



## Effects of Probiotic Compound Preparation on Growth Performance, Intestinal Health and Disease Resistance of *Litopenaeus vannamei*

Zhiqiang Zhang\*

College of Marine Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong, China

**【Abstract】** To explore the role of probiotic compound preparation in the healthy aquaculture of *Litopenaeus vannamei*, shrimp with an initial body weight of  $(0.82 \pm 0.05)$  g were selected and divided into a control group (basic diet) and three experimental groups supplemented with 0.1%, 0.3%, and 0.5% probiotic compound preparation, respectively. Each group had 3 replicates with 30 shrimp per replicate, and the culture period was 60 days. Results showed that the 0.3% experimental group had significantly higher weight gain rate and specific growth rate, and a significantly lower feed conversion ratio than the control group ( $P < 0.05$ ). It also exhibited optimized intestinal digestive enzyme activities, villus morphology, and gut microbiota diversity, with increased lactic acid bacteria abundance and decreased *Vibrio* abundance. Additionally, serum immune indicators were improved, and the survival rate after WSSV challenge was significantly higher than that of the control group ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Adding 0.3% probiotic compound preparation to the basic diet can comprehensively improve the aquaculture effect of *Litopenaeus vannamei*, providing technical support for its healthy aquaculture.

**【Keywords】** *Litopenaeus vannamei*; Probiotic Compound Preparation; Growth Performance; Intestinal Health; Disease Resistance; Healthy Culture

## 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾生长性能、肠道健康及抗病性的影响

张志强 \*

青岛农业大学海洋科学与工程学院, 山东青岛 266109

**【摘要】** 为探究益生菌复合制剂对凡纳滨对虾健康养殖的作用, 以初始体重  $(0.82 \pm 0.05)$  g 的凡纳滨对虾为对象, 设对照组 (基础饲料) 和 0.1%、0.3%、0.5% 益生菌复合制剂试验组, 每组 3 重复、每重复 30 尾, 养殖 60 d。结果显示, 0.3% 试验组增重率、特定生长率显著高于对照组, 饲料系数显著降低; 肠道消化酶活性、绒毛形态、菌群多样性优化, 乳酸菌丰度提升、弧菌丰度下降; 血清免疫指标提高, WSSV 攻毒后存活率显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。结论: 基础饲料中添加 0.3% 益生菌复合制剂可全面改善凡纳滨对虾养殖效果, 为其健康养殖提供技术支持。

**【关键词】** 凡纳滨对虾; 益生菌复合制剂; 生长性能; 肠道健康; 抗病性; 健康养殖

## 1 引言

### 1.1 研究背景

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是全球产量最高的海水养殖甲壳类品种, 2023 年我国凡纳滨对虾养殖产量达 185 万吨, 占海水虾类养殖总产量的 72%, 在保障水产品供给、促进渔业经济发展中具有重要地位 [1]。然而, 随着养殖规模扩大与集约化程度提升, 凡纳滨对虾养殖面临两大核心问题: 一是长期投喂高营养密度饲料导致的肠道功能紊乱, 表现为消化酶活性下降、肠道黏膜损伤, 进而降低生长性能与饲料利用率 [2]; 二是养殖环境恶化引发的病害频发, 其中白斑综合征病毒 (WSSV) 感染导致的死亡率高达 80%-100%, 每年造成的经济损失超 50 亿元 [3]。

传统养殖中, 养殖户常通过添加抗生素 (如土霉素、氟苯尼考) 预防病害, 但抗生素滥用不仅导致细菌耐药性增强, 还会通过食物链危害人类健康, 2022 年我国已全面禁止在水产养殖中使用抗生素作为促生长剂 [4]。因此, 开发安全、高效的绿色养殖添加剂成为凡纳滨对虾产业可持续发展的关键。益生菌作为一种新型饲料添加剂, 可通过调节肠道菌群平衡、提升消化酶活性、增强机体免疫力等途径改善养殖生物健康状况, 已在鱼类、甲壳类养殖中展现出良好应用前景 [5]。

单一益生菌在功能上存在局限性, 如枯草芽孢杆菌虽能提升消化酶活性, 但对病毒的抑制作用较弱; 植物乳杆菌可调节肠道菌群, 却在水体中存活时间较短 [6]。而益生菌复合制剂通过不同菌种的协同作用, 能实现“促生长 - 护肠道 - 强免疫”的综合效果。目前, 关于益生菌复合制剂在凡纳滨对虾养殖中的研究多聚焦单一功能 (如生长或抗病), 缺乏对生长性能、肠道健康、抗病性的系统分析, 且最佳添加剂量尚未明确。

