

文章编号: 1674 - 5566(2012)02 - 0233 - 08

## 低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道形态、菌群组成和抗嗜水气单胞菌感染的影响

张荣斌<sup>1,2,3,4</sup>, 曹俊明<sup>1,3,4</sup>, 黄燕华<sup>1,3,4</sup>, 王国霞<sup>1,3,4</sup>, 陈晓瑛<sup>1,3,4</sup>, 严晶<sup>1,2,3,4</sup>, 周婷婷<sup>1,2,3,4</sup>, 孙智武<sup>1,2,3,4</sup>

(1. 广东省农业科学院畜牧研究所, 广东 广州 510640; 2. 华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430070; 3. 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东 广州 510640; 4. 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘要:** 选取 960 尾初始体重为 (5.09 ± 0.12) g 的奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*), 随机分为 6 组, 分别投喂 1 种对照饲料和 5 种添加低聚木糖的试验饲料, 添加量分别为 0、200、400、600、800 和 1 000 mg/kg 饲料, 记作 G0、G200、G400、G600、G800 和 G1000。饲养期为 8 周, 每两周取样测定肠道双歧杆菌 (*Bifidobacterium*)、乳酸杆菌 (*Lactobacillus*) 和大肠杆菌 (*E. coli*) 数量, 4 周和 8 周时取肠道样测定肠道形态。试验结束时注射嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 进行感染试验, 计算 96 h 内的存活率。结果显示, 4 周和 8 周时, 各添加组罗非鱼中肠皱襞面积和肌层厚度均显著高于对照组。饲料中添加低聚木糖对罗非鱼肠道双歧杆菌和乳酸杆菌数量有显著影响, 与对照组相比, 双歧杆菌数量在 4 周时 G600 和 G800 组显著增加 ( $P < 0.05$ ), 在 6 周时 G400 和 G600 显著增加 ( $P < 0.05$ ); 8 周时, G800 组罗非鱼肠道乳酸杆菌较对照组有显著增加 ( $P < 0.05$ ); 各添加组肠道大肠杆菌数量随养殖时间延长呈下降趋势, 但各组之间在各时间段的差异没有达到显著水平 ( $P > 0.05$ )。注射嗜水气单胞菌 96 h 后, 对照组的存活率为 26.7%, 低聚木糖添加组为 78.3% ~ 95.0%。结果表明, 饲料中添加低聚木糖能改善肠道形态结构, 显著提高奥尼罗非鱼肠道双歧杆菌和乳酸杆菌数量, 有降低大肠杆菌数量的趋势, 并提高罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染的能力, 添加 600 mg/kg 左右最合适。

**研究亮点:** 首次在饲料中添加低聚木糖饲喂奥尼罗非鱼幼鱼, 动态取样, 采用细菌培养方法, 测定低聚木糖对奥尼罗非鱼在养殖期间不同时段肠道菌群的影响; 采用组织切片技术, 观察低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道皱襞面积和肌层厚度的影响; 并采用嗜水气单胞菌进行感染试验, 了解低聚木糖对奥尼罗非鱼抗病能力的影响。

**关键词:** 低聚木糖; 奥尼罗非鱼; 肠道组织; 肠道菌群; 嗜水气单胞菌

**中图分类号:** S 963.1

**文献标志码:** A

罗非鱼是我国华南地区的主要养殖品种。近年来, 高密度养殖导致了很多环境问题, 也对鱼体自身健康产生了不良影响<sup>[1-2]</sup>, 诸如肠炎、出血及鳃腐烂病等流行病, 对罗非鱼产业造成了很大的损失<sup>[3]</sup>。因此, 通过营养调控方式产生一种预防机制来控制疾病成为新的趋势<sup>[4-5]</sup>。

低聚木糖 (xylooligosaccharides, XOS) 是一种不能被动物消化酶分解, 可以选择性的刺激肠道菌群特别是双歧杆菌增殖的直链糖<sup>[6-7]</sup>。近年

来, 对人<sup>[8-9]</sup>和小鼠<sup>[10-12]</sup>的研究表明, 低聚木糖能够显著增加肠道双歧杆菌数量和粪便水分, 有效改善肠道健康, 促进小鼠矿物质吸收。对畜禽动物的研究表明, 低聚木糖能够提高消化吸收能力和生产性能<sup>[13-16]</sup>。在水产养殖中, 有研究结果表明, 低聚木糖能够促进异育银鲫、凡纳滨对虾、草鱼和鲫鱼的生长性能, 改善动物肠道健康<sup>[17-22]</sup>。目前, 有关低聚木糖对罗非鱼肠道形态和菌群组成的研究尚未见报道。本试验旨在

收稿日期: 2011-10-05

修回日期: 2011-12-11

基金项目: 广东省省院合作项目(2009B091300136); 广东省基金团队项目(10351064001000000)

