

DOI: 10.12264/JFSC2023-0107

两种乳酸菌对尼罗罗非鱼生长及免疫性能的影响

路广金¹, 张冲¹, 周建平², 赵亚选¹, 李岩¹, 姚智磊¹, 于明¹, 陈广韬¹, 季相山¹, 陈红菊¹

1. 山东农业大学动物科技学院, 山东 泰安 271018;
2. 泰安市岱岳区水产技术推广站, 山东 泰安 271000

摘要: 为研究饲料中添加植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)LP-37 与戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*) PP-23 对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长及免疫性能的影响, 试验共分为 7 组: 对照组 C0, 投喂基础饲料; L1-L3 组, 在基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g、 1.0×10^7 CFU/g、 1.0×10^8 CFU/g)植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组, 在基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g、 1.0×10^7 CFU/g、 1.0×10^8 CFU/g)戊糖片球菌 PP-23。结果表明: 除 L1 组外, 其余试验组末均重(123.22~158.60) g 较 C0 组(118.16±4.88) g 均显著增高($P < 0.05$); 除 L1 组与 P1 组外, 其余试验组增重率(128.69%~156.20%)较 C0 组(108.16±0.45)%均显著提高($P < 0.05$), L3 与 P2 组末均重和增重率极显著高于 C0 组($P < 0.01$)。各试验组均能在一定程度上提高尼罗罗非鱼 3 种消化酶活性, 并且与促生长结果类似, L3 和 P2 组提升的幅度最大, L3 组分别为: 蛋白酶(1.39 ± 0.06) U/mg, α -淀粉酶(55.20 ± 3.39) U/dL, 碱性磷酸酶(3.28 ± 0.28) U/L; P2 组分别为: 蛋白酶(1.40 ± 0.04) U/mg, α -淀粉酶(65.28 ± 11.50) U/dL, 碱性磷酸酶(3.50 ± 0.36) U/L。与 C0 组相比, 各试验组脾脏 *IL-1 β* 与 *IFN- γ* 基因表达水平显著下调($P < 0.05$), 且 L3 与 P2 组下调幅度最大; 各试验组头肾 *IL-1 β* 表达水平也显著下调($P < 0.05$), 其中 L3 和 P2 组下调幅度也最大。在肠道组织形态方面, 各试验组绒毛高度较 C0 组均显著增加($P < 0.05$); L3 组和 P2 组隐窝深度、绒隐比和肌层厚度显著高于其他试验组与对照组($P < 0.05$), 其他试验组与对照组差异不显著($P > 0.05$)。综上所述, 在饲料中添加 1.0×10^8 CFU/g 的植物乳杆菌 LP-37 和 1.0×10^7 CFU/g 的戊糖片球菌 PP-23 可显著提高尼罗罗非鱼的生长速度, 提高其消化酶活性, 改善其肠道组织结构, 并改变免疫基因 *IL-1 β* 与 *IFN- γ* 的表达。

关键词: 植物乳杆菌; 戊糖片球菌; 尼罗罗非鱼; 生长性能; 免疫性能

中图分类号: S963

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)08-0989-11

近年来微生态制剂行业快速发展, 研发具有促生长、增强免疫力及提高抗病力等功效的营养微生态制剂已成为当前的研究热点^[1]。乳酸菌能产生细菌素、有机酸, 且能在动物肠道中定植, 可促进肠道抵御病原体干扰, 维护肠道健康^[2]。乳酸菌包含种类较多, 如植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)、乳酸乳杆菌(*Lactobacillus lactis*)、乳酸片球菌

(*Pediococcus acidilactici*)等。植物乳杆菌菌体通常呈直或弯的杆形, 可通过发酵的方式将核糖或葡萄糖生成乳酸和 CO₂ 等产物, 所有产物中乳酸占 80%以上^[3], 具有促进肠道消化、增强宿主免疫力、维持肠道微生态平衡的功能^[4-6]。戊糖片球菌属于乳酸菌科、片球菌属, 最早于 1953 年分离自发酵黄瓜中, 随后研究者发现其也存在于发酵制品、青贮饲料和发酵肉类和淡水虾肠道中^[7-8]。

收稿日期: 2023-05-18; 修订日期: 2023-07-27.

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2021CXGC010806; 2021LZGC027); 山东省现代农业产业技术体系项目(SDAIT-13); 山东省农业良种工程项目(2019LZGC013, 2019LZGC020).

作者简介: 路广金(1996-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产健康养殖. E-mail: lugj1206@163.com

通信作者: 陈红菊, 副教授, 研究方向为水产健康养殖. E-mail: hjchen72@sdau.edu.cn

近年来,有许多乳酸菌在石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[9]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[10-11]、黑鲷(*Sparus aurata*)^[12]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[13]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[14-15]、鲫(*Carassius auratus*)^[16]、锦鲤(*Cyprinus carpio*)^[17]以及凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[18]等水产动物中应用的研究报道,结果表明乳酸菌可在一定程度上提高水产动物的生长性能和免疫力。也有研究发现添加不同浓度植物乳杆菌对云龙石斑鱼的生长及免疫性能影响不同,较高和较低浓度组与对照组差异不显著^[19],而在棕点石斑鱼饲料中添加植物乳杆菌对其生长无显著影响^[20]。由此可见不同浓度的植物乳杆菌添加量以及不同菌株对鱼类的影响有所不同。基于此,虽有研究认为基础日粮中添加 1.0×10^8 CFU/g的植物乳杆菌 CRIT5 能显著提高尼罗罗非鱼的生长性能与免疫性能($P < 0.05$)^[14],但在饲料中添加不同浓度的植物乳杆菌对尼罗罗非鱼的影响还未见报道。

尼罗罗非鱼是我国重要的淡水养殖品种,具有食性杂、生长速度快、抗逆性强和养殖周期短等特点,是联合国粮农组织(FAO)向全世界推广养殖的优良品种^[21-22]。本研究室分离到一株植物乳杆菌 LP-37 和一株戊糖片球菌 PP-23,并已进行了安全性评价,因此拟在基础饲料中添加不同浓度的菌液进行尼罗罗非鱼养殖试验,分析两种乳酸菌对其生长性能和免疫性能的影响,以期为尼罗罗非鱼饲料中添加益生菌提供理论依据,为提高养殖产量提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及实验设计

实验用尼罗罗非鱼由本实验室繁殖获得,选取初始体重(10.0 ± 0.5) g 的尼罗罗非鱼 560 尾,分为 7 个组,每组 5 个重复,每个重复 16 尾鱼。7 个组分别是:对照组 C0 组,投喂基础饲料组;L1-L3 组,投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g、 1.0×10^7 CFU/g、 1.0×10^8 CFU/g)植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组,投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g、 1.0×10^7 CFU/g、 1.0×10^8 CFU/g)戊糖片球菌 PP-23。养殖实验在山东农业

