

徐亚飞, 曾新福, 乐敏, 等. 丁酸梭菌的生物学功能及其在水产养殖中的应用研究进展[J]. 渔业研究, 2018, 40(5): 408-412.

丁酸梭菌的生物学功能及其在水产养殖中的应用研究进展

徐亚飞¹, 曾新福¹, 乐敏², 李慧¹, 刘金松¹

(1. 浙江惠嘉生物科技股份有限公司, 浙江 安吉 313307;

2. 浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 丁酸梭菌作为一种新型的微生物饲料添加剂, 在畜禽养殖中的研究及应用较多, 但在水产养殖中的应用研究仍处于起步阶段。丁酸梭菌在水产养殖动物中具有维持消化道微生态平衡、改善肠道上皮组织的健康状况、提高机体免疫力和促进营养物质的消化吸收等功能。本文主要对丁酸梭菌的生物学功能及其在水产养殖中的应用研究现状进行综述, 并指出其作为水产饲料添加剂在应用中存在的问题, 同时对其未来发展前景进行了展望。

关键词: 丁酸梭菌; 生物学功能; 水产养殖; 肠道健康; 饲料添加剂

中图分类号: S963.21+1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-5601(2018)05-0408-05

随着水产养殖集约化程度的不断提高, 养殖生态环境的不断恶化及大量抗生素的不合理使用导致水产动物肠道菌群失调, 使其免疫力下降、病害频发, 给水产养殖业造成较为严重的经济损失^[1-2]。微生态制剂因绿色环保、无毒副作用、无残留、作用范围广等优点逐渐成为最有潜力的抗生素替代品^[3]。目前, 光合细菌^[4]、芽孢杆菌^[5]、EM菌^[6]和乳酸菌^[7]等产品已经在水产养殖中得到广泛的应用, 在预防水产动物疾病和净化养殖水环境方面发挥着重要作用。

丁酸梭菌 (*Clostridium butyricum*), 又称酪酸梭菌, 1933年由日本千叶医科大学宫入近治博士首先发现并报告。丁酸梭菌是一种革兰氏阳性、严格厌氧, 能够形成内生芽孢, 可产生丁酸等短链脂肪酸 (SCFA) 的益生菌^[8]。菌体形状为直或微弯, 两端钝圆, 周身鞭毛, 能运动; 孢子圆形或卵圆形, 偏心或次端生。在琼脂平板上

形成白色或奶油色的不规则圆形菌落, 稍突, 表面湿润光滑, 不透明。此菌常存在于土壤、酸奶、动物和人体的肠道等厌氧环境中。丁酸梭菌具有调节肠道微生态平衡, 促进肠道上皮组织再生和修复的作用, 并具有耐高温和耐低 pH 的特性^[9-10]。目前, 丁酸梭菌制剂已被用于人类和畜禽肠道疾病的预防^[11-14]。随着人们对丁酸梭菌研究的不断深入及对水产养殖业健康发展的不懈追求, 丁酸梭菌在水产养殖中的应用研究也逐渐展开。

1 丁酸梭菌的主要生物学功能

1.1 维持消化道微生态平衡

丁酸梭菌可促进消化道内有益菌的增殖并抑制病原菌或腐败菌的异常增殖, 维持消化道微生态平衡, 调理肠道菌群紊乱, 减少肠道毒素的积累。陈秋红等^[15]研究表明丁酸梭菌 CB-7 对肠

收稿日期: 2018-07-23

作者简介: 徐亚飞 (1988-), 男, 江苏宿迁人, 硕士, 主要研究方向为水产微生物学。E-mail: 2316741998@qq.com

道致病菌大肠杆菌、志贺氏菌和沙门氏菌具有较强的抑制作用,同时可显著促进肠道有益菌嗜酸乳杆菌、双歧杆菌的增殖;宋增福等^[16]研究表明丁酸梭菌可有效抑制鱼类肠道病原菌迟缓爱德华氏菌、鳃弧菌和嗜水气单胞菌的生长,其抑菌效果要明显优于硫酸链霉素;宋增福等^[17]研究还表明丁酸梭菌可黏附到鲫鱼的肠道上皮细胞,有效抑制致病性鳃弧菌对肠道上皮细胞的黏附,且对鲫鱼肠道上皮细胞没有损伤。

