

研究简报

A Letter

益生菌和益生元对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)肠道菌群的影响

Gonca Alak¹, Sükriye Aras Hisar²

1 阿塔图尔克大学农学院农业生物技术部, 埃尔祖鲁姆-25240, 土耳其

2 Çanakkale 18 Mart 大学渔业系渔业和加工技术部, 恰纳卡莱-17000, 土耳其

✉ 通讯作者: galak@atauni.edu.tr

水生生物研究, 2012 年, 第 1 卷, 第 10 篇 doi: [10.5376/aor.cn.2012.01.0010](https://doi.org/10.5376/aor.cn.2012.01.0010)

本文首次以英文发表在 *International Journal of Aquaculture*, 2012, Vol.2, No.3, 11-14 上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 协议对其进行授权, 用中文再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。如果读者对中文含义理解有歧义, 请以英文原文为准。

引用格式:

Alak and Hisar, 2012, The Effects of Probiotics and Prebiotics on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Intestinal Flora, *International Journal of Aquaculture*, Vol.2, No.3 11-14 (doi: [10.5376/ija.2012.02.0003](https://doi.org/10.5376/ija.2012.02.0003))

摘要 在这项研究中, 益生菌和益生元的作用是用于饲养虹鳟肠道菌群。用添加有益生菌和益生元的诱饵饲喂对好氧嗜温细菌, 冷冻营养细菌, 乳酸菌, 肠杆菌科细菌以 $p < 0.01$ 或 $p < 0.05$ 水平是有效的。包括益生元的饲料混合物导致乳酸菌数量增加 1 个对数单位。在用益生元饲喂的鱼中, 发现肠杆菌科的数量较低, 包括与对照和益生元组相比的饲料。

关键词 虹鳟鱼; 益生菌; 益生元; 乳酸菌

The Effects of Probiotics and Prebiotics on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Intestinal Flora

Gonca Alak¹, Sükriye Aras Hisar²

1 Agricultural Biotechnology Department, Agricultural Faculty, Atatürk University, 25240-Erzurum, Turkey

2 Fishing and Processing Technology Department, Faculty of Fisheries, Çanakkale 18 Mart University, 17000-Çanakkale, Turkey

✉ Corresponding author email: galak@atauni.edu.tr ✉ Authors

Abstract In this study, the effects of probiotic and/or prebiotic were used in raising rainbow trout on intestinal flora. Feeding with probiotic and/or prebiotic added bait was effective on aerobic mesophilic bacteria, psychotrophic bacteria, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae at the $p < 0.01$ or $p < 0.05$ level. Feed mixtures including the probiotic caused a 1 logarithmic unit increase in the number of lactic acid bacteria. The number of enterobacteriaceae was found to be at a lower level in the fish fed with the probiotic, including feed compared to control and prebiotic groups.

Keywords Rainbow trout; Probiotic; Prebiotic; Lactic acid bacteria

介绍

存在于肠道菌群中的一些微生物在鱼类的腐烂中起重要作用。水生动物的肠微生物群可能随着在水中摄入微生物而快速变化。对健康没有任何负面影响的一些动物和植物衍生的抑制剂元素(益生菌, 益生元, 有机酸和各种酶)被广泛用于降低存在于鱼肠道菌群中的一些微生物的能力(Barug et al., 2006)。

水产养殖中益生菌和益生元的使用是常见的; 然而, 在土耳其, 益生菌和益生元的使用是非常新奇的。在水产养殖中, 通过平衡水中的细菌群体来研究益生菌在减少病理性细菌负荷和改善水质中的用途, 并且益生菌的使用已经变得越来越普遍(Irianto and Austin, 2002; Korkut et al., 2003; Vine et al., 2006)。特别是近年来, 在食品安全的应用中使用了基于生物原理的控制系统(微生物细胞, 如酶, 凝集素, 受体和益生菌)。这些研究通常在活的有机体内, 在食品部门中进行。

已经对益生菌和益生元在水产养殖中的使用对增加的活畜重量, 饲料利用和免疫系统的影响进行了许多研究; 然而, 益生菌和益生元对鱼的冷保存的持续时间的影响尚未在活的有机体内进行研究。本研究的建立和实施是为了观察鱼的肠道菌群在喂养益生菌和益生元期间的变化, 这在未来水产养殖将具有非常重要的地位。

1 结果与讨论

在由不同饲料喂养的虹鳟(*O.mykiss*)的肠样品中, 在开始喂养时需氧细菌的总数的范围是 10^5 kob/g~ 10^6 kob/g。在 60 天的期间后, 数目范围再次变为 10^5 kob/g~ 10^6 kob/g。根据这些结果, 可知虹鳟肠内菌群中有嗜温菌特性的细菌量约为 10^5 kob/g~ 10^6 kob/g。Diler 和 Diler (1998)在鲤鱼上进行的研究中也发现了类似的结果。然而, 与嗜温细菌相比, 在开始喂养时处于较低水平的营养性细菌的数量与经过的时