大学水产科研基地循环水养殖系统中进行,每个养殖箱体积 250 L,水体积 200 L,水流为 2 L/min,24 h 用罗茨风机充气,水温(28.0 ± 0.5) °C。养殖周期为 60 d,期间采用饱食投喂,每天定时投喂 3 次(上午 7:00、中午 11:30 和下午 5:00)。实验期间不换水,每天吸底 1 次,吸底后补水,补水量 10%~30%。

1.2 实验菌株及饲料制备

实验所用植物乳杆菌 LP-37 (GenBank No. OP824883)和戊糖片球菌 PP-23 (GenBank No. OP824884)由本研究室从草鱼肠道和土壤中分离得到,两菌株均已进行了安全性评价。菌株在 MRS 培养基中培养 48 h 后,计数并将菌液加水稀释至饲料总质量的 10%后,使用喷壶均匀喷洒在尼罗罗非鱼基础饲料上(具体营养成分见表 1),阴凉干燥处放置 24 h 使其自然晾干,为了确保所添加乳酸菌的活性,饲料 5 d 配制 1 次,并将其密封在塑料袋中于 4 °C 冰箱保存备用。

1.3 样品采集

养殖尼罗罗非鱼 60 d 后,饥饿处理 24 h,对实验鱼进行称重和计数,用于计算末均重、增重率等指标。从每个水箱中随机抽取 3 尾鱼立即解剖,取脾脏、头肾用于免疫相关基因的测定。取中肠,切成约 2 cm 的肠段,一份用于肠道酶活的测定,另一份用 4%多聚甲醛固定,用于肠道的组织结构分析。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长指标测定 根据尼罗罗非鱼的初始体重和末体重计算增重(WG)。

初均重(g): 实验鱼在养殖实验开始前的重量,算出平均值。

末均重(g): 实验鱼养殖实验结束后禁食 24 h,称量其体重,算出平均值。

增重率(%): 实验鱼末均重和初均重之差再除以初均重 $\times 100\%$ 。

1.4.2 相关酶活性测定 根据试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明书操作步骤测定尼罗罗非鱼肠道淀粉酶(AMS)、碱性磷酸酶(AKP)和蛋白酶(PRS)活性。

1.4.3 总 RNA 的提取及 cDNA 的合成 采用 Trizol 法提取脾脏、头肾的总 RNA, 按照 Evo M-MLV 反转录预混型试剂盒(艾科瑞, 湖南)进行反转录。

1.4.4 实时荧光定量 PCR 实时荧光定量 PCR 按照 SYBR Green Pro Taq Hs 预混型 qRT-PCR 试剂盒(艾科瑞, 湖南)的操作说明进行, 引物见表 2。

表 1 尼罗罗非鱼基础饲料营养成分组成
Tab. 1 Nutrient composition of basic diet for *Oreochromis niloticus*

成分含量 ingredient content	百分比/% percentage	成分含量 ingredient content	百分比/% percentage
鱼粉 fish meal	45.00	鱿鱼提取物 squid extract	2.00
豆粕 soybean meal	20.00	总计 total	100.00
小麦面粉 wheat flour	18.00	营养水平 nutritional composition	
鱼油 fish oil	2.00	粗脂肪 crude lipid	5.0
玉米油 corn oil	2.00	粗纤维 crude fibre	5.0
氯化胆碱 choline chloride	0.50	粗灰分 crude ash	16.0
维生素混合物 ^a vitamin mix ^a	1.00	钙 calcium	4.5
矿物质混合物 ^b mineral mix ^b	1.00	总磷 total phosphurs	1.2
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	0.50	氯化钠 sodium chloride	4
黏合剂 adhesives	0.50	水分 moisture	10.0
微晶纤维素 microcrystalline cellulose	7.50	赖氨酸 lysine	2.2

注: a. 维生素: 维生素 A 3600 IU/kg; 维生素 D₃ 1200 IU/kg; 维生素 E 20 mg/kg; 维生素 K₃ 5 mg/kg; 维生素 B₁ 5 mg/kg; 维生素 B₂ 7 mg/kg; 维生素 B₆ 6 mg/kg; 维生素 B₁₂ 20 μg/kg; 泛酸钙 20 mg/kg; 烟酸 30 mg/kg; 叶酸 1.7 mg/kg; 生物素 0.05 mg/kg; VC 磷酸酯 171.4 mg/kg; 肌醇 90 mg/kg. b. 矿物质: 镁 150 mg/kg; 铁 120 mg/kg; 锌 60 mg/kg; 锰 30 mg/kg; 铜 4 mg/kg; 钴 0.5 mg/kg; 硒 0.1 mg/kg; 碘 1 mg/kg.
Note: a. Vitamin: Vitamin A 3600 IU/kg; vitamin D₃ 1200 IU/kg; vitamin E 20 mg/kg; vitamin K₃ 5 mg/kg; vitamin B₁ 5 mg/kg; vitamin B₂ 7 mg/kg; vitamin B₆ 6 mg/kg; vitamin B₁₂ 20 μg/kg; calcium pantothenate 20 mg/kg; nicotinic acid 30 mg/kg; folic acid 1.7 mg/kg; biotin 0.05 mg/kg; VC phosphate 171.4 mg/kg; inositol 90 mg/kg. b. Mineral: Mg 150 mg/kg; Fe 120 mg/kg; Zn 60 mg/kg; Mn 30 mg/kg; Cu 4 mg/kg; Co 0.5 mg/kg; Se 0.1 mg/kg; I 1 mg/kg.

表 2 荧光定量引物信息
Tab. 2 Primers for qRT-PCR

引物 primer	序列(5'-3') sequence (5'-3')	退火温度/℃ annealing temperature	片段长度/bp fragment length
IFN-γ-F	AACCAAGTCCACTCCACCAC	52	1226
IFN-γ-R	CAGACGGGCACTGAACAA		
IL-1β-F	TGCACTGTCACTGACAGCCAA	52	228
IL-1β-R	ATGTTCAAGTGCACTTTGCGG		
β-actin-F	CACTGTGCCCATCTACGAG	50	564
β-actin-R	CCATCTCCTGCTCGAAGTC		

1.4.5 肠道组织切片制作 固定后的中肠在流水下冲洗 3~4 h, 随后进行梯度脱水、浸蜡、石蜡包埋、切片, 切片厚度 5 μm。石蜡切片依次经过脱蜡、复水、苏木精染色、盐酸分色和双蒸水返蓝, 再使用伊红进行染色, 中性树脂封片。切片在正置显微镜下进行图像采集, 用 Image J 软件对绒毛高度和肌层厚度进行测量。

1.5 数据处理
采用 Graphpad prism8.0、IBM SPSS Statistics

22.0 软件处理数据, 利用 SPSS Statistics 22 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois.)进行 turkey 检验, 分析各组间的差异。当 $P<0.05$ 时表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 饲料中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼生长性能的影响

