

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2011.01315

## 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

刘晓勇<sup>1</sup>, 张颖<sup>2</sup>, 齐茜<sup>1</sup>, 赵明军<sup>3</sup>, 麦丽开<sup>1</sup>, 孙大江<sup>2</sup>

1. 中国水产科学研究院 鲟鱼繁育技术工程中心, 北京 100070;
2. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;
3. 中国水产科学研究院, 北京 100141

**摘要:** 在杂交鲟(*Acipenser baeri* ♂ × *Acipenser schrenkii* ♀)幼鱼日粮中添加不同质量分数(0、0.05%、0.1%、0.25%、0.5%)的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)粉剂, 分别在培育实验的第15天和第30天采集样本, 分析其对幼鱼摄食、生长、肠道消化酶活性及非特异性免疫指标的影响。实验结果: 饲料中添加0.25%枯草芽孢杆菌粉剂时, 杂交鲟生长最好, 增重率和特定生长率较对照组分别提高了54.31%( $P < 0.05$ )和28.61%( $P < 0.05$ ), 饵料系数降低了36.02%( $P < 0.05$ ), 也显著低于其他各实验组( $P < 0.05$ )。各实验组肠道蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活性均高于对照组; 实验第15天时各种消化酶活性均大于第30天, 其中第15天添加0.25%组的肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性最高, 显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 且该实验组的血清溶菌酶(LSZ)、碱性磷酸酶(AKP)、总抗氧化能力(T-AOC)及超氧化物歧化酶(SOD)均显著高于对照组和其他实验组( $P < 0.05$ )。研究表明, 饲料中添加枯草芽孢杆菌可提高杂交鲟幼鱼的生长性能、肠道的消化酶活性及血清非特异性免疫能力, 适宜添加水平为0.25%, 添加的适宜持续时间为15 d左右。

**关键词:** 枯草芽孢杆菌; 杂交鲟; 生长性能; 消化酶; 非特异性免疫

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2011)06-1315-06

鲟形目鱼类(*Acipenseriformes*)属世界性保护物种, 也是中国近20年来开发养殖发展速度较快的淡水名优鱼类, 21世纪初形成规模产量<sup>[1]</sup>。FAO资料显示, 2008年, 中国鲟养殖产量达到21 396 t, 占世界鲟养殖产量的83.3%。与其他养殖鲟种类相比, 西伯利亚鲟(*Acipenser baeri* ♂)与施氏鲟(*Acipenser schrenkii* ♀)的杂交后代具有生长速度快、抗病力强等特点, 2006年之后逐渐取代西伯利亚鲟成为中国的主养品种<sup>[2]</sup>。与其他鱼类养殖的发展相似, 随着生产规模的扩大和养殖密度的增加, 养殖水体负载逐年加大, 病害发生频率大幅增加, 给生产带来的负面影响越来越明显。为此, 越来越多的水产科技工作者开始关注鲟病害

问题, 从不同角度开展健康养殖相关研究。芽孢杆菌具有较强的产蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶和多种抑菌物质的特性, 使用上具有无毒、无残留和不产生耐药性等优点, 被认为是安全有效的有益微生物<sup>[3]</sup>。Gatesoupe等<sup>[4]</sup>对大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)仔鱼的研究, 潘康成等<sup>[5]</sup>对鲤(*Cyprinus carpio*), 丁贤等<sup>[6]</sup>对凡纳滨对虾(*Penaeus uannamei*)、Ziaei-Nejad等<sup>[7]</sup>对印度明对虾(*Fenneropenaeus indicu*)、Nayak等<sup>[8]</sup>对南亚黑鲷(*Labeo rohita*)、Shen等<sup>[9]</sup>对凡纳滨对虾、Wang等<sup>[11]</sup>对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)<sup>[10]</sup>、管越强等对中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)、仇明等<sup>[12]</sup>对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)等的研究表明, 在日粮中添加芽孢杆菌既能提高水产动物

收稿日期: 2011-03-22; 修订日期: 2011-06-21.

