

# 益生菌复合制剂的研制

王敏<sup>1</sup>, 魏文玲<sup>2</sup>, 刘济明<sup>\*</sup> (1 贵州大学林学院, 贵州贵阳 550025 2 厦门大学生命科学学院, 福建厦门 361005)

**摘要** [目的] 研制益生菌复合制剂。[方法] 分离、筛选纳豆芽孢杆菌 *xw1*、乳酸菌 *xw2*、酵母菌 *xw3* 进行动物灌胃试验与肠道菌群检测试验。[结果] 通过饲喂益生菌复合制剂, 小鼠肠道厌氧菌菌群有不同程度地增多, 且一些致病肠杆菌受到抑制。综合分析, 得到 1 个益生菌复合制剂的适宜配方 (108 cfu/ml): 纳豆芽孢杆菌 *xw1*、乳酸菌 *xw2*、酵母菌 *xw3* 为 2:1:1。[结论] 益生菌复合制剂有促进动物生长, 维持肠道微生态平衡的功效。

**关键词** 益生菌; 纳豆芽孢杆菌; 肠道菌群

**中图分类号** S816.71 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2011)06-03638-03

## Development of Complex Probiotics

WANG Min et al. (College of Forestry, Guizhou University Guiyang Guizhou 550025)

**Abstract** [Objective] To develop complex probiotics [Method] Probiotic strains including *Bacillus natto* *xw1*, *Lactobacillus* *xw2*, *Microzym* *xw3* were isolated. Animal feeding experiment and intestinal flora detecting experiment were carried out. [Result] After feeding by complex probiotics the counts of anaerobic bacteria in intestine of rats significantly increased and the counts of some pathogenic *E. coli* significantly declined. Through comprehensive analysis, an appropriate scheme of complex probiotics (108 cfu/ml) was obtained. *Bacillus natto* *xw1*, *Lactobacillus* *xw2*, *Microzyme* *xw3* was 2:1:1. [Conclusion] The growth of rats and balance of bacteria in rats intestine were promoted by complex probiotics.

**Key words** Probiotics; *Bacillus natto*; Bacteria in intestine

益生菌是一种可通过改变肠道菌群平衡, 而对动物施加有利影响的活的微生物饲料添加剂<sup>[1]</sup>。Fuller认为优质的饲用益生菌应具有 4 个条件: 在工业生产条件下, 菌种应保持存活; 能在长期储存和现场条件下保持稳定和活性; 在动物肠道有存活能力 (不一定繁殖); 能对宿主动物产生有利的影响<sup>[2]</sup>。

益生菌菌种较多, 各国都在筛选自己的菌种。美国食品与药物管理局和美国饲料管理协会公布的可以直接饲喂且安全的菌种已有 43 种<sup>[3]</sup>; 在欧洲市场上销售的益生菌品种已不下 50 种; 我国农业部第 105 号公告公布的容许使用的饲料添加剂品种目录中, 饲料级微生物添加剂有 12 种<sup>[4]</sup>。市场上的益生菌产品有单一菌株也有复合菌制剂, 单一菌株制剂主要有乳酸菌制剂、芽孢杆菌制剂和酵母菌制剂 3 种; 复合菌制剂也大都由这 3 种菌混合制成。

纳豆芽孢杆菌 (*Bacillus natto*), 在 20 世纪初期由日本学者发现并分离出来, 属细菌科, 芽孢杆菌属, 其原始菌株与枯草芽孢杆菌相同, 是枯草芽孢杆菌的一个亚种<sup>[5]</sup>。纳豆芽孢杆菌具有芽孢, 因而能耐酸、耐碱、耐高温 (100 °C) 及耐挤压, 在制粒过程及酸性胃环境中均能保持高度稳定性, 在肠道中不增殖, 只在肠道上段迅速发育转变成具有新陈代谢作用的营养型细胞。纳豆芽孢杆菌具有溶血栓、抗肿瘤、抗菌、提高蛋白质消化率、调节肠内微生态平衡等多种作用和功能。1999 年 7 月, 我国公布的 12 种可直接饲喂动物的饲料级微生物添加剂中, 就包括纳豆芽孢杆菌<sup>[6]</sup>。因此, 纳豆芽孢杆菌是微生态制剂的理想生产菌株。