除 L1 组外, 其余实验组末均重较 C0 组均显著增高($P<0.05$); 除 L1 组与 P1 组外, 其余实验组

增重率较 C0 组均显著提高($P<0.05$)。其中 L3 与 P2 组末均重和增重率与 C0 组差异极显著($P<0.01$), 但两组间差异不显著(表 3)。由此可见, 在基础饲料中添加 1×10^8 CFU/g 的植物乳杆菌 LP-37, 或添加 1×10^7 CFU/g 的戊糖片球菌 PP-23 对尼罗罗非鱼的增重有明显效果。

表 3 基础饲料中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼生长性能的影响

Tab. 3 Effects of supplementing two lactic acid bacteria in basic diet on growth performance of *Oreochromis niloticus*

指标 item	C0	L1	L2	L3	P1	P2	P3
初均重/g initial average weight	10.00±0.41	8.99±0.16	8.95±0.42	9.22±0.32	9.92±0.35	10.12±0.36	9.77±0.10
末均重/g final average weight	118.16±4.88 ^a	122.08±4.74 ^a	130.51±4.80 ^{ab}	150.00±6.66 ^c	130.13±6.91 ^{ab}	153.24±5.36 ^c	141.71±3.27 ^{bc}
增重率/% weight gain rate	108.16±0.45 ^a	125.79±5.21 ^a	135.92±6.31 ^{ab}	152.69±3.51 ^c	120.21±6.93 ^a	143.12±5.23 ^c	131.94±3.25 ^{bc}

注: 对照组 C0 组投喂基础饲料组; L1-L3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)戊糖片球菌 PP-23。同行数据不同字母上标表示组间差异显著($P<0.05$)。

Note: Control group C0: feeding basic feed; L1-L3 groups: adding three different concentrations of *Lactobacillus plantarum* LP-37 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed; P1-P3 groups: adding three different concentrations of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed. Different letter superscripts in peer data indicate significant difference between groups ($P<0.05$).

2.2 饲料中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼肠道酶活性的影响

基础饲料中添加两种乳酸菌对酶活的影响与对生长性能的影响一致, L3 和 P2 组的 3 种酶活性显著高于 C0 组和其他各实验组($P<0.05$)。此外, L2 组的蛋白酶和碱性磷酸酶、P1 组的 α -淀粉酶、P3

组 3 种酶活性显著高于 C0 组($P<0.05$)。由此可见, 3 种酶活力与植物乳杆菌 LP-37 添加浓度成正比, 而戊糖片球菌 PP-23 促进酶活力增加的最适添加浓度为 1×10^7 CFU/g。基础饲料中添加两种乳酸菌均能在一定程度上提高尼罗罗非鱼肠道蛋白酶、 α -淀粉酶和碱性磷酸酶活性(表 4)。

表 4 基础饲料中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼消化酶活性的影响

Tab. 4 Effects of two lactic acid bacteria added to the basic diet on digestive enzyme activities of *Oreochromis niloticus*

项目 item	组别 group						
	C0	L1	L2	L3	P1	P2	P3
蛋白酶(U/mg) PRS	1.07±0.07 ^a	1.16±0.06 ^{ab}	1.24±0.07 ^b	1.39±0.06 ^c	1.15±0.05 ^{ab}	1.40±0.04 ^c	1.23±0.05 ^b
α -淀粉酶(U/dL) AMS	16.02±4.12 ^a	17.50±2.27 ^a	23.03±3.16 ^a	55.20±3.39 ^c	37.12±5.53 ^b	65.28±11.50 ^d	42.56±9.52 ^b
碱性磷酸酶(U/L) AKP	2.50±0.39 ^a	2.62±0.35 ^{ab}	3.01±0.56 ^{bc}	3.28±0.28 ^{cd}	2.70±0.26 ^{ab}	3.50±0.36 ^d	2.93±0.18 ^{bc}

注: 对照组 C0 组投喂基础饲料组; L1-L3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)戊糖片球菌 PP-23。同行数据不同字母上标表示组间差异显著($P<0.05$)。

Note: Control group C0: feeding basic feed; L1-L3 groups: adding three different concentrations of *Lactobacillus plantarum* LP-37 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed; P1-P3 groups: adding three different concentrations of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed. Different letter superscripts in peer data indicate significant difference between groups ($P<0.05$).

2.3 饲料中添加两种乳酸菌对脾脏和头肾中免疫相关基因表达的影响

与 C0 组相比, 各实验组脾脏中 *IL-1 β* 基因表达水平均显著下调($P<0.05$), L3 组比 L1、L2 组的表达水平显著降低($P<0.05$), P2 组 *IL-1 β* 基因表达

水平显著低于 P1 组($P<0.05$), 也低于 P3 组, 但差异不显著(图 1a)。各实验组脾脏 *IFN- γ* 基因表达水平比 C0 组显著降低($P<0.05$), L3 组比 L1、L2 组的表达水平显著降低($P<0.05$), P2 组 *IFN- γ* 基因表达水平也低于 P1 与 P3 组, 但差异不显著($P>0.05$)(图 1b)。

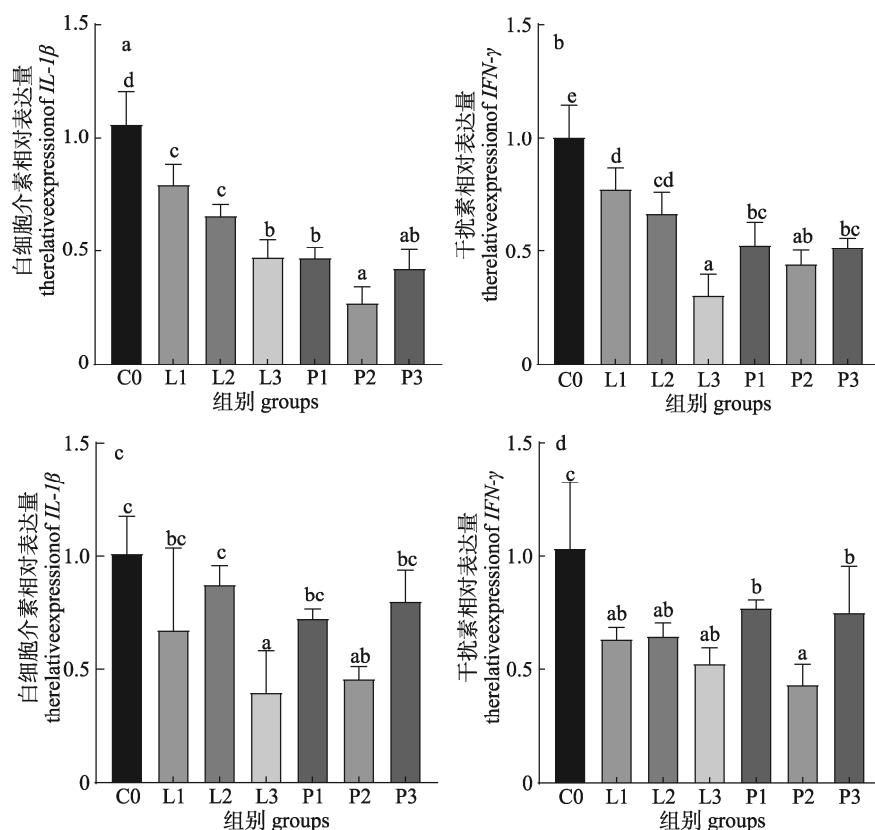


图 1 基础饲料中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼免疫相关基因表达的影响

a. 脾脏 *IL-1β*; b. 脾脏 *IFN-γ*; c. 头肾 *IL-1β*; d. 头肾 *IFN-γ*. 对照组 C0 组投喂基础饲料组; L1-L3 组投喂基础饲料中添加不同浓度 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) 植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组投喂基础饲料中添加不同浓度 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) 戊糖片球菌 PP-23. 柱图上方不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 1 Effects of two lactic acid bacteria added to the basic diet on immune-related gene expression of *Oreochromis niloticus*

