

文章编号: 1674-7054(2017)03-0241-07

乳酸菌对凡纳滨对虾生长及非特异性免疫力和抗逆性的影响

郑玉^{1,2}, 周永灿^{1,2}, 张永政^{1,3}, 刘树彬^{1,2}, 吴越^{1,2}, 陈鑫^{2,3}, 王世锋^{1,2}

(1. 南海海洋资源利用国家重点实验室, 海口 570228; 2. 海南省热带水生生物技术重点实验室, 海口 570228;

3. 海南大学 海洋学院, 海口 570228)

摘要: 通过拌料投喂的方式, 研究来源于糟粕醋的融合乳杆菌(LAB041) 和植物乳杆菌(LAB1036) 分别对凡纳滨对虾生长、非特异性免疫力和抗逆性的影响。结果表明, 拌料投喂 8 周后, LAB041 可显著提高实验对虾的存活率、终全长、增重率和特定生长率($P < 0.05$), LAB041 和 LAB1036 可显著降低对虾养殖的饲料系数($P < 0.05$)。LAB041 可显著提高实验对虾血清总抗氧化能力(T-AOC) 和血清酸性磷酸酶(ACP) 活性($P < 0.05$), 显著降低对虾的血清超氧化物歧化酶(SOD) 活性($P < 0.05$)。虽然 LAB1036 可提高实验对虾对亚硝酸盐的耐受性和对虾的耐低盐能力, 但单因素方差分析显示各组之间死亡率差异不显著($P > 0.05$), 而 LAB041 和 LAB1036 均可显著降低对虾对高盐度的耐受性($P < 0.05$)。

关键词: 凡纳滨对虾; 乳酸菌; 生长性能; 非特异性免疫; 抗逆性

中图分类号: S 968.22

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2017.03.001

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 是世界三大对虾养殖品种之一, 目前其产量已占全球对虾总产量的一半以上。随着对虾养殖的发展, 各种传染性疾病时有发生, 对养殖产业造成了巨大影响, 经济损失严重^[1-2]。在对虾疾病防治中, 传统的方法主要是使用抗生素等化学药物, 但抗生素等化学药物的使用容易导致养殖产品药物残留以及病原菌产生耐药性, 不符合安全高效和养殖可持续发展的要求^[3-4]。近年来, 益生菌在水产养殖中的应用越来越广泛, 研究表明, 其不仅可促进水产动物生长, 还可提高水产动物的非特异性免疫力, 有助于减少抗生素类药物在水产中的使用, 提高养殖产品质量^[5-7]。其中, 乳酸菌是一类常见的益生菌, 其应用非常广泛。本实验室研究人员从海南地方食材糟粕醋中筛选到 2 株可产细菌素、具有一定粘附能力和抗水产病原菌活性的融合乳杆菌(*Weissella confusa*, LAB041) 和植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*, LAB1036)^[8]。为了解该 2 株乳酸菌作为益生菌的应用前景, 笔者通过拌料投喂, 分别研究其对凡纳滨对虾生长、非特异性免疫力和抗逆性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 凡纳滨对虾苗由海南蓝色海洋有限公司提供, 为 20 日龄(全长约 0.7 cm) 的健康虾苗。乳酸菌为本实验室从海南地方食材糟粕醋中筛选的 2 株细菌: 融合乳杆菌(LAB041) 和植物乳杆菌(LAB1036), 均可产细菌素、具一定粘附能力和拮抗水产病原菌活性。对虾基础饲料为某品牌斑节对虾配合饲料(1[#]料和 2[#]料), 配方为粗蛋白 43%、粗脂肪 6%、灰分 14%、水分 37%。实验组的饵料为以基础饲料分别添加 LAB041 或 LAB1036 菌悬液, 将菌液均匀喷洒于基础饲料制成菌终浓度为 1×10^8 CFU · g⁻¹ 含菌饲料;

收稿日期: 2017-06-11

修回日期: 2017-07-12

基金项目: 国家自然科学基金(31560725); 海洋经济创新发展区域示范项目(12PYY001SF08-HNDX-1); 海南省科技兴海专项(2015XH02); 海南省自然科学基金创新研究团队项目(2016CXTD005)

