

噬菌体对断奶仔猪生长性能、肠道内容物 pH、挥发性脂肪酸含量和二糖酶活性的影响

曾永娣 王自蕊 邹田德 郑刘振 李 硕 游金明*

(江西农业大学,江西省动物营养重点实验室,江西省营养饲料开发工程研究中心,江西省优质安全畜禽生产产教融合重点创新中心,南昌 330045)

摘要: 本研究旨在探讨噬菌体对断奶仔猪生长性能、肠道内容物 pH、挥发性脂肪酸含量和二糖酶活性的影响。试验采用单因素试验设计,选用 120 头遗传背景相似、健康状况良好、胎次接近、初始体重为(7.35±0.03) kg 的 25 日龄断奶仔猪,随机分为 4 个组,每组 5 个重复,每个重复 6 头仔猪。4 组仔猪分别饲喂对照饲料[添加 50 mg/kg 奎烯酮(有效含量 25 mg/kg)和 75 mg/kg 金霉素(有效含量 11.25 mg/kg)]及添加 200、400 和 600 mg/kg 噬菌体的饲料。试验 21 d 后,屠宰取样,测定肠道内容物 pH、挥发性脂肪酸含量及二糖酶活性。结果表明:1)与对照组相比,饲料中添加 400、600 mg/kg 噬菌体可显著提高仔猪全期增重($P<0.05$),随着饲料中噬菌体添加量的提高,仔猪全期增重呈显著线性和二次曲线变化($P=0.001$ 和 $P=0.003$)。而且 400、600 mg/kg 噬菌体组仔猪腹泻指数也显著低于对照组与 200 mg/kg 噬菌体组($P<0.05$),随着饲料中噬菌体添加量的提高,仔猪腹泻指数呈显著线性和二次曲线变化($P=0.024$ 和 $P=0.015$)。2)与对照组相比,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体能够显著降低仔猪回肠 pH($P<0.05$)。3)与对照组相比,饲料中添加 400 和 600 mg/kg 噬菌体显著提高了盲肠中乙酸、丁酸和总酸的含量($P<0.05$),且随着饲料中噬菌体添加量的提高,盲肠乙酸、丁酸和总酸含量呈显著线性和二次曲线变化($P<0.01$ 和 $P<0.01$, $P=0.017$ 和 $P=0.014$, $P<0.01$ 和 $P<0.01$);600 mg/kg 噬菌体组盲肠中戊酸含量显著高于对照组和 200、400 mg/kg 噬菌体组($P<0.05$),且丙酸含量显著高于 200 mg/kg 噬菌体组($P<0.05$)。相比较于对照组,饲料中添加 400 和 600 mg/kg 噬菌体显著提高了仔猪结肠中乙酸和总酸含量($P<0.05$),随着饲料中噬菌体添加量的提高,结肠乙酸含量呈显著先升高后降低的二次曲线变化($P=0.008$)。而 400 mg/kg 噬菌体组仔猪结肠丁酸含量显著高于 200 和 600 mg/kg 噬菌体组($P<0.05$)。4)与对照组相比,400 mg/kg 噬菌体组仔猪十二指肠黏膜蔗糖酶和乳糖酶活性显著增加($P<0.05$),十二指肠黏膜乳糖酶活性呈显著先升高后降低的二次曲线变化($P=0.029$),空肠黏膜麦芽糖酶活性显著升高($P<0.05$)。由此可见,饲料中添加噬菌体可提高仔猪的生长性能,降低腹泻指数,同时降低仔猪肠道内容物 pH,提高肠道挥发性脂肪酸含量和二糖酶活性,改善仔猪肠道的消化吸收功能。

关键词: 噬菌体;断奶仔猪;生长性能;短链脂肪酸;二糖酶活性

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)02-0682-09

早期断奶是提高生猪整体养殖效率的一个重要技术手段。但由于断奶期间,环境、饲料、营养

收稿日期:2019-08-13

基金项目:江西省生猪产业技术体系(JXARS-03—营养与饲料岗)

