

# 复合益生菌对染菌白羽肉鸡生长性能及肠道形态、菌群的影响

徐美余<sup>1,2</sup>, 罗成莹<sup>1,2</sup>, 辛维岗<sup>1,2</sup>, 张关令<sup>1,2</sup>, 王春<sup>3</sup>, 李亚萍<sup>3</sup>, 林连兵<sup>\*1,2</sup>

(1. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500; 2. 云南省高校饲用抗生素替代技术工程研究中心, 云南 昆明 650500; 3. 昆明三正生物科技(集团)有限公司, 云南 昆明 650500)

**摘要:** 为探究白羽肉鸡在产气荚膜梭菌感染条件下,在基础日粮中添加不同水平的复合益生菌对白羽肉鸡生长性能、肠道形态及肠道菌群结构的影响。使用产气荚膜梭菌感染 3 日龄的健康白羽肉鸡,在基础饲料中分别添加不同剂量(高 500 mg/kg、中 200 mg/kg、低 50 mg/kg)由枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌组成的复合益生菌与金霉素制剂(50  $\mu$ g/g)饲喂 21 d。利用第二代测序技术测定白羽肉鸡盲肠肠道菌群,分析其多样性和组间差异,并记录其对生长性能和肠道形态的影响。结果显示,饲喂高、中剂量的复合益生菌显著降低了白羽肉鸡的料肉质量比,提升了肠道绒毛隐比( $P<0.05$ ),与金霉素制剂组结果相似。同时,饲喂不同剂量的复合益生菌和金霉素制剂后,白羽肉鸡盲肠肠道菌群的丰富度和多样性均发生了变化,复合益生菌均能够显著提升 Simpson 指数( $P<0.05$ )。此外,比较复合益生菌、金霉素制剂与空白组在门水平上的优势菌群变化,发现软壁菌门相对丰度均显著下降( $P<0.05$ )。在属水平上,发现 *Fournierella* 属的相对丰度显著升高, *Lachnospiraceae* 属的相对丰度显著下降( $P<0.05$ )。揭示了复合益生菌对白羽肉鸡的生长性能和肠道菌群结构均有促进作用,为更全面了解复合益生菌替代抗生素应用于白羽肉鸡养殖提供重要的理论依据。

**关键词:** 产气荚膜梭菌;白羽肉鸡;复合益生菌;饲料添加剂;肠道菌群

中图分类号:S 816.7 文章编号:1673-1689(2024)02-0097-10 DOI:10.12441/spyswjs.20211019001

## Effects of Compound Probiotics on Growth Performance, Intestinal Morphology and Intestinal Microbial Composition of White Feather Broilers Infected with *Clostridium perfringens*

XU Meiyu<sup>1,2</sup>, LUO Chengying<sup>1,2</sup>, XIN Weigang<sup>1,2</sup>, ZHANG Guanling<sup>1,2</sup>,  
WANG Chun<sup>3</sup>, LI Yaping<sup>3</sup>, LIN Lianbing<sup>\*1,2</sup>

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500 China; 2. Engineering Research Center for Replacement Technology of Feed Antibiotics of Yunnan College, Kunming 650500, China; 3. Kunming Saturn Biological technology Group, Kunming 650500, China)

收稿日期: 2021-10-19 修回日期: 2021-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760042)。

\* 通信作者: 林连兵(1969—),男,硕士,教授,博士研究生导师,主要从事噬菌体与肠道微生物研究。E-mail:linlb@kmust.edu.cn

**Abstract:** To explore the effects of different levels of compound probiotics on the growth performance, intestinal morphology and intestinal microbial composition of white feather broilers under the condition of *Clostridium perfringens* infection. Three-day-old healthy white feather broilers which have been infected with *Clostridium perfringens* were fed a basal diet supplemented with high (500 mg/kg), medium (200 mg/kg) and low (50 mg/kg) doses of compound probiotics composed of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* and 50 µg/g chlortetracycline for 21 days. The intestinal microbial composition in cecum of white feather broilers and its diversity and differences between groups were analyzed based on the second-generation high-throughput sequencing technology. The results showed that feeding high and medium doses of compound probiotics significantly decreased the feed to meat ratio and increased the villus height to crypt depth ratio of white feather broilers ( $P<0.05$ ), similar to chlortetracycline preparation group. At the same time, the richness and diversity changed after feeding different doses of compound probiotics and chlortetracycline preparation, and the compound probiotics significantly improved the Simpson index ( $P<0.05$ ). In addition, comparing the changes of dominant flora at phylum level between compound probiotics, chlortetracycline preparation and blank group, it was found that the relative abundance of Tenericutes decreased significantly ( $P<0.05$ ). At the genus level, it was found that the relative abundance of *Fournierella* increased significantly. The relative abundance of *Lachnospiraceae* decreased significantly ( $P<0.05$ ). The results reveal that compound probiotics can promote the growth performance and intestinal microflora structure of white feather broilers, providing an important theoretical basis for a more comprehensive understanding of the application of compound probiotics as a substitute for antibiotics in white feather broilers breeding.

