

■ 蔡旺进 舒美明 艾春香 何小刚

(厦门大学海洋与地球学院, 福建厦门 361005)

**摘要:**近20年来我国水产养殖业得到了迅猛发展,规模化、规范化、集约化水产养殖除了带来可观的经济效益外,也造成了水产养殖动物的应激加剧,机体的免疫力和抗病力下降,水产动物疾病频发,抗生素滥用等问题也伴随而生。饲用水产微生态制剂是一种绿色饲料添加剂,其因具有安全性、有效性、质量更可控性和环境友好性等特点而被当作新兴的抗生素可能替代物。本文简要概述饲用水产微生态制剂研发及其应用效果提升的技术关键,以期为进一步完善、推广饲用水产微生态制剂提供参考。

**关键词:**饲用水产微生态制剂;研发;应用;抗生素替代

**doi:**10.13302/j.cnki.fi.2019.04.004

**中图分类号:**S816.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-991X(2019)04-0020-06

### The research and application of the feed additive of the microecologies of aquaculture

Cai Wangjin, Shu Haoming, Ai Chunxiang, He Xiaogang

**Abstract:** In the past 20 years, the aquaculture industry had developed rapidly in China. Large-scale, standardized and intensive aquaculture not only brought considerable economic benefits, but also led to increased stress of aquatic animals, decreased immunity and disease resistance, frequent occurrence of aquatic animal diseases and abuse of antibiotics. The microecologies for aquatic formulated feed was a kind of green feed additive, which is regarded as a possible alternative to antibiotics due to its safety, effectiveness, more controllable quality and environment friendly. In this paper, the key technology of research & development and application of the microecologies in aquatic formulated feed were briefly summarized, in order to provide a reference for further improvement and popularization of the microecologies in aquatic formulated feed.

**Key words:** microecologies in aquatic formulated feed; research and development; application; alternative to antibiotics

微生态制剂是指在微生态理论指导下,运用微生物学原理,利用对宿主有益无害的、活的微生物或微生物代谢产生的生物活性物质经过特殊工艺制成的制剂,以达到调整机体微生态平衡的目的<sup>[1]</sup>。目前国际上已将微生态制剂分成3个类型,即益生菌、益生元和合

生元。20世纪60年代,随着长期或不规范的使用抗生素对养殖潜在危害的逐渐显现,微生态制剂才在畜牧养殖中得到足够重视<sup>[2]</sup>。直到90年代以后,水产养殖迅速发展,水产养殖动物疾病频发,水产微生态制剂才逐步成为研究热点<sup>[3]</sup>。水产微生态制剂首次报道应用于虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)与凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*),随后便在水产养殖中得到了广泛的应用<sup>[4-5]</sup>。水产微生态制剂主要分为饲用水产微生态制剂和调水改底用微生态制剂,具有净化水质、改善水产品肠道微生物群落、提高消化吸收能力、促进动物生长、提高具体免疫相关基因的表达水平、增强机体抵抗病毒和细菌感染的能力<sup>[6-14]</sup>等功能。微生态制剂对水产养殖业的促进作用的到了广泛的认可,但由于起步时间晚,其在产品(特别是饲用水产微生态制剂)的研

作者简介:蔡旺进,硕士,研究方向为水产动物营养与饲料。

通讯作者:艾春香,博士。

收稿日期:2018-12-03

基金项目:厦门南方海洋研究中心海洋产业核心和关键技术攻关项目[高效饲用海洋动物源益生菌的产业化开发及应用示范.NO.17GZP007NF03]

发与推广应用仍处于初级阶段。本文简要概述饲用水产微生态制剂研发及其应用效果提升的技术关键,以期为其进一步完善、推广使用提供参考。

### 1 研发饲用水产微生态制剂的目的与意义

随着水产养殖业规模化、规范化、集约化和产业化程度的不断提升,我国水产养殖环境日益恶化,导致水产养殖动物应激不断增加、免疫力下降,疾病频发,造成水产养殖业病害防治中抗生素滥用的现状难以遏制。水产养殖过程中长期不规范使用的抗生素等化学药物不仅增加病原菌的耐药性,破坏水产动物的肠道菌群生态环境,也造成养殖环境抗生素超标;同时,残留在养殖水产动物中的抗生素也会通过食物链富集作用进入人体,危害到人类的身体健康<sup>[15]</sup>。因此,寻找和研发更加安全可靠,能促进维持水产动物肠道菌群平衡、能减轻养殖自身污染、能协调人与自然的的关系,符合可持续发展需要的抗生素等化学药物的替代品是一个亟待解决的问题,其中,微生态制剂就是一种很好的抗生素替代品。