基金项目: 农业部公益性行业科研专项经费项目(201003055).

作者简介: 刘晓勇(1975-), 男, 助理研究员, 主要从事鱼类繁育与养殖研究. E-mail: xiaoyongliu2004@163.com

通信作者: 孙大江, 研究员, 从事淡水鱼类繁育及养殖技术研究. E-mail: sundajiang0451@sohu.com

的消化酶活性、促进生长,还能提高免疫功能,增强抗病力。益生菌对鲟生长性能、消化酶活性及非特异性免疫的研究报道很少,仅见高欣等<sup>[13]</sup>关于芽孢杆菌对西伯利亚鲟幼鱼摄食生长及肠道菌群的影响研究。本研究拟通过在日粮中添加枯草芽孢杆菌的养殖实验,分析其对杂交鲟幼鱼生长、消化酶活力及非特异性免疫力的影响,为枯草芽孢杆菌在鲟健康养殖中的应用提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料及设计

实验鱼为中国水产科学研究院鲟繁育技术工程中心 2010 年春季人工繁殖和培育的杂交鲟(西伯利亚鲟♂×施氏鲟♀)幼鱼。枯草芽孢杆菌采用厦门利洋水产有限公司生产的枯草芽孢杆菌干粉(枯草芽孢杆菌含量 10 亿/g,生产批号:10040801/00392)。

选用初始体质量(10.34±0.19)g 的杂交鲟 225 尾,随机分成 5 组,每组设 3 个重复,每个重复 15 尾。在实验容器中适应 1 周后开始实验,分别投喂在基础饲料中添加枯草芽孢杆菌干粉质量分数为 0(对照组)、0.05%(I 组)、0.1%(II 组)、0.25%(III 组)和 0.5%(IV 组)的实验日粮。实验周期为 30 d,分别在第 15 天和第 30 天采样。每次采样前停食 1 d,采样测定其生长性能、肠道消化酶活性及非特异性免疫指标等。

实验在长 90 cm×高 60 cm×宽 30 cm 的玻璃缸中进行,水源为混合的河水和井水,实验期间水温 22~24℃,溶氧保持在 6.0~8.0 mg/L,pH 7.9~8.3。

### 1.2 生长性能指标的测定

分别在饲养的第 15 天和 30 天将实验鱼饥饿 1 d,以减少肠道中食物残留对肠道消化酶活性的影响,对每尾杂交鲟空腹称重。

增重率(%)=[(末体质量-初体质量)/初均体质量]×100;

特定生长率(%)=[(ln 末体质量-ln 初体质量)/投喂时间]×100;

饲料系数 = 饲料摄食量/(末体质量-初体质量)。

### 1.3 血清采集

称重后,活体尾椎动脉取血,4℃静置 2 h,低

温离心机 4 3 000 r/min 离心 10 min,分装,-80℃冻存。

### 1.4 肠道消化酶活性测定

将实验鱼迅速解剖,取出整个肠道,用 4℃双蒸水冲洗,滤纸吸干后放入液氮中冷冻 2 min,然后置于-80℃保存供测酶活性。酶粗提液制备蛋白质含量以牛血清白蛋白做标准,采用考马斯亮蓝法测定<sup>[14]</sup>。蛋白酶活性用福林—酚试剂法<sup>[15]</sup>。淀粉酶活性用淀粉—碘比色法<sup>[16]</sup>。脂肪酶用聚乙烯醇橄榄油法<sup>[15]</sup>。

### 1.5 非特异性免疫指标测定

待检测的非特异性免疫指标包括总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)及溶菌酶(LSZ),均用南京建成生物工程研究所的试剂盒检测。

### 1.6 数据统计分析

实验结果采用 SPSS 11.5 统计软件进行方差分析和 LSD 多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 饲料中添加枯草芽孢杆菌对杂交鲟生长性能的影响

