

地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡肠道组织结构及盲肠微生物区系的影响

陈家祥 张仁义 王全溪 杨贤芳妹 王长康*

(福建农林大学,福州 350002)

摘要: 本文旨在研究地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡的肠道组织结构及其盲肠微生物区系的影响。试验选用 300 只 1 日龄肉鸡,随机分为 5 组,每组设 4 个重复,每个重复 15 只。I 组为对照组,饲喂基础日粮,不添加任何抗生素;II 组、III 组、IV 组为试验组,分别在基础日粮中添加 50、100 和 200 mg/kg 的地衣芽孢杆菌;V 组为抗生素组,在基础日粮中添加 30 mg/kg 的杆菌肽锌和 6 mg/kg 的硫酸抗敌素。试验期为 70 d。结果表明,在 28 日龄时,II 组绒毛高度较 I 组增高了 11.35%,较 V 组提高了 5.81%,II 组肉鸡盲肠中大肠杆菌数量较 I 组显著降低($P < 0.05$),乳酸杆菌和双歧杆菌数量显著高于 V 组($P < 0.05$);70 日龄时,III 组和 IV 组肉鸡肠道隐窝深较 I 组分别变浅了 25.67% 和 24.72%,差异显著($P < 0.05$),试验组肉鸡盲肠中大肠杆菌数较 I 组显著降低($P < 0.05$),II 组乳酸杆菌和双歧杆菌数量显著高于 V 组($P < 0.05$)。由此可见,日粮中添加地衣芽孢杆菌有益于肉鸡的肠道发育和盲肠微生物区系平衡,饲养前期 50 mg/kg 添加水平,饲养后期 200 mg/kg 添加水平显著优化了肉鸡的肠道组织结构,抑制了盲肠中有害菌的生长。

关键词: 地衣芽孢杆菌;麻羽肉鸡;肠道组织结构;微生物区系

中图分类号: S831.1;S816.7

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2010)03-0757-05

近年来,益生菌在食品或饲料行业成为热门名词,它是由动物体内有益微生物成员(益生菌)及其代谢产物经特殊加工制成的。益生菌具有无毒副作用、无耐药性、无残留、低成本、效果显著的特点^[1]。益生菌主要有芽孢杆菌、酵母菌、乳酸菌和双歧杆菌等,其中地衣芽孢杆菌是芽孢杆菌中最有潜力的菌种之一。随着对益生菌的研究不断深入,国内外对于地衣芽孢杆菌特性及各方面应用的研究日益增多^[2-7],地衣芽孢杆菌能产生多种抗生素,包括脂肽类、肽类、磷脂类、多烯类、氨基酸类、核酸类物质,对多种动植物及人类病原菌起到很好的抑制作用^[8]。地衣芽孢杆菌应用在医药方面已相当成熟了,但是对于在饲料加工及其他行业都处于刚刚起步状态,尤其在肉鸡的肠道组织结构及其盲肠微生物区系的影响方面研究较少,因此拥有相当广阔的发展空间。本文旨在通过饲养试验研究地衣芽孢杆菌对肉鸡的肠道组织结构及其盲肠微生物区系的影响,并与抗生素作用效果进行比较分析,得出其适宜添加量,为地衣芽孢杆菌在肉鸡生产中的应用提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

地衣芽孢杆菌活菌制剂,活菌总含量 200 亿/g,由厦门六维生物科技有限公司提供。

1.2 试验设计与日粮

麻羽肉鸡苗(公)由莆田广东温氏家禽有限公司提供。试验于福建农林大学家禽试验场进行,选择 1 日龄麻羽肉鸡 300 只,随机分为 5 组,每组设 4 个重复,每个重复 15 只。I 组为对照组,饲喂基础日粮;II 组、III 组、IV 组为试验组,分别在基础日粮中添加 50、100 和 200 mg/kg 地衣芽孢杆菌制剂;V 组为抗生素组,在基础日粮中添加 30 mg/kg 的杆菌肽锌和 6 mg/kg 的硫酸抗敌素。饲养试验时间为 70 d。基础日粮参照 NRC(1984)肉鸡营养需要配制,基础日粮组成及营养水平见表 1。

1.3 样品的采集和检测指标

1.3.1 取样

试验鸡只在屠宰前禁食 12 h,分别于 28 日龄和

收稿日期:2009-10-12

基金项目:福建省科技重大专项(2006NZ0003-3)