作者简介: 张荣斌(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物营养与免疫。E-mail: zhangrongbin2007@163.com

通讯作者: 曹俊明, E-mail: junmcao@163.com

研究饲料中添加低聚木糖对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 幼鱼肠道形态、菌群组成和抗嗜水气单胞菌感染的影响,探讨低聚木糖在罗非鱼的营养生理作用,为低聚木糖在水产配合饲料中的应用提供相应的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验饲料

以鱼粉、豆粕、菜粕、次粉和豆油等为原料,配制基础饲料,其配方及营养水平详见表 1。在基础饲料(作为对照饲料)中分别添加 200、400、600、800 和 1 000 mg/kg 饲料低聚木糖(购自山东龙力生物有限公司,纯度 ≥95%) 配制试验饲料。6 种饲料记作 G0、G200、G400、G600、G800 和 G1000。低聚木糖以等量替代脱脂统糠的方式,先溶于水,再加入到饲料原料混合物中。饲料原料均过 60 目筛,混合均匀后用 SLX-80 双螺杆挤压机制成直径 2.5 mm 颗粒饲料,在 55 °C 下烘干,冷却后放入密封袋中于 -20 °C 冰箱中保存备用。

表 1 基础饲料组成及营养成分(风干基础)

Tab. 1 Ingredient and nutritional composition of the basal diet (air-dry basis) %

原料	含量
鱼粉	4.00
豆粕	30.00
菜籽粕	28.00
磷脂	2.00
次粉	23.00
豆油	2.00
脱脂统糠	7.07
磷酸二氢钙	1.50
沸石粉	1.50
维生素预混料	0.20
矿物质预混料	0.50
VC 磷酸酯	0.03
氯化胆碱	0.20
合计	100.00
营养水平	
粗蛋白质	28.3
灰分	9.5
粗脂肪	7.9
水分	11.9

注:每千克维生素预混料中含有:VA 3 200 000 IU, VD<sub>3</sub> 1 600 000 IU, VE 16 g, VK 4 g, VB<sub>1</sub> 4 g, VB<sub>2</sub> 8 g, VB<sub>6</sub> 4.8 g, 烟酸 28 g, 泛酸钙 16 g, 叶酸 1.28 g, 肌醇 40 g, VB<sub>12</sub> 16 mg, 生物素 64 mg, 水分 ≤10%; 每千克矿物质预混料中含有:Ca 230 g, K 36 g, Mg 9 g, Fe 10 g, Zn 8 g, Mn 1.9 g, Cu 1.5 g, Co 250 mg, I 32mg, Se 50 mg, 水分 ≤10%。

### 1.2 饲养管理

养殖试验在广东省农业科学院畜牧研究所

水产研究中心室内循环水养殖系统中进行。养殖水源为经过活性炭、珊瑚石过滤后的自来水,玻璃纤维桶容积为 350 L(直径 80 cm,高 70 cm,水体容积 300 L),流水速率 5 L/min,养殖过程中不断充氧曝气,溶氧 ≥5 mg/L, pH 为 7.8 ~ 8.2, 氨氮 ≤0.02 mg/L、亚硝酸盐 ≤0.2 mg/L, 养殖水温为 (28 ± 2) °C。试验时选取平均体重 (5.09 ± 0.12) g 罗非鱼幼鱼 960 尾,随机分成 6 组,分别投喂 6 种饲料,每组 4 个重复,每个重复 40 尾鱼。每天分别在 9:00 和 17:00 投喂饲料,投饲率为 6% ~ 8%。每 2 周称重一次,并相应调节投喂量,饲养期为 8 周。每天观察鱼体健康状况,记录死亡情况。

### 1.3 样品采集与测定

#### 1.3.1 肠道菌群测定

取样:在试验开始第 2 周、4 周、6 周和 8 周,每缸随机取 5 尾鱼采样。停食 24 h 后,用 75% 的乙醇对鱼体消毒,打开腹腔,用乙醇擦拭肠道外部,无菌生理盐水冲洗 2 ~ 3 次,用剪刀剪下肠道放入无菌离心管中。

稀释:超净工作台上称取肠道 0.5 g 左右,按 1:9(重量/体积)加入到 4.5 mL 预先配好的无菌生理盐水,冰浴中 200 r/min 匀浆制成浓度为 10<sup>-1</sup> 原液,吸取上清液 0.5 mL 于盛有 4.5 mL 的稀释液的试管中再次进行 10 倍稀释,并依次进行倍比稀释。

