

枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能和肠道形态、黏膜免疫及菌群数量的影响

邢帅兵¹ 陈代文¹ 余冰¹ 栾超² 何军¹ 黄志清¹ 毛湘冰¹

郑萍¹ 罗钧秋¹ 罗玉衡¹ 虞洁^{1*}

(1.四川农业大学动物营养研究所,动物抗病营养教育部重点实验室,动物抗病营养四川省重点实验室,成都 611130;

2.安迪苏生命科学制品(上海)有限公司,上海 201200)

摘要: 本试验旨在研究饲料中添加枯草芽孢杆菌替代饲用抗生素对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响。试验选用21日龄杜长大(DLY)断奶仔猪72头,随机分为4组,分别为对照组(CON组)、抗生素组(ANT组)、抗生素+枯草芽孢杆菌组(ANT+BS组)、枯草芽孢杆菌组(BS组),每组6个重复,每个重复3头猪。试验期49 d。结果表明:1)试验全期,各组间平均日增重和平均日采食量均无显著差异($P>0.05$),与CON组相比,仅ANT组的料重比显著降低($P<0.05$)。2)各组间十二指肠、空肠、回肠的绒毛高度、隐窝深度、绒毛高度/隐窝深度均无显著差异($P>0.05$);与CON组相比,ANT组、ANT+BS组和BS组回肠的隐窝深度分别降低了10.16%、14.98%、18.10%,有差异显著的趋势($P=0.084$)。3)与CON组相比,ANT+BS组和BS组盲肠中双歧杆菌的数量显著提高($P<0.05$),且与ANT组无显著差异($P>0.05$)。4)与CON组相比,ANT+BS组和BS组空肠黏膜中分泌型免疫球蛋白A的含量显著提高($P<0.05$),但均显著低于ANT组($P<0.05$)。综上所述,枯草芽孢杆菌可以改善断奶仔猪小肠形态结构,增加肠道内有益菌的数量,提高小肠黏膜免疫功能,达到部分替代抗生素的效果,并且枯草芽孢杆菌与抗生素联用无协同或拮抗作用。

关键词: 枯草芽孢杆菌;断奶仔猪;生长性能;肠道形态;肠道菌群;肠道免疫

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)05-2066-08

断奶仔猪肠道发育不完善,当营养供应由液体母乳转变为适口性较差的固体饲料时,容易发生断奶应激,进而导致采食量下降、肠道形态结构和功能受损、肠道屏障通透性增高、免疫功能下降、肠道微生物菌群紊乱、生长缓慢等不良后果^[1-3]。为了追求更好的生产效益,饲料中添加抗生素、高铜、高锌等用以增强动物机体抗病性,提高生长速度。但是诸如此类添加剂容易导致排泄物污染环境、动物机体残留、引发食品安全问题等^[4-6]。“无抗饲料”是当下养殖行业的热门话题,

因此,寻找安全、绿色的抗生素替代品受到了广泛的重视。研究发现,多种饲用添加剂如益生菌、益生元、酶制剂、有机酸、中链脂肪酸及脂肪酸酯、中草药制剂及植物提取物等均具有替代抗生素的潜能^[7-8],在养殖行业中具有广阔的应用前景以及巨大的开发价值。枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*, BS)作为芽孢杆菌属的一种,呈革兰氏阳性,具有耐高温、制粒稳定、过胃稳定等特点,不易受到胃肠道中各种酶的影响,能够有效地定植于肠道内,消耗肠道内游离氧,促进有益厌氧菌的生长,抑制有害

收稿日期:2019-11-11

基金项目:“十三五”国家重点研发计划专项(2016YFD0500506);国家生猪产业技术体系(CARS-35)

作者简介:邢帅兵(1995—),男,河南汝州人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 1066150145@qq.com

*通信作者:虞洁,副教授,硕士生导师, E-mail: yujie@sicau.edu.cn

菌的生长,同时还能分泌多种消化酶促进营养物质的消化吸收,激活体液免疫,提高免疫功能,改善动物机体健康^[9-10],因此BS具有替代抗生素的巨大潜力。研究表明,在饲料中适量添加枯草芽孢杆菌可以提高动物生长性能,改善肠道微生物生存环境,促进营养物质的消化吸收,提高动物机体免疫功能^[11-12],同时也是一种无残留、无污染的新型饲料添加剂,具有良好的经济效益和社会效益。但是,枯草芽孢杆菌在断奶仔猪上的应用效果并不一致,且其是否具有替代抗生素的潜能仍需要进一步探讨。因此,本试验旨在研究枯草芽孢杆菌替代饲用抗生素对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响,为今后科学、合理地使用枯草芽孢杆菌提供试验数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