作者简介:陈家祥(1951-),男,福建大田人,副教授,主要从事畜禽传染病等教学和科研工作。E-mail: 83776515@163.com

* 通讯作者:王长康,教授,硕士生导师, E-mail: wangchangkangcn@163.com

70日龄进行体重测量后每个重复选取2只体重适中的鸡只,即每组选8只鸡进行屠宰取样。以组为

单位分别截取每只鸡的十二指肠、空肠、回肠中段2~3 cm和左侧盲肠。

表1 基础日粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets

(air-dry basis, %)

项目 Items	1~3周龄 1~3 weeks	4~10周龄 4~10 weeks
原料 Ingredients		
玉米 Corn	62.5	68.0
豆粕 Soybean meal	30.5	26.0
秘鲁鱼粉 Peruvian fishmeal	3.0	2.0
预混料 Premix ¹⁾	4.0	4.0
合计 Total	100.0	100.0
营养水平 Nutrient levels ²⁾		
代谢能 ME (MJ/kg)	11.77	11.96
粗蛋白质 CP	20.34	18.22
钙 Ca	1.00	0.88
总磷 TP	0.65	0.60
有效磷 AP	0.42	0.38
赖氨酸 Lys	1.07	0.97
蛋氨酸+胱氨酸 Met + Cys	0.85	0.72

¹⁾ 预混料为每千克日粮提供 The premix provides per kg of diet: Cu 8 mg; Fe 78 mg; Mn 80 mg; Zn 60 mg; I 0.4 mg; Se 0.2 mg; 氯化胆碱 choline chloride 800 mg; VA 11 250 IU; VD₃ 2 500 IU; VE 18.75 mg; VK₃ 5 mg; VB₁ 2.5 mg; VB₂ 6.25 mg; VB₆ 2.5 mg; VB₁₂ 18.75 μg; 烟酸 niacin 25 mg; 泛酸钙 calcium pantothenate 12.5 mg; 叶酸 folic acid 1.25 mg; 生物素 biotin 100 μg。

²⁾ 有效磷、赖氨酸、蛋氨酸+胱氨酸为计算值,其余为实测值。AP, Lys and Met + Cys levels in diets were calculated values, and other nutrient levels were measured values.

1.3.2 肠道组织切片制作和观察

将截取得到的肠管用磷酸缓冲液(pH 7.1)小心冲洗干净,放入卡诺氏(Carnoy's)固定液中固定4 h,经过脱水、透明、石蜡包埋、切片5 μm、苏木素-伊红(HE)染色、封片,显微镜观察并测出肠绒毛高度(villous height, VH)、肠黏膜厚度(mucosa thickness, MT)和黏膜隐窝深度(cryptae depth, CD)。

1.3.3 盲肠微生物培养试验

无菌取盲肠内容物0.5 g于盛有9.5 mL灭菌生理盐水及玻璃珠的锥形瓶内(10⁻¹稀释),稀释均匀后取此稀释液0.5 mL于盛有4.5 mL灭菌生理盐水试管内,依次进行10⁻²~10⁻⁷稀释。乳酸杆菌(*Lactobacillus*),双歧杆菌(*Bacillus bifidus*),大肠杆菌(*Escherichia coli*)均采用平板计数法进行计数,3种细菌的培养方法均按文献^[9]进行。

1.4 数据处理

应用SPSS 13.0统计软件进行单因素方差分析,差异显著后进行LSD多重比较, $P < 0.05$ 作为差异显著性判断标准,结果用平均值±标准差表示。

2 结果

2.1 地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡肠道组织结构的影响

从表2可见,28日龄时,添加地衣芽孢杆菌的试验组较对照组的各项组织结构指标均有不同程度的提高,其中以Ⅱ组最为显著,VH较Ⅰ组提高了11.35%,较Ⅴ组提高了5.81%;CD较Ⅰ组降低了11.44%、较Ⅴ组降低了7.58%;肠绒毛/隐窝深的指数(VH/CD)较Ⅰ组提高了26.24%,较Ⅴ组提高了10.56%;MT较Ⅰ组提高了2.39%,较Ⅴ组提高了1.54%。但是各组之间差异均不显著($P > 0.05$)。70日龄时,各组肉鸡VH差异不显著($P > 0.05$),而CD比较结果发生显著变化($P < 0.05$)。Ⅲ组和Ⅳ组肉鸡的CD较Ⅰ组分别变浅了25.67%、24.72%,差异显著($P < 0.05$),因此VH/CD值也发生了相应的变化,Ⅲ组和Ⅳ组的VH/CD值显著高于Ⅰ组($P < 0.05$),而与Ⅴ组差异不显著($P > 0.05$)。MT方面,Ⅳ组较Ⅰ组提高了21.93%,差异显著($P < 0.05$),较Ⅴ组提高了18.47%,差异显著($P < 0.05$)。