该试验采用分离、筛选得到的纳豆芽孢杆菌 *xw1*、乳酸菌 *xw2*、酵母菌 *xw3* 为试验菌种, 进行了动物试验和肠道菌群检测试验, 确定了益生菌复合制剂的适宜配方。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

1.1.1 试验菌种。纳豆芽孢杆菌 *xw1*、乳酸菌 *xw2*、酵母菌 *xw3*。

1.1.2 试验动物。4 周龄雄性昆明小白鼠 35 只, 每只体重 18~22 g 由厦门大学抗癌中心提供。

1.1.3 试验仪器。不锈钢电热手提式灭菌消毒器, 购自上海申安医疗器械厂; FA1104 型电子天平, 购自北京赛多利斯天平有限公司; 远红外辐射干燥箱, 购自上海浦东荣丰科学仪器有限公司; 722 光栅分光光度计, 购自中国厦门分析仪器厂; 普通药物天平, 购自福州机械制牌厂; 双层铁皮电炉, 购自上海华铭科技发展公司; 超净工作台, 购自上海淀山湖净化设备厂; SHZ-82 恒温振荡器, 购自常州国华电器有限公司; 霉菌培养箱, 购自上海精密实验设备有限公司; 隔水式恒温培养箱, 购自上海精密实验设备有限公司。

### 1.1.4 培养基。

1.1.4.1 增菌培养基。A (纳豆芽孢杆菌 *xw1* 增殖培养基: 牛肉膏 5 g、酵母膏和蛋白胨 (10:5:5) g、葡萄糖 5 g、NaCl 5 g、维生素 B1 0.05 g、蒸馏水 1 000 ml, pH 值 7.0。B (乳酸菌 *xw2* 增殖培养基 (MRS 培养基): 牛肉膏 10 g、蛋白胨 10 g、酵母膏 5 g、柠檬酸三铵 2 g、葡萄糖 20 g、乙酸钠 5 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.58 g、MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.25 g、吐温-80 1 ml、蒸馏水 1 000 ml, pH 值 6.2~6.4。C (酵母菌 *xw3* 增殖培养基 (YPD 培养基): 酵母膏 5 g、蛋白胨 10 g、葡萄糖 20 g、蒸馏水 1 000 ml, 自然 pH 值。

以上配好的培养基 121 °C, 灭菌 15 min<sup>[7]</sup>。

1.1.4.2 测定菌浓度的固体培养基。各菌体发酵用的最优化液体培养基, 加 1.8% 琼脂配成固体培养基, 121 °C, 15 min 灭菌。待冷至 50~60 °C 时, 倒平板<sup>[8]</sup>, 备用。

1.1.4.3 用于拮抗性测定的固体培养基。酵母膏 5 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、葡萄糖 20 g、琼脂 1.8 g, pH 值 7.0。配好后, 121 °C 灭菌 15 min。