枯草芽孢杆菌制剂:枯草芽孢杆菌活菌数 $\geq 5.0 \times 10^8$ CFU/g,由某生命科学制品有限公司提供。抗生素:吉他霉素,有效成分含量为50%;金霉素:有效成分含量15%,均为市售产品。

1.2 试验动物与试验设计

试验选用21日龄杜长大(DLY)断奶仔猪72头,采用随机区组试验设计,按体重相近、性别比例相同原则随机分为4组,即对照组(CON组)、抗生素组(ANT组)、抗生素+枯草芽孢杆菌组(ANT+BS组)、枯草芽孢杆菌组(BS组),各组分别饲喂基础饲料、基础饲料+100 mg/kg 吉他霉素(50%)+300 mg/kg 金霉素(15%)、基础饲料+50 mg/kg 吉他霉素(50%)+150 mg/kg 金霉素(15%)+20 mg/kg 枯草芽孢杆菌、基础饲料+20 mg/kg 枯草芽孢杆菌,每组6个重复,每个重复3头猪。试验期49 d。

1.3 试验饲料及饲养管理

基础饲料为玉米-豆粕型饲料,参照NRC(2012)7~11 kg、11~25 kg阶段猪营养需要配制,基础饲料组成及营养水平见表1。本试验在四川农业大学动物营养研究所教学科研基地进行,圈舍温度控制在25~26℃,相对湿度控制在50%~80%,所有猪只自由采食和饮水,定时对圈舍进行打扫并交替使用消毒液进行消毒,保持圈舍通风和卫生。

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)

%

| 项目 Items | 第1~14天 Days 1 to14 | 第15~49天 Days 15 to 49 |
|-------------------------------------|--------------------|-----------------------|
| 原料 Ingredients | | |
| 玉米 Corn (CP 7.8%) | 30.00 | 32.00 |
| 膨化玉米 Extruded corn (CP 7.8%) | 27.00 | 30.00 |
| 去皮豆粕 Peeling soybean meal (44.2%) | 13.00 | 16.00 |
| 膨化大豆 Extruded soybean | 8.40 | 7.80 |
| 大豆浓缩蛋白 Soy protein concentrate | 3.00 | 2.00 |
| 血浆蛋白粉 Plasma protein powder | 2.50 | 1.00 |
| 进口鱼粉 Imported fish meal (CP 62.5%) | 3.00 | 2.00 |
| 乳清粉 Whey powder (3%) | 7.00 | 3.00 |
| 大豆油 Soybean oil | 2.00 | 2.10 |
| 蔗糖 Sucrose | 2.00 | 2.00 |
| 石粉 Limestone | 0.65 | 0.62 |
| 磷酸氢钙 CaHPO ₄ | 0.30 | 0.31 |
| 氯化胆碱 Choline chloride | 0.15 | 0.15 |
| 食盐 NaCl | 0.40 | 0.40 |
| L-赖氨酸盐酸盐 L-Lys · HCl (78.0%) | 0.27 | 0.29 |
| DL-蛋氨酸 DL-Met (99.0%) | 0.08 | 0.08 |
| 维生素预混料 Vitamin premix ¹⁾ | 0.05 | 0.05 |
| 矿物质预混料 Mineral premix ²⁾ | 0.20 | 0.20 |
| 合计 Total | 100.00 | 100.00 |
| 营养水平 Nutrient levels ³⁾ | | |
| 消化能 DE/(MJ/kg) | 14.69 | 14.64 |

续表 1

| 项目 Items | 第 1~14 天 Days 1 to 14 | 第 15~49 天 Days 15 to 49 |
|-------------|-----------------------|-------------------------|
| 粗蛋白质 CP | 19.01 | 18.04 |
| 钙 Ca | 0.61 | 0.53 |
| 总磷 TP | 0.55 | 0.49 |
| 有效磷 AP | 0.36 | 0.29 |
| 可消化赖氨酸 DLys | 1.35 | 1.23 |
| 可消化蛋氨酸 DMet | 0.39 | 0.37 |
| 可消化苏氨酸 DThr | 0.80 | 0.73 |
| 可消化色氨酸 DTry | 0.23 | 0.21 |