表2 地衣芽孢杆菌对肉鸡肠道组织结构的影响

Table 2 Effects of *Bacillus licheniformis* on intestinal structure in broiler chickens

(μm)

项目 Items	肠绒毛高度 VH	隐窝深度 CD	肠绒毛高度/隐窝深度 VH/CD	黏膜厚度 MT
28日龄 28 days of age				
I组 Group I	1 065.5 ± 81.7	75.2 ± 9.1	14.1 ± 1.0	238.6 ± 19.4
II组 Group II	1 186.4 ± 88.8	66.6 ± 6.7	17.8 ± 1.3	244.3 ± 19.6
III组 Group III	1 133.5 ± 81.0	67.8 ± 6.1	16.7 ± 1.5	241.4 ± 18.4
IV组 Group IV	1 106.5 ± 76.2	70.4 ± 7.0	15.7 ± 1.1	239.1 ± 21.3
V组 Group V	1 121.3 ± 68.6	69.5 ± 7.2	16.1 ± 1.2	240.6 ± 17.8
70日龄 70 days of age				
I组 Group I	1 185.3 ± 91.4	116.1 ± 10.2 ^a	9.4 ± 0.8 ^b	235.7 ± 18.7 ^b
II组 Group II	1 178.1 ± 66.8	90.2 ± 9.1 ^{ab}	12.0 ± 1.0 ^{ab}	240.2 ± 21.3 ^b
III组 Group III	1 117.8 ± 81.0	86.3 ± 7.5 ^b	13.0 ± 1.2 ^a	265.3 ± 19.2 ^{ab}
IV组 Group IV	1 146.6 ± 82.2	87.4 ± 5.7 ^b	13.1 ± 1.0 ^a	287.4 ± 20.5 ^a
V组 Group V	1 089.7 ± 74.6	100.5 ± 1.0 ^{ab}	10.8 ± 1.2 ^{ab}	242.6 ± 17.0 ^b

同列同日龄肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

In the same column and same day of age, values with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), and with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

2.2 地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡盲肠微生物区系的影响

从表3可以分析得到,28日龄时,添加地衣芽孢杆菌的试验组肉鸡盲肠中大肠杆菌数较I组显著减少,其中II组比I组下降了12.98%,差异显著($P<0.05$),比V组下降了2.66%,差异不显著($P>0.05$);乳酸杆菌数量方面,II组较I组提高了3.39% ($P>0.05$),较V组提高了8.08% ($P<0.05$);双歧杆菌数量方面,II组较I组提高了

6.87% ($P>0.05$),较V组提高了10.18% ($P<0.05$)。70日龄时,添加地衣芽孢杆菌的试验组肉鸡盲肠中大肠杆菌数较I组显著减少($P<0.05$),其中IV组最为显著,下降了18.93% ($P<0.05$),较V组下降了5.70% ($P>0.05$);乳酸杆菌数量方面,IV组较I组提高了7.38% ($P>0.05$),较V组提高了8.32% ($P<0.05$);双歧杆菌数量方面,IV组较I组提高了6.94% ($P>0.05$),较V组提高了11.58% ($P<0.05$)。

表3 地衣芽孢杆菌对肉鸡盲肠微生物区系的影响

Table 3 Effects of *Bacillus licheniformis* on microflora of cecum in broiler chickens

(lg(cfu)/g)