**作者简介** 王敏 (1981-), 女, 四川南充人, 在读硕士, 从事野生植物保护与利用研究。\* 通讯作者, 教授, 博士, 从事植物生态学

**收稿日期** 2010-11-29

**1.1.4.4 用于肠道菌群检测的培养基。**EMB培养基(选择培养肠杆菌):蛋白胨 10 g 乳糖 10 g  $K_2HPO_4$  2 g 琼脂 15 g 伊红-Y 0.4 g 美蓝 0.065 g  $H_2O$  1000 ml pH 值 7.1±0.1 配好后, 121 °C、15 min 灭菌。LBS培养基(选择培养乳酸杆菌):蛋白胨 10 g 酵母膏 5 g 葡萄糖 20 g 土温-80 1 ml  $KH_2PO_4$  2 g 醋酸钠 5 g 柠檬酸三氨 2 g 牛肉膏 10 g 琼脂 18 g  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.05 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g 蒸馏水 1000 ml pH 值 6.0~6.5 配好后, 121 °C、20 min 灭菌。双歧杆菌分离选择培养基(选择培养双歧杆菌):蛋白胨 13 g 酵母膏 5 g  $KH_2PO_4$  2.5 g 琼脂 15 g 可溶性淀粉 2.5 g 硫乙醇酸钠 0.3 g 半胱氨酸盐 0.3 g 蒸馏水 1000 ml pH 值 7.3 配好后, 0.1 MPa 灭菌 30 min。肠球菌琼脂(选择培养肠球菌):胰蛋白胨 20 g 酵母膏 5 g 葡萄糖 2 g  $K_2HPO_4$  4 g 叠氮钠 0.4 g 氯化三苯四唑(TTC) 0.1 g 琼脂 13 g 水 1000 ml pH 值 7.0~7.4 按上述量将各成分(TTC除外)混合,加热溶解,调 pH 值 7.2±0.2 加 1% TTC 溶液(过滤除菌) 10 ml 混匀,煮沸 1 min 倾入无菌平皿<sup>[7-9]</sup>,凝固后保存于冰箱备用。MYP培养基(选择培养需氧芽孢杆菌):蛋白胨 10 g 牛肉膏 1 g  $NaCl$  110 g D-甘露醇 10 g 酚红 0.025 g 卵黄液(20%) 100 ml 琼脂 13 g 多粘菌素 B 100 000 IU,蒸馏水 900 ml 除酚红指示剂、卵黄液及多粘菌素外,其余成分混合于 1000 ml 水中,加热溶解;调至 pH 值 7.0~7.2 加入 1% 酚红水溶液 2.5 ml 121、20 min 高压灭菌;待冷至 60 °C 时,每 90 ml 培养基,加入 20% 卵黄液 10 ml 硫酸多粘菌素 B 100 000 IU。

## 1.2 方法

**1.2.1 液体增菌培养。**每种培养基各配 150 ml 取 10 ml 装于 100 ml 锥形瓶中,用于第 1 代菌体培养;取 100 ml 装于 500 ml 锥形瓶中,用于第 2 代菌体培养。第 1 代种子发酵:从活化的斜面上刮下菌体,接种于 10 ml 液体发酵液中。第 2 代种子发酵:从第 1 代发酵液中取 2 ml 到 100 ml 液体发酵液中。

各菌株培养条件。纳豆芽孢杆菌  $xw1$ :需氧,37 °C,振荡培养 24 h。乳酸菌  $xw2$  厌氧,密封瓶口,37 °C,静置培养 24 h。酵母菌  $xw3$  需氧,30 °C,振荡培养 24 h。

**1.2.2 测定菌体培养液的菌浓度。**取 1 ml 第 2 代种子发酵液,用无菌生理盐水做  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  梯度稀释,取各稀释度菌液 0.1 ml 到凝固的平板,涂步均匀,每个稀释度接种 3 个平板。按以下条件进行培养:纳豆芽孢杆菌  $xw1$  需氧,37 °C 培养箱培养 24 h。乳酸菌  $xw2$  厌氧(用封口纸密封),37 °C 培养箱培养 24 h。酵母菌  $xw3$  需氧,30 °C 培养箱培养 24 h。平板长好后选取菌落数约 10~100 的平板,进行活菌计数,然后计算出菌浓度。