1) 维生素预混料为每千克饲料提供 The vitamin premix provided the following per kilogram of diets: VA 8 000 IU, VD₃ 2 000 IU, VE 25.0 IU, VK₃ 1.2 mg, VB₁ 2.5 mg, VB₂ 6.5 mg, VB₆ 10.0 mg, VB₁₂ 50.0 μg, 生物素 biotin 0.15 mg, 叶酸 folic acid 1.0 mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 20.0 mg, 烟酸 nicotinic acid 45.0 mg。

2) 矿物质预混料为每千克饲料提供 The mineral premix provided the following per kilogram of diets: Fe 100 mg, Cu 100 mg, Zn 100 mg, Mn 4 mg, I 0.3 mg, Se 0.35 mg。

3) 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.4 样品的采集与处理

于试验第 49 天结算饲料,所有猪只禁食 12 h。试验第 50 天对所有试验仔猪进行称重并记录,每个重复内选取 1 头体重最接近该组平均体重的仔猪并标记,按顺序屠宰。采集十二指肠(1 cm)、空肠(3 cm)和回肠(2 cm)组织,生理盐水洗净后放入 4%多聚甲醛溶液中固定;采集十二指肠、空肠黏膜样品和结肠、盲肠食糜样品,液氮速冻,放于 -80 ℃ 冰箱中保存待测。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 生长性能

于试验第 1、15、50 天对所有试验仔猪进行称重并记录。试验期间以重复为单位记录每日的采食量,用于计算各阶段平均日采食量(average daily feed intake, ADFI)、平均日增重(average daily gain, ADG)和料重比(feed/gain, F/G)。

1.5.2 肠道形态结构

取出 4%多聚甲醛固定下的十二指肠、空肠和回肠样品制成石蜡切片,随后进行苏木素-伊红(HE)染色,脱水封片后在显微镜下进行图像采集,应用 Image-pro plus 6.0 软件以 40 倍标尺为标准测量各肠段绒毛高度(villous height, VH)和隐窝深度(crypt depth, CD),并计算绒毛高度/隐窝深度(VH/CD)。

1.5.3 肠道微生物群落

将含有目的片段的质粒作为标准质粒分别建

立各菌群的标准曲线,采用实时荧光定量方法(探针法)对所有样本拷贝数进行测定,通过标准曲线进行计算得到断奶仔猪结肠和盲肠中的大肠杆菌(*E. coli*)、乳酸杆菌(*Lactobacillus*)、沙门氏菌(*Salmonella*)和双歧杆菌(*Bifidobacterium*)的数量。

1.5.4 肠道紧密连接和免疫功能

采用猪分泌型免疫球蛋白 A(SIgA)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(购自北京诚林生物科技有限公司)测定十二指肠和空肠黏膜中 SIgA 的含量。

1.6 数据统计与分析

使用 Excel 2010 对所有试验数据进行初步统计,使用 SPSS 20.0 统计软件中的 one-way ANOVA 程序进行单因素方差分析,所有数据以“平均值±标准误”表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $0.05 \leq P < 0.10$ 为有显著差异趋势。

2 结果与分析

2.1 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能的影响

由表 2 可知,在试验第 1~14 天,各组间 ADFI、ADG 和 F/G 均无显著差异($P > 0.05$);在试验第 15~49 天,各组间 ADFI、ADG 和 F/G 均无显著差异($P > 0.05$)。试验全期,各组间 ADFI 和 ADG 均无显著差异($P > 0.05$);与 CON 组相比,仅 ANT 组 F/G 显著降低($P < 0.05$)。