作者简介: 郑玉(1990-), 女, 海南大学海洋学院 2014 级硕士研究生. E-mail: sasa15828835430@sina.com

通信作者: 王世锋(1977-), 男, 副教授. 研究方向: 水产养殖病害防治. E-mail: shifeng_15@163.com

对照组以基础饲料喷洒与菌液等体积的 PBS 溶液,然后在 25 ℃ 空调房晾干。晾干后的饲料在 4 ℃ 下可保存 10 d。

1.2 实验分组和饲养管理 本实验在海南省儋州市峨蔓镇的海南蓝色海洋有限公司峨蔓基地进行。实验共分 3 组,分别为乳酸菌 LAB041 组、乳酸菌 LAB1036 组和对照组,其中,LAB041 组投喂喷洒了 LAB041 菌液的饲料,LAB1036 组投喂喷洒了 LAB1036 菌液的饲料,对照组投喂喷洒 PBS 的饲料。每组 2 个平行,每个平行小组养殖凡纳滨对虾虾苗 400 尾,实验持续进行 8 周。实验期间日投饵 2 次(投饵时间分别为 9:30 和 19:30),投喂量为对虾体质量的 3%,投喂 1.5 h 后观察对虾摄食情况,并清除残饵,前 3 周投喂 1[#]料,第 4 周后投喂 2[#]料。对虾养殖水体盐度 21,水温(29 ± 2) ℃,持续充氧使溶解氧保持 7.0 mg · L⁻¹ 以上,氨氮含量 0.03 mg · L⁻¹ 以下;实验前 2 周每 2 天换水 50 %,2 周后日换水量为 50 %,直到实验结束。

1.3 生长性能测定 实验开始时测量各小组实验对虾总体质量;实验结束时(8 周)统计各小组存活实验凡纳滨对虾数量,停止投饵 24 h,每小组随机抽取 40 尾对虾,测量全长和称量体质量。计算各组实验凡纳滨对虾的存活率、增重率(WGP)、特定生长率(SGR)和饲料系数。各指标的计算公式如下:

$$\text{存活率}(\%) = (\text{实验结束时存活实验对虾总数} / \text{实验开始时对虾总数}) \times 100;$$

$$\text{增重率}(\%) = (FBW - W_0) / W_0 \times 100;$$

$$\text{特定生长率}(\%/d) = 100 \times (\ln FBW - \ln W_0) / T;$$

$$\text{饲料系数}(\%) = \text{饲料投喂量}(g) / \text{体质量增加量}(g);$$

式中, W_0 代表每组对虾的初始总体质量; FBW 代表实验结束时每组存活对虾的终体质量(根据成活率转换成实验开始时数量的体质量); T 代表实验的持续天数(本实验为 56 d)。

1.4 乳酸菌对对虾非特异免疫功能的影响测定 饲养 8 周后,每小组随机取 30 尾虾,每 10 尾虾抽取的血液混在一起作为 1 个样品,每组共有 6 个样品。抽血时,用 1 mL 无菌注射器从头胸甲下缘插入对虾围心腔腹血窦处取血,并置于 1.5 mL 离心管,与抗凝剂(柠檬酸 26 mmol · L⁻¹,柠檬酸钠 30 mmol · L⁻¹,0.45 mol · L⁻¹ 氯化钠,10 mmol · L⁻¹ EDTA,0.1 mol · L⁻¹ 葡萄糖,pH 7.6) 等体积混匀(共 600 μL),4 ℃ 冰箱静置过夜后,3 000 g 离心 10 min,取上清液(血清),于 -20 ℃ 保存^[9-10]。按南京建成生物工程提供的相关试剂盒说明书测定对虾血清的总抗氧化能力(T-AOC)以及溶菌酶(LZM)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)和超氧化物歧化酶(SOD)活性,按上海酶联生物科技有限公司提供的虾酚氧化酶(PLO)酶联免疫分析试剂盒说明书测定其酚氧化酶(PLO)活性。

