。

1.3 样品采集与分析

养殖实验结束后, 采取 24 h 饥饿处理, 采样前用浓度为 100 mg/L 的 MS-222 进行麻醉, 统计每缸鱼的总数和总重量, 计算其生长性能, 每缸随机取出 6 尾鱼, 尾静脉取血, 转移至 10 IU/mL 抗凝剂(肝素钠)润过的离心管中, 静置 1 h 后, 用离心机在 4 ℃、3000 g 条件下离心 10 min, 吸取上清液放入-80 ℃保存, 以备分析血液生化指标和免疫指标, 采血后解剖实验鱼, 快速分离肠道和肝脏, 充分清洗干净后, 用滤纸吸干, -80 ℃保存备用。

1.3.1 饲料营养成分分析 饲料中营养成分的分析采用国标法, 水分用烘箱在 105 ℃下烘干至恒重, 根据水分损失量计算饲料中水分的含量, 粗脂肪的测定用索式抽提器(BUCHI 公司, 瑞士), 粗蛋白用凯氏定氮仪(Foss, 瑞士)测定, 粗灰分的测定用马弗炉在 550 ℃下灼烧。

1.3.2 生长性能测定

增重率(weight gain, WG) = $100 \times (W_f - W_i) / W_i$ 。

特定增重率(specific growth rate, SGR) = $100 \times (\ln W_f - \ln W_i) / t$ 。

饵料系数(feed conversion ratio, FCR) = 摄食量(g)/($W_f - W_i$)。

摄食率(feeding rate, FR, %) = $100 \times W / [(W_f + W_i) / 2] / t$ 。

蛋白质效率(protein efficiency ratio, PER, %) = $100 \times (W_f - W_i) / W_p$ 。

成活率(survival rate, SR) = N_f / N_i 。

式中, W_f 是末重(g); W_i 是初重(g); t 是实验天数; W 是摄食饲料的总重量; W_p 是摄食蛋白质的重量; N_f 是实验结束时每缸鱼的总数; N_i 是实验开始时每缸鱼的总数。

1.3.3 肠道消化酶的测定 称取适量肠道, 按照 1:4 加入生理盐水, 冰浴条件下进行匀浆, 然后在 4 ℃、3000 g 条件下进行离心 10 min, 收集上清液放-20 ℃保存, 以备后续分析。蛋白酶测定采用

富林酚法, 脂肪酶和淀粉酶的测定用分光光度计法, 酶的单位为酶活力单位/mg 蛋白(U/mg prot)。

1.3.4 血液生化指标测定 血液生化指标谷草转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)采用比色法测定, 酶终点比色法测定甘油三酯(TG)和总胆固醇(TC), 总蛋白(TP)采用双缩脲法, 白蛋白(ALB)采用溴钾酚绿法, 试剂盒购自南京建成生物有限公司。

1.3.5 血液免疫指标测定 溶菌酶活性(LYS)用自身对照法测定, 对硝基酚磷酸钠法测定酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)的活性, 酶联免疫吸附法测定补体 C3 和 C4 的含量, 试剂盒均购自南京建成生物有限公司。

1.3.6 肝脏抗氧化指标测定 准确称取大约 0.2 g 的肝脏, 按 1:9(重量:体积)的比例制成 10%的组织匀浆液, 3000 g 离心 10 min, 取上清液-20 ℃保存备用, 南京建成生物工程有限公司提供的试剂盒测定氧化物歧化酶(SOD)活性、总抗氧化酶(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和过氧化氢酶(CAT)活性、丙二醛(MDA)含量, 单位分别以 U/mg prot、nmol/mg prot 表示, 肝脏中蛋白质的含量用考马斯亮蓝商业试剂盒进行测定。

1.4 统计分析

实验数据先用 Excel 整理, 再用 SPSS(17.0)进行双因素方差分析(two-way ANOVA)分析, 然后用 Duncan 进行多重比较分析, 数据用平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤生长性能的影响