《饲料添加剂品种目录(2013)》中规定,允许在饲料中添加的微生物有34种,其主要为芽孢杆菌、乳杆菌、酵母菌、双歧杆菌、肠球菌、片球菌、链球菌等。益生菌的功能各异,如芽孢杆菌能分泌活性很强的酶,可有效提高饲料的利用率,促进水生动物生长,促进其他益生菌增殖<sup>[16]</sup>。乳杆菌能与病菌竞争定植部位,或通过分泌乳酸或挥发性脂肪酸,以减低定植环境pH值的方式抑制病原菌的生长<sup>[17]</sup>。益生元在宿主肠道内能被益生菌分解,进而被肠道吸收利用,其能选择性增殖有益菌,直接或间接调节肠道微生物的组成<sup>[17,18]</sup>;果糖类益生元成分能直接帮助宿主对矿物质、维生素及抗氧化物的吸收<sup>[19]</sup>;此外,益生元亦能参与调节多种免疫参数(如NK细胞、淋巴细胞、多种细胞因子等)间接激活免疫系统<sup>[20]</sup>。自从益生元和益生菌引入水产养殖以来,大量研究表明,无论是单一应用还是组合应用,其都对水生动物的健康有积极的作用,其中,多数研究则是揭示他们具有协同效应<sup>[21-23]</sup>。益生元集益生元的慢效保护性和益生菌的速效性于一体,能够促进内外源有益菌在宿主肠道定植,调节宿主肠道微生物群落,激活宿主免疫系统,调节水体微生态环境,直接或间接的对水产动物提供保护作用<sup>[20]</sup>。饲用水产微生态制剂不仅可以提高饲料利用率,促进水产动物健康生长,而且有利于增强机体免疫力,减少疾病发生,从而降低药物使用,这有助于保障水产品安全,维护养殖生态环境安全,推进水产养殖的绿色生产发展。

由于我国生产饲用水产微生态制剂企业多且杂,

其标准和生产的微生态制剂品质不一;水产养殖模式的多样化以及微生态制剂使用的不规范,使其对水产养殖的作用无法得到明确体现,从而导致水产养殖者对微生态制剂的效果产生一定程度的质疑<sup>[24]</sup>。饲用水产微生态制剂优点众多,进一步开展其研发以及对其应用研究工作意义重大。

### 2 研发饲用水产微生态制剂的技术关键

#### 2.1 菌种的筛选与优化

菌种选择的首要原则是安全性,其次是功能性、高效性、稳定性、易培养<sup>[25]</sup>。一般来说,作为水产饲用水产微生态制剂,其菌种必须符合以下6个条件:①对水产动物本身安全,即菌种病原性与毒副作用,要评价菌种、菌株是否存在抗性基因,是否产毒及其毒力因子(如毒素、侵袭和黏附因子等)的基因(包括基因识别、编码的蛋白功能、同源百分比等),若存在编码毒力因子的基因,可能需要进一步的表型实验(例如细胞毒性试验),且筛选的菌种、菌株不会与宿主体内病原微生物杂交;②菌种来源要考虑同源性和属地化,菌种来源最好是宿主的土著菌群,菌株的同源性是指从水产动物肠道或水产养殖环境中分离出来的菌,生产出来后再用回去,要能保证原有的性能不变,以免受排斥作用,也不影响原先的微生态平衡,以最大限度发挥其益生功能;菌种的属地化则是指菌种要从本地分离获得的,防止外来菌种的干扰;③易培养、繁殖快,竞争力强;④低pH值的环境(无机酸、有机酸和胆汁酸)条件下的活力强,并能稳定定植在宿主肠道内;⑤能产抑制病原菌的物质(乳酸、过氧化氢等);⑥易获得、适应工业化生产且加工后存活率高,能稳定存在于饲料中<sup>[26]</sup>;⑦功能要明确、作用机理较为清晰。此外,要使饲用水产微生态制剂在水产配合饲料生产中能真正使用,菌种应该在高温高湿高压的加工环境条件下保持较高的存活率。饲用水产微生态制剂菌种筛选主要流程:收集菌株研究背景资料,菌株的获得,菌株致病性与安全性的评估,菌株功能性和有效性的评估,菌株对外源致病菌株抑制能力的评估,商业价值的分析及菌株发酵特性分析<sup>[27]</sup>,产品质量标准建立。