1.5 抗逆性实验 饲养 8 周后,取对虾分别进行耐淡水、耐高盐和耐高亚硝酸盐等抗逆性实验,实验在 8 L 的玻璃缸中进行。其中,耐淡水实验分 3 组,第 1 组取 8 L 玻璃缸装入 3 L 淡水,直接放入拌料投喂 8 周乳酸菌 LAB041 的实验对虾;第 2 组 8 L 玻璃缸装入 3 L 淡水,直接放入拌料投喂 8 周乳酸菌 LAB1036 的实验对虾;第 3 组为对照组,取 8 L 玻璃缸装入 3 L 淡水,放入投喂普通基础饲料的实验对虾(即原对照组的实验对虾),每组设置 2 个重复,每个重复小组投放实验对虾 20 尾。耐高盐实验和耐高亚硝酸盐实验参照耐淡水实验进行,其中,耐高盐实验中将各实验组的养殖用水换成盐度为 40 的加盐海水;耐高亚硝酸盐实验中的养殖用水均为盐度 21 的普通海水,并在每个实验组中加入 900 mg 的亚硝酸钠,将亚硝酸盐浓度调至 300 mg · L⁻¹。每组设置 3 个重复,每个玻璃缸投放实验对虾 20 尾,轻微曝气,每隔 1 h 记录对虾的死亡数,直到其中 1 组实验对虾死亡数趋于稳定。

1.6 数据处理 数据分析时,描述性统计值采用平均值 ± 标准差(mean ± SD)表示;差异显著性分析以 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析,当差异显著($P < 0.05$)时用 Duncan 氏法作多重比较。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌对凡纳滨对虾生长性能的影响 对凡纳滨对虾饲喂 8 周后,实验组和对照组的生长指标见表 1。单因素方差分析 Duncan 检验结果表明:添加乳酸菌的 LAB1036 组和 LAB041 组,凡纳滨对虾的存活率分别为 91.25% 和 73.63%,均显著高于对照组的 62.88%;分别添加 2 种乳酸菌的实验组的终全长、增重率和

特定生长率也均高于对照组,其中,投喂 LAB041 的实验组与对照组差异达到显著水平($P < 0.05$);投喂乳酸菌的 2 个实验组的饲料系数均显著低于对照组($P < 0.05$)。

表 1 乳酸菌对凡纳滨对虾生长性能的影响

Tab. 1 Effects of lactic acid bacteria on growth performance of *Litopenaeus vannamei*

参数 Parameter	处理组 Treatment group		
	对照组 Control	LAB1036 组	LAB041 组
存活率/% Survival rate	62.88 ± 37.12 ^a	91.25 ± 8.75 ^b	73.63 ± 26.37 ^b
初始全长/cm Initial length	0.70 ± 0.05	0.70 ± 0.05	0.70 ± 0.05
最终全长/cm Final length	6.10 ± 1.10 ^a	6.70 ± 1.30 ^b	6.60 ± 0.9 ^b
初始体质量/g Initial weight	15.00	15.00	15.00
最终体质量/g Final weight	804.80 ± 40.24 ^a	955.80 ± 40.24 ^{ab}	1056.30 ± 55.33 ^b
增重率/% Weight gain percentage	5 265.33 ± 168.27 ^a	6 302.93 ± 199.38 ^{ab}	6 956.68 ± 283.47 ^b
特定生长率/% Specific growth rate	7.11 ± 0.17 ^a	8.08 ± 0.24 ^c	7.88 ± 0.26 ^b
饲料系数/% Feed conversion ratio	3.19 ± 0.27 ^a	1.83 ± 0.21 ^b	2.06 ± 0.23 ^b

注: 表中的部分数据以平均数 ± 标准差表示,同一行中不同的字母代表不同处理组之间的差异显著($P < 0.05$)

Note: Some figures in the Table are mean ± standard deviation; Different letters in the same row indicate significant difference between different treatment groups($P < 0.05$)

2.2 乳酸菌对凡纳滨对虾非特异性免疫功能的影响 凡纳滨对虾连续饲喂 8 周后,分别添加乳酸菌 LAB041 和 LAB1036 的实验组的对虾血清总抗氧化能力和血清酸性磷酸酶活力均高于对照组,其中,添加乳酸菌 LAB041 与对照组的差异达到显著水平($P < 0.05$) (图 1A, D); 分别添加乳酸菌 LAB041 和 LAB1036 的实验组的对虾血清溶菌酶活性和血清超氧化物歧化酶活力均低于对照组,但各组的血清溶菌酶活性差异不显著($P > 0.05$),而 LAB041 组的超氧化物歧化酶活性显著低于对照组($P < 0.05$) (图 1B, F)。添加乳酸菌 LAB041 和 LAB1036 的实验组的对虾血清碱性磷酸酶活性和血清酚氧化酶活性均高于对照组,但各组间的差异不显著($P > 0.05$) (图 1C, E)。

