

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.01027

养殖水体中添加芽孢杆菌对草鱼免疫和抗氧化功能的影响

李卫芬, 张小平, 宋文辉, 邓 斌, 梁权, 傅罗琴, 郑佳佳, 余东游

浙江大学 动物科学学院饲料研究所, 浙江 杭州 310058

摘要: 选取体质量约 45 g 的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)210 尾, 随机分为 2 组, 每组设 3 个重复; 对照组在水中不添加任何菌, 处理组每隔 7 天分别向水中按照 1×10^8 cfu/m³ 添加芽孢杆菌(*Bacillus*)菌粉, 二组均饲喂基础日粮。结果表明, 与对照组相比, 处理组血清球蛋白、白球比、免疫球蛋白 M(IgM)和补体 C₃ 分别提高了 44.62%($P < 0.05$)、54.59%($P < 0.05$)、8.28%($P > 0.05$)和 45.12%($P < 0.01$), 而血清总蛋白、白蛋白以及溶菌酶(LZM)、血清髓过氧化物酶(MPO)和碱性磷酸酶(AKP)活性无显著变化($P > 0.05$); 与对照组相比, 处理组草鱼肝脏、血清和肠黏膜中总抗氧化力(T-AOC), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和抗超氧阴离子自由基(ASAFR)显著升高($P < 0.01$), 而肝脏中丙二醛(MDA)含量显著下降($P < 0.01$), 肠黏膜 MDA 显著升高($P < 0.01$), 血清中 MDA 无显著影响。由此可见, 水体中添加芽孢杆菌制剂可以提高草鱼机体免疫力和抗氧化活性, 但也使草鱼肠道受到一定程度的应激胁迫。

关键词: 芽孢杆菌; 草鱼; 免疫; 抗氧化

中图分类号: S94

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)05-1027-07

草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 属鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科 (Cyprinidae)、雅罗鱼亚科 (Leuciscinae)、草鱼属, 与青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*)、鳙 (*Aristichthys nobilis*)、鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 并称为中国四大淡水鱼^[1], 广泛分布于中国南北水域。近年来, 中国水产养殖的集约化发展导致水环境日益恶化, 病害频繁发生及大量使用抗生素和违禁药物所引起的细菌抗药性等问题, 严重影响了水产业的健康持续发展, 所以寻找一条可以增强水产动物免疫功能的途径, 势在必行。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, 同时具有无毒、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^[2]。同时国内外学者研究表明, 芽孢杆菌不仅可以改善水质^[3-4], 提高鱼类和虾的消化酶活性促进生长^[5-7], 还能提高免疫功能, 增强抗病力^[8-9]。但有关芽孢杆菌对鱼类免疫和抗氧

化功能的研究较少。作者研究了水体中添加芽孢杆菌对草鱼免疫及抗氧化功能的影响, 以期为芽孢杆菌在草鱼养殖中的合理利用提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

草鱼由浙江省绍兴市水产技术推广站提供, 体质量约为 45 g。试验所用饵料由浙江一星饲料集团按试验要求加工制得, 基础日粮配方和营养水平如表 1。复合芽孢杆菌制剂(菌含量为 10^8 cfu/g)由本实验室制备, 为枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌按照 4:1 的比例加工制成。

1.2 试验动物分组与饲养管理

试验在浙江绍兴县水产技术推广站水产养殖基地进行。草鱼用 2.5% 的食盐水进行浸泡消毒, 暂养 10 d 后, 选取体质量约 45 g 的草鱼 210 尾, 随机分为 2 组: 对照组和实验组, 每组设 3 个平

收稿日期: 2011-09-30; 修订日期: 2012-01-04.

基金项目: 国家 973 计划项目(2009CB118705).

