

# 德氏乳杆菌对鸡肠道菌群的影响

许禔森 (德州学院生物系, 山东德州 253023)

**摘要** [目的]探索德氏乳杆菌对鸡肠道菌群的影响。[方法]从肉鸡肠黏膜上分离培养制备试验菌株。在 45 只肉鸡雏苗中投喂添加由单一德氏乳杆菌制备的微生态制剂和土霉素, 在 55 d 的投喂期内, 采用平板计数法检测好氧性异养菌、鸡伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和德氏乳杆菌的数量。[结果]从肉鸡肠黏膜上分离培养得到 6 株菌, 均为 G<sup>+</sup>菌, 生理生化鉴定表明, S2 为嗜酸乳杆菌, S4 为德氏乳杆菌乳亚种, S6 为德氏乳杆菌德氏亚种, S1、S3 和 S5 为粪肠球菌。在投喂冻干菌粉 30 d 后德氏乳杆菌数量达到稳定并在肠道内定植。同时, 由于德氏乳杆菌的抑制作用, 肠道中的鸡伤寒沙门氏菌数量下降最明显。德氏乳杆菌对鸡肠道的好氧性异养菌没有任何影响。[结论]德氏乳杆菌对鸡肠道菌群的影响与抗生素具有相近的效果, 表明德氏乳杆菌作为饲料添加剂可以取代抗生素应用在肉鸡的养殖中。

**关键词** 德氏乳杆菌; 肠道菌群; 抗生素

**中图分类号** S831.7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)08-03228-02

Effect of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* on the Micro Flora in Broiler Gut

XU Zhi-sen (Department of Biology, Dezhou University, Dezhou, Shandong 253023)

**Abstract** [Objective] The aim was to explore the influences of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* on the micro flora in broiler gut. [Method] Experimental lactic acid bacteria (LAB) were isolated from intestinal mucous of broiler gut. Forty-five broilers were reared on feed supplement with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* alone and oxytetracycline. After 55 days of feeding, the total numbers of aerobes, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* were measured by plate colony count. [Result] Six strains were isolated from intestinal mucous of broiler gut. According to their physiological and biochemical characteristics, 3 strains were identified as belonging to the genus of *Lactobacillus*: S2 as *Lactobacillus acidophilus*, S4 as *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, S6 as *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*. Other 3 strains were identified as *Enterococcus faecalis*. After 30 days administrated with lyophilized bacteria, *Lactobacillus acidophilus* colonized in the broiler gut with stable number. The number of *Salmonella typhimurium* reduced because of the inhibitory effect of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*. But it had no effects on aerobes in broiler gut. [Conclusion] The influences of *Lactobacillus acidophilus* on the micro flora in broiler gut were similar to those of oxytetracycline. It was suggested that LAB additive could be used in broiler farming as substituting for antibiotics.

**Key words** *Lactobacillus delbrueckii*; Intestinal micro flora; Antibiotic

乳酸菌不是鸡肠道内的优势菌群, 但目前普遍认为乳酸菌是鸡肠道的正常菌群成员<sup>[1-2]</sup>。国外的大量研究表明, 禽类乳酸菌能产生抗菌物质, 从而对一些致病菌具有抑制作用。在禽类养殖中, 饲喂添加乳酸菌的饲料可达到抵御致病菌侵袭, 提高苗种的成活率, 有促进生长的作用。为此, 笔者以分离自肉鸡的德氏乳杆菌为材料, 在对其进行了生物学特性和体内定植研究的基础上, 研究其对肉鸡肠道菌群的影响, 旨在进一步评价其作为益生菌的应用效果。

## 1 材料与方法

1.1 菌株的分离鉴定 无菌采集 30 日龄肉仔鸡空肠, 用

灭菌载玻片刮取肉鸡空肠黏液, 用适量无菌生理盐水稀释。平板涂布法接种于 MRS 培养基, 37 °C 培养 48 h。挑取形态不同的菌落分别划线接种纯培养, 分别对所得纯培养物进行革兰氏染色和生理生化试验以进行属种的鉴定。

1.2 菌株的分离鉴定 从鸡肠黏膜中分离到的 6 株乳酸菌, 编号分别为 S1、S2、S3、S4、S5、S6 (表 1), 经过鉴定并与《乳酸细菌分类鉴定及实验方法》<sup>[3]</sup> 对照表明: S2 为嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus*); S4 为德氏乳杆菌乳亚种 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*); S6 为德氏乳杆菌德氏亚种 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*); S1、S3 和

表 1 乳酸菌的鉴定  
Table 1 Identification of lactic acid bacteria

菌株编号 Strain No.	葡萄糖 Glucose	精氨酸 Arginine	乳糖 Lactose	蔗糖 Sucrose	纤维二糖 Cellubiose	七叶灵 Aesculin	果糖 Fructose	阿拉伯糖 Arabinose	葡萄糖酸盐 Gluconate	麦芽糖 Maltose	甘露糖 Mannose	甘露醇 Mannitol	松三糖 Melibiose	山梨醇 Sorbitol
S1	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-
S2	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
S3	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
S4	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+
S5	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+
S6	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-

注: +表示阳性反应; -表示阴性反应。Note: + stands for positive reaction; - stands for negative reaction.