表 2 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能的影响

Table 2 Effects of *B. subtilis* on growth performance of weaned piglets

| 项目 Items | 对照组 CON group | 抗生素组 ANT group | 抗生素+枯草 芽孢杆菌组 ANT+BS group | 枯草芽孢 杆菌组 BS group | P 值 P-value |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------------|-------------------------|----------------|
| 第 1~14 天 Days 1 to 14 | | | | | |
| 初始体重 Initial body weight/kg | 7.41±0.10 | 7.41±0.10 | 7.41±0.10 | 7.41±0.09 | 1.000 |
| 终末体重 Final body weight/kg | 9.20±0.22 | 9.52±0.15 | 9.42±0.23 | 9.24±0.12 | 0.591 |
| 平均日采食量 ADFL/(g/d) | 258.10±14.10 | 284.04±8.90 | 262.58±14.01 | 251.34±9.38 | 0.267 |
| 平均日增重 ADG/(g/d) | 127.52±13.52 | 150.44±8.99 | 143.11±11.57 | 130.56±11.56 | 0.474 |
| 料重比 F/G | 2.11±0.19 | 1.92±0.12 | 1.85±0.05 | 1.98±0.13 | 0.542 |
| 第 15~49 天 Days 15 to 49 | | | | | |
| 终末体重 Final body weight/kg | 23.86±0.86 | 25.44±0.56 | 24.71±0.85 | 24.14±0.85 | 0.533 |
| 平均日采食量 ADFL/(g/d) | 788.63±38.62 | 822.83±31.02 | 786.23±52.81 | 790.87±16.73 | 0.885 |
| 平均日增重 ADG/(g/d) | 419.42±26.38 | 461.79±17.62 | 428.42±29.50 | 425.90±9.54 | 0.545 |
| 料重比 F/G | 1.88±0.04 | 1.78±0.01 | 1.84±0.03 | 1.86±0.02 | 0.058 |
| 第 1~49 天 Days 1 to 49 | | | | | |
| 平均日采食量 ADFL/(g/d) | 637.05±28.66 | 668.89±22.95 | 636.62±39.93 | 636.72±13.74 | 0.804 |
| 平均日增重 ADG/(g/d) | 336.02±19.39 | 372.83±13.67 | 346.91±22.54 | 357.51±9.03 | 0.448 |
| 料重比 F/G | 1.90±0.03 ^a | 1.79±0.02 ^b | 1.84±0.02 ^{ab} | 1.87±0.02 ^{ab} | 0.038 |

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 相同字母或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

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

2.2 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪肠道形态结构的影响

由表 3 可知, 各组间十二指肠、空肠、回肠的绒毛高度、隐窝深度、绒毛高度/隐窝深度均无显

著差异 ($P>0.05$); 与 CON 组相比, ANT 组、ANT+BS 组和 BS 组回肠的隐窝深度分别降低了 10.16%、14.98%、18.10%, 有差异显著的趋势 ($P=0.084$)。

表 3 枯草芽孢杆菌对 70 日龄仔猪肠道形态结构的影响

Table 3 Effects of *B. subtilis* on intestinal morphology of 70-day-old piglets

| 项目 Items | 对照组 CON group | 抗生素组 ANT group | 抗生素+枯草 芽孢杆菌组 ANT+BS group | 枯草芽孢 杆菌组 BS group | P 值 P-value |
|------------------------|------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------------|----------------|
| 十二指肠 Duodenum | | | | | |
| 绒毛高度 VH/ μm | 462.93±18.37 | 402.34±20.99 | 474.73±58.87 | 443.06±40.92 | 0.558 |
| 隐窝深度 CD/ μm | 138.95±4.71 | 135.19±9.89 | 142.43±11.55 | 136.76±11.92 | 0.959 |
| 绒毛高度/隐窝深度 VH/CD | 3.35±0.16 | 3.06±0.27 | 3.31±0.17 | 3.40±0.42 | 0.817 |
| 空肠 Jejunum | | | | | |
| 绒毛高度 VH/ μm | 436.70±46.23 | 477.03±23.55 | 527.84±41.80 | 506.05±21.56 | 0.312 |
| 隐窝深度 CD/ μm | 135.75±6.19 | 129.95±4.78 | 143.03±14.53 | 135.90±7.40 | 0.789 |
| 绒毛高度/隐窝深度 VH/CD | 3.21±0.28 | 3.72±0.30 | 3.77±0.27 | 3.78±0.27 | 0.421 |
| 回肠 Ileum | | | | | |
| 绒毛高度 VH/ μm | 364.53±47.16 | 334.38±14.54 | 338.57±32.75 | 346.86±18.76 | 0.906 |
| 隐窝深度 CD/ μm | 141.18±6.13 | 126.84±2.92 | 120.03±10.03 | 115.63±6.95 | 0.084 |
| 绒毛高度/隐窝深度 VH/CD | 2.62±0.37 | 2.64±0.13 | 2.83±0.19 | 3.04±0.18 | 0.575 |