由表 1 可知,饲料中添加枯草芽孢杆菌能显著提高杂交鲟的增重率和特定生长率,降低饲料系数。I、II、III 和 IV 组增重率分别比对照组提高了 24.57%( $P<0.05$ )、24.92%( $P<0.05$ )、54.31%( $P<0.05$ )和 13.06%( $P>0.05$ ),特定生长率分别比对照组提高了 14.17%( $P<0.05$ )、14.44%( $P<0.05$ )、28.61%( $P<0.05$ )和 8.33%( $P>0.05$ ),而饲料系数分别比对照组降低了 21.07%( $P<0.05$ )、21.46%( $P<0.05$ )、36.02%( $P<0.05$ )和 13.41%( $P>0.05$ )。表明,饲料中添加枯草芽孢杆菌可明显促进杂交鲟的生长,添加 0.25%枯草芽孢杆菌组促生长效果最好,显著高于 I、II 和 IV 组( $P<0.05$ )。

### 2.2 饲料中添加枯草芽孢杆菌对杂交鲟消化酶活性的影响

添加组肠道的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均高于对照组,但不存在明显的剂量效应,即消化酶活性没有随着枯草芽孢杆菌浓度的递增而增加(表 2)。添加 15 d 时,III 组实验鱼肠道蛋白酶、

表 1 枯草芽孢杆菌对杂交鲟生长性能的影响  
Tab. 1 Effects of *Bacillus subtilis* on growth performance of hybrid sturgeon

| 组别<br>group   | <i>n</i> =6; $\bar{x}\pm SD$   |                             |                            |                                 |                         |
|---------------|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------------|-------------------------|
|               | 初始体质量/g<br>initial body weight | 终体质量/g<br>final body weight | 增重率/%<br>weight gain rate  | 特定增长率/%<br>specific growth rate | 饲料系数<br>FCR             |
| 对照<br>control | 10.35±0.17 <sup>a</sup>        | 30.57±3.06 <sup>a</sup>     | 195.64±32.38 <sup>a</sup>  | 3.60±0.38 <sup>a</sup>          | 2.61±0.46 <sup>c</sup>  |
| I             | 10.29±0.12 <sup>a</sup>        | 35.39±1.90 <sup>ab</sup>    | 243.71±19.40 <sup>b</sup>  | 4.11±0.19 <sup>b</sup>          | 2.06±0.16 <sup>ab</sup> |
| II            | 10.39±0.14 <sup>a</sup>        | 35.79±1.35 <sup>b</sup>     | 244.40±8.84 <sup>b</sup>   | 4.12±0.08 <sup>b</sup>          | 2.05±0.07 <sup>ab</sup> |
| III           | 10.41±0.24 <sup>a</sup>        | 41.81±3.56 <sup>c</sup>     | 301.90±37.35 <sup>c</sup>  | 4.63±0.30 <sup>c</sup>          | 1.67±0.20 <sup>a</sup>  |
| IV            | 10.26±0.33 <sup>a</sup>        | 33.07±2.21 <sup>ab</sup>    | 221.19±12.63 <sup>ab</sup> | 3.90±0.14 <sup>ab</sup>         | 2.26±0.13 <sup>bc</sup> |

注: 对照组、I 组、II 组、III 组和 IV 组的枯草芽孢杆菌干粉添加量分别为 0、0.05%、0.1%、0.25% 和 0.5%。同列肩标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

Note: Addition of *Bacillus subtilis* dry powder in control and groups I, II, III and IV is 0, 0.05%, 0.1%, 0.25% and 0.5%, respectively. In the same column, values with different superscripts are significantly different( $P<0.05$ ).