a. *IL-1β* in spleen; b. *IFN-γ* in spleen; c. *IL-1β* in head kidney; d. *IFN-γ* in the head kidney. Control group C0: feeding basic feed; L1-L3 groups: adding three different concentrations of *Lactobacillus plantarum* LP-37 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed; P1-P3 groups: adding three different concentrations of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed. Different letters on the column indicate significant difference between groups ($P < 0.05$).

与 C0 组和其他各实验组相比, L3 和 P2 组头肾 *IL-1β* 基因表达水平显著下调 ($P < 0.05$), 其他各实验组与 C0 组差异不显著 (图 1c); 各实验组头肾 *IFN-γ* 基因表达水平均显著下调 ($P < 0.05$), L3 比 L1、L2 组稍下调但差异不显著, P2 比 P1、P3 组表达水平显著降低 ($P < 0.05$) (图 1d)。

2.4 饲料中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼肠道组织结构的影响

饲料中添加不同浓度的植物乳杆菌 LP-37 对尼罗罗非鱼肠道组织形态结构的影响如表 5 所示, 与 C0 组相比, 各实验组绒毛高度均显著增加 ($P < 0.05$); L3 组和 P2 组隐窝深度、绒毛比和肌层厚度显著高于其他实验组与对照组 ($P < 0.05$), 其

他实验组与对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。结果表明, 在基础饲料中添加不同浓度的植物乳杆菌 LP-37 和戊糖片球菌 PP-23 均能显著提高肠道的绒毛高度; 添加 1×10^8 CFU/g 的植物乳杆菌 LP-37 或添加 1×10^7 CFU/g 的戊糖片球菌 PP-23 能显著提高尼罗罗非鱼肠道的隐窝深度、绒毛比和肌层厚度 (图 2)。

3 讨论

3.1 乳酸菌在促进生长方面的作用

目前研究认为, 乳酸菌能在一定程度上提升鱼类的生长性能, 主要原因在于乳酸菌进入鱼体消化道后可进行定植与扩繁, 能抑制和排除致病

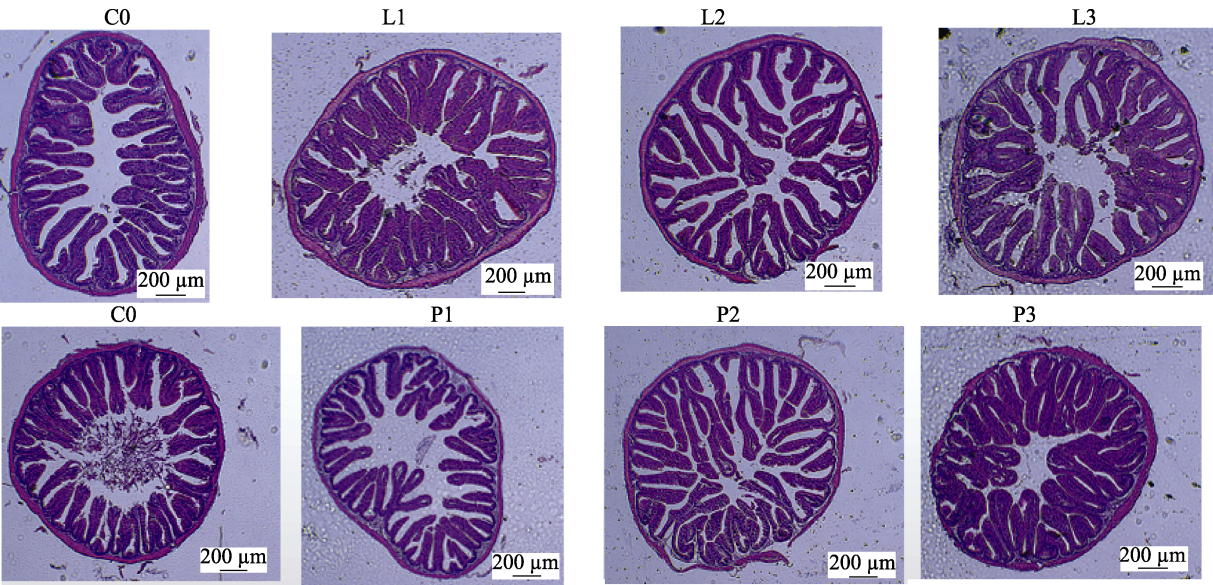


图 2 基础日粮中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼肠道组织结构的影响

对照组 C0 组投喂基础饲料组; L1-L3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)戊糖片球菌 PP-23.

Fig. 2 Effects of two lactic acid bacteria added to the basic diet on the intestinal structure of *Oreochromis niloticus*

Control group C0: feeding basic feed; L1-L3 groups: adding three different concentrations of *Lactobacillus plantarum* LP-37 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed; P1-P3 groups: adding three different concentrations of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed.

表 5 基础日粮中添加两种乳酸菌对尼罗罗非鱼肠道组织结构的影响

Tab. 5 Effects of two lactic acid bacteria added to the basic diet on the intestinal structure of *Oreochromis niloticus*

指标 item	C0	L1	L2	L3	P1	P2	P3
绒毛高度/ μm villous height	289.06 $\pm$ 10.80 ^a	376.80 $\pm$ 20.81 ^{bc}	391.58 $\pm$ 34.60 ^{bc}	400.63 $\pm$ 40.21 ^{dc}	334.84 $\pm$ 12.84 ^b	358.13 $\pm$ 28.41 ^b	340.79 $\pm$ 15.62 ^b
隐窝深度/ μm crypt depth	51.37 $\pm$ 4.64 ^a	55.97 $\pm$ 15.03 ^a	52.42 $\pm$ 10.35 ^a	76.19 $\pm$ 8.66 ^b	51.68 $\pm$ 3.67 ^a	78.56 $\pm$ 15.96 ^b	54.27 $\pm$ 3.96 ^a
绒隐比 villous height/crypt depth	5.63 $\pm$ 0.57 ^a	7.08 $\pm$ 0.48 ^a	7.96 $\pm$ 1.65 ^a	8.91 $\pm$ 1.84 ^b	7.56 $\pm$ 1.37 ^a	8.93 $\pm$ 0.41 ^b	6.28 $\pm$ 0.36 ^a
肌层厚度/ μm muscle layer thickness	37.74 $\pm$ 4.28 ^a	35.17 $\pm$ 8.25 ^a	40.33 $\pm$ 5.12 ^a	58.14 $\pm$ 19.46 ^b	44.27 $\pm$ 4.82 ^a	54.15 $\pm$ 5.91 ^b	44.59 $\pm$ 5.60 ^a

注: 对照组 C0 组投喂基础饲料组; L1-L3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)植物乳杆菌 LP-37; P1-P3 组投喂基础饲料中添加不同浓度(1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g)戊糖片球菌 PP-23。同行数据不同字母上标表示组间差异显著($P<0.05$)。

Note: Control group C0: feeding basic feed; L1-L3 groups: adding three different concentrations of *Lactobacillus plantarum* LP-37 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed; P1-P3 groups: adding three different concentrations of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed. Different letter superscripts in peer data indicate significant difference between groups ($P<0.05$).

