

枯草芽孢杆菌对肥育猪血浆生化和免疫指标及粪便菌群的影响

贺长青¹ 朱瑾^{1*} 匡佑华¹ 陈继发¹ 曲湘勇^{1**}

郭松长¹ 今林宽和² 周学彬³

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院,湖南省畜禽安全生产协同创新中心,长沙 410128;2.朝日可尔必思健康管理(上海)有限公司,上海 200233;3.上海牧冠企业发展有限公司,上海 201700)

摘要: 本试验旨在研究枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)对肥育猪血浆生化和免疫指标及粪便菌群的影响。选取120头平均体重为(62.90±2.37) kg的“杜×长×大”三元杂交肥育猪,随机分为3个组,每组5个重复,每个重复8头猪。对照组(A组)饲喂基础饲料,试验组(B、C组)分别在基础饲料中添加100和200 mg/kg BS。预试期7 d,正试期63 d。结果表明:1)与对照组相比,B、C组肥育猪血浆碱性磷酸酶活性极显著降低($P<0.01$),B组血浆球蛋白含量显著降低($P<0.05$),血浆白蛋白含量显著提高($P<0.05$);2)C组肥育猪血浆免疫球蛋白A含量和猪圆环病毒抗体水平较对照组极显著提高($P<0.01$);3)饲料中添加BS对肥育猪血浆和肌肉中内毒素含量均无显著影响($P>0.05$);4)与对照组相比,B、C组粪便中双歧杆菌相对含量显著提高($P<0.05$),B组粪便中巨大芽孢杆菌相对含量显著提高($P<0.05$),C组粪便中产气荚膜梭菌相对含量极显著降低($P<0.01$)。由此可见,饲料中添加BS可在一定程度上改善肥育猪机体代谢,增强机体免疫功能,优化肠道菌群。

关键词: 枯草芽孢杆菌;肥育猪;血浆生化指标;血浆免疫指标;粪便菌群

中图分类号:S816.7

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)07-3260-08

抗生素在养殖业中如同一把“双刃刀”,一方面提高动物生产力,另一方面却在动物体内造成药物残留和耐药性,导致超级细菌产生^[1]。我国养殖行业的当务之急是寻找和研发抗生素类药物饲料添加剂的替代品。在众多替抗产品中,微生物制剂是目前市场广泛应用的替抗产品之一,如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, BS)、地衣芽孢杆菌等,该类产品不仅有耐高温、高压,抗逆性强等特点^[2],还具有分泌多种活性较强能降解某些抗

营养因子的酶类^[3]、改善畜禽生产性能^[4]、增强免疫力^[5]、减少肠道内致病菌数量及维持菌群平衡^[6]等多种作用。目前,BS在猪生产中的研究主要集中在改善仔猪生产性能和防治腹泻等方面,而关于BS对肥育猪生长性能和理化因子的影响及机理研究鲜有报道。因此,本试验以生长后期的肥育猪为研究对象,探讨饲料中添加BS对肥育猪血浆生化和免疫指标及粪便菌群的影响,为BS在猪生产中的应用提供理论依据。

收稿日期:2018-12-04

基金项目:畜禽安全生产协同创新中心专项资金(CICAPS);湖南农业大学产学研合作项目(13098);湖南省自然科学基金项目(2017JJ2120)

作者简介:贺长青(1965—),男,湖南祁东人,副教授,硕士,主要研究方向为畜禽安全生产技术。E-mail: 2681633710@qq.com

* 同等贡献作者

** 通信作者:曲湘勇,教授,博士生导师,E-mail: quxy99@126.com

1 材料与方

1.1 试验设计与饲养管理

饲养试验于湖南省某科研猪场进行。选取 120 头平均体重为 (62.90 ± 2.37) kg 的“杜×长×大”三元杂交肥育猪,公母各占 1/2,随机分为 3 个组,每组 5 个重复,每个重复 8 头猪。对照组(A 组)饲喂基础饲料,试验组(B、C 组)分别在基础饲

粮中添加 100 和 200 mg/kg BS。预试期 7 d,正试期 63 d。试验用基础饲料参考 NRC(2012)猪营养需要配制,其组成及营养水平见表 1。所选试验猪均按照猪场的常规免疫程序进行疫苗接种,其中 21 日龄猪接种圆环疫苗,28 日龄猪接种猪瘟疫苗(4 周后 2 次免疫)。试验期间饲养管理按常规进行,自由采食和饮水,每周进行 1 次喷雾消毒,保持猪舍通风。