2.3 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪盲肠和结肠菌群的影响

由表4可知,与CON组相比,ANT组、ANT+BS组和BS组盲肠中双歧杆菌的数量显著提高($P<0.05$),而大肠杆菌、乳酸杆菌和沙门氏菌的数

量无显著差异($P>0.05$),且ANT+BS组、BS组与ANT组盲肠中各菌群数量无显著差异($P>0.05$)。各组间结肠中大肠杆菌、乳酸杆菌、沙门氏菌和双歧杆菌的数量均无显著差异($P>0.05$)。

表4 枯草芽孢杆菌对70日龄仔猪盲肠和结肠菌群的影响

Table 4 Effects of *B. subtilis* on microflora in cecum and colon of 70-day-old piglets lg(CFU/g)

| 项目 Items | 对照组 CON group | 抗生素组 ANT group | 抗生素+枯草 芽孢杆菌组 ANT+BS group | 枯草芽孢 杆菌组 BS group | P值 P-value |
|-----------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------|
| 盲肠 Caecum | | | | | |
| 大肠杆菌 <i>E. coli</i> | 8.39±0.15 | 8.34±0.10 | 8.34±0.14 | 8.45±0.22 | 0.954 |
| 乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i> | 6.39±0.22 | 6.58±0.19 | 6.91±0.15 | 7.03±0.28 | 0.161 |
| 沙门氏菌 <i>Salmonella</i> | 4.50±0.17 | 4.59±0.12 | 4.64±0.16 | 4.55±0.28 | 0.958 |
| 双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i> | 7.13±0.06 ^b | 7.86±0.24 ^a | 7.84±0.07 ^a | 7.91±0.37 ^a | 0.046 |
| 结肠 Colon | | | | | |
| 大肠杆菌 <i>E. coli</i> | 8.22±0.25 | 8.16±0.11 | 8.03±0.15 | 8.30±0.14 | 0.724 |
| 乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i> | 6.92±0.26 | 6.88±0.35 | 6.41±0.32 | 7.31±0.40 | 0.327 |
| 沙门氏菌 <i>Salmonella</i> | 4.81±0.18 | 4.49±0.17 | 4.65±0.23 | 4.78±0.13 | 0.588 |
| 双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i> | 6.79±0.24 | 6.85±0.13 | 6.86±0.12 | 7.17±0.20 | 0.446 |

2.4 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪十二指肠和空肠黏膜中SIgA含量的影响

由表5可知,各组间十二指肠黏膜中SIgA的含量无显著差异($P>0.05$);与CON组相比,其他

3组空肠黏膜中SIgA的含量显著提高($P<0.05$),且ANT+BS组与BS组之间无显著差异($P>0.05$),但均显著低于ANT组($P<0.05$)。

表5 枯草芽孢杆菌对70日龄仔猪十二指肠和空肠黏膜中SIgA含量的影响

Table 5 Effects of *B. subtilis* on content of SIgA in duodenum and

jejunum mucosa of 70-day-old piglets

μg/g prot

| 项目 Items | 对照组 CON group | 抗生素组 ANT group | 抗生素+枯草 芽孢杆菌组 ANT+BS group | 枯草芽孢 杆菌组 BS group | P值 P-value |
|---------------|------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------|
| 十二指肠 Duodenum | 5.72±0.39 | 5.39±0.32 | 6.16±0.34 | 5.76±0.22 | 0.443 |
| 空肠 Jejunum | 9.81±0.96 ^c | 17.46±1.58 ^a | 12.84±0.44 ^b | 12.83±1.10 ^b | 0.001 |

3 讨论

3.1 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能的影响

大量的研究发现,动物饲料中添加一定量的益生菌制剂可以改善动物的生长性能,起到替代饲用抗生素的作用,常见的益生菌有芽孢杆菌、双歧杆菌、乳酸杆菌等^[13]。然而在实际的生产试验中,由于枯草芽孢杆菌添加量和活菌数的不同使得试验所得到的结果也并不一致。王晓丹等^[14]的

试验研究结果表明,与空白对照组相比,饲料中添加250 g/t的枯草芽孢杆菌制剂(活菌数 $\geq 4.0 \times 10^9$ CFU/g)可以显著提高断奶仔猪的末重和ADG,且显著高于抗生素组,但ADFI和F/G无显著差异。魏立民等^[15]的试验研究结果表明,饲料中添加0.2%的枯草芽孢杆菌制剂($\geq 2.0 \times 10^{10}$ CFU/g)可以显著提高断奶仔猪的末重、ADG、ADFI,但其F/G与对照组相比无显著差异。万根等^[16]的试验研究结果表明,饲料中添加1.5、