作者简介: 李卫芬(1965-), 女, 研究员, 博士, 研究方向: 微生物与基因工程. E-mail: wfli@zju.edu.cn

通信作者: 余东游, 研究员. E-mail: dyu@zju.edu.cn

表 1 基础饵料的原料组成和营养成分
Tab. 1 Ingredients and nutritional composition of the basal diet

原料组成 ingredients	比例/% composition	营养成分 nutritional index	比例/%(湿重) composition (wet weight)
鱼粉 fish meal	2	水分 moisture	9.72
全脂大豆 soybean meal	5	粗蛋白 crude protein	29.36
棉籽粕 cottonseed meal	23	粗脂肪 crude fat	3.35
菜籽粕 rapeseed meal	27	粗灰分 crude ash	10.88
小麦粉 wheat flour	17	钙 calcium	0.71
全脂米糠 rice bran	8	总磷 total phosphonium	1.21
酒糟粉 lee power	6		
麦芽根 malt root	6		
预混料 premix	5		
添加剂 additive	1		
合计 total	100		

行重复, 每个重复 35 尾鱼; 对照组在水中不添加任何菌, 饲喂基础日粮; 处理组饲喂基础日粮, 每隔 7 天分别向水中按照 1×10^8 cfu/m³ 添加芽孢杆菌菌粉。实验鱼在圆形水桶中饲养, 养殖实际水体积为 1m³, 饲养水温 15~20℃, 前一天 18:00 到第 2 天 8:00 开启空气压缩机定时增氧(一般每天中午也开启 2 h)。每天 9:00 和 17:00 两次投饵, 日投饵量为体质量的 2%。实验时间为 4 周, 实验期间内不换水(养殖期间水质状况本实验室另有文章发表说明), 每周清除残饵和粪便, 水源为经过充分曝气的自来水。

1.3 样品采集

在 28 d 养殖试验结束时, 草鱼停饲 24 h 并全体称重。再从每个水箱中随机抽取 12 尾鱼, 屠宰取样。血清样品: 尾椎静脉采取血样, 4℃ 静置 24 h 后, 4℃ 4 000 r/min 离心 15 min, 取其上清液(即血清)于 1.5 mL eppendorf 管中, -80℃ 保存, 备用。肝脏样品: 将每尾鱼的肝脏装于密封样品袋中, 立即用液氮快速冷冻, 然后转至超低温冰箱中, -80℃ 保存, 待分析用。

1.4 组织匀浆的制备

1.4.1 肝脏匀浆的制备 分别准确称取 0.5 g 草鱼肝样品于灭菌的 10 mL 离心管中, 加 4.5 mL 灭菌、预冷的 0.85% 生理盐水, 然后用自动匀浆器于冰上匀浆, 即为 10% 组织匀浆液。匀浆后于 4℃、4 000 r/min 离心 10 min, 离心两次, 然后取上清

于 1.5 mL eppendorf 管中, -80℃ 保存, 备用。

1.4.2 肠黏膜匀浆的制备 分别准确称取 0.1g 草鱼肠黏膜样品于灭菌的 1.5 mL 离心管中, 加 0.9 mL 灭菌、预冷的 0.85% 生理盐水, 然后用自动匀浆器于冰上匀浆, 即为 10% 肠黏膜匀浆液。匀浆后于 4℃、4 000 r/min 离心 10 min, 离心两次, 然后取上清于 1.5 mL eppendorf 管中, -80℃ 保存, 备用。

1.5 指标测定

1.5.1 免疫指标测定 血清总蛋白测定采用考马斯亮兰法, 白蛋白测定采用溴甲酚绿比色法。球蛋白含量即总蛋白减去白蛋白后的蛋白含量。溶菌酶(lysozyme)、补体 C3(Complement 3)含量、血清髓过氧化物酶(Myeloperoxidase, MPO)和碱性磷酸酶(AKP)。上述免疫指标的测定均用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒, 并按说明书操作进行。

1.5.2 血清和肝胰脏抗氧化指标的测定 超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、还原型谷胱甘肽(GSH)、抗超氧阴离子自由基(ASAfr)、丙二醛(MDA)等。上述抗氧化指标的测定均用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒, 并按说明书操作进行。

1.6 数据统计及分析

利用 Excel 数据处理软件进行数据处理; 采用 SPSS16.0 统计软件, 对数据进行单因素方差分

析，实验数据均用平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 芽孢杆菌对草鱼免疫功能的影响

由表 2 可见，与对照组相比，处理组草鱼血清球蛋白、A/G 和补体 C₃ 含量分别提高了 44.62% ($P<0.05$)、54.59% ($P<0.05$)和 45.12% ($P<0.01$)，IgM 含量有升高趋势；水体中添加芽孢杆菌对草鱼血清中总蛋白、白蛋白以及 LZM、MPO 和 AKP 活性无显著影响 ($P>0.05$)。上述结果表明，在水体中添加芽孢杆菌制剂可以提高血清中大部分非特异性免疫指标的含量。