安全性分析与风险评价是菌种筛选是否符合标准的先决条件,其次菌种的适应宿主肠道环境的能力也应作为一个重要的筛选指标,如是否耐酸、胆盐和胰蛋白酶等。除此之外,饲用水产微生态制剂加工成饲料还需经过干燥、运输等步骤,这些因素也会造成益生菌大量的死亡。综合上述各种因素,其结果是:乳杆菌、片球菌、双歧杆菌等产乳酸类的细菌应主要用于预防水产养殖动物患疾用;芽孢杆菌、酵母菌等主

要用于提高水产动物的生长速率及饲料利用率<sup>[28]</sup>。

目前,除从水体环境和水产动物本身分离、培养获得有益菌种、菌株外,还可以利用分子生物学手段剔除微生物中无益或有害的基因以获得高效表达对宿主有益产物的微生物菌种、菌株;将其他物种的耐高温、抗酸等功能基因整合或者插入到微生物基因中,以获得具有耐高温、抗酸等新功能的菌种、菌株,这不仅有利于菌种、菌株在宿主体内存活,也有利于抵抗饲料加工带来的不利影响。分子生物学技术在菌种筛选与菌种品质改良方面发挥着重要作用<sup>[29]</sup>。同时,高空辐射等的强致突变的特殊环境也可用来提高菌种突变率以快速筛选优良菌种<sup>[30]</sup>。然而,通过基因改造或突变的菌种往往存在抗性质粒转移到病原菌或其他生物上的风险,造成大量不同生物及其后代具有抗药性。因此,对改造菌种的检测与控制必须十分严格。

## 2.2 复合菌种搭配

益生菌的合理配伍是研发更高效饲用水产微生态制剂一个重要的途径。微生态制剂只含有单一菌种而缺少多种有益菌的协同互补作用,常常表现出使用效果不明显,且不同的水产动物的使用效果差别较大等问题。复合菌剂能适应多种不同的环境和宿主,其比单一菌剂更能促进机体的生长和提高食物转化率,并能在一定程度减少疾病的发生<sup>[31-32]</sup>。微生态制剂产品中采用的复合菌种,应根据动物种类、年龄阶段、肠道菌群状态、水产动物的生理状态等进行配方优化组合,充分发挥不同益生菌的优良作用,实现优势互补作用。饲用微生态制剂配方应是厌氧菌和兼性厌氧菌共存的复合制剂,以保证产品对水产养殖动物的作用效果显著。通过配伍试验可以确定最佳的复合菌剂组合,试验过程包括:种子菌液制备、初筛和多菌种配伍筛选。多菌种筛选试验分别以其中一种确定的菌种和物质的含量作为指标,通过两菌种、三菌种和四菌种等配伍试验来确定最佳的配伍组合<sup>[3]</sup>。

## 2.3 发酵工艺优化与控制

传统的发酵工艺包括液体深层发酵和固体发酵这两种工艺。液体深层发酵是将微生态制剂目标微生物接种于生物反应器中进行深层液体培养,得到发酵好的菌体可以直接作为微生态制剂成品,也可通过过滤、浓缩、吸附、干燥等加工工艺制成菌剂<sup>[33]</sup>。液体深层发酵的液体悬浮状态是大多微生物最适宜的状态,其具有易于检测、控制、运输和产出质量浓度高的产品等优点。液体深层发酵也具有一些缺点,研究表明,深层发酵培养菌株的芽孢活力低<sup>[34]</sup>。液体深层发酵目前应用广泛,技术也相对成熟,对该发酵工艺的

