



· 综述 ·

益生菌与鱼类肠道健康研究进展

张美玲*, 单承杰, 杜震宇

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200241)

摘要: 集约化、高密度养殖已成为水产养殖业的发展趋势。在这种养殖模式下, 如何保障鱼体健康是人们关注的焦点。20世纪80年代, 益生菌在水产养殖行业中首次应用, 这种环保且有效的水产养殖策略获得了业界的关注。目前, 鱼类养殖中常用益生菌有芽孢杆菌属、乳酸杆菌属、乳球菌属和酵母菌属。添加的益生菌通过抑制病原微生物的增殖、改善鱼类肠道屏障完整性、调节肠道微生物组成和调控肠道免疫功能等作用维护鱼类肠道健康。但是, 益生菌发挥功效的具体机制还需要更深入的研究。本文综述了目前鱼类养殖中益生菌的使用情况及其作用机制, 同时也探讨了益生菌在水产行业中面临的挑战和未来发展方向。

关键词: 鱼类; 益生菌; 肠道健康; 肠道菌群; 肠道屏障

中图分类号: Q 938.8; S 942.3

文献标志码: A

“益生菌”源于希腊语, 意为“对生命有意义”^[1]。世界卫生组织 (WHO) 于 2001 年将益生菌定义为“活的微生物, 这些微生物积累到一定量时, 会有益宿主的健康”。近年来, 益生菌在人类营养和畜禽养殖中广泛使用, 越来越多的研究表明, 益生菌具有预防和治疗多种疾病的功效。与高等动物相比, 益生菌在鱼类养殖中的使用尚处于起步阶段, 相关的机制探索较为有限^[2]。

水产养殖在我国渔业中占有重要地位, 其中, 鱼类养殖占水产养殖总量的 54%^[3]。随着水产养殖业朝着高密度、集约化方向发展, 如何提高鱼体免疫力和抗病力显得尤为重要。

肠道健康对于鱼类的健康养殖意义重大。肠道发挥着多种作用, 例如对营养物质的消化和吸收、抵抗病原微生物和食物抗原对机体的影响、参与抗菌肽和摄食调控类激素的分泌等^[4];

此外, 肠道内定植着大量微生物, 这些微生物也通过自身或其代谢产物影响鱼类的营养代谢、系统发育、免疫调节等生理过程^[5]。纵观水产动物肠道健康相关研究, 学者们从最初的肠道形态学观察, 到近年来的肠道微生态平衡以及肠道健康相关机制的探索, 鱼类肠道健康有关研究越来越全面、深入。

益生菌以其环境友好、安全有效等优点在水产养殖行业中引起广泛关注。研究发现, 益生菌在鱼体肠道健康的维持与改善方面发挥重要作用。但是, 目前益生菌对鱼体肠道健康的调控机制还需要深入的探索。本文旨在梳理近年来益生菌在促进鱼类肠道健康方面所起到的作用及相关作用机制, 讨论益生菌在鱼类养殖中的使用状况、存在问题、面临的挑战以及今后的发展方向。

收稿日期: 2020-05-05 修回日期: 2020-06-11

资助项目: 国家自然科学基金 (31672668, 31972798)

通信作者: 张美玲 (照片), E-mail: mlzhang@bio.ecnu.edu.cn



1 常见益生菌在鱼类养殖中的应用

1986年, Kozasa^[6]在日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 养殖中使用了1株从土壤分离的益生芽孢杆菌 (*Bacillus toyoi*), 成功减少了病原菌引起的鱼体死亡, 这也是益生菌第一次在水产行业中应用。根据益生菌的来源、使用目的、施用方式和施用鱼种的不同, 益生菌菌株的选择多种多样 (表1), 包括乳杆菌 (*Lactobacillus*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*)、乳球菌 (*Lactococcus*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*) 和光合细菌 (*Photosynthetic bacteria*) 等^[7]。

1.1 乳酸杆菌属

据报道, 乳酸杆菌应用于多种鱼类的养殖。Mohammadian 等^[8]研究发现, 饲料补充 5×10^7 CFU/g 的嗜酸乳杆菌 (*L. acidophilus*) 或保加利亚乳杆菌 (*L. bulgaricus*), 饲喂虹鳟 60 d, 可以显著改善肠道消化酶的活性, 促进生长。Oluyemi^[9]发现, 饲料中添加 10^4 CFU/g 乳酸杆菌, 投喂非洲鲇 (*Clarias gariepinus*) 5周, 可提高饲料转化率, 促进非洲鲇生长性能, 这说明饲料中补充一定量的乳酸杆菌可以提升鱼体的生长性能。

还有研究发现, 乳酸杆菌的添加可以增强鱼体对致病菌的抵抗能力。Beck 等^[10]发现, 给牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 饲喂含有 10^7 CFU/g 植物乳杆菌 (*L. plantarum*) FGL0001, 可以显著提高肠道 *IL-6*、*IL-8* 和 *TNF- α* 等炎症因子基因的表达。Giri 等^[11]在露斯塔野鲮 (*Labeo rohita*) 饲料中添加3种浓度 (10^6 、 10^8 和 10^{10} CFU/g) 的植物乳杆菌 VSG3, 饲喂 60 d 后发现, 10^8 CFU/g 植物乳杆菌 VSG3 添加组露斯塔野鲮血清中超氧化物歧化酶活性最高、攻毒存活率最高, 提示在增强鱼体免疫方面, 植物乳杆菌在露斯塔野鲮体内存在着最适添加浓度。Zhang 等^[12]在鲤 (*Cyprinus carpio*) 上的研究发现, 饲料中添加 10^8 CFU/g 德氏乳杆菌 (*L. delbrueckii*) 饲喂 8 周, 德氏乳杆菌添加组的鲤抗氧化酶的活性得到提高, 在应对嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 等致病菌的攻毒实验中, 益生菌添加组表现出较好的抵抗力。此外, 也有研究表明乳酸杆菌的补充能够改变鱼体的肠道菌群, 对宿主产生一定的积极作用, Xia 等^[13]研究发现, 鼠李糖乳杆菌 (*L. rhamnosus*) 以 10^8 CFU/g 浓度添加进饲料, 饲喂虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 6 周能够显著减少虹鳟肠道中假