由表 2 可知, 与对照组相比, 3 个实验组的 WG 和 SGR 都有不同程度的提高, 其中 D4 组效果最好, WG 提高 62.66%, 该组 WG 显著高于对照组($P < 0.05$), D2 组和 D3 组之间差异不显著($P > 0.05$); 各实验组 FCR 有不同程度的降低, 其中 D2 和 D4 组显著低于对照组的 FCR($P < 0.05$), FCR 在 D2、D3 和 D4 组之间差异并不显著($P > 0.05$); 各组 PER 都有所提高, 其中 D4 组显著高于对照组, 各实验组差异不显著($P > 0.05$); 对照组和实验组之间成活率无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤生长性能的影响

Tab. 2 The effects of dietary FOS and *Lactobacillus delbrueckii* on growth performance of *Cyprinus carpio*

$\bar{x} \pm SE$

项目 item	对照组 control	0.3%FOS	1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>	0.3%FOS+ 1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>
初重/g initial weight	12.39±0.32	12.53±0.33	12.45±0.39	12.24±0.2
末重/g finial weight	27.04±0.88 ^b	32.43±1.71 ^a	30.75±0.67 ^{ab}	34.48±1.02 ^a
增重率/% WG	118.89±11.97 ^c	158.60±8.56 ^{ab}	147.35±8.07 ^b	181.55±4.38 ^a
特定生长率/% SGR	1.39±0.10 ^c	1.69±0.06 ^{ab}	1.62±0.06 ^b	1.85±0.03 ^a
饵料系数/% FCR	1.73±0.15 ^a	1.34±0.11 ^b	1.44±0.09 ^{ab}	1.33±0.09 ^b
蛋白质效率/% PER	193.17±5.05 ^b	232.08±13.79 ^{ab}	225.42±11.26 ^{ab}	248.00±20.81 ^a
成活率/% SR	96.67±1.92	100±0.00	98.89±1.11	100±0.00

注：同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)，同行无字母表示差异不显著($P>0.05$)。
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). Values in the same row without letter super-scripts mean no significant differences ($P>0.05$).

2.2 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤肠道消化酶活性的影响

由表 3 可知，各实验组肠道消化酶活性均有不同程度的升高，其中蛋白酶和脂肪酶活性在 D4 组

最高，D4 组蛋白酶活性显著高于对照组和 D2 组($P<0.05$)，脂肪酶在实验组均显著高于对照组($P<0.05$)，淀粉酶在 D2 组显著高于对照组($P<0.05$)，但脂肪酶和淀粉酶活性在各组之间差异不显著($P>0.05$)。

表 3 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤肠道消化酶的影响

Tab. 3 The effects of dietary FOS and *Lactobacillus delbrueckii* on intestinal digestive enzymes of *Cyprinus carpio*

$\bar{x} \pm SE$

项目 item	对照组 control	0.3%FOS	1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>	0.3%FOS+ 1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>
蛋白酶/(U/mg) prot protease	82.34±5.27 ^c	93.03±4.30 ^b	90.20±2.19 ^{ab}	99.56±2.89 ^a
脂肪酶/(U/g) prot lipase	50.14±3.75 ^b	59.17±3.34 ^a	58.02±1.74 ^a	63.30±2.99 ^a
淀粉酶/(U/mg) prot amylase	1.47±0.05 ^b	1.62±0.08 ^a	1.56±0.10 ^{ab}	1.54±0.04 ^{ab}

注：同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)，同行无字母表示差异不显著($P>0.05$)。
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). Values in the same row without letter super-scripts mean no significant differences ($P>0.05$).

2.3 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤血液生化指标的影响

血液生化指标分析见表 4，各实验组的 AST、

ALT 酶活性以及 TG、TC 含量与对照组相比，均有不同程度的降低，其中 D4 组的 AST 和 ALT 活性显著低于对照组($P<0.05$)，但各实验组的 AST 和

表 4 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤血液生化指标的影响

Tab. 4 The effects of dietary FOS and *Lactobacillus delbrueckii* on blood biochemical indexes of *Cyprinus carpio*