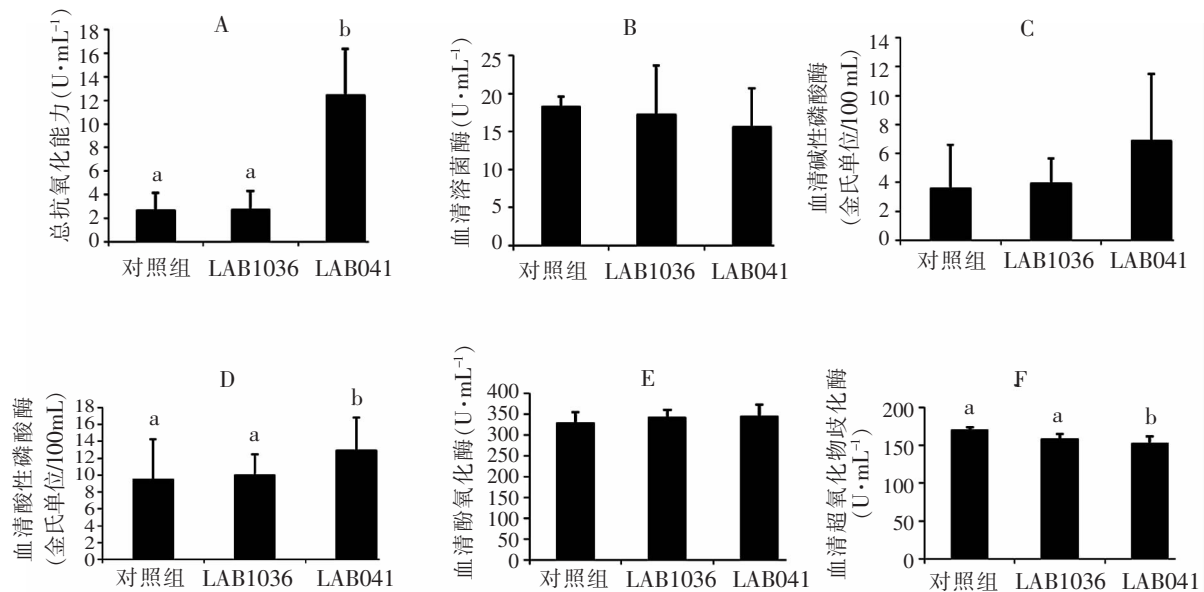


图 1 乳酸菌对凡纳滨对虾血清免疫指标的影响

$n=18$; a, b 代表数据进行单因素方差分析 Duncan 法多重比较存在显著性差异

Fig.1 The effect of lactic acid bacteria on the serum immune index of *litopenaeus vannamei*
 $n=18$; a, b represent significant difference in data analyzed with one way ANOVA followed by Duncan Multiple Range Test

2.3 乳酸菌对凡纳滨对虾盐度耐受性的影响 连续投喂不同含乳酸菌饲料 8 周后,实验凡纳滨对虾对淡水耐受性研究结果见图 2,实验对虾在转移到淡水 1 h 后,对照组最先出现死亡;2 h 后 2 个投喂乳酸菌组的实验对虾也开始出现死亡;此后各组的死亡率逐步上升,至第 8 h 时对照组和 LAB041 组的死亡率均达到 100%,乳酸菌 LAB1036 组的死亡率为 82.5%,虽然该研究结果表明,乳酸菌 LAB1036 可一定程度提高凡纳滨对虾对低盐度的适应能力,但单因素方差分析显示各组之间死亡率差异并不显著($P > 0.05$)。

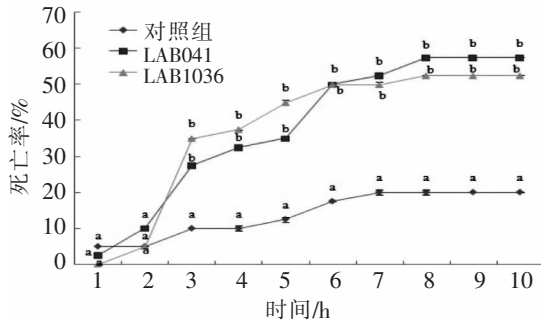


图 2 乳酸菌对凡纳滨对虾耐淡水能力的影响
Fig.2 Effect of lactic acid bacteria on freshwater tolerance of *Litopenaeus vannamei*