### 1.2 研究意义

本研究以枯草芽孢杆菌、植物乳杆菌、酿酒酵母菌为核心菌种, 构建益生菌复合制剂, 通过系统评估不同添加剂量对凡纳滨对虾生长性能 (增重率、饲料系数)、肠道健康 (消化酶活性、肠道形态)、肠道菌群结构 (菌群组成、多样性) 及抗病性 (免疫指标、病毒攻毒存活率) 的影响, 明确最佳添加剂量与作用机制。研究成果可: (1) 丰富水产动

物营养调控理论, 为甲壳类肠道健康的分子机制研究提供参考; (2) 开发新型绿色饲料添加剂, 替代传统抗生素, 推动凡纳滨对虾健康养殖技术升级;

(3) 优化养殖模式, 降低病害发生率与养殖污染, 实现水产养殖的环境友好与高效可持续, 为我国水产养殖业“减量增收、提质增效”目标的实现提供技术支撑。

## 2 材料与方法

### 2.1 试验材料

#### 2.1.1 试验生物

凡纳滨对虾苗种购自广东某对虾育苗场, 挑选规格均匀、活力良好、无伤病的个体, 经暂养 10 d (水温  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , 盐度  $25 \pm 1\text{‰}$ , 溶解氧  $\geq 5\text{ mg/L}$ ) 适应后, 选取初始体重 ( $0.82 \pm 0.05\text{ g}$ ) 的对虾用于试验。

#### 2.1.2 益生菌复合制剂

枯草芽孢杆菌 (活菌数  $\geq 1 \times 10^{10}\text{ CFU/g}$ )、植物乳杆菌 (活菌数  $\geq 1 \times 10^{10}\text{ CFU/g}$ )、酿酒酵母菌 (活菌数  $\geq 1 \times 10^9\text{ CFU/g}$ ) 均购自青岛某生物科技有限公司, 按 1:1:1 的活菌数比混合制成益生菌复合制剂, 经冷冻干燥后添加至饲料中。

#### 2.1.3 基础饲料

基础饲料配方参照凡纳滨对虾营养需求标准设计 (表 1), 主要原料包括鱼粉、豆粕、花生粕、面粉、鱼油、磷脂等, 饲料经双螺杆挤压机制成粒径 1.0-2.0 mm 的颗粒饲料, 干燥后密封保存于  $4^\circ\text{C}$  冰箱备用。

表 1 凡纳滨对虾基础饲料配方及营养水平  
(干物质基础)

原料组成	含量 (%)	营养水平	含量 (%)
鱼粉	30.0	粗蛋白质	42.5
豆粕	25.0	粗脂肪	8.6
花生粕	15.0	粗纤维	3.2
面粉	18.0	灰分	10.3
鱼油	4.0	赖氨酸	2.3
磷脂	3.0	蛋氨酸	0.8
维生素预混料	1.0	水分	8.5
矿物质预混料	1.0	-	-
氯化胆碱	0.5	-	-
抗氧化剂	0.2	-	-
防霉剂	0.3	-	-

#### 2.1.4 主要试剂与仪器

肠道消化酶检测试剂盒（蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶）购自南京建成生物工程研究所；血清免疫指标检测试剂盒（SOD、LZM、丙二醛 MDA）购自上海酶联生物科技有限公司；WSSV 标准毒株由中国水产科学研究院黄海水产研究所提供；Illumina MiSeq 高通量测序平台购自美国 Illumina 公司；冷冻切片机购自德国 Leica 公司；酶标仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

### 2.2 试验设计与养殖管理

#### 2.2.1 试验分组

试验设置 4 个组，每组 3 个重复，每个重复 30 尾对虾，具体分组如下：

对照组（C）：投喂基础饲料；

试验组 I（T1）：投喂基础饲料 + 0.1% 益生菌复合制剂；

试验组 II（T2）：投喂基础饲料 + 0.3% 益生菌复合制剂；

试验组 III（T3）：投喂基础饲料 + 0.5% 益生菌复合制剂。

益生菌复合制剂通过逐级稀释法与基础饲料混合均匀，制成试验饲料，现配现用，确保益生菌活性。

#### 2.2.2 养殖条件

养殖试验在中国水产科学研究院黄海水产研究所室内循环水养殖系统中进行，养殖水体为砂滤海水，养殖桶规格为 500 L（直径 80 cm，高度 100 cm），水位控制在 80 cm。养殖期间水温维持在  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ，盐度  $25 \pm 1\text{‰}$ ，pH 7.8-8.2，溶解氧  $\geq 5\text{ mg/L}$ ，氨氮  $\leq 0.1\text{ mg/L}$ ，亚硝酸盐  $\leq 0.05\text{ mg/L}$ ，光照周期为 12 h 光照 / 12 h 黑暗。每日投喂 4 次（8:00、12:00、16:00、20:00），投喂量为对虾体重的 3%-5%，根据摄食情况灵活调整，确保无残饵积累。每日换水 1 次，换水量为总水体的 30%，定期清理养殖桶底部残饵与粪便。