$\bar{x} \pm SE$

项目 item	对照组 control	0.3%FOS	1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>	0.3%FOS+ 1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>
谷草转氨酶/(U/L) AST	78.06±4.29 ^a	68.00±3.23 ^{ab}	70.61±4.35 ^{ab}	64.29±3.82 ^b
谷丙转氨酶/(U/L) ALT	24.38±1.34 ^a	21.24±1.0 ^{ab}	22.06±1.36 ^{ab}	20.08±1.19 ^b
甘油三酯/(nmol/L) TG	0.68±0.05 ^a	0.55±0.04 ^b	0.52±0.02 ^b	0.50±0.02 ^b
总胆固醇/(nmol/L) TC	3.80±0.10 ^a	3.50±0.13 ^{ab}	2.97±0.45 ^{ab}	2.78±0.15 ^b
总蛋白/(g/L) TP	29.08±2.17	25.31±1.44	25.74±2.17	24.40±2.98
白蛋白/(g/L) ALB	12.54±0.46	11.5±0.65	11.36±0.71	11.09±0.78

注：同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)，同行无字母表示差异不显著($P>0.05$)。
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). Values in the same row without letter super-scripts mean no significant differences ($P>0.05$).

ALT 活性差异不显著($P>0.05$); TG 含量在各实验组均显著低于对照组($P<0.05$); D4 组 TC 含量显著低于对照组($P<0.05$), D2 组、D3 组与对照组相比差异不显著($P>0.05$), 各组血清 TP 和 ALB 均无显著差异($P>0.05$)。

2.4 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤血液免疫指标的影响

由表 5 可知, 血液免疫指标活性在实验组都

有不同程度的升高, 各指标在果寡糖和德式乳酸菌复合组活性最高, 其中 LYS 和 ACP 活性以及补体 C3 含量在 D3 组和 D4 组均显著高于对照组($P<0.05$), 但是与 D2 组差异不显著($P>0.05$), 补体 C4 含量在 D2、D3 和 D4 组均显著高于对照组($P<0.05$), 但 D2、D3 和 D4 组之间差异不显著($P>0.05$); 血浆 AKP 活性在各组之间差异均不显著($P>0.05$)。

表 5 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤血液免疫指标的影响

Tab. 5 The effects of dietary FOS and *Lactobacillus delbrueckii* on blood immune indexes of *Cyprinus carpio* $\bar{x} \pm SE$

项目 item	对照组 control	0.3%FOS	1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>	0.3%FOS+ 1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>
溶菌酶/(U/mL) lysozyme	120.14±9.27 ^b	139.17±8.79 ^{ab}	158.02±6.63 ^a	162.64±8.86 ^a
补体/(μg/mL) C3	24.03±1.16 ^b	29.14±2.06 ^{ab}	31.74±2.77 ^a	35.04±2.22 ^a
补体/(μg/mL) C4	20.46±0.93 ^b	24.94±1.24 ^a	25.90±1.60 ^a	29.13±1.23 ^a
酸性磷酸酶/(U/L) ACP	32.31±2.22 ^b	37.97±2.69 ^{ab}	42.69±2.39 ^a	45.99±3.16 ^a
碱性磷酸酶/(U/L) AKP	24.16±1.82	25.91±1.60	27.31±0.73	28.74±1.07

注: 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 同行无字母表示差异不显著($P>0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). Values in the same row without letter superscripts mean no significant differences ($P>0.05$).

2.5 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤抗氧化指标的影响

饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤抗氧化指标的影响见表 6, 抗氧化指标 SOD、CAT、GPX 和 T-AOC 活性均有不同程度的升高, 其中 SOD 和 T-AOC 活性在 D3 组和 D4 组显著高于对照组($P<0.05$), 各实验组之间差异不显著($P>0.05$);

D4 组的 CAT 活性最高, 显著高于对照组($P<0.05$), 但是 D2、D3 和 D4 组之间差异不显著($P>0.05$); GPX 活性有一定的升高趋势, 但是各组之间差异不显著($P>0.05$); 实验组 MDA 含量有不同程度的降低, 其中 D3 和 D4 组的 MDA 含量显著低于对照组($P<0.05$), 但是各实验组之间差异不显著($P>0.05$)。

表 6 饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤抗氧化指标的影响

Tab. 6 The effects of dietary FOS and *Lactobacillus delbrueckii* on antioxidant indexes of *Cyprinus carpio* $\bar{x} \pm SE$