单胞菌在内的多种有害微生物的丰度。

1.2 芽孢杆菌属

芽孢杆菌在水产行业的应用十分广泛。给莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 饲喂补充 10^5 或 10^7 CFU/g 地衣芽孢杆菌 (*B. licheniformis*) Dahb1 饲料, 投喂 4 周后, 地衣芽孢杆菌 Dahb1 的添加不但促进了莫桑比克罗非鱼的生长性能, 还改善了肠道黏膜、血清免疫参数和抗氧化活性^[14]。Lee 等^[15]报道, 在日本鳗鲡饲料中分别补充枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) WB60 和植物乳杆菌 KCTC3928, 结果发现, 10^7 和 10^8 CFU/g 芽孢杆菌 WB60 添加组与对照组相比, 饲料转化率显著提高, 鱼体生长和非特异性酶活性均得到改善。然而, 植物乳杆菌 KCTC3928 对鱼体生长和先天性免疫相关的性能并没有明显的提高。以上研究表明, 芽孢杆菌作为一种水产上常用的益生菌株可以提高饲料转化率、促进宿主生长、改善鱼类免疫状态。值得关注的是, 不同的益生菌在同一鱼种上的益生效果存在差异, 而这种差异可能与益生菌在宿主肠道内竞争、定植和繁殖状况相关, 具体的机制还需要进一步的探究。

1.3 其他菌属

除了上述2类常见的益生菌, 其他菌属的益生菌在鱼类养殖中也有运用。Linh 等^[16]发现, 饲料中添加 2×10^{10} CFU/g 乳酸乳球菌 (*L. lactis*) K-C2, 饲喂杜氏鲮 (*Seriola dumerili*) 25 d, 益生菌补充组杜氏鲮生长性能相较对照组得到显著提升, 且肠道内容物中5种氨基酸含量增加。除了对鱼体生长性能的研究, 乳球菌也被报道可以刺激鱼体先天性免疫, 增强鱼体对病原菌的抵抗。Sun 等^[17]报道, 乳酸乳球菌 HNL12 以 10^8 CFU/g 浓度加入饲料饲喂驼背鲈 (*Cromileptes altivelis*), 4 周后可以显著地促进驼背鲈生长, 同时, 呼吸爆发活性和头肾巨噬细胞数量也得到显著提升, 在应对哈维氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) 感染时, 存活率从对照组的 36% 提高到 HNL12 补充组的 70%。Zhang 等^[18]在对鲤的研究中发现, 饲喂补充 5×10^8 CFU/g 乳酸乳球菌 8 周, 能够诱导肠道、脾脏及头肾等多个器官缺氧诱导因子基因家族 (HIFs gene family) 的表达来抵抗疾病和刺激免疫。

Abu-Elala 等^[19]发现, 将酿酒酵母以 0.4% 浓

度添加进饲料, 喂养尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*) 8 周后, 益生菌补充组肠道的 *TNF- α* 和 *IL-1 β* 表达量显著上调, 在随后的嗜水气单胞菌攻毒实验中, 益生菌补充组死亡率只有 43%, 而对照组则高达 97%。类似的, Iwashita 等^[20] 也发现, 饲料中补充 10^9 CFU/g 酿酒酵母的尼罗罗非鱼在应对嗜水气单胞菌攻击时, 死亡率为 76%, 而对照组死亡率达到 94.66%, 说明添加酿酒酵母可以一定程度上增强尼罗罗非鱼对嗜水气单胞菌的抵抗力^[20]。Abass 等^[21] 给尼罗罗非鱼饲喂含有酿酒酵母 (7%) 的饲料 84 d, 之后对尼罗罗非鱼进行热应激和低氧应激, 结果发现, 酿酒酵母补充组尼罗罗非鱼在 2 种应激下存活率均为 100%, 而对照组尼罗罗非鱼在 2 种应激下存活率分别只有 20% 和 80%。以上结果表明, 酿酒酵母在提高尼罗罗非鱼抗病和抗逆方面发挥了积极的作用。

Li 等^[22] 研究发现, 给鲫 (*Carassius auratus*) 补充 1×10^4 CFU/g 的丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*), 能够帮助宿主抵抗疱疹病毒, 存活率由对照组的 11% 上升到 45%。Poolsawat 等^[23] 研究了光合细菌对奥尼罗非鱼 (*O. niloticus* \times *O. aureus*) 的影响, 结果发现, 饲料中补充 0.5 g/kg 光合细菌可以显著增加肠绒毛高度, 同时光合细菌的添加还可以稳定肠道优势菌种, 增强奥尼罗非鱼对嗜水气单胞菌的抵抗力。综上表明, 乳球菌、酿酒酵母、丁酸梭菌和光合细菌在一定程度上可以促进鱼体生长, 调节鱼体免疫状态, 为水产适用益生菌提供多种选择。

2 益生菌添加方式

2.1 饲料添加

常见的益生菌施用方式是将益生菌添加到饲料或活体食物中。以淀粉为原料制作而成的黏合剂可以混合益生菌加入饲料, 使益生菌以更高的效率抵达鱼类肠道。通常, 混合了益生菌的饲料可以通过冷冻干燥技术进行处理, 这种方法在干燥饲料的同时还可以保持益生菌的活性。但是在膨化饲料中, 因为膨化的温度条件, 益生菌的使用受到极大的限制。而对于活体饲料, 例如轮虫和卤虫, 通常则是将益生菌添加进轮虫或卤虫培养体系中共孵育, 益生菌附着于活体动物表面或被吞进动物体内, 再将活体动物投喂给鱼类, 益生菌可以成功抵达鱼

类肠道^[5]。益生菌进入肠道后是否可以成功定植, 目前在水产动物的研究中还比较有限, 本课题组在前期的研究中, 通过给细菌转入绿色荧光蛋白, 直观地观察到了 2 种细菌在斑马鱼 (*Danio rerio*) 肠道的定植效率^[24]。此外, 本课题组还对一株弗氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter freundii*) S1 诱导利福平抗性, 通过使用含有利福平的培养基可以检测该菌在罗非鱼肠道内的定植情况^[25]。在对高等动物的研究中, Wang 等^[26] 通过对细菌细胞壁中的 D-丙氨酸进行荧光标记, 可以较为准确地评估菌群的定植效率。但是在水产动物中, 该项技术还没有被使用的报道。