作者简介:曾永娣(1993—),女,江西赣州人,硕士研究生,研究方向为猪营养与饲料科学。E-mail: 1183396692@qq.com

* 通信作者:游金明,教授,博士生导师,E-mail: youjinm@163.com

等应激因素的改变容易引发仔猪断奶综合征,导致仔猪机体免疫力下降、腹泻、生长缓慢,甚至死亡。饲用抗生素在仔猪断奶应激的防治上发挥了重要作用,但过度使用抗生素带来的病原菌耐药性增加和猪肉产品药物残留问题,进一步增加了畜禽疾病和死亡率的风险,并引起畜牧业经济和公共健康问题^[1-2]。随着抗生素作为促生长饲料添加剂即将全面禁止使用,对抗生素替代品(如氧化锌、植物精油、益生元、益生菌、酸化剂等)的研究已成为一个热点^[3]。最近,噬菌体成为了一种替代抗生素的重要潜在新产品。目前关于噬菌体在动物疾病诊断和治疗上的研究报道较多,但其作为抗生素替代物在动物生产上的应用还鲜有报道。噬菌体是一种天然存在于自然界并易于获得的病毒,是细菌的天敌,能够专性裂解特异种属的细菌^[4],且不受细菌耐药性的限制,特异性强,对正常菌群结构的影响小。目前,美国、韩国等国家的科技人员正在开发用来对抗病原细菌的噬菌体,该噬菌体具有对抗传统抗生素治疗具有抗性的超级细菌的能力,可以预见,噬菌体制剂在畜牧生产中具有广阔的前景^[5]。现有研究表明,在生长猪饲料中添加 0.025% 和 0.050% 的抗沙门氏菌噬菌体后,生长猪对饲料干物质、氮等养分消化率及能量利用均有改善^[6]。但是噬菌体是通过怎样的途径来改善机体肠道健康以及二糖酶活性的呢?仔猪后肠段内大量的微生物能发酵碳水化合物,产生短链脂肪酸(SCFA),微生物发酵产生 SCFA 的能力受细菌数量、pH 及底物等的影响。小肠二糖酶是碳水化合物消化吸收的关键酶,断奶后会引起二糖酶活性急剧下降,仔猪的消化能力下降而引起腹泻^[7]。为了研究噬菌体替代抗生素的效果,并为揭示其作用机理提供依据,本试验通过向断奶仔猪饲料中分别添加不同剂量噬菌体与抗生素,比较观察了噬菌体制剂对断奶仔猪生长性能、腹泻指数、肠道内容物 pH、挥发性脂肪酸含量以及二糖酶活性的作用效果,并探讨了噬菌体制剂替代抗生素在仔猪饲料中科学应用的有效性和可行性。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

噬菌体制剂由某生物科技有限公司馈赠,由载体发酵大豆蛋白和玉米粉混合而成,噬菌体含

量 $\geq 1.0 \times 10^6$ CFU/g。

1.2 试验动物和分组设计

动物试验在九江市德安县某猪场完成。试验采用单因素试验设计,选用 120 头遗传背景相似、健康状况良好、胎次接近、初始体重为 (7.35 ± 0.03) kg 的 25 日龄断奶仔猪,随机分为 4 个组,每组 5 个重复,每个重复 6 头仔猪。4 组仔猪分别饲喂对照饲料[基础饲料中添加 50 mg/kg 奎烯酮(有效含量 25 mg/kg)和 75 mg/kg 金霉素(有效含量 11.25 mg/kg)]及基础饲料中分别添加 200、400 和 600 mg/kg 噬菌体的饲料。试验期为 21 d。

1.3 基础饲料

基础饲料参照 NRC(2012) 5~20 kg 阶段猪营养需要量配制,其组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料组成与营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
膨化玉米 Extruded corn	20.00
玉米 Corn	16.70
膨化碎米 Expanded broken rice	10.00
面粉 Flour	10.00
膨化大豆 Expanded soybean	8.00
低蛋白乳清粉 Whey powder	8.00
发酵豆粕 Fermented soybean meal	4.00
鱼粉 Fish meal	5.00
豆粕 Soybean meal	4.00
酵母水解物 Yeast hydrolysate	4.00
蔗糖 Sucrose	2.50
葡萄糖 Glucose	2.50
大豆油 Soybean oil	1.00
磷酸氢钙 CaHPO_4	1.00
石粉 Limestone	0.90
赖氨酸 Lysine (98%)	0.60
蛋氨酸 Methionine	0.27
苏氨酸 Threonine	0.23
氯化钠 NaCl	0.27
胆碱 Choline chloride (60%)	0.03
预混料 Premix ¹⁾	1.00
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
消化能 DE/(MJ/kg)	13.97
粗蛋白质 CP	18.70
钙 Ca	0.81

续表 1

项目 Items	含量 Content
总磷 TP	0.64
有效磷 AP	0.37
赖氨酸 Lys	1.54
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.87
苏氨酸 Thr	0.95

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: Fe 170 mg, Mn 40 mg, Zn 110 mg, Co 1.5 mg, Se 0.28 mg, Cu 10 mg, VA 7 000 IU, VD₃ 2 150 IU, VE 220 mg, VK 12 mg, VB₁ 2.2 mg, VB₂ 6 mg, VB₆ 9 mg, VB₁₂ 0.024 mg, 生物素 biotin 2.5 mg, 叶酸 folic acid 0.9 mg, 泛酸 pantothenic acid 20 mg。

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

1.4 饲养管理

仔猪饲养于保育舍, 试验期间不限制进食, 可自由采食、饮水。其他饲养管理措施、免疫程序按猪场常规标准管理操作实施。

1.5 样品采集及处理

试验结束时, 仔猪禁食 12 h, 从各组的每个重复中选取 1 头接近平均体重的仔猪立即屠宰。分离仔猪十二指肠、空肠、回肠和盲肠, 用于测定食糜 pH。剪取盲肠中段肠管和结肠带有食糜的部位, 结扎固定取样部位的两端, 用锡箔纸包被后, 用保鲜膜连同棉线一端裹好, 另一端贴好标签纸, 迅速置于液氮中冷冻, 后转入 -80 ℃ 冰箱保存, 用于盲肠和结肠内容物挥发性脂肪酸含量分析。