表 2 添加枯草芽孢杆菌对各组杂交鲟肠道消化酶活性的影响  
Tab. 2 Effects of *Bacillus subtilis* on digestive enzyme activities in intestine of hybrid sturgeon

| 组别<br>group   | <i>n</i> =6; $\bar{x}\pm SD$ U·mg <sup>-1</sup> (prot) |                            |                         |                         |                          |                         |
|---------------|--|----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
|               | 蛋白酶 amylase  |                            | 淀粉酶 lipase              |                         | 脂肪酶 protease             |                         |
|               | 15 d   | 30 d                       | 15 d                    | 30 d                    | 15 d                     | 30 d                    |
| 对照<br>control | 169.22±12.59 <sup>a</sup>                              | 170.02±6.05 <sup>a</sup>   | 0.27±0.01 <sup>a</sup>  | 0.23±0.01 <sup>a</sup>  | 17.55±0.87 <sup>a</sup>  | 19.80±3.23 <sup>a</sup> |
| I             | 262.34±56.44 <sup>b</sup>                              | 186.77±4.92 <sup>b</sup>   | 0.38±0.04 <sup>ab</sup> | 0.25±0.02 <sup>ab</sup> | 25.14±5.57 <sup>ab</sup> | 24.62±2.07 <sup>a</sup> |
| II            | 349.41±3.57 <sup>c</sup>                               | 193.07±11.88 <sup>bc</sup> | 0.39±0.03 <sup>ab</sup> | 0.28±0.03 <sup>c</sup>  | 32.26±6.14 <sup>ab</sup> | 23.20±2.56 <sup>a</sup> |
| III           | 404.25±22.57 <sup>d</sup>                              | 205.58±7.19 <sup>c</sup>   | 0.48±0.09 <sup>c</sup>  | 0.31±0.01 <sup>d</sup>  | 35.74±8.93 <sup>b</sup>  | 21.72±3.46 <sup>a</sup> |
| IV            | 322.44±22.30 <sup>c</sup>                              | 183.15±5.73 <sup>b</sup>   | 0.35±0.10 <sup>ab</sup> | 0.27±0.02 <sup>bc</sup> | 27.66±1.13 <sup>ab</sup> | 19.84±2.52 <sup>a</sup> |

注: 对照组、I 组、II 组、III 组和 IV 组的枯草芽孢杆菌干粉添加量分别为 0、0.05%、0.1%、0.25% 和 0.5%。同列肩标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。

Note: Additions of *Bacillus subtilis* dry powder in control and groups I, II, III and IV are 0, 0.05%, 0.1%, 0.25% and 0.5%, respectively. In the same column, values with different superscripts are significantly different( $P<0.05$ ).

淀粉酶和脂肪酶活性最高, 均显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。其中, 蛋白酶和淀粉酶的活性显著高于其他添加组 ( $P<0.05$ ), 而各添加组间的脂肪酶活性差异不显著 ( $P<0.05$ )。添加 30d 时, 各添加组的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均低于添加 15d 时的各酶活性, 肠道的淀粉酶和蛋白酶活性显著高于对照组, 而脂肪酶与对照组无显著差异 ( $P>0.05$ )。

### 2.3 饲料中添加枯草芽孢杆菌对杂交鲟非特异性免疫指标的影响

由表 3 可知, 添加 15d 时, 各实验组免疫指标 LSZ、AKP 及抗氧化指标 T-AOC、SOD 均高于对照组。各添加组的 LSZ 活性显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), 组 II、组 III 和组 IV 间差异不显著 ( $P>0.05$ ), 其中组 III 活性最高。AKP 活性 II、III、IV 组显著高于对照组和组 I ( $P<0.05$ ), 其中组 III 最高, 表明饲料中添加 0.25% 枯草芽孢杆菌能显著

提高杂交鲟幼鱼的 AKP 活性。各添加组 T-AOC 水平或活性显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), II 组和 III 组显著高于 I、IV 组 ( $P<0.05$ )。血清 SOD 水平显著高于对照组 ( $P<0.05$ ), III 组显著高于 I、II、IV 组 ( $P<0.05$ )。表明组 III 能显著提高杂交鲟的抗氧化能力。添加 30d 时, 除 SOD 外, 添加组各指标较 15d 时均有所下降。