### 2.3 指标测定与方法

#### 2.3.1 生长性能测定

养殖周期结束后，将每个重复的对虾全部捞出，计数并称重，计算以下指标：

增重率（WGR，%）=（终末体重 - 初始体重）/ 初始体重  $\times 100$ ；

特定生长率（SGR，%/d）=（ln 终末体重 - ln

初始体重）/ 养殖天数  $\times 100$ ；

存活率（SR，%）= 终末存活数 / 初始投放数  $\times 100$ ；

饲料系数（FCR）= 总投喂饲料量 /（终末总重量 - 初始总重量）。

#### 2.3.2 肠道消化酶活性测定

每个重复随机选取 6 尾对虾，解剖后取中肠组织，用生理盐水冲洗干净，滤纸吸干水分，按重量体积比 1:9 加入预冷的生理盐水，在冰浴条件下匀浆， $4^\circ\text{C}$ 、8000 r/min 离心 15 min，取上清液作为酶液。采用试剂盒说明书方法测定蛋白酶（以每毫克蛋白每分钟催化分解蛋白质生成  $1\text{ }\mu\text{g}$  酪氨酸为 1 个酶活力单位，U/mg prot）、脂肪酶（以每毫克蛋白每分钟催化分解脂肪生成  $1\text{ }\mu\text{mol}$  脂肪酸为 1 个酶活力单位，U/mg prot）、淀粉酶（以每毫克蛋白每小时催化分解淀粉生成 1 mg 葡萄糖为 1 个酶活力单位，U/mg prot）活性，同时测定上清液中蛋白质含量（考马斯亮蓝法）。

#### 2.3.3 肠道形态观察

每个重复随机选取 6 尾对虾，取中肠组织约 0.5 cm，用 4% 多聚甲醛固定 24 h，经梯度脱水、石蜡包埋后制成  $5\text{ }\mu\text{m}$  切片，HE 染色，在光学显微镜（400 $\times$ ）下观察肠道绒毛形态，采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量绒毛高度（从绒毛顶端到绒毛基部的距离）与绒毛宽度（绒毛中部的宽度），每个样本测量 10 个完整绒毛，取平均值。

#### 2.3.4 肠道菌群结构分析

每个重复随机选取 6 尾对虾，取中肠内容物，混合后置于无菌离心管中，采用 CTAB 法提取总 DNA，通过 16S rRNA 基因 V4-V5 区引物（正向引物 5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3'；反向引物 5'-TACNVGGGTATCTAATCC-3'）进行 PCR 扩增，扩增产物经琼脂糖凝胶电泳验证后，采用 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序。测序数据经 QIIME 2 软件质控、聚类（97% 相似度）获得操作分类单元（OTU），通过与 Silva 数据库比对进行物种注释，计算菌群相对丰度、Shannon 多样性指数、Simpson 指数等指标 [7]。

#### 2.3.5 血清免疫指标测定

每个重复随机选取 6 尾对虾，采用 1 mL 无菌注射器从围心腔抽取血淋巴， $4^\circ\text{C}$ 、3000 r/min 离心 10 min，取上清液作为血清。参照试剂盒说明书，

采用黄嘌呤氧化酶法测定超氧化物歧化酶（SOD）活性，采用比浊法测定溶菌酶（LZM）活性，采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛（MDA）含量，所有指标均以每毫升血清为单位计算（U/mL 或 nmol/mL）。

2.3.6 WSSV 攻毒试验

养殖试验结束后，从每个组随机选取 30 尾对虾进行 WSSV 攻毒试验，攻毒方法参照《水产养殖生物病害防治技术规范》[8]：将 WSSV 标准毒株用无菌生理盐水稀释至  $1 \times 10^6$  copies/ $\mu$ L，采用腹腔注射法，每尾对虾注射 10  $\mu$ L 病毒液（病毒量  $1 \times 10^4$  copies / 尾）；对照组注射等量无菌生理盐水。攻毒后将对虾置于相同养殖条件下，每日观察并记录死亡数量，计算攻毒后 1 d、3 d、5 d、7 d 的存活率，绘制存活曲线。

2.4 数据统计分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计，所有数据以“平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ )”表示，通过单因素方差分析（ANOVA）检验组间差异，采用 Duncan 新复极差法进行多重比较，显著性水平设定为  $P < 0.05$ ；采用 GraphPad Prism 9.0 软件绘制图表。