分离十二指肠和空肠, 洗净肠腔, 于干净台面上小心刮取肠黏膜, 编号后分装于无菌冻存管中, 迅速置于液氮中冷冻, 后转入 -80 ℃ 冰箱保存, 用于二糖酶活性的测定。

1.6 测定指标及方法

1.6.1 生长性能

试验第 1 和 21 天清晨以组为单位称重记录, 仔猪称重前空腹 12 h, 记录仔猪初重和末重, 计算全期体增重。

1.6.2 腹泻指数

试验期内每天 07:00 观察仔猪粪便, 按照 Castillo 等^[8]的方法对粪便进行评分。0 分: 粪便条形或粒状; 1 分: 软粪、能成形; 2 分: 稠状、不成形、粪水未分离; 3 分: 液状、不成形、粪水分离。当粪便评分 ≥ 2 时认为仔猪发生腹泻。计算试验期内

各组腹泻指数, 计算公式如下:

$$\text{腹泻指数} = \frac{\text{试验期内每组仔猪腹泻总评分}}{\text{每组仔猪头数}}$$

1.6.3 肠道内容物 pH

取好肠样, 立即用 pH 计测定十二指肠、空肠、回肠以及盲肠内容物 pH, 每个肠段重复测量 3 次, 并做好记录。

1.6.4 肠道挥发性脂肪酸含量

参考贺琴等^[9]的操作方法, 分别准确称取 1 g 解冻后的盲肠和结肠内容物于 EP 管中, 加入 1 mL 超纯水涡流振荡至内容物混合均匀, 在 4 ℃ 条件下 15 000 r/min 离心 15 min。转移上清液, 按体积比 9:1 加入 25% 偏磷酸固定, 气相色谱仪测定挥发性脂肪酸含量。

1.6.5 肠道二糖酶活性

各准确称取 0.3 g 的十二指肠和空肠黏膜样品, 加入 2.7 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS), 于低温条件下研磨混匀, 在 4 ℃ 条件下 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 即得到 10% 的小肠黏膜匀浆液, 采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定十二指肠和空肠黏膜蔗糖酶、乳糖酶和麦芽糖酶活性。

1.7 数据处理与统计分析

所有数据用 Excel 2016 简单处理后, 采用 SPSS 20.0 软件进行方差分析, Duncan 氏法进行多重比较, 通过回归分析作线性和二次曲线拟合。各组数据以“平均值 \pm 标准误”表示。以 $P < 0.05$ 为差异显著性判断标准, $0.05 \leq P < 0.10$ 为有差异趋势。

2 结果与分析

2.1 噬菌体对断奶仔猪生长性能和腹泻指数的影响

由表 2 可知, 与对照组相比, 饲料中添加 400、600 mg/kg 噬菌体可显著提高仔猪全期增重 ($P < 0.05$), 随着饲料噬菌体添加量的提高, 仔猪全期增重呈显著线性和二次曲线变化 ($P = 0.001$ 和 $P = 0.003$)。400、600 mg/kg 噬菌体组仔猪腹泻指数显著低于对照组与 200 mg/kg 噬菌体组 ($P < 0.05$)。随着饲料中噬菌体添加量的提高, 仔猪腹泻指数呈显著线性和二次曲线变化 ($P = 0.024$ 和 $P = 0.015$)。

表 2 噬菌体对断奶仔猪生长性能和腹泻指数的影响

Table 2 Effects of bacteriophage on growth performance and diarrhea index of weaned piglets ($n=5$)

项目 Items	对照组 Control group	噬菌体添加量 Bacteriophage supplemental levels/(mg/kg)			P 值 P-value		
					方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次曲线 Quadratic
		200	400	600			
初重 Initial weight/kg	7.33±0.09	7.33±0.05	7.37±0.09	7.34±0.10	0.975	0.986	0.945
全期增重 Weight gain in whole period/kg	4.03±0.15 ^b	4.20±0.18 ^b	5.09±0.06 ^a	4.93±0.03 ^a	0.002	0.001	0.003
腹泻指数 Diarrhea index	0.81±0.16 ^a	0.93±0.07 ^a	0.25±0.06 ^b	0.30±0.04 ^b	0.013	0.024	0.015

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

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

2.2 噬菌体对断奶仔猪肠道内容物 pH 的影响

由表 3 可知,与对照组相比,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体可显著降低仔猪回肠 pH ($P<0.05$),降幅为 7.7%,并对空肠 pH 有降低的趋势 ($P=0.089$),降低 7.6%。各组间盲肠 pH 虽无显

著差异($P>0.05$),但与对照组和 200 mg/kg 噬菌体组相比,400 mg/kg 噬菌体组盲肠 pH 分别降低 4.4%、7.3%。与 200 mg/kg 噬菌体组相比,600 mg/kg 噬菌体组盲肠 pH 降低 3.6%。