2.2 水体中添加芽孢杆菌对草鱼抗氧化功能的影响

2.2.1 肝 养殖水体中添加芽孢杆菌可以提高草

鱼肝脏抗氧化功能(表 3)，与对照相比，处理组草鱼肝脏中除 CAT 活性无显著差异外，T-AOC、SOD、ASAFR、GSH-Px 和 GSH 含量分别提高了 28.46% ($P<0.05$)、81.38% ($P<0.01$)、108.10% ($P<0.01$)、12.73% ($P<0.05$)和 243.62% ($P<0.01$)，MDA 含量比对照组下降了 15.93% ($P<0.01$)。

2.2.2 血清 水体中添加芽孢杆菌可以影响草鱼血清的抗氧化功能(表 4)，与对照组相比，处理组草鱼血清中 T-AOC、GSH-Px 和 ASAFR 含量提高了 49.39% ($P<0.01$)、18.64% ($P<0.01$)和 32.84% ($P<0.01$)；处理组 SOD 和 MDA 与对照组差异不显著。

2.2.1 肠黏膜 由表 5 可知，处理组肠黏膜 T-AOC、SOD、ASAFR、CAT、GSH-Px、GSH、MDA 含量与对照组相比分别提高了 8.02%

表 2 芽孢杆菌对草鱼血清免疫指标的影响
Tab. 2 Effect of *Bacillus* preparation on serum immune of grass carp

n=3; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	对照组 control group	处理组 treatment group
总蛋白/(g·L ⁻¹)total serum protein	24.37±2.77	25.02±5.13
白蛋白/(g·L ⁻¹)albumin	19.86±1.33	18.97±0.45
球蛋白/(g·L ⁻¹) globulin	10.13±1.36 ^b	13.65±2.19 ^a
白球比 A/G albumin to globulin ratio	2.18±0.41 ^b	3.37±1.94 ^a
IgM/(g·L ⁻¹)	0.145±0.0069	0.157±0.00443
LZM/(μg·mL ⁻¹)	0.82±0.17	0.96±0.07
髓过氧化物酶 MPO/(U·L ⁻¹)	44.25±1.66	45.23±1.62
补体 C ₃ /(g·L ⁻¹)	0.49±0.01 ^B	0.71±0.03 ^A
碱性磷酸酶 AKP(金氏单位/dL)	4.67±0.43	5.17±0.23

注：同行肩注不同大写字母，差异极显著 ($P<0.01$)；同行肩注不同小写字母，差异显著 ($P<0.05$)。
Note: In the same column, means with different uppercase letters are significantly different ($P<0.01$); means with different lower case letters are significantly different ($P<0.05$).

表 3 芽孢杆菌对草鱼肝脏抗氧化功能的影响
Tab. 3 Effect of *Bacillus* preparation on antioxidant index in liver of grass carp

n=3; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	对照组 control group	处理组 treatment group
总抗氧化能力 T-AOC/(U·mL ⁻¹)	15.74±0.27 ^b	20.22±0.58 ^a
超氧化物歧化酶 SOD/(U·mL ⁻¹ prot)	89.79±16.55 ^B	162.86±5.60 ^A
抗超氧阴离子自由基 ASAFR/(U·g ⁻¹ prot)	283.71±14.49 ^B	590.41±19.74 ^A
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(μmol·L ⁻¹)	374.52±25.69 ^B	422.18±25.06 ^A
过氧化氢酶 CAT/(U·mL ⁻¹)	14.99±0.28	15.34±0.4
还原型谷胱甘肽 GSH/(mg·g ⁻¹ prot)	235.52±19.86 ^B	809.30±23.79 ^A
丙二醛 MDA/(nmol·mg ⁻¹ prot)	6.34±0.06 ^A	5.33±0.08 ^B

注：同行肩注不同大写字母，差异极显著 ($P<0.01$)；同行肩注不同小写字母，差异显著 ($P<0.05$)。
Note: In the same column, values with different uppercase letters are significantly different ($P<0.01$); values with different lower case letters are significantly different ($P<0.05$).