间并行增加。这些结果的产生,被认为是由于在喂食期间水的温度为约 10°C 。在喂食期结束时,各组之间存在差异;然而,精神营养细菌的数量已增加到 10^8 kob/g 和 10^9 kob/g 的水平。肠菌类的细菌数量和优势菌种因为喂食方法的改变而发生了变化。有一项研究在 20 天里给鲈鱼幼虫喂食了不同的饲料(商业饵料,包括卤虫和铁),细菌数量分别达到了 10^9 kob/g, 10^7 kob/g 和 10^8 kob/g 的水平,并且,在每个菌群中的优势菌种也有所变化(Reuter, 2001)。

刚开始喂食时,乳酸菌的数量水平为 10^4 kob/g,在之后的喂食过程中,通过喂食含有益生菌及含有益生菌和益生元的混合物的饲料后,细菌数量有了提高,而对照组乳酸菌数量在喂食的 60 天里没有变化。饲料中含有益生菌的菌群中,乳酸菌的数量增加,几乎达到了 10^6 kob/g 的水平。将 *Carnobacterium* 的 K1 菌种代替益生菌以 5×10^{10} kob/g 的水平添加到饲料中,我们发现肠菌类的益生菌数量最初是低于可辨认水平的,第 7 天,数量就达到了最大值(1.3×10^8 kob/g),灾后一天又降到了 2.9×10^5 kob/g 的水平(Jöborn et al., 1997)。在喂食过程中,鱒鱼的肠样本中的乳酸菌数量持续增加至第 30 天,在第 45 天时减少,在第 60 天时又增加至 $5.06 \log$ kob/g 的水平。最低和最高的平均值分别出现在最开始阶段和第 60 天。喂食的第 15 天和第 30 天的数值具有统计学意义($p > 0.05$) (图 1)。

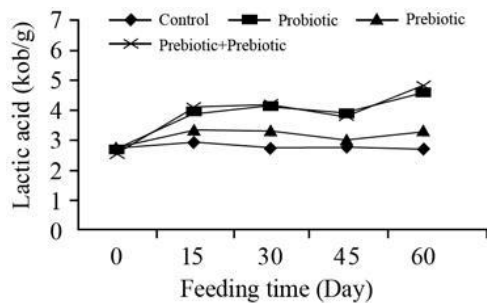


图 1 喂食阶段乳酸菌的数量

Figure 1 Count lactic acid bacteria for feeding period

与我们的研究结果相似的是, Dullu ç (2010)的报告称,给幼年罗非鱼的益生菌喂食含有不同水平(10^5 kob/g, 10^6 kob/g and 10^7 kob/g)益生菌数量的饲料后,其数量分别达到了 $4.37 \log$ kob/g, $3.70 \log$ kob/g 和 $5.08 \log$ kob/g 的水平。一项关于 *Carnobacterium* 对大西洋鲑和虹鳟鱼肠菌量的影响的研究结果与我们的研究结果一致(Robertson et al., 2000)。

喂食第 1 天,所有实验组的肠杆菌的数量都处于 10^3 kob/g 的水平,喂食含有益生元的饲料的几组以及对照组在喂食阶段,肠杆菌的数量一直保持在这一水平。另一方面,喂食含有益生菌的几组中,肠杆菌的数量在第 15 天下降到了低于可测量的水平。这些组($p < 0.01$)在另外的几天里,也得到了同样的测量结果。这些研究结果表明,益生菌对革兰氏阴性细菌有着重要的抑制作用。据此,益生菌加益生元的实验组与对照组的数值差高达 1 对数单位。同时可以得出,益生菌对肠杆菌的数量有明显的降低作用(图 2)。

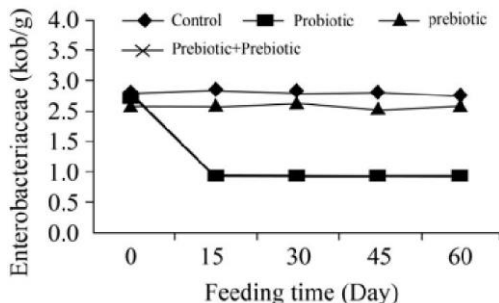


图 2 喂食阶段肠杆菌的数量

Figure 2 Count of enterobacteriaceae for feeding period

Burr 和 Gatlin (2005)的研究结果也类似,他们的研究报告称,鱼类肠菌类的益生菌对于肠杆菌和大肠型细菌有抑制作用,如果坚持给微生物的肠腔施加益生菌,就可以抑制微生物的生长。同样的, Öztürk (2008)的研究报告称,给鲤鱼喂食含有益生菌(屎肠球菌)的饲料,可以对肠杆菌起到抑制作用,并且使肠杆菌爽