优化主要集中在对不同菌株的发酵条件优化与处理菌株时保护手段。固体发酵是指在体系无水或者接近无水的固态支持底物下进行微生物的发酵培养<sup>[35]</sup>。固体发酵工艺具有成本低,酶系丰富,菌量大等优点,但工艺生产周期长,发酵不均匀和机械化程度低等缺点制约着该工艺的发展。因此,对其优化主要集中于发酵的设备升级与检测的手段突破等<sup>[33]</sup>。液固两相发酵工艺是结合液体与固体发酵两大手段,先利用液体深层发酵以获得大量菌体,再放置于固体发酵罐中进行接近自然状态的固体发酵<sup>[36]</sup>。该发酵工艺同时具有上述两者优点,但也存在的一些问题,如发酵产物从液体转移到固体的过程容易染菌,菌体在两种状态过渡的过程可能会影响菌体的生长<sup>[32]</sup>。

## 3 饲用水产微生态制剂应用效果提升的关键

### 3.1 饲用水产微生态制剂应用的研究成果与现状

随着饲用水产微生态制剂应用于虹鳟与凡纳滨对虾见报道后,其对一些其他经济鱼类,如大黄鱼(*Larimichthys crocea*)、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)和甲壳动物,如欧洲龙虾(*Homarus gammarus*)、日本对虾(*Penaeus japonicus*)等的作用的文章也相继发表<sup>[37-40]</sup>。2012年以来,微生态制剂在水产养殖中的养殖得到爆发式的发展,尤其是在探究益生元与益生菌的配伍优化对多种水产养殖动物的生长性能、存活率、免疫应答、抗病能力、肠道健康等方面的应用研究。其中,大量研究集中于虹鳟鱼,包括:MOS与灭活粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)配伍能显著提高其生长表现与免疫应答<sup>[41]</sup>,GOS与乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)配伍能有效提高其生长表现、存活率、肠道菌群、免疫能力和抗病能力<sup>[42-43]</sup>。微生态制剂对养殖鱼类,如斑马鱼(*Brachydanio rerio*)、三角鲂(*Megalobrama terminalis*)、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*),观赏鱼类,如日本锦鲤(*Cyprinus carpio*)、神仙鱼(*Pterophyllum scalare*);甲壳动物,如凡纳滨对虾、欧洲龙虾;软体动物,如耳鲍(*Haliotis asinina*)等的益生促进作用也得到广泛的研究<sup>[44-53]</sup>。近年来对水产微生态制剂的研究虽然呈现蓬勃发展的趋势,但其中仍存在许多问题。饲用水产微生态制剂面临许多问题:①没有自主筛选的菌种及保藏技术,导致菌种退化严重;②菌种较为单一,缺乏多菌种配伍以形成的协同效应;③通用型的微生态制剂在市场占有绝大多数市场,针对性不强,效果不稳定;④制成工艺较为落后,导致实际的活菌数量较低;⑤添加量不够,不能达到应有的效果;⑥饲料加工、运输和贮存中,菌株活性下降;⑦片面夸大微生态制剂的作用等等。

### 3.2 饲用水产微生态制剂应用效果提升的宏观对策

### 3.2.1 建立饲用水产微生态制剂菌种筛选、生产技术规范以及规范科学的产品标准,保障产品质量

饲用水产微生态制剂的核心因素是菌种,是否能筛选出良好的菌种是决定微生态制剂产品质量的重要保证<sup>[54]</sup>。这要求从业者在不断提升饲用水产微生态制剂质量的过程中必须扣好“菌种筛选”这第一颗纽扣,即建立标准的菌种筛选过程,其中,除首先确保菌种的安全性这一个不可或缺的菌种特性外,明确菌种的来源、种属、稳定性、抗逆性等都应该提到首位。

