

益生菌与 β -葡聚糖合用对养殖水体细菌的影响

周海剑, 尹军霞, 沈国娟, 孔令光

(绍兴文理学院生物系, 浙江 绍兴 312000)

摘要:将鲫鱼分为4个组:对照组、益生菌组、 β -葡聚糖组和联合组,分别投喂基础饲料、添加益生菌饲料、添加 β -葡聚糖饲料、添加益生菌和 β -葡聚糖饲料,定期检测各组养殖水体各细菌数量变化。结果表明:投喂益生菌后,水体细菌总数极显著减少($P < 0.01$),大肠杆菌、气单胞菌显著减少($P < 0.05$),乳酸杆菌数量显著增加($P < 0.05$); β -葡聚糖对水体细菌总数、大肠杆菌、气单胞菌、乳酸杆菌都没有明显影响($P > 0.05$); β -葡聚糖和益生菌联合投喂,水体细菌总数、大肠杆菌、气单胞菌显著减少($P < 0.05$),乳酸菌数量显著增加($P < 0.05$);联合组与益生菌组的细菌总数、乳酸杆菌无显著差异($P > 0.05$),而联合组的气单胞菌、大肠杆菌数量比益生菌组明显减少($P < 0.05$)。说明联合制剂中对水体细菌结构起调节作用的主要是益生菌,但 β -葡聚糖能协同益生菌减少水体中致病菌的数量,用 β -葡聚糖和益生菌联合投喂,调节水体细菌结构比单独投喂更有效。

关键词:大肠杆菌;气单胞菌;乳酸菌; β -葡聚糖;益生菌

中图分类号:S942.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2010)06-0137-04

尹军霞等(2007)的研究表明,饲料中添加适量益生菌和 β -葡聚糖能调整和改善鱼类肠道细菌结构,促进鱼类成活和生长。但在养殖水体中和饲料中投放益生菌和 β -葡聚糖,对养殖水体细菌总数以及对大肠杆菌、气单胞菌等鱼类养殖中常见的细菌性病原菌的影响在国内外至今未见报道。本文研究水产饲料中添加益生菌和 β -葡聚糖后对养殖水体细菌的影响,旨在探讨益生菌和 β -葡聚糖在鱼类养殖中的应用前景。

1 材料和方法

1.1 β -葡聚糖

β -葡聚糖由广东省农业科学院提供。用蒸馏水将 β -葡聚糖配制成浓度为4 g/L的溶液。

1.2 益生菌

益生菌由本实验室从鲫肠道分离的一株乳酸杆菌配制而成(尹军霞等,2004)。将乳酸杆菌用LBS培养基25℃培养48 h后收集菌体,用PBS将菌制成 1×10^8 个/mL的菌悬液。

1.3 供试鱼及饲养条件

试验鱼来自绍兴县灵芝镇狹狢湖,选用平均

体长为(13 ± 1) cm,活泼无外伤的鲫。饲养前用5%的NaCl水溶液将鱼体消毒后分成4个处理组,即对照组、 β -葡聚糖组、益生菌组、 β -葡聚糖与益生菌联合组,每个处理组3个重复。每组鲫33尾,称重后饲养在水族箱中并用充气泵增氧。各组定时投喂饲料,按鱼体重的2%投喂,早晚各1次。试验前7 d(2008年10月13日~10月20日)各组投喂相同的人工配制饲料(绍兴科盛饲料公司提供),21日起对照组投喂人工配制饲料, β -葡聚糖组投喂在表面喷有 β -葡聚糖液的饲料(每1 kg饲料喷250 mL β -葡聚糖液),益生菌组投喂在表面喷有益生菌液的饲料(每1 kg饲料喷250 mL 益生菌液), β -葡聚糖和益生菌联合组投喂在表面喷有 β -葡聚糖液和益生菌液的饲料(每1 kg饲料中, β -葡聚糖液和益生菌液各喷250 mL)。每天早晨虹吸出残饵和鱼屎,5 d换新鲜曝气自来水1次。