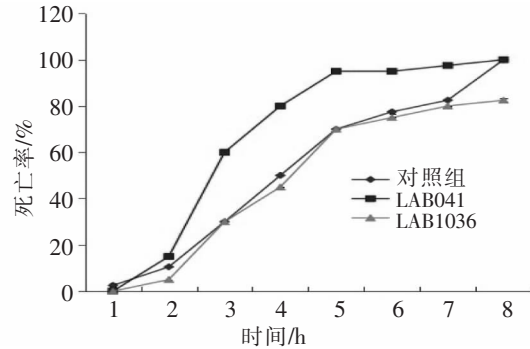


图 3 投喂乳酸菌对凡纳滨对虾耐高盐能力的影响
Fig.3 The effect of lactic acid bacteria on high salty tolerance of *Litopenaeus vannamei*

连续投喂不同含乳酸菌饲料 8 周后,凡纳滨对虾对高盐度($S=40$)的耐受性研究结果见图 3。对虾放入高盐度水中 1 h 内对照组和 LAB041 组均先出现死亡,LAB1036 组从第 2 h 开始死亡,此后,2 个投喂乳酸菌的实验组的死亡率急剧上升,直至第 8 h 后死亡率趋于稳定,分别为 52.5% (LAB1036 组) 和 57.5% (LAB041 组)。对照组虽然从第 2 h 后死亡率也升高,但升高比较缓慢,至第 7 h 后死亡率便趋于稳定,为 20.0%。说明 2 株乳酸菌不仅不能提高凡纳滨对虾对高盐度的适应能力,反而降低了其高盐耐受能力。单因素方差分析自第 3 h 起,2 个乳酸菌组死亡率均显著高于对照组($P < 0.05$)。

2.4 乳酸菌对凡纳滨对虾耐亚硝酸盐能力的影响 凡纳滨对虾投喂含乳酸菌饲料 8 周的耐高亚硝酸盐($300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)胁迫研究结果表明(图 4),1 h 后对照组和乳酸菌 LAB1036 组开始出现死亡,死亡率分别为 5.0% 和 5.0%;此后各组实验对虾死亡率急剧升高,在第 3 h 后出现拐点,此后各组实验对虾死亡率趋于稳定,第 3 h 时 LAB1036 组、LAB041 组和对照组的死亡率依次分别为 60.0%,93.3% 和 81.7%;至实验结束时(94 h),上述各组的死亡率依次分别为 83.3%,93.3% 和 90.0%。结果表明,虽然乳酸菌 LAB1036 可一定程度提高凡纳滨对虾抵抗亚硝酸盐的能力,但单因素方差分析显示各组之间死亡率差异不显著($P > 0.05$)。

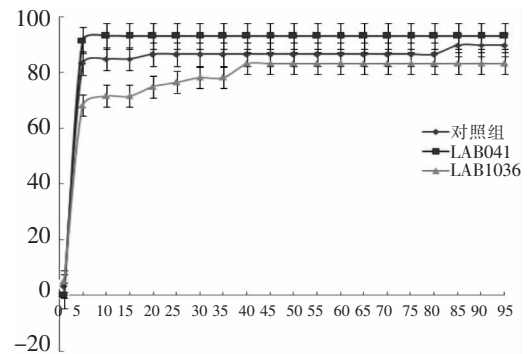


图 4 乳酸菌对凡纳滨对虾耐高亚硝酸盐胁迫的影响
Fig.4 The effect of lactic acid bacteria on high nitrite tolerance of *Litopenaeus vannamei*

3 讨论

大量研究结果表明,乳酸菌具有促进对虾生长,提高存活率,降低饲料系数的作用。如 Kongnum 等^[6]从对虾肠道中分离获得 1 株植物乳杆菌,将其按照 $5.29 \sim 9.47 \text{ log cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度添加到饲料中,饲喂凡纳滨对虾 42 d 后,结果发现该益生菌可显著提高对虾的增重率、特定生长率和存活率,并降低饲料系数等;沙玉杰等^[11]将 2 株乳酸菌(戊糖乳杆菌 HC-2 和屎肠球菌 NRW-2)分别以 $1 \times 10^7 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 添加到对虾饲料中饲喂 4 周,凡纳滨对虾的特定生长率,存活率和增重率(287.46%,257.82%)也得到了显著性提高;Dash 等^[12]将 1 株植物乳杆菌分别以 $10^7, 10^8, 10^9 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 饲喂初始体质量为 $0.53 \sim 0.54 \text{ g}$ 的巨罗氏