测定相应稀释度菌液的  $OD_{600}$  值,并推算出  $OD_{600}$  与菌浓度的关系,以便计算出菌液的菌浓度。 $OD_{600}$  值与菌浓度的关系式:

$$\text{菌浓度} = (\text{活菌数} / OD \cdot ml) \times OD_{600} \quad (1)$$

## 1.2.3 动物试验<sup>[9]</sup>。

**1.2.3.1 动物试验方案。**挑选生长状况相似的 25 只小白鼠,随机分成 5 组,每组 5 只。每组按不同的菌体配比方案灌胃 1 次/d 0.5 ml/只,连续 7 d。①组(对照组):每天灌胃

0.5 ml 无菌生理盐水。②组:每天灌胃 0.5 ml 纳豆芽孢杆菌  $xw1$  ( $10^8$  cfu/ml)。③组:每天灌胃 0.5 ml 纳豆芽孢杆菌  $xw1$  ( $10^8$  cfu/ml)。④组:每天灌胃 0.5 ml 纳豆芽孢杆菌  $xw1$ :乳酸菌  $xw2$ :酵母菌  $xw3$  = 1:1:1 的混合菌液 ( $10^8$  cfu/ml)。⑤组:每天灌胃 0.5 ml 纳豆芽孢杆菌  $xw1$ :乳酸菌  $xw2$ :酵母菌  $xw3$  = 2:1:1 的混合菌液 ( $10^8$  cfu/ml)。

试验过程中,注意观察小鼠的精神状况、饮食情况、粪便状况、死亡数量。定时定量地添加饲料,并随时注意保持饮用水充足,保持鼠笼足够清洁、干燥,尽量减少环境因素对小白鼠生长的影响。灌胃小白鼠 1 周后,称重,收集粪便。

**1.2.3.2 动物试验检测指标。**检测各组小鼠体重变化,采食总量,计算饲料利用率。小白鼠增重 = 灌胃后体重 - 灌胃前体重;消耗饲料量 = 灌胃过程中每次添加饲料的总量 - 1 周后剩余饲料;饲料利用率 = (小白鼠增重 / 消耗饲料量) × 100%。

计算各组小鼠死亡率。观察各组小鼠是否产生消化道或其他疾病、生长是否正常健康、情绪是否稳定、有无厌食,进行粪便评分。进行肠道菌群检测。肠道菌群检测方法<sup>[10-11]</sup>:无菌操作取每组小白鼠的粪便 0.1 g 用无菌生理盐水做梯度稀释 ( $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ ),各梯度取 0.1 ml 到平板,涂布均匀,根据不同的分离培养基选择不同的培养条件。EMB 培养基(选择培养肠杆菌),菌液菌液稀释度取  $10^2 \sim 10^4$ ,需氧,37 °C 培养箱培养 24 h。肠球菌琼脂(选择培养肠球菌),菌液稀释度取  $10^2 \sim 10^4$ ,需氧,37 °C 培养箱培养 48 h。LBS 培养基(选择培养乳酸杆菌),稀释度取  $10^5 \sim 10^7$ ,封口纸密封,37 °C 培养箱培养 48 h。双歧杆菌分离选择培养基,稀释度取菌液  $10^3 \sim 10^5$ ,封口纸密封,37 °C 培养箱培养 48 h。MYP 培养基(选择培养需氧芽孢杆菌),菌液稀释度取  $10^3 \sim 10^5$ ,需氧,37 °C 培养箱培养 48 h。

## 2 结果与分析

**2.1 液体培养及菌浓度测定** 菌体培养液的  $OD_{600}$  值分别为,酵母菌 5.965 纳豆芽孢杆菌 1.688 乳酸菌 0.241。液体培养物  $OD_{600}$  与浓度的关系:酵母菌为  $1.028 \times 10^7 / OD \cdot ml$  纳豆芽孢杆菌为  $2.399 \times 10^9 / OD \cdot ml$  乳酸菌为  $1.467 \times 10^9 / OD \cdot ml$  新一代菌体培养物的  $OD_{600}$  值:酵母菌为 6.720 纳豆芽孢杆菌为 3.320 乳酸菌为 1.856。

## 2.2 动物试验结果

**2.2.1 日常观察结果。**各组小白鼠生长情况正常,精神状态好,极为活跃,无精神不振情况。可见,3 种试验菌没有对小白鼠造成危害,不具有致病性。

**2.2.2 各组小白鼠体重变化及饲料利用率。**由表 1 可看出,与 1 组(对照组)比较,5 组(纳豆芽孢杆菌  $xw1$ :乳酸菌  $xw2$ :酵母菌  $xw3$  = 2:1:1)小白鼠各项指标增加最大,总增重 5.38 g 饲料利用率为 5.11%。