表 1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

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

%

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels ²⁾	含量 Content
玉米 Corn	74.00	消化能 DE/(MJ/kg)	13.64
麦麸 Wheat bran	5.00	粗蛋白质 CP	14.50
豆粕 Soybean meal	16.00	赖氨酸 Lys	0.92
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.20	蛋氨酸 Met	0.30
石粉 Limestone	0.70	钙 Ca	0.62
食盐 NaCl	0.40	有效磷 AP	0.34
豆油 Soybean oil	0.70	总磷 TP	0.55
预混料 Premix ¹⁾	2.00	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.59
合计 Total	100.00	苏氨酸 Thr	0.70
		色氨酸 Trp	0.18

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: VA 2 512 IU, VB₁₂ 17.6 μg, VD₃ 1 200 IU, VE 34 IU, VK₃ 1.5 mg, 核黄素 lactoflavin 2.5 mg, 泛酸 pantothenic acid 6.8 mg, 烟酸 niacin 20.3 mg, 氯化胆碱 choline chloride 351 mg, Cu (as copper sulfate pentahydrate) 20 mg, Fe (as ferrous sulfate monohydrate) 50 mg, Mn (as manganese sulfate) 10 mg, Zn (as zinc sulfate) 50 mg, I (as potassium iodide) 0.3 mg, Se (as sodium selenite) 0.3 mg。

²⁾ 营养水平均为计算值。The nutrient levels were all calculated values.

1.2 试验材料

试验用 BS 为上海牧冠企业有限公司提供的稀释制剂,活菌数 $\geq 1 \times 10^9$ CFU/g。

1.3 样品采集

试验结束后,以重复为单位随机选取 2 头猪(公母各占 1/2),采血前禁食 12 h,自由饮水。耳静脉采血于肝素抗凝管中,3 000 r/min 离心 10 min 分离血浆, -20 °C 冰箱保存,用于测定血浆生化和免疫指标;取适量新鲜排泄粪样,置于 10 mL 高压灭菌离心管中, -80 °C 冰箱冻存,用于粪便菌群测定;试验结束时,每组随机选取 6 头平均体重相近的猪(公母各占 1/2,每个重复至少选取 1 头),共 18 头猪,空腹 24 h 后进行屠宰,宰后 0.5 h 内各取胸腰结合处背最长肌约 100 g, -20 °C 冰箱冻存,用于肌肉内毒素含量测定。

1.4 血浆生化指标

血浆生化指标采用迈瑞生物公司生产的全自

动生化分析仪及配套试剂盒测定。严格按照试剂盒说明操作,测定血浆中白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)、总蛋白(TP)、尿素(UREA)、总胆固醇(TCHO)、葡萄糖(GLU)、甘油三酯(TG)含量及碱性磷酸酶(ALP)、谷草转氨酶(AST)活性。

1.5 血浆及肌肉免疫指标

采用 R&D 公司生产的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒与 MB-530 酶标仪测定血浆免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)含量、猪瘟病毒抗体(CSFV)和圆环病毒抗体(PCV)水平及血浆、肌肉中内毒素含量,肌肉测定前先制成 10% 的组织匀浆。

1.6 肥育猪粪便菌群相对含量的测定

每份粪便样品称取 (200 ± 10) mg 置于 2 mL 离心管中,按照粪便基因组 DNA 提取试剂盒(DP328,天根生化科技有限公司)说明进行 DNA 提取。用超微量分光光度计(NanoDrop ND-2000

UV) 检测 DNA 浓度,按文献[7]提供的反应体系和反应程序,采用荧光定量 PCR 试剂盒(宝生物,大连)进行荧光定量 PCR。引物采用 Primers 软件

设计,由上海生工生物有限公司合成,引物序列见表 2。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的细菌的相对含量。