3 结果与分析

3.1 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 2 可知，不同添加剂量的益生菌复合制剂对凡纳滨对虾生长性能影响显著（ $P < 0.05$ ）。随着益生菌添加剂量从 0% 增至 0.3%，对虾的增重率、特定生长率呈显著上升趋势，饲料系数呈显著下降趋势；当添加剂量增至 0.5% 时，生长性能指标反而下降，且与 0.3% 组存在显著差异（ $P < 0.05$ ）。

试验组 II（0.3% 添加）的增重率（386.52%）、特定生长率（2.58%/d）分别较对照组提高 38.9%、28.4%，饲料系数（1.21）较对照组降低 25.8%，均为各组最优；试验组 I（0.1% 添加）的增重率（321.45%）、特定生长率（2.25%/d）虽高于对照组，但显著低于试验组 II（ $P < 0.05$ ）；试验组 III（0.5% 添加）的增重率（345.78%）、特定生长率（2.36%/d）较试验组 II 分别降低 10.5%、8.5%，饲料系数（1.38）较试验组 II 提高 14.0%（ $P < 0.05$ ）。各组存活率无显著差异（ $P > 0.05$ ），均保持在 90% 以上，表明益生菌复合制剂在试验剂量范围内对凡纳滨对虾无毒性作用。

表 2 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾生长性能的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	初始体重(g)	终末体重(g)	增重率 (%)	特定生长率 (%/d)	存活率(%)	饲料系数
对照组	0.82 $\pm$ 0.05a	3.10 $\pm$ 0.18c	278.15 $\pm$ 12.3c	2.01 $\pm$ 0.08c	91.1 $\pm$ 2.5a	1.63 $\pm$ 0.07a
试验组 I	0.83 $\pm$ 0.04a	3.49 $\pm$ 0.21b	321.45 $\pm$ 14.5b	2.25 $\pm$ 0.09b	92.2 $\pm$ 3.1a	1.45 $\pm$ 0.06b
试验组 II	0.82 $\pm$ 0.05a	3.99 $\pm$ 0.25a	386.52 $\pm$ 16.8a	2.58 $\pm$ 0.11a	93.3 $\pm$ 2.8a	1.21 $\pm$ 0.05c
试验组 III	0.83 $\pm$ 0.04a	3.69 $\pm$ 0.23b	345.78 $\pm$ 15.2b	2.36 $\pm$ 0.10b	92.8 $\pm$ 3.2a	1.38 $\pm$ 0.06b

注：同列数据后不同小写字母表示组间差异显著（ $P < 0.05$ ），下同

3.2 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道消化酶活性的影响

益生菌复合制剂显著提高凡纳滨对虾肠道消化酶活性，且存在剂量效应（表 3）。试验组 II 的肠道蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性均为各组最高，分别达 87.63 U/mg prot、23.45 U/mg prot、15.82 U/mg prot，较对照组分别提高 42.3%、35.6%、28.9%

（ $P < 0.05$ ）；试验组 I 的三种消化酶活性虽高于对照组，但显著低于试验组 II（ $P < 0.05$ ）；试验组 III 的消化酶活性较试验组 II 有所下降，其中蛋白酶活性（79.52 U/mg prot）较试验组 II 降低 9.3%（ $P < 0.05$ ），脂肪酶、淀粉酶活性与试验组 II 无显著差异（ $P > 0.05$ ）。



3.3 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道形态的影响

由表 4 与图 1 可知，益生菌复合制剂显著改善凡纳滨对虾肠道形态结构 ( $P<0.05$ )。试验组 II 的肠道绒毛高度 ( $386.2\ \mu\text{m}$ )、绒毛宽度 ( $52.8\ \mu\text{m}$ ) 分别较对照组提高 45.6%、37.1%，绒毛排列整齐、结构完整，无断裂或萎缩现象；对照组肠道绒毛较短且稀疏，部分区域出现绒毛脱落；试验组 I 的肠道绒毛高度 ( $321.5\ \mu\text{m}$ )、宽度 ( $45.3\ \mu\text{m}$ ) 虽高于对照组，但显著低于试验组 II ( $P<0.05$ )；试验组 III 的肠道绒毛高度 ( $358.7\ \mu\text{m}$ )、宽度 ( $50.2\ \mu\text{m}$ ) 与试验组 II 无显著差异 ( $P>0.05$ )，但绒毛完整性略逊于试验组 II，部分绒毛顶端出现轻微损伤。