微生态制剂的制作对生产技术和生产的工艺要求很高。目前,我国400多家微生态制剂企业中,大多数不具有生产高质量微生态制剂的能力,导致现阶段市场上的微生态制剂品质良莠不齐,有的甚至同一品牌的不同批次产品都无法保持稳定<sup>[55-56]</sup>。目前相关的微生态制剂标准有两个通用标准,即国家标准《微生物饲料添加剂通用要求》(GB/T 23181—2008)和农业行业标准《微生物饲料添加剂技术通则》(NY/T 1444—2007),这显然无法满足种类繁多的微生物<sup>[56]</sup>。在这种形势下,市场与政府必须通力协同合作,加快制定通用及多种具针对性的科学的生产技术规范与科学的产品标准以改善与规范现今混乱的微生态制剂市场。

### 3.2.2 建立饲用水产微生态制剂在水产配合饲料生产过程中的应用技术规程,提升其使用效果

饲用水产微生态制剂应用于水产配合饲料的加工过程中存在高温、高湿、高压等对益生菌类可致死的因素,多数企业不具备解决该技术难题的力量,导致市场上多数含有微生态制剂的水产配合饲料出现效果差,效价不明等问题。市场上已经存在许多应用手段,如后喷涂工艺的应用、微胶囊包埋技术、低温膨化技术、筛选耐高温高湿菌株等。这些技术作用的效果或高或低,技术难度与成本也不尽相同,建立微生态制剂应用于水产饲料生产过程的应用技术规程,规定生产过程最低与最能广泛应用的方法,是保证与提升微生态制剂使用效果的基础与最有效的措施。

### 3.2.3 建立饲用水产微生态制剂规范科学的效果评价技术体系

饲用水产微生态制剂与抗生素等化学药品区别在于其防重于治、对环境友好。这些特点衍生出了一些亟待解决的问题,即“防”是一个持续的过程,并不能在很短时间体现出显著的效果,如何评价其对水产养殖有促进作用。同时,有些企业自身都无足够的资质对自家的产品作评价,有些企业以死菌数以冒充活菌数,这也导致了从供给侧方面没有足够有效的、可靠的数据支持<sup>[56]</sup>。上述的多种因素导致水产养殖户

对饲用水产微生态制剂对水产养殖的促进效果提出质疑。针对这种现象,企业内部改革升级是解决最根本的措施,虽然当下没有统一的标准,但提高企业的品牌形象,将企业做好做实,这对企业是否能持续发展具有重要意义。同时,政府、企业、水产养殖户应协同推进制定科学的饲用水产微生态制剂效果评价体系,从实践中来,再到实践中去,不断完善评价体系,这不仅能提升饲用水产微生态制剂的应用推进,也是提升微生态制剂产品升级的重要措施。

### 3.2.4 建立含饲用水产微生态制剂的水产配合饲料的科学使用技术规范

解决由生产水平导致的微生态制剂作用效果不够的问题是一个漫长的过程,不可能一蹴而就。而面对现有微生态制剂产品,建立含饲用水产微生态制剂的水产配合饲料的科学使用技术规范,指导水产养殖户对其合理的使用显得尤为重要,如:“先入为主”的理论应该被重视,通过益生菌的先入定殖可以降低病原菌的定居;微生态制剂的使用是一个持续的预防过程,效果的体现是一个渐变的过程;无法确定活菌数时,应不断调整微生态制剂的使用量以到达应有效果等。