1.2 改善肠道上皮组织的健康状况

丁酸梭菌在肠道内可代谢产生丁酸。丁酸是肠道上皮组织细胞再生和修复的主要能量来源,具有修复肠道黏膜并降低肠黏膜通透性的功能^[18]。Ling等^[19]研究表明,丁酸梭菌对抗生素导致的肠道黏膜损伤、绒毛破坏及上皮细胞肿胀脱落有明显的修复效果。凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)在被饲喂含有丁酸梭菌的饲料后,肠道上皮细胞层的厚度显著增加,上皮细胞之间的连接更加紧密,微绒毛整齐排列,没有观察到坏死或损伤的肠道细胞^[20]。因此,丁酸梭菌可改善水产动物肠道上皮组织的健康状况。

1.3 提高机体免疫力

丁酸梭菌可提高水产动物的机体免疫力和抗病力。将丁酸梭菌添加到美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)的饲料中,可以提高美国红鱼血清和体表黏液中溶菌酶的活性,同时增强酸性磷酸酶(ACP)和酚氧化酶(PO)的活性,增加血浆中免疫球蛋白M(IgM)的浓度和血清中补体C₃的水平,还可显著提高吞噬细胞呼吸爆发活性,提高美国红鱼的免疫力^[21]。Sakai等^[22]研究表明在饲喂丁酸梭菌后,虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)吞噬细胞的吞噬作用显著增强,白细胞超氧阴离子量显著增加,对弧菌病的抵抗力显著增强,表明丁酸梭菌可通过活化白细胞来增强虹鳟的免疫力。

1.4 促进营养物质的消化吸收

饲喂丁酸梭菌可增加水产动物肠绒毛和肠道上皮细胞微绒毛的高度,使肠道吸收表面积增加,促进肠道对营养物质的吸收^[23];丁酸梭菌可产生纤维素酶、蛋白酶、淀粉酶和糖苷酶等多种促进机体消化的酶类^[24],同时可代谢产生多种维生素,直接为机体提供营养物质。因此,丁

酸梭菌可促进水产动物机体对营养物质的消化和吸收,促进其生长。Nakajima等^[25]研究表明,丁酸梭菌能够在动物肠道中产生裂解酶和果胶甲基化酶,这两种酶可以内切和外切果胶,最终将果胶降解为挥发性脂肪酸(甲酸、乙酸和丁酸),从而增加机体对脂肪酸的吸收利用。Howie等^[26]研究发现丁酸梭菌能够合成烟酸、泛酸、叶酸、维生素B₁、核黄素和吡哆醇等多种维生素,这些维生素是动物机体营养物质代谢和生理功能调节过程中不可缺少的一类物质,具有重要的营养作用。

2 丁酸梭菌在水产养殖中的应用

2.1 在虾类养殖中的应用

在虾类饲料中添加丁酸梭菌可增强虾消化道的消化能力,改善其肠道健康状况,提高机体的免疫力和抗应激能力,促进虾类生长。段亚飞等^[20 27-29]分别在凡纳滨对虾、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)和斑节对虾(*Penaeus monodon*)的配合饲料中添加丁酸梭菌进行投饲试验,结果表明丁酸梭菌可增加凡纳滨对虾肠道短链脂肪酸含量和虾体粗蛋白含量,调节肠道消化能力并增强氨胁迫条件下的肠道免疫机能,促进凡纳滨对虾生长;丁酸梭菌可调节日本囊对虾肠道消化和代谢能力,增加肠道上皮细胞层的厚度和肠道SCFA含量,促进日本囊对虾生长,并能降低饲料系数,增加虾体粗蛋白含量,增强其高温应激条件下的肠道抗氧化能力;丁酸梭菌可增加斑节对虾肠道消化酶活性,促进其生长,并增强亚硝酸盐胁迫下斑节对虾的抗氧化能力和存活能力。刘梦等^[30]研究表明凡纳滨对虾饲料中添加丁酸梭菌可促进其生长并提高血清非特异性免疫水平。Sumon等^[31]对罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的研究结果表明,饲喂含有丁酸梭菌饲料的罗氏沼虾,其胃肠道蛋白酶活性和淀粉酶含量均得到提高,机体免疫力增强,同时养殖过程中常见致病菌哈维氏弧菌的生长受到抑制。吴伟等^[32]在日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)饲料中添加丁酸梭菌,发现丁酸梭菌可显著提高日本沼虾在亚硝酸盐胁迫下的生长率,以及肌肉组织中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,表明丁酸梭菌不仅可以