2.0 g/kg 的枯草芽孢杆菌制剂 ($\geq 2.0 \times 10^8$ CFU/g) 可以显著提高断奶仔猪末重、ADG, 显著降低 F/G, 但对 ADFI 无显著影响。本试验的研究结果表明, 饲料中添加 20 mg/kg 枯草芽孢杆菌制剂对断奶仔猪的生长性能无显著影响, 并且与抗生素联用也无协同或拮抗作用。本试验与前人的研究结果^[14-16]有差异, 这可能与枯草芽孢杆菌添加量、试验时间等因素有关。

3.2 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪小肠形态结构的影响

小肠是动物机体消化与吸收营养物质的主要场所, 小肠的绒毛高度与隐窝深度直接影响小肠对营养物质消化与吸收的效率。绒毛高度增加, 隐窝深度减小, 可增加小肠与营养物质的接触面积, 增强对营养物质的消化与吸收能力^[17-18]。有研究表明, 饲料中添加枯草芽孢杆菌可以促进小肠绒毛的发育^[19]。邓军等^[20]的试验研究结果表明, 新生仔猪口腔灌服枯草芽孢杆菌 RJGP16 菌液 (活菌数为 1.0×10^9 CFU/mL) 可以显著增加回肠绒毛高度, 极显著降低回肠隐窝深度, 极显著增加回肠绒毛高度/隐窝深度。Lee 等^[21]的试验结果表明, 饲料中添加 4.5 g/kg 的枯草芽孢杆菌发酵物可以显著提高断奶仔猪小肠的绒毛高度和绒毛高度/隐窝深度。本试验的研究结果表明, 饲料中添加 20 mg/kg 枯草芽孢杆菌制剂对肠道形态的影响主要是通过降低回肠的隐窝深度, 从而起到改善肠道形态发育, 促进肠道健康的作用。

3.3 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪肠道微生物的影响

断奶应激会影响仔猪肠道微生物系统, 使有益菌的数量减少, 有害菌的数量增加, 从而危害断奶仔猪的健康生长。因而添加能够定植于仔猪肠道内, 且能改善仔猪肠道微生物生态平衡的益生菌是有必要的。枯草芽孢杆菌是一种兼性厌氧菌, 能迅速消耗肠道环境中的游离氧, 造成厌氧环境^[10], 促进乳酸杆菌、双歧杆菌等有益厌氧菌的生长, 抑制其他病原菌的生长, 进而保证动物健康和促进生长。王志成等^[22]研究表明, 饲料中添加植物乳杆菌和枯草芽孢杆菌的复合益生菌制剂可以显著抑制盲肠、结肠、直肠中大肠杆菌的增殖, 促进有益菌双歧杆菌、乳酸杆菌的生长。Hu 等^[23]研究表明, 饲料中添加 2×10^9 、 4×10^9 、 20×10^9 CFU/kg 的枯草芽孢杆菌 KN-42 可以显著降低仔猪粪便中大肠杆菌的数量, 显著增加乳酸杆菌

的数量, 且与添加剂量呈正相关。本试验的研究结果表明, 饲料中添加 20 mg/kg 枯草芽孢杆菌制剂可以提高断奶仔猪盲肠中双歧杆菌的数量, 起到调节肠道菌群的作用, 并且与抗生素联用无显著差异。

3.4 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪肠道黏膜中 SIgA 含量的影响

SIgA 在肠道免疫功能中发挥着重要的作用, 其主要通过维持肠道黏膜内环境稳态, 干扰病原体与上皮细胞受体的结合, 免疫排异清除病原体和降低病菌毒力等方式从而有效地实现对机体的免疫保护^[24], 因此 SIgA 是衡量肠道免疫功能的重要指标之一。枯草芽孢杆菌进入小肠后, 激活 TH2 细胞产生细胞因子, 继而激活 B 细胞, 激发免疫球蛋白 (Ig) A、IgG、IgM 等体液免疫, 通过淋巴细胞再循环活化全身免疫系统, 从而增强机体的免疫功能^[25]。Rajput 等^[26]的试验结果表明, 枯草芽孢杆菌 B10 可以提高肉鸡空肠和回肠中 SIgA 含量。秦红等^[27]研究表明, 饲料中添加 0.1 g/kg 芽孢杆菌制剂 (1.0×10^9 CFU/kg) 可以显著提高育肥猪空肠和回肠中 SIgA 的含量, 提高肠道免疫功能。本试验的研究结果表明, 饲料中添加 20 mg/kg 枯草芽孢杆菌制剂可以通过提高断奶仔猪空肠黏膜中 SIgA 的含量来提高肠道免疫功能。