### 3.3 饲用水产微生态制剂在水产配合饲料生产过程中技术加工升级

饲用水产微生态制剂在水产配合饲料生产过程中技术加工升级包括:后喷涂工艺的应用、微胶囊包埋技术、低温膨化技术等。

为了减少饲料的中热敏物质及菌株的损失,微囊化处理与耐高温菌剂开发等方法相继提出。然而成本的提高带来较大的局限性,而真空后喷涂技术很好解决成本问题。真空后喷涂技术是利用压力差的原理,在无微生态制剂的成型饲料表面抽真空,利用压力差将喷涂在饲料表面的微生态制剂渗入饲料颗粒内部,使其均匀分布于饲料中,解决了传统后加工工艺高温高湿等外界不利因素而导致的微生态制剂配方失真。同时真空也能抽出颗粒内部空气,以达到吸收更多微生态制剂的效果<sup>[57]</sup>。微囊化包囊技术是将微生态制剂中成分包被于微胶囊中,保证活菌在加工过程中的活力与存活时间,保证其到达适当的环境下后释放、发挥其作用<sup>[58]</sup>。微胶囊包埋技术是保持益生菌的活力的最实用和最有效的方法之一<sup>[59]</sup>。低温膨化技术是利用液气原理将微生态制剂制成饲料过程的温度降到热敏菌可接受的范围,一般可以与喷涂技术混合使用。

## 4 结语

饲用水产微生态制剂具有安全、质量可控和环境友好等优点,是促进养殖水体生态文明建设的更进一

步,符合新时代水产养殖的观念。由于我国微生物制剂的研发与应用起步晚,菌种单一,制作工艺原始等问题将长期存在。随着科技的不断进步,专一性与高效性是今后微生物制剂研发的发展趋势;水产微生物制剂研发与应用的升级将是近期的一个重要议题。总之,微生物制剂应用于水产养殖所取得的成果不可撼动,其今后的发展必将突飞猛进。

#### 参考文献

- [1] 赵明军, 湛南辉. 动物微生物制剂研究进展[J]. 山东家禽, 2002(6):42-44.
- [2] 孟思好, 孟长明, 陈昌福. 水产用微生物制剂的应用现状与思考(上)[J]. 科学养鱼, 2017(3):88-88.
- [3] 赵满意, 王伟洪, 郭健, 等. 水产微生物制剂的发展现状与问题分析[J]. 河北渔业, 2012(3):41-43.
- [4] Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J, et al. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. Aquaculture, 2005, 243(1): 241-254.
- [5] Li J, Tan B, Mai K. Dietary probiotic *Bacillus*, OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Aquaculture, 2009, 291(1):35-40.
- [6] 李卓佳, 张庆, 陈康德. 有益微生物改善养殖生态研究——I. 复合微生物分解有机底泥及对鱼类的促生长效应[J]. 湛江海洋大学学报, 1998(1):5-8.
- [7] Caballero M J, Montero D. Reduced gut bacterial translocation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011,30(2):674-681.
- [8] Zhang J, Liu Y, Tian L, et al. Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 33(4):1027-1032.
- [9] Seyed Hossein H, Mohsen K, Hosseinali Khoshbavar R, et al. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 35(5):1416-1420.
- [10] 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.
- [11] Liu C H, Chiu C S, Ho P L, et al. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 107(3):1031-1041.
- [12] Liu C H, Chiu C H, Wang S W, et al. Dietary administration of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, enhances the growth, innate immune responses, and disease resistance of the grouper, *Epinephelus coioides*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 33(4): 699-706.
- [13] Dengyu T, Peilin H, Huang S Y, et al. Enhancement of immunity and disease resistance in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by the probiotic, *Bacillus subtilis* E20[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2009, 26(2):339-344.