沼虾 90 d, 结果表明, 其生长速度均比对照组显著提高, 饲料系数均比对照组显著降低; Zheng 等^[13] 将 1 株植物乳杆菌添加到饲料中, 饲喂初始体质量为 7.87 ~ 8.10 g 的凡纳滨对虾 45 d, 结果其增重率和特定生长率也均显著高于对照组, 饲料系数显著低于对照组。笔者将融合乳杆菌 (LAB041) 和植物乳杆菌 (LAB1036) 添加乳杆菌的实验组饲料中分别饲喂 56 d 后, 凡纳滨对虾的存活率分别为 73.63% 和 91.25%, 显著高于对照组的 62.88%; 特定生长率分别为 7.88% 和 8.08%, 显著高于对照组的 7.11%, 饲料系数分别为 2.06 和 1.83, 显著低于对照组的 3.19, 可见 2 株乳杆菌均可促进凡纳滨对虾生长, 提高存活率, 同时也降低了饲料系数, 与已有投喂植物乳杆菌的研究结果一致。

对虾主要依靠其非特异性免疫系统来抵御外来病原微生物的入侵^[14-15]。大量研究显示, 益生菌可提高对虾的非特异性免疫力, 增强对虾整体抗病力。Dash 等^[12] 将植物乳杆菌拌料饲喂罗氏沼虾 90 d, 其血清酚氧化酶 (PLO) 和呼吸爆发活性均显著升高。Tseng 等^[16] 将枯草芽孢杆菌拌料投喂凡纳滨对虾 98 d 后, 凡纳滨对虾的 PLO 和吞噬活性明显上升。Chiu 等^[17] 研究了植物乳杆菌对凡纳滨对虾主要非特异性免疫指标的影响, 发现不论用 10^7 cfu · kg⁻¹ 还是 10^{10} cfu · kg⁻¹ 的添加浓度拌料投喂, 均可在 168 h 内显著提高对虾的 PLO 和 SOD 活性。本研究结果表明, 源自糟粕醋的融合乳杆菌 LAB041 和植物乳杆菌 LAB1036 也同样可提高凡纳滨对虾血清总抗氧化能力 (T-AOC)、酸性磷酸酶 (ACP) 活性、酚氧化酶 (PLO) 活性和碱性磷酸酶 (AKP) 活性。

不同种类的菌株对生物非特异性免疫力的影响存在差异。添加融合乳杆菌 LAB041 的实验组的 T-AOC 和 ACP 活性显著高于添加植物乳杆菌 LAB1036 的实验组, 但血清 SOD 活性却显著低于添加 LAB1036 的实验组。Hao 等^[1] 对比了鲍鱼希瓦氏菌 (*Shewanella haliotis* D4)、蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus* D7) 和嗜水气单胞菌 (*Aeromonas bivalvium* D15) 对凡纳滨对虾非特异免疫力的影响, 结果发现 3 种益生菌对凡纳滨对虾的影响也不同, 其中, 鲍鱼希瓦氏菌可提高凡纳滨对虾的血清 ACP, SOD, 呼吸爆发和血清溶菌酶 (LZM) 活性, 嗜水气单胞菌可显著提高 ACP, SOD 和呼吸爆发活性, 但蜡状芽孢杆菌仅能显著提高 ACP 活性。

甲壳类对相关刺激的应激力相对比较低等, 张洪玉等^[18] 在研究中国明对虾的盐度耐受实验时, 发现骤变对其影响甚大, 且中国明对虾对盐度具有一定耐受力。目前大多数关于水产动物的耐盐实验只做了低盐度^[19-21], 笔者仅选取盐度和亚硝酸盐 2 个胁迫因子进行了抗逆性探讨。在盐度实验中, 2 株乳酸菌均未能提高凡纳滨对虾对高盐度的耐受力, 而在淡水中添加植物乳杆菌 LAB1036 可一定程度提高凡纳滨对虾对淡水的耐受能力, 这与 Zheng 等^[13] 和 Dawood 等^[2] 研究报道植物乳杆菌可提高对虾耐受低盐度能力的结果一致。Wang 等^[21] 对凡纳滨对虾饲喂绿原酸显著提高了其低盐度和亚硝酸盐耐受力; 陆家昌等^[23] 使用 ($1.25 \times 10^4 \sim 1.25 \times 10^6$) cfu · mL⁻¹ 枯草芽孢杆菌投放凡纳滨对虾幼体养殖水环境中, 发现凡纳滨对虾幼体抗亚硝酸盐能力得到显著增强。本实验结果表明, 植物乳杆菌 LAB1036 也可一定程度提高凡纳滨对虾对亚硝酸盐的耐受力, 但融合乳杆菌 LAB041 不仅不能提高凡纳滨对虾对亚硝酸盐的耐受力, 甚至还会一定程度降低凡纳滨对虾对亚硝酸盐的耐受力。外部环境因素通常被看成诱发各种疾病的因子^[24], 如盐度和亚硝酸盐, 有研究表明, 盐度和亚硝酸盐氮胁迫能降低凡纳滨对虾的免疫力, 增加其对副溶血弧菌的易感性^[25-26]。笔者添加 LAB1036 饲料饲喂的凡纳滨对虾在淡水中耐受, 同时其抵抗亚硝酸盐的能力也得到提高, 可见这株菌株可以增强对虾的抗逆性, 优于 LAB041。