表 3 噬菌体对断奶仔猪肠道内容物 pH 的影响

Table 3 Effects of bacteriophage on intestinal pH of weaned piglets ($n=5$)

项目 Items	对照组 Control group	噬菌体添加量 Bacteriophage supplemental levels/(mg/kg)			P 值 P-value		
					方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次曲线 Quadratic
		200	400	600			
十二指肠 Duodenum	5.60±0.24	5.94±0.49	5.60±0.16	5.60±0.26	0.831	0.780	0.838
空肠 Jejunum	6.35±0.15	6.35±0.18	5.87±0.06	6.16±0.03	0.089	0.139	0.241
回肠 Ileum	7.01±0.16 ^a	7.07±0.07 ^a	6.47±0.06 ^b	6.92±0.04 ^a	0.006	0.254	0.255
盲肠 Cecum	6.42±0.19	6.62±0.17	6.14±0.14	6.38±0.07	0.181	0.407	0.706

2.3 噬菌体对断奶仔猪盲肠和结肠内容物挥发性脂肪酸含量的影响

由表 4 可知,与对照组相比,饲料中添加 400 和 600 mg/kg 噬菌体可显著提高仔猪盲肠乙酸、丁酸、总酸含量 ($P<0.05$),且随着饲料中噬菌体添加量的提高,盲肠乙酸、丁酸和总酸含量呈显著线性和二次曲线变化 ($P<0.01$ 和 $P<0.01$, $P=0.017$ 和 $P=0.014$, $P<0.01$ 和 $P<0.01$); 200、400 mg/kg 噬菌体组仔猪盲肠丙酸含量显著低于对照组及 600 mg/kg 噬菌体组,而 200 和 400 mg/kg 噬菌体组之间差异不显著 ($P>0.05$); 600 mg/kg 噬菌体组中盲肠戊酸含量显著高于其他各组 ($P<0.05$); 与对照组相比,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体对盲肠异丁酸和异戊酸含量无显著影响 ($P>0.05$)。与对照组相比,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体可显

著提高仔猪结肠乙酸、总酸含量 ($P<0.05$),且随着饲料中噬菌体添加量的提高,结肠乙酸含量呈显著先升高后降低的二次曲线变化 ($P=0.008$); 与 200 和 600 mg/kg 噬菌体组相比,400 mg/kg 噬菌体组中丁酸含量显著升高 ($P<0.05$); 与对照组相比,400 mg/kg 噬菌体组仔猪结肠内异戊酸含量有升高的趋势 ($P=0.053$),升高 49.80%。

2.4 噬菌体对断奶仔猪肠道黏膜二糖酶活性的影响

由表 5 可知,与对照组相比,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体可显著提高仔猪十二指肠黏膜中乳糖酶活性 ($P<0.05$),随着饲料中噬菌体添加量的提高,十二指肠黏膜中乳糖酶活性呈显著先升高后降低的二次曲线变化 ($P=0.029$); 与对照组和 200 mg/kg 噬菌体组相比,400 mg/kg 噬菌体

组中十二指肠黏膜蔗糖酶活性显著升高 ($P < 0.05$); 400 mg/kg噬菌体组与对照组仔猪十二指肠黏膜中麦芽糖酶活性无显著差异 ($P > 0.05$), 但 400 mg/kg噬菌体组麦芽糖酶活性提高了31.63%。

与对照组和 200 mg/kg噬菌体组相比, 饲料中添加 400 mg/kg噬菌体可显著提高空肠黏膜中麦芽糖酶活性 ($P < 0.05$)。

表 4 噬菌体对断奶仔猪盲肠和结肠挥发性脂肪酸含量的影响

Table 4 Effects of bacteriophage on volatile fatty acids contents in cecum and colon of weaned piglets ($n = 5$)