**2.2.3 肠道菌群中几种主要微生物的检测。**用分离培养基分离、检测小白鼠粪便中的肠杆菌、肠球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌、芽孢杆菌,通过对比检测结果来确定益生菌制剂中微生物的菌种及其比例<sup>[7]</sup>。

检测结果见表 2 表 3

**2.2.3.1 肠杆菌检测。**灌胃的试验组小鼠肠道杆菌中大肠

表 1 小白鼠体重变化与饲料利用情况

Table 1 Change of m ice weight and utilization of feed

组别 G roup	初始体重// g Initial weight	现重// g Current weight	增重// g Weight gain	与对照组比较// g Compared with the CK group	饲料消耗// g Feed consumption	饲料利用率// % Feed utilization rate	与对照组比较// % Compared with CK group
1组(对照)	134.13	137.63	3.50	0.00	94.24	3.71	0.00
2组 G roup 2	134.72	139.46	4.74	1.24	111.85	4.24	0.53
3组 G roup 3	135.43	139.14	3.71	0.21	103.08	3.60	-0.11
4组 G roup 4	133.77	136.00	2.23	-1.27	109.62	2.03	-1.68
5组 G roup 5	135.12	140.50	5.38	1.88	105.23	5.11	1.40

杆菌等正常菌群没有发生明显变化,而某些致病菌如志贺氏菌等数量明显减少(如,第3类型中的变形菌、沙门氏菌、志贺氏菌菌数从  $10^7$  cfu/g 降到  $10^6$  cfu/g 或  $10^5$  cfu/g)。说明该实验研制益生菌制剂对正常菌群没有抑制作用,对致病菌有抑制作用。

**2.2.3.2 肠球菌检测。**挑取紫红色、圆形、表面光滑、直径约 1~2 mm 的菌落进行计数。由表 3 看出,3、5 组的肠球菌数比其他组多 1 个数量级。由于这 2 组灌胃的纳豆芽孢杆菌的量 ( $10^8$  和  $2 \times 10^8$ ) 比其他组 ( $10^8$ ) 大,因此,适量的纳豆芽孢杆菌,有促进肠球菌生长的作用。

表 2 EMB 平板检测不同肠道杆菌

Table 2 EMB plate detection of different enterobacteriaceae

肠道杆菌类型 Type of enterobacteriaceae	EMB 平板检测结果 EMB plate detection results
1(大肠杆菌) <i>E. coli</i>	发酵乳糖、产酸力强、菌落呈绿色并带金属闪光
2(沙雷氏菌、克雷伯氏菌) <i>Serratiae and klebsiella</i>	发酵乳糖、产酸力弱、菌落呈棕色
3(变形菌、沙门氏菌、志贺氏菌) <i>Proteobacteria salmonella and shigella</i>	不发酵乳糖、不产酸、菌落无色透明

表 3 肠道菌群检测结果

Table 3 Detection results of intestinal flora

小鼠组别 G roup of m ice	肠道杆菌生长情况 Growth status of enterobacteriaceae			肠球菌生长情况 Growth status of enterococcus	乳酸杆菌生长情况 Growth status of lactobacillus	双歧杆菌生长情况 Growth status of bifidobacterium	芽孢杆菌生长情况 Growth status of bacillaceae
	第 1 类 First type	第 2 类 Second type	第 3 类 Third type				
1组 Group 1	$7.05 \times 10^7$	$1.05 \times 10^7$	$6.45 \times 10^7$	$3.60 \times 10^7$	$1.08 \times 10^0$	$8.55 \times 10^7$	$6.30 \times 10^7$
2组 Group 2	$1.59 \times 10^7$	$3.00 \times 10^5$	$3.30 \times 10^6$	$4.50 \times 10^7$	$2.40 \times 10^1$	$6.17 \times 10^7$	$1.05 \times 10^8$
3组 Group 3	$1.20 \times 10^7$	$1.95 \times 10^7$	$2.25 \times 10^6$	$3.23 \times 10^8$	$5.25 \times 10^0$	$1.35 \times 10^8$	$1.20 \times 10^0$
4组 Group 4	$1.05 \times 10^7$	$1.50 \times 10^6$	$3.00 \times 10^6$	$2.70 \times 10^7$	$1.35 \times 10^0$	$7.50 \times 10^8$	$6.60 \times 10^8$
5组 Group 5	$3.60 \times 10^7$	$3.00 \times 10^5$	$1.20 \times 10^5$	$3.39 \times 10^8$	$3.60 \times 10^0$	$1.11 \times 10^9$	$1.73 \times 10^9$