项目 item	对照组 control	0.3%FOS	1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>	0.3%FOS+ 1×10^7 <i>L. delbrueckii</i>
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) SOD	122.51±14.06 ^b	147.95±5.60 ^{ab}	153.05±5.10 ^a	169.16±6.71 ^a
过氧化物酶/(U/mg prot) CAT	75.62±6.05 ^b	85.46±3.15 ^{ab}	82.15±3.46 ^{ab}	91.01±4.61 ^a
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg prot) GPX	22.28±1.30	26.73±3.25	26.41±2.92	28.58±2.98
总抗氧化物酶/(U/mg prot) T-AOC	0.38±0.05 ^b	0.51±0.05 ^{ab}	0.58±0.03 ^a	0.76±0.08 ^a
丙二醛/(nmol/mg prot) MDA	3.86±0.19 ^a	3.07±0.41 ^{ab}	2.71±0.10 ^b	2.67±0.27 ^b

注: 同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 同行无字母表示差异不显著($P>0.05$).
Note: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P<0.05$). Values in the same row without letter superscripts mean no significant differences ($P>0.05$).

3 讨论

3.1 果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤生长性能的影响

关于果寡糖和德式乳酸促进鱼类生长的研究

已有报道, 唐娟等^[4]、Zhang 等^[8]研究得出饲料中添加适量的果寡糖和德式乳酸菌能有效提高三角鲂和黄河鲤的生长性能和肠道消化酶活性; Pool-sawat 等^[12]的研究表明在石斑鱼饲料中添加果寡

糖能够提高其增重率和肠道蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的活性;赵峰等^[13]实验结果表明,饲料中添加 0.4%果寡糖+0.2%芽孢杆菌能提高奥尼罗非鱼的生长性能,并且二者联用的效果要好于单独使用任何一种添加剂;本研究结果与上述研究基本一致,饲料中添加果寡糖、德式乳酸菌和二者复合物均能不同程度的提高锦鲤的增重率、特定生长率和肠道消化酶活性,降低饵料系数,提高了饲料的有效利用率。生长性能和肠道的功能密切相关,比如肠道消化酶活性的提高,肠道菌群、代谢物、pH 等的变化都有助于鱼类对饲料中营养成分的消化、吸收和利用,具体还需进一步研究;另外,益生菌自身含有丰富的蛋白质、维生素等营养物质,其在增殖过程中分泌的酶可以促进宿主对营养物质的消化吸收^[14]。本研究得出果寡糖和德式乳酸菌二者联用效果要好于单独使用,类似的研究在卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)上也有报道,研究结果表明饲料中添加 5.62×10^7 枯草芽孢杆菌和 0.2%果寡糖,卵形鲳鲹的特定生长率比单独添加果寡糖或者芽孢杆菌效果都要好^[15];日本鳗(*Anguilla japonica*)饲料中添加甘露寡糖和枯草芽孢杆菌以及二者的复合物,研究结果得出复合组的增重率、特定生长率和蛋白质效率都显著高于对照组^[16]。但是 Ai 等^[17]研究果寡糖和枯草芽孢杆菌对大黄鱼的生长并无显著的复配作用,这可能与养殖品种、养殖环境以及饲料添加剂的添加量有关。

3.2 果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤肠道消化酶活性的影响

肠道消化酶活性是评判肠道消化功能的重要指标^[18]。蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶主要用来消化营养物质中的蛋白、脂肪和淀粉^[19],消化酶活性的升高证明添加果寡糖和德式乳酸菌能提高锦鲤对三大营养物质的消化利用率,提高蛋白质效率和生长性能。肠道消化酶的提高可能是由于肠道内微生物的菌群的结构发生变化,比如,双歧杆菌、乳酸杆菌有益菌的数量增多,而大肠杆菌、梭状杆菌等有害菌的数量减少,大多数的有益菌能促进消化酶的分泌和胃肠蠕动^[20]。果寡糖和芽孢杆菌的添加能提高肠道消化酶活性和促进肠道

微绒毛发育,在三角鲂上的研究已有报道^[8];并且已有研究报道果寡糖和芽孢杆菌能提高肠道黏膜免疫防御机能,改善肠道内环境,促进肠道健康,这都可能是提高锦鲤肠道消化酶活性的原因^[21]。

