



灭活植物乳杆菌及其代谢物对草鱼生长性能和肠道健康的影响

田娟^{1,2}, 谢宁宁¹, 肖文富¹, 喻丽娟¹, 汤立²,
邓桂芳², 文华^{1*}, 李雪平^{2*}

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北武汉 430223;

2. 北京好实沃生物技术有限公司, 北京 101399)

摘要: 为了评估不同浓度灭活植物乳杆菌及其代谢物 (LPM) 对草鱼生长及肠道健康的影响, 实验配制 4 组分别含 0 (对照组)、300、600 和 900 mg/kg 植物乳杆菌及其代谢物 (LPM) 的等氮等能饲料, 饲喂草鱼幼鱼 [初始体质量 (80.47±1.04) g] 6 周, 结果显示, 草鱼增重率和饲料效率在 LPM 添加量为 300 mg/kg 时分别较对照组显著提高 19.09% 和 8.57%。LPM 添加组肥满度显著低于对照组, 且添加量为 900 mg/kg 时, 脏体比较对照组显著降低 18.84%。全鱼粗蛋白质含量、饲料蛋白质效率和蛋白质沉积率均在添加量为 300 mg/kg 达到最大值, 分别较对照组显著提高 4.40%、11.97% 和 7.64%。LPM 添加组肝胰脏和肠道蛋白酶活性较对照组显著升高。LPM 添加量为 600 mg/kg 时, 草鱼肠道的绒毛数量、绒毛长度和绒毛宽度显著高于对照组。饲料中添加 LPM 对草鱼肠道菌群的多样性无显著影响。LPM 添加量为 300 mg/kg 时, 乳杆菌属和梭菌属的细菌丰度较对照组显著升高。嗜水气单胞菌、诺卡氏菌、副溶血性弧菌对 LPM 极度敏感。血清总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇的含量随着 LPM 添加量的增加而增加。LPM 添加组血清总蛋白、白蛋白含量和碱性磷酸酶活性较对照组显著升高。综上, 饲料中添加 300~600 mg/kg LPM 能够抑制有害菌的繁殖, 改善肠道功能, 调节免疫功能, 保障肝胰脏的正常功能, 提高饲料蛋白质利用, 进而提高草鱼生长性能。

关键词: 草鱼; 灭活植物乳杆菌及其代谢物; 肠道健康; 生长; 蛋白质利用

中图分类号: S 963.7

文献标志码: A

随着我国水产养殖业的迅猛发展, 高密度集约化养殖模式成为当前淡水养殖鱼类的主要养殖模式之一。2020 年我国水产养殖总产量 5 224 万 t, 水产饲料产量约 2 200 万 t^[1]。但是由于养殖鱼类饲料营养不均衡、低质饲料的不当使用和养殖水环境恶化等原因, 养殖鱼类普遍出现营养性疾病, 如肠炎、肝胆综合征等, 导致生长性能、抗逆能力、肌肉品质等下降。采用适当的营养饲料技术进行调控和干预, 以提高饲料利用并规避其导致

的副作用, 已成为水产营养与饲料学亟待解决的重要科学和技术问题。

植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*, LP) 属于乳酸菌的同型多功能发酵菌, 为短杆菌, 不产生孢子, 是动物与人体肠道的原籍菌, 亦是肠道内的优势菌之一。LP 为兼性厌氧菌, 最适生长温度在 30~37 °C, 最适 pH 值约 6.5^[2]。LP 通过发酵产生乳酸、短链脂肪酸、抗菌肽等活性物质而被定义为有益菌, 并具有缓解细胞氧化损伤^[3]、调

收稿日期: 2022-04-25 修回日期: 2022-07-22

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项 (2018YFD0900400); 北京好实沃生物技术有限公司产学研合作项目 (2021125)

第一作者: 田娟 (照片), 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: tianjuan@yfi.ac.cn

通信作者: 文华, 从事水产动物营养与饲料学研究, E-mail: wenhua.hb@163.com;

李雪平, 从事益生菌剂开发研究, E-mail: lixueping@heswof.com



节机体免疫力^[4]、促进生长^[5]等益生作用。LP 及其代谢产物具有良好的抑菌作用, 对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌均有抑制效果^[6-7]。植物乳杆菌在陆生动物如猪^[8]、鸡^[4]、鸭^[9]等中已被证实具有抗菌、抗炎、改善肠道健康和促生长的作用^[10]。在水产动物中研究发现, 饲料中添加 LP(1×10^6 CFU/g 饲料)能通过提高细鳞鲱 (*Brachymystax lenok*) 肠道乳酸菌的比例, 降低肠道菌群的多样性, 从而促进鱼体生长^[11]。饲料中添加 6×10^8 CFU/g 嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus*) 可提高剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri*) 皮肤黏膜免疫功能, 进而促进生长和提高饲料利用^[12]。饲料中添加 LP(1×10^9 CFU/g 饲料)能够通过调节肠道微生物组成, 提高肠道乙酸含量, 促进肝胰脏尿苷的合成, 进而缓解高糖饲料诱导的尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 肝胰脏脂肪沉积和氧化应激^[13]。然而, 由于水产饲料加工过程存在较长时间的高温环境, 活菌在水产饲料中的使用受到限制^[14-15]。近年来后生元开始引起水产饲料界的关注^[16], 后生元是指益生菌经加工处理后的益生菌代谢物成分统称, 包括菌体与代谢产物^[17]。如在饲料中添加 100~400 mg/kg 灭活植物乳杆菌 (2×10^{11} CFU/g) 可显著提高黑棘鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 的生长性能、抗氧化性能及肠道完整性^[18]。在饲料中添加 200~500 mg/kg 啤酒酵母及代谢物能够增加杂交罗非鱼 (*O. niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) 肠道潜在有益菌群数量, 降低潜在有害菌群的数量, 提高非特异免疫和生长性能^[19]。这意味着后生元可以有效地在鱼类胃肠道中释放出有益的细菌成分, 促进动物生长。

草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 是我国养殖产量第一的淡水鱼类, 其年产量约为 550 万 t^[1], 养殖产业产值超过 700 亿, 且作为草食性鱼类的模式生物被广泛用于营养学的研究。然而草鱼细菌性肠炎、肝胆综合征等问题相对比较严重, 影响了草鱼的生理健康和养殖效益。因此, 本实验以草鱼为研究对象, 将灭活植物乳杆菌及其代谢物 (LPM) 以不同浓度添加到饲料中, 评估其在草鱼中的作用效果, 为高效的水产养殖提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料的配制

本实验所用的灭活植物乳杆菌及代谢物 (HEW-A911, 优长 SZ100) 由北京好实沃生物技术有限公司提供, 其生产工艺包括菌种的活化、扩培、发酵, 以及对 LPM 进行浓缩, 最后采用高温

瞬间灭活技术获得灭活 LPM。主要活性成分为细菌素、短链脂肪酸等, 灭活菌数为 1.2×10^{10} 个/g, 总酸以乳酸含量计算为 6.5%。适宜 pH 值范围为 4.2~9.0。经非靶向代谢组学分析, 本实验所使用的 LPM 中乳酸、己酸、柠檬酸、二羟丙酮磷酸、巴豆酸、 α -羟基戊二酸的有机酸含量最高, 氨基酸含量最高的分别为脯氨酸、谷氨酸、亮氨酸、丝氨酸、蛋氨酸、甘氨酸, 糖类含量最高的为海藻糖。

实验配制 4 种饲料, 其中动物蛋白为 6% 鱼粉, 植物蛋白为 55%(花生粕 10%、豆粕 20%、菜粕 25%), 以豆油为主要脂肪源 (表 1)。饲料蛋白