S5 为粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*)。

1.3 试验用乳酸菌微生态制剂的制备 德氏乳杆菌用 LBS 液体培养基, 在 30 °C 培养 3 d; 以 5 000 r/min 离心 15 min 收集菌体, 经生理盐水重悬后制成菌悬液; 菌悬液用含 20% 脱

脂乳的悬浊液冻干, 加适量乳糖混合后制成干菌粉。

1.4 试验用鸡苗 试验用鸡苗全部购自德州平原肉鸡养殖场, 挑选羽毛整洁, 喙、腿、翅、趾无残缺, 动作灵活, 两腿站立坚实, 挣扎有力, 叫声宏亮而清脆的雏鸡。育雏期 (0~15 d)、中鸡期 (16~35 d)、育肥期 (36~55 d) 饲料中粗蛋白质含量分别为 24%、19%、17%。每天分早、晚各投食 2 次, 投喂量以饱食为标准。试验前暂养 5 d。

1.5 试验分组及投喂方法 试验用鸡随机分为 3 组, 分别

基金项目 德州市科学技术攻关项目 (042102)。

作者简介 许禔森 (1969-), 男, 山东德州人, 硕士, 副教授, 从事微生物方面研究, E-mail: jnxxx123@163.com。

收稿日期 2007-11-28

为乳杆菌冻干菌粉组、土霉素组 and 对照组。每组 3 个重复, 每个重复 15 只鸡。饲料以鱼粉、豆粕为主要原料配制, 除试验组分别添加德氏乳杆菌 (每克饲料约含菌  $3.0 \times 10^9$  cfu) 和 5 mg/kg 土霉素外, 其余各种成分均相同。

## 1.6 肠道菌群的检测

**1.6.1 取样。**在投食后的 0、15、30、45、55 d 分别取样检测肠道菌群的数量。具体方法是: 每个重复随机取 5 只鸡, 无菌打开腹腔, 分离肠道。肠道样品经称重后加无菌生理盐水匀浆, 然后进行 10 倍稀释。

**1.6.2 细菌计数。**用肉汤培养基检测好氧性异养菌总数, 用 EEM 培养基检测鸡伤寒沙门氏菌总数, 用 Baird-Parker 培养基检测金黄色葡萄球菌总数, 用 LBS 培养基检测德氏乳杆菌的数量。取  $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$  3 个稀释度, 每个稀释度各 30  $\mu$ l 滴种于 EEM、Baird-Parker 和 LBS 培养基平板。每个稀释度 3 个平行, 于 28  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养, 24 h 后计数 EEM 和 Baird-Parker 培养基平板上的菌落数, LBS 培养基平板培养 72 h 后计数德氏乳杆菌的菌落数。菌数以每克消化道组织中细菌个数的对数 (lgN) 表示。

## 2 结果与分析

由图 1~3 可知, 在整个试验期内, 各组鸡肠道中的异养菌总数均很高, 在 30 d 后, 异养菌总数基本稳定在  $10^8$  cfu/g。而对照组鸡伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌数量也呈现相似的上升趋势, 德氏乳杆菌的数量较少, 在试验期内略微有所增加, 最高达  $5 \times 10^7$  cfu/g。在 2 个试验组中, 鸡伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌数在前 30 d 有较大的下降, 尤其是鸡伤寒沙门氏菌菌数下降明显, 随后基本稳定, 控制在  $10^6$  cfu/g, 远远低于对照组的  $10^8$  cfu/g。而德氏乳杆菌数量在土霉素组变化幅度不大, 与对照组的数量和变化趋势相似。冻干菌粉组德氏乳杆菌数量则有较大幅度的上升, 在 30 d 左右基本稳定在  $10^6$  cfu/g。