3.3 果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤血液生化指标的影响

鱼类血液生化指标能够反映机体的生理状况和健康情况。AST 和 ALT 主要存在肝组织中,当肝脏受损时,AST 和 ALT 会渗入血液,血液中二者活性越高,证明肝脏受损越严重。本研究结果表明复合添加剂组 AST 和 ALT 显著低于对照组,Hassaan 等^[22]研究得出尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)饲料中添加芽孢杆菌和酵母提取物,血清 AST 和 ALT 活性显著下降;Marzouk 等^[23]对罗非鱼的研究得出了相似的结果;但是赵峰等^[24]研究得出罗非鱼饲料中添加果寡糖和枯草芽孢杆菌,血清 AST 和 ALT 活性并无显著变化。实验组 TG 和 TC 含量有不同程度的降低,这表明果寡糖和德式乳酸菌有调节脂肪代谢的作用,TG 和 TC 是反映脂肪代谢的重要指标,若血液中二者含量过高,表明体内脂肪积累较多,容易引起脂肪肝、肝肥大等疾病,研究发现果寡糖能降低血液 TG 和 TC 含量,这可能与果寡糖降低体内脂肪合成代谢酶含量,抑制脂肪合成,从而降低细胞内 TG 含量有关^[25]。

3.4 果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤免疫指标的影响

鱼类的非特异性免疫是鱼类免疫的重要组成部分,能抵抗所有的病原体。血清溶菌酶活力是非特异性免疫的一个重要指标,存在鱼类的皮肤、血清和各类腺体分泌物中,能够杀灭革兰氏阳性菌,对于抵抗各种病原体的入侵具有重要意义^[26]。ACP 和 AKP 是机体内重要的磷酸酶,主要参与机体的信号传导、能量转化和磷酸酯的代谢等,同时也是溶酶体的重要标志,在参与机体免疫方面起到重要作用^[27]。补体 C3、C4 含量在一定程度上也能反映机体的免疫力。本研究结果得出饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌不同程度的提高了血液 LYS、ACP、AKP 的活性以及补体 C3、C4 含量,增强机体的非特异性免疫。这可能是因为果寡糖和德式乳酸菌作为调节肠道微生态平衡

的因子^[28], 能够促进有益菌比如乳酸菌、双歧杆菌的增殖, 可降低大肠杆菌和沙门氏菌等有害菌的数量, 有益菌能分泌大量的胞外糖苷酶, 可降解肠道上皮细胞的多糖类物质, 这些物质又是病原菌分泌的凝聚素或者是细菌的受体, 从而阻止病原菌在肠道黏膜的定植, 已有大量研究得出果寡糖和有益菌有提高鱼类免疫力和抑制有害菌增殖的作用^[29-31], 此外果寡糖还有结合病原菌表面凝聚素的能力, 使病原菌失去致病能力^[1]。在饲料中添加适量壳聚寡糖和芽孢杆菌后, 投喂锦鲤, 复合组的免疫指标活性和抗病力有显著提高^[29]; Zhang 等^[32]研究指出海参饲料中添加果寡糖和枯草芽孢杆菌显著增强海参的免疫力, 提高其抗病力, 降低死亡率; 类似的研究结果在三角鲂^[31]、日本鳗鲡^[16]和南亚野鲮(*Homarus gammarus* L.)^[33]上都有报道; 果寡糖和德式乳酸菌的联合作用可能因为果寡糖可以为益生菌提供碳源, 促进有益菌的生长、增殖, 而不能被梭状芽孢杆菌、大肠杆菌等有害菌利用^[34]。