表 1 饲料配方及基本营养成分 (干重)

Tab. 1 Ingredients and proximate composition of experimental diets (dry mass basis) %

项目 items	不同水平/(mg/kg) LPM LPM supplementation levels			
	对照组 control	300	600	900
原料 ingredients				
鱼粉 fishmeal	6.00	6.00	6.00	6.00
花生粕 peanut meal	10.00	10.00	10.00	10.00
豆粕 soybean meal	20.00	20.00	20.00	20.00
菜粕 rapeseed meal	25.00	25.00	25.00	25.00
面粉 wheat flour	27.00	27.00	27.00	27.00
豆油 soybean oil	3.00	3.00	3.00	3.00
磷酸二钙钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	1.20	1.20	1.20	1.20
维生素预混料 ¹ vitamin premix	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 ¹ mineral premix	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱(50%) choline chloride	0.25	0.25	0.25	0.25
维生素C(33.5%) vitamin C	0.30	0.30	0.30	0.30
麸皮 wheat bran	3.15	3.12	3.09	3.06
膨润土 bentonite	2.00	2.00	2.00	2.00
晶体蛋氨酸 crystal methionine	0.10	0.10	0.10	0.10
灭活植物乳杆菌及其代谢物 LPM	0.00	0.03	0.06	0.09
合计 total	100.00	100.00	100.00	100.00
基本营养成分 nutrients composition				
干物质 dry matter	93.92	91.38	91.71	89.95
粗蛋白 crude protein	34.98	35.06	35.09	35.04
粗脂肪 crude fat	5.52	5.84	5.65	5.71
灰分 ash	9.00	9.03	9.10	9.42
总能/(kJ/g ²) gross energy	19.59	19.61	19.59	19.54

注: 1. 复合维生素和复合矿物质配方参照Tian等^[20]的实验; 2. 饲料总能用氧胆量热仪测定(SDC311, 湖南三德科技股份有限公司)

Notes: 1. the vitamin and mineral premix followed a previous study by Tian, et al^[20]; 2. the gross energy was determined by direct combustion in an adiabatic bomb calorimeter (SDC311, Hunan Sundry Science and Technology Development Co., Ltd, Changsha, Hunan Province, China)

质水平为 35%，脂肪水平为 6%，均能满足此规格草鱼生长和免疫的需要。LPM 添加量依次为 0、300、600、900 mg/kg 饲料，以麸皮配平。计算得到饲料中灭活植物乳杆菌含量分别为 0、 3.60×10^6 、 6.90×10^6 、 1.08×10^7 个/g 饲料。将所有固体饲料原料用 0.3 mm 的筛网粉碎后，依据配方准确称量，使用逐级扩大法充分混合，然后加入豆油搓揉均匀，并加入 25% 的水混匀。置于 F-26 双螺杆挤条机 (广州华工光电科技有限公司) 挤压成直径为 3 mm 的条状，在 DW 带式干燥机 (常州苏正干燥设备有限公司) 中 60 °C 下烘 3 h，随后用破碎机 (郑州微分电机厂) 破碎成长度为 2~3 mm 的圆柱形颗粒，置于 -20 °C 冰箱储存备用。

1.2 养殖实验管理

实验用草鱼来自正大水产 (湖北) 有限公司。实验鱼经聚维酮碘消毒后，在循环水养殖系统中暂养 2 周，暂养期间以对照组饲料饲喂。正式养殖实验前，鱼体饥饿 24 h，取 5 尾实验鱼用以测定草鱼全鱼初始营养成分；另外挑选大小均匀、健康、体质量为 (80.47 ± 1.04) g 的草鱼 360 尾，随机分到 12 个养殖桶中 (12 个桶在同一套循环水养殖系统)，每桶 30 尾。每种饲料随机投喂 3 个养殖桶，每天表观饱食投喂 3 次 (08:30~09:00、12:30~13:00、17:00~17:30)。根据鱼体生长和摄食状况及时调整投饲量，确保鱼体抢食并无残饵，投饲率约 3%。每日记录摄食行为和死亡数量等，每天换水 1/3。养殖期间室温 (12~22) °C，水温恒定在 (27 ± 1) °C。溶解氧质量浓度大于 5 mg/L，pH 为 6.8~7.3，氨氮质量浓度小于 0.05 mg/L。实验每 2 周称重 1 次，共养殖 6 周。

1.3 采样

养殖实验结束后，禁食 24 h，记录每个养殖桶的草鱼尾数和总质量，计算存活率 (SR)、增重率 (WGR)、饲料效率 (FE)、特定增长率 (SGR)。另每桶随机取鱼 6 尾，经丁香油麻醉后，测量体长和体质量。尾动脉抽血，血液静置 4 h，经 3 200×g 离心收集血清待测。取肝胰脏、内脏并称质量用以计算形体指标。另分别取 1 cm 中肠置于多聚甲醛固定液中，以备制作肠道组织切片，观察 LPM 对其肠道组织形态的影响。取侧线以上的背肌测定基本营养成分含量。

接着对剩下的草鱼进行饱食投喂，投喂 2 h 后，经丁香油麻醉后，每桶取 4 尾鱼肠道内容物，

测定肠道微生物菌群结构。每桶取 3 尾鱼肠道和肝胰脏测定消化酶活性。最后每桶取 3 尾鱼用以分析全鱼基本营养成分含量。

1.4 指标测定与分析

生长性能评价指标计算公式：

$$\text{增重率 (weight gain rate, WGR, \%)} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$$

$$\text{存活率 (survival rate, SR, \%)} = N_t / N_0 \times 100\%$$

$$\text{特定增长率 (specific growth rate, SGR, \% / d)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$$

$$\text{摄食率 (feeding rate, FR, \%)} = W_f \times 2 / (W_t + W_0) / t \times 100\%$$

$$\text{饲料效率 (feed efficiency, FE)} = (W_t N_t - W_0 N_0 + W_d) / W_f$$

$$\text{肝体比 (hepatosomatic index, HSI, \%)} = W_h / W_t \times 100\%$$

$$\text{脏体比 (viscerosomatic index, VSI, \%)} = W_v / W_t \times 100\%$$

$$\text{肥满度 (condition factor, CF, \%)} = W_t / L^3 \times 100\%$$

$$\text{蛋白质效率 (protein efficiency ratio, PER, \%)} = (W_t - W_0) / (W_f \times W_p) \times 100\%$$

$$\text{蛋白质沉积率 (protein deposition rate, PDR, \%)} = (W_t \times CP_t - W_0 \times CP_0) / (W_f \times W_p) \times 100\%$$

式中， W_t 为终末体质量 (g)； W_0 为初始体质量 (g)； L 为终末体长 (cm)； N_t 为终末尾数； N_0 为初始尾数； t 为实验天数 (d)； W_f 为饲料摄入量 (g)； W_d 为死亡总重 (g)； W_h 为肝胰腺重 (g)； W_v 为内脏重 (g)； W_p 为饲料粗蛋白质含量 (%)； CP_t 为终末鱼粗蛋白质含量 (%)； CP_0 为初始鱼粗蛋白质含量 (%)。

营养成分的测定 全鱼及肌肉水分采用冷冻干燥法 (CHRIST 型冷冻干燥机) 测定；饲料水分采用 105 °C 恒温干燥失重法 (GB/T 5009.3—2016) 测定；粗蛋白含量采用凯氏定氮法 (GB/T 5009.5—2016) 测定；粗脂肪含量采用索氏抽提法 (GB/T 5009.6—2016) 测定；灰分含量采用马弗炉 550 °C 灼烧法 (GB/T 5009.4—2016) 测定。