参考文献:

- [1] Hao K, Liu J Y, Ling F, et al. Effects of dietary administration of *Shewanella haliotis* D4, *Bacillus cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15, single or combined, on the growth, innate immunity and disease resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei* [J]. *Aquaculture*, 2014, s 428/429(3): 141 - 149.
- [2] Chai P C, Song X L, Chen G F, et al. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus* PC465 isolated from the gut of *Fenneropenaeus chinensis*, improves the health status and resistance of *Litopenaeus vannamei*, against white spot syndrome virus [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 54: 602 - 611.

- [6] Jiang H F, Liu X L, Chang Y Q, et al. Effects of dietary supplementation of probiotic *Shewanella colwelliana* WA64, *Shewanella olleyana* WA65 on the innate immunity and disease resistance of *Abalone*, *Haliotis discus hannai* Ino [J]. Fish & Shellfish Immunol, 2013, 35 (1): 86 - 91.
- [7] Pandiyan P, Balaraman D, Thirunavukkarasu R, et al. Probiotics in aquaculture [J]. Drug Invent, 2013, 5: 55 - 59.
- [8] Kongnum K, Hongpattarakere T. Effect of *Lactobacillus plantarum* isolated from digestive tract of wild shrimp on growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) challenged with *Vibrio harveyi* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2012, 32 (1): 170 - 177.
- [9] Maeda M, Shibata A, Biswas G, et al. Isolation of Lactic Acid Bacteria from Kuruma Shrimp (*Marsupenaeus japonicus*) Intestine and Assessment of Immunomodulatory Role of a Selected Strain as Probiotic [J]. Mar Biotechnol, 2014, 16: 181 - 192.
- [10] Sha Y, Wang L, Liu M, et al. Effects of lactic acid bacteria and the corresponding supernatant on the survival, growth performance, immune response and disease resistance of *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2016, 452: 28 - 36.
- [11] 郑玉. 糟粕醋源乳酸菌对棕点石斑鱼和凡纳滨对虾生长及非特异性免疫的影响 [J]. 海口: 海南大学, 2017.
- [12] Navinchandran M, Iyapparaj P, Moovendhan S, et al. Influence of probiotic bacterium *Bacillus cereus*, isolated from the gut of wild shrimp *Penaeus monodon*, in turn as a potent growth promoter and immune enhancer in *P. monodon* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 36(1): 38 - 45.
- [13] Alagappan K, Karuppiiah V, Deivasigamani B. Protective effect of phages on experimental *V. parahaemolyticus* infection and immune response in shrimp (Fabricius, 1798) [J]. Aquaculture, 2016, 453: 86 - 92.
- [14] 沙玉杰. 乳酸菌对凡纳滨对虾益生机理的研究 [J]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2016.
- [15] Dash G, Raman R P, Prasad K P, et al. Evaluation of *Lactobacillus plantarum*, as feed supplement on host associated microflora, growth, feed efficiency, carcass biochemical composition and immune response of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, (de Man, 1879) [J]. Aquaculture, 2014, 432(3): 225 - 236.
- [16] Zheng X T, Duan Y F, Dong H B, et al. Effects of dietary *Lactobacillus plantarum*, in different treatments on growth performance and immune gene expression of white shrimp *Litopenaeus vannamei*, under normal condition and stress of acute low salinity [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 62: 195 - 201.
- [17] Sritunyalucksana K. Activation of prophenoloxidase, agglutinin and antibacterial activity in haemolymph of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, by immunostimulants [J]. Fish & Shellfish Immunology, 1999, 9(1): 21 - 30.
- [18] 郝凯. 南美白对虾专用益生菌研究 [J]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.
- [19] Tseng D Y, Ho P L, 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.
- [20] Chiu C H, Guu Y K, Liu C H, et al. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 23(2): 364 - 377.
- [21] 张洪玉, 罗坤, 孔杰, 等. 近交对中国明对虾生长、存活及抗逆性的影响 [J]. 中国水产科学, 2009, 16(5): 744 - 750.
- [22] Zhao J, Ai Q, Mai K, et al. Effects of dietary phospholipids on survival, growth, digestive enzymes and stress resistance of large yellow croaker, *Larimichthys crocea* larvae [J]. Aquaculture, 2013, 340/411(11): 122 - 128.
- [23] Russo D J, Watanabe W O, Kinsey S T, et al. Effects of feeding frequency of live prey on larval growth, survival, resistance to hyposalinity stress, Na⁺/K⁺, ATPase activity, and fatty acid profiles in black sea bass *Centropristis striata* [J]. Aquaculture, 2017, 470: 56 - 67.
- [24] Wang Y, Li Z, Li J, et al. Effects of dietary chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and combined stress of low - salinity and nitrite. [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 43(2): 337 - 345.
- [25] Dawood M A O, Koshio S, Ishikawa M, et al. Effects of heat killed *Lactobacillus plantarum*, (LP20) supplemental diets on growth performance, stress resistance and immune response of red sea bream, *Pagrus major* [J]. Aquaculture, 2015, 442 (6): 29 - 36.
- [26] 陆家昌, 黄翔鹤, 李活, 等. 枯草芽孢杆菌改善水质提高凡纳滨对虾幼体抗逆性的研究 [J]. 齐鲁渔业, 2010, 27(3): 1 - 4.
- [27] Le M G, Haffner P. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. [J]. Aquaculture, 2000, 191(1): 121 - 131.
- [28] Wang L U, Chen J C. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*