项目 Items	对照组 Control group	噬菌体添加量 Bacteriophage supplemental levels/(mg/kg)			P 值 P-value		
		200	400	600	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次曲线 Quadratic
盲肠 Cecum							
乙酸 Acetic acid	612.29±251.16 ^b	1 033.49±78.68 ^{ab}	1 442.04±79.48 ^a	1 405.86±37.57 ^a	0.009	<0.001	<0.001
丙酸 Propionic acid	457.13±64.53 ^a	332.26±8.06 ^b	429.42±6.19 ^{ab}	525.00±19.56 ^a	0.024	0.318	0.526
异丁酸 Isobutyric acid	126.52±13.30	133.63±11.20	152.42±11.45	118.29±3.51	0.201	0.448	0.056
丁酸 Butyric acid	197.84±23.78 ^b	84.60±11.89 ^c	292.11±22.97 ^a	307.10±37.22 ^a	0.001	0.017	0.040
异戊酸 Isovaleric acid	22.27±0.85	20.06±0.93	24.22±2.73	24.12±2.02	0.382	0.018	0.187
戊酸 Valeric acid	57.94±4.64 ^b	47.71±3.98 ^b	58.61±6.13 ^b	99.04±12.47 ^a	0.004	0.026	0.003
总挥发性脂肪酸 TVFA	1 387.16±157.54 ^b	1 632.72±70.34 ^b	2 425.62±109.63 ^a	2 455.99±78.36 ^a	<0.001	<0.001	<0.001
结肠 Colon							
乙酸 Acetic acid	1 229.95±59.32 ^c	1 534.44±35.62 ^{ab}	1 728.82±105.39 ^a	1 403.23±59.25 ^{bc}	0.005	0.284	0.008
丙酸 Propionic acid	667.91±89.77	498.30±51.37	677.85±23.45	554.78±21.69	0.105	0.929	0.953
异丁酸 Isobutyric acid	63.40±5.32	43.86±7.94	69.01±19.35	70.41±8.81	0.268	0.456	0.649
丁酸 Butyric acid	383.03±52.28 ^a	203.02±31.58 ^b	423.78±0.90 ^a	245.03±8.37 ^b	0.002	0.999	0.888
异戊酸 Isovaleric acid	30.94±0.72	30.77±1.38	46.35±7.25	38.93±1.09	0.053	0.022	0.058
戊酸 Valeric acid	101.94±24.58	66.52±3.26	100.66±25.44	83.05±12.62	0.490	0.963	0.217
总挥发性脂肪酸 TVFA	2 477.89±176.87 ^b	2 390.90±88.65 ^b	3 079.91±250.88 ^a	2 421.84±54.66 ^b	0.045	0.472	0.146

3 讨论

3.1 噬菌体对断奶仔猪生长性能和腹泻指数的影响

仔猪断奶是一个很大的应激过程, 仔猪从液

体母乳直接过渡到固体饲料, 采食量下降, 易出现“断奶应激综合征”。随着仔猪日龄的增长维持需要量增加, 从母乳中获得的母体免疫缺失, 对肠道病原菌的敏感性增加, 患肠道疾病的可能性增大^[10], 导致仔猪出现“生长抑制”现象。动物体内

和其生活环境中含有大量的噬菌体,其中体内噬菌体对维持肠道平衡起着重要的作用^[11]。新生仔猪可以从母乳中获得极高的被动免疫,断奶后被动免疫下降,仔猪易出现采食量下降、消化不良、饲料转化率降低和腹泻等现象^[12]。20 世纪 60 年代,世界卫生组织依照国际标准在东巴基斯坦的达卡进行的噬菌体和四环素治疗霍乱的对比测试表明,噬菌体对腹泻的治疗效果与四环素相当,能够显著减少粪便中的霍乱弧菌^[13]。Bull 等^[14]结果表明,噬菌体能够有效地治疗大肠杆菌引起的猪、牛、羊腹泻。Kim 等^[15]表明,饲料中添加噬菌

体,生长猪平均日增重和平均日采食量均有改善,但对料重比没有显著影响。Gebu 等^[16]研究表明,饲料中添加 3×10^9 CFU/kg 的抗鼠沙门氏菌噬菌体能够显著提高猪的平均日增重,降低料重比。张灿等^[17]研究结果表明,灌服噬菌体对白羽肉鸡生长性能没有显著影响。本试验结果表明,与对照组相比,饲料中添加 400、600 mg/kg 噬菌体可显著提高仔猪全期增重,同时 400、600 mg/kg 噬菌体组中仔猪腹泻指数也显著低于对照组与 200 mg/kg 噬菌体组。

表 5 噬菌体对断奶仔猪十二指肠和空肠黏膜二糖酶活性的影响

Table 5 Effects of bacteriophage on duodenum and jejunum mucosal disaccharidase

activity of weaned piglets ($n=5$)

U/mg

项目 Items	对照组 Control group	噬菌体添加量 Bacteriophage supplemental levels/(mg/kg)			P 值 P-value		
		200	400	600	方差分析 ANOVA	线性 Linear	二次曲线 Quadratic
十二指肠 Duodenum							
麦芽糖酶 Maltase	16.09±1.98	18.77±1.95	21.18±1.60	20.34±0.72	0.169	0.042	0.078
蔗糖酶 Sucrase	25.09±1.42 ^b	22.78±1.44 ^b	31.41±2.76 ^a	26.58±1.79 ^{ab}	0.037	0.209	0.399
乳糖酶 Lactase	10.67±0.47 ^b	13.34±1.02 ^{ab}	16.77±0.59 ^a	13.45±1.90 ^{ab}	0.034	0.108	0.029
空肠 Jejunum							
麦芽糖酶 Maltase	54.33±1.77 ^{bc}	51.54±0.41 ^c	62.16±1.35 ^a	58.81±1.74 ^{ab}	0.002	0.036	0.117
蔗糖酶 Sucrase	35.21±3.69	34.41±3.17	37.37±4.67	33.13±2.50	0.891	0.921	0.873
乳糖酶 Lactase	28.26±2.59	30.23±1.43	30.60±3.31	28.32±0.83	0.791	0.969	0.581