血清生化指标的测定 血清葡萄糖 (GLU)、总胆固醇 (T-CHO)、甘油三酯 (TG)、总蛋白 (TP) 和白蛋白 (ALB) 含量分别采用己糖激酶法、CHOD-PAP 法、GK-GPO-POD 法、二聚脲法和 BCG 法测定。分别采用 LDH-UV 法、MDH-UV 法和 NPP-AMP 法测定天门冬氨酸转氨酶 (AST)、

丙氨酸转氨酶 (ALT) 和碱性磷酸酶 (ALP) 活性。血清生化指标采用自动生化分析仪 (BX-3010, Sysmex Corporation, 日本) 进行测定。所用试剂均购自 Sysmex 公司。

肠道和肝胰脏消化酶活性的测定 准确称取新鲜肝胰脏和肠道 (约 0.6 g), 放入 10 mL 匀浆管中, 加入 9 倍体积的去离子水, 用玻璃匀浆器进行冰浴匀浆, 离心 ($3\ 000\times g$, 10 min, $4\ ^\circ\text{C}$), 取上清待测。采用福林酚试剂法测定总蛋白酶活性, 甲基试卤灵底物法测定脂肪酶活性, 碘显色法测定淀粉酶活性, 考马斯亮蓝法测定上清液蛋白质含量。所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司。

肠道组织切片 肠道组织标本固定后, 经脱水、透明、石蜡包埋、连续切片后, 苏木精-伊红 (H. E) 染色, 光镜下逐片观察及拍照, 运用图像分析系统 (Image Pro Plus 5.1) 对 H. E 染色结果进行分析。

肠道菌群多样性的测定 每个处理组取 4 个样品进行肠道菌群多样性测序。取约 0.5 g 肠道内容物与黏膜混合样品, 采用 16S *rRNA* 基因测序并分析肠道菌群。测序工作在上海美吉生物医药科技有限公司进行, 通过 Illumina Miseq PE300 平台进行高通量测序。测序后使用 UPARSE 软件 (V 7.1 <http://drive5.com/uparse/>), 根据 97% 的相似度对序列进行操作分类单元 (OTU) 聚类; 使用 UCHIME 软件剔除嵌合体。利用 RDP classifier (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 对每条序列进行物种分类注释。比对 Silva 数据库 (SSU123), 设置比对阈值为 70%。具体测定方法和分析方法参照本实验室已发表文章^[21]。

抑菌实验 采用琼脂扩散法 (即 K-B 法) 进行抑菌实验。测定 LPM 对水产动物常见致病菌嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*, 1.31×10^9 CFU/mL, CICC 10868)、诺卡氏菌 (*Nocardia seriolae*, 1.07×10^9 CFU/mL, 由长江水产研究所鱼病研究室从大口黑鲈中分离并提供)、副溶血性弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*, 1.25×10^9 CFU/mL, CICC 21617) 的抑菌效果, 以水产动物常见抗生素恩诺沙星和氟苯尼考的药敏片为参照。在 3 种细菌的对应培养基中加入 LPM (100 μg)、恩诺沙星 (10 μg) 和氟苯尼考 (30 μg), 在 $28\ ^\circ\text{C}$ 培养箱中培养 36 h, 然后分别用游标卡尺测量恩诺沙星、氟苯尼考和 LPM 对应的抑菌圈大小, 每种细菌设 3 个重复。根据李义奎^[22]的方法对抑菌敏感性进行评

定: $20\ \text{mm}\leq$ 抑菌圈直径, 为极度敏感; $15\ \text{mm}\leq$ 抑菌圈直径 $<20\ \text{mm}$, 为高度敏感; $10\ \text{mm}\leq$ 抑菌圈直径 $<15\ \text{mm}$, 为中度敏感; 抑菌圈直径 $<10\ \text{mm}$, 为低度敏感。

1.5 数据分析

实验数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 用 Tukey 氏均值多重比较法进行差异显著性检验, 结果均以平均值 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示, 当 $P<0.05$ 时表示差异显著。

2 结果

2.1 不同水平 LPM 对草鱼生长性能和形体指标的影响

各实验组的草鱼 WGR 和 SGR 率均呈现先增加后降低的变化趋势, 且 WGR 在 LPM 添加量为 300 mg/kg 时达到最大值, 并较对照组显著提高 19.09% ($P<0.05$)。FE 先增加后降低, 在 LPM 添加量为 300 mg/kg 时有最大值, 并较对照组显著提高 13.43% ($P<0.05$)。LPM 添加组 CF 显著低于对照组, 且 LPM 添加量为 900 mg/kg 时, VSI 较对照组显著降低 18.84% ($P<0.05$)。PER 和 PDR 均先增后减, 均在添加量为 300 mg/kg 时有最高值, 分别较对照组显著提高 11.97% 和 7.64% ($P<0.05$)。各组间 SR、FR、HSI 均无显著性差异 ($P>0.05$) (表 2)。

2.2 不同水平 LPM 对草鱼全鱼及肌肉基本成分的影响

全鱼和肌肉粗蛋白质含量分别在 LPM 添加量为 300 和 600 mg/kg 时达到最大值, 较对照组显著提高 4.40% 和 5.48% ($P<0.05$)。LPM 添加量为 900 mg/kg 时, 全鱼粗脂肪和灰分含量较对照组显著降低, 而肌肉灰分含量显著升高 ($P<0.05$)。各组间的肌肉粗脂肪含量无显著差异 ($P>0.05$)。饲料不同水平 LPM 对草鱼全鱼及肌肉的水分含量无显著影响 ($P>0.05$) (表 3)。

2.3 不同水平 LPM 对草鱼血清生化指标的影响

LPM 添加组血清 TP、ALB 含量较对照组显著升高 ($P<0.05$)。在 LPM 添加量为 600 和 900 mg/kg 时, 血清 ALP 活性和 T-CHO、HDL-C 和 LDL-C 较对照组显著升高 ($P<0.05$)。血清 GLU 和 TG 含量, 以及 GOT 和 GPT 的活性各组间均无显著差异 ($P>0.05$) (表 4)。

表 2 不同水平 LPM 对草鱼生长性能的影响

Tab. 2 Effects of dietary LPM supplementation levels on growth performance of *C. idella*

项目 items	CON	LPM-300	LPM-600	LPM-900
初始体质量/g IBM	80.48±0.91	80.58±0.68	80.64±0.60	80.70±0.50
末体质量/g FBM	157.82±3.42 ^a	172.87±8.68 ^b	159.00±2.81 ^{ab}	160.86±4.40 ^{ab}
存活率/% SR	95.56±1.92	100.00±0.00	97.78±3.85	95.56±3.85
增重率/% WGR	96.13±6.12 ^a	114.49±8.95 ^b	97.19±3.82 ^{ab}	99.35±6.00 ^{ab}
特定增长率/(%/d) SGR	1.60±0.07 ^a	1.82±0.10 ^b	1.62±0.04 ^{ab}	0.70±0.07 ^{ab}
饲料效率 FE	0.67±0.03 ^b	0.76±0.02 ^a	0.70±0.04 ^{ab}	0.70±0.02 ^{ab}
摄食率/% FR	3.14±0.04	3.18±0.19	3.18±0.11	3.10±0.02
脏体比/% VSI	14.59±0.27 ^b	13.08±0.22 ^{ab}	13.47±0.16 ^b	11.84±0.23 ^a
肝体比/% HSI	1.73±0.05	1.79±0.06	1.81±0.06	1.71±0.05
肥满度 CF	1.92±0.09 ^b	1.81±0.08 ^a	1.83±0.07 ^a	1.80±0.10 ^a
蛋白质效率/% PER	191.33±3.07 ^a	214.23±6.50 ^b	205.26±6.58 ^{ab}	198.42±6.58 ^a
蛋白质沉积率/% PDR	29.32±2.42 ^a	31.56±1.89 ^b	29.66±1.81 ^{ab}	29.10±3.29 ^a