## 3 讨论

### 3.1 枯草芽孢杆菌与杂交鲟的生长性能和消化酶活性

枯草芽孢杆菌是常用的微生物制剂, 具有较强的耐酸、耐盐、耐高温及耐挤压的特性, 在制作饲料过程中及动物的酸性肠道环境中均能保持高度的稳定性, 能产生多种营养物质如维生素、氨基酸、促生长因子等, 参与机体的新陈代谢, 促

表 3 添加枯草芽孢杆菌对各组杂交鲟血清的非特异性免疫指标  
 Tab. 3 Effects of *Bacillus subtilis* on non-specific immunity indices in serum of hybrid sturgeon

*n*=6;  $\bar{x}\pm SD$

| 组别<br>group | 溶菌酶/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )LSZ |                              | 超氧化物歧化/<br>( $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ )SOD |                               | 碱性磷酸酶/<br>( $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ )AKP |                               | 总抗氧化能力/<br>( $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ )T-AOC |                              |
|-------------|---|------------------------------|---|-------------------------------|--|-------------------------------|---|------------------------------|
|             | 15 d  | 30 d                         | 15d   | 30 d                          | 15 d   | 30 d                          | 15 d  | 30 d                         |
|             | 对照<br>con-<br>trol                              | 10.4 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup> | 10.51 $\pm$ 0.24                                | 41.87 $\pm$ 2.60 <sup>a</sup> | 40.33 $\pm$ 5.16                               | 12.34 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup> | 12.70 $\pm$ 0.34                                  | 9.88 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup> |
| I           | 13.46 $\pm$ 1.22 <sup>b</sup>                   | 10.40 $\pm$ 0.64             | 47.97 $\pm$ 1.29 <sup>b</sup>                   | 45.67 $\pm$ 4.78              | 13.14 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>                  | 9.74 $\pm$ 1.11               | 12.48 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>                     | 11.90 $\pm$ 0.18             |
| II          | 14.20 $\pm$ 0.41 <sup>bc</sup>                  | 12.13 $\pm$ 0.16             | 59.88 $\pm$ 2.27 <sup>c</sup>                   | 69.21 $\pm$ 5.90              | 15.11 $\pm$ 0.87 <sup>bc</sup>                 | 10.97 $\pm$ 0.12              | 15.84 $\pm$ 0.12 <sup>d</sup>                     | 11.85 $\pm$ 0.11             |
| III         | 14.85 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>                   | 11.85 $\pm$ 0.16             | 70.63 $\pm$ 1.62 <sup>d</sup>                   | 76.22 $\pm$ 6.18              | 15.59 $\pm$ 0.87 <sup>c</sup>                  | 13.15 $\pm$ 0.03              | 16.18 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>                     | 12.62 $\pm$ 0.42             |
| IV          | 14.27 $\pm$ 0.05 <sup>bc</sup>                  | 11.48 $\pm$ 0.12             | 60.29 $\pm$ 2.79 <sup>c</sup>                   | 61.50 $\pm$ 6.95              | 14.28 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>                  | 11.28 $\pm$ 0.07              | 11.69 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>                     | 11.13 $\pm$ 0.23             |

注: 对照组、I 组、II 组、III 组和 IV 组的枯草芽孢杆菌干粉添加量分别为 0、0.05%、0.1%、0.25% 和 0.5%。同列肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

Note: Additions of *Bacillus subtilis* dry powder in control and groups I, II, III and IV are 0, 0.05%, 0.1%, 0.25% and 0.5%, respectively. In the same column, values with different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