1.4 测定时间

2008年10月20日、10月27日、11月1日、11月8日、11月15日、11月22日分别每组随机取3份水样检测。

1.5 水样稀释

取水样0.5 mL注入4.5 mL无菌水中,充分振荡,制成 10^{-1} 稀释液,再依此稀释得到 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释液。

1.6 细菌分离培养

大肠杆菌、乳酸杆菌、气单胞菌分别选用EMB培养基、LBS培养基、RS培养基培养,测细菌总数采

收稿日期:2009-09-11 收修改稿日期:2010-04-16

基金项目:绍兴市重点科技项目2007A22023,浙江省新苗计划项目。

通讯作者:尹军霞,1970年生,女,湖北天门人,硕士,副教授,从事微生物教学和研究。

作者简介:周海剑,1988年生,女,浙江丽水人,绍兴文理学院生物系在读。

用营养琼脂培养。营养琼脂、EMB培养基, 28℃恒温箱中培养 24 ~ 48 h; LBS培养基、RS培养基置 37℃培养箱中培养 48 ~ 72 h。

1.7 细菌计数及数据处理

细菌总数采用平板菌落计数,并换算成每 1 mL 水样所含菌落数量 (cfu/mL),将计数结果取对数记录。同时,取单个菌落涂片,革兰氏染色和镜检。为了判断选择培养基的选择情况,对每个培养基平板选 6 个典型菌落进一步培养和生化鉴定,看各菌是否符合该菌种的基本特征或属的基本特征,计数结果也换算成每 1 mL 水样所含菌落数量 (cfu/mL),将计数结果取对数记录。

2 结果与讨论

2.1 水体细菌特点

细菌总数是判断水质好坏,水体污染程度的重要指标。大肠杆菌不仅是判断水体是否被粪便污染的指示菌,其本身也是养殖动物的条件致病菌(沈萍和陈向东,2006)。气单胞菌中的温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)更是引起鱼类细菌性败血病的主要病原菌(王红权等,2006)。减少水体中细菌总数、大肠杆菌和气单胞菌的数量有助于养殖动物的生长繁殖。而乳酸杆菌能定植于鱼类肠道,通过拮抗外袭菌和致病菌、促进免疫器官的发育和生长、激活巨噬细胞活力等作用来增强鱼类的免疫力(赵燕飞等,2004),同时还产生促生长素之类的物质和各种酶

类,提高动物的消化酶活性(王梦亮等,1999),进而提高动物的抗病能力和成活率,促进其生长发育。因此,增加水体乳酸杆菌数量,能提高鱼类生长速度和成活率。

各试验组的水体细菌测定结果见表 1。2008 年 10 月 20 日各试验组投喂饲料相同,所处室内环境相同,各水族箱水体细菌基本相同。对照组投喂相同饲料,在试验期不同测定时间的细菌值有差别,说明鲫养殖水体细菌受环境影响很大;各处理组在试验期不同时间检测,其水体细菌差别主要是受投喂饲料影响的结果。

2.2 益生菌对水体细菌的影响

将表 1 中益生菌组与对照组水体的细菌总数、乳酸杆菌、气单胞菌、大肠杆菌,分别做同一培养时间的成对 *T* 检验。结果表明:投喂益生菌后,水体细菌总数极显著减少($P < 0.01$),大肠杆菌、气单胞菌显著减少($P < 0.05$),乳酸杆菌数量显著增加($P < 0.05$),说明益生菌能有效改善水体细菌结构,促进鲫的生长。这与国内外学者的研究相符(Christiane F et al, 2001; 高荣琨,2007)。

2.3 β -葡聚糖对水体细菌的影响

将表 1 中 β -葡聚糖组与对照组水体的细菌总数、乳酸杆菌、气单胞菌、大肠杆菌,分别做同一培养时间的成对 *T* 检验。结果表明:投喂 β -葡聚糖后,水体中细菌总数、大肠杆菌、气单胞菌和乳酸杆菌都没有显著变化($P > 0.05$)。说明 β -葡聚糖单独作用对水体主要细菌无明显影响。