菌, 改善肠道组织结构与微生物组成, 从而有利于对营养物质的消化与吸收^[23-24]。在奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 的研究中发现乳酸菌能显著提高鱼的生长性能及饲料利用率^[25]。Hamdan 等^[26]研究发现添加乳酸菌饲喂尼罗罗非鱼幼鱼 40 d, 显著提高生长速率。本研究实验结果与上述

作者研究结果一致, 在饲料中添加两种乳酸菌均可提高尼罗罗非鱼生长速率。究其原因, 有研究认为鱼类生长速率和/或饲料利用率的提高可能是每种益生菌菌株以不同的方式与宿主相互作用的结果, 一方面是由于益生菌诱导的消化酶活性的增加^[27-29]; 另一方面, 益生菌自身分泌的细胞

外消化酶可能也有助于宿主生长性能的提高^[30-31]。本研究结果也证实了消化酶活性的提高与促生长结果的一致性, 具体是由于两种乳酸菌诱导产生消化酶还是自身分泌细胞外消化酶, 以期在以后的实验中进行深入研究。饲喂添加 1×10^8 CFU/g 植物乳杆菌 LP-37 组的末体重增加了 27.11%, 添加 1×10^7 CFU/g 戊糖片球菌 PP-23 组末体重增加了 29.68%, 与对照组及其他实验组均差异显著, 说明不同的乳酸菌在饲料中的最适添加浓度有所不同。也有研究认为饲料中添加不同浓度的嗜酸乳酸菌(*Lactobacillus acidophilus*)不影响吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的增重^[32]。乳酸菌及其使用浓度的不同对鱼类生长性能产生不同的影响可能与乳酸菌种类、菌株抗病原菌能力差异, 以及宿主的饮食、种类等因素有关, 且乳酸菌的活性及其对鱼类的影响还受到温度、盐度等环境因素的影响^[33], 这些因素都可能对宿主的生长性能造成不同的结果。因此, 实际生产中应根据具体的乳酸菌种类确定最适添加浓度, 从而达到最优的效果。

3.2 乳酸菌在促进消化酶活性方面的作用

碱性磷酸酶是生物体内重要的代谢调控酶, 直接参与磷酸基团的转移^[34], 在免疫反应中发挥重要的作用^[35], 碱性磷酸酶能够消化降解细菌等异物, 适度高水平的碱性磷酸酶可以促进机体消化吸收和物质代谢^[36-37]。淀粉酶是常见的水解酶之一, 是水解淀粉和糖原酶类的总称, 肝胰脏是生成淀粉酶的中心器官, 它分泌机能的强弱直接影响养殖动物对食物中淀粉的消化能力。蛋白酶能够催化蛋白质的特定肽键水解, 分别形成氨基和羧基而断裂, 得到小分子多肽或氨基酸, 即促进蛋白质的消化。大量的研究已经证明了乳酸菌可以促进水生动物蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、碱性磷酸酶活性^[38], 郑玉^[20]研究发现乳酸菌可以显著提高石斑鱼血清碱性磷酸酶的活性, 林艾影等^[39]研究发现乳酸菌制剂可以显著提高军曹鱼(*Rachycentron canadum*)肠道中碱性磷酸酶和 α -淀粉酶的活力。本研究中, 在尼罗罗非鱼饲料中添加 1×10^7 CFU/g 与 1×10^8 CFU/g 的植物乳杆菌 LP-37 以及 3 组不同浓度的戊糖片球菌 PP-23, 均

显著提高了碱性磷酸酶和 α -淀粉酶的活力, 与上述研究结果一致。且酶活的测定结果与本研究促生长性能的结果一致, 提高酶活最显著的菌液浓度分别是 1×10^8 CFU/g 的植物乳杆菌 LP-37 与 1×10^7 CFU/g 的戊糖片球菌 PP-23。饲料中添加乳酸菌在一定程度上能够提高宿主肠道酶活性, 原因之一可能是因为乳酸菌生长过程中产生的代谢物具有淀粉酶、蛋白酶活性^[40], 另外可能在投喂乳酸菌过程中, 对鱼类肠道持续刺激从而造成适应性分泌消化酶类^[41]。

3.3 乳酸菌在促进免疫方面的作用

炎症因子的表达是检测乳酸菌对机体免疫调节作用的重要指标, 过度合成会导致黏膜免疫系统活化, 引起肠道慢性炎症^[42-43], 炎症因子分为促炎因子 $IL-1\beta$ 、 $IFN-\gamma$ 等和抗炎因子 $IL-4$ 、 $IL-10$ 等^[44-45]。在鱼类中, $IL-1\beta$ 主要是在组织巨噬细胞和单核细胞受到抗原或是抗原抗体复合物刺激下产生的。干扰素(IFN)的主要作用为调控免疫、参与炎症反应、抵抗肿瘤、抗病毒等^[46]。研究发现乳酸菌可提高抗炎因子的表达, 抑制促炎因子的表达^[47]。Shi 等^[48]也发现乳杆菌能够降低促炎因子的表达。本研究实验中, 饲喂两种乳酸菌的尼罗罗非鱼脾脏中两种促炎因子 $IL-1\beta$ 和 $IFN-\gamma$ 的表达均显著降低, 与前述研究结果一致。其他益生菌也有类似的作用, 丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)能降低组织中 $IL-1\beta$ 、 $IFN-\gamma$ 的表达^[49]; 蜡芽孢杆菌可诱导抗炎细胞因子 $IL-10$ 的过表达, 降低促炎细胞因子 $IL-1\beta$ 和 $TNF-\alpha$ 的表达进而抑制彭泽鲫肠道炎症反应^[50]。分析其原因, 有研究认为乳酸菌的免疫作用与其次生代谢产物胞外多糖(Exopolysaccharides, EPS)有着密切的关联^[51]。植物乳杆菌胞外多糖可下调促炎细胞因子($IL-6$ 、 $IL-1\beta$ 、 $TNF-\alpha$)和上调抗炎细胞因子($IL-10$ 、 $TGF-\beta$)表达, 从而提高鲤免疫应答能力^[52]。也有研究认为可能是因为乳酸菌能在鱼类的肠道定植, 并形成一层保护膜, 通过产生乳酸抑制有害菌群的增殖, 同时通过拮抗作用减少有害菌群在肠道中的定植, 减少了外源病原体对免疫系统的刺激, 从而降低了促炎因子的相对表达量, 发挥了其免疫作用^[53]。