进鱼体生长, 在水产饲料添加剂中广泛应用<sup>[11]</sup>。本实验表明, 在配合饲料中添加 0.05%、0.1%、0.25%、和 0.5% 的枯草芽孢杆菌均能显著提高杂交鲟的增重率和特定生长率, 降低饲料系数, 最适添加量为 0.25%, 这与 Gatesoupe 等<sup>[4]</sup>对大菱鲆仔鱼的研究、潘康成等<sup>[5]</sup>在鲤、管越强等<sup>[11]</sup>对中华鳖、华雪铭等<sup>[17]</sup>在暗纹东方鲀(*Fugu obscurus*)的实验及 Rengpipa 等<sup>[18]</sup>在斑节对虾(*Penaeus monodon*)、高欣等<sup>[13]</sup>对西伯利亚鲟幼鱼的研究结果一致, 表明饲料中添加适宜的芽孢杆菌可以降低饲料系数, 对鲟幼鱼生长有明显的促进作用。其作用原理, 一方面可能是芽孢杆菌菌体含有大量营养物质, 如蛋白质、矿物质和维生素等, 为水产动物补充营养; 同时, 芽孢杆菌发酵在代谢过程中产生多种酶类或者其他促生长的化合物, 有助于动物对食物的消化和吸收, 促进其生长。

在对三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)、鲤、异育银鲫(*Allogynogenetic crucian*)<sup>[19]</sup>、斑节对虾和奥尼罗非鱼(*Oreochromis aureus* × *O. niloticus*)<sup>[20]</sup>等水产动物上的研究表明, 饲料中添加芽孢杆菌能产生多种酶类, 如蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶等, 降解饲料中复杂化合物的酶类, 如果胶酶、 $\beta$ -葡聚糖酶、纤维素酶、半纤维素酶、葡萄糖异构酶等, 这些酶进入宿主肠道的“酶池”提高了宿主的消化酶活性, 对肠道内营养物质消化吸收、饲料利用率有直接的影响<sup>[13]</sup>。此外, Kou

shik-Ghosh 等<sup>[13]</sup>的研究也表明了芽孢杆菌产生的酶对鱼苗肠道营养物质的吸收利用起着重要的作用。本研究中, 实验组添加 15 d 及 30 d 时, 肠道蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活性均高于对照组, 说明饲料中添加适量的枯草芽孢杆菌能提高鱼类消化酶活力。

添加量 0.25% 组的生长显著 ( $P<0.05$ ) 好于 0.05%、0.1% 和 0.5% 组, 其添加量、增重率及特定生长率及消化酶活力与添加量不呈线性相关。这与管越强等<sup>[11]</sup>、沈文英等<sup>[21]</sup>和刘波等<sup>[22]</sup>的研究结果一致, 添加量过多时, 消化酶活性和增重率反而降低。其原因可能是动物肠道微生物种群及其数量处于一个动态的微生物生态平衡状态, 饲料添加过少或过多的芽孢杆菌都会使这种平衡受到破坏, 导致体内菌群机体肠道菌群结构失调, 过量产生的酶抑制动物体内源酶的活性, 降低了内源酶对营养物质的降解作用, 从而降低了动物的生产性能。添加 15 d 鲟幼鱼肠道的消化酶活性均好于添加第 30 天, 这与沈文英等<sup>[20]</sup>对三角帆蚌的研究发现有相同之处。其原因可能是枯草芽孢杆菌在肠道有较好的定植能力, 随着枯草芽孢杆菌的持续添加而大量繁殖, 同过量添加效果一样, 可能产生过量的酶从而抑制动物体内源酶的活性<sup>[13]</sup>。

由表 1 和表 2 可知, 杂交鲟的生长和消化酶活力之间存在一定的正向作用关系, 和丁贤对凡纳滨对虾的研究<sup>[6]</sup>一致。即消化酶活性在一定程度

上反映出机体对饲料养分的消化利用程度, 可利用酶活性变化作为营养状态指标来指导鲟投喂, 改善饲养效果。

### 3.2 枯草芽孢杆菌与杂交鲟的非特异性免疫指标

机体的抗氧化能力强弱与健康程度存在着密切关系。总抗氧化能力(T-AOC)是衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标, 可以反映机体对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态<sup>[20]</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)对机体的氧化与抗氧化水平起着至关重要的作用, 此酶能清除超氧阴离子自由基, 保护细胞免受损伤。本实验中添加枯草芽孢杆菌实验组的 T-AOC 和 SOD 活性均显著升高, 说明枯草芽孢杆菌的添加可以增强鲟幼鱼机体健康程度, 增强机体对疾病的抵抗能力。这与沈文英等对三角帆蚌的研究结果一致, 其作用机制尚有待进一步深入研究。