表 1 各试验组水体细菌测定结果

Tab.1 The determination concentration of bacteria in the experimental waters

检测项目	试验组	10月20日	10月27日	11月1日	11月8日	11月15日	11月22日
细菌总数	葡聚糖	4.27 ± 0.12	4.42 ± 0.24	4.12 ± 0.33	4.29 ± 0.24	4.34 ± 0.16	4.10 ± 0.33
	益生菌	4.22 ± 0.32	4.27 ± 0.30	4.02 ± 0.28	4.14 ± 0.18	4.21 ± 0.31	3.94 ± 0.23
	联合组	4.22 ± 0.41	4.01 ± 0.15	4.01 ± 0.35	4.15 ± 0.31	4.23 ± 0.14	3.85 ± 0.34
	对照组	4.23 ± 0.09	4.41 ± 0.21	4.13 ± 0.17	4.27 ± 0.27	4.36 ± 0.27	4.08 ± 0.17
大肠杆菌	葡聚糖	2.16 ± 0.34	2.16 ± 0.19	2.19 ± 0.17	2.13 ± 0.31	2.15 ± 0.16	2.20 ± 0.17
	益生菌	2.18 ± 0.10	2.03 ± 0.27	2.14 ± 0.24	1.75 ± 0.17	2.01 ± 0.16	2.02 ± 0.21
	联合组	2.17 ± 0.28	2.83 ± 0.22	1.92 ± 0.37	1.68 ± 0.25	1.87 ± 1.27	2.00 ± 0.37
	对照组	2.18 ± 0.32	2.15 ± 0.36	2.23 ± 0.31	2.17 ± 0.12	2.11 ± 0.22	2.25 ± 0.24
乳酸杆菌	葡聚糖	1.15 ± 0.35	1.27 ± 0.17	1.21 ± 0.19	1.12 ± 0.30	1.19 ± 0.11	1.11 ± 0.27
	益生菌	1.14 ± 0.27	1.47 ± 0.24	1.28 ± 0.20	1.39 ± 0.20	1.26 ± 0.24	1.25 ± 0.13
	联合组	1.12 ± 0.14	1.34 ± 0.36	1.27 ± 0.08	1.45 ± 0.19	1.36 ± 0.23	1.37 ± 0.09
	对照组	1.15 ± 0.26	1.25 ± 0.18	1.17 ± 0.20	1.28 ± 0.09	1.19 ± 0.25	1.14 ± 0.15
气单胞菌	葡聚糖	2.23 ± 0.14	2.39 ± 0.08	2.26 ± 0.28	2.25 ± 0.27	2.46 ± 0.17	2.28 ± 0.31
	益生菌	2.18 ± 0.07	2.32 ± 0.21	2.18 ± 0.15	2.22 ± 0.31	2.28 ± 0.19	2.04 ± 0.35
	联合组	2.22 ± 0.27	2.13 ± 0.24	2.97 ± 0.26	2.09 ± 0.18	2.05 ± 0.29	2.89 ± 0.13
	对照组	2.21 ± 0.37	2.35 ± 0.31	2.27 ± 0.27	2.45 ± 0.30	2.42 ± 0.12	2.25 ± 0.36

注:葡聚糖为 β -葡聚糖组;益生菌为益生菌组;联合组为 β -葡聚糖和益生菌联合投喂组。表内结果为 3 个重复组、每组随机 3 份水样的测定数据的对数平均值 ± 标准差,实测数据单位 cfu/mL。

2.4 β -葡聚糖和益生菌联合对水体细菌的影响

将表1中联合组与对照组水体中的细菌总数、乳酸杆菌、气单胞菌、大肠杆菌, 分别做同一培养时间的成对 T 检验。结果表明: 用 β -葡聚糖和益生菌联合投喂后, 细菌总数、大肠杆菌、气单胞菌显著减少($P < 0.05$), 乳酸菌数量显著增加($P < 0.05$)。说明联合制剂能明显改善水体细菌结构, 抑制致病菌的生长。将表1中联合组与益生菌组水体中的各细菌指标, 分别做同一培养时间的成对 T 检验。结果表明: 联合组与益生菌组的细菌总数、乳酸杆菌无显著差异($P > 0.05$), 而联合组的气单胞菌、大肠杆菌数量比益生菌组明显减少($P < 0.05$)。说明联合制剂中, 对水体细菌结构起调节作用的主要是益生菌, 但 β -葡聚糖能协同益生菌减少水体中致病菌的数量, 也说明 β -葡聚糖和益生菌联合投喂, 对调节水体细菌结构比单独投喂有效。