3.4 乳酸菌对改善肠道组织形态的作用

肠道绒毛是肠道的特有结构,绒毛的高度、隐窝深度以及绒毛比可以反映肠道的健康状态^[54]。Abid 等^[55]研究发现乳酸菌可以提高大西洋鲑的绒毛高度和肌层厚度; Pirarat 等^[56]研究发现添加乳酸菌饲喂尼罗罗非鱼,能显著提高绒毛高度和绒毛比。本研究中,与对照组相比,饲喂 1×10^8 CFU/g 植物乳杆菌 LP-37 与 1×10^7 CFU/g 戊糖片球菌 PP-23 组均能显著提高尼罗罗非鱼的绒毛高度、隐窝深度、绒毛比和肌层厚度,而其余 4 个实验组并不显著,这与 Abid 等^[55]和 Pirarat 等^[56]研究结果一致。饲料中添加乳酸菌后引起鱼类肠道组织结构的变化,分析其原因可能与乳酸菌分泌的代谢物有关,这些代谢物可能影响肠道细胞膜结构、促进肠黏膜细胞的增殖等^[57]。肠道绒毛高度与其吸收能力成正相关,肠道绒毛越高,吸收营养能力越强^[58],肠道面积由绒毛高度和隐窝深度共同决定,影响其吸收营养物质的能力^[59]。肠道肌层可为肠道蠕动提供充足的动力,促进营养物质吸收,肌层越厚,吸收能力越强^[60]。此外,肠道中绒毛密度越大,相互之间的缝隙会越小,这样可以物理阻挡外界病原菌对肠道的侵害,提高养殖动物的生长与免疫性能。本研究结果也证明了肠道组织结构变化与生长和免疫性能的相关性。

4 结论

饲料中添加植物乳杆菌 LP-37 和戊糖片球菌 PP-23 均可以显著提升尼罗罗非鱼生长性能,提高肠道蛋白酶、 α -淀粉酶和碱性磷酸酶活性,提升免疫性能,改善肠道组织结构。基于本研究结果,饲料中添加 1×10^8 CFU/g 的植物乳杆菌 LP-37 效果最好,戊糖片球菌 PP-23 的最适添加浓度为 1×10^7 CFU/g。

参考文献:

- [1] Wang G. Application of microecology microecological in fishery[J]. Fisheries Science, 2002, 21(3):34-36.
- [2] Dittoe D K, Ricke S C, Kiess A S. Organic acids and potential for modifying the avian gastrointestinal tract and reducing pathogens and disease[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2018, 5: 216.
- [3] Zalán Z, Hudáček J, Tóth-Markus M, et al. Sensorically and antimicrobially active metabolite production of *Lactobacillus strains* on Jerusalem artichoke juice[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(4): 672-679.
- [4] Kim K W, Kang S S, Woo S J, et al. Lipoteichoic acid of probiotic *Lactobacillus plantarum* attenuates poly I: C-induced IL-8 production in porcine intestinal epithelial cells[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1827.
- [5] Wilkins T, Sequoia J. Probiotics for gastrointestinal conditions: A summary of the evidence[J]. American Family Physician, 2017, 96(3): 170-178.
- [6] Sun Z H, Harris H M B, McCann A, et al. Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated Genera[J]. Nature Communications, 2015, 6: 8322.
- [7] Holzapfel W H, Franz C M, Ludwig W, et al. *Pediococcus* [M]/Takai K. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Wiley, 2015: 1-15.
- [8] Zhao X R, Higashikawa F, Noda M, et al. The obesity and fatty liver are reduced by plant-derived *Pediococcus pentosaceus* LP28 in high fat diet-induced obese mice[J]. PLoS ONE, 2012, 7(2): e30696.
- [9] Son V M, Chang C C, Wu M C, et al. Dietary administration of the probiotic, *Lactobacillus plantarum*, enhanced the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper *Epinephelus coioides*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2009, 26(5): 691-698.
- [10] Byun J W, Park S C, Benno Y, et al. Probiotic effect of *Lactobacillus* sp. DS-12 in flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 1997, 43(5): 305-308.
- [11] Chen Y, Wang F Q, Shao Z T, et al. Effects of lactic acid bacteria on the microflora in water and larvae guts of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Marine Fisheries Research, 2006, 27(3): 37-41.
- [12] 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.
- [13] Xu T S. Effects of *Lactobacillus brevis* on the microflora in water and larvae guts of grass carp[J]. Journal of Dezhou University, 2008, 24(2): 60-63. [许提森. 短乳杆菌对草鱼幼鱼养殖水体和肠道菌群的影响[J]. 德州学院学报, 2008, 24(2): 60-63.]
- [14] Van Doan H, Hoseinifar S H, Dawood M A O, et al. Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 70: 87-94.
- [15] Yu L L, Zhai Q X, Zhu J M, et al. Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation enhances growth performance and alleviates aluminum toxicity in tilapia[J]. Ecotoxicology