表 4 芽孢杆菌对草鱼血清抗氧化功能的影响
Table 4 Effect of *Bacillus subtilis* on serum antioxidant index of grass carp

n=3; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	对照组 control group	处理组 treatment group
总抗氧化能力 T-AOC/(U·mL ⁻¹)	4.07±0.65 ^B	6.08±1.36 ^A
超氧化物歧化酶 SOD/(U·mL ⁻¹)	22.04±3.17	21.10±1.01
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(μmol·L ⁻¹)	249.57±7.42 ^B	296.09±16.03 ^A
抗超氧阴离子自由基 ASAFR/(U·L ⁻¹)	85.87±2.65 ^B	114.07±2.29 ^A
还原型谷胱甘肽 GSH/(mg·L ⁻¹)	67.03±3.15	68.41±7.32
丙二醛 MDA/(nmol·mL ⁻¹)	8.17±0.43	8.28±0.47

注: 同行肩注不同大写字母, 差异极显著($P<0.01$); 同行肩注不同小写字母, 差异显著($P<0.05$).
Note: In the same column, means with different uppercase letters are significantly different ($P<0.01$); means with different lower case letters are significantly different ($P<0.05$).

表 5 芽孢杆菌对草鱼肠黏膜抗氧化功能的影响
Table 4 Effect of *Bacillus subtilis* on intestinal mucosal antioxidant of grass carp

n=3; $\bar{x} \pm SD$

指标 index	对照组 control group	处理组 treatment group
总抗氧化能力 T-AOC/(U·mL ⁻¹)	2.51±0.07 ^B	2.71±0.06 ^A
超氧化物歧化酶 SOD/(U·mg ⁻¹ prot)	11.78±0.19 ^B	14.49±0.14 ^A
抗超氧阴离子自由基 ASAFR/(U·g ⁻¹ prot)	60.88±4.53 ^B	73.53±2.35 ^A
过氧化氢酶 CAT/(U·mL ⁻¹)	1.69±0.07 ^B	2.05±0.07 ^A
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(μmol·mL ⁻¹)	21.29±1.17 ^B	42.68±0.99 ^A
还原型谷胱甘肽 GSH/(mg·g ⁻¹ prot)	5.49±0.21 ^B	8.97±0.20 ^A
丙二醛 MDA/(nmol·mg ⁻¹ prot)	4.66±0.08 ^B	5.26±0.11 ^A

注: 同行肩注不同大写字母, 差异极显著($P<0.01$); 同行肩注不同小写字母, 差异显著($P<0.05$).
Note: In the same column, means with different uppercase letters are significantly different ($P<0.01$); means with different lower case letters are significantly different ($P<0.05$).

($P<0.01$)、23.07%($P<0.01$)、20.77%($P<0.01$)、21.30%($P<0.01$)、100.53%($P<0.01$)、63.51%($P<0.01$)、12.88%($P<0.01$)。结果表明, 在水体中添加芽孢杆菌制剂可以增强草鱼肠黏膜的抗氧化能力, 但也产生了一定应激。

3 讨论

3.1 对草鱼免疫功能的影响

血清总蛋白是血清固体成分中含量最多的一类物质, 可分为白蛋白和球蛋白两类, 具有维持血管内正常胶体渗透压和酸碱度、运输多种代谢物、调节被运输物质的生理作用等多种功能, 并与机体的免疫功能有着密切的关系。IgM 是一类存在于所有有颌类脊椎动物中的抗体, 其重链从软骨鱼类到哺乳类中都具有较高的保守性^[10]。IgM 也是初次体液免疫应答中最早出现的抗体, 是机体抗感染的“先头部队”。单体 IgM 以膜结合

型(mIgM)表达于细胞表面, 构成 B 细胞抗原受体(BCR)。

存在于鱼类血液或黏液中的具有非特异性抵抗作用的分子包括溶菌酶、补体等^[11]。溶菌酶是在鱼体抵抗感染性致病菌的最前沿防御机制中起着重要作用, 主要存在于鱼类的黏液、血清、吞噬细胞和单核细胞的胞浆内^[12]。病原体入侵时, 可刺激鱼血液中溶菌酶浓度的升高, 溶菌酶通过酶解病原体细胞壁的黏多糖导致病原细胞的破裂, 尤其是对革兰氏阳性细菌或者某些特定的细菌细胞具有较好的溶解效果^[13]。补体同样是鱼类抵抗微生物感染的重要成分, 由具有酶活性的球蛋白组成, 补体 C3 是血清补体系统的主要成分。补体经激活后主要通过攻膜复合物完成细胞溶解或促进细胞吞噬作用, 并以此来防御病原菌的入侵。髓过氧化物酶存在于中性白细胞中, 是鱼体内一种重要的氧化酶, 能够利用氧碱性磷酸酶(AKP)