4 结 论

本试验条件下, 饲料中添加枯草芽孢杆菌可以改善断奶仔猪肠道结构, 增加肠道内有益菌的数量, 提高小肠黏膜免疫功能, 达到部分替代抗生素的效果, 并且枯草芽孢杆菌与抗生素联用无协同或拮抗作用。

参考文献:

- [1] GRESSE R, CHAUCHEYRAS-DURAND F, FLEURY M A, et al. Gut microbiota dysbiosis in postweaning piglets: understanding the keys to health [J]. Trends in Microbiology, 2017, 25(10): 851-873.
- [2] MOESER A J, POHL C S, RAJPUT M. Weaning stress and gastrointestinal barrier development: implications for lifelong gut health in pigs [J]. Animal Nutrition, 2017, 3(4): 313-321.
- [3] JAYARAMAN B, NYACHOTI C M. Husbandry practices and gut health outcomes in weaned piglets: a re-

- view[J]. *Animal Nutrition*, 2017, 3(3):205–211.
- [4] BACANLI M, BAŞARAN N. Importance of antibiotic residues in animal food[J]. *Food and chemical toxicology*, 2019, 125:462–466.
- [5] ROUDAUT B, PESSEL D, SANDERS P. Search for antibiotic residues in the French pig industry-contribution of new techniques to the identification of antibiotics in pig meat[J]. *Journées de la Recherche Porcine en France*, 2018, 50:229–233.
- [6] FENG L, CASAS M E, OTTOSEN L D M, et al. Removal of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 603–604:219–225.
- [7] 黄卫强, 张和平. 饲用微生态制剂替代抗生素的研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2015, 27(4):488–494.
- [8] 谢宝财, 韩启春, 葛静, 等. 中草药代替抗生素在健康养殖中的应用[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017(9):71–73.
- [9] 张爱武, 薛军. 枯草芽孢杆菌在动物生产中的应用效果[J]. *中国畜牧兽医*, 2011, 38(4):234–238.
- [10] 王宗伟, 李法增, 杨志平, 等. 枯草芽孢杆菌在畜禽营养上的研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2015, 51(1):80–83.
- [11] RHAYAT L, JACQUIER V, BRINCH K S, et al. *Bacillus subtilis* strain specificity affects performance improvement in broilers[J]. *Poultry Science*, 2017, 96(7):2274–2280.
- [12] LEE K W, KIM D K, LILLEHOJ H S, et al. Immune modulation by *Bacillus subtilis*-based direct-fed microbials in commercial broiler chickens[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2015, 200:76–85.
- [13] CHO J H, ZHAO P Y, KIM I H, et al. Probiotics as a dietary additive for pigs; a review[J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011, 10(16):2172–2134.
- [14] 王晓丹, 孔祥峰, 赵越, 等. 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能和血浆生化参数的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(2):605–611.
- [15] 魏立民, 孙瑞萍, 刘海隆, 等. 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能和血清生化指标的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44(6):1720–1725.
- [16] 万根, 黄志海, 付戴波, 等. 饲料添加枯草芽孢杆菌对仔猪生产性能及抗病力的影响[J]. *饲料研究*, 2016(5):31–34.
- [17] ZHANG L, ZHANG L, ZENG X, et al. Effects of dietary supplementation of probiotic, *Clostridium butyricum*, on growth performance, immune response, intestinal barrier function, and digestive enzyme activity in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88[J]. *Journal of animal science and biotechnology*, 2016, 7(1):3.
- [18] 刘冬, 胡蕾, 丁兆忠, 等. 日粮中添加蛋白酶对断奶仔猪生长性能, 肠道形态和消化酶的影响[J]. *中国饲料*, 2019(15):14.
- [19] JACQUIER V, NELSON A, JLALI M, et al. *Bacillus subtilis* 29784 induces a shift in broiler gut microbiome toward butyrate-producing bacteria and improves intestinal histomorphology and animal performance[J]. *Poultry Science*, 2019, 98(6):2548–2554.
- [20] 邓军, 李云锋, 杨倩. 枯草芽孢杆菌和猪源乳酸杆菌混合饲喂对仔猪肠绒毛发育的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44(2):295–301.
- [21] LEE S H, INGALE S L, KIM J S, et al. Effects of dietary supplementation with *Bacillus subtilis* LS 1-2 fermentation biomass on growth performance, nutrient digestibility, cecal microbiota and intestinal morphology of weanling pig[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2014, 188:102–110.
- [22] 王志成, 赵春芳, 赵建国. 益生菌对断奶仔猪生长性能、养分表观消化率和肠道菌群的影响[J]. *中国饲料*, 2018(4):40–44.
- [23] HU Y L, DUN Y H, LI S A, et al. Effects of *Bacillus subtilis* KN-42 on growth performance, diarrhea and faecal bacterial flora of weaned piglets[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2014, 27(8):1131–1140.
- [24] CHAIRATANA P, NOLAN E M. Defensins, lectins, mucins, and secretory immunoglobulin A: microbe-binding biomolecules that contribute to mucosal immunity in the human gut[J]. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*, 2017, 52(1):45–56.
- [25] 王利宾, 孙利娜. 枯草芽孢杆菌作用机制及其在养殖业中的应用研究进展[J]. *饲料博览*, 2015(1):35–38.
- [26] RAJPUT I R, YING H, YAJING S, et al. *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 modulate TLRs and cytokines expression patterns in jejunum and ileum of broilers[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3):e0173917.
- [27] 秦红. 益生菌对育肥猪肠道屏障功能的影响[D]. 硕士学位论文. 太谷: 山西农业大学, 2016.