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

细菌 Bacteria	引物序列 Primer sequences (5'—3')	GenBank 登录号或参考文献 GenBank accession No. or reference
总菌 Total bacterial	F:CGGCAACGAGCGCAACCC R:CCATTGTAGCACGTGTGTAGCC	[8]
巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	F:GTGATGAAGGCTTTCGGGTCTG R:CGGCTGCTGGCACGTAGTTAG	Z37542.1
双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>	F:GCAACGCGAAGAACCTTACCT R:CTTGACCCAACATCATGACA	AB697147.1
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>	F:AGCGAACAGGATTAGATACCC R:GATGGCACTAGATGTCAAGACC	AB680529.1
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	F:GAGTGGCGGACGGGTGAGTA R:TGGGCACATCTATGGCAAG	AF332600.1
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	F:AAAGATGGCATCATCATTCAAC R:TACCGTCATTATCTTCCCAA	[9]
大肠杆菌 <i>Escherichia</i>	F:GTGTAGCGGTGAAATGCGTAG R:TCAAGGGCACAACCTCCAAG	HF936924.1

1.7 数据统计与分析

采用 SAS 9.2 统计软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 并以 Duncan 氏法进行多重比较,结果以“平均值±标准差”表示,用 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果

2.1 BS 对肥育猪血浆生化指标的影响

由表 3 可知,与对照组(A组)相比,B、C 组肥育猪血浆 ALP 活性极显著降低 ($P < 0.01$);B 组血浆 GLB 含量显著降低 ($P < 0.05$),血浆 ALB 含量显著提高 ($P < 0.05$);各组间血浆 UREA、TG、TCHO、GLU、TP 含量和 AST 活性均无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.2 BS 对肥育猪血浆免疫指标的影响

由表 4 可知,与对照组相比,C 组肥育猪血浆 IgA 含量和 PCV 水平极显著提高 ($P < 0.01$),各组间血浆 IgG、IgM 含量和 CSFV 水平均无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 BS 对血浆和肌肉中内毒素含量的影响

由表 5 可知,饲料中添加 BS 对肥育猪血浆和

肌肉中内毒素含量均无显著影响 ($P > 0.05$)

2.4 BS 对肥育猪粪便菌群相对含量的影响

由表 6 可知,与对照组相比,B、C 组粪便中双歧杆菌相对含量显著提高 ($P < 0.05$);B 组粪便中巨大芽孢杆菌相对含量显著提高 ($P < 0.05$);C 组粪便中产气荚膜梭菌相对含量极显著降低 ($P < 0.01$);试验组沙门氏菌 ($P = 0.090$) 和大肠杆菌 ($P = 0.097$) 的相对含量均有降低的趋势。

3 讨论

3.1 BS 对肥育猪血浆生化指标的影响

畜禽血浆中 ALP 和 AST 活性是反映机体肝脏生理机能状况的重要指标。尹清强等^[10] 研究报道,微生态制剂可使仔猪血清中 ALP 活性显著降低;Forte 等^[11] 研究报道,嗜酸乳杆菌和 BS 的混合物可降低蛋鸡血浆中 AST 活性;也有研究显示,在饲料中添加 BS 对血清中 AST 和 ALP 的活性无显著影响^[12-13]。各学者报道的研究结果并不一致。本试验结果表明,添加 BS 能极显著降低肥育猪血浆 ALP 活性,而对 AST 活性却无显著影响,与以上学者研究结果不尽相同。究其原因,可能与动

物品种、营养水平、BS 活菌数及使用阶段不同等因素有关。

表 3 BS 对肥育猪血浆生化指标的影响

Table 3 Effects of BS on plasma biochemical indices of finishing pigs

项目 Items	组别 Groups			P 值 P-value
	A	B	C	
碱性磷酸酶 ALP/(U/L)	172.71±77.16 ^{Aa}	88.86±17.70 ^{Bb}	91.7±23.06 ^{Bb}	<0.001
尿素 UREA/(mmol/L)	3.33±0.76	3.77±1.23	4.10±1.05	0.258
甘油三酯 TG/(mmol/L)	0.34±0.06	0.34±0.07	0.35±0.13	0.918
总胆固醇 TCHO/(mmol/L)	2.18±0.29	2.26±0.25	2.21±0.34	0.817
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	4.61±0.54	4.59±1.25	4.82±0.86	0.831
谷草转氨酶 AST/(U/L)	38.12±5.26	38.63±8.93	34.32±8.29	0.405
球蛋白 GLB/(g/L)	39.70±4.42 ^a	33.22±4.15 ^b	35.00±6.54 ^{ab}	0.030
白蛋白 ALB/(g/L)	34.15±3.68 ^b	38.28±3.00 ^a	35.76±2.95 ^b	0.033
总蛋白 TP/(g/L)	73.93±3.26	71.19±3.61	71.72±4.65	0.276

同行数据肩标无字母或相同小写字母表示差异不显著 ($P>0.05$), 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$)。下表同。

In the same row, values with no letter or the same small letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with different capital letter superscripts mean extremely significant difference ($P<0.01$). The same as below.