注：同行数据中上标字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)；下同

Note: The values with different superscript letters within the same line are significantly different ($P<0.05$); the same below

表 3 不同水平 LPM 对草鱼全鱼和肌肉基本成分的影响 (湿重)

Tab. 3 Effects of dietary LPM supplementation levels on the whole body and muscle composition of *C. idella* (wet mass)

指标 items	CON	LPM-300	LPM-600	LPM-900
g/kg				
全鱼 whole body				
水分 moisture	732.11±9.93	725.77±9.11	742.57±9.50	743.31±6.70
粗蛋白质 crude protein	145.23±2.40 ^a	151.62±5.60 ^b	150.15±5.07 ^{ab}	143.68±1.79 ^a
粗脂肪 crude fat	67.20±1.13 ^b	67.28±1.92 ^b	66.94±2.25 ^b	63.84±2.14 ^a
灰分 ash	37.10±1.48 ^b	38.01±1.93 ^b	35.49±1.9 ^{ab}	34.8±0.58 ^a
肌肉 muscle				
水分 moisture	795.17±5.50	792.53±7.60	788.78±2.22	789.06±5.36
粗蛋白质 crude protein	174.42±4.96 ^a	175.74±4.54 ^a	183.97±1.09 ^b	180.38±8.08 ^{ab}
粗脂肪 crude fat	11.14±1.44	11.80±1.69	10.92±1.29	10.23±0.83
灰分 ash	12.79±0.11 ^a	12.87±0.10 ^a	12.82±0.27 ^a	13.79±0.27 ^b

2.4 不同水平 LPM 对草鱼肠道和肝胰脏消化酶活性的影响

LPM 添加量为 600 和 900 mg/kg 时, 肠道和肝胰脏淀粉酶活性分别达到最大值, 且均显著高于对照组 ($P<0.05$); LPM 添加组肝胰脏和肠道蛋白酶活性显著高于对照组 ($P<0.05$); 肝胰脏脂肪酶活性较对照组无显著差异 ($P>0.05$); LPM 添加量为 300 mg/kg, 肠道脂肪酶活性较对照组显著升高, 但 900 mg/kg 组较对照组显著降低 ($P<0.05$) (表 5)。

<https://www.china-fishery.cn>

2.5 不同水平 LPM 对草鱼肠道组织形态的影响

LPM 添加量为 300 和 900 mg/kg, 草鱼肠道的绒毛长度和绒毛宽度显著高于对照组 ($P<0.05$), 绒毛数较对照组无显著差异 ($P>0.05$); LPM 添加量为 600 mg/kg, 草鱼肠道的绒毛数量、绒毛长度和绒毛宽度显著高于对照组 ($P<0.05$) (表 6)。

2.6 不同水平 LPM 对草鱼肠道菌群组成的影响

稀释曲线 对照组和 LPM 添加组肠道样

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

表 4 不同水平 LPM 对草鱼血清生化指标的影响

Tab. 4 Effects of dietary LPM supplementation levels on serum biochemical indices of *C. idella*

指标 items	CON	LPM-300	LPM-600	LPM-900
总蛋白/(g/L) TP	27.42±2.02 ^a	31.46±1.70 ^b	30.63±2.18 ^b	32.23±3.12 ^b
白蛋白/(g/L) ALB	11.51±1.03 ^a	13.12±0.71 ^b	13.11±0.81 ^b	13.97±1.37 ^b
谷草转氨酶/(U/L) GOT	38.89±3.37	41.00±3.74	37.67±4.35	37.67±3.42
谷丙转氨酶/(U/L) GPT	12.33±1.93	12.78±2.33	12.67±2.12	11.22±1.85
碱性磷酸酶/(U/L) ALP	158.89±5.80 ^a	178.89±8.08 ^{ab}	186.44±5.92 ^c	176.33±8.28 ^b
甘油三酯/(mmol/L) TG	4.36±0.41	4.40±0.26	4.29±0.29	4.31±0.26
总胆固醇/(mmol/L) T-CHO	5.77±0.27 ^a	6.14±0.45 ^{ab}	6.34±0.41 ^b	6.50±0.51 ^b
低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) LDL-C	2.42±0.23 ^a	2.81±0.25 ^{ab}	3.18±0.27 ^b	3.02±0.31 ^b
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) HDL-C	1.45±0.08 ^a	2.46±0.24 ^b	2.68±0.19 ^b	2.55±0.09 ^b
葡萄糖/(mmol/L) GLU	6.10±0.51	5.96±0.48	5.81±0.87	5.95±0.37

表 5 不同水平 LPM 对草鱼肠道和肝胰脏消化酶活性的影响

Tab. 5 Effects of dietary LPM supplementation levels on activities of digestive enzymes in intestine and hepatopancreas of *C. idella*

指标 items	CON	LPM-300	LPM-600	LPM-900
肝胰脏 hepatopancreas				
脂肪酶/(U/g prot) lipase	15.48±1.33 ^{ab}	16.11±1.90 ^{ab}	17.49±1.16 ^b	13.85±1.23 ^a
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	21.92±2.65 ^a	23.43±2.88 ^a	23.42±1.60 ^a	30.62±1.42 ^b
蛋白酶/(U/g) protease	163.98±2.52 ^a	176.04±2.96 ^b	172.89±4.50 ^b	176.92±3.23 ^b
肠道 intestine				
脂肪酶/(U/g prot) lipase	12.67±0.59 ^b	14.15±0.90 ^c	12.84±0.62 ^b	10.84±1.03 ^a
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	137.59±4.99 ^b	136.56±3.21 ^b	169.09±1.88 ^c	127.39±8.16 ^a
蛋白酶/(U/g) protease	143.43±6.84 ^a	180.16±7.22 ^c	166.01±4.07 ^b	170.02±6.69 ^{bc}

表 6 不同水平 LPM 对草鱼肠道黏膜结构的影响

Tab. 6 Effects of dietary LPM supplementation levels on intestinal mucosal structure of *C. idella*

指标 items	CON	LPM-300	LPM-600	LPM-900
绒毛数量/根 villi no.	31.33±2.08 ^a	36.67±1.15 ^a	45.00±1.00 ^b	35.00±3.61 ^a
绒毛长度/ μm villi length	614.12±20.54 ^b	670.67±11.93 ^c	669.51±16.56 ^c	560.57±13.12 ^a
绒毛宽度/ μm villi width	97.45±4.14 ^a	104.82±4.73 ^b	149.05±5.60 ^d	121.84±2.65 ^c

本 16S *rDNA* 测序分析共获得 1 213 047 条序列, 每个样本测序量超过 50 000 条, 平均长度约为 418 bp; 对测序数据进行抽平分析, 各组草鱼肠道微生物的稀释曲线趋于平缓, 说明测序数据量满足反映样本中绝大多数的微生物多样性信息 (图 1)。

Alpha 多样性 对草鱼肠道微生物 Alpha 多样性进行分析, 各样本文库覆盖率 (coverage) 均超过 99.9%, Alpha 多样性指数各组间均无显著性差异 ($P>0.05$) (图 2)。