溶菌酶对鱼类的非特异性免疫中起着重要的作用, 对革兰氏阴性菌有强烈的杀菌作用。碱性磷酸酶是高等动物体内巨噬细胞溶酶体的标志酶, 在体内直接参与磷酸基团的转移和代谢, 是机体生长代谢, 维持内环境稳定, 维持机体健康所必需的酶, 受营养状况、环境变化、疾病及生长状况的影响<sup>[23-24]</sup>。本研究中, 15 d 时, 各实验组溶菌酶和碱性磷酸酶活均高于对照组, 且组 III 显著高于对照组和其他实验组( $P < 0.05$ )。说明饲料中添加枯草芽孢杆菌可有效提高鲟幼鱼机体的抗氧化能力, 可以减少自由基对正常细胞的损伤, 从而提高机体的防病抗病能力。

本研究结果表明, 饲料中添加枯草芽孢杆菌可有效提高杂交鲟幼鱼的生长性能、肠道的消化酶活性及血清非特异性免疫能力; 就本实验条件而言, 适宜添加水平为 0.25%, 添加的适宜持续时间为 15 d 左右。

#### 参考文献:

[1] 孙大江, 曲秋芝, 马国军, 等. 中国鲟鱼养殖概况[J]. 大连水产学院学报, 2003, 18(3): 216-227.  
[2] 李融, 邹远超, 王如才. 中国鲟鱼养殖业存在的问题及其对策[J]. 中国渔业经济, 2007(5): 16-19.

[3] 余勇, 李会荣, 李筠, 等. 益生菌制剂在水产养殖中的应用[J]. 中国水产科学, 2001, 8(2): 92-96.  
[4] Gatesoupe F J. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic *Vibrio* [J]. Aquatic Living Res, 1994, 7: 277-283.  
[5] 潘康成, 何明清, 刘克琳. 微生物添加剂对鲤鱼生长和消化酶活性的影响[J]. 饲料工业, 1997, 18(10): 41-42.  
[6] 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): 581-585.  
[7] Ziaei-Nejad S, Rezaei M H, Takami G A, et al. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicu*[J]. Aquaculture, 2006, 252: 516-524.  
[8] Nayak S K, Swain P, Mukherjee S C. Effect of dietary supplementation of probiotic and vitamin C on the immune response of Indian major carp, *Labeo rohita* [ J ]. Fish Shellfish Immunol, 2007, 23(4) : 892-896.  
[9] Wen-Ying Shen, Ling-Lin Fu, Wei-Fen Li & Yao-Rong Zhu. Effect of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Aquaculture Research, 2010, 41: 1691-1698.  
[10] Wang Y B, Tian ZQ, Yao J T. & Li W F. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response[J]. Aquaculture, 2008, 277: 203-207.  
[11] 管越强, 周环, 张磊, 等. 枯草芽孢杆菌对中华鳖生长性能、消化酶活性和血液生化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22(1): 235-240.  
[12] 仇明, 封功能, 齐志涛等. 枯草芽孢杆菌对斑点叉尾鲟生长性能及消化酶活力的影响. 饲料工业, 2010, 31(20): 15-18.  
[13] 高欣. 芽孢杆菌对西伯利亚幼鱼摄食生长及肠道菌群的影响[D]. 石家庄: 河北师范大学, 2008: 1-82.  
[14] 武金鑫. 生物化学实验原理与技术[M]. 保定: 河北大学出版社, 2005: 70-71.  
[15] 中山大学生物系. 生化技术导论[M]. 北京: 人民教育出版社, 1979: 52-54.  
[16] 上海市医学化验所. 临床生化检验[M]. 上海: 上海科技出版社, 1979: 366-368.  
[17] 华雪铭, 周洪琪, 张宇峰, 等. 饲料中添加壳聚糖和益生菌对暗纹东方鲀幼鱼生长及部分消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2005, 29(3): 299-305.  
[18] Rengpipat S, Phianphak W, Piyatiratitivorakul S. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth [J]. Aquaculture, 1998, 167: 301-313.  
[19] 刘小刚, 周洪琪, 华雪铭, 等. 微生态制剂对异育银鲫消化酶