表 4 BS 对肥育猪血浆免疫指标的影响

Table 4 Effect of BS on plasma immune indices of finishing pigs

项目 Items	组别 Groups			P 值 P-value
	A	B	C	
免疫球蛋白 A IgA	35.23±2.08 ^{Bb}	35.60±2.42 ^{Bb}	38.38±2.26 ^{Aa}	0.008
免疫球蛋白 G IgG	210.52±12.61	206.37±29.40	220.67±17.40	0.310
免疫球蛋白 M IgM	63.49±3.84	64.83±5.61	62.32±4.72	0.523
猪瘟病毒抗体 CSFV	77.05±3.39	75.98±6.21	79.54±4.51	0.264
圆环病毒抗体 PCV	71.05±6.53 ^{Bb}	74.27±6.72 ^{Bb}	82.88±6.77 ^{Aa}	0.002

表 5 BS 对肥育猪血浆和肌肉中内毒素含量的影响

Table 5 Effects of BS on endotoxin content in plasma and muscle of finishing pigs

项目 Items	组别 Groups			P 值 P-value
	A	B	C	
血浆 Plasma	165.90±11.65	153.57±13.46	163.03±14.39	0.128
肌肉 Muscle	47.17±2.19	42.82±3.27	44.71±3.85	0.121

机体血浆中 ALB 含量的高低反映了肝脏合成蛋白质能力的强弱, UREA 含量的高低反映了机体蛋白质代谢水平。本研究中, 添加 100 mg/kg BS 显著提高血浆中 ALB 含量, 且血浆中 UREA 含量较对照组有提高趋势, 表明 BS 的添加对改善肥育猪肝脏的蛋白质合成、代谢方面具有积极作用, 这与吕尊周等^[15] 研究报道的结果基本一致。

GLB 由机体免疫器官产生, 当体内存在病毒等抗原时, 免疫器官会产生大量 GLB 消灭抗原。本试验结果表明, 添加 100 mg/kg BS 显著降低血浆中 GLB 含量, 且添加 200 mg/kg BS 与对照组相比, 也有一定程度的降低趋势。说明饲料中添加 BS 能增强机体免疫屏障功能, 减少外来病原侵扰。需要指出的是, 添加 100 mg/kg BS 与添加

200 mg/kg BS比较,其血浆中 GLB 含量稍低但差异不显著,血浆中 ALB 含量较高且差异显著,饲

粮中 BS 添加量少的反而明显一些,其作用和机理有待探讨及进一步的研究验证。

表 6 BS 对肥育猪粪便菌群相对含量的影响

Table 6 Effects of BS on relative content in fecal flora of finishing pigs

项目 Items	组别 Groups			P 值 P-value
	A	B	C	
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>	1.00±0.00	1.84±1.05	1.45±0.85	0.272
双歧杆菌 <i>Bifidobacterium</i>	1.00±0.00 ^b	2.03±0.79 ^a	2.02±1.03 ^a	0.049
巨大芽孢杆菌 <i>Bacillus megaterium</i>	1.00±0.00 ^b	2.61±0.98 ^a	1.34±1.11 ^b	0.027
沙门氏菌 <i>Salmonella</i>	1.00±0.00	0.98±0.47	0.57±0.28	0.090
大肠杆菌 <i>Escherichia</i>	1.00±0.00	1.22±0.54	0.65±0.38	0.097
产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	1.00±0.00 ^{Aa}	0.88±0.22 ^{Aa}	0.61±0.16 ^{Bb}	0.006