- at different salinity levels. *Fish Shellfish Immunol* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2005, 18(4): 269–278.
- [6] Chand R K, Sahoo P K. Effect of nitrite on the immune response of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii*, and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila* [J]. *Aquaculture*, 2006, 258(1/2/3/4): 150–156.

Effects of Lactic Acid Bacteria on Growth, Non-specific Immunity and Stress Resistance of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*

ZHENG Yu^{1,2}, ZHOU Yongcan^{1,2}, ZHANG Yongzheng^{1,3}, LIU Shubin^{1,2},
WU Yue^{1,2}, CHEN Xin^{2,3}, WANG Shifeng^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China;

2. Hainan Key Laboratory for Tropical Hydrobiology and Biotechnology, Haikou, Hainan 570228, China;

3. College of Marine Sciences, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: Two strains of the genera *Lactobacillus* of bacteria, *Weissella confusa* (LAB041) and *Lactobacillus plantarum* (LAB1036), isolated from Dross vinegar in Hainan were used to feed healthy larvae (20 days old) of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to observe their effect on growth performance, non-specific immunity and stress resistance of the Pacific white shrimp. The results showed that the survival rate, final length, weight gain percentage and specific growth rate of the Pacific white shrimp treated after 8 weeks were significantly higher in the LAB041 group than in the control group ($P < 0.05$). There was significantly lower feed conversion ratio in the LAB041 and LAB1036 groups than in the control group ($P < 0.05$). The results of non-specific immunity parameters showed that the Pacific white shrimp fed the diets containing *W. confusa* (LAB041) had significantly higher activity of total antioxidant capacity (T-AOC) and acid phosphatase (ACP) than the control group ($P < 0.05$), and significantly lower superoxide dismutase (SOD) activity than the control group ($P < 0.05$). The results of stress resistance experiment show that feeding the diets containing LAB1036 improved the tolerance of the Pacific white shrimp to nitrite and low level of salinity. However a single factor analysis of variance showed that there was no significant difference in mortality between the groups ($P > 0.05$). Feeding the diets containing LAB041 and LAB1036 significantly reduced the tolerance of shrimp to high salinity ($P < 0.05$).

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; lactic acid bacteria; growth performance; non-specific immunity; stress resistance