2.2 水体添加

将益生菌直接添加到水体也是一种常用的益生菌添加方式。在这种方式下, 益生菌不仅在鱼体肠道内发挥作用, 同时还可以在水体中发挥特定作用。Iribarren 等^[27] 评估了在水体中添加益生菌对大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 养殖效果的影响, 结果发现, 水体中施用益生菌可以有效改善养殖水体的水质, 抑制水体中病原微生物的数量。值得注意的是, 水体中过度添加好氧微生物可能会影响水体溶解氧含量。本实验室前期研究表明, 在静水养殖中, 以 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL 浓度添加大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 或枯草芽孢杆菌 WB800N 能够降低水体溶解氧含量, 导致斑马鱼死亡率增加^[24]。这也提示我们在水体中添加高浓度好氧益生菌时, 需要通过改变曝气量来调节水体溶解氧。

鱼类养殖中, 益生菌的这 2 种添加方式各有优点。饲料添加法能够确保益生菌直接进入宿主的消化道, 从而更好地发挥益生菌功效, 但饲料添加法并不一定适用于所有的饲料加工工艺。水体添加法的优点是操作简便, 益生菌发挥功效的场所包括宿主体内和水体环境。因此, 鱼类养殖过程中, 不仅要选择合适的益生菌, 还要根据益生菌的不同特性, 选取合适的添加方式, 以期更好地发挥益生菌的功效, 提高养殖收益 (表 1)。

3 益生菌对鱼类肠道健康的调控机制

近年来的研究表明, 益生菌在调节鱼类肠道健康方面发挥着特定作用 (图 1), 包括抑制病原微生物生长、调节肠道屏障完整性、改善肠

表 1 近 5 年鱼类养殖中常用益生菌

Tab. 1 Probiotics commonly used in fish farming in the past five years

菌株 bacteria strain	目标宿主 target host	益生功效 probiotic effects	参考文献 reference
乳酸杆菌属 <i>Lactobacillus</i>			
植物乳杆菌 <i>L. plantarum</i>	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	增加血清溶菌酶活性; 提高生长性能和饲料转化率	[28]
干酪乳杆菌M15 <i>L. casei</i> M15	尖吻鲈	促进鲈生长, 抵抗嗜水气单胞菌 (<i>A. hydrophila</i>) 感染	[29]
植物乳杆菌D8 <i>L. plantarum</i> D8	<i>Lates calcarifer</i>		
戊糖乳杆菌BD6 <i>L. pentosus</i> BD6			
发酵乳杆菌LW2 <i>L. fermentum</i> LW2			
重组植物乳杆菌 <i>L. plantarum</i>	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	显著提高虹鳟血清IgM, 并上调免疫基因表达	[30]
植物乳杆菌AH78 <i>L. plantarum</i> AH 78	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	促进尼罗罗非鱼生长, 帮助其抵抗嗜水气单胞菌	[31]
鼠李糖乳杆菌JCM1136 <i>L. rhamnosus</i> JCM1136	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	改变了宿主肠道微生物, 提高了肠道免疫状态	[13]
戊糖乳杆菌 <i>L. pentosus</i>	尖齿胡鲶 <i>Clarias gariepinus</i>	提高饲料转化率, 促进宿主生长, 提高宿主肠道组织学参数	[9]
嗜酸乳杆菌 <i>L. acidophilus</i>	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	通过改善肠道消化酶活性和肠道菌群组成来促进宿主生长	[8]
保加利亚乳杆菌 <i>L. bulgaricus</i>			
德氏乳杆菌 <i>L. delbrueckii</i>	鲤 <i>C. carpio</i>	提高宿主抗氧化和抵抗嗜水气单胞菌能力	[12]
植物乳杆菌CCFM8661 <i>L. plantarum</i> CCFM8661	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	有效减少宿主组织铅积累	[32]
乳球菌属 <i>Lactococcus</i>			
乳酸乳球菌JCM5805 <i>L. lactis</i> JCM5805	罗非鱼 <i>Oreochromis</i> spp.	在罗非鱼幼鱼阶段施用能够影响成鱼肠道菌群	[33]
乳酸乳球菌K-C2 <i>L. lactis</i> K-C2	杜氏鲮 <i>S. dumerili</i>	提高宿主生长性能, 刺激生长	[16]
乳酸乳球菌HNL12 <i>L. lactis</i> HNL12	驼背鲈 <i>C. altivelis</i>	提高宿主生长性能和非特异性免疫, 并增强了宿主对弧菌的抵抗	[17]
乳酸乳球菌 <i>L. lactis</i>	鲤 <i>C. carpio</i>	显著促进宿主低氧诱导因子基因 (<i>HIFs</i>) 的表达	[18]
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>			
枯草芽孢杆菌WB60 <i>B. subtilis</i> WB60	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	提高了宿主生长性能和溶菌酶活性, 促进HSP-70、IL-1 β 、IFN- γ 和TNF- α 表达	[34]
环状芽孢杆菌KADR1 <i>B. circulans</i> KADR1	露斯塔野鲮 <i>L. rohita</i>	提高血清溶菌酶、总蛋白和IgM, 增强宿主对有害菌的抵抗	[35]
枯草芽孢杆菌NZ86 <i>B. subtilis</i> NZ86	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	提高宿主血浆溶菌酶浓度, 促进肠道两种细胞因子表达	[36]
枯草芽孢杆菌O14VRQ <i>B. subtilis</i> O14VRQ			
地衣芽孢杆菌HGA8B <i>B. licheniformis</i> HGA8B	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	显著上调生长激素受体基因GHR-1和GHR-2, 同时上调免疫基因IL-10和TLR-2	[37]
短小芽孢杆菌SE5 <i>B. pumilus</i> SE5	斜带石斑鱼 <i>Epinephelus coioides</i>	促进宿主高表达Toll样受体和MyD88, 同时促进抗微生物肽表达	[38]
贝莱斯芽孢杆菌AP193 <i>B. velezensis</i> AP193	斑点叉尾鲷 <i>Ictalurus punctatus</i>	促进宿主生长, 并且稳定肠道菌群组成	[39]
地衣芽孢杆菌Dahb1 <i>B. licheniformis</i> Dahb1	莫桑比克罗非鱼 <i>O. mossambicus</i>	显著提高宿主生长性能, 并且提高宿主黏液和血清免疫学参数	[14]
蜡样芽孢杆菌 <i>B. cereus</i>	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	提高了血清溶菌酶和氧化酶活性, 并改变了宿主肠道菌群组成	[40]
克劳氏芽孢杆菌DE5 <i>B. clausii</i> DE5	斜带石斑鱼 <i>E. coioides</i>	促进了TLR5、IL-8和IL-1 β 的转录表达	[41]
酵母菌属 <i>Saccharomyces</i>			
酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	尼罗罗非鱼 <i>O. niloticus</i>	促进宿主生长, 提高宿主氧化应激能力和增强宿主对嗜水气单胞菌的抵抗力; 改善了尼罗罗非鱼先天性免疫应答, 并增强了尼罗罗非鱼对嗜水气单胞菌的抵抗力; 促进尼罗罗非鱼幼鱼的生长、热耐受、低氧耐受和对嗜水气单胞菌的抵抗力	[19-21]
酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	草鱼 <i>Ctenopharyngodon idella</i>	刺激草鱼免疫, 增强草鱼对嗜水气单胞菌抵抗	[42]
酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	提高饲料转化率, 促进宿主生长, 增强血液免疫参数	[43]