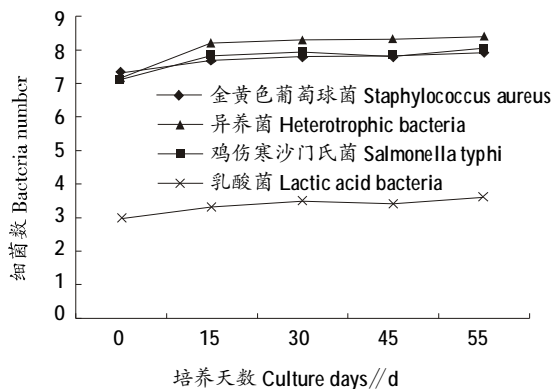


图 1 对照组肠道中菌数变化

Fig. 1 Changes of intestinal bacteria number in control group

## 3 结论与讨论

乳酸菌在禽类动物中定植无明显的宿主特异性。在该试验中, 在饲料中添加由单一德氏乳杆菌制备的微生态制剂, 在冻干菌粉组乳酸菌的数量在整个试验期内都有较大幅度的增加, 特别是在肠道中的数量由最初的  $10^3$  cfu/g 上升到  $10^6$  cfu/g。而在德氏乳杆菌数量上升的同时, 鸡伤寒沙门氏菌和金黄色葡萄球菌的数量呈下降趋势, 其中以肠道

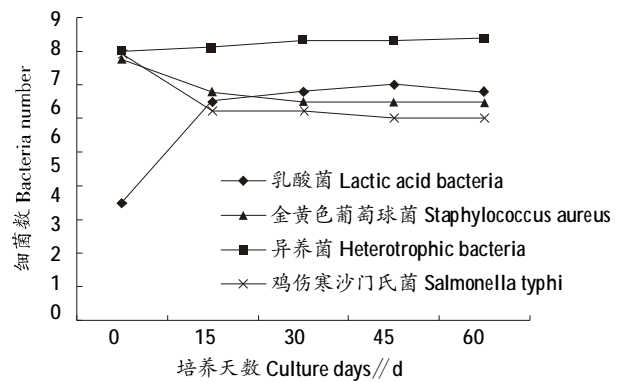


图 2 冻干菌粉组肠道中菌数变化

Fig. 2 Changes of intestinal bacteria number in lyophilized bacteria powder group

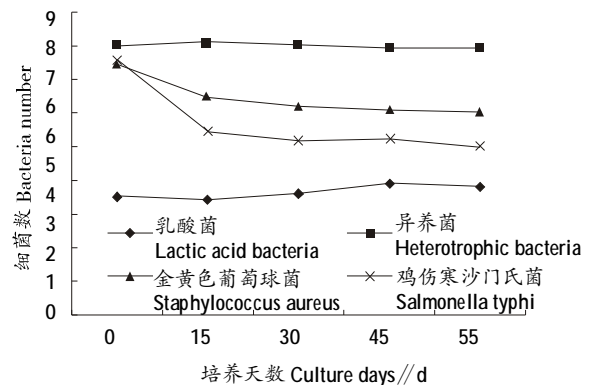


图 3 土霉素组肠道中菌数变化

Fig. 3 Changes of intestinal bacteria number in oxytetracycline group

中鸡伤寒沙门氏菌的数量下降最为明显。说明乳酸菌德氏乳杆菌可以在鸡肠道中定植, 并控制肠道中的鸡伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌数量。在试验过程中的前 5 d, 乳酸菌在鸡肠道中定植并拮抗肠道中致病细菌增殖的现象特别明显, 这是通过乳酸菌的作用达到调整肠道菌群的结果, 但是对肠道的好氧性异养菌没有影响。虽然德氏乳杆菌不是肠道内的优势菌群, 即使在大量投喂该菌后, 其在肠道菌群中的构成数量也很小, 但在肠道内稳定定植的德氏乳杆菌抑制了肠道内鸡伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌数量的增加。在投喂德氏乳杆菌后, 通过各指标检测发现, 可以达到与投喂抗生素相近的效果。乳酸菌作为饲料添加剂, 其效果与抗生素类似, 有可能取代抗生素。

综上所述, 从鸡肠道分离的德氏乳杆菌具有促进鸡肠道乳酸菌数量增加, 降低消化道鸡伤寒沙门氏菌、金黄色葡萄球菌数量, 调整肠道菌群构成的作用, 进而提高鸡的成活率和生产性能。德氏乳杆菌适合在肉鸡养殖中作为益生菌广泛应用。

## 参考文献

- [1] FULLER R. Probiotics in man and animals [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1989, 66: 365-378.
- [2] EHRMANN M A, KURZAK P, BAUER J, et al. Characterization of Lactobacilli towards their use as probiotics adjuncts in poultry [J]. Journal of Applied Microbiology, 2002, 92: 966-975.
- [3] 凌代文. 乳酸细菌分类鉴定及实验方法 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 40-45.