接种与培养:双歧杆菌用 BBL 琼脂培养基培养,取合适浓度稀释液 0.1 mL 涂布接种于 BBL 琼脂培养基平皿上,置 37 °C 培养箱中培养 48 h;乳酸杆菌使用 MRS 琼脂培养基,取稀释液 100 μL 涂布接种于 MRS 琼脂培养基平皿上,置 37 °C 培养箱中培养 48 h;大肠杆菌使用山梨醇麦康凯 (SMAC) 琼脂培养基培养,取稀释液 100 μL 涂布接种于山梨醇麦康凯琼脂培养基平皿上,置 37 °C 培养箱中培养 24 h。每个稀释度每种培养基做 3 个重复。培养结束后,选取平均菌落为 30 ~ 300 的用于菌落计数。计算方法采用每克肠道菌落形成单位即 cfu/g(平均菌落 × 稀释倍数 × 10)。所用培养基均购自广东环凯生物科技有限公司。

#### 1.3.2 肠道组织切片观察

分别在第 4 周和 8 周,每缸随机取 5 尾鱼,取罗非鱼 1 ~ 2 cm 中肠,用波恩氏液固定,常规法脱

水,石蜡包埋,连续切片,用 H. E 染色,树胶封片,在光学显微镜下观察其形态和结构的变化。

### 1.3.3 抗感染试验

试验用嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)的菌种取自珠海市农科中心。菌种用营养肉汤琼脂培养基在 37 ℃ 培养箱中培养 24 h,复壮两次,用灭菌生理盐水清洗,集菌,4 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀细菌体,进行梯度稀释,确定适当攻毒浓度后,置 4 ℃ 冰箱中保存备用。养殖试验结束后,每组取 15 尾鱼进行感染试验,每尾腹腔注射嗜水气单胞菌液( $3 \times 10^7$  cfu/mL)0.4 mL,继续投喂原有饲料,记录 1 h、12 h、24 h、48 h、96 h 内鱼累积死亡情况,计算存活率和免疫保护率。公式为

$$R = (D_1 - D_2) / D_1 \times 100\% \quad (1)$$

式中: $R$  为免疫保护率(%); $D_1$  为对照组鱼的死亡率(%); $D_2$  为试验组鱼的死亡率(%)。

### 1.4 统计分析

结果用平均值  $\pm$  标准差表示。采用 SPSS 13.0 统计软件进行生物统计学分析,试验各组之

间的显著性差异采用单因素方差分析(ANOVA)和 Duncan 氏多重比较法。显著性水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 饲料中添加低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道形态结构的影响

图版 I 和图版 II 显示了第 4 周和第 8 周时各组奥尼罗非鱼肠道的石蜡切片结构。在这 2 个时间点,对照组肠道形态无明显变化,而添加低聚木糖组罗非鱼肠道形态发生明显变化,表现为肠道黏膜皱襞完整、高度较大,皱襞面积较大,黏膜上皮细胞核排列整齐,肌层变厚。其测定结果如表 2 所示。第 4 周时 G400 组和 G1000 组皱襞面积显著高于对照组( $P < 0.05$ ),G800 组和 G1000 组肌层厚度显著高于对照组( $P < 0.05$ ),其余各组之间没有显著性差异( $P > 0.05$ );第 8 周时各添加组皱襞面积均显著高于对照组( $P < 0.05$ ),各添加组肌层厚度均显著高于对照组( $P < 0.05$ ),G800 组显著高于其他各组( $P < 0.05$ )。

表 2 低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道组织的影响

Tab. 2 Effects of dietary XOS on the intestinal histology of tilapia in different time

组别	4 周		8 周	
	肌层厚度/ $\mu\text{m}$	皱襞面积/ $\mu\text{m}^2$	肌层厚度/ $\mu\text{m}$	皱襞面积/ $\mu\text{m}^2$
G0	25.64 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>	19 938.14 $\pm$ 1 669.61 <sup>a</sup>	30.58 $\pm$ 3.47 <sup>a</sup>	26 232.80 $\pm$ 4 828.60 <sup>a</sup>
G200	33.48 $\pm$ 3.58 <sup>ab</sup>	21 979.42 $\pm$ 1 457.10 <sup>ab</sup>	42.41 $\pm$ 7.72 <sup>b</sup>	33 518.87 $\pm$ 2 040.08 <sup>b</sup>
G400	33.64 $\pm$ 4.34 <sup>ab</sup>	27 090.43 $\pm$ 5 324.54 <sup>b</sup>	44.74 $\pm$ 7.59 <sup>bc</sup>	37 123.03 $\pm$ 2 001.95 <sup>b</sup>
G600	32.43 $\pm$ 6.68 <sup>ab</sup>	22 582.59 $\pm$ 1 582.16 <sup>ab</sup>	44.29 $\pm$ 3.61 <sup>b</sup>	34 900.08 $\pm$ 3 125.11 <sup>b</sup>
G800	36.44 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>	25 260.12 $\pm$ 2 986.67 <sup>ab</sup>	55.01 $\pm$ 8.95 <sup>c</sup>	35 841.05 $\pm$ 4 465.61 <sup>b</sup>
G1000	38.61 $\pm$ 7.59 <sup>b</sup>	27 241.60 $\pm$ 5 818.63 <sup>b</sup>	51.34 $\pm$ 4.01 <sup>bc</sup>	35 273.00 $\pm$ 3 236.16 <sup>b</sup>