3.5 果寡糖和德式乳酸菌对锦鲤抗氧化指标的影响

正常状态下, 机体的氧化系统和抗氧化系统处于平衡状态, 鱼体内的 SOD、CAT 和 GPX 在机体抗氧化过程中发挥着重要作用, 其中 SOD 主要催化 O_2^- 生成 H_2O_2 , 从而清除 O_2^- , 而 CAT 进行下一步, 把 H_2O_2 催化生成水和氧气^[35]。本研究得出饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌能使这些抗氧化酶的活性不同程度的提高, 证明果寡糖和德式乳酸菌能增强锦鲤抗氧化的能力, 调节体内氧化和氧化的平衡。关于果寡糖和有益菌的抗氧化功能在以前的研究也有报道, Zhang 等^[31]研究得出在三角鲂饲料中添加适宜水平的果寡糖和芽孢杆菌, 显著提高了三角鲂的抗氧化能力; Poolsawat 等^[12]研究指出, 果寡糖提高了罗非鱼血清抗氧化酶活性, 降低了血清 MDA 含量。Dawood 等^[36]研究得出乳酸菌提高了罗非鱼血清 SOD 和 CAT 酶活性。本研究还得出饲料中添加果寡糖和德式乳酸菌能降低 MDA 的含量, MDA 是脂质过氧化的反应产物, 在一定程度上能反映机体过氧化受损状况, 本研究结果表明果寡糖和德式乳酸菌有增强锦鲤的抗氧化功能, 降低脂质过氧化产物的含量, 防

止机体受损。

4 结论

在本研究条件下, 锦鲤饲料中添加 0.3%果寡糖和 1×10^7 德式乳酸菌可提高锦鲤的生长性能、肠道消化酶活性, 改善免疫和抗氧化功能, 且果寡糖和德式乳酸菌配伍效果更佳

参考文献:

- [1] Xiao Y, Lin Y T. Research progress of fructooligosaccharides in feed[J]. Cereal & Feed Industry, 2011(10): 42-44. 肖宇, 林英庭. 果寡糖在饲料中的研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2011(10): 42-44.]
- [2] Sun Y X, Wen Z X, Li X J, et al. Dietary supplement of fructooligosaccharides and *Bacillus subtilis* enhances the growth rate and disease resistance of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)[J]. Aquaculture Research, 2012, 43(9): 1328-1334.
- [3] Wu Y, Liu W B, Li H Y, et al. Effects of dietary supplementation of fructooligosaccharide on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and histology of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fingerlings[J]. Aquaculture Nutrition, 2013, 19(6): 886-894.
- [4] Tang J, Zhang Y, Li L L, et al. Research advances in applying of *Bacillus licheniformis*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2008, 47(3): 351-354. [唐娟, 张毅, 李雷雷, 等. 地衣芽孢杆菌应用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2008, 47(3): 351-354.]
- [5] Zhang C N, Zhang J L, Fan W N, et al. Effects of dietary *Lactobacillus delbrueckii* on growth performance, body composition, digestive and absorptive capacity, and gene expression of common carp (*Cyprinus carpio* Huanghe var)[J]. Aquaculture Nutrition, 2019, 25(1): 166-175.
- [6] Zhang C N, Zhang J L, Guan W C, et al. Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on immune response, disease resistance against *Aeromonas hydrophila*, antioxidant capability and growth performance of *Cyprinus carpio* Huanghe var[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 68: 84-91.
- [7] Oluyemi K G. Histometry and growth performance of African catfish, *Clarias gariepinus*, (Burchell, 1822) fed probiotics supplemented diets[J]. Asian Journal of Research in Zoology, 2019, 2(1): 1-10.
- [8] Zhang C N, Li X F, Xu W N, et al. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of triangular bream (*Megalobrama terminalis*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2015, 21(5): 755-