3.2 噬菌体对断奶仔猪肠道内容物 pH 的影响

pH 是维持动物体内内环境稳态的重要因素之一,pH 的高低直接影响着肠道内物质的消化吸收。仔猪断奶前全部营养来源于母乳,断奶后,仔猪从液体母乳直接过渡到固体饲料,采食量下降,乳糖发酵产生的乳酸受限,加上胃酸分泌不足,导致胃肠内 pH 升高。有学者发现,乳糖发酵产生的乳酸是维持肠道较低酸度的重要物质^[18-19]。同时肠道内 pH 也是维持消化酶分泌和活性的重要因素,pH 升高不仅影响消化酶活性,同时会增加病原微生物的附着,降低有益微生物的数量,最终导致肠道内环境紊乱^[20]。研究还发现,肠道内胃蛋白酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶和淀粉酶等的分泌和活性都受肠道内 pH 的影响^[21]。Lee 等^[22]研究表明,pH 还可以影响肠道细菌群落的组成。本研究结果显示,与对照组相比,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体可显著降低仔猪回肠 pH,空肠 pH 有降低

的趋势,降低 7.56%。这表明在一定的程度上噬菌体能够提高仔猪肠道内消化酶活性,维持肠道消化功能,促进仔猪体内营养物质的吸收利用。

3.3 噬菌体对断奶仔猪盲肠和结肠挥发性脂肪酸含量的影响

微生物代谢产物和宿主发生复杂的相互作用,其中最重要的细菌代谢产物是 SCFAs,主要包括乙酸、丙酸、丁酸等^[23]。SCFAs 可作为宿主细胞的直接能量底物,刺激胃肠激素的产生,抵御病原微生物侵袭以及维持动物肠道健康^[24]。仔猪肠道微生物发酵碳水化合物还可产生大量的乳酸^[25]。有研究发现,肠道微生物能通过利用乳酸和乙酸转化生成丁酸^[26]。丁酸作为小肠上皮细胞的直接能源物质,能刺激上皮细胞增殖。乙酸为肠道内重要的代谢产物,主要的作用是用于合成丁酸^[27]。有学者在小鼠模型中进行的一项研究表明,乙酸盐产量的增加可抑制大肠杆菌毒素从肠腔到血液

的转移,从而改善上皮细胞介导的肠道防御,保护宿主免受致命感染^[28]。反观本试验结果,添加噬菌体能够显著增加盲肠和结肠中乙酸含量,表明噬菌体在一定程度上可以保护仔猪肠道健康,免受病原菌等感染。此外本试验还得出,饲料中添加 400 mg/kg 噬菌体可显著提高仔猪盲肠和结肠中总挥发性脂肪酸含量,添加 600 mg/kg 噬菌体可显著增加盲肠总酸和戊酸含量。蒲俊宁等^[29]发现挥发性脂肪酸可通过降低肠道 pH 和氧化还原电位促进有益菌生长,抑制有害菌增殖,改善肠道微生态环境。本试验结果表明,噬菌体可以调节仔猪肠道挥发性脂肪酸含量,盲肠和结肠挥发性脂肪酸含量变化不同可能与肠道内微生物种类以及肠道 pH 有关,具体调节机制有待进一步研究。

3.4 噬菌体对断奶仔猪肠道二糖酶活性的影响

在消化能力方面,肠道酶在一定程度上负责食品加工,将大分子营养物质水解成小分子供肠道吸收^[30]。饲料中的碳水化合物主要由多糖、寡糖、二糖和单糖组成,可为单胃动物提供能量,然而动物体只能吸收单糖,多糖和寡糖需先经过一系列消化酶的作用转变为二糖^[31],二糖的消化吸收则需要肠道二糖酶的参与^[32]。在二糖酶中,随着年龄的增长,小肠刷缘膜上的麦芽酶和蔗糖酶的活性增加,而乳糖酶的活性由于饮食转换如断奶而减弱^[33]。断奶后仔猪肠道二糖酶分泌不足,加上胃肠道 pH 升高,抑制了消化酶活性,降低了肠道的消化吸收能力。大量未消化完全的营养物质在后肠段堆积,为致病微生物的附着与繁殖提供生存条件,肠道有害菌顺势发展为优势菌群,最终导致仔猪腹泻。本试验研究发现,400 mg/kg 噬菌体组仔猪十二指肠蔗糖酶和乳糖酶活性显著升高,空肠中麦芽糖酶活性显著升高。这可能是由于噬菌体改善了肠道内环境,从而使肠道内二糖酶活性得到了提高;还可能是噬菌体增加了小肠绒毛面积,增加了二糖酶的附着位点,从而提高了肠道内二糖酶的活性。