注:同肩列不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

### 2.2 饲料中添加低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道菌群组成的影响

由表 3 可知,奥尼罗非鱼中肠双歧杆菌数量在第 2 周和第 8 周时各组之间差异不显著,在第 4 周时,G600 组和 G1000 组双歧杆菌数量显著高于对照组( $P < 0.05$ ),在第 6 周时,G400 组和 G600 组双歧杆菌数量显著高于对照组( $P < 0.05$ )。各添加组双歧杆菌数量随着饲养时间的延长呈增加趋势。饲料中添加不同水平的低聚木糖对奥尼罗非鱼中肠大肠杆菌的数量没有显著影响,各添加组与对照组在 4 个采样时期均没有显著性差异( $P > 0.05$ ),但随着饲养时间的延

长,各添加组大肠杆菌数量均有下降的趋势。在第 8 周时,G800 组乳酸杆菌数量显著高于对照组( $P < 0.05$ ),其它各组之间在第 2、4、6 周时差异不显著( $P > 0.05$ ),各添加组乳酸杆菌数量随饲养时间延长呈增加趋势。

### 2.3 饲料中添加低聚木糖对奥尼罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染能力的影响

注射嗜水气单胞菌后,在各时间段观察到,病鱼起初沉于水底,后漂浮水面,停止摄食,眼部、鳃盖和鳃丝充血,体侧及鳍基部出血,后游动缓慢,继而死亡。由表 4 可看出,在注射嗜水气单胞菌后 96 h 后,对照组存活率为 26.7%,各试

验组存活率为 78% ~ 95%, 存活率最高组为 70% 以上, 其中 G400 组最高, 为 93.2%。G400 组。添加低聚木糖各组的免疫保护率均在

表 3 低聚木糖对奥尼罗非鱼不同时间肠道双歧杆菌、大肠杆菌和乳酸杆菌数量的影响

Tab. 3 The bacterial counts of *Bifidobacterium*, *E. coli*, *Lactobacillus* in the intestinal tract of tilapia after being fed the dietary XOS in different time

	G0	G200	G400	G600	G800	G1000
双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>						
2 周	5.66 ± 0.22	5.38 ± 0.37	5.57 ± 0.53	5.70 ± 0.02	6.11 ± 0.51	5.56 ± 0.25
4 周	4.92 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.43 ± 0.18 <sup>ab</sup>	5.64 ± 0.09 <sup>ab</sup>	5.90 ± 0.63 <sup>b</sup>	5.36 ± 0.09 <sup>a</sup>	6.26 ± 0.48 <sup>b</sup>
6 周	5.51 ± 0.06 <sup>a</sup>	5.59 ± 0.37 <sup>a</sup>	6.34 ± 0.11 <sup>b</sup>	6.38 ± 0.14 <sup>b</sup>	5.81 ± 0.17 <sup>a</sup>	5.97 ± 0.09 <sup>ab</sup>
8 周	5.77 ± 0.29	6.15 ± 0.29	5.69 ± 0.23	6.39 ± 0.58	5.79 ± 0.44	6.32 ± 0.47
大肠杆菌 <i>E. coli</i>						
2 周	6.57 ± 0.14	6.50 ± 0.70	6.52 ± 0.99	6.93 ± 0.81	6.96 ± 0.80	7.14 ± 0.43
4 周	6.24 ± 0.12	6.33 ± 0.63	5.98 ± 0.54	5.68 ± 0.29	5.58 ± 0.55	6.14 ± 0.48
6 周	5.72 ± 0.52	5.25 ± 0.27	5.29 ± 0.73	5.39 ± 0.48	5.16 ± 0.47	5.61 ± 0.01
8 周	5.79 ± 0.05	5.56 ± 0.23	5.14 ± 0.74	5.10 ± 0.57	5.61 ± 0.66	5.08 ± 0.19
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>						
2 周	3.74 ± 0.59	3.80 ± 1.09	4.12 ± 0.79	3.84 ± 0.88	3.71 ± 0.48	4.23 ± 1.33
4 周	4.35 ± 0.17	4.42 ± 0.06	4.60 ± 0.63	4.67 ± 0.21	4.86 ± 0.59	4.78 ± 0.12
6 周	5.24 ± 0.57	5.42 ± 0.63	5.12 ± 0.22	5.17 ± 0.21	5.39 ± 0.70	5.33 ± 0.28
8 周	4.91 ± 0.04 <sup>a</sup>	4.82 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.39 ± 0.51 <sup>ab</sup>	5.52 ± 0.66 <sup>ab</sup>	6.12 ± 0.58 <sup>b</sup>	5.51 ± 0.35 <sup>ab</sup>