3.2 BS 对肥育猪免疫指标的影响

机体内免疫球蛋白主要有 IgM、IgG 和 IgA。杨锋^[15]在仔猪饲料中添加 0.3%和 0.5%的 BS,显著增加血清中 IgG 和 IgA 的含量。本试验结果表明,饲料中添加 200 mg/kg BS 显著提高肥育猪血浆中 IgA 含量,而对 IgG 含量效果不显著。其原因可能是:IgM 是免疫应答中最早产生,在抗感染早期具有重要作用^[16]。IgG 的重要作用主要体现于体液免疫,可阻止相应抗原穿透黏膜进入组织中^[17]。本试验猪为生长后期的肥育猪,其机体的 IgM 免疫应答在早期已经建立,IgG 的体液免疫已趋于稳定,因此,BS 对 IgG 与 IgM 含量变化没有影响。而 IgA 是黏膜免疫的主要抗体,主要与非特异性免疫防护机制进行协同作用^[18]。BS 作用于肠道黏膜,肠相关淋巴组织 B 细胞通过克隆扩增后可产生 IgA^[19]。BS 进入动物肠道后,通过在肠道内淋巴抗原结合位点发挥作用,促进肠道内相关淋巴组织生长,增加 T、B 淋巴细胞数量,使黏膜表面分泌型 IgA 和血浆中 IgA 抗体增加,从而激活机体肠道黏膜免疫防御系统,达到增强机体免疫机能^[17,20]。

猪瘟和猪圆环病均可导致猪群产生免疫抑制,引起猪原发性或继发性感染。一旦患病,将严重影响猪的生长发育,给猪场效益造成巨大损失。目前关于 BS 对肥育猪猪瘟和圆环病毒抗体的影响研究报道甚少,但有研究表明 BS 具有提高疫苗免疫的效果^[7]。张超^[21]研究表明,复合微生物制剂(BS、嗜酸乳杆菌等)能提高断奶仔猪 CSFV 水平,增强机体免疫功能。Liu 等^[22]研究发现,饲料中添加 BS C-3102 对雪峰乌骨鸡血清中新城疫

病毒抗体水平无显著影响,但随着 BS C-3102 添加量的增加,血清中禽流感病毒抗体水平显著升高。本研究结果与 Liu 等^[22]研究结果类似,在饲料中添加 100 mg/kg BS 对肥育猪血浆中抗体水平影响不显著,但添加 200 mg/kg BS 时,可显著提高血浆中 PCV 水平,且在一定程度上提高了血浆中 CSFV 水平。其作用机制一方面可能是 BS 作用于淋巴抗原结合位点,促进相关淋巴组织生长,增加 T、B 淋巴细胞数量,增强对 T 细胞依赖抗原的免疫应答,提高抗体水平^[23];另一方面可能是 BS 通过调节细胞因子连接保护抗原基因,形成融合蛋白,从而利于疫苗免疫抗体产生,达到提高免疫增强作用^[24]。

3.3 BS 对肥育猪血浆和肌肉中内毒素含量的影响

内毒素又称为脂多糖,是革兰氏阴性菌细胞壁中的一种成分,只有在细菌死亡溶解时或人工破坏细胞后才释放出来^[25]。动物肠道内病原菌数量增多及肠道屏障破坏,使肠道中及进入体内的内毒素含量增多^[26],对宿主具有强烈毒性^[27],会导致机体急性肠道形态损伤和肠道屏障功能的崩溃^[28]。余嘉瑶等^[29]研究发现,在脂多糖免疫应激状态下,仔猪回肠黏膜中丙二醛(MDA)含量显著升高。表明在脂多糖免疫应激状态下,肠道内脂质过氧化物产物增多,会导致机体肠道内严重损伤,而微生物制剂具有降低 LPS,改善机体营养状况,保护肝脏的作用^[21]。赵迪^[30]研究发现,在饲料中添加复方芽孢杆菌能显著缓解脂多糖刺激导致仔猪肝脏中促炎因子白细胞介素(IL)-8 mRNA 表达量的升高和结肠中抗炎因子 IL-10 mRNA 表

达量的降低。本试验中,与对照组相比,添加100 mg/kg BS对血浆和肌肉中内毒素含量有降低趋势。BS作用于肠道,通过改善肠道微生物平衡、提高肠道黏膜屏障、减少肠道内病原菌数量^[6],进而降低肠道中及进入体内的内毒素含量。

