

益生菌在水产养殖中的应用

张磊¹ 赵志刚²

(1.华中农业大学水产学院,湖北,武汉 430070 2.大连水产学院养殖系,辽宁,大连 116023)

摘要: 本文着重从养殖水体净化、水产养殖动物疾病防治和促进水产养殖动物生长三个方面论述了益生菌在水产养殖应用中的作用机理,为进一步探索水产养殖动物新的疾病防治途径及养殖模式提供了理论依据。

关键词: 益生菌 水产养殖 机理

近20年来,水产养殖在我国得到了迅猛发展^[1],养殖的品种已由一般品种向名特优品种过渡,养殖方式也由粗放向半精养、精养发展,但养殖生产模式基本上仍沿袭以往的静水、不排污的池塘养殖为主,养殖水体污染日益严重;同时工业废水、生活污水的排放也使养殖水域环境质量日益下降。这不仅直接危害养殖对象,而且也是疾病频繁发生的主要诱因。水产养殖中化学药品的使用会造成病原体产生抗药性,药品的残留物会污染水环境,同时还会杀害水中的有益微生物,造成水生生态的失调,引起微生态平衡失调,产生二次污染和内源性感染。中国虽是水产养殖大国,但随着淡海水养殖环境恶化、病害频发、滥用药物的加剧,养殖水产品不仅在国际贸易的绿色壁垒中屡次碰壁,而且侵害国内消费者健康,更严重的是这种生产方式是可持续发展和无公害养殖

的大敌。因此,改善水产养殖水域环境已成为养殖业可持续发展的关键技术和研究热点。

1 益生菌的科学认识

1.1 益生菌的定义及特点

随着对益生菌不断地研究,益生菌的定义也出现了许多概念。Fuller认为“益生菌是一种活的微生物饲料添加剂,通过改善肠道的微生物平衡而有益于动物”。该定义起初用于陆生动物和人类。对水生动物而言,在动物与其周围的水环境不断地相互作用过程中,水环境中的细菌影响鱼体肠道的微生物组成。肠道中出现的微生物似乎是来自环境和饵料并能在肠道生存和繁殖的那些属。而在某种程度上水环境中的微生物还可生活于养殖动物的鳃或皮肤上。Gram去掉对肠道的限制,将益生菌的定义扩展为“一种活的微生物添加剂,通过改善动物的微生物平衡而对其产生有利的影响”。水生动物往往产卵于水中,使其周围水中的细菌能在卵表面定居,而且,刚孵化的幼体或新出生的动物肠道系统发育并不完全,其肠道、皮肤和鳃上没有微生物群落。由于水生幼体早期阶段的主要微生物群落部分地取决于饲育它们的水,

故水中细菌的性质尤为重要。因此, Verschuere 等将益生菌的定义进一步扩展为“一种活的微生物添加剂, 通过改善与动物相关的或其周围的微生物群落, 确保增加饲料的利用率或增强其营养价值, 增强动物对疾病的应答或改善其周围环境的水质而有益于动物”^[2]。因此, 广义上讲, 益生菌是为对宿主健康产生有益作用的微生物的全部或部分。

水产动物益生菌一般具有以下特点: ①对动物和人无毒害; ②对消化道内的酸和胆汁有较强的耐受力; ③发酵中能产生抑菌物质; ④容易培养增殖; ⑤加工成饲料后有较高的存活率; ⑥不与病原菌杂交^[3,4]。

1.2 微生物在养殖水体生态链中的地位

微生物是自然界中分布最广、种类最多、数量最大、个体最小的生物类群, 是大自然生态平衡的基础。这些微生物可以直接或间接地作用于水产养殖对象和养殖环境, 很好地分解养殖生物排泄物、残饵以及浮游植物残体等有机物, 净化了环境, 同时微生物链在水质净化中通过氧化、还原、光合、同化、异化把有机物转变为简单的化合物, 保证水质的正常功能, 从而维持水生生态系统中水生生物、病原、水质间的平衡(见图1)^[5]。由于我国的精养、半精养水产养殖生产基本上仍然沿袭静水, 不排污的池塘养殖方式, 养殖动物的摄食、排泄、活动都在同一池塘中进行。由于多数为单品种养殖, 切断了自然生态体系的食物链循环, 养殖动物的排泄物、残存饲料、浮游生物残体等有机物失去了被其他生物转化利用的机会, 只能依靠池中微生物的分解矿化。因此, 池塘养殖生态系统自净能力的负荷增大。然而, 一个水体的养殖容量主要是由饵料供应水平和质量、水体自净能力和人工干预程度决定的, 在饵料供应和人工干预程度一样的情况下, 养殖容量主要由水体自净能力决定, 因此, 提高池塘自净能力, 即微生物对有机污染物的分解能力, 对提高养殖产量, 减少疾病发生, 降低养殖成本, 实现