- 766.
- [9] Addo S, Carrias A A, Williams M A, et al. Effects of *Bacillus subtilis* strains and the prebiotic Previda® on growth, immune parameters and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(9): 4798-4810.
- [10] Cerezuela R, Fumanal M, Tapia-Paniagua S T, et al. Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34(5): 1063-1070.
- [11] Yin H C, Zhao H Y, Huang J, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on immune function and disease resistance of immunized and unimmunized Huanghe carp (*Cyprinus carpio* Huanghe var.)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(7): 1559-1567. [殷海成, 赵红月, 黄进, 等. 枯草芽孢杆菌对免疫和未免疫黄河鲤鱼免疫功能和抗病力的影响[J]. 动物营养学报, 2013, 25(7): 1559-1567.]
- [12] Poolsawat L, Li X Q, Yang H, et al. The potentials of fructooligosaccharide on growth, feed utilization, immune and antioxidant parameters, microbial community and disease resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) [J]. Aquaculture Research, 2020, 51(11): 4430-4442.
- [13] Zhao F, Lu J J, Xia Z S, et al. Effect of dietary fructooligosaccharides, probiotics and antibiotics on growth performance, serum biochemical indices and intestinal microflora of hybrid tilapia (*Oreochromis aureus*×*O. niloticus*)[J]. Feed Research, 2019, 42(4): 123-128. [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.]
- [14] He W C, Dong X H, Tan B P, et al. Effects of probiotics on growth performance, digestive enzyme and immune enzyme activities of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(12): 3821-3830. [何伟聪, 董晓慧, 谭北平, 等. 益生菌对军曹鱼幼鱼生长性能、消化酶和免疫酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(12): 3821-3830.]
- [15] Zhang Q, Yu H R, Tong T, et al. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus* and its disease resistance against *Vibrio vulnificus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 38(1): 7-14.
- [16] Seunghan L, Kumar K, Ali H, et al. Synergistic effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* WB60 and mannanoligosaccharide (MOS) on growth performance, immunity and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 83: 283-291.
- [17] Ai Q H, Xu H G, Mai K S, et al. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture, 2011, 317(1-4): 155-161.
- [18] Ueberschär B. Measurement of proteolytic enzyme activity: Significance and application in larval fish research[M]// Physiological and biochemical aspects of fish development. Bergen: University of Bergen, 1993: 233-239.
- [19] Suzer C, Çoban D, Kamaci H O, et al. *Lactobacillus* spp. bacteria as probiotics in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) larvae: Effects on growth performance and digestive enzyme activities[J]. Aquaculture, 2008, 280(1-4): 140-145.
- [20] Azokpota P, Hounhouigan D J, Nago M C, et al. Full length research paper- esterase and protease activities of *Bacillus* spp. from afitin, iru and sonru; three African locust bean (*Parkia biglobosa*) condiments from Benin[J]. African Journal of Biotechnology, 2006, 5(3): 265-272.
- [21] Roller M, Rechkemmer G, Watzl B. Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats[J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134(1): 153-156.
- [22] Hassaan M S, Soltan M A, Ghonemy M M R. Effect of synbiotics between *Bacillus licheniformis* and yeast extract on growth, hematological and biochemical indices of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 2014, 40(2): 199-208.
- [23] Marzouk M S M, Mohamed M M, Nermeen M M. The Influence of some probiotics on the growth performance and intestinal microbial flora of *Oreochromis niloticus*[C]// Proceedings of 8th International Symposium on tilapia in Aquaculture. 2008: 1059-1071.
- [24] Zhao F, Lu J J, Xia Z S, et al. Effects of fructooligosaccharide on growth performance, serum biochemical indices and intestinal microflora of hybrid tilapia[J]. Feed Industry, 2018, 39(20): 28-33. [赵峰, 陆娟娟, 夏中生, 等. 果寡糖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]. 饲料工业, 2018, 39(20): 28-33.]
- [25] Wang J, Cao Y P, Wang C T, et al. Wheat bran xylooligosaccharides improve blood lipid metabolism and antioxidant status in rats fed a high-fat diet[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(3): 1192-1197.
- [26] Grinde B, Lie Ø, Poppe T, et al. Species and individual variation in lysozyme activity in fish of interest in aquaculture[J]. Aquaculture, 1988, 68(4): 299-304.