3.4 BS对肥育猪粪便菌群相对含量的影响

产气荚膜梭菌是目前临床最常见的一种气性坏疽病原菌,在一定条件下会导致气性坏疽、肠胃炎性食物中毒或传染性肠毒血症并快速死亡等疾病发生,对养殖业造成巨大经济损失。Jayaraman等^[31]研究表明,BS能够抑制由产气荚膜梭菌引起的肉仔鸡坏死性肠炎,提高肉仔鸡肠道健康水平。本试验研究发现,饲料中添加BS能显著增加肥育猪粪便中双歧杆菌相对含量,添加100 mg/kg BS能显著提高巨大芽孢杆菌相对含量,添加200 mg/kg BS极显著降低产气荚膜梭菌相对含量,这与Li等^[32]研究结果基本一致。其原因可能是BS为需氧菌,当其进入胃肠道后,需消耗大量氧气来生长繁殖,创造厌氧环境,促进双歧杆菌和乳酸杆菌等有益厌氧菌在肠黏膜表面定植占位,并在肠道内产生有机酸,降低肠道内pH,抑制有害菌的生长^[33-34]。对于饲料中添加100 mg/kg BS显著提高巨大芽孢杆菌相对含量,而添加200 mg/kg BS时不显著的原因可能有BS添加量有关。巨大芽孢杆菌和BS同属于需氧菌,其功能相似。添加100 mg/kg BS在肠道中耗氧量对巨大芽孢杆菌生长繁殖没有影响,但添加200 mg/kg BS耗氧量增加,制约了巨大芽孢杆菌生长繁殖,具体原因仍需进一步的研究认证。

另外,BS对抑制肠道中大肠杆菌和沙门氏菌的研究结果不尽一致。Guo等^[35]和Maneewan等^[36]研究指出,BS可减少仔猪肠道中大肠杆菌和沙门氏菌数量,从而改善肠道环境和菌群结构,降低腹泻率。但也有研究表明,BS对肥育猪肠道中大肠杆菌和沙门氏菌抑制效果不明显^[37-38]。本试验中,与对照组相比,饲料中添加200 mg/kg BS对肥育猪粪便中沙门氏菌和大肠杆菌相对含量有降低趋势。其原因可能是BS在仔猪上的效果比生长猪显著^[39],本试验猪为生长后期的肥育猪,其机体的各项机能与消化道内的微生态区已趋于稳定和平衡,因此作用效果不显著。另外,针对BS显著降低产气荚膜梭菌的相对含量而对沙门氏菌和大肠杆菌效果不显著的具体原因,还需进一步

的研究探讨。

4 结论

饲料中添加BS可在一定程度上可以改善肥育猪机体代谢,增强机体免疫功能,优化肠道菌群。

参考文献:

- [1] BARTON M D. Impact of antibiotic use in the swine industry[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2014, 19:9-15.
- [2] 王晓阁. 枯草芽孢杆菌研究进展与展望[J]. *中山大学研究生学刊(自然科学、医学版)*, 2012, 33(3): 14-23.
- [3] 苏海燕. 枯草芽孢杆菌制剂对仔猪生长性能的影响[D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2010.
- [4] GUO J R, DOND X F, LIU S, et al. Effects of long-term *Bacillus subtilis* CGMCC 1.921 supplementation on performance, egg quality, and fecal and cecal microbiota of laying hens[J]. *Poultry Science*, 2017, 96(5): 1280-1289.
- [5] AFRC R F. Probiotics in man and animals[J]. *Journal of Applied Bacteriology*, 2010, 66(5): 365-378.
- [6] OH J K, PAJARILLO E A B, CHAE J P, et al. Protective effects of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* infection in the microbiome of Hy-Line brown layers[J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(9): 1332-1339.
- [7] 陈继发, 匡佑华, 康克浪, 等. 蒙脱石、枯草芽孢杆菌及其互作对蛋鸡血浆激素含量、卵巢繁殖相关基因表达和肠道微生物的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(1): 294-303.
- [8] CHEN X L, WANG J K, WU Y M, et al. Effects of chemical treatments of rice straw on rumen fermentation characteristics, fibrolytic enzyme activities and populations of liquid- and solid-associated ruminal microbes *in vitro*[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2008, 141(1/2): 1-14.
- [9] 杜恩存. 百里香酚和香芹酚对肉仔鸡肠上皮屏障和免疫功能的调节作用[D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业大学, 2016.
- [10] 尹清强, 李小飞, 常娟, 等. 微生态制剂对哺乳和断奶仔猪生产性能的影响及作用机理研究[J]. *动物营养学报*, 2011, 23(4): 622-630.
- [11] FORTE C, MOSCATI L, ACUTI G, et al. Effects of dietary *Lactobacillus acidophilus* and *Bacillus subtilis*