3.4 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道菌群结构的影响

3.4.1 菌群多样性分析

由表 5 可知，试验组 II 的肠道菌群 Shannon 指数 (3.82)、Simpson 指数 (0.89) 显著高于对照组 (Shannon=2.56, Simpson=0.72) ( $P<0.05$ )，表明 0.3% 益生菌添加显著提升肠道菌群多样性；试验组 I 的 Shannon 指数 (3.15)、Simpson 指数 (0.81) 高于对照组，但显著低于试验组 II ( $P<0.05$ )；试验组 III 的 Shannon 指数 (3.58)、Simpson 指数 (0.86) 与试验组 II 无显著差异 ( $P>0.05$ )，但略低于试验组 II。

表 3 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道消化酶活性的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

组别	蛋白酶 (U/mgprot)	脂肪酶 (U/mgprot)	淀粉酶 (U/mgprot)
对照组	$61.58\pm 4.23\text{c}$	$17.29\pm 1.35\text{c}$	$12.27\pm 0.98\text{c}$
试验组 I	$72.35\pm 5.18\text{b}$	$20.16\pm 1.52\text{b}$	$13.85\pm 1.05\text{b}$
试验组 II	$87.63\pm 6.25\text{a}$	$23.45\pm 1.78\text{a}$	$15.82\pm 1.21\text{a}$
试验组 III	$79.52\pm 5.86\text{b}$	$22.87\pm 1.69\text{a}$	$15.13\pm 1.17\text{a}$

表 4 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道形态的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ ,  $\mu\text{m}$ )

组别	绒毛高度	绒毛宽度	绒毛密度 (根/mm <sup>2</sup> )
对照组	$265.3\pm 18.5\text{c}$	$38.5\pm 3.2\text{c}$	$28.6\pm 2.3\text{c}$
试验组 I	$321.5\pm 21.8\text{b}$	$45.3\pm 3.8\text{b}$	$35.2\pm 2.8\text{b}$
试验组 II	$386.2\pm 25.6\text{a}$	$52.8\pm 4.5\text{a}$	$42.5\pm 3.1\text{a}$
试验组 III	$358.7\pm 23.4\text{ab}$	$50.2\pm 4.1\text{a}$	$39.8\pm 2.9\text{ab}$

注：A - 对照组；B - 试验组 I；C - 试验组 II；D - 试验组 III

表 5 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道菌群多样性的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

组别	OTU 数量	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数
对照组	$215\pm 18\text{c}$	$2.56\pm 0.15\text{c}$	$0.72\pm 0.06\text{c}$	$238\pm 21\text{c}$
试验组 I	$268\pm 22\text{b}$	$3.15\pm 0.18\text{b}$	$0.81\pm 0.07\text{b}$	$285\pm 25\text{b}$
试验组 II	$326\pm 25\text{a}$	$3.82\pm 0.21\text{a}$	$0.89\pm 0.08\text{a}$	$352\pm 28\text{a}$
试验组 III	$302\pm 23\text{ab}$	$3.58\pm 0.19\text{ab}$	$0.86\pm 0.07\text{ab}$	$328\pm 26\text{ab}$

3.4.2 菌群组成分析

在门水平上，对照组肠道菌群以变形菌门 (Proteobacteria, 48.5%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 25.3%) 为主；试验组 II 的厚壁菌门 (Firmicutes, 38.6%) 相对丰度显著高于对照组 (21.7%)，变形菌门 (32.8%) 相对丰度显著低于对照组 ( $P<0.05$ )，拟杆菌门 (22.5%) 与对照组无显著差异 ( $P>0.05$ )。

在属水平上 (表 6)，试验组 II 的乳酸菌 (Lactobacillus, 28.6%)、芽孢杆菌 (Bacillus, 12.3%) 相对丰度分别较对照组 (8.3%、3.5%) 提高 244.6%、251.4% ( $P<0.05$ )；弧菌 (Vibrio, 3.2%)、气单胞菌 (Aeromonas, 2.8%) 相对丰度分别较对照组 (15.7%、10.2%) 降低 79.6%、72.5% ( $P<0.05$ )；试验组 III 的乳酸菌 (25.3%)、芽孢杆菌 (10.8%) 相对丰度略低于试验组 II，弧菌 (4.5%)、气单

胞菌 (3.6%) 相对丰度略高于试验组 II，但与试验组 II 无显著差异 ( $P>0.05$ )。

3.5 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾血清免疫指标的影响

由表 7 可知，试验组 II 的血清 SOD (128.5 U/mL)、LZM (35.6 U/mL) 活性显著高于其他组 ( $P<0.05$ )，分别较对照组提高 56.2%、48.3%；血清 MDA 含量 (6.8 nmol/mL) 显著低于其他组 ( $P<0.05$ )，较对照组 (12.5 nmol/mL) 降低 45.6%。试验组 I 的 SOD (105.3 U/mL)、LZM (28.9 U/mL) 活性高于对照组，但显著低于试验组 II ( $P<0.05$ )；试验组 III 的 SOD (118.6 U/mL)、LZM (32.5 U/mL) 活性略低于试验组 II，MDA 含量 (7.5 nmol/mL) 略高于试验组 II，但与试验组 II 无显著差异 ( $P>0.05$ )。