- and Environmental Safety, 2017, 143: 307-314.
- [16] Yin J X, Chen Y, Meng L L. The influences of probiotics on intestinal microflora in crucian carp (*Carassius auratus*)[J]. Fisheries Science, 2007, 26(11): 610-612. [尹军霞, 陈瑛, 孟丽丽. 益生菌剂对鲫鱼肠道菌群影响的初步研究[J]. 水产科学, 2007, 26(11): 610-612.]
- [17] Zhang C N, Pu C C, Yuan X Y, et al. Effect of dietary fructooligosaccharide and *Lactobacillus delbrueckii* on growth performance, blood index, and antioxidant activity in koi carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(8): 1001-1010. [张春暖, 普畅畅, 袁小玉, 等. 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[J]. 中国水产科学, 2021, 28(8): 1001-1010.]
- [18] Xia Y, Yi H X, Fan R B, et al. Effects of dietary lactic acid bacteria on the meat quality of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(1): 74-82. [夏雨, 易华西, 范荣波, 等. 饲喂乳酸菌对凡纳滨对虾幼虾肉质的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(1): 74-82.]
- [19] Li Z Q, Zou W Z, Zhang G M, et al. Effects of lactobacillus plantarum-enriched diet on growth performance, antioxidant ability, and serum biochemical level of epinephelus Yunlong grouper[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2022, 53(2): 457-465. [李忠琴, 邹文政, 张光明, 等. 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)对云龙石斑鱼生长、抗氧化性能及血清生化水平的影响[J]. 海洋与湖沼, 2022, 53(2): 457-465.]
- [20] Zheng Y. The effects of lactic acid bacteria isolated from dross vinega on the growth, innate immunity of the brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus* and white shrimp *Litopenaeus vannamei*[D]. Haikou: Hainan University, 2017. [郑玉. 糟粕醋源乳酸菌对棕点石斑鱼和凡纳滨对虾生长及非特异性免疫的影响[D]. 海口: 海南大学, 2017.]
- [21] Tu H Q, Zhao J L, Zhao Y, et al. Study on the timing sequence of two pathway of *Oreochromis niloticus* ammonia metabolism under the stress of carbonate alkalinity[J]. Freshwater Fisheries, 2018, 48(3): 25-32. [涂翰卿, 赵金良, 赵岩, 等. 碳酸盐碱胁迫下尼罗罗非鱼氨代谢两种途径时序研究[J]. 淡水渔业, 2018, 48(3): 25-32.]
- [22] Wang J J. Effects of dietary Cu and Zn on the accumulation and physiology in the Tilapia (*Oreochromis niloticus*)[D]. Nanning: Guangxi University, 2020. [王婧杰. 日粮中添加铜锌在尼罗罗非鱼组织累积和相关生理效应的影响研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020.]
- [23] Guo S W. Effect of probiotic on performance, blood biochemical indices and immune organ indexes in weaning piglets[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2010. [郭升伟. 益生菌对仔猪生长性能、血液生化指标及免疫功能的影响[D]. 福州: 福建农林大学, 2010.]
- [24] Liu B. Effects of probiotics on digestive enzyme activities, intestinal microflora and performance of allogynogenetic crucian carp[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2004. [刘波. 益生菌对异育银鲫消化酶活性、肠道菌群及生产性能的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2004.]
- [25] Zhou X B, Huang Y H, Cao J M, et al. Effects of 5 kinds of *Lactobacillus* on growth performance, body composition, serum biochemical indices and intestinal microflora of Tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureu*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(7): 2009-2017. [周晓波, 黄燕华, 曹俊明, 等. 5种乳酸菌对罗非鱼生长性能、体成分、血清生化指标及肠道菌群的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(7): 2009-2017.]
- [26] Hamdan A M, El-Sayed A F M, 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.
- [27] Wang Y B, Xu Z R. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities[J]. Animal Feed Science and Technology, 2006, 127(3-4): 283-292.
- [28] 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.
- [29] Sun Y Z, Yang H L, Ma R L, et al. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*[J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(3): 281-289.
- [30] Bairagi A, Ghosh K S, Sen S K, et al. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts[J]. Aquaculture International, 2002, 10(2): 109-121.
- [31] Skrodenytė-Arbačiauskienė V. Enzymatic activity of intestinal bacteria in roach *Rutilus rutilus* L[J]. Fisheries Science, 2007, 73(4): 964-966.
- [32] Liu X L, Cao J M, Kuang Z S, et al. Effect of dietary *Lactobacillus* on growth performance, non-specific immune enzymes activities and intestinal microflora of *Oreochromis niloticus*[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40(1): 123-126. [刘小玲, 曹俊明, 邝哲师, 等. 嗜酸乳酸菌对吉富罗非鱼生长、非特异性免疫酶活性和肠道菌群的影响[J]. 广东农业科学, 2013, 40(1): 123-126.]
- [33] Cheng Y, Huang K, Huang X Y, et al. Effects of dietary *Bacillus subtilis* on growth performance, immunity and anti-oxidation function of juvenile genetic improvement of farmed Tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(6): 1503-1512. [程远, 黄凯, 黄秀芸, 等. 饲料中添加枯草芽孢杆菌对吉富罗非鱼幼鱼生长性能、免疫力和抗氧化功能的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(6): 1503-1512.]
- [34] Ding J Q, Liu P, Li J, et al. Comparison of nonspecific immunity and the activities of antioxidant enzymes in different populations of *Charybdis japonica*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 275-280. [丁金强, 刘萍,

- 李健, 等. 不同地理群体日本鳊非特异性免疫及抗氧化酶活力的比较[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 275-280.]
- [35] Muta T, Iwanaga S. The role of hemolymph coagulation in innate immunity[J]. Current Opinion in Immunology, 1996, 8(1): 41-47.
- [36] Zhan F F, Zhao X P. Effects of cadmium on ACP and AKP in *Carassias auratus*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2007, 26(3): 641-643. [詹付凤, 赵欣平. 重金属镉对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响[J]. 四川动物, 2007, 26(3): 641-643.]
- [37] Lallès J P. Intestinal alkaline phosphatase: Novel functions and protective effects[J]. Nutrition Reviews, 2014, 72(2): 82-94.
- [38] Pérez T, Balcázar J L, Ruiz-Zarzuela I, et al. Host-microbiota interactions within the fish intestinal ecosystem[J]. Mucosal Immunology, 2010, 3(4): 355-360.
- [39] Lin A Y, Wang W Z, Chen G, et al. Effects of two lactic acid bacteria on growth performance and activities of digestive and non-specific immune enzymes of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2020, 40(5): 112-117. [林艾影, 王维政, 陈刚, 等. 2 种乳酸菌对军曹鱼幼鱼生长及消化酶、免疫酶活性的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2020, 40(5): 112-117.]
- [40] Sogaard H, Suhrjessen T. Microbials for feed: beyond lactic acid bacteria[J]. Feed International, 1990, 11(1):33-37.
- [41] Zhang Y A, Nie P. Humoral immune factors of fish: A review[J]. Journal of Fisheries of China, 2000, 24(4): 376-381. [张永安, 聂品. 鱼类体液免疫因子研究进展[J]. 水产学报, 2000, 24(4): 376-381.]
- [42] Pallone F, Monteleone G. Mechanisms of tissue damage in inflammatory bowel disease[J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2001, 17(4): 307-312.
- [43] Haller D, Bode C, Hammes W P, et al. Non-pathogenic bacteria elicit a differential cytokine response by intestinal epithelial cell/leucocyte co-cultures[J]. Gut, 2000, 47(1): 79-87.
- [44] Pang Y H, Zheng C Q. Relationship between Th1/Th2 cell subsets and inflammatory bowel disease[J]. World Chinese Journal of Digestology, 2004, 12(8): 1922-1924. [庞艳华, 郑长青. Th1/Th2 细胞亚群与炎症性肠病的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(8): 1922-1924.]
- [45] Cui Y F, Xu H, An X M et al. Relationship between T helper cell subsets and inflammatory bowel disease[J]. International Journal of Chinese Digestion, 2005, 13(20):2464-2468.[崔玉芳, 徐菡, 安小霞, 等. T 辅助细胞亚群与炎症性肠病的关系.世界华人消化杂志, 2005, 13(20):2464-2468.]
- [46] Shan D. The effects of copper on physiological toxicity and the expressions of immune-related genes in gift Tilapia[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016. [单丹. 铜对吉富罗非鱼生理毒性及免疫相关基因表达影响的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.]
- [47] Patterson J A, Burkholder K M. Application of prebiotics and probiotics in poultry production[J]. Poultry Science, 2003, 82(4): 627-631.
- [48] Shi C Z, Chen H Q, Liang Y, et al. Combined probiotic bacteria promotes intestinal epithelial barrier function in interleukin-10-gene-deficient mice[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(16): 4636-4647.
- [49] Zhu Z X. Effects of *Clostridium butyricum* on growth, immunity and intestinal microecology of common carp (*Cyprinus carpio* L.)[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2019. [朱振祥. 丁酸梭菌对鲤生长、免疫及肠道微生态的影响[D]. 新乡: 河南师范大学, 2019.]
- [50] Yu R H. Effects of probiotic *Bacillus cereus* on growth, nutrient metabolism, antioxidant and inflammatory response of crucian carp[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020. [于瑞河. 益生菌蜡样芽孢杆菌对彭泽鲫生长、营养代谢、抗氧化性及炎症反应的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.]
- [51] Conover M S, Sloan G P, Love C F, et al. The Bps polysaccharide of *Bordetella pertussis* promotes colonization and biofilm formation in the nose by functioning as an adhesin[J]. Molecular Microbiology, 2010, 77(6): 1439-1455.
- [52] Chen Y Y, Feng J C, Li M, et al. Probiotic effect of fish-derived *Lactobacillus plantarum* HS-07 exopolysaccharide in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(5): 591-601. [陈永艳, 冯军厂, 李梦, 等. 鱼源植物乳杆菌 HS-07 胞外多糖对鲤的益生作用[J]. 中国水产科学, 2021, 28(5): 591-601.]
- [53] Osman N, Adawi D, Molin G, et al. Bifidobacterium infantis strains with and without a combination of oligofructose and inulin (OFI) attenuate inflammation in DSS-induced colitis in rats[J]. BMC Gastroenterology, 2006, 6: 31.
- [54] Lu G J. Effect of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 on the growth and immunological ability of AA broilers and *Oreochromis niloticus*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021. [路广金. 戊糖片球菌 PP-23 对 AA 肉鸡和尼罗罗非鱼生长、免疫效果的影响研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021.]
- [55] Abid A, Davies S J, Waines P, et al. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 35(6): 1948-1956.
- [56] Pirarat N, Pinpimai K, Endo M, et al. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG[J]. Research in Veterinary Science, 2011, 91(3): e92-e97.
- [57] Fan Y, Wang X L, Yu X Q, et al. Effect of *Bacillus licheniformis* on growth, intestinal digestive enzyme activity, non-specific immunity, and resistance against *Aeromonas salraonicida* in the fat greenling (*Hexagrammos otakii*)[J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(1): 63-73. [樊英, 王晓璐, 于晓清, 等. 地衣芽孢杆菌对大泷六线鱼生长、肠道消化酶、血清非特异性免疫及抗病力的影响[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(1): 63-73.]
- [58] Caspary W F. Physiology and pathophysiology of intestinal