水产养殖的可持续发展, 有着重要意义。由此, 益生菌孕育而生。

2 益生菌对养殖水体净化的作用机理

益生菌要生长, 必须从外界环境中不断地摄取营养物质, 经过一系列的生理、化学反应, 转变为细胞的组分, 益生菌生长所需的营养物质主要

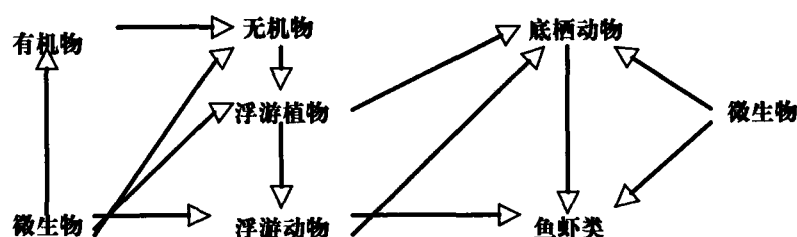


图1 养殖水体生态网

有水、碳素营养源、氮素营养源、无机盐类及生长因子。养殖水体中的水是益生菌的组分, 又是益生菌代谢过程中必不可少的溶剂, 有助于营养物质溶解, 并通过细胞质膜被益生菌吸收, 保证细胞内外各种生物化学反应在溶液中进行。养殖水体中的益生菌(硝化细菌、光合细菌、硫化细菌、芽孢杆菌等净水微生物), 它们的使用使养殖者在不断养殖过程的情况下, 清除池塘底部尤其是老池塘底部积累的大量残余饵料、排泄废物、动植物残体以及有害气体(氨、硫化氢等), 使之先分解为小分子(多肽、高级脂肪酸等), 后为更小分子有机物(氨基酸、低级脂肪酸、单糖、环烃等), 最终分解为二氧化碳、硝酸盐、硫酸盐等, 有效地降低水中的COD、BOD, 使水体中的氨氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)与亚硝酸氮($\text{NO}_2^- - \text{N}$)、硫化物、氨的浓度降低, 从而有效地改善了水质, 且能为单细胞藻类为主的浮游植物的繁殖提供营养物质, 促进藻类为主的浮游植物的繁殖, 这些藻类为主的浮游植物的光合作用, 又为池内底栖动物, 水产动物的呼吸, 有机物的分解提供氧气, 从而形成一个良性生态循环, 有利于水产动物的迅速生长, 其主要营养物质循环(见图2)^[5]。同时由于净水微生物的大量繁殖, 在池内形成优势种, 可抑制病原微生物的繁殖, 减少疾病发生。

3 益生菌对水产养殖动物疾病防治的作用机理

动物胃肠中的大量微生物组成的微生态系是长期的历史进化过程中形成的。正常菌群像是一道屏障,保护宿主的健康生长。当正常菌群占优势时,会抑制病原菌生长,提高宿主抗病能力。益生菌正是通过调节宿主体内的微生态结构,使其在微生态平衡的系统下表现出最佳的生理状态和最快的生长发育速度,具有最高的抗逆性(桂远明,1993)^[3] 养殖动物发病

的主要原因是,由于环境变化引起大量有害物质(氨、硫化氢等)出现,破坏了动物体表粘膜上的正常微生物群,致使病菌突破养殖动物的首道防线而入侵体内,同时有害物质可以诱导致病菌内,毒素的分泌活动,使其活动增强,使动物原有的生态平衡失调从而导致机体出现一系列病理性变化而发病。大量实验证明,在养殖水体中,随着养殖时间的延长,微生物群的种类和数量不断变化,总的趋势是有益微生物群的数量在减少,而有害微生物群的数量在增加,因此发病频率也越来越高。通过益生菌的使用,增加了水体中有益微生物的数量,可利用它们形成动物体表的第一道防线,防止致病菌的入侵,减少病害的发生;利用微生物间的拮抗作用来抑制致病菌的繁殖和生长,减少它们的比重,不仅可以防止病害的发生,还可以减少药物的使用,降低了环境污染^[6]。