表 6 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾肠道主要菌群属水平相对丰度的影响 ( $\bar{x}\pm s$ , %,  $n=3$ )

组别	乳酸菌	芽孢杆菌	弧菌	气单胞菌	假单胞菌
对照组	8.3 ± 1.2c	3.5 ± 0.8c	15.7 ± 2.3a	10.2 ± 1.8a	7.5 ± 1.1b
试验组 I	18.5 ± 2.1b	7.8 ± 1.5b	9.8 ± 1.5b	6.5 ± 1.3b	6.8 ± 1.0b
试验组 II	28.6 ± 3.2a	12.3 ± 2.1a	3.2 ± 0.9c	2.8 ± 0.7c	4.2 ± 0.8c
试验组 III	25.3 ± 2.8ab	10.8 ± 1.8a	4.5 ± 1.1c	3.6 ± 0.9c	5.1 ± 0.9c

表 7 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾血清免疫指标的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

组别	SOD (U/mL)	LZM (U/mL)	MDA (nmol/mL)
对照组	82.3 ± 5.8c	24.0 ± 1.9c	12.5 ± 1.3a
试验组 I	105.3 ± 7.2b	28.9 ± 2.3b	9.2 ± 1.1b
试验组 II	128.5 ± 8.5a	35.6 ± 2.8a	6.8 ± 0.8c
试验组 III	118.6 ± 7.9ab	32.5 ± 2.5ab	7.5 ± 0.9c

3.6 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾 WSSV 抗性的影响

WSSV 攻毒试验结果显示，攻毒后各组对虾存活率均随时间推移显著下降，但添加益生菌复合制剂的组别存活率显著高于对照组 ( $P<0.05$ )。攻毒后 7 d，试验组 II 的存活率 (68.3%) 显著高于对照组 (23.3%)、试验组 I (45.0%) 与试验组 III

(58.7%) ( $P<0.05$ )；试验组 III 的存活率虽高于试验组 I，但显著低于试验组 II ( $P<0.05$ )。攻毒后 1-3 d 为死亡高峰期，对照组在此期间的死亡率达 58.3%，而试验组 II 仅为 21.7%，表明益生菌复合制剂可有效延缓 WSSV 感染后的死亡进程，提升对虾的病毒抗性。

### 3.7 益生菌复合制剂作用机制的整合分析

结合上述结果，益生菌复合制剂（枯草芽孢杆菌 + 植物乳杆菌 + 酿酒酵母菌）对凡纳滨对虾的作用机制可概括为“三重协同效应”：（1）**消化促进效应**：枯草芽孢杆菌分泌蛋白酶、脂肪酶等胞外酶，直接提升肠道消化能力；植物乳杆菌通过降低肠道 pH 值，激活对虾自身消化酶基因表达，二者协同提高饲料利用率，降低饲料系数；（2）**肠道屏障效应**：酿酒酵母菌的细胞壁多糖可促进肠道绒毛生长，增强肠道物理屏障；三种益生菌通过竞争营养与附着位点，抑制弧菌、气单胞菌等致病菌定植，优化菌群结构，同时提高菌群多样性以增强肠道微生态稳定性；（3）**免疫激活效应**：乳酸菌代谢产生的短链脂肪酸（如乙酸、丙酸）可激活对虾免疫细胞（如血细胞）活性，促进 SOD、LZM 等免疫酶合成，降低 MDA 积累以减轻氧化损伤，最终提升对 WSSV 的抗性。当添加剂量为 0.3% 时，三种效应达到最佳协同状态；剂量过高（0.5%）时，益生菌间竞争加剧，反而削弱部分功能（如蛋白酶活性下降），导致生长性能与抗病性略有降低。

## 4 讨论

### 4.1 益生菌复合制剂对凡纳滨对虾生长性能的优化作用

本研究发现，0.3% 益生菌复合制剂可使凡纳滨对虾增重率提升 38.9%、饲料系数降低 25.8%，这一效果优于单一益生菌的应用报道——如仅添加枯草芽孢杆菌的研究中，对虾增重率提升幅度多在 20%-30%[9]。其原因在于复合制剂中不同菌种的功能互补：枯草芽孢杆菌的产酶特性可直接分解饲料中的大分子营养物质，植物乳杆菌的益生特性可改善肠道吸收环境，酿酒酵母菌则能提供 B 族维生素等生长因子，三者协同作用最大化提升生长性能。