Effects of *Bacillus subtilis* on Growth Performance, Intestinal Morphology, Mucosal Immune and Microflora Number of Weaned Piglets

XING Shuaibing¹ CHEN Daiwen¹ YU Bing¹ LUAN Chao² HE Jun¹ HUANG Zhiqing¹
MAO Xiangbing¹ ZHENG Ping¹ LUO Junqiu¹ LUO Yuheng¹ YU Jie^{1*}

(1. Key Laboratory of Animal Disease-Resistance and Nutrition of Ministry of Education, Key Laboratory of Animal Disease-Resistance and Nutrition of Sichuan Province, College of Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Adisseo Life Science (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 201200, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of adding *Bacillus subtilis* to replace antibiotics on growth performance and intestinal health of weaned piglets. A total of 72 healthy 21-day-old DLY weaned piglets were randomly allotted 4 groups with 6 replicates per group and 3 piglets per replicate. The four groups were CON group, ANT group, ANT+BS group and BS group, respectively. The trial lasted for 49 days. The results showed as follows: 1) there was no significantly difference in average daily gain (ADG) and average daily feed intake (ADFI) among groups ($P>0.05$); compared with the CON group, feed/gain (F/G) in ANT group was significantly decreased ($P<0.05$). 2) There was no significantly difference in villous height, crypt depth and villous height /crypt depth (VH/CD) of duodenum, jejunum and ileum among groups ($P>0.05$); compared with the CON group, the crypt depth of ileum in ANT group, ANT+BS group and BS group decreased by 10.16%, 14.98% and 18.10%, and with a tendency for significant differences ($P=0.084$). 3) Compared with the CON group, the number of *Bifidobacteria* in cecum in ANT+BS group and BS group was significantly increased ($P<0.05$), and there was no significantly difference compared with ANT group ($P>0.05$). 4) The secreted immunoglobulin A (SIgA) content in jejunum mucosa in ANT+BS group and BS group was significantly increased ($P<0.05$), but was significantly lower than that in ANT group ($P<0.05$). In summary, *B. subtilis* can improve the intestinal structure of weaned piglets, increase the number of beneficial bacteria in the intestinal tract, improve the immune function of intestinal mucosa, and achieve the effect of partial substitution of antibiotics, and there is no synergistic or antagonistic effect between *B. subtilis* and antibiotics. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(5):2066-2073]

Key words: *B. subtilis*; weaned piglets; growth performance; intestinal morphology; intestinal flora; intestinal immune