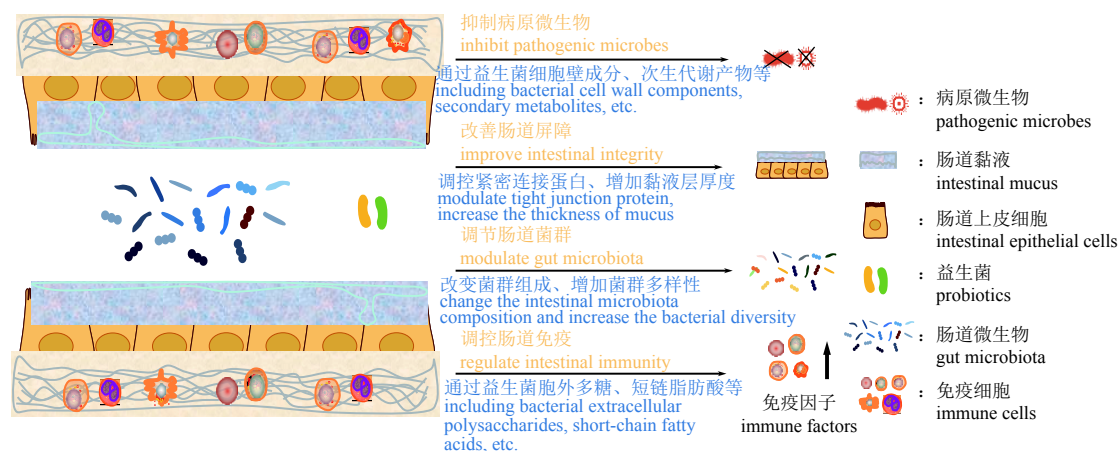


图 1 益生菌调节鱼类肠道健康的可能机制

Fig. 1 Possible regulatory mechanisms of probiotics on fish intestinal health

道微生物组成和调控鱼类肠道相关免疫应答。

3.1 抑制病原微生物

水产养殖中, 病原微生物通过特定的方式进入鱼肠道, 经过定植、扩繁、传播, 最终感染水产动物, 造成经济损失。鱼类养殖中常见病原微生物有气单胞菌属 (*Aeromonas*)、弧菌属 (*Vibrio*) 和链球菌属 (*Streptococcus*) 3 大类。据报道, 多种益生菌可以抑制这些水产致病菌。Addo 等^[44] 给尼罗罗非鱼饲料中添加了 1 株枯草芽孢杆菌株 AP193, 在嗜水气单胞菌攻毒实验中, 添加益生菌组的死亡率由对照组的 71% 降低至 27%, 说明枯草芽孢杆菌 AP193 可以抑制嗜水气单胞菌对鱼体的侵害。然而, 芽孢杆菌的添加并没有提高尼罗罗非鱼溶菌酶活性或呼吸爆发活力, 这也说明益生菌帮助鱼体抵抗嗜水气单胞菌感染不仅局限于溶菌酶活性或呼吸爆发活力的调节。Gao 等^[45] 同样报道了贝莱斯芽孢杆菌 (*B. velezensis*) V4 的无细胞上清液可以在体外抑制杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 的增殖。将这种益生菌以 3%(V:W) 浓度添加进虹鳟饲料, 可以将气单胞菌引起的死亡率降低 81.86%。通过功能产物的纯化与结构鉴定, 研究者发现, 贝莱斯芽孢杆菌 V4 发挥抑菌效应的成分是一种脂肽化合物。Giri 等^[46] 分离到了枯草芽孢杆菌 VSG4 次生代谢产物, 实验开始用 200 mg/mL 代谢产物注射露斯塔野鲮, 持续观察 28 d 后进行嗜水气单胞菌攻毒实验。结果发现, 对照组存活率只有 6.6%, 而次生代谢产物注射组存活率高达 67.88%。Ramesh 等^[35] 对益生菌芽孢杆菌 KADR1

的研究发现, 其全细胞蛋白或细胞壁蛋白能促进露斯塔野鲮对嗜水气单胞菌的抵抗, 攻毒存活率由对照组 18.61% 的提升至全细胞蛋白处理组的 77.77%, 这一效果接近益生菌处理组的 80.24%, 说明芽孢杆菌 KADR1 抵抗嗜水气单胞菌的效应分子可能为细胞壁蛋白, 虽然该研究并没有鉴定出此类蛋白, 但是这种研究的思路对于后续抑菌效应蛋白的寻找具有重要的启发意义。这些研究说明益生菌抑制病原微生物的机制可能是通过益生菌脂肽、细胞壁蛋白或分泌蛋白、代谢产物等效应分子实现的。抑菌效应分子的寻找和机制解析依然是未来益生菌抑菌研究的焦点, 这将为水产养殖中抗菌物质的开发提供重要的备选物。