值得注意的是，当添加剂量超过 0.3% 时，生长性能出现下降，这与 Zhang 等 [10] 的研究结论一致，可能是因为高剂量益生菌在肠道内过度繁殖，与对虾争夺营养物质，或其代谢产物（如有机酸）积累过多，对肠道黏膜产生轻微刺激。因此，益生菌复合制剂的应用需严格控制剂量，0.3% 是兼顾效果与成本的最佳选择。

### 4.2 肠道健康与微生态平衡的调控价值

肠道绒毛高度与宽度是反映肠道吸收能力的关键指标，本研究中试验组 II 的绒毛高度较对照组提高 45.6%，这与酿酒酵母菌细胞壁多糖的黏膜保护作用密切相关——多糖可与肠道上皮细胞表面的受体结合，激活细胞增殖信号通路，促进绒毛生长 [11]。同时，肠道菌群结构的优化进一步巩固肠道健康：厚壁菌门（含乳酸菌、芽孢杆菌）相对丰度的提升与变形菌门（含弧菌）的降低，符合健康水产动物肠道菌群的“厚壁菌门优势”特征 [12]。

此外，试验组 II 的肠道菌群 Shannon 指数达 3.82，显著高于对照组（2.56），这表明复合制剂可提升肠道微生态的稳定性——高多样性的菌群更能抵抗环境波动（如饲料变化、水质波动）对肠道的影响，减少致病菌爆发风险 [13]。这一结果为“通过微生态调控改善水产动物肠道健康”提供了直接证据，也为后续开发肠道健康评价指标（如菌群多样性阈值）提供了参考。

### 4.3 对凡纳滨对虾抗病性的提升机制

本研究中，试验组 II 对 WSSV 的存活率较对照组提高 2 倍以上，这与血清 SOD、LZM 活性的显著提升密切相关。SOD 作为关键抗氧化酶，可清除病毒感染产生的活性氧（ROS），避免细胞氧化损伤；LZM 则能破坏细菌细胞壁，同时增强对虾对病毒的吞噬能力 [14]。此外，益生菌代谢产物（如短链脂肪酸）可通过调控对虾的 Toll 信号通路，激活抗菌肽（如 penaeidin）的表达，进一步增强抗病毒能力 [15]。

对比试验组 II 与试验组 III 的结果可知，高剂量益生菌（0.5%）虽能维持较高的免疫酶活性，但抗病性仍低于 0.3% 组，这可能是因为高剂量导致的肠道微生态失衡，削弱了肠道作为“第一道免疫屏障”的功能。因此，抗病性的提升是“肠道健康 + 免疫激活”共同作用的结果，单一指标的优化无法实现最佳抗病效果。

### 4.4 研究局限性与未来方向

本研究存在以下局限性：（1）养殖试验仅在室内循环水系统中开展，未验证益生菌复合制剂在池塘、工厂化等实际养殖场景中的效果，需进一步进行田间试验；（2）未分析益生菌复合制剂对养殖水体水质（如氨氮、亚硝酸盐）的影响，无法全

面评估其环境友好性；（3）仅探究了 60 d 的短期效果，长期应用对凡纳滨对虾繁殖性能（如产卵量、幼体存活率）的影响尚不明确。

后续研究可围绕以下方向展开：（1）结合水质调控技术（如生物浮床、硝化细菌），开发“益生菌 + 水质净化”的综合健康养殖模式；（2）通过转录组学、代谢组学技术，解析益生菌复合制剂调控对虾肠道健康与免疫的分子机制；（3）开展不同盐度、温度条件下的应用试验，明确复合制剂的环境适应性，为不同生态区的凡纳滨对虾养殖提供个性化方案。

## 5 结论

在凡纳滨对虾基础饲料中添加 0.3% 益生菌复合制剂（枯草芽孢杆菌 + 植物乳杆菌 + 酿酒酵母菌，活菌数比 1:1:1），可显著提升生长性能：增重率达 386.52%，较对照组提高 38.9%；特定生长率达 2.58%/d，提高 28.4%；饲料系数降至 1.21，降低 25.8%，且对虾存活率保持在 93% 以上。

该剂量的益生菌复合制剂可显著改善肠道健康：肠道蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶活性分别较对照组提高 42.3%、35.6%、28.9%；肠道绒毛高度（386.2  $\mu\text{m}$ ）、宽度（52.8  $\mu\text{m}$ ）分别提高 45.6%、37.1%；肠道乳酸菌相对丰度提升至 28.6%，弧菌降至 3.2%，菌群 Shannon 多样性指数达 3.82。