肠道微生物群落组成 在门分类水平上,

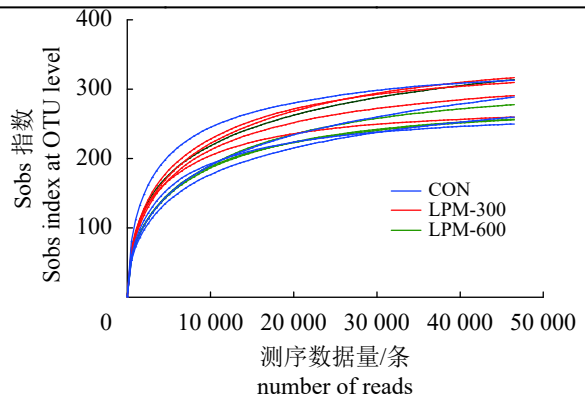


图 1 草鱼肠道微生物样品测序稀释曲线

Fig. 1 Sequencing dilution curve of *C. idella* gut microbes

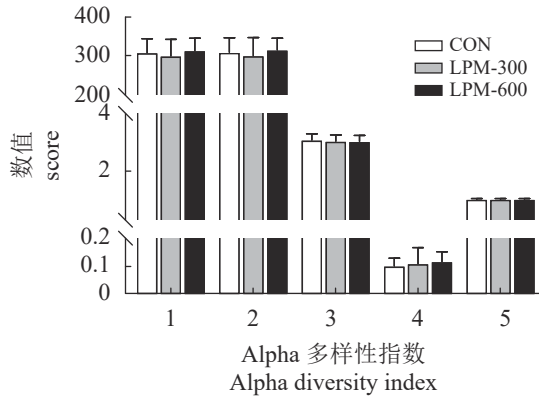


图2 不同水平LPM对草鱼肠道菌群 α 多样性的影响
1. Ace指数, 2. Chao 1指数, 3. Shannon指数, 4. Simpson指数, 5. Coverage指数

Fig. 2 Effects of dietary LPM supplementation levels on α diversity index

1. Ace index, 2. Chao 1 index, 3. Shannon index, 4. Simpson index, 5. Coverage index

对照组和LPM添加组的细菌群落组成类似,各处理组的肠道优势菌群较为一致,其中变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)在各样本中变化较大,核心菌群相对丰度最高的是变形菌门,其后依次是厚壁菌门、放线菌门(Actinobac-

teria)和梭杆菌门(Fusobacteriota),这4类优势菌群占肠道菌群的比例超过90%(图3-a, b)。

在属分类水平上,对照组和LPM添加组的细菌群落组成类似,各处理组的肠道优势菌群较为一致,其中核心菌群相对丰度最高的是芽殖杆菌属(*Gemmobacter*),其后依次是曼氏杆菌属(*Mannheimia*)、链球菌属(*Streptococcus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、剑菌属(*Ensifer*)和放线菌属(*Actinomyces*)(图3-c, d)。

肠道微生物群落差异 LPM-300组蓝藻门(Cyanobacteria)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)和梭状菌属(*Clostridium*)细菌丰度显著高于对照组和LPM-600组($P < 0.05$),而LPM-600组拟杆菌门(Bacteroidota)细菌丰度显著高于其他2组,乳杆菌属细菌丰度显著高于对照组($P < 0.05$)(图4)。

2.7 LPM对水产动物常见致病菌的抑菌效果

LPM对水产动物常见致病菌如嗜水气单胞菌、诺卡氏菌、副溶血性弧菌的繁殖具有明显的抑制效果(图5),且均极度敏感。100 μg LPM与10 μg 恩诺沙星、30 μg 氟苯尼考的抑菌效果近似。

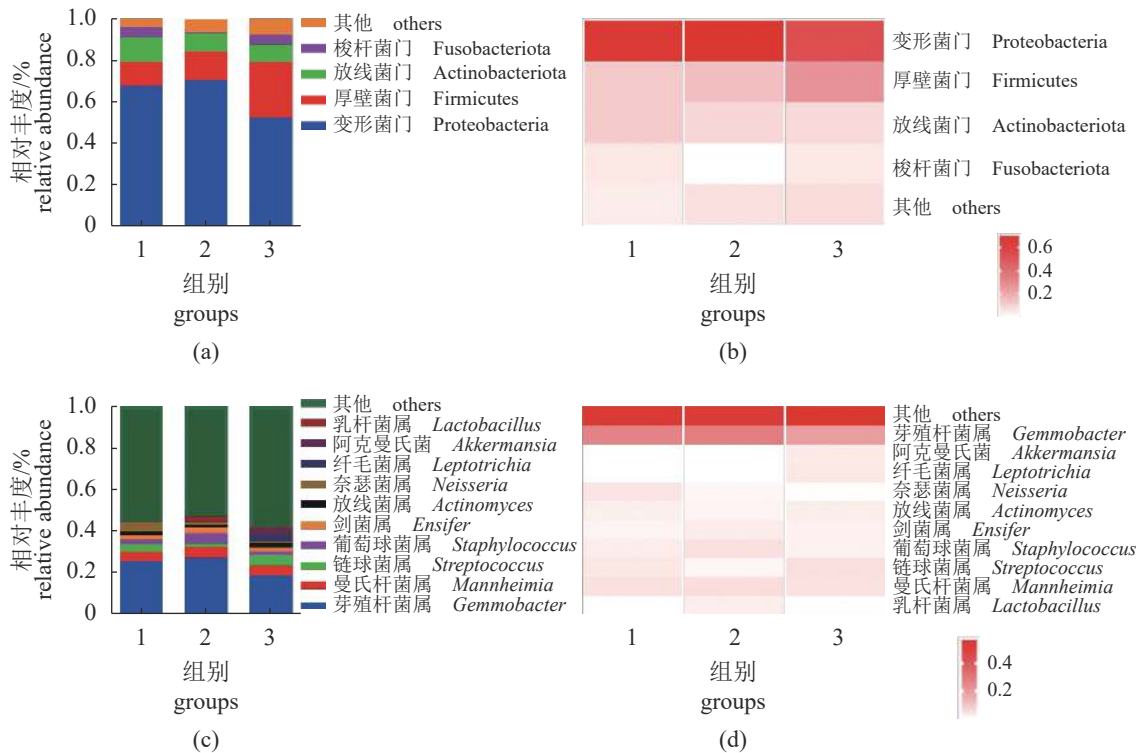


图3 草鱼肠道微生物在门水平(a、b)和属水平(c、d)上的群落组成

Fig. 3 Community compositions of intestinal microorganisms at phylum level (a, b) and genus level (c, d) in *C. idella*