益生菌通过竞争作用调节宿主体内菌群结构,抑制有害生物的生长,减少和预防疾病。益生菌在动物肠道内产生有益菌群,与致病菌间就生存和繁殖的空间、时间、定居部位以及营养素等开展竞争,抑制有害菌的增殖^[7]。其作用

机理主要有以下几个方面。

3.1 益生菌分泌抑菌物质抑制病原菌增长

从菌体分泌物来研究益生菌作用机理是目前

的热门方向^[8]。益生菌进入消化道后,与原有微生物竞争而释放出特殊的物质,抑制其他菌株的生长繁殖,或益生菌在其生长过程中产生的代谢产物对其他菌株有拮抗作用,从而改变水产动物肠道内的优势菌群,对动物的生长起促进作用。乳酸菌通过分泌细

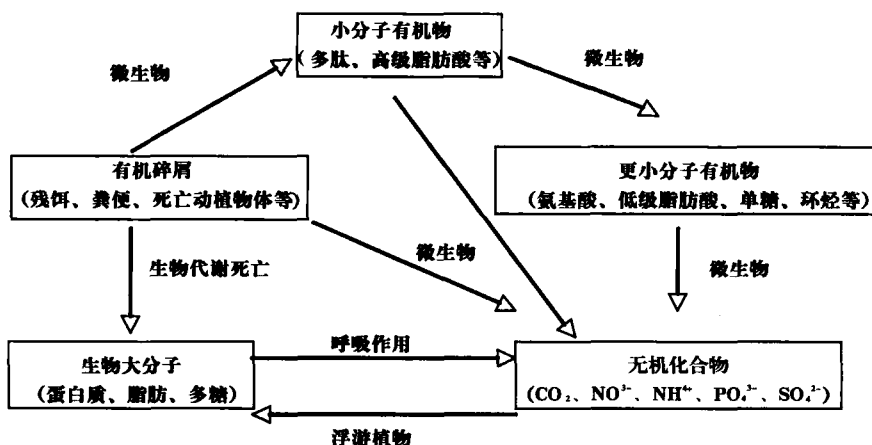


图2 微生物对水体的净化作用机理

菌毒素、过氧化氢、有机酸(包括乳酸、乙酸、丙酸、丁酸等)等物质,使肠道环境pH下降,抑制有害病原微生物生长;而产生的过氧化氢抑制病原菌的生长繁殖,使有益微生物在细菌种间相互竞争中占优势^[9]。Austin(1992)^[10]发现微藻(*Tetraselmis succica*)能产生一种水溶性的抗菌物质,对常见的鱼类嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)、液化沙雷氏菌(*Serratia liquefaciens*)等7种病原菌有抑制作用。此藻用作饵料添加剂时,能抵抗病原菌对大西洋鲑鱼的感染,减少养殖水体细菌总数;用于治疗时,藻细胞及其提取液能抵抗病原菌的侵袭。Bogut I, Milakovic Z等(1998)^[11]用益生菌溶解藻胶弧菌的去细胞上清液冷冻干燥粉能有效抑制病原菌杀鲑气单胞菌、鳃弧菌和病毒雨弧菌。双歧杆菌和乳酸杆菌还产生胞外糖苷酶,可降解肠粘膜上皮细胞的特异性糖类,阻止致病菌和毒素对上皮细胞的粘附和侵入^[12]。