3.2 调节鱼类肠道屏障完整性

肠道屏障是指能够抵抗有害微生物穿过肠道进入体内其他组织器官和血液循环的肠道结构。对于鱼类肠道而言, 肠绒毛长度、黏膜层厚度和肠道菌群稳定与否都是肠道屏障的重要指标。水产养殖中, 多种因素, 比如饲料中鱼粉替代、病原体入侵和肠道菌群紊乱都能够损伤鱼体肠道屏障。Ringo 等^[47] 早期报道了给大西洋鲑 (*Salmo salar*) 施用 1 株肉食杆菌 (*Carnobacterium divergens*) 能够缓解致病菌杀鲑气单胞菌 (*A. salmonicida*) 和鳃弧菌 (*V. anguillarum*) 造成的肠道上皮受损。Dong 等^[48] 发现添加乳球菌的饲料喂食鲫 42 d, 可以促进肠道紧密连接蛋白基因 *occludin* 和 *ZO-1* 的表达, 缓解嗜水气单胞菌引起的肠道屏障损伤。但是, 某些益生菌株的不恰当使用

也可能对鱼类肠道屏障带来负面效应。有研究发现,给尼罗罗非鱼饲喂添加有植物乳杆菌(*L. plantarum*) JCM1149的饲料2周,停用该菌3d后,尼罗罗非鱼对嗜水气单胞菌的易感性反而增加,出现了类似抗生素使用后引发的肠道菌群失调,肠道上皮受损的现象。其可能的原因是植物乳杆菌JCM1149对尼罗罗非鱼肠道黏膜黏附性较差,停用后,这种菌被鱼体快速排出,为致病菌提供了可以黏附的生态位^[49]。因此在水产养殖过程中,益生菌对特定鱼类肠道屏障的影响,需要更加细致和全面的评估,以免造成不必要的损失。

通常,判断鱼体肠道屏障完整性的方法包括切片观察、基因检测和肠道通透性检测等。肠道切片可以明显反映肠道结构改变,但对于一些细微的变化,例如肠道渗透性改变,切片则无法观测。目前水产动物肠道屏障完整性评价体系中,人们比较关注紧密连接蛋白的表达水平,如紧密连接蛋白基因 *occludin*、*ZO-1* 和 *claudin* 的表达。这些紧密连接蛋白可以调控肠道渗透性,而肠道渗透性在调控肠道营养物质和抵抗病原方面十分重要。通常认为,肠道紧密连接蛋白的高表达表明肠道渗透性较低。但是,近期在高等动物中的研究发现,仅关注紧密连接蛋白的表达水平,并不能有效反映肠道的通透性变化^[50],这也提示我们,鱼类肠道紧密连接蛋白基因的表达水平与肠道功能之间的关系还需要进一步的研究。对于鱼类肠道通透性检测,目前研究较少。高等动物中一般采用异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的葡聚糖灌胃法进行检测。给动物灌胃 FITC-葡聚糖一段时间后,再从血液中检测 FITC-葡聚糖含量,以此评估肠道通透性^[51]。本实验室已经在罗非鱼中开展了相关的尝试,证明该方法在水产动物肠道通透性的研究中具有可行性^[25]。此外,本实验室还利用尤斯室 (Ussing chamber) 离体检测技术,结合肠道紧密连接蛋白基因相对表达量评估了鱼肠道的屏障完整性^[25,52]。在鱼类研究中,肠道完整性评估技术还需要不断地完善,而高等动物中已经成熟的相关技术可以为鱼类肠道屏障的研究提供借鉴。

3.3 调节鱼类肠道微生物组成

脊椎动物肠道中定植着一个复杂的微生态系统,肠道微生物生态系统的平衡对于水产动物肠

道健康的维持十分关键。最新研究发现,患有虾白粪综合征 (white feces syndrome, WFS) 的对虾较正常对照组对虾,其肠道菌群发生紊乱。将患有 WFS 对虾的肠道微生物移植给正常对虾,能够诱发正常对虾的 WFS,这表明肠道微生物的紊乱也能够诱发水产动物发病^[53]。

在鱼类养殖中,Ramos等^[54]的研究发现,用一株芽孢杆菌补充饲料饲喂虹鳟56d后,与对照组相比,芽孢杆菌添加组虹鳟肠道微生物组成发生改变并且拥有更高的操作分类单元数 (OTU),菌群多样性增加。Al-Hisnawi等^[55]发现,用一株乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*) MA18/5M 补充饲料饲喂虹鳟4周后,相比对照组,乳酸片球菌组虹鳟肠道微生物组成发生改变且肠道菌群多样性增加,这种肠道菌群的变化,刺激了虹鳟免疫因子表达。Li等^[56]用1株分离自虹鳟肠道的希瓦氏菌 (*Shewanella* spp.) MR-7 对饲料中的大豆蛋白进行发酵,结果发现,与对照组相比,发酵饲料组虹鳟肠道菌群 α 多样性显著增加,虹鳟消化酶活性提升,肠道炎症反应受到抑制。这些研究表明益生菌可以调节鱼类肠道菌群,并且肠道菌群组成多样性与鱼体肠道健康具有相关性。

Giatsis等^[57]的研究表明,罗非鱼幼鱼阶段生活在含有芽孢杆菌的水环境中7d,其肠道菌群的组成发生显著性变化,并且暴露后的罗非鱼拥有比对照更小的个体差异,这表明在幼鱼期间接触益生菌有助于不同个体间肠道菌群的统一。Xia等^[33]也发现,在罗非鱼幼鱼阶段施用1株乳酸乳球菌 (*L. lactis*) JCM5805,能够对罗非鱼成鱼期肠道菌群的塑成产生影响,最终通过 TLR7/TLR9-Myd88 通路上调细胞 *IFN α* 表达,增强疾病抵抗。这就说明在鱼类发育早期施用益生菌来调节肠道菌群,或许可以更为长久地影响鱼类健康。

鱼类因其生活环境、食性以及肠道结构的差异,肠道内微生物的组成也各不相同。鱼肠道中的优势微生物主要为变形菌门 (Proteobacteria)、梭杆菌门 (Fusobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和放线菌门 (Actinobacteria),而在高等动物肠道微生物中,厚壁菌门和拟杆菌门 (Bacteroides) 为主要优势类群^[58]。因此在鱼用益生菌选择时,需要考虑鱼肠道微生物组成的特点,而不能直接套用高等动物中已有的研究结果。