注:表中同行数据后上标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

表 4 低聚木糖对奥尼罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染能力的影响

Tab. 4 Effects of XOS on resistance against *Aeromonas hydrophila* of tilapia

组别	每缸攻毒尾数	存活率/%	免疫保护率/%
G0	15	26.7	0
G200	15	78.3	70.5
G400	15	95.0	93.2
G600	15	78.3	70.5
G800	15	81.6	75.0
G1000	15	78.3	70.5

### 3 讨论

#### 3.1 低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道组织结构的影响

肠道是机体消化、吸收营养物质的重要场所,而肠绒毛作为小肠的重要组成部分,在吸收营养物质上至关重要;其强有力、有规律的摆动对有害菌群有排斥作用<sup>[23]</sup>。同时,黏膜皱襞的高低和疏密、上皮细胞的高低、纹状缘的发达程度以及杯状细胞数量的多少等都与消化吸收能力密切相关<sup>[24]</sup>。黄玉章等<sup>[25]</sup>发现,黄芪多糖能够在一定程度上增加罗非鱼小肠绒毛的表面积,增加肌层厚度。赵玉蓉等<sup>[26]</sup>发现,壳聚糖能够显著

增加草鱼肠黏膜褶皱高度、中肠肌层厚度。刘爱君等<sup>[27]</sup>研究表明,甘露寡糖能够提高奥尼罗非鱼肠道绒毛高度、宽度和密度。本研究发现,低聚木糖能够显著增加肠道皱襞面积和肌层厚度,原因可能是低聚木糖改善了肠道微生物结构,而微生物能够调节肠道上皮细胞的基因表达,从而促进受损肠黏膜细胞的修复,使得肠道皱襞面积扩大,增强了鱼体对营养物质的消化吸收。对于这方面的作用机理有待于进一步地深入研究。

#### 3.2 低聚木糖对奥尼罗非鱼肠道菌群的影响

建立良好的肠道微生物区系,有助于提高动物生产性能及免疫能力。有研究表明,肠道微生物对肠组织的形态、代谢和功能有极大影响<sup>[28-29]</sup>,消化系统对营养物质的消化、吸收能力部分地依赖于肠道中微生物分布的种类和数量<sup>[30]</sup>。同时,肠道正常菌群又要担当机体的防御功能,维护机体的健康。正常微生物群覆盖在肠道黏膜的表面作为物理屏障可以拮抗致病菌的入侵,同时可以刺激机体产生非特异性和特异性免疫反应从而加强机体的保护作用<sup>[31]</sup>。

在动物体内,低聚木糖几乎不能被唾液、胃液、胰液和小肠黏膜酶液消化<sup>[32]</sup>,体外试验结果也表明,除青春双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和长双歧杆菌外,大多数肠道细菌对低聚木糖的利用都

很差<sup>[33]</sup>。胡毅和麦康森<sup>[20]</sup>发现,饲料中添加低聚木糖能显著降低凡纳滨对虾肠道好氧菌总数和弧菌总数,显著提高肠道双歧杆菌数。本研究表明,低聚木糖能够增加奥尼罗非鱼肠道双歧杆菌和乳酸杆菌的数量,降低大肠杆菌的数量,这表明低聚木糖能够选择性的刺激罗非鱼肠道双歧杆菌和乳酸杆菌等有益细菌的增殖,并抑制大肠杆菌等有害微生物的生长。也有研究结果表明,低聚木糖能够影响畜禽类肠道菌群,在饲料中添加适量低聚木糖能提高肉鸡和仔猪的肠道双歧杆菌和乳酸杆菌数,降低有害菌大肠杆菌数<sup>[15-16, 34-35]</sup>。