- [14] Lunagonzález A, Almarazsalas J C, Fierrocoronado J A, et al. The prebiotic inulin increases the phenoloxidase activity and reduces the prevalence of WSSV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions[J]. Aquaculture, 2012, 362-363(5):28-32.
- [15] Wang Y M, Wang Y G. Advance in the Mechanisms and Application of Microecologies in Aquaculture[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2008.
- [16] Wang Y B, Xu Z R, Xia M S. The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp *Penaeus vannamei*, ponds[J]. Fisheries Science, 2005, 71(5):1036-1041.
- [17] 柴俊, 邵翠仙, 张以芳. 乳酸杆菌主要代谢产物种类及其特性[J]. 食品工业科技, 2007(8):257-260.
- [18] Niittynen L, Kajander K, Korpela R. Galacto-oligosaccharides and bowel function[J]. Scandinavian Journal of Food & Nutrition, 2007, 51(2):62.
- [19] Scholzhahrens K E, Schaafsma G, Heuvel E G V D, et al. Effects of prebiotics on mineral metabolism[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2001, 73(2):459.
- [20] 王熙涛, 李淑英, 王丽丽, 等. 合生元的作用机制及其在水产养殖中的应用前景[J]. 饲料研究, 2016(12):6-14.
- [21] Lin S, Mao S, Guan Y, et al. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*) [J]. Aquaculture, 2012, 342-343(1):36-41.
- [22] Abid A, Davies S J, Waines P, et al. Dietary synbiotic application modulates Atlantic salmon (*Salmo salar*) intestinal microbial communities and intestinal immunity[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 35(6):1948-1956.
- [23] Zhang Q, Yu H, Tong T, et al. Dietary supplementation of *Bacillus subtilis*, and fructooligosaccharide enhance the growth, non-specific immunity of juvenile ovate pompano, *Trachinotus ovatus*, and its disease resistance against *Vibrio vulnificus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 38(1):7-14.
- [24] 王浩波, 敖明, 哈斯, 等. 饲用微生物制剂使用过程中存在的问题及解决措施[J]. 畜牧与饲料科学, 2011(2):78-79.
- [25] 张日俊. 动物微生物生态系统的生物防治和营养免疫作用及微生物饲料添加剂的科学使用[J]. 饲料工业, 2005, 26(16):1-7.
- [26] 许金花, 肖克宇. 微生物制剂——新型的绿色饲料添加剂[J]. 水产科技情报, 2006, 33(3):124-127.
- [27] 邓丽, 芮汉明. 绿色饲料添加剂的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(1):76-79.
- [28] 孙杨. 饲用微生物制剂固态发酵工艺的初步研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2015.
- [29] 顾君华, 王欣. 安全饲料和绿色添加剂的最终目标和途径[J]. 饲料工业, 2002, 23(8):1-4.
- [30] 李健雄, 邝哲师, 田兴山. 动物微生物制剂的研究与应用进展[J]. 广东畜牧兽医科技, 2004, 29(4):15-17.
- [31] 岳春松, 尤升波, 王世荣, 等. 益生菌对奶牛泌乳性能影响的试