3.4 调节鱼类肠道相关免疫

研究表明, 肠相关淋巴样组织 (GALT) 一定程度上调节着肠道免疫。Bakke-McKellep 等^[59] 观察到鱼类肠道中存在淋巴样细胞、巨噬细胞和粒细胞, 这些分散的组织构成了鱼类肠道免疫系统。GALT 参与的免疫反应分为 2 类, 先天性免疫和适应性免疫。先天性免疫反应中, 宿主响应病原相关分子模式 (PAMP) 刺激, 调控炎症反应, 促进吞噬细胞消灭非特异性病原体, 这一过程中, 中性粒细胞和吞噬细胞发挥着关键作用。而适应性免疫则是在淋巴细胞的参与下, 经过抗原识别、淋巴细胞激活和免疫功能的执行 3 个阶段, 特异性地消灭病原体。益生菌对鱼类肠道先天性免疫和适应性免疫调节均有报道。

Standen 等^[60] 在饲料中补充 2.8×10^7 CFU/g 乳酸片球菌, 饲喂尼罗罗非鱼 6 周后发现, 乳酸片球菌能够显著上调肠道 *TNF- α* 水平, 增加肠上皮内白细胞、中性粒细胞和单核细胞数量, 同时尼罗罗非鱼的生长也得到了促进。Feng 等^[61] 从鲤肠道中分离出 1 株乳酸乳球菌 Z-2, 提取其胞外多糖 EPS-2。体外实验发现 EPS-2 能够显著增强吞噬活性, 用 EPS-2 处理鲤 7 d, 发现 EPS-2 能够显著上调鲤 *IL-10* 和 *TGF- β* 的表达, 降低链球菌感染的致死率。上述研究表明, 益生菌可以通过调控炎症因子表达和吞噬活性调节鱼类肠道先天性免疫。Matsuura 等^[62] 研究发现, 给鲫腹腔注射一株热灭活益生菌粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) KH2, 1 周后, 增加了 $CD4-1^+$ 和 $CD8\alpha^+$ 辅助 T 淋巴细胞数量, 同时体外实验也证明, 热灭活粪肠球菌 KH2 能够上调辅助 T 淋巴细胞中 Th1 细胞因子基因。Matsuura 等^[62] 工作将益生菌“疫苗化”, 通过灭活、注射的方式调节了鲫适应性免疫, 这也提示益生菌在水产养殖疫苗开发上可能拥有广阔前景。综上所述, 益生菌可以通过调控肠道炎症因子相关基因表达和 T 淋巴细胞分化来调节鱼类肠道先天性免疫和适应性免疫, 但是在水产动物中, 益生菌对肠道免疫系统的具体调控节制还需要深入的研究。

4 小结和展望

综上, 益生菌可以增强鱼体的抗病能力、提高肠道屏障完整性、调节肠道特定微生物比

例和提升肠道免疫状态, 但是受限于我们对鱼用益生菌的了解程度, 水产养殖中益生菌的使用还存在一些问题。例如针对同一种鱼, 不同剂量的益生菌会展现出不同的效应。而同一种益生菌在不同的鱼种上也有可能表现出不同功效。“益生菌”在使用一段时间后停用, 还可能引发免疫崩溃。这就提示我们需要对益生菌的作用机制进行更加深入的研究。

另外, 有研究发现益生菌和益生元联用, 可以有效提高益生菌对鱼体的保护效果^[63]。Addo 等^[44] 发现, 芽孢杆菌 AP193 和 0.5% 半纤维素提取物联合使用, 在抑制病原微生物方面效果要好于益生菌单一使用。但是 Cerezuela 等^[64] 研究发现了不同的结果, 芽孢杆菌 CECT35 联合菊粉在调节金头鲷 (*Sparus aurata*) 促炎因子表达上的效果并不优于芽孢杆菌单一使用组。而也有研究发现某些益生元多糖可能会造成鱼类肝脏损伤, 对鱼体健康产生负面影响^[65], 这就提示在益生菌和益生元复合使用时, 益生元的选择也十分关键。

目前, 鱼体肠道相关研究的技术手段还需要进一步完善, 如益生菌定植效率的检测, 鱼体肠道屏障完整性的评价标准等, 高等动物中的最新研究成果可以给水产养殖中遇到的类似问题提供技术指导, 为研究者突破鱼类益生菌研究瓶颈提供启发。在今后的水产养殖业中, 益生菌与鱼体互作关系的研究会受到越来越广泛的关注, 而对于益生菌作用机制的全面解析, 将有助于开发更多的鱼用益生菌产品, 推动水产养殖业向着更为绿色健康的方向发展。

参考文献 (References):

- [1] Schrezenmeir J, Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, 73(2): 361S-364S.
- [2] Cruz P M, Ibáñez A L, Hermsillo O A M, et al. Use of probiotics in aquaculture[J]. *ISRN Microbiology*, 2012, 2012: 916845.
- [3] 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. 中国渔业统计年鉴 2018[M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.

Fisheries and Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture and Rural Areas, National