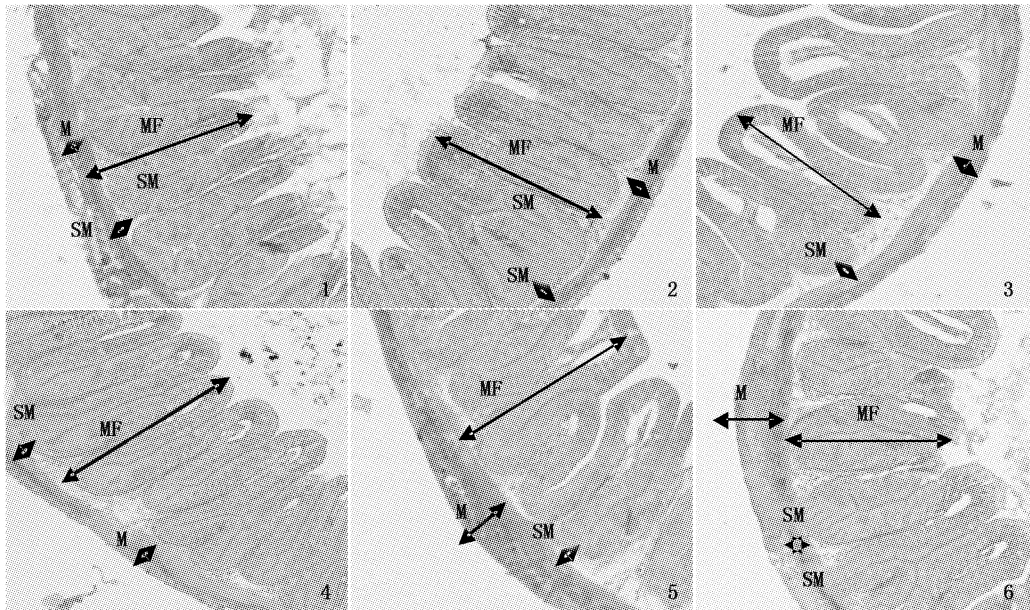
### 3.3 低聚木糖对奥尼罗非鱼抗嗜水气单胞菌能力的影响

嗜水气单胞菌是导致淡水鱼类疾病的主要病原菌之一。本试验采用嗜水气单胞菌进行攻毒试验,结果表明,96 h 时添加低聚木糖各组的存活率均高于对照组。其结果与前人一些益生元的研究结果相似。葛红云等<sup>[36]</sup>报道,用棉子糖饲喂花鲈后注射嗜水气单胞菌,发现试验组成活率均显著高于对照组。迟淑艳等<sup>[37]</sup>报道,奥尼罗非鱼投喂  $\beta$ -葡聚糖后注射嗜水气单胞菌,发现其能明显改善罗非鱼抗嗜水气单胞菌感染能力。周帅等<sup>[38]</sup>在异育银鲫的研究也有类似结果。低聚木糖能够提高罗非鱼注射嗜水气单胞菌后的存活率,可能是由于低聚木糖提高了罗非鱼血液中的抗氧化和免疫指标,增强了罗非鱼机体的整体抗病能力,从而提高了罗非鱼的存活率,这有待于进一步研究。

### 参考文献:

- [1] KIM K W, WANG X J, CHOI S M, et al. No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Aquaculture Research*, 2003, 34(12):1053-1058.
- [2] AL-HARBI A H, UDDIN M N. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*  $\times$  *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia [J]. *Aquaculture*, 2004, 229(1/4):37-44.
- [3] 胡靖, 李爱华, 胡成钰, 等. 温度和 pH 值对嗜水气单胞菌毒力基因表达的影响 [J]. *南京理工大学学报:自然科学版*, 2006(3):375-380.
- [4] PIRARAT N, KOBAYASHI T, KATAGIRI T, et al. Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2006, 113(3/4):339-347.
- [5] WELKER T L, LIM C, YILDIRIM-AKSOY M, et al. Growth, immune function, and disease and stress resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of bovine lactoferrin [J]. *Aquaculture*, 2007, 262(1):156-162.
- [6] 郑建仙. 功能性低聚糖 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [7] MOURA P, MARQUES S, ALVES L, et al. Effect of xylooligosaccharides from corn cobs autohydrolysis on the intestinal microbiota of piglets after weaning [J]. *Livestock Science*, 2007, 108(1/3):244-248.
- [8] CHUNG Y C, HSU C K, KO C Y. Dietary intake of xylooligosaccharides improves the intestinal microbiota, fecal moisture, and pH value in the elderly [J]. *Nutrition Research*, 2007, 27(12):756-761.
- [9] NA M H, KIM W K. Effects of xylooligosaccharide intake on fecal bifidobacteria, lactic acid and lipid metabolism in Korean young women [J]. *The Korean Journal of Nutrition*, 2007, 40(2):154-161.
- [10] HSU C K, LIAO J W, CHUNG Y C, et al. Xylooligosaccharides and fructooligosaccharides affect the intestinal microbiota and precancerous colonic lesion development in rats [J]. *The Journal of Nutrition*, 2004, 134(6):1523-1528.
- [11] HOWARD M D, GORDON D T, GARLEB K A, et al. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum Arabic have variable effects on cecal and colonic microbiota and epithelial cell proliferation in mice and rats [J]. *Nutrition*, 1995, 125:2604-2609.
- [12] MUMTAZ S, REHMAN S W, HUMA N, et al. Effect of xylooligosaccharide enriched yogurt on serum profile in albino rats [J]. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2009, 8(11):1756-1759.
- [13] 王怀蓬, 袁楷, 乌日娜, 等. 低聚木糖(XOS)饲料添加剂对猪生产性能的影响 [J]. *国外畜牧学(猪与禽)*, 2008, 28(3):78-79.
- [14] 勇强, 徐勇, 陈牧, 等. 低聚木糖饲料添加剂的研究与开发 [J]. *农业新技术*, 2004(1):46-47.
- [15] 蒋正宇, 周岩民, 许毅, 等. 低聚木糖、益生菌及抗生素对肉鸡肠道菌群和生产性能的影响 [J]. *家畜生态学报*, 2005, 25(2):11-15.
- [16] 王继成, 潘灵辉, 李淑云, 等. 低聚木糖对断奶仔猪生产性能、肠道菌群及免疫水平影响的研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2006, 33(5):3-7.
- [17] 熊沈学, 刘文斌, 方星星. 低聚木糖梯度添加对异育银鲫生长及肠道消化酶活性的影响 [J]. *畜牧与兽医*, 2005, 37(10):23-24.
- [18] 刘文斌, 尹君, 方星星, 等. 3 种益生菌配伍对异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 生长、消化及肠道菌群组成的影