4 结 论

① 饲料中添加噬菌体可以提高仔猪生长性能,改善仔猪的腹泻情况。

② 饲料中添加噬菌体可以降低断奶仔猪肠道内 pH,对肠道消化酶活性具有一定的调节作用。

③ 饲料中添加噬菌体能够调节仔猪盲肠和结

肠中挥发性脂肪酸含量。

④ 饲料中添加噬菌体可以提高仔猪十二指肠和空肠黏膜二糖酶活性,表明仔猪对碳水化合物消化吸收能力增强。

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] 史自涛,姚焰础,江山,等.粪肠球菌替代抗生素对断奶仔猪生长性能、腹泻率、血液生化指标和免疫器官的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(6): 1832-1840.
- [3] 黄春斯,韦园园,林贤.抗生素替代品在猪生产上的应用研究进展[J]. *现代农业科技*, 2017(10): 233, 239.
- [4] LOC-CARRILLO C, ABEDON S T. Pros and cons of phage therapy [J]. *Bacteriophage*, 2011, 1(2): 111-114.
- [5] XU Y Q, LIU Y, LIU Y, et al. Bacteriophage therapy against *Enterobacteriaceae* [J]. *Virologica Sinica*, 2015, 30(1): 11-18.
- [6] YAN L, HONG S M, KIM I H. Effect of bacteriophage supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, and fecal microbial shedding in growing pigs [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2012, 25(10): 1451-1456.
- [7] KELLY D, SMYTH J A, MCCracken K J. Digestive development of the early-weaned pig: 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning [J]. *British Journal of Nutrition*, 1991, 65(2): 169-180.
- [8] CASTILLO M, MARTÍN-ORÚE S M, TAYLOR-PICKARD J A, et al. Use of mannanoligosaccharides and zinc chelate as growth promoters and diarrhea preventative in weaning pigs: effects on microbiota and gut function [J]. *Journal of Animal Science*, 2008, 86(1): 94-101.
- [9] 贺琴,王自蕊,游金明,等.酵母壁多糖对断奶仔猪肠道挥发性脂肪酸和微生物菌群的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(1): 177-183.
- [10] JIAO L F, KE Y L, XIAO K, et al. Effects of cello-oligosaccharide on intestinal microbiota and epithelial barrier function of weanling pigs [J]. *Journal of Ani-*

- mal Science, 2015, 93(3):1157-1164.
- [11] QIN J J, LI R Q, RAES J J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. Nature, 2010, 464(7285):59-65.
- [12] CAMPBELL J M, CRENSHAW J D, POLO J. The biological stress of early weaned piglets[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2013, 4(1):19.
- [13] MONSUR K A, RAHMAN M A, HUQ F, et al. Effect of massive doses of bacteriophage on excretion of vibrios, duration of diarrhoea and output of stools in acute cases of cholera[J]. Bulletin of the World Health Organization, 1970, 42(5):723-732.
- [14] BULL J J, LEVIN B R, DEROUIN T, et al. Dynamics of success and failure in phage and antibiotic therapy in experimental infections[J]. BMC Microbiology, 2002, 2(1):35.
- [15] KIM K H, INGALE S L, KIM J S, et al. Bacteriophage and probiotics both enhance the performance of growing pigs but bacteriophage are more effective[J]. Animal Feed Science and Technology, 2014, 196:88-95.
- [16] GEBRU E, LEE J S, SON J C, et al. Effect of probiotic-, bacteriophage-, or organic acid-supplemented feeds or fermented soybean meal on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigs challenged with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium[J]. Journal of Animal Science, 2010, 88(12):3880-3886.
- [17] 张灿, 卢国民, 刘文华, 等. 灌服噬菌体对白羽肉鸡肠道菌群的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(9):755-759.
- [18] 王银东, 张欣欣, 吴世林. 断奶仔猪的糖类营养及主要来源[J]. 畜禽业, 2006(13):11-13.
- [19] GOIHL J, 俞明月, 蒋晓燕. 仔猪断奶后所供日粮乳糖含量的重要性[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2009, 29(1):22-23.
- [20] 王玲, 蒲万霞, 扎西英派, 等. 活性酵母制剂对早期断乳仔猪腹泻率、生产性能和肠道 pH 值的研究[J]. 中国兽药杂志, 2008, 42(9):1-5.
- [21] ROGERS Q R, HARPER A E. Protein digestion: nutritional and metabolic considerations[J]. World Review of Nutrition and Dietetics, 1966, 6:250-291.
- [22] LEE S M, DONALDSON G P, MIKULSKI Z, et al. Bacterial colonization factors control specificity and stability of the gut microbiota[J]. Nature, 2013, 501(7467):426-429.
- [23] BERGMAN E N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species[J]. Physiological Reviews, 1990, 70(2):567-590.
- [24] LEAVITT J, BARRETT J C, CRAWFORD B D, et al. Butyric acid suppression of the *in vitro* neoplastic state of Syrian hamster cells[J]. Nature, 1978, 271(5642):262-265.
- [25] 苏勇, 姚文, 黄瑞华, 等. 芽孢乳杆菌 S1 对断奶前后仔猪肠道乳酸菌、大肠杆菌和挥发性脂肪酸含量变化的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2006, 35(1):73-76.
- [26] DUNCAN S H, HOLTROP G, LOBLEY G E, et al. Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria[J]. British Journal of Nutrition, 2004, 91(6):915-923.
- [27] 金三俊, 董佳琦, 任红立, 等. 复合微生态制剂对断奶仔猪生长性能、血清生化和免疫指标及粪便中挥发性脂肪酸含量的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(12):4477-4484.
- [28] FUKUDA S, TOH H, HASE K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate[J]. Nature, 2011, 469(7331):543-547.
- [29] 蒲俊宁, 王华杰, 陈代文, 等. 饲料直链/支链淀粉比对育肥猪生长性能、营养物质表观消化率、肠道食糜菌群数量与挥发性脂肪酸浓度以及肌肉脂肪含量的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(12):4874-4885.
- [30] GUILLOTEAU P, ZABIELSKI R, HAMMON H M, et al. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? [J]. Nutrition Research Reviews, 2010, 23(1):4-22.
- [31] 刘佳佳. 刺五加及其提取物对哺乳仔猪健康及其肠道发育的影响[D]. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学, 2007.
- [32] 马茂涛, 林少伟, 殷光文, 等. 牡蛎多糖锌配合物对脂多糖刺激断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(4):1359-1366.
- [33] KIDDER D E, MANNERS M J. The level and distribution of carbohydrases in the small intestine mucosa of pigs from 3 weeks of age to maturity[J]. British Journal of Nutrition, 1980, 43(1):141-153.