**2.2.3.3 乳酸杆菌检测。**挑取乳白色、圆形、表面光滑、湿润、略凸起、直径约 0.2~1.0 mm 的菌落计数。试验组小鼠肠道中的乳酸菌比对照组 ( $1.08 \times 10^{10}$ ) 有不同程度地增加,其中 2 组 ( $2.40 \times 10^{11}$ ) 增加最多。乳酸杆菌是厌氧菌,属于肠道正常菌群,有利于肠道厌氧环境的稳定。因此,该试验的微生物制剂有利于乳酸杆菌菌群的稳定。

**2.2.3.4 双歧杆菌。**挑取计数的菌落呈乳白色、表面光滑、凸起、边缘整齐不透明、质地软、直径约 0.7~4.0 mm。试验组小鼠肠道中的双歧杆菌,比对照组 ( $8.55 \times 10^7$ ) 均有不同程度地增加,5 组 ( $1.11 \times 10^9$ ) 增加最多。双歧杆菌是厌氧菌,是肠道正常菌群,其稳定有利于肠道厌氧环境的稳定。因此,该试验的微生物制剂有利于双歧杆菌菌群的稳定。

**2.2.3.5 芽孢杆菌检测。**挑取计数的菌落呈乳黄色、菌落周围培养基由红色变黄、圆形、较平、边缘不光、直径约 0.5~3.0 mm。小鼠灌胃试验中,3 组灌胃的纳豆芽孢杆菌量 ( $0.5 \times 10^8$  cfu/ml) 最多,因此,肠道菌群检测结果中,芽孢杆菌的量 ( $1.20 \times 10^{10}$  cfu/g 粪便) 也最大。可见,试验小鼠肠道中的芽孢杆菌,与益生菌制剂中的纳豆芽孢杆菌的灌胃量相平衡。

### 3 结论与讨论

试验结果表明,该试验选用的纳豆芽孢杆菌 *xw1* 乳酸菌 *xw2* 和酵母菌 *xw3* 3 种益生菌,有促进动物生长、维持动物

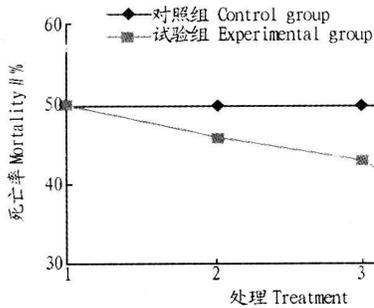
肠道微生态平衡的功效。通过增重率、饲料消耗率的比较及肠道菌群的检测,得到了一个适宜的益生菌复合制剂配方 ( $10^8$  cfu/ml): 纳豆芽孢杆菌 *xw1* 乳酸菌 *xw2* 酵母菌 *xw3* 为 2:1:1。在增重率及饲料利用试验中,3 组和 4 组出现了低于对照组的数据,原因可能是小白鼠的个体差异。

该试验研制的益生菌复合制剂,通过动物试验表明有明显作用。由于时间、设备等条件的限制,试验的动物数量还不够,可进一步扩大试验研究,如:可对该试验得到的益生菌复合制剂的 3 个菌株进行复合发酵条件优化;还可按照该试验得到的益生菌复合制剂的配方配制大量制剂,添加于鸡或猪等家畜家禽的饲料中进行较大规模、较长时间的动物饲养该试验等。