是磷代谢过程的重要酶类之一, 主要存在于骨骼、肝脏、肠黏膜细胞中, 与机体生长密切相关。化性基团(如 H_2O_2 等)产生具有更强杀菌效果的次氯酸, 这个过程对杀灭病原微生物具有重要的作用。

本实验结果表明, 水体中添加芽孢杆菌制剂可以提高血清球蛋白、A/G、IgM 和补体 C_3 , 这说明水体中添加芽孢杆菌可提高机体免疫力。这与 Nayak 等^[14]和 Kumar 等^[15]的研究结果相似。刘克林等^[16]采用有益芽孢杆菌制成微生物添加剂, 对鲤的生长和免疫功能进行试验, 结果显示, 试验组免疫器官胸腺、脾脏生长发育较对照组迅速、成熟快, 电镜观察免疫器官内 T、B 淋巴细胞较对照组成熟快、数量增多、产生抗体增多, 免疫功能增强。王雄等^[17]通过向水体施用一定量的微生态制剂, 研究了银鲫血清溶菌酶活性的变化, 结果表明, 投喂微生态制剂 7 d 后, 实验组银鲫溶菌酶的活性极显著差异于投喂制剂前及对照组。芽孢杆菌制剂能够提高草鱼免疫力可能是由于所添加的芽孢杆菌降低了水体中氨氮含量, 为草鱼营造了相对较好的生存环境。另外, 水体中的芽孢杆菌还能产生抗菌活性物质, 抵抗病原菌的定植和侵害, 提高了草鱼的免疫力。

3.2 对草鱼抗氧化功能的影响

动物细胞生存需要适当的氧化与抗氧化平衡, 当自由基大量产生, 超过机体的抗氧化能力时, 就会造成氧化损伤。病理或应激状态可产生大量自由基, 其中作用最广的是氧自由基。氧自由基可与细胞膜、细胞器膜上的不饱和脂肪酸发生连锁的脂质过氧化反应, 生成脂质过氧化物, 影响动物机体的正常代谢功能或受损时的自我修复机能。鱼类同样容易受到氧自由基的攻击, 当然鱼类也有抗氧化防御系统。在鱼体中, 抗氧化物质主要包括抗氧化酶(如 CAT、SOD、GSH-Px、GR 等)和非酶类的抗氧化物质(如维生素 E、维生素 C 等), 它们分别催化与活性氧有关的不同化学反应。

总抗氧化能力(T-AOC)是近年研究发现的用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,

代表和反映机体抗氧化酶系统和非酶促系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态。氧化物歧化酶(SOD)属于重要的抗氧化酶, 也是无脊椎动物机体非特异性免疫的一个重要方面^[18]。SOD 是机体中唯一以超氧阴离子(O_2^-)为底物的酶, 催化 O_2^- 歧化为 H_2O_2 和 O_2 , 从而减少 O_2^- 在生物体内的积聚并阻断其转化为羟基自由基 $\text{OH}\cdot$, 维持细胞内的氧自由基处于低量无害状态。过氧化氢酶(CAT)存在于红细胞及某些组织内的过氧化氢中, 它的主要作用就是催化 H_2O_2 分解为 H_2O 与 O_2 , 防止 H_2O_2 不至于与 O_2 在铁螯合物作用下反应生成非常有害的 $\cdot\text{OH}$ 。还原型谷胱甘肽(GSH)是一种低分子清除剂, 它可清除 O_2^- 和 $\text{OH}\cdot$ 等, 缺乏或耗竭 GSH 会使许多化学物质或环境因素的毒性作用加重, 增加氧化损伤。因此, GSH 的含量是衡量机体抗氧化能力的重要因素。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是机体内广泛存在的一种重要过氧化物分解酶, 它特异性地催化还原型谷胱甘肽(GSH)对脂质氢过氧化物的还原反应, 从而保护细胞和细胞膜免受氧化损伤。丙二醛(MDA)是脂质过氧化作用的最终分解产物, 其含量可间接反映机体的活性氧自由基和脂质的过氧化水平, 从而间接反映出细胞受损伤的程度。