3.2 益生菌与病原菌争夺附着位点或营养物质,抑制其生长

竞争抑制是益生菌的主要作用机理,也是生态学的主要观点。竞争抑制大致可分为占位

竞争和营养竞争。

对附着位点的竞争是益生菌作为饲料添加剂进入动物消化道后发挥的第一个作用。益生菌进入肠道后,首先占据靶上皮细胞,产生一个对病原微生物生长不利的环境,并逐步形成肠道内的优势菌群,进一步阻止有害微生物的定殖。如酵母可以识别肠道粘膜上的特异物质,而且有较大的疏水表面积,对于吸附非常有利^[13]。酿酒酵母7764通过与大肠杆菌和卷旋菌竞争磷脂受体而起抗病原作用^[8]。在陆生生物中的大量研究证明,某些益生菌能够阻止有害菌的定殖。在水产动物中,对益生菌定殖速度的研究多是结合分泌物质的抑菌作用来探讨这个问题。有研究表明,益生菌分泌物的功能之一就是抑制有害菌的附着能力,使自身在竞争附着位点时处于有利位置^[3]。Olsson通过测定分离自大菱鲆和欧洲黄盖鲈肠道的几株菌(体外能抑制鳗弧菌)在大菱鲆肠黏液的附着及生长能力,以研究这些菌株定植于养殖的大菱鲆作为保护其免受鳗弧菌感染的一种手段。由于观察到鳗弧菌在肠道中能快速生长,因此,认为肠道是其增殖的场所。分离自肠道的菌株在肠道黏液中比鳗弧菌和分离自皮肤黏液的菌株具有更强的黏附和生长能力,表明它们能有效地同病原菌竞争肠黏膜上的附着位点^[2]。Austin(1995)^[14]用分离的溶藻胶弧菌注射或浸浴大西洋鲑时,可抵抗致病性杀鲑气单胞菌、鳗弧菌和病毒鱼弧菌等的感染,此菌在鲑鱼的消化道能存活21天以上。说明了溶藻胶弧菌占据了气单胞菌、鳗弧菌和病毒鱼弧菌的生态位,从而保护了鲑鱼免受致病菌的侵害。

营养竞争产生在动物生长环境中食物匮乏的时候。益生菌和有害菌同时竞争环境中有限的营养资源。在争夺过程中,益生菌通过对营养物质的更有效利用,使自身在竞争中取得胜利,成为消化道内的优势群。有报道称,当食物中某些必需的营养素缺乏或供给不足时,会在肠道内产生对该营养素的争夺而导致菌群组成的失调^[3]。

3.3 益生菌能防止有毒物质的积累,保护机体不受毒害

当动物机体受到环境应激因子的刺激时,会导致动物机体肠道内微生态平衡的失调,从而导

致体内菌群比例失调。一般情况下,需氧菌增加,并使蛋白质分解产生胺和氨等有害物质,动物表现为病理状态^[12]。有些益生菌,如某些乳酸杆菌、链球菌、芽孢杆菌等,可以阻止毒性胺和氨的合成。Mitchell^[8]实验证明保加利亚乳杆菌的代谢产物可以分解大肠杆菌外毒素,防止毒性胺在体内合成。多数好氧菌产生超氧化物歧化酶(SOD),可帮助动物消除氧自由基。还有些益生菌,如芽孢杆菌在肠道内可产生氨基氧化酶及分解硫化物的酶类,从而降低了血液及粪便中氨、吲哚等有害气体的浓度^[15]。

3.4 益生菌能刺激免疫系统,提高机体免疫力

作为饲料添加剂的益生菌提高机体免疫力的原因,可能是,益生菌中有益菌是良好的免疫激活剂,能有效提高抗干扰素和巨噬细胞的活性,通过产生抗体和提高噬菌作用活性等刺激免疫,激发机体体液免疫和细胞免疫,从而促进免疫器官生长发育^[16]。益生菌中含有亚麻酸、多种维生素、矿物质、藻胆蛋白等多种活性物质,这些物质具有直接激活免疫反应的生物学功能。桂远明等(1994)^[17]从正常的鲤鱼肠道中分离出JY10(节杆菌)和JY13(乳杆菌),将它们制成益生菌并添加到饲料中,以该饲料投喂鲤鱼,增加了抗病能力。其白细胞吞噬率和吞噬指数、巨噬细胞吞噬率和E玫瑰花环形成率、特异性效价等均明显高于对照组。刘克琳、何明清(2000)^[18]采用有益芽孢杆菌制成的益生菌饲喂鲤鱼苗100天后发现,实验组免疫器官胸腺、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。王宏田等(2000)^[19]用含有大马哈鱼生长激素基因的重组酵母菌可以增加牙鲈血清蛋白的含量,增加牙鲈血清中溶菌酶和抗蛋白物质的活性。大量研究表明,乳酸菌可诱导机体产生干扰素、白细胞介素等细胞因子,通过淋巴循环活化全身的免疫防御系统,增强机体抑制癌细胞增殖的能力。螺旋藻多糖不但能提高机体非特异性的细胞免疫功能,而且能促进机体特异性的体液免疫功能。综上所述,益生菌能提高水产养殖动物免疫功能的原因可能是:第一,某些益生菌菌体在肠