1. CON, 2. LPM-300, 3. LPM-600

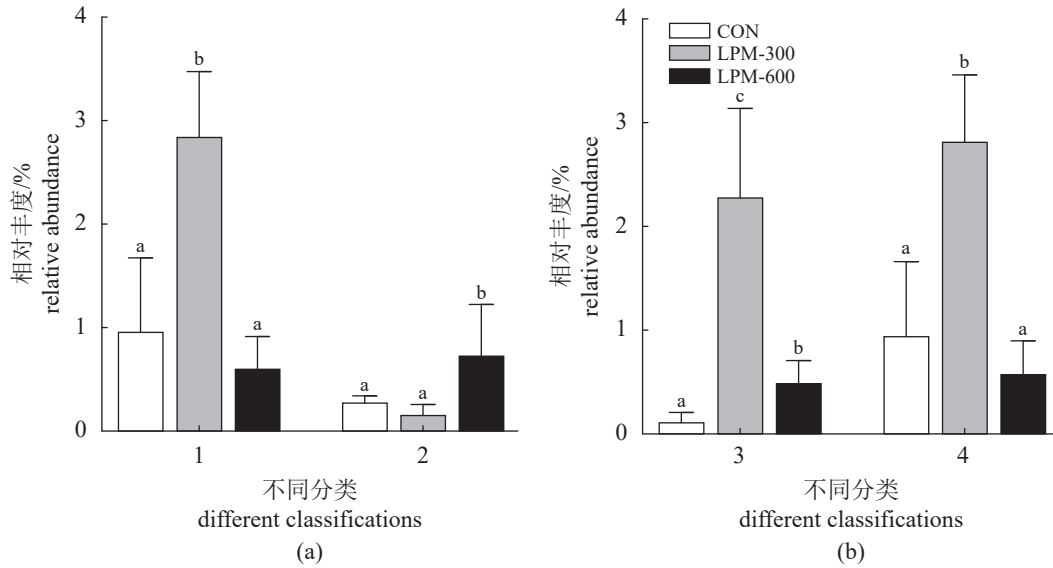


图 4 草鱼肠道微生物在门水平 (a) 和属水平 (b) 上差异菌群分析

1. 蓝藻门, 2. 拟杆菌门, 3. 乳杆菌属, 4. 梭菌属

Fig. 4 Analysis of the difference of *C. idella* intestinal microorganisms at phylum (a) and genus (b) levels

1. Cyanobacteria, 2. Bacteroidota, 3. *Lactobacillus*, 4. *Clostridium*

3 讨论

3.1 LPM 通过改善肠道健康促进草鱼生长和饲料利用

本实验显示结果, 饲料中添加 300 mg/kg 灭活 LPM 能促进草鱼生长, 提高饲料利用, 表现在 SGR 和 FE 较对照组分别显著提高 19.09%、13.43%。这与 LP 在尼罗罗非鱼^[13; 23-24]、黑棘鲷^[18]

的结果类似。这可能与 LPM 可以改善肠道健康有关。在本实验中添加 300~600 mg/kg LPM 显著提高草鱼肠道的绒毛数量、绒毛长度和绒毛宽度, 增加了肠道的吸收面积, 从而提高了营养物质在肠道的停留时间和消化吸收率。本实验 LPM 添加组蛋白酶活性较对照组显著提高, 说明 LPM 可提高草鱼对饲料蛋白质的利用, 这从 LPM-300 组全鱼的粗蛋白含量、PER 和 PDR 分别较对照组显著

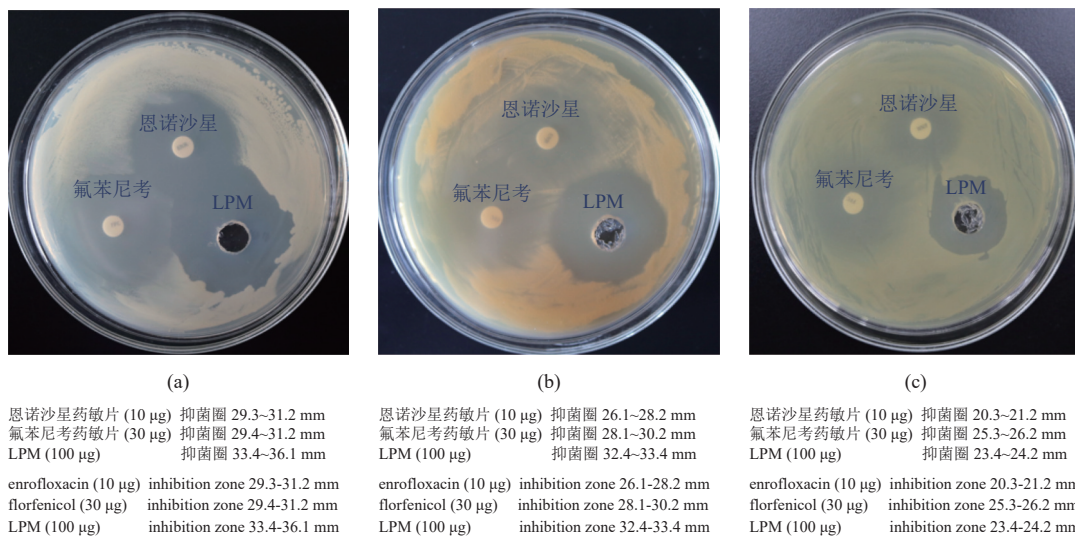


图 5 LPM 对水产动物常见致病菌的抑菌效果

(a) 嗜水气单胞菌, (b) 诺卡氏菌, (c) 副溶血性弧菌

Fig. 5 Bacteriostatic effects of LPM on common pathogenic bacteria in aquatic animals

(a) *A. hydrophila*, (b) *N. seriolae*, (c) *V. parahaemolyticus*

提高的结果中得到了印证。

本研究草鱼肠道中的核心菌群在门水平上分别为变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和梭杆菌门,在属水平上分别为芽殖杆菌属,其后依次是曼氏杆菌属、链球菌属、葡萄球菌属、剑菌属和放线菌属,这与其他学者对草鱼肠道菌群结构的研究结果类似^[25-26]。厚壁菌门含诸多有益菌,如乳杆菌、链球菌、瘤胃球菌(*Ruminococcus*)、梭菌(*Clostridium prazmowski*)等,有助于机体对碳水化合物的利用^[14]。变形菌门包含诸多病原菌,如大肠杆菌(*Escherichia coli*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、弧菌(*Vibrio*)、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)等,该门丰度过高易导致消化吸收紊乱^[15]。本研究发现当LPM添加水平为300 mg/kg时,显著降低了草鱼肠道变形菌门和放线菌门丰度,提高了厚壁菌门和梭杆菌门丰度,说明LPM可改善肠道菌群结构,有益于肠道健康。在属水平上,添加300 mg/kg LPM增加了乳杆菌属和梭状菌属细菌丰度。梭状芽孢杆菌属中的一些菌种如丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)可提高卵形鲳鲙(*Trachinotus ovatus*)幼鱼的生长性能、改善其肠道健康状态^[27]。乳杆菌属是一类具有很强溶菌抑菌效果的革兰阳性菌,在碳水化合物发酵过程中产生短链脂肪酸和乳酸作为其主要的最终产物,小分子活性物质可提高鱼类吞噬活性,触发机体早期的炎症反应,产生抗体,并在抗菌防御中发挥重要作用^[28]。在种水平上,LPM对致病菌革兰氏阴性菌(嗜水气单胞菌、副溶血性弧菌)、革兰氏阳性菌(诺卡氏菌)均有抑制效果。100 μg LPM与10 μg 恩诺沙星、30 μg 氟苯尼考的抑菌效果近似。说明LPM具有良好的抑菌作用,具有替代抗生素的作用,可防治细菌性疾病发生,从而有利于机体健康,这也是LPM改善生产性能的重要作用机制之一。

ALP被认为是巨噬细胞中溶酶体的标志性酶和重要组成部分,与机体的免疫和骨骼发育密切相关^[29]。血清总蛋白包括ALB和球蛋白,血清球蛋白与机体免疫应答有关,血清ALB具有维持渗透压、结合和转运配体(如脂肪酸和荷尔蒙等)、参与物质代谢、清除自由基、抗凋亡、抗凝血和抗血栓等一系列的生理生化功能^[30]。LPM-600组血清TP、ALB含量和ALP活性较对照组显著提高4.40%、11.97%和7.64%,说明LPM具有提高鱼体免疫力的作用。另外,LPM添加组草鱼血清GLU和TG含量,以及GPT和GOT的活性较对