- on laying performance, egg quality, blood biochemistry and immune response of organic laying hens [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2016, 100(5): 977-987.
- [12] LI W F, RAJPUT I R, XU X, et al. Effects of probiotic (*Bacillus subtilis*) on laying performance, blood biochemical properties and intestinal microflora of Shaoxing duck [J]. *International Journal of Poultry Science*, 2011, 10(8): 583-589.
- [13] MA Q G, GAO X, ZHOU T, et al. Protective effect of *Bacillus subtilis* ANSB060 on egg quality, biochemical and histopathological changes in layers exposed to aflatoxin B₁ [J]. *Poultry Science*, 2012, 91(11): 2852-2857.
- [14] 吕尊周, 袁肖笑, 郝柱, 等. 芽孢杆菌制剂对蛋鸡产蛋性能、血清相关指标及肠道菌群的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2012, 32(7): 1068-1072.
- [15] 杨锋. 枯草芽孢杆菌的抗逆特性及其对仔猪生化指标和氨气排放的影响 [D]. 硕士学位论文. 杭州: 浙江工商大学, 2011.
- [16] 杨清丽, 彭豫东, 曲湘勇, 等. 纳米硒对产蛋鸡生产性能、血清免疫和生化指标及蛋黄中硒含量的影响 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29(1): 280-289.
- [17] 易丹. 枯草芽孢杆菌与三肽囊素对肉鸡生长性能、血液理化、免疫功能及肠道菌群的影响 [D]. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学, 2014.
- [18] SUN P, WANG J Q, ZHANG H T. Effects of *Bacillus subtilis natto* on performance and immune function of preweaning calves [J]. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93(12): 5851-5855.
- [19] VITIÑI E, ALVAREZ S, MEDINA M, et al. Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria [J]. *Biocell*, 2000, 24(3): 223-232.
- [20] 陈继发, 朱瑾, 曲湘勇. 枯草芽孢杆菌的作用机制及其在家禽生产中的应用 [J/OL]. *经济动物学报*, 1-7. (2018-09-14) [2018-12-25]. <https://doi.org/10.13326/j.jea.2018.1284>.
- [21] 张超. 复合微生态制剂对断乳仔猪生长速度及猪瘟抗体水平影响的研究 [D]. 硕士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [22] LIU X, PENG C Y, QU X Y, et al. Effects of *Bacillus subtilis* C-3102 on production, hatching performance, egg quality, serum antioxidant capacity and immune response of laying breeders [J]. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*, 2019, 103(1): 182-190.
- [23] 郭利伟. 中药多糖复方免疫增强剂 AEI 及其作用机理研究 [D]. 博士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [24] 于涟, 李建荣, 黄耀伟, 等. 鸡白细胞介素 2 增强传染性法氏囊病毒多聚蛋白 DNA 疫苗免疫原性的研究 [J]. *生物工程学报*, 2001, 17(6): 652-657.
- [25] 汪志, 董国忠, 吴剑波. 内毒素对猪的危害及其控制 [J]. *动物营养学报*, 2017, 29(2): 397-402.
- [26] LUDIDI S, JONKERS D, ELAMIN E, et al. The intestinal barrier in irritable bowel syndrome: subtype-specific effects of the systemic compartment in an *in vitro* model [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0123498.
- [27] LI F Z, LI S W, LIU X F, et al. The structure of WbnH in a near active state [J]. *Protein & Cell*, 2015, 6(8): 615-618.
- [28] 李先根, 涂治骁, 王树辉, 等. 亚麻籽油对脂多糖刺激断奶仔猪肠黏膜结构和免疫细胞的影响 [J]. *动物营养学报*, 2018, 30(2): 515-523.
- [29] 余嘉瑶, 李毅, 王恬, 等. 日粮中添加姜黄素对免疫应激断奶仔猪肠道抗氧化能力及糖代谢的影响 [J]. *畜牧与兽医*, 2018, 50(5): 51-55.
- [30] 赵迪. 益生菌对脂多糖刺激仔猪组织中氧化相关指标和有关基因表达的影响 [D]. 硕士学位论文. 武汉: 武汉轻工大学, 2014.
- [31] JAYARAMAN S, THANGAVEL G, KURIAN H, et al. *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis [J]. *Poultry Science*, 2013, 92(2): 370-374.
- [32] LI Z, WANG W, LV Z, et al. *Bacillus subtilis* and yeast cell wall improve the intestinal health of broilers challenged by *Clostridium perfringens* [J]. *British Poultry Science*, 2017, 58(6): 635-643.
- [33] 曾敏. 可速必宁的耐药性能及对猪生长性能的影响研究 [D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [34] GIANG H H, VIET T Q, OGLE B, et al. Growth performance, digestibility, gut environment and health status in weaned piglets fed a diet supplemented with potentially probiotic complexes of lactic acid bacteria [J]. *Livestock Science*, 2010, 129(1/2/3): 95-103.
- [35] GUO X H, LI D F, LU W Q, et al. Screening of *bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the *in vivo* effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006, 90(2): 139-146.
- [36] MANEewan C, YAMAUCHI K E, THIRABUNYANON M, et al. Development of *Bacillus subtilis* MP and effective utilization on productivity and microorganisms in feces of suckling piglets [J]. *Journal of Ap-*