降低低于可测量的水平。Bagheri 等(2008)认为, 乳酸菌与肠菌类的病原微生物相竞争, 并阻止它们的生长。

2 结论

饲喂时间对于饲喂不同饲料的鳟鱼肠道样品中的有氧嗜温和精神细菌是有非常显著效果的($p < 0.01$)。治疗对于处理这些微生物具有显著的作用($p < 0.05$)。虽然在益生菌组中确定了肠中中性菌的最低数量, 但该组的平均值与益生元组的平均值相似。在益生菌组中再次鉴定了精神病菌的最低值; 然而, 益生菌+益生元组的平均值没有显著差异。发现处理组中的精神病菌的数量比处理组中的嗜温细菌的数量高约 2 个对数单位。到第 30 天为止, 肠内乳酸菌的数量增加, 到 45 天开始减少, 并且在第 60 天显示出增加。增加益生菌的彩虹鳟鱼被发现以 1 个对数单位而增加的乳酸菌数量。益生菌(鼠李糖乳杆菌)引起肠杆菌科数目的显著减少。

3 材料与方法

本研究中使用阿塔图尔克大学养殖研究和生产设施提供的平均重量为(100±10) g 的鳟鱼作为鱼类材料。使用 11×10^9 kob/g 的益生菌水平来制备具有益生菌的饲料, 并且使用 2% 的益生元的速率来制备具有益生元(鼠李糖乳杆菌 DSM 7133)的饲料。相同的速率用于制备益生菌+益生元饲料。测定由四个组组成, 其中包括一个对照组和三个治疗组。四百条鱼随机分布在 16 个贮水池中, 每个贮水池中有 25 条鱼。在 5×4 的因子列阵中基于 5 个不同天(0, 15, 30, 45 和 60 天)和四种不同处理(控制, 益生菌, 益生元, 益生菌+益生元)。根据水温(10 ± 1 °C)和每种饮食的鱼重量来计算饲养计划, 并且在该测定中通过取样的某些他进行喂养, 并且对肠道菌群进行微生物计数。

3.1 微生物分析

10 g 鱼肠道菌群先进行无菌去除, 并在含有 0.85% NaCl 溶液的 Stomacher 400 (Lab Stomacher Blander 400-BA7021, Sewardmedical)袋中匀化一分钟。进一步的十进制稀释, 然后将 0.1 ml 的每种稀释液移到平板计数琼脂(PCA, Merck)的表面上。然后将 PCA 板在 10°C 下培养精子细胞计数 7 天, 在 37°C 培养 2 天用来获得嗜温细菌计数。在 30°C 厌氧的条件下温育 2 天紫罗兰-红-胆汁-葡萄糖琼脂(VRBG-agar, Merck)用平板中测定肠杆菌科。乳酸菌在 MRS 琼脂(培养基)板中于 30°C 厌氧培养 72 小时后测定。所有计数用 \log_{10} CFU/g 表达。

3.2 统计分析

使用 SPSS 18.0 组装程序中的分差分析来分析所获得的数据, 并且将变异起因的方法与邓肯多测试进行比较。然而, 对于肠杆菌科计数的统计分析, 小于 2 \log kob/g 将记作 2 \log kob/g。

Reference

- Bagheri T., Hedayati S.A., Yavari V., Alizade M., and Farzanfar A., 2008, Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 8: 43-48
- Barug D., Jong J., Kies A.K., and Verstegen M.W.A., eds., 2006, Antimicrobial growth promoters. Where do we go from here? Wageningen Academic Publishers, pp.422
- Burr G., and Gathlin, D., 2005, Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture, Journal of the World Aquaculture Society, 36(4): 425-436
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2005.tb00390.x>
- Diler, Ö., and Diler A., 1998, Lake is fish zander (*Stizostedion lucioperca* L.1758) qualitative and quantitative changes in the gastro-intestinal microflora, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 22: 325-328
- Dullu ç A., 2010, The effects of Probiotic supplement feeding tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) on growth and feed offspring, PhD Thesis, Suleyman Demirel University, Institute of Science, Isparta
- Írianto A., and Austin B., 2002, Probiotics in aquaculture, Journal of Fish Diseases, 25: 633-642
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00422.x>
- Korkut A.Y., Hoşsu B., and Ferhatoğlu M., 2003, Usage of probiotics in aquaculture, Ege University Fisheries and Aquatic Sciences, 20 (3-4): 551-556
- Öztürk F.Y., 2007, The use of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) as the effect on performance, PhD Thesis, Institute of Health Sciences, Ankara University, Ankara, Turkey Robertson P.A.W., O'Dowd C., Burrells C., Williams P., and Austin B., 2000, Use of *Carnobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum), Aquaculture, 185: 235-243
[http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00349-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00349-X)
- Vine N.G., Leukes W.D., and Kaiser H., 2004, *In vitro* growth characteristics of five candidate aquaculture probiotics and two fish pathogens grown in fish intestinal mucus, Microbiology Letters, 231: 145-152
[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00954-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00954-6)