照组无显著差异,且HSI和肝胰脏组织形态较对照组均无显著差异,表明LPM使草鱼肝胰脏健康保持在正常水平。

综上所述,LPM通过调节肠道菌群的组成,抑制有害菌的繁殖,如抑制水产动物致病菌革兰氏阴性菌(嗜水气单胞菌和副溶血弧菌)和革兰氏阳性菌(诺卡氏菌)等有害菌的繁殖,改善肠道功能(增加肠道吸收面积,提高肠道消化酶活性),调节局部和全身的免疫系统,保障肝胰脏的正常功能,促进生长。

3.2 LPM提高草鱼肌肉蛋白质沉积

本实验发现,饲料中LPM添加量为900 mg/kg时,VSI较对照组显著降低18.84%,VSI降低意味着LPM具有增加可食部分,促进草鱼肌肉生长的作用;肌肉粗蛋白质含量在LPM添加量为600 mg/kg时较对照组显著提高5.48%。说明LPM可提高草鱼的含肉率,促进肌肉蛋白质沉积而改善肌肉品质。类似的结果在尼罗罗非鱼上得到了证实^[13]。经非靶向代谢组学分析,本实验所使用的LPM含有丰富的短链脂肪酸、氨基酸等肠道菌群分解和代谢产生的代谢物及次级代谢产物,这些小分子物质有利于营养物质的吸收利用^[31]。如饲料中添加植物乳杆菌可调节肠道微生物产生的乙酸含量,进而增加肝胰脏尿苷含量,可缓解高糖饲料诱导的罗非鱼脂肪沉积和氧化应激^[13]。在尼罗罗非鱼饲料中研究发现,乳酸钠可显著提高罗非鱼生长性能,这与其抑制蛋白质和脂肪分解,促进肝胰脏乳酸向葡萄糖的转化,进而激发糖酵解,维持鱼体能量内稳态有关^[32]。LPM所富含的柠檬酸一方面可代替部分蛋白质作为营养源增加营养;另一方面游离的柠檬酸可被直接吸收,并参与生物体内的代谢活动即参与三羧酸循环,相应减少鱼虾体内蛋白质的消耗,促进蛋白质沉积^[33]。LPM所含有的亮氨酸通过激活TOR通路促进鱼体肌肉蛋白质沉积^[34]。

4 结论

饲料中添加300~600 mg/kg LPM可通过提高肝胰脏和肠道蛋白酶活性、改善肠道形态结构、抑制有害菌繁殖,来促进营养物质吸收,提高草鱼蛋白质沉积、生长性能和饲料利用。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
Fishery Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Areas, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2021 China fishery statistical yearbook[J]. Beijing: China Agriculture Press, 2021 (in Chinese).
- [2] De Vries M C, Vaughan E E, Kleerebezem M, *et al.* *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract[J]. *International Dairy Journal*, 2006, 16(9): 1018-1028.
- [3] 郝明月, 杨桂连, 王冠, 等. 功能性重组乳杆菌 NC8-RLP 对 HUVEC 细胞氧化应激损伤的抑制作用[J]. *中国兽医科学*, 2020, 50(3): 353-359.
Hao M Y, Yang G L, Wang G, *et al.* Inhibition of oxidative stress injury in HUVEC cells by functional recombinant *Lactobacillus plantarum* NC8-RLP[J]. *Chinese Veterinary Science*, 2020, 50(3): 353-359 (in Chinese).
- [4] 赵巍, 孙喆, 王欣, 等. 灭活植物乳杆菌培养物对肉仔鸡生长性能、盲肠菌群及血清生化指标的影响[J]. *中国兽医学报*, 2016, 36(8): 1440-1445.
Zhao W, Sun Z, Wang X, *et al.* Effect of inactivated *Lactobacillus* cultures on growth performance, cecal microflora and serum biochemical indexes of broilers[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2016, 36(8): 1440-1445 (in Chinese).
- [5] Storelli G, Defaye A, Erkosar B, *et al.* *Lactobacillus plantarum* promotes *Drosophila* systemic growth by modulating hormonal signals through TOR-dependent nutrient sensing[J]. *Cell Metabolism*, 2011, 14(3): 403-414.
- [6] Laitila A, Alakomi H L, Raaska L, *et al.* Antifungal activities of two *Lactobacillus plantarum* strains against *Fusarium* moulds *in vitro* and in malting of barley[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 93(4): 566-576.
- [7] 汤立, 李雪平. 植物乳杆菌代谢产物对产气荚膜梭菌的影响[J]. *中国饲料添加剂*, 2021(5): 48-50.
Tang L, Li X P. The effects of *Lactobacillus plantarum* and its metabolites on *Clostridium perfringens*[J]. *China Feed Additive*, 2021(5): 48-50 (in Chinese).
- [8] 吴云鹏. 植物乳杆菌调节猪肠上皮细胞屏障功能和转运载体的研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
Wu Y P. Study of *Lactobacillus plantarum* on the regulation of immune response and transporters in intestinal porcine epithelial cells[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [9] 严敏, 林勇, 张文, 等. 不同植物乳杆菌对樱桃谷肉鸭生长性能、血浆生化指标、屠宰性能与肌肉品质的影响[J]. *中国家禽*, 2021, 43(5): 49-54.
Yan M, Lin Y, Zhang W, *et al.* Effects of different *Lactobacillus plantarum* on growth performance, plasma biochemical indexes, slaughter performance and meat quality of cherry valley ducks[J]. *China Poultry*, 2021, 43(5): 49-54 (in Chinese).
- [10] 孔祥丽, 吴昕雨, 许晓曦. 植物乳杆菌代谢产物抑菌机制与应用研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(8): 3131-3140.
Kong X L, Wu X Y, Xu X X. Research progress on metabolites and bacteriostasis mechanism of *Lactobacillus plantarum*[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2021, 12(8): 3131-3140 (in Chinese).
- [11] 胡宗福, 牛化欣, 于建华, 等. 饲料中添加植物乳杆菌对细鳞鲑生长及肠道菌群多样性的影响[J]. *动物营养学报*, 2020, 32(1): 346-356.
Hu Z F, Niu H X, Yu J H, *et al.* Effects of *Lactobacillus plantarum* supplementation on growth and intestinal microbial flora diversity of *Brachymystax lenok*[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(1): 346-356 (in Chinese).
- [12] Hoseinifar S H, Roosta Z, Hajimoradloo A, *et al.* The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 42(2): 533-538.
- [13] Xu R, Wang T, Ding F F, *et al.* *Lactobacillus plantarum* ameliorates high-carbohydrate diet-induced hepatic lipid accumulation and oxidative stress by upregulating uridine synthesis[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(7): 1238.
- [14] Chauhan A, Singh R. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach[J]. *Symbiosis*, 2019, 77(2): 99-113.
- [15] Amenyogbe E, Chen G, Wang Z L, *et al.* The exploitation of probiotics, prebiotics and Synbiotics in aquaculture: present study, limitations and future directions. : a review[J]. *Aquaculture International*, 2020, 28(3): 1017-1041.
- [16] Vallejo-Cordoba B, Castro-López C, García H S, *et al.* Postbiotics and paraprobiotics: a review of current evidence and emerging trends[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2020, 94: 1-34.
- [17] Ang C Y, Sano M, Dan S, *et al.* Postbiotics applications as infectious disease control agent in aquaculture[J]. *Biocontrol Science*, 2020, 25(1): 1-7.
- [18] Sagada G, Gray N, Wang L, *et al.* Effect of dietary inac-