- Aquatic Technology Promotion Station, China Society of Fisheries. China Fishery statistical yearbook-2018[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2018 (in Chinese).
- [4] Dong B, Yi Y H, Liang L F, *et al.* High throughput identification of antimicrobial peptides from fish gastrointestinal microbiota[J]. *Toxins*, 2017, 9(9): 266.
- [5] Chauhan A, Singh R. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach[J]. *Symbiosis*, 2019, 77(2): 99-113.
- [6] Kozasa M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promoter for animal feeding[J]. *Microbiology Aliments Nutrition*, 1986, 4(1): 121-135.
- [7] Hai N V. The use of probiotics in aquaculture[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2015, 119(4): 917-935.
- [8] Mohammadian T, Nasirpour M, Tabandeh M R, *et al.* Administrations of autochthonous probiotics altered juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* health status, growth performance and resistance to *Lactococcus garvieae*, an experimental infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 269-279.
- [9] Oluyemi K G. Histometry and growth performance of African catfish, *Clarias gariepinus*, (Burchell, 1822) fed probiotics supplemented diets[J]. *Asian Journal of Research in Zoology*, 2019, 2(1): 1-10.
- [10] Beck B R, Kim D, Jeon J, *et al.* The effects of combined dietary probiotics *Lactococcus lactis* BFE920 and *Lactobacillus plantarum* FGL0001 on innate immunity and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 42(1): 177-183.
- [11] Giri S S, Sukumaran V, Oviya M. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(2): 660-666.
- [12] Zhang C N, Zhang J L, Guan W C, *et al.* Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on immune response, disease resistance against *Aeromonas hydrophila*, antioxidant capability and growth performance of *Cyprinus carpio* Huanghe var[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 68: 84-91.
- [13] Xia Y, Lu M X, Chen G, *et al.* Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* JCM1136 and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 on the growth, intestinal microbiota, morphology, immune response and disease resistance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 76: 368-379.
- [14] Gobi N, Vaseeharan B, Chen J C, *et al.* Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dabhl improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 74: 501-508.
- [15] Lee S, Katya K, Park Y, *et al.* Comparative evaluation of dietary probiotics *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 on the growth performance, immunological parameters, gut morphology and disease resistance in Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 61: 201-210.
- [16] Linh N T H, Nagai S, Nagasaka N, *et al.* Effect of *Lactococcus lactis* K-C2 on the growth performance, amino acid content and gut microflora of amberjack *Seriola dumerili*[J]. *Fisheries Science*, 2018, 84(6): 1051-1062.
- [17] Sun Y, He M, Cao Z J, *et al.* Effects of dietary administration of *Lactococcus lactis* HNL12 on growth, innate immune response, and disease resistance of humpback grouper (*Cromileptes altivelis*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 82: 296-303.
- [18] Zhang J F, Dong C J, Feng J C, *et al.* Effects of dietary supplementation of three strains of *Lactococcus lactis* on HIFs genes family expression of the common carp following *Aeromonas hydrophila* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 92: 590-599.
- [19] Abu-Elala N M, Younis N A, AbuBakr H O, *et al.* Influence of dietary fermented *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, oxidative stress parameters, and immune response of cultured *Oreochromis niloticus*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2020, 46(2): 533-545.
- [20] Iwashita M K P, Nakandakare I B, Terhune J S, *et al.* Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 92: 590-599.

- Immunology, 2015, 43(1): 60-66.
- [21] Abass D A, Obirikorang K A, Campion B B, *et al.* Dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) improves growth, stress tolerance, and disease resistance in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture International*, 2018, 26(3): 843-855.
- [22] Li T, Ke F, Gui J F, *et al.* Protective effect of *Clostridium butyricum* against *Carassius auratus* herpesvirus in gibel carp[J]. *Aquaculture International*, 2019, 27(3): 905-914.
- [23] Poolsawat L, Li X Q, He M, *et al.* *Clostridium butyricum* as probiotic for promoting growth performance, feed utilization, gut health and microbiota community of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2020, 26(3): 657-670.
- [24] Tan F, Limbu S M, Qian Y, *et al.* The responses of germ-free zebrafish (*Danio rerio*) to varying bacterial concentrations, colonization time points, and exposure duration[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2156.
- [25] Zhang M L, Li M, Sheng Y, *et al.* *Citrobacter* species increase energy harvest by modulating intestinal microbiota in fish: nondominant species play important functions[J]. *mSystems*, 2020, 5(3): e00303-20.
- [26] Wang W, Lin L Y, Du Y H, *et al.* Assessing the viability of transplanted gut microbiota by sequential tagging with D-amino acid-based metabolic probes[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1317.
- [27] Iribarren D, Dagá P, Moreira M T. Potential environmental effects of probiotics used in aquaculture[J]. *Aquaculture International*, 2012, 20(4): 779-789.
- [28] 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.
- [29] Lin H L, Shiu Y L, Chiu C S, *et al.* Screening probiotic candidates for a mixture of probiotics to enhance the growth performance, immunity, and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch), against *Aeromonas hydrophila*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 60: 474-482.
- [30] Soltani M, Pakzad K, Taheri-Mirghaed A, *et al.* Dietary Application of the probiotic *Lactobacillus plantarum* 426951 enhances immune status and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) vaccinated against *Yersinia ruckeri*[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2019, 11(4): 207-219.
- [31] 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.
- [32] Zhai Q X, Wang H C, Tian F W, *et al.* Dietary *Lactobacillus plantarum* supplementation decreases tissue lead accumulation and alleviates lead toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(9): 5094-5103.
- [33] Xia Y, Cao J M, Wang M, *et al.* Effects of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 on colonization dynamics of gut microbiota and regulation of immunity in early ontogenetic stages of tilapia[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 53-63.
- [34] Won S, Hamidoghli A, Choi W, *et al.* Effects of *Bacillus subtilis* WB60 and *Lactococcus lactis* on growth, immune responses, histology and gene expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(1): 67.
- [35] Ramesh D, Souissi S. Effects of potential probiotic *Bacillus subtilis* KADR1 and its subcellular components on immune responses and disease resistance in *Labeo rohita*[J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49(1): 367-377.
- [36] Galagarza O A, Smith S A, Drahos D J, *et al.* Modulation of innate immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary supplementation of *Bacillus subtilis* endospores[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 83: 171-179.
- [37] Midhun S J, Neethu S, Arun D, *et al.* Dietary supplementation of *Bacillus licheniformis* HGA8B improves growth parameters, enzymatic profile and gene expression of *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture*, 2019, 505: 289-296.
- [38] Yang H L, Sun Y Z, Hu X, *et al.* *Bacillus pumilus* SE5 originated PG and LTA tuned the intestinal TLRs/MyD88 signaling and microbiota in grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*,