Effects of Bacteriophage on Growth Performance, Intestinal pH, Volatile Fatty Acid Contents and Disaccharase Activity of Weaned Piglets

ZENG Yongdi WANG Zirui ZOU Tiande ZHENG Liuzhen LI Shuo YOU Jinming*
(*Jiangxi Province Key Innovation Center of High-Quality and Safe Livestock Production, Jiangxi Province Key Laboratory of Animal Nutrition, Engineering Research Center of Feed Development, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China*)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of bacteriophage on growth performance, intestinal pH, volatile fatty acid contents and disaccharase activity of weaned piglets. A total of 120 piglets weaned at 25 days of age with the similar genetic background, healthy, similar parity and initial body weight of (7.35 ± 0.03) kg were assigned randomly to 4 groups with 5 replicates per group and 6 piglets per replicate. Piglets in those 4 groups fed a basal diet containing antibiotics (50 mg/kg quinocetone and 25 mg/kg aureomycin) or a basal diet containing 200, 400 and 600 mg/kg bacteriophage, respectively. After 21 days, intestinal samples were collected to determine the pH, volatile fatty acids contents and digestive enzyme activities of intestinal contents. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the addition of 400 and 600 mg/kg bacteriophage in the diet significantly increased the weight gain of piglets in whole period ($P < 0.05$). With the increase of bacteriophage supplemental levels in the diet, the weight gain of piglets presented a significantly linear and quadratic curve ($P = 0.001$ and $P = 0.003$). Moreover, diarrhea index of piglets in the 400 and 600 mg/kg bacteriophage groups was significantly lower than that in the control group and 200 mg/kg bacteriophage group ($P < 0.05$). With the increase of bacteriophage supplemental levels, diarrhea index of piglets showed a significant linear and quadratic relationship ($P = 0.024$ and $P = 0.015$). 2) Compared with the control group, feeding bacteriophage at 400 mg/kg significantly reduced pH in ileum of piglets ($P < 0.05$). 3) Bacteriophage addition of 400 and 600 mg/kg in the diet significantly increased the contents of acetic acid, butyric acid and total acid in the caecum compared with the control group ($P < 0.05$), and the relationship between acetic acid ($P < 0.01$ and $P < 0.01$), butyric acid ($P = 0.017$ and $P = 0.014$) and total acid ($P < 0.01$ and $P < 0.01$) in the caecum showed significant linear and quadratic curves. The content of valeric acid in the 600 mg/kg bacteriophage group was higher than that in other groups ($P < 0.05$), and the content of propionic acid was significantly higher than that in the 200 mg/kg bacteriophage group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the addition of bacteriophage of 400 and 600 mg/kg in the diet significantly increased the acetic acid and total acid contents in the colon of piglets ($P < 0.05$). As the bacteriophage supplemental levels in the diet increased, the acetic acid content in the colon showed a significant quadratic curve relationship ($P = 0.008$). The colonic butyric acid content of piglets in the 400 mg/kg bacteriophage group was significantly higher than that in the 200 and 600 mg/kg bacteriophage groups ($P < 0.05$). 4) Compared with the control group, the duodenal sucrase and lactase activities of piglets in the 400 mg/kg bacteriophage group significantly increased ($P < 0.05$). The activity of lactase in the duodenal mucosa increased significantly and then decreased ($P = 0.029$), and the activity of galectin maltase significantly increased ($P < 0.05$). In conclusion, results show that dietary bacteriophage supplementation can improve piglet growth performance and reduce diarrhea index, and improve intestinal digestive-absorption function through increasing intestinal short-chain fatty acid contents and digestive enzyme activity in piglets. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(2): 682-690]

Key words: bacteriophage; weaned piglets; growth performance; short-chain fatty acids; disaccharase activity