本研究结果表明, 水体中添加芽孢杆菌可通过提高血清和肝胰脏中的相关抗氧化物的活性或含量来增强草鱼血清、肝脏和肠黏膜的抗氧化功能, 具体表现为草鱼血清中 T-AOC、GSH-Px、ASAFR 以及肝脏中 T-AOC、SOD、ASAFR、GSH-Px、GSH 和肠黏膜中 T-AOC、SOD、ASAFR、CAT、GSH-Px、GSH 含量显著提高。但添加芽孢杆菌菌剂后机体也受到了一定刺激, 肠黏膜中脂质过氧化物含量显著高于对照组。黄俊文^[19]等菌对仔猪的免疫和抗氧化机能有改善作用, 添加纳豆芽孢杆菌后 MDA 含量显著降低, GSH-Px 活性增加。沈文英等^[20]发现在养殖水体中添加芽孢杆菌使三角帆蚌血清中的 T-AOC 和 SOD 活性均显著升高, 且不影响血清丙二醛的含量。添加芽孢杆菌添加到养殖水体中, 作为抗氧化激活剂刺激

机体抗氧化系统中的酶分泌,减少氧化损伤,抗氧化物质分泌增多,从而提高了草鱼体的抗氧化能力。处理组黏膜 MDA 含量显著高于对照组,表明添加芽孢杆菌到草鱼养殖水体中可能对草鱼肠黏膜产生应激,而且芽孢杆菌促进机体产生的抗氧化物质不能完全中和外在刺激对机体产生的损伤。

4 结论

1) 水体中添加枯草芽孢杆菌可提高草鱼的部分特异性和非特异免疫功能。

2) 水体中添加枯草芽孢杆菌可提高草鱼的抗氧化功能,进而减轻自由基对机体的损伤,但也使肠道受到了一定程度的应激胁迫。

参考文献:

- [1] 杨锋.草鱼小档案[J].饮食科学, 2006, (2): 29.
- [2] 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.
- [3] Laloo R, Ramchuran S, Ramduth D, et al. Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish [J]. J Appl Microbiol, 2007, 103:1471-1479.
- [4] Zhou XX, Wang YB, Li WF. Effect of probiotic on larvae shrimp (*Penaeus vannamei*) based on water quality, survival rate and digestive enzyme activities [J]. Aquaculture, 2009, 287: 349-353.
- [5] Wang Yanbo, Gu Qing. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of Arbor Acres broilers [J]. Res Veter Sci, 2010, 89: 163-167.
- [6] Shen Wenying, Fu Linglin, Li Weifen, et al. Effect of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* on the growth, performance, immune response and antioxidant activities of the shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Aqu Res, 2011, 41: 1691-1698.
- [7] 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.
- [8] 华雪铭, 周洪琪, 张冬青, 等. 多糖和益生菌对暗纹东方鲀免疫功能的调节[J]. 水产学报, 2006, 30(2): 230-235.
- [9] 刘慧玲, 黄翔鹤, 李长玲, 等. 不同浓度的枯草芽孢杆菌对罗非鱼鱼苗的养殖水体水质及其抗病能力的影响[J]. 水产养殖, 2009, 30(10): 5-9.
- [10] Warr G W. The immunoglobulin genes of fish [J]. Dev Comp Immunol, 1995, 19: 1-12.
- [11] 聂品. 鱼类非特异性免疫研究的新进展[J]. 水产学报, 1997, 21: 69-73.
- [12] Ellis A E. Immunity to bacteria in fish [J]. Fish Shellfish Immunol, 1999(9): 291-308.
- [13] Panigrahi A, Kiron V, Satoh S, Hirono I, Kobayashi T, Sugita H, et al. Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding [J]. Dev Comp Immunol, 2007, 31: 372-82.
- [14] 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* (Ham.) [J]. Fish Shellfish Immunol, 2007, 23: 892-896.
- [15] Kumar R, Mukherjee S C, Prasad K P, et al. Evaluation of *Bacillus subtilis* as a probiotic to Indian major carp *Labeo rohita* (Ham.) [J]. Aqu Res, 2006, 37: 1215-1221.
- [16] 刘克琳, 何明清. 益生菌对鲤鱼免疫功能影响的研究[J]. 饲料工业, 2000, 21(6): 24-25.
- [17] 王雄, 邓微, 陈孝煊. 微生态制剂对银鲫血清溶菌酶活性的影响[J]. 水利渔业, 2004, 24(3): 15-16.
- [18] 刘恒, 李光友. 免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29(2): 113-118.
- [19] 黄俊文, 林映才, 冯定远, 等. 益生菌、甘露寡糖对早期断奶仔猪生长、免疫和抗氧化机能的影响[J]. 动物营养学报, 2005, 17(4): 16-20.
- [20] 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.