道分解营养物质产生某种蛋白质经机体吸收后对机体防御机能刺激的结果；第二，益生菌在肠道具有抗原识别部位的淋巴组织集合上发挥免疫佐剂作用，活化肠粘膜内的相关淋巴组织，使SIgA抗体分泌增强，提高免疫识别力，并诱导T、B淋巴细胞和巨噬细胞产生细胞因子，通过淋巴细胞再循环而活化全身免疫系统；第三，正常菌群对动物的免疫增强作用与正常菌群菌体的抗原位点有关，益生菌进入肠道后可调整肠道菌群，使肠道微生态系统处于最佳的平衡状态，间接地发挥免疫赋活的作用，提高机体的局部或全部防御功能，从而提高机体对疾病的抵抗力；第四，某些益生菌菌体成分本身具有免疫佐剂的作用^[16]。

4 益生菌对水产养殖动物促生长作用机理

在养殖水体中，微生物群是食物链的重要组成部分。由于大量投饵和施肥为微生物群的增殖创造了良好的条件。在水体中使用益生菌，不仅能通过它们的絮凝化作用，互相絮凝成颗粒状，当颗粒足够大时，就能被动物所摄食，从而提高养殖动物产量；还可以为浮游动物及有益藻类的繁殖提供了条件，促进它们的生长，从而为养殖动物增加了的天然饵料，这样既可以加速养殖动物的生长，又可以降低成本，提高经济效益。朱学宝曾用细菌絮凝体喂罗非鱼、白鲢的研究发现，仅经过13天的饲养，用细菌絮凝体饲养的罗非鱼增重比用其他饲料饲养时高30%，白鲢摄食细菌数量占食物总量的31.68%。方秀珍在对高产鱼池中异养细菌的研究时发现，鱼池中鱼产量的50%~70%来自细菌的异养生产^[6]。

光合细菌富含蛋白质，粗蛋白含量高达65%，还含有丰富的B族维生素、泛酸、生物素(为D-异构体，是具有活泼生理作用的活性物质)、与造血血红蛋白形成有关的叶酸、类胡萝卜素、钙、磷和多种微量元素、辅酶Q等^[20]。大量研究表明，光合细菌对鱼类、虾、蟹、轮虫等水产动物均有较好的促长作用。桂远明(1993)等^[3]用从正常健康鲤鱼的肠道中分离出的无毒正常菌群JY10、JY31制成的生态制品喂饲鲤鱼，其增重率、能量同化率、生态生长效率、组织生长效率均高于对照组。Gatesoupe(1999)^[21]发现芽孢杆菌能提高

大龄鲟仔鱼和日本比目鱼仔鱼的生长率，粪链球菌能促进鲤鱼的生长，并提高饲料利用效率。Douillet(2000)^[22]研究认为肠道菌可提供幼体生长所必需的营养物质，促进动物生长，提高成活率。Douillet在饵料中添加混合的弧菌、假单胞菌、乳酸杆菌和粪链球菌可促进轮虫的生长，混合培养的比单一培养的轮虫生长得快。

此外，一些微生物在其发酵或代谢过程中，会产生促生长素之类的生理活性物质，产生各种酶类，并提高动物的消化酶活性，有助于食物的消化吸收，促进生长发育。潘康成等(1997)^[23]将两株有益芽孢杆菌制成的益生菌添加剂对鲤鱼生长和肠道消化酶活性进行了实验，结果表明：益生菌添加剂对鲤鱼的生长有明显的促进作用，可显著提高鲤鱼肠道消化酶的活性。芽孢杆菌增强了肠道消化酶的活性，从而有助于鲤鱼对饲料成分的分解，加强了鲤鱼对饲料的消化和吸收，进而促进了鲤鱼的生长。王梦亮等(1999)^[24]研究表明：光合细菌对鲤鱼肠道中的蛋白酶和淀粉酶的活性的影响较对照组有极其显著的提高。

5 小结

益生菌是直接从自然界中分离的有益菌，它的无毒、无残留、无副作用，对于健康养殖具有极其重要的意义。它不仅能净化养殖水体，优化养殖水域生态结构，还能抑制水体中病原菌的生长，提高养殖体的免疫力，使养殖活动向着良性循环方向发展。通过“养殖—生物修复—再养殖—再生物修复—……”逐渐减少水产养殖对水域环境的污染，最终实现对水产养殖业的可持续发展战略。因此，益生菌制剂在水产养殖业的可持续发展进程中必将有着不可估量的发展前景，能够大大增加水产养殖业的经济效益、生态效益和社会效益。此外，益生菌今后还应向高效、专一以及运用基因工程技术生产抗病毒多肽的方向发展，从而达到水产养殖业工程菌的目的。

参考文献略，如需请与本刊联系。