- tivated *Lactobacillus plantarum* on growth performance, antioxidative capacity, and intestinal integrity of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fingerlings[J]. *Aquaculture*, 2021, 535: 736370.
- [19] He S X, Zhou Z G, Liu Y C, *et al.* Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA®) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂) cultured in cages[J]. *Aquaculture*, 2009, 294(1-2): 99-107.
- [20] Tian J, Liu W, Gao W H, *et al.* Molecular cloning and gene/protein expression of FAT/CD36 from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and the regulation of its expression by dietary energy[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(3): 875-888.
- [21] Yu L J, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of Ferulic acid on intestinal enzyme activities, morphology, microbiome composition of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed oxidized fish oil[J]. *Aquaculture*, 2020, 528: 735543.
- [22] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 115-120.
- Li Y K. Experimental methodology of TCM pharmacology[M]. 2nd ed. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2006: 115-120 (in Chinese).
- [23] Han B, Long W Q, He J Y, *et al.* Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunological parameters, intestinal morphology and resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 46(2): 225-231.
- [24] Van Nguyen N, Onoda S, Van Khanh T, *et al.* Evaluation of dietary heat-killed *Lactobacillus plantarum* strain L-137 supplementation on growth performance, immunity and stress resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 371-379.
- [25] 靳雅琦, 郁二蒙, 张凯, 等. 三种饵料对草鱼血清酶活性和肠道组织结构及细菌菌群的影响[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(9): 1652-1663.
- Jin Y Q, Yu E M, Zhang K, *et al.* Effects of three feeds on serum enzyme activity, intestinal structure and bacterial flora of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(9): 1652-1663 (in Chinese).
- [26] 郝耀彤, 吴山功, 王桂堂, 等. 草鱼肠道微生物对食物改变适应性变化的研究[J]. *淡水渔业*, 2015, 45(3): 46-51,101.
- Hao Y T, Wu S G, Wang G T, *et al.* Study on the adaptation changes of intestinal microbiota in *Ctenopharyngodon idellus* fed on different diets[J]. *Freshwater Fisheries*, 2015, 45(3): 46-51,101 (in Chinese).
- [27] 吴杨, 杨铿, 黄小林, 等. 饲料中添加丁酸梭菌对卵形鲳鲹幼鱼生长性能和肠道菌群的影响[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(3): 155-162.
- Wu Y, Yang K, Huang X L, *et al.* Effects of dietary *Clostridium butyricum* supplementation on growth performance and intestinal flora of juvenile *Trachinotus ovatus*[J]. *South China Fisheries Science*, 2022, 18(3): 155-162 (in Chinese).
- [28] Salinas I, Cuesta A, Esteban M Á, *et al.* Dietary administration of *Lactobacillus delbrueckii* and *Bacillus subtilis*, single or combined, on gilthead seabream cellular innate immune responses[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2005, 19(1): 67-77.
- [29] Fedde K N, Blair L, Silverstein J, *et al.* Alkaline phosphatase knock-out mice recapitulate the metabolic and skeletal defects of infantile hypophosphatasia[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2010, 14(12): 2015-2026.
- [30] Rozga J, Piątek T, Małkowski P. Human albumin: old, new, and emerging applications[J]. *Annals of transplantation*, 2013, 18: 205-217.
- [31] Nicholson J K, Holmes E, Kinross J, *et al.* Host-gut microbiota metabolic interactions[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1262-1267.
- [32] Li R X, Zhou W H, Ren J, *et al.* Dietary sodium lactate promotes protein and lipid deposition through increasing energy supply from glycolysis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2022, 550: 737858.
- [33] 周兴华, 陈建, 向泉. 柠檬酸在水产饲料中的应用[J]. *水产科技情报*, 2002, 29(3): 141-142.
- Zhou X H, Chen J, Xiang X. Application of citric acid in aquatic feed[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2002, 29(3): 141-142 (in Chinese).
- [34] Ren M C, Habte-Tsion H M, Liu B, *et al.* Dietary leucine level affects growth performance, whole body composition, plasma parameters and relative expression of TOR and TNF- α in juvenile blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 162-168.

Effects of inactivated *Lactobacillus plantarum* and its metabolites on growth performance and intestinal health of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

TIAN Juan^{1,2}, XIE Ningning¹, XIAO Wenfu¹, YU Lijuan¹, TANG Li²,
DENG Guifang², WEN Hua^{1*}, LI Xueping^{2*}

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

2. Beijing Heswof Biotechnology Co., Ltd, Beijing 101399, China)

Abstract: *Lactobacillus plantarum* is defined as beneficial bacteria for producing lactic acid, short-chain fatty acids, antimicrobial peptides, and other active substances through fermentation, and has probiotic effects such as alleviating oxidative damage to cells, regulating immunity, and promoting growth. However, due to the prolonged high-temperature environment during the processing of aquatic feed, the use of viable bacteria is limited in the field. To investigate the optimal supplementation level of dietary inactivated *L. plantarum* and its metabolites (LPM) for grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), fish with initial mean weight of (80.47±1.04) g were fed four isonitrogenous and isoenergetic diets which were formulated to contain graded LPM levels (0, 300, 600, 900 mg/kg LPM, respectively) for 6 weeks. The results showed that weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) showed a trend of first increasing and then decreasing, and the WGR and feed efficiency reached the maximum value when LPM supplemental level was at 300 mg/kg, increasing by 19.09% and 8.57% compared with the control group ($P < 0.05$), respectively. Condition factor in LPM supplemental groups was significantly lower than that in the control group, and the viscerosomatic index was significantly reduced by 18.84% in LPM-900 group compared with that of the control group ($P < 0.05$). The crude protein content in the whole body, protein efficiency rate, and protein deposition rate reached the maximum in LPM-300 group, which were significantly higher compared with those in the control group by 4.40%, 11.97%, and 7.64%, respectively ($P < 0.05$). The activities of protease in the liver and intestine of LPM supplemental groups were significantly increased compared with those of the control group ($P < 0.05$). When LPM supplemental level was 600 mg/kg, the number, length, and width of intestinal villi of *C. idella* were significantly higher, and the thickness of the intestinal wall muscle layer was significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). Dietary LPM had no significant effect on the diversity of intestinal flora of *C. idella* ($P < 0.05$). When LPM supplemental level was 300 mg/kg, the abundance of *Cyanobacteria*, *Lactobacillus* and *Clostridium* increased significantly ($P < 0.05$). LPM inhibited the proliferation of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Nocardia*. Dietary LPM had no significant effects on activities of glutamic-pyruvate transaminase and glutamic-oxalacetic transaminase, and the contents of triglyceride and glucose in serum ($P > 0.05$). The contents of total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol in serum increased with the increase of LPM supplementation level. The contents of total protein, albumin, and alkaline phosphatase activity in serum in the LPM supplemented group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). In conclusion, adding LPM at 300-600 mg/kg to the diet improved the growth performance of *C. idella* via inhibition of the breeding of harmful bacteria, improving intestinal function, and maintaining the normal function of the liver.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; inactivated *Lactobacillus plantarum* and its metabolites; intestinal health; growth; protein utilization

Corresponding authors: WEN Hua. E-mail: wenhua.hb@163.com;

LI Xueping. E-mail: lixueping@heswof.com

Funding projects: National Key R&D Program of China (2018YFD0900400); Industry-university-research Cooperation of Beijing Heswof Biotechnology Co. Project (2021125)