Effects of *Bacillus* preparation added to culture water on immunity and antioxidant activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

LI Weifen, ZHANG Xiaoping, SONG Wenhui, DENG Bin, LIANG Quan, FU Luoqin, ZHENG Jiajia, YU Dongyou

Institute of Feed Science, College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of *Bacillus* on immunity and antioxidant activities within grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). A total of 210 grass carp individuals of similar initial weight (45g), were randomly divided into two groups (three replicates for each group). The control group was fed the basal diet while the treatment group was fed the basal diet and the added *Bacillus* preparation. The *Bacillus* preparation was added every seven days to the culture water as a concentration of $1 \times 10^8 \text{ cfu m}^{-3}$. The results showed that the globulin, albumin to globulin ratio, immunoglobulin M (IgM) and the complement 3 (C3) level in the serum of the treatment groups increased by 44.62% ($P < 0.05$), 54.59% ($P < 0.05$), 8.28% ($P > 0.05$) and 45.12% ($P < 0.01$), respectively, compared to the control. However, the contents of total serum protein, albumin, analyze lysozyme (LZM), myeloperoxidase (MPO) and alkaline phosphatase (AKP) were not affected by *B. subtilis* preparation added to culture water ($P > 0.05$). Compared with the control, the total antioxidant activity (T-AOC), glutathione peroxidase (GSH-Px) and antisuperoxide anion free radical (ASAFR) from liver, serum and intestinal mucosal of grass carp of treatment groups were significantly higher ($P < 0.01$) than those of control. The malondialdehyde (MAD) level in the liver significantly decreased, while intestinal mucosal levels significantly increased and the serum had no different effect. The results indicated that *Bacillus* preparations added into culture water can not only promote the immunity and antioxidant ability of grass carp, but also induce intestinal stress.

Key words: *Bacillus* preparation; grass carp; immune response; antioxidant activities

Corresponding author: YU Dongyou. E-mail: dyyu@zju.edu.cn

欢迎订阅 2013 年度《福建水产》

《福建水产》创刊于 1972 年, 是福建省海洋与渔业厅主管, 福建省水产学会与福建省水产研究所主办的学术期刊, 国内外公开发刊, 国内统一刊号: CN35-1097/S, 国际标准刊号: ISSN-1006-5601。现已被中国科技期刊数据库、中国期刊全文数据库、《中国水产文摘》、《中国学术期刊(光盘版)》、万方数据——数字化期刊、维普中文期刊、中文科技期刊数据库、中国核心期刊遴选数据库、中国学术期刊综合评价数据库、中国学术期刊(光盘版)、中国科学文献计量评价数据库(ASPT)、中国期刊网、龙源期刊网等收录。《福建水产》主要刊载海洋渔业生态与环境保护、水产资源、捕捞技术、水产增养殖、渔船和渔机、仪器、水产品加工与利用等, 设有专家论坛、论文与报告、综述与其他栏目。主要读者对象是水产科技、教育工作者, 各级水产行政领导、基层干部和水产专业户等。

本刊为双月刊, 逢双月 25 日出版, 每期 84 页, 大 16 开, 定价为 10.00 元/期, 全年 60.00 元。读者可直接汇款至编辑部订阅(可补订、散订), 也可通过银行转账订阅。开户行: 厦门东渡农行, 户名: 福建省水产研究所, 账号: 329001040000020。竭诚欢迎订阅!

联系方式:

地址: 福建省厦门市湖里区东渡海山路 7 号 福建省水产研究所《福建水产》编辑部

邮编: 361013 电话: 0592-6014562 5678551 传真: 0592-6013055

E-mail: fjsc@fjfish.ac.cn 网址: <http://www.fjfish.cn>