- 活性的影响[J]. 水产学报, 2002, 26(5):448–451.
- [20] 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[J]. 淡水渔业, 2008, 38(4):30–35.
- [21] 沈文英, 余东游, 李卫芬, 等. 地衣芽孢杆菌对三角帆蚌消化酶活性、免疫指标和抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2009, 21(1):95–100.
- [22] 刘波, 刘文斌, 王恬. 地衣芽孢杆菌对异育银鲫消化机能和生长的影响[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(4): 80–84.
- [23] 刘红柏, 张颖, 白秀娟. 史氏鲟及小体鲟不同组织中磷酸酶活性的比较[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2006(6):92–93.
- [24] 刘红柏, 魏巍. 史氏鲟及小体鲟不同组织中溶菌酶水平的比较[J]. 水产学杂志, 2007, 20(1): 57–60.

## Effects of *Bacillus subtilis* on growth, digestive enzyme activity, and non-specific immunity in hybrid sturgeon (*Acipenser baeri* ♂ × *Acipenser schrenkii* ♀) juveniles

LIU Xiaoyong<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>2</sup>, QI Qian<sup>1</sup>, ZHAO Mingjun<sup>3</sup>, MAI Likai<sup>1</sup>, SUN Dajiang<sup>2</sup>

1. Technological and Engineering Center of Sturgeon's Reproduction, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Beijing 100070, China;  
 2. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin 150070, China;  
 3. Chinese Academy of Fisheries Sciences, Beijing 100141, China

**Abstract:** We evaluated the effects of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on growth, digestive enzyme activity, and non-specific immunity in hybrid sturgeon (*Acipenser baeri* ♂ × *Acipenser schrenkii* ♀) juveniles. The hybrid sturgeon fingerlings ( $n=225$ , initial average weight:  $10.34 \pm 0.19$  g) were randomly assigned to 5 groups (3 replicates/group,  $n=15$  per replicate) that were fed one of five diets containing 0 (control), 0.05% (group I), 0.1% (group II), 0.25% (group III), or 0.5% (group IV) *B. subtilis* for 30 d. Growth was improved in hybrid sturgeon fed a diet containing 0.25% *B. subtilis* (group III). Weight gain and the specific growth ratio increased by 54.31% and 28.61%, respectively, compared with the control group ( $P<0.05$ ). The feed conversion ratio was 36.02% lower than in the control group ( $P<0.05$ ), and was significantly lower than in the other groups ( $P<0.05$ ). The activities of amylase, lipase, and protease were higher in the intestine in all groups compared with the control group. Furthermore, activity was higher on day 15 than on day 30. Digestive enzyme activity was highest in group III and was significantly higher than in the control group ( $P<0.05$ ). Similarly, lysozyme, superoxide dismutase, and alkaline phosphatase activity and total antioxidant capacity were higher in group III than in the remaining groups on day 15 ( $P<0.05$ ). The indices of non-specific immunity were lower on day 30 than on day 15 in group III and were not significantly different from the control group. Our results suggest that the addition of *B. subtilis* to the diet increases digestive enzyme activity and non-specific immunity and promotes the growth of hybrid sturgeon juveniles. The benefits were most pronounced at a level of 0.25% with repeated supplementation every 15 d.

**Key words:** *Bacillus subtilis*; hybrid sturgeon; growth performance; digestive enzymes; non-specific immunity indices

**Corresponding author:** SUN Dajiang. E-mail:sundajiang0451@sohu.com