- 响[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38 (1):29-35.
- [19] 符广才, 邓岳松. 寡聚糖对南美白对虾生长、体成分及饲料效率的影响[J]. 内陆水产, 2004, 29 (6):44-45.
- [20] 胡毅, 麦康森. 凡纳滨对虾饲料配方优化及几种饲料添加剂的应用[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [21] 褚武英, 吴信, 成嘉, 等. 低聚木糖对草鱼生长性能及血液生化指标的影响[J]. 饲料研究, 2008(6):60-61.
- [22] XU B H, WANG Y B, LI J R. Effect of prebiotic xylooligosaccharides on growth performances and digestive enzyme activities of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2009(35): 351-357.
- [23] 马仲华. 家畜解剖及组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [24] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 101-104.
- [25] 黄玉章, 林旋, 王全溪. 黄芪多糖对罗非鱼肠绒毛形态结构及肠道免疫细胞的影响[J]. 动物营养学报, 2010, 22 (1):108-116.
- [26] 赵玉蓉, 王红权, 余建波. 壳聚糖对草鱼肠道形态结构的影响[J]. 当代水产, 2010(1):64-66.
- [27] 刘爱君, 冷向军, 李小勤, 等. 甘露寡糖对奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 生长、肠道结构和非特异性免疫的影响[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2009, 35(3):329-336.
- [28] 占秀安, 胡彩虹, 许梓荣. 果寡糖对肉鸡生长、肠道菌群和肠形态的影响[J]. 中国兽医学报, 2003, 23 (2): 196-198.
- [29] MOURAO J L, PINHEIRO V, ALVES A, et al. Effect of mannan oligosaccharides on the performance, intestinal morphology and cecal fermentation of fattening rabbits [J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 126 (1/2): 107-120.
- [30] 陈孝煊, 吴志新, 周文豪. 鱼类消化道菌群的作用与影响因素研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(5): 523-528.
- [31] 宋增福, 吴天星. 鱼类肠道正常菌群研究进展[J]. 水产科学, 2007, 26(8):471-474.
- [32] 黄海, 杨瑞金, 王璋. 低聚木糖的脱色工艺[J]. 无锡轻工业大学学报, 2002, 21(2): 125-129.
- [33] OKAZAKI M, FUJIKAMA S, MATSUMOTO N. Effect of xylooligosaccharide on the growth of bifidobacteria [J]. *Bifidobacteria Microflora*, 1990, 9:77-86.
- [34] 吴媛媛, 冯于明, 王忠, 等. 木寡糖对肉仔鸡生长性能、肠道生理学和形态学指标的影响[J]. 中国农业大学学报, 2006, 11(4):42-46.
- [35] 林青, 李忠军, 于三科. 低聚糖对肉鸡生产性能的影响[J]. 家畜生态学报, 2005, 26(6): 48-50.
- [36] 葛红云, 王兰梅, 郑银桦, 等. 棉子糖对花鲈生长、免疫抗应激及抵御嗜水气单胞菌攻毒的影响[J]. 水生生物学报, 2011, 35(2):283-290.
- [37] 迟淑艳, 周歧存, 周健斌, 等.  $\beta$ -葡聚糖对奥尼罗非鱼生长性能及抗嗜水气单胞菌感染的影响[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5):767-774.
- [38] 周帅, 周常, 房文红, 等. 壳聚糖硫酸酯提高异育银鲫抗嗜水气单胞菌感染的研究[J]. 海洋渔业, 2010, 32(4): 427-434.