- plied Research in Veterinary Medicine, 2009, 9(4): 382-387.
- [37] 曹廷富. 微生态制剂对生长猪生产指标和粪中微生物影响的研究[D]. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学, 2011.
- [38] 高环, 罗彬, 黄兴国. 微生态制剂对生长猪生产性能、养分消化率及粪中微生物的影响[J]. 中国饲料, 2015(15): 15-18.
- [39] 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.

Effects of *Bacillus subtilis* on Plasma Biochemical and Immune Indices and Fecal Microflora of Finishing Pigs

HE Changqing¹ ZHU Jin^{1*} KUANG Youhua¹ CHEN Jifa¹ QU Xiangyong^{1**}
GUO Songchang¹ JINLIN Kuanhe² ZHOU Xuebin³

(1. Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Asahi Calpis Wellness (Shanghai) Co., Ltd., Shanghai 200233, China; 3. Shanghai Naseco Products Company, Shanghai 201700, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of *Bacillus subtilis* (BS) on plasma biochemical and immune indices and fecal microflora of finishing pigs. A total of 120 Duroc×Landrace×Yorkshire crossbred finishing pigs with an average body weight of (62.90±2.37) kg were randomly divided into 3 groups with 5 replicates per group and 8 pigs per replicate. The control group (group A) was fed a basal diet, and the experimental groups (groups B and C) were fed the basal diets supplemented with 100 and 200 mg/kg BS, respectively. The preparation period was 7 days and formal experiment period was 63 days. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the plasma alkaline phosphatase activity of finishing pigs in groups B and C was extremely significantly decreased ($P<0.01$); the plasma globulin content of finishing pigs in group B was significantly decreased ($P<0.05$) and the plasma albumin content was significantly increased ($P<0.05$). 2) The plasma immunoglobulin A content and porcine circovirus antibody level of finishing pigs in group C were extremely significantly higher than those in control group ($P<0.01$). 3) The addition of *Bacillus subtilis* in diets had no significant effect on the endotoxin content in plasma and muscle of finishing pigs ($P>0.05$). 4) Compared with the control group, the relative content of *Bifidobacteria* in faeces of finishing pigs in groups B and C was significantly increased ($P<0.05$), the relative content of *Bacillus megaterium* in faeces of finishing pigs in group B was significantly increased ($P<0.05$), and the relative content of *Clostridium perfringens* in faeces of finishing pigs in group C was extremely significantly decreased ($P<0.01$). It can be seen that adding BS to diet can improve metabolism, enhance immune function and optimize intestinal flora of finishing pigs to a certain extent. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(7):3260-3267]

Key words: *Bacillus subtilis*; finishing pigs; plasma biochemical indices; plasma immune indices; fecal microflora

* Contributed equally

** Corresponding author, professor, E-mail: quxy99@126.com