3 小结

水质条件的好坏是养殖成败的关键, 在养殖过程中, 各种残饵和养殖动物排泄物会影响水质, 导致养殖动物各种疾病的发生。养殖户过去常用的药物的长期使用会导致药物残留、产生耐药菌株、环境污染以及二重感染等副作用, 严重阻碍水产养殖业健康持续发展(战文斌, 2004)。使用微生态制剂调节和净化水质, 已成为一个开发热点。本试验表明, 在

养殖水体中施用适量的乳酸菌和 β -葡聚糖能减少水体细菌总数和大肠杆菌、气单胞菌的数量, 在水产养殖业上的应用具有广阔的前景。

参考文献:

- 高荣琨. 2007. 乳酸菌体外抑菌试验报告[J]. 当代畜牧, (12): 19-20.
- 沈萍, 陈向东. 2006. 微生物学[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社: 304.
- 王红权, 陈开健, 肖调义, 等. 2006. 致病性细菌对鲤和鳊感染研究[J]. 水利渔业, 26(3): 92-94.
- 王梦亮, 郭小青, 梁生康, 等. 1999. 光合细菌(P SB)对鲤鱼肠道菌群及肠消化功能的影响[J]. 中国微生态学杂志, 11(3): 146-147.
- 尹军霞, 沈文英, 杨环城, 等. 2007. β -葡聚糖和乳酸杆菌对鲫协同作用的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 22(6): 426-430.
- 尹军霞, 张建龙, 沈文英, 等. 2004. 鱼食性与肠道菌群关系的初步研究[J]. 水产科学, 23(3): 4-7.
- 战文斌. 2004. 水产养殖动物病害学[M]. 北京: 中国农业出版社: 235.
- 赵燕飞, 汪以真, 胡迎利. 2004. 肠道菌群与动物免疫的相互关系[J]. 中国兽药杂志, 38(8): 36-38.
- Christiane F, Christophe De C, Catherine V, et al. 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties [J]. Research in Microbiology, 152(2): 167-173.

(责任编辑 杨春艳)

The Impact of Combination of Probiotics and β -glucan on the Bacteria in Cultivate Water

ZHOU Hai-jian, YIN Jun-xia, SHEN Guo-juan, KONG Ling-guang

(Department of Biology, Shaoxing College of Arts and Science, Shaoxing 312000, China)

Abstract: In this study, crucian carps were divided into four groups, including the control group, probiotics group, the β -glucan group and the combination group. Each group was separately fed with the basic feed, probiotics-added feed, β -glucan-added feed, and both probiotics-added and β -glucan-added feed. The total number of bacteria, including *Escherichia coli*, *Aeromonas*, and *Lactobacillus* in water were detected. The results showed that: after fed with probiotics, the total number of bacteria in water was significantly decreased ($P < 0.01$), and *Aeromonas* and *Escherichia coli* in water was decreased ($P < 0.05$). *Lactobacillus* was increase ($P < 0.05$). But β -glucan had no effect on all the bacteria ($P > 0.05$). Probiotics and β -glucan could decrease the total number of bacteria, *Aeromonas* and *Escherichia coli* in water ($P < 0.05$) and promoted *Lactobacillus* ($P < 0.05$). No obvious difference existed between the total number of bacteria and *Lactobacillus* of probiotics group and that of combination group. *Aeromonas* and *Escherichia coli* in combination group water was less than that in probiotics group water ($P < 0.05$). The effect of combined probiotics and β -glucan was better than either. So the compound preparation of β -glucan and probiotics in aquaculture had broad application in the future.

Key words: *Escherichia coli*; *Aeromonas*; *Lactobacillus*; β -glucan; Probiotic