- absorption[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1992, 55(1): 299S-308S.
- [59] Varel V H, Robinson I M, Pond W G. Effect of dietary copper sulfate, Aureo SP250, or clinoptilolite on ureolytic bacteria found in the pig large intestine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 53(9): 2009-2012.
- [60] Cui G X, Sun N, Wang T T, et al. Effects of *Bacillus cereus* YB1 on growth performance, intestinal digestive enzymes, liver antioxidant enzymes, and intestinal tissue structure of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(1): 97-105. [崔广鑫, 孙娜, 王腾, 等. 蜡样芽孢杆菌 YB1 对大菱鲆幼鱼生长性能、肠道消化酶、肝脏抗氧化酶及肠道组织结构的影响[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(1): 97-105.]

Effects of two lactic acid bacteria on the growth and immune performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

LU Guangjin¹, ZHANG Chong¹, ZHOU Jianping², ZHAO Yaxuan¹, LI Yan¹, YAO Zhilei¹, YU Ming¹, CHEN Guangtao¹, JI Xiangshan¹, CHEN Hongju¹

1. College of Animal Science and Technology, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China;
2. Fisheries Technology Extension Station of Daiyue District, Tai'an 271000, China

Abstract: This study aimed to investigate the effects of feeding diets supplemented with *Lactobacillus plantarum* LP-37 and *Pediococcus pentosaceus* PP-23 on the growth and immune performance of Nile tilapia. Seven experimental groups were used in this study, namely, control group C0: feeding basic feed; L1-L3 groups: adding three different concentrations of *Lactobacillus plantarum* LP-37 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed; P1-P3 groups: adding three different concentrations of *Pediococcus pentosaceus* PP-23 (1.0×10^6 CFU/g, 1.0×10^7 CFU/g, 1.0×10^8 CFU/g) to basic feed. The results showed that except for those in the L1 group, the final body weights of the fish in the experimental groups (123.22~158.60 g) were significantly higher than those of the C0 group fish (118.16±4.88) g ($P < 0.05$). Except for those in the L1 and P1 groups, the weight gain rates in the other experimental groups (128.69~156.20 g) were significantly higher than that in the C0 group (108.16±0.45)% ($P < 0.05$). The final body weight and weight gain rate of the fish in the L3 [(150.00±6.66) g, (152.69±3.51)%] and P2 [(153.24±5.36) g, (143.12±5.23)%] groups were significantly higher than those of the C0 group fish ($P < 0.01$). The addition of different concentrations of LP-37 and PP-23 was able to improve activities of three digestive enzymes of Nile tilapia. Among various groups, the greatest increases appeared in the L3 and P2 groups. In L3, protease (PRS) was (1.39±0.06) U/mg, α -amylase (AMS) was (55.20±3.39) U/dL, and alkline phosphatase (AKP) was (3.28±0.28) U/L. In P2, PRS was (1.40±0.04) U/mg, α -amylase (AMS) was (65.28±11.50) U/dL, and alkaline phosphatase (AKP) was (3.50±0.36) U/L. Compared with the expression in the C0 group, *IL-1 β* and *IFN- γ* genes in the spleen of the fish in the experimental groups were significantly down-regulated ($P < 0.05$), and the highest down-regulation occurred in the L3 and P2 groups. *IL-1 β* gene in the head kidney of fish of various experimental groups was also significantly down-regulated ($P < 0.05$), and the highest down-regulation occurred in the L3 and P2 groups. In terms of intestinal tissue morphology, the villous height in various experimental groups was significantly higher than that in the C0 group ($P < 0.05$). The crypt depth, the ratio of villous height to crypt depth, and muscle layer thickness in the L3 and P2 groups were significantly higher than those in the other experimental and control groups ($P < 0.05$), whereas there was no significant difference in these parameters between the other experimental and control groups ($P > 0.05$). In summary, adding 1.0×10^8 CFU/g *Lactobacillus plantarum* LP-37 and (1.0×10^7) CFU/g *Pediococcus pentosaceus* PP-23 to the diet can significantly increase the growth rate, digestive enzyme activity, and intestinal tissue structure, and alter the expression of certain immune related genes in Nile tilapia.

Key words: *Lactobacillus plantarum*; *Pediococcus pentosaceus*; Nile tilapia; growth performance; immune performance

Corresponding author: CHEN Hongju. E-mail: hjchen72@sda.edu.cn