促进日本沼虾的生长, 而且还能增加日本沼虾对亚硝酸盐污染胁迫的耐受和抵抗能力。

2.2 在鱼类养殖中的应用

丁酸梭菌可调节鱼类肠道微生态平衡, 抑制致病菌的生长, 提高鱼体免疫力, 减少疾病的发生。饲喂含丁酸梭菌 C_2 菌株的饲料, 可促进鲢鱼 (*Müchthy müüy*) 后肠双歧杆菌数量的增长, 抑制大肠杆菌的生长; 巩固假单胞菌优势菌群的地位, 降低不动杆菌属、短杆菌属和肠产气杆菌属细菌的比例^[33]。显然, 饲喂丁酸梭菌可抑制鲢鱼肠道致病菌生长, 从而预防肠道疾病。在鲢鱼的另一项研究中, 饲喂丁酸梭菌后鲢鱼的血清 PO 活力和 ACP 活力显著提高, 血清与体表黏液中的溶菌酶活性、IgM 含量均显著升高, 鱼体生长速度加快, 故丁酸梭菌可提高鲢鱼的体液免疫应答水平并改善其生长性能^[34]。黄灵^[35]在珍珠龙胆石斑鱼 (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) 幼鱼基础饲料中添加丁酸梭菌, 结果表明, 饲料中添加丁酸梭菌可提高珍珠龙胆石斑鱼的生长性能和非特异性免疫能力, 并降低哈维氏弧菌攻毒后珍珠龙胆石斑鱼的累积死亡率。何瑞鹏等^[36]研究表明, 饲料中添加丁酸梭菌或其发酵液 (包含丁酸梭菌及其代谢产物) 对珍珠龙胆石斑鱼生长、消化酶活性和非特异性免疫酶活性均具有促进作用。Gao 等^[37]研究表明, 饲料中添加丁酸梭菌可增加银鲳 (*Pampus argenteus*) 肠道蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性, 提高血清溶菌酶和 SOD 酶活性及 IgM 含量, 从而提高银鲳非特异性免疫功能并促进鱼体生长。刘胜高^[38]研究表明饲料中添加丁酸梭菌可促进翘嘴鲌 (*Culter alburnus*) 生长。将丁酸梭菌添加到鲫鱼基础饲料中可以促进鲫鱼对蛋白质的消化吸收, 提高鲫鱼增重率, 降低发病率, 并减少鲫鱼粪便中氮氮的含量^[39]。

3 存在问题和展望

丁酸梭菌可形成芽孢, 具有耐高温的特性, 可以耐受饲料工业的高温造粒工艺; 其耐低 pH 和耐胆盐的特性^[15], 可使之进入水产动物肠道并能存活生长; 此外, 丁酸梭菌对多种抗生素具有较强的耐受性, 可以与多种抗生素联合使用^[40]。因此, 丁酸梭菌作为饲料添加剂在水产

养殖中具有独特的优势。

目前丁酸梭菌在水产养殖中的应用和研究才刚刚起步, 丁酸梭菌在生产和使用过程中存在的主要问题包括: 1) 不同厂家的丁酸梭菌的菌株来源和发酵水平相差较大, 产品质量良莠不齐; 2) 如何延长丁酸梭菌在水中的保存时间还有待于进一步研究; 3) 对丁酸梭菌在水产动物体内代谢过程的研究较少, 代谢机制还不够明确; 4) 丁酸梭菌与其它菌株协同作用还有待进一步研究。为使丁酸梭菌能在水产养殖过程中发挥作用, 需要注意: 1) 选择具有生物安全性的优良菌株, 并选择具有良好的发酵能力企业生产的产品, 以保证丁酸梭菌的作用效果; 2) 利用微生物基因组学和代谢组学的方法, 探究丁酸梭菌在水产动物体内的代谢过程, 为丁酸梭菌的合理应用提供理论基础; 3) 针对水产养殖动物消化道特点, 寻找与其具有协同作用的菌株, 做出水产养殖用复合微生态制剂; 4) 通过制剂化技术, 筛选菌体保护剂并优化保存条件, 有利于丁酸梭菌被水产动物吸收。总之, 随着丁酸梭菌在水产养殖中应用和研究的深入, 丁酸梭菌产品的生产和应用将更加科学合理, 从而促进水产养殖业的健康发展。

参考文献:

- [1] 孙德文, 詹勇, 许梓荣. 微生态制剂在水产养殖中的应用 [J]. 淡水渔业, 2002, 32 (3): 54 - 57.
- [2] 刘文珍. 水产养殖中微生物的应用及研究进展 [J]. 水产科学, 2010, 29 (1): 57 - 62.
- [3] 王亚敏, 王印庚. 微生态制剂在水产养殖中的作用机理及应用研究进展 [J]. 动物医学进展, 2008, 29 (6): 72 - 75.
- [4] 付保荣, 曹向宇, 冷阳, 等. 光合细菌对水产养殖水质和水生生物的影响 [J]. 生态科学, 2008, 27 (2): 102 - 106.
- [5] 施伟达, 章文敏, 周冬仁, 等. 芽孢杆菌研究进展及其在水产养殖中的应用 [J]. 现代农业科技, 2012, (2): 310 - 311.
- [6] 刘其芝, 李进村. EM 菌液在甲鱼养殖中的应用效果研究 [J]. 现代农业科技, 2011, (15): 322.
- [7] 徐亚飞, 杨锋. 乳酸菌在水产养殖中的应用 [J]. 科学养鱼, 2014, 30 (10): 86.
- [8] 张善亭, 史燕, 张淑丽, 等. 丁酸梭菌的研究应