### 参考文献

- [1] FULLER R. A review probiotics in animal[J]. J Appl Bact 1989; 66: 365-378
- [2] FULLER R. Problems and prospects[M] // FULLER R. The Scientific Basis London Chapman and Hall 1992: 377-386
- [3] SOGAARD H, SUHR-JESSEN T. Microbials for feed beyond lactic acid bacteria[J]. Feed International 1990; 11(4): 32-38
- [4] 黄承风. 饲用益生菌[J]. 中国饲料, 1998(2): 24-25
- [5] R. E. 布坎南, N. E. 吉布斯. 伯杰细菌学鉴定手册[M]. 8版. 北京: 科学出版社, 1984: 735
- [6] 张乔. 饲料添加剂大全[M]. 北京: 北京工业大学出版社, 1994
- [7] 郭兴华. 益生菌基础与应用[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2002

(下转第 3643 页)

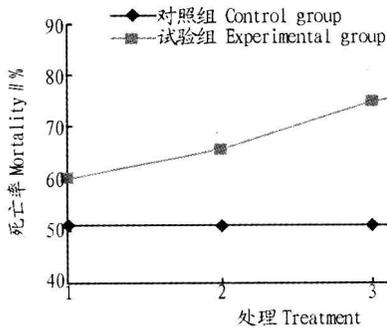


注: 处理 1, 2, 3, 4 分别表示高锰酸钾 + 甲醛为 (0.2 + 0.8)、(0.4 + 0.6)、(0.6 + 0.4)、(0.8 + 0.2) mg/L。

Note Treatments 1, 2, 3, 4 stand for  $\text{KMnO}_4 + \text{HCHO}$  are (0.2 + 0.8), (0.4 + 0.6), (0.6 + 0.4), (0.8 + 0.2) mg/L, respectively.

图 1 高锰酸钾和甲醛对斑节对虾仔虾联合毒性试验

Fig 1 The joint toxicity of  $\text{KMnO}_4$  and HCHO to *Penaeus monodon* postlarvae



注: 处理 1, 2, 3, 4 分别表示聚维酮碘 + 高锰酸钾为 (0.2 + 0.8)、(0.4 + 0.6)、(0.6 + 0.4)、(0.8 + 0.2) mg/L。

Note Treatments 1, 2, 3, 4 stand for PVP-1 +  $\text{KMnO}_4$  are (0.2 + 0.8), (0.4 + 0.6), (0.6 + 0.4), (0.8 + 0.2) mg/L, respectively.

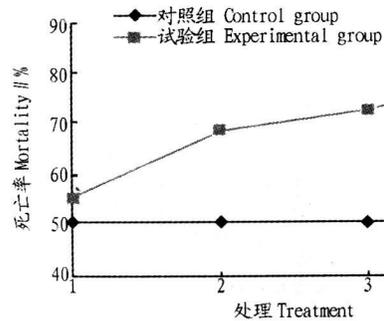
图 2 聚维酮碘和高锰酸钾对斑节对虾仔虾联合毒性试验

Fig 2 The joint toxicity of PVP-1 and  $\text{KMnO}_4$  to *Penaeus monodon* postlarvae

聚维酮碘对凡纳滨对虾仔虾的 24-48 的  $\text{LC}_{50}$  值分别为 7.05、5.26 mg/L,  $\text{SC}$  为 0.35 mg/L<sup>[10]</sup>。这说明虾种类不同、养殖条件不同对同种药物的敏感程度也不同。因此, 在水产苗种的疾病防治中, 也可使用稳定性高的碘三氧和复合 S 高聚碘, 同时还要控制用药量。

该试验中, 斑节对虾仔虾对甲醛的为 3.56 mg/L, 高于郭永军报道的凡纳滨对虾仔虾对甲醛的  $\text{SC}$  (2.62 mg/L)<sup>[10]</sup>, 低于红螯螯虾苗对甲醛的  $\text{SC}$  (108.31 mg/L)<sup>[11]</sup>。该试验斑节对虾仔虾对高锰酸钾的  $\text{SC}$  为 0.48 mg/L, 凡纳滨对虾仔虾为