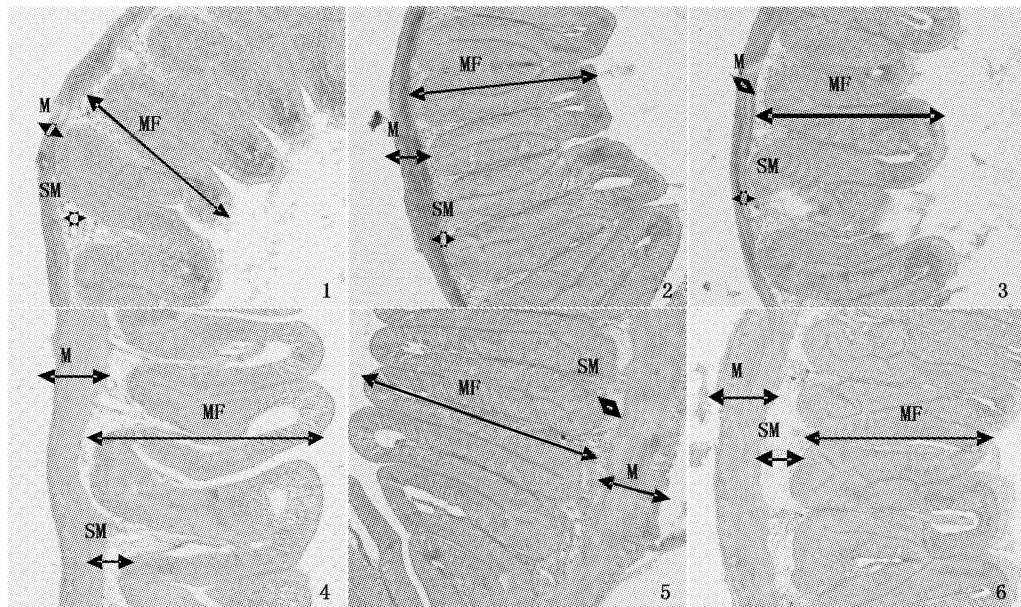


图版 I 第 4 周时各组鱼肠道石蜡切片 ( × 10 )

Plate I The paraffin sections of intestinal tract in the 4th week

1. G0 组; 2. G200 组; 3. G400 组; 4. G800 组; 5. G800 组; 6. G1000 组;

M. 肌层; MF. 黏膜皱襞; SM. 黏膜下层。



图版 II 第 8 周时各组鱼肠道石蜡切片 ( × 10 )

Plate II The paraffin sections of intestinal tract in the 8th week

1. G0 组; 2. G200 组; 3. G400 组; 4. G800 组; 5. G800 组; 6. G1000 组;

M. 肌层; MF. 黏膜皱襞; SM. 黏膜下层。

## Effect of dietary xylooligosaccharides on intestinal histology and microflora of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*

ZHANG Rong-bin<sup>1,2,3,4</sup>, CAO Jun-ming<sup>1,3,4</sup>, HUANG Yan-hua<sup>1,3,4</sup>, WANG Guo-xia<sup>1,3,4</sup>, CHEN Xiao-ying<sup>1,3,4</sup>, YAN Jing<sup>1,2,3,4</sup>, ZHOU Ting-ting<sup>1,2,3,4</sup>, SUN Zhi-wu<sup>1,2,3,4</sup>

(1. Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong, China; 2. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China; 3. Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, Guangdong, China; 4. Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, Guangdong, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to investigate the effects of dietary prebiotic xylooligosaccharides (XOS) levels on the intestinal histology, microflora, and disease resistance of the tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). 960 fishes with an initial weight of (5.09 ± 0.12) g were randomly assigned to 6 groups. The fishes were respectively fed a basal diet and 5 diets supplemented with 200, 400, 600, 800 and 1 000 mg/kg XOS, named G0 (control), G200, G400, G600, G800 and G 1000. During 8 weeks feeding period, the number of intestinal microflora was measured every 2 weeks. Midgut was sampled in 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week for histology analysis. At the end of feeding, the fish were infected with *Aeromonas hydrophila*. During 96 hours of artificial infection, the survival rate (SR) was measured. The results showed that in 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> week, compared with G0, the folding area and the muscle thickness of the intestine in the groups with XOS were significantly higher. Dietary XOS affected significantly the number of intestinal *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. Compared with G0, the number of *Bifidobacterium* in G600 and G800 was significantly higher ( $P < 0.05$ ) in 4<sup>th</sup> week, in G400 and G600 significantly higher ( $P < 0.05$ ) in 6<sup>th</sup> week. In 8<sup>th</sup> week, the number of *Lactobacillus* in G800 was significantly higher than that in G0 ( $P < 0.05$ ). The number of *E. coli* in the groups with XOS tended to decrease with the feeding time in creasing, but the difference was not significant ( $P > 0.05$ ). After 96 hours of infection by *Aeromonas hydrophila*, SR in G0 was 26.7%, and that in the groups with XOS was from 78.3 to 95.0%. The results suggested that the supplementation of XOS into the practical diet could improve the intestinal histology, promote the intestinal bacteria, *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* proliferation, while decrease the number of *E. coli* to some extent, and improve the resistance against *Aeromonas hydrophila* of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*).

**Key words:** xylooligosaccharides; tilapia; intestine histology; intestine microflora; *Aeromonas hydrophila*