- 用进展 [J]. 生物技术通报, 2013, (9): 27 - 33.
- [9] 李雄彪, 马庆英, 崔云龙. 酪酸梭菌: 肠道健康的卫士 [M]. 上海: 复旦大学出版社, 2008.
- [10] Cao G T, Xiao Y P, Yang C M, et al. Effects of *Clostridium butyricum* on growth performance, nitrogen metabolism, intestinal morphology and cecal microflora in broiler chickens [J]. Journal of Animal & Veterinary Advances, 2012, 11 (15): 2665 - 2671.
- [11] 夏丽红. 酪酸梭菌活菌散治疗儿童腹泻的疗效及机制 [J]. 中国生化药物杂志, 2012, 33 (2): 184 - 186.
- [12] 张秀江, 胡虹, 张永战, 等. 丁酸梭菌对仔猪和生长肥育猪生产性能的影响研究 [J]. 河南科学, 2015, 33 (10): 1745 - 1749.
- [13] Uyeno Y, Kawashima K, Hasunuma T, et al. Effects of cellooligosaccharide or a combination of cellooligosaccharide and live *Clostridium butyricum*, culture on performance and intestinal ecology in Holstein calves fed milk or milk replacer [J]. Livestock Science, 2013, 153 (1-3): 88 - 93.
- [14] 贾聪慧, 杨彩梅, 曾新福, 等. 丁酸梭菌对肉鸡生长性能、抗氧化能力、免疫功能和血清生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28 (3): 908 - 915.
- [15] 陈秋红, 孙梅, 匡群, 等. 益生菌酪酸菌 CB-7 的生物学特性研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39 (10): 5922 - 5925.
- [16] 宋增福, 吴天星, 宋会仪. 丁酸梭菌 C₂ 菌株对鱼类肠道致病菌体外抑制作用研究 [J]. 水生态学杂志, 2007, 27 (3): 100 - 101.
- [17] 宋增福, 吴天星, 潘晓东. 丁酸梭菌对肠道上皮细胞黏附及对鳃弧菌抑制的研究 [J]. 中国兽药杂志, 2006, 40 (8): 9 - 12.
- [18] 刘婷婷, 张帅, 邓斐月, 等. 谷氨酰胺与丁酸梭菌对断奶仔猪生长性能、免疫功能、小肠形态和肠道菌群的影响 [J]. 动物营养学报, 2011, 23 (6): 998 - 1005.
- [19] Ling Z, Liu X, Cheng Y, et al. *Clostridium butyricum* combined with *Bifidobacterium infantis* probiotic mixture restores fecal microbiota and attenuates systemic inflammation in mice with antibiotic-associated diarrhea [J]. Biomed Research International, 2015, 2015: 582048.
- [20] Duan Y F, Zhang Y, Dong H B, et al. Effect of dietary *Clostridium butyricum* on growth, intestine health status and resistance to ammonia stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 65: 25 - 33.
- [21] 宋会仪. 丁酸梭菌发酵条件的优化及其对美国红鱼免疫指标的影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [22] Sakai M, Yoshida T, Atsuta S, et al. Enhancement of resistance to vibriosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), by oral administration of *Clostridium butyricum* bacterin [J]. Journal of Fish Diseases, 1995, 18 (2): 187 - 190.
- [23] 潘晓东, 吴天星, 宋增福, 等. 丁酸梭菌对鲢鱼肠粘膜结构及肠内短链脂肪酸的影响 [C] // 中国畜牧兽医学动物微生态学分会. 第四届第十次全国学术研讨会暨动物微生态企业战略论坛论文集 (上册). 成都: 中国畜牧兽医学动物微生态学分会, 2010: 5.
- [24] 桂国弘, 徐娥, 杨华, 等. 丁酸梭菌调节肠道健康的作用机制 [J]. 饲料研究, 2016, (22): 42 - 46.
- [25] Nakajima N, Ishihara K, Tanabe M, et al. Degradation of pectic substances by two pectate lyases from a human intestinal bacterium, *Clostridium butyricum* - beijeirnickii group [J]. Journal of Bioscience & Bioengineering, 1999, 88 (3): 331 - 333.
- [26] Howie J W, Baker F. Rumen and caecal micro-organisms as symbionts [J]. Proceedings of the Royal Society of London, 1952, 139 (895): 193 - 196.
- [27] Duan Y F, Zhang Y, Dong H B, et al. Effect of the dietary probiotic *Clostridium butyricum* on growth, intestine antioxidant capacity and resistance to high temperature stress in kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* [J]. Journal of Thermal Biology, 2017, 66: 93 - 100.
- [28] Duan Y F, Dong H B, Wang Y, et al. Effects of the dietary probiotic *Clostridium butyricum* on intestine digestive and metabolic capacities, SCFA content and body composition in *Marsupenaeus japonicus* [J]. Journal of Ocean University of China, 2018, 17 (3): 690 - 696.
- [29] Duan Y F, Zhang J S, Huang J H, et al. Effects of dietary *Clostridium butyricum* on the growth, digestive enzyme activity, antioxidant capacity, and resistance to nitrite stress of *Penaeus monodon* [J]. Probiotics & Antimicrobial Proteins, 2018, (6): 1 - 8.