0.28 mg/L<sup>[10]</sup>、南美白对虾幼虾为  $0.93 \times 10^{-6}$  mg/L<sup>[12]</sup>、中国对虾仔虾为 0.25 mg/L<sup>[13]</sup>、秀丽白虾为 0.13 mg/L<sup>[14]</sup>、罗氏沼虾幼虾为 1.04 mg/L<sup>[15]</sup>, 安全浓度的不同可能与试验动物种类、个体大小、生长阶段及养殖环境有关。



注: 处理 1, 2, 3, 4 分别表示聚维酮碘 + 甲醛为 (0.2 + 0.8)、(0.4 + 0.6)、(0.6 + 0.4)、(0.8 + 0.2) mg/L。

Note Treatments 1, 2, 3, 4 stand for PVP-1 + HCHO are (0.2 + 0.8), (0.4 + 0.6), (0.6 + 0.4), (0.8 + 0.2) mg/L, respectively.

图 3 聚维酮碘和甲醛对斑节对虾仔虾的联合毒性试验

Fig 3 The joint toxicity of PVP-1 and HCHO to *Penaeus monodon* postlarvae

## 参考文献

- [1] 藏维玲, 戴习林, 江敏, 等.  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对斑节对虾幼虾的毒性作用 [J]. 水产科技情报, 2001(28): 198-201
- [2] 邹栋梁, 高淑英. 铜、锌、镉、汞、锰和镉对斑节对虾仔虾急性致毒的研究 [J]. 海洋环境科学, 1994(3): 13-18
- [3] 陈佳荣. 水化学试验指导书 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 25-48
- [4] 周永欣, 章宗涉. 水生生物毒性试验方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1989: 9-205
- [5] 国家环保局《水生生物监测手册》编委会. 水生生物监测手册 [M]. 南京: 东南大学出版社, 1993: 44-51, 106-111
- [6] 邱郁春. 水污染鱼类毒性试验方法 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992: 50-61
- [7] 王颀. 试验设计与 SPSS 应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 125-127
- [8] 张洋, 乔振国. PVP-碘对南美白对虾无节幼体的急性毒性试验 [J]. 海洋渔业, 2002(2): 68-69
- [9] 张建东, 陈刚. 两种消毒剂对罗氏沼虾幼体的急性毒性试验 [J]. 湛江海洋大学学报, 1998 18(1): 9-14
- [10] 郭永军, 白东清, 董少杰, 等. 三种药物对凡纳滨对虾仔虾的毒性研究 [J]. 安徽农业科学, 2010 38(3): 1297-1299, 1302
- [11] 吴志新, 陈孝焯, 唐镇宇. 红螯螯虾对 3 种药物耐受性的研究 [J]. 华中农业大学学报, 2000 19(4): 381-383
- [12] 李广丽, 朱春华. 五种化学消毒剂对南美白对虾的急性毒性试验 [J]. 水产科技情报, 2000 27(6): 243-261
- [13] 宋吉德. 高锰酸钾对中国对虾幼体毒性研究 [J]. 齐鲁渔业, 1993(5): 41-44
- [14] 徐镇, 徐如卫, 周志明, 等. 四种常用渔药对秀丽白虾的急性毒性试验 [J]. 水产科学, 2005 24(7): 29-31
- [15] 叶星, 许淑英, 谢刚, 等. 常用化学消毒剂对罗氏沼虾的急性致毒试验 [J]. 水产科技情报, 1998 25(4): 174-177

(上接第 3640 页)

- [8] 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995
- [9] 周映华. 甘露寡糖对肉鸡生长性能、肠道微生物及免疫功能影响的研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2002

- [10] 赵庶史. 复合生物菌对仔猪生产性能和抗病力的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2002
- [11] 杨林. 微生态制剂对仔猪肠道非特异性免疫防御机能的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2001