- 验研究[J]. 山东农业科学, 2003(4):40-41.
- [32] 戴荣国, 曹国文, 姜永康, 等. 不同益生菌组合对断奶仔猪生产性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005, 22(10):35-36.
- [33] 孙笑非, 孙鸣. 微生态制剂发酵工艺研究进展[J]. 饲料研究, 2010(10):67-68.
- [34] Thomas K C, Khachatourians G G, Ingledew W M. Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1987, 33(1): 12-20.
- [35] 邱立友. 固态发酵工程原理及应用[M]. 中国轻工业出版社, 2008.
- [36] Te Biesebeke R, Ruijter G, Rahardjo Y S P, et al. *Aspergillus oryzae* in solid-state and submerged fermentations Progress report on a multi-disciplinary project[J]. Fems Yeast Research, 2002, 2(2):245-248.
- [37] Ai Q, Xu H, Mai K, et al. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*[J]. Aquaculture, 2011, 317(1):155-161.
- [38] Geng X, Dong X H, Tan B P, et al. Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum* [J]. Fish Shellfish Immunol., 2011, 31(3):400-406.
- [39] Carlyl D, Daniell M, Dominiec B, et al. Effect of dietary *Bacillus* spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota[J]. Aquaculture, 2010, 304(1):49-57.
- [40] Zhang Q, Tan B, Mai K, et al. Dietary administration of *Bacillus* (*B. licheniformis* and *B. subtilis*) and isomaltooligosaccharide influences the intestinal microflora, immunological parameters and resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp, *Penaeus japonicus* (Decapoda: Penaeidae)[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(7):943-952.
- [41] Rodriguez-Estrada U, Satoh S, Haga Y, et al. Effects of Inactivated *Enterococcus faecalis* and Mannan Oligosaccharide and Their Combination on Growth, Immunity, and Disease Protection in Rainbow Trout[J]. North American Journal of Aquaculture, 2013, 75(3):416-428.
- [42] Hoseinifar S H, Mirvaghefi A, Amoozegar M A, et al. In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings[J]. Aquaculture Nutrition, 2015, 23(1):111-118.
- [43] Seyed Hossein H, Alireza M, Mohammad Ali A, et al. Modulation of innate immune response, mucosal parameters and disease resistance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) upon synbiotic feeding[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 45(1):27-32.
- [44] Faturrahman, Rohyati I S, Dan S. Improved of Growth Rate of Abalone *Haliotis Asinine*, Fed Pudding Probiotic-enriched Protein [J]. Procedia Environmental Sciences, 2015, 23(23):315-322.
- [45] Dehaghani P G. Effect of synbiotic dietary supplementation on survival, growth performance, and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings[J]. Czech Journal of Animal Science, 2015, 60(5):224-232.
- [46] Lee W W, Oh J Y, Kim E A, et al. A prebiotic role of *Ecklonia cava*, improves the mortality of *Edwardsiella tarda*-infected zebrafish models via regulating the growth of lactic acid bacteria and pathogen bacteria[J]. Fish Shellfish Immunol., 2016, 54:620-628.
- [47] Zhang C N, Li X F, Xu W N, et al. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on growth performance, body composition, intestinal enzymes activities and gut histology of triangular bream (*Megalobrama terminalis*)[J]. Aquaculture Nutrition, 2015, 21(5):755-766.
- [48] Azevedo R V D, Fosse Filho J C, Cardoso L D, et al. Economic evaluation of prebiotics, probiotics and symbiotics in juvenile Nile tilapia[J]. Revista Ciencia Agronomica, 2015, 46(1):72-79.
- [49] Widanarni, Tanbiyaskur. Application of Probiotic, Prebiotic and Synbiotic for the Control of Streptococcosis in *Tilapia Oreochromis niloticus*[J]. Pak. J. Biol. Sci., 2015, 18(2):59-66.
- [50] Azimirad M, Meshkini S, Ahmadifard N, et al. The effects of feeding with synbiotic (*Pediococcus acidilactici* and fructooligosaccharide) enriched adult *Artemia* on skin mucus immune responses, stress resistance, intestinal microbiota and performance of angelfish (*Pterophyllum scalare*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2016, 54:516-522.
- [51] Boonanuntanasarn S, Wongsasak U, Pitaksong T, et al. Effects of dietary supplementation with  $\beta$ -glucan and synbiotics on growth, haemolymph chemistry, and intestinal microbiota and morphology in the Pacific white shrimp[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(4):837-845.
- [52] Boonmee R, Rengpipat S. Effects of *Musa* (ABB group) prebiotic and *Bacillus subtilis* S11 probiotic on growth and disease resistance of cultivated Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Maejo International Journal of Science Technology, 2016, 9(5):370-381.
- [53] Daniels C L, Merrifield D L, Ringø E, et al. Probiotic, prebiotic and synbiotic applications for the improvement of larval European lobster (*Homarus gammarus*) culture[J]. Aquaculture, 2013, 416(2):396-406.
- [54] 史同瑞, 刘宇, 侯美如, 等. 微生态制剂质量控制与质量标准的探讨[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2017(4):50-52.
- [55] 杨浩. 微生态制剂饲料应用存在的问题[J]. 湖南饲料, 2011(1): 38-39.
- [56] 周蕾, 李宏, 吴智浩, 等. 动物微生态产品的研究与现状[J]. 湖南畜牧兽医, 2018(3):7-10.
- [57] 董颖超, 秦玉昌, 李俊, 等. 真空后喷涂技术在颗粒饲料中添加微生态制剂的应用[J]. 中国饲料, 2008(4):37-38.
- [58] 张琳, 李杰, 刘延国, 等. 微囊化技术在饲用微生态制剂中的应用[J]. 饲料博览, 2014(4):9-13.
- [59] Lamprecht A, Schäfer U F, Lehr C. Characterization of microcapsules by confocal laser scanning microscopy: structure, capsule wall composition and encapsulation rate[J]. European Journal of Pharmaceutics & Biopharmaceutics, 2000, 49(1):1-9.

(编辑:沈桂宇, guiyush@126.com)