项目 Items	I组 Group I	II组 Group II	III组 Group III	IV组 Group IV	V组 Group V
28日龄 28 days of age					
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	8.40 ± 0.51 ^a	7.31 ± 0.28 ^b	7.52 ± 0.17 ^{ab}	7.82 ± 0.44 ^{ab}	7.51 ± 0.31 ^{ab}
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>	9.44 ± 0.28 ^{ab}	9.76 ± 0.19 ^a	9.46 ± 0.15 ^{ab}	9.41 ± 0.28 ^{ab}	9.03 ± 0.26 ^b
双歧杆菌 <i>Bacillus bifidus</i>	9.32 ± 0.28 ^{ab}	9.96 ± 0.24 ^a	9.48 ± 0.28 ^{ab}	9.40 ± 0.29 ^{ab}	9.04 ± 0.23 ^b
70日龄 70 days of age					
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	8.77 ± 0.57 ^a	7.69 ± 0.33 ^b	7.63 ± 0.24 ^b	7.11 ± 0.19 ^b	7.54 ± 0.28 ^b
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>	9.21 ± 0.11 ^{ab}	9.32 ± 0.65 ^{ab}	9.52 ± 0.54 ^{ab}	9.89 ± 0.34 ^a	9.13 ± 0.47 ^b
双歧杆菌 <i>Bacillus bifidus</i>	9.37 ± 0.12 ^{ab}	9.39 ± 0.33 ^{ab}	9.52 ± 0.48 ^{ab}	10.02 ± 0.17 ^a	8.98 ± 0.52 ^b

同行肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

In the same row, values with same small letter superscripts or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), and with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡肠道组织结构的影响

倪耀娣等^[10]提出,小肠绒毛实质性的变长会增

加小肠的吸收面积,使饲料中更多的营养物质得到充分吸收和利用,从而可促进动物的生长。王俐等^[11]指出,黏膜上皮与固有膜向肠腔突出形成许多皱褶和肠绒毛,目的是增加肠管消化和吸收的表面积,其中起吸收作用的是黏膜上皮的吸收细胞。李

燕等^[12]表明,肠绒毛高时,成熟细胞多,养分吸收能力强。李燕等^[12]还指出肠黏膜隐窝深能反映细胞的生成率,隐窝变浅表明,细胞的成熟率上升,分泌功能强。VH/CD值综合反映小肠的功能状况。比值下降,消化吸收功能降低,动物生长发育受阻;比值上升,则黏膜改善,消化吸收功能增强,生长发育加快。从生理作用上来分析,肠黏膜具有对蛋白质、脂肪、碳水化合物或维生素等营养物质的吸收功能,其结构和功能的完整对动物机体具有重要的意义。王玉梅等^[13]指出使用益生菌后的动物小肠黏膜层厚,小肠绒毛数量多,这一结果表明益生菌能促进小肠绒毛生长,但添加使用水平不同效果也不同。本试验研究结果显示添加不同水平的地衣芽孢杆菌和抗生素都有增高肠绒毛高度、降低隐窝深度、增加肠黏膜厚度的作用,说明地衣芽孢杆菌有保护肠黏膜和促进绒毛生长的作用,在饲养前期低浓度的添加量效果较好,且随着添加量的增加效果有降低的趋势,而后期则以较高浓度的添加量效果较好,且随着添加量的增加效果有提高的趋势,而且其作用效果略优于添加抗生素组。

3.2 地衣芽孢杆菌对麻羽肉鸡盲肠微生物区系的影响

已有研究发现,地衣芽孢杆菌对大肠杆菌有抑制作用,特别对某些肠道致病菌有拮抗作用,而对厌氧的有益菌有促进生长或共生作用^[14]。这可能与地衣芽孢杆菌的生物夺氧作用有关,芽孢杆菌为需氧菌,在生长过程中需要大量的氧气,进入动物肠道内,能消耗大量的游离氧,降低了肠内氧浓度,改善了乳酸杆菌、双歧杆菌等厌氧菌的生长环境,有利于厌氧菌的生长,保持肠道微生物生态系统的稳衡,同时使肠道中原本存在的大肠杆菌等需氧菌的生长因缺氧受到抑制,在本试验中试验结果与前人的研究结果相吻合,试验结果还表明地衣芽孢杆菌的这种作用效果略优于抗生素的作用效果。

4 结论

① 在肉鸡日粮中添加地衣芽孢杆菌能够优化肠道组织结构,抑制肠道有害菌的生长、促进有益菌的生长或共生,从而提高了消化器官功能,有利于营养物质的吸收,促进机体的生长。

② 本试验表明饲养前期添加浓度为 50 mg/kg,

而后期添加浓度为 200 mg/kg 的地衣芽孢杆菌时,对肉鸡的肠道组织结构及其盲肠微生物区系的影响最为有利。

参考文献:

- [1] 刘勇. 微生态制剂及其在肉鸡生产中的应用[J]. 山东饲料, 2005, 5: 9-10.
- [2] 刘天贵, 胡尚勤. 不同基质对地衣芽孢杆菌生长曲线的影响[J]. 重庆师范学院学报, 1998, 15(4): 21-23.
- [3] 胡尚勤, 刘天贵. 地衣芽孢杆菌营养要求的研究[J]. 河北省科学院学报, 2000, 17(4): 224-227.
- [4] 柏建玲, 莫树平, 郑婉玲, 等. 地衣芽孢杆菌与其他微生物产酶能力的比较[J]. 科学实验与研究, 2003, 7: 4-6.
- [5] 孙启利, 陈夕军, 童蕴慧, 等. 地衣芽孢杆菌 W10 抗菌蛋白对油菜菌核病的抑制作用及防病效果[J]. 扬州大学学报, 2007, 28(3): 82-86.
- [6] 刘晓琳, 陈乐超, 余新京, 等. 地衣芽孢杆菌对断奶仔猪生产性能的影响[J]. 广东饲料, 2008, 17(1): 27-28.
- [7] Sid Ahmed A, Ezziyani M, Pérez Sánchez C, et al. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annum*) plants[J]. European Journal of Plant Pathology, 2003, 109: 633-637.
- [8] 唐娟, 张毅, 李雷雷, 等. 地衣芽孢杆菌应用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2008, 47(3): 351-354.
- [9] 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.
- [10] 倪耀娣, 李睿文, 鲁改如. 微生态制剂对肉仔鸡小肠结构的影响[J]. 江西畜牧兽医杂志, 2004, 4: 7-8.
- [11] 王俐, 蔡辉益, 刘国华. 抗生素对肉鸡小肠肠壁组织结构的影响[J]. 中国饲料, 2002, 15: 14-15.
- [12] 李燕, 康相涛, 孙桂荣. 木寡糖对矮脚绿壳蛋鸡肠道长度及形态结构的影响[J]. 饲料研究, 2007, 12: 67-69.
- [13] 王玉梅, 李朝华, 王雪莲. 益生菌对肉仔鸡小肠组织结构和生产性能的影响[J]. 中国兽医科技, 2006, 11: 59-60.
- [14] 全艳玲. 地衣芽孢杆菌对有害微生物的拮抗作用[J]. 食品科学, 2002, 23(8): 67-69.

Effects of *Bacillus licheniformis* on Intestinal Structure and Cecum Microflora in *Mayu* Broiler Chickens

CHEN Jiexiang ZHANG Renyi WANG Quanxi YANG Xianfangmei WANG Changkang*

(Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The experiment was conducted to study the effects of *Bacillus licheniformis* on intestinal structure and cecal gut microflora in *Mayu* broiler chickens. Three hundred one-day-old broiler chickens were randomly divided into 5 groups with 4 replicates each and 15 broilers in each replicate. Group I was fed with the basal diet as the control group without any antibiotics; the experimental groups (groups II, III, IV) were fed with the basal diet supplemented with 50, 100 and 200 mg/kg of *Bacillus licheniformis*, respectively; the group V was fed with the basal diet supplemented with 30 mg/kg *Bacitracin zinc* and 6 mg/kg *Kangdisu* sulfas. The experiment lasted for 70 days. The results indicated that: at 28 days of age, the villous height (VH) of group II was 11.35% higher than that of group I, 5.81% higher than that of group V, the quantity of *Escherichia coli* in cecum of group II was lower than that of group I ($P < 0.05$), the quantity of *Lactobacillus* and *Bacillus bifidus* of group II were higher than that of group V ($P < 0.05$); at 70 days of age, the cryptae depth (CD) of groups III and IV were 25.67%, 24.72% lower than that of group I, the differences were significantly ($P < 0.05$), the quantity of *Escherichia coli* in cecum of experimental groups was lower than that of group I ($P < 0.05$), the quantity of *Lactobacillus* and *Bacillus bifidus* of group IV was higher than that of group V ($P < 0.05$). In conclusion, dietary *Bacillus licheniformis* supplementation was beneficial to the development of intestinal and the balance of cecum microflora, dietary *Bacillus licheniformis* level (50 mg/kg in early time and 200 mg/kg in latter time) could optimize intestinal structure and inhibit the growth of harmful bacteria in the cecum significantly. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2010, 22(3):757-761]

Key words: *Bacillus licheniformis*; *Mayu* broiler chickens; Intestinal tract structure; Microflora