- [30] 刘梦, 王苓, 田相利, 等. 三种益生菌及其复合菌对凡纳滨对虾生长和血清非特异性免疫的影响 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2017, 47 (S1): 35–41.
- [31] Sumon M S, Ahmmed F, Khushi S S, et al. Growth performance, digestive enzyme activity and immune response of *Macrobrachium rosenbergii* fed with probiotic *Clostridium butyricum* incorporated diets [J]. Journal of King Saud University – Science, 2018, 30 (1): 21–28.
- [32] 吴伟, 吴滢, 瞿建宏. 亚硝酸盐胁迫下丁酸梭状芽孢杆菌对日本沼虾应激代偿的调节 [J]. 中国农学通报, 2011, 27 (20): 97–102.
- [33] 宋增福, 吴天星. 丁酸梭菌 C_2 菌株对鲢鱼肠道菌群影响的研究 [J]. 水生态学杂志, 2007, 27 (4): 91–93.
- [34] Song Z F, Wu T X, Cai L S, et al. Effects of dietary supplementation with *Clostridium butyricum* on the growth performance and humoral immune response in *Miichthys miiuy* [J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2006, 7 (7): 596–602.
- [35] 黄灵. 饲料中添加益生菌对虎龙斑 (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) 幼鱼生长、非特异性免疫和抗病力影响的研究 [D]. 广州: 广州大学, 2017.
- [36] 何瑞鹏, 奉杰, 田相利, 等. 酪酸菌对珍珠龙胆石斑鱼生长、消化酶、血清抗氧化酶和溶菌酶活性的影响 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2017, 47 (11): 15–23.
- [37] Gao Q X, Xiao C F, Min M H, et al. Effects of probiotics dietary supplementation on growth performance, innate immunity and digestive enzymes of silver pomfret, *Pampus argenteus* [J]. Indian Journal of Animal Research, 2016, 50 (6): 936–941.
- [38] 刘胜高. 翘嘴鲌幼鱼消化系统形态学及低氮排放添加剂研究 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2015.
- [39] 刘臻, 鲁双庆, 周毅, 等. 一种含有丁酸梭菌的鲫鱼饲料: CN, 103583900A [P]. 2014–02–19.
- [40] Ferraris L, Butel M J, Aires J. Antimicrobial susceptibility and resistance determinants of *Clostridium butyricum* isolates from preterm infants [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2010, 36 (5): 420–423.

The biological function of *Clostridium butyricum* and its application in aquaculture

XU Yafei¹, ZENG Xinfu¹, LE Min², LI Hui¹, LIU Jinsong¹

(1. Zhejiang Huijia Biological Technology Co., Ltd., Anji 313307, China;

2. College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: *Clostridium butyricum* is a gram-positive, obligate anaerobic and endospore-forming probiotic, which has a high adapting ability to higher temperature and lower pH. As a new kind of microbial feed additive, it has been studied and applied in livestock and poultry breeding, but its application in aquaculture is rarely reported. *C. butyricum* has the function of maintaining the ecological balance in digestive tract, repairing the intestine epithelium, improving the immunity of the organism and promoting the absorption of nutrients in aquaculture. In this paper, we reviewed advances in the biological function and the application in aquaculture of *C. butyricum*, and pointed out problems during the application of *C. butyricum* as feed additive. Some advices were also put forward for further research of *C. butyricum*.

Key words: *Clostridium butyricum*; biological function; aquaculture; intestinal health; feed additive