- [27] Cui P, Liu F, Yang G, et al. Effect of dietary axtaxanthin on hematic and immune parameters of Ornamental Carp (*Cyprinus carpio* L.)(J). Journal of Northeast Agricultural University, 2013, 44(3): 89-94. [崔培, 刘芳, 杨广, 等. 虾青素对锦鲤血液及抗氧化指标的影响[J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(3): 89-94.]
- [28] Roller M, Rechkemmer G, Watzl B. Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* modulates intestinal immune functions in rats[J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134(1): 153-156.
- [29] Lin S M, Mao S H, Guan Y, et al. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*)(J). Aquaculture, 2012, 342-343: 36-41.
- [30] Hoseinifar S H, Eshaghzadeh H, Vahabzadeh H, et al. Modulation of growth performances, survival, digestive enzyme activities and intestinal microbiota in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae using short chain fructooligosaccharide[J]. Aquaculture Research, 2016, 47(10): 3246-3253.
- [31] Zhang C N, Li X F, Xu W N, et al. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream (*Megalobrama terminalis*)(J). Fish & Shellfish Immunology, 2013, 35(5): 1380-1386.
- [32] Zhang Q, Ma H M, Mai K S, et al. Interaction of dietary *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on the growth performance, non-specific immunity of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*(J). Fish & Shellfish Immunology, 2010, 29(2): 204-211.
- [33] Daniels C L, Merrifield D L, Boothroyd D P, et al. Effect of dietary *Bacillus spp.* and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota[J]. Aquaculture, 2010, 304(1-4): 49-57.
- [34] Singh S K, Tiwari V K, Chadha N K, et al. Effect of dietary synbiotic supplementation on growth, immune and physiological status of *Labeo rohita* juveniles exposed to low pH stress[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 91: 358-368.
- [35] Jovanović-Galović A, Blagojević D P, Grubor-Lajsić G, et al. Role of antioxidant defense during different stages of preadult life cycle in European corn borer (*Ostrinia nubilalis*, Hubn.): Diapause and metamorphosis[J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2004, 55(2): 79-89.
- [36] Dawood M A O, Zommara M, Eweedah N M, et al. The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid bacteria - ScienceDirect[J]. Aquaculture, 2020, 515: 734571.

Effect of dietary fructooligosaccharide and *Lactobacillus delbrueckii* on growth performance, blood index, and antioxidant activity in koi carp (*Cyprinus carpio*)

ZHANG Chunnuan¹, PU Changchang¹, YUAN Xiaoyu¹, HUANG Hailong¹, ZHANG Jie¹, GUO Mengge¹, ZHU Yanbin²

1. College of Animal Science and Technology, Henan University of Scientific and Technology, Luoyang 471000, China;

2. Yancheng Hengxing Feed Company, Yancheng 224100, China

Abstract: This study aimed to investigate the effect of dietary fructooligosaccharide (FOS) and *Lactobacillus delbrueckii* on the growth performance, blood index, and antioxidant activity in koi carp (*Cyprinus carpio*). A total of 360 fish (mean weight of 12.5 ± 0.5 g) were randomly distributed into four groups, with three repeats for each group (30 fish in each): group 1 (D1) was the control group (basal diet) and groups 2, 3, and 4 (D2, D3, D4) were the test groups, fed basal diets with added 0.4% FOS, *L. delbrueckii* (1×10^7 CFU/g diet), and 0.4% FOS+*L. delbrueckii* (1×10^7 CFU/g diet), respectively. The results showed that the weight gain rate, specific growth rate (SGR), and protein efficiency ratio (PER) in the D4 group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The feed conversion ratio in D4 group was the lowest, and there were no significant differences among the experimental groups ($P > 0.05$). The protease levels in the D4 group were the highest among the groups and significantly higher than those in the D1 and D2 groups ($P < 0.05$). The lipase activities in all experimental groups were significantly higher than those in the control ($P < 0.05$). The amylase activity in D2 group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). Compared to those in the control group, the aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities and triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) contents in the experimental groups decreased to different degrees, among which addition of 0.4% FOS + *L. delbrueckii* showed the lowest values compared to that in the control group ($P < 0.05$). There were no significant differences in the total protein and albumin contents ($P > 0.05$) between the control and experimental groups. The activities of lysozyme (LYS), acid phosphatase (ACP), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT); the total antioxidant capacity (T-AOC); and the complement protein 3 (C3) content in D4 were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$), and showed no significant differences to those in D2 ($P > 0.05$). The complement protein 4 (C4) contents were significantly higher in the experimental groups than those in the control group ($P < 0.05$). The glutathione peroxidase and alkaline phosphatase activities showed no significant differences among all groups ($P > 0.05$). However, the MDA content in D4 was lower than that in the control group and there were no significant differences among experimental groups ($P > 0.05$). These results indicate that dietary FOS and *L. delbrueckii* could improve growth performance, intestinal digestive enzyme activities, and non-specific immune function and antioxidant capabilities in *C. carpio*. The combined addition of FOS and *L. delbrueckii* produced greater advantages than individual administration.

Key words: fructooligosaccharide; *Lactobacillus delbrueckii*; *Cyprinus carpio*; growth; immune; antioxidant

Corresponding author: ZHANG Chunnuan. E-mail: zhangchunnuan12@163.com