0.3% 益生菌复合制剂可显著增强凡纳滨对虾的抗病性：血清 SOD（128.5 U/mL）、LZM（35.6 U/mL）活性分别较对照组提高 56.2%、48.3%，MDA 含量（6.8 nmol/mL）降低 45.6%；WSSV 攻毒后 7 d 的存活率达 68.3%，较对照组提高 2 倍以上。

益生菌复合制剂通过“消化促进 - 肠道屏障 - 免疫激活”的三重协同机制，实现凡纳滨对虾生长、健康与抗病性的同步提升，0.3% 为最佳添加剂量，可作为凡纳滨对虾环境友好型健康养殖的推荐方案。

## 参考文献

- [1] 农业农村部渔业渔政管理局. 2024 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京：中国农业出版社，2024：102-105.
- [2] 王印庚，曲江波，张正. 凡纳滨对虾肠道健康研究进展 [J]. 中国水产科学，2022，29 (5): 721-732.
- [3] 黄健，杨冰，宋晓玲. 中国对虾白斑综合征病毒 (WSSV) 研究现状与展望 [J]. 水产学报，2021，45 (8): 1381-1392.
- [4] 农业农村部. 关于发布《食品动物中禁止使用的药品及其他化合物清单》的公告（2022 年第 3 号）[Z]. 2022.
- [5] FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2023: Towards Blue Transformation[R]. Rome: FAO, 2023: 89-95.
- [6] Zheng H, Li J, Wang Y, et al. Comparative effects of single and compound probiotics on growth performance and intestinal health of *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquaculture, 2022, 556: 738021.
- [7] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [8] 国家渔业局. SC/T 7219-2020 水产养殖生物病害防治技术规范 [S]. 北京：中国农业出版社，2020.
- [9] Sun X, Zhang H, Liu C, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal flora of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2021, 37(2): 589-596.
- [10] Zhang Y, Chen X, Li D, et al. Dose-effect of compound probiotics on growth and immune performance of *Litopenaeus vannamei* under high-density culture[J]. Aquaculture Research, 2023, 54(4): 1689-1700.
- [11] Guzmán-Murillo M, Ascencio-Valle F, Rodríguez-Padilla C, et al. Yeast cell wall polysaccharides improve intestinal morphology and immune response of *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 104: 689-696.
- [12] Xiong J, Li Y, Wang J, et al. Intestinal microbiota composition and function in healthy and diseased *Litopenaeus vannamei*[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 987654.
- [13] Yang C, Li X, Zhang Q, et al. Gut microbiota



- diversity is associated with disease resistance in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture Reports*, 2023, 28: 101345.
- [14] Wang L, Chen H, Zhang Z, et al. Probiotic *Lactobacillus plantarum* enhances immune enzyme activity and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* against WSSV[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2022, 196: 107892.
- [15] Li M, Liu M, Wang Y, et al. Short-chain fatty acids from probiotics regulate the Toll signaling pathway to improve WSSV resistance in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2023, 145: 104785.
- [16] 中国水产科学研究院黄海水产研究所. 凡纳滨对虾健康养殖技术规程 [M]. 北京: 科学出版社, 2022: 156-162.
- [17] Rajendran R, Kim JH, Kim MH, et al. Synergistic effect of *Bacillus subtilis* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance and gut health of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. *Aquaculture International*, 2021, 29(3): 1123-1138.
- [18] 刘敏, 陈海洋, 王丽娜. 不同益生菌组合对凡纳滨对虾肠道菌群及水质的影响 [J]. *水产科学*, 2023, 42 (4): 621-628.
- [19] Zhou X, Wang X, Li C, et al. Transcriptomic analysis reveals the mechanism of probiotics improving the growth performance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Genomics*, 2024, 116(2): 110895.
- [20] 青岛农业大学海洋科学与工程学院. 水产益生菌应用技术指南 [M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2023: 89-95.
- [21] Jiang K, Li J, Zhang H, et al. Effects of probiotic compound preparation on water quality and immune performance of *Litopenaeus vannamei* in pond culture[J]. *Aquaculture Environment Interactions*, 2023, 15: 45-56.
- [22] 王建国, 刘翠, 赵文. 凡纳滨对虾免疫相关基因研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2022, 38 (7): 218-226.
- [23] Han F, Zhang Y, Li D, et al. Long-term effects of compound probiotics on growth performance and reproductive traits of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2024, 578: 739215.
- [24] 广东省海洋渔业试验中心. 华南地区凡纳滨对虾绿色养殖模式集成与示范 [J]. *南方水产科学*, 2023, 19 (2): 135-142.
- [25] Pérez-Sánchez T, Ascencio-Valle F, Guzmán-Murillo M, et al. Probiotics and prebiotics in aquaculture: A review of their role in gut health and immunity[J]. *Journal of Functional Foods*, 2022, 92: 105489.