- 2019, 88: 266-271.
- [39] Thurlow C M, Williams M A, Carrias A, *et al.* *Bacillus velezensis* AP193 exerts probiotic effects in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and reduces aquaculture pond eutrophication[J]. *Aquaculture*, 2019, 503: 347-356.
- [40] Wang M, Liu G B, Lu M X, *et al.* Effect of *Bacillus cereus* as a water or feed additive on the gut microbiota and immunological parameters of Nile tilapia[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(6): 3163-3173.
- [41] Wang J, Yang H L, Xia H Q, *et al.* Supplementation of heat-inactivated *Bacillus clausii* DE 5 in diets for grouper, *Epinephelus coioides*, improves feed utilization, intestinal and systemic immune responses and not growth performance[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2018, 24(2): 821-831.
- [42] Mo W Y, Choi W Y, Man K Y, *et al.* Food waste-based pellets for feeding grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*): adding baker's yeast and enzymes to enhance growth and immunity[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 707: 134954.
- [43] Coroian C O, Miresan V, Raducu C, *et al.* Oxidative stress and haematological response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with brewer yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as nutritional supplement[J]. *Revista de Chimie*, 2019, 70(10): 3727-3733.
- [44] Addo S, Carrias A A, Williams M A, *et al.* Effects of *Bacillus subtilis* strains and the prebiotic Previda® on growth, immune parameters and susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(9): 4798-4810.
- [45] Gao X Y, Liu Y, Miao L L, *et al.* Characterization and mechanism of anti-*Aeromonas salmonicida* activity of a marine probiotic strain, *Bacillus velezensis* V4[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(9): 3759-3768.
- [46] Giri S S, Sen S S, Jun J W, *et al.* Role of *Bacillus subtilis* VSG4-derived biosurfactant in mediating immune responses in *Labeo rohita*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 220-229.
- [47] Ringø E, Salinas I, Olsen R E, *et al.* Histological changes in intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following *in vitro* exposure to pathogenic and probiotic bacterial strains[J]. *Cell and Tissue Research*, 2007, 328(1): 109-116.
- [48] Dong Y H, Yang Y Y, Liu J, *et al.* Inhibition of *Aeromonas hydrophila*-induced intestinal inflammation and mucosal barrier function damage in crucian carp by oral administration of *Lactococcus lactis*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 83: 359-367.
- [49] Liu Z, Liu W S, Ran C, *et al.* Abrupt suspension of probiotics administration may increase host pathogen susceptibility by inducing gut dysbiosis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 23214.
- [50] Ahmad R, Sorrell M F, Batra S K, *et al.* Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent[J]. *Mucosal Immunology*, 2017, 10(2): 307-317.
- [51] Thaiss C A, Levy M, Grosheva I, *et al.* Hyperglycemia drives intestinal barrier dysfunction and risk for enteric infection[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1376-1383.
- [52] 申美琳. 一株枯草芽孢杆菌影响罗非鱼糖耐受能力的机制探究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2019.
- Shen M L. The influence of *Bacillus subtilis* on glucose tolerance of Nile tilapia[D]. Shanghai: East China Normal University, 2019 (in Chinese).
- [53] Huang Z J, Zeng S Z, Xiong J B, *et al.* Microecological Koch's postulates reveal that intestinal microbiota dysbiosis contributes to shrimp white feces syndrome[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 32.
- [54] Ramos M A, Weber B, Gonçalves J F, *et al.* Dietary probiotic supplementation modulated gut microbiota and improved growth of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2013, 166(2): 302-307.
- [55] Al - Hisnawi A, Rodiles A, Rawling M D, *et al.* Dietary probiotic *Pediococcus acidilactici* MA18/5M modulates the intestinal microbiota and stimulates intestinal immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2019, 50(6): 1133-1151.
- [56] Li C Q, Zhang B L, Wang X, *et al.* Improved utilization of soybean meal through fermentation with commensal *Shewanella* sp. MR-7 in turbot (*Scophthalmus maximus* L.)(J). *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 214.

- [57] Giatsis C, Sipkema D, Ramiro-Garcia J. Probiotic legacy effects on gut microbial assembly in tilapia larvae[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 33965.
- [58] Kostic A D, Howitt M R, Garrett W S. Exploring host-microbiota interactions in animal models and humans[J]. *Genes & Development*, 2013, 27(7): 701-718.
- [59] Bakke-McKellep A M, Frøystad M K, Lilleeng E, *et al.* Response to soy: T-cell-like reactivity in the intestine of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2007, 30(1): 13-25.
- [60] Standen B T, Rawling M D, Davies S J, *et al.* Probiotic *Pediococcus acidilactici* modulates both localised intestinal and peripheral-immunity in tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(4): 1097-1104.
- [61] Feng J C, Cai Z L, Chen Y Y, *et al.* Effects of an exopolysaccharide from *Lactococcus lactis* Z-2 on innate immune response, antioxidant activity, and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in *Cyprinus carpio* L.[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 98: 324-333.
- [62] Matsuura Y, Takasaki M, Miyazawa R, *et al.* Stimulatory effects of heat-killed *Enterococcus faecalis* on cell-mediated immunity in fish[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2017, 74: 1-9.
- [63] Wang A R, Ran C, Wang Y B, *et al.* Use of probiotics in aquaculture of China-a review of the past decade[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 734-755.
- [64] Cerezuola R, Fumanal M, Tapia-Paniagua S T, *et al.* Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(5): 1063-1070.
- [65] Zhang Z, Ran C, Ding Q W, *et al.* Ability of prebiotic polysaccharides to activate a HIF1 α -antimicrobial peptide axis determines liver injury risk in zebrafish[J]. *Communications Biology*, 2019, 2(1): 274.

Research advances on probiotics and fish gut health

ZHANG Meiling*, SHAN Chengjie, DU Zhenyu

(School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract: How to keep the intestinal health of fishes in the intensive and high-density farming system is an important issue in aquaculture. In 1980s, probiotics were first used in fisheries. Application of probiotics has been regarded as an environment-friendly and effective strategy in aquaculture since then. At present, the commonly used probiotic microorganisms include *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. and *Saccharomyces*. Probiotics maintain the gut health of fish by inhibiting the proliferation of pathogenic microorganisms, improving the integrity of fish intestinal barriers, modulating the composition of intestinal microbiota and regulating the intestinal immune functions. However, more researches still need to be conducted to reveal the exact function of probiotics. Here, the application of probiotics and their possible mechanisms were summarized, and furthermore, the challenges and the future direction of probiotics in aquaculture were also discussed.

Key words: fish; probiotics; gut health; intestinal microbiota; intestinal barriers

Corresponding author: ZHANG Meiling. E-mail: mlzhang@bio.ecnu.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31672668, 31972798)