**Keyword:** *Clostridium perfringens*, white feather broiler, composite probiotics, feed additives, intestinal microflora

白羽肉鸡具备繁殖成本低、易成活、生长速度快、屠宰率高、肉质好、饲料比高等特点,在保障中国肉类供应方面发挥了重要作用<sup>[1-3]</sup>。同时,白羽肉鸡是目前我国畜禽养殖类中养殖规模化和产业化程度高度集群的禽类,是我国动物蛋白来源的重要组成部分,是中国唯一能通过大量出口创造经济效益的肉类食品<sup>[4]</sup>。值得注意的是,目前食品安全问题受到了高度重视,在全面禁止抗生素饲用的大背景下,畜禽的生长性能下降,发病率上升,养殖经济效益大幅缩减等问题逐步加剧。而白羽肉鸡作为高度集约化养殖的家禽更易感染致病菌,因此,找到有效的抗生素替代品并进行多方面的评价对于保障白羽肉鸡等肉类制品的供应意义重大。

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*),也叫魏氏梭菌(*Clostridium welchii*),是厌氧型革兰氏阳性病原菌,严重威胁着畜禽养殖和人类食品安全<sup>[5-6]</sup>。产气荚膜梭菌 G 型菌株可分泌  $\alpha$  毒素和 NetB 毒素两种主要的毒力因子,感染雏鸡后可引发坏死性肠

炎,从而导致小肠黏膜坏死<sup>[7-8]</sup>。同时,雏鸡坏死性肠炎在家禽养殖中广泛存在,是一种产气荚膜梭菌 G 型菌株感染引起的肠毒型疾病,对肉鸡养殖造成了严重威胁,如改变肠道形态从而降低白羽肉鸡对饲料的吸收能力,严重者甚至引起肉鸡大量死亡<sup>[9]</sup>。目前主要通过在水或饲料中添加抗生素来治疗肉鸡的坏死性肠炎,极易导致耐药性和药物残留等问题<sup>[10-11]</sup>。因此,随着我国畜牧业逐步进入无抗养殖时代,如何有效防治产气荚膜梭菌感染引起的家禽坏死性肠炎等疾病再次成为畜牧工作者面临的难题<sup>[12]</sup>。

益生菌制剂饲喂畜禽可以促进畜禽吸收营养物质和分泌肠道消化酶,提高饲料转化率和畜禽免疫力,改善其生长性能和肠上皮屏障,在肠道健康调节等方面发挥关键作用<sup>[13-14]</sup>。例如,益生性枯草芽孢杆菌能分泌胞外酶降解饲料,增强畜禽对饲料的利用,从而对宿主的生产性能产生影响;益生性地衣芽孢杆菌能代谢产生抑菌活性物质从而促进肠道菌群平衡。以往研究表明,多菌制剂比单菌制剂

在畜禽的肠道形态、抗病性方面表现出更好的益生性,如谢文惠等研究表明饲喂复合益生菌可改善雏鸡的血清生化指标、肠道黏膜形态和养分表观利用率<sup>[15]</sup>,刘淑娇等的研究也表明饲喂复合益生菌能显著提高雏鸡的日增重、降低料肉质量比,促进生长,提高肉鸡免疫力<sup>[16]</sup>。此外,尽管诸多研究证实了复合益生菌可以治疗细菌性感染疾病和提高肉鸡生长性能,但人们对复合益生菌治疗细菌性感染疾病后的影响知之甚少。因此,作者在构建产气荚膜梭菌攻毒感染模型的基础上,通过在基础日粮中添加由枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌制成的复合益生菌制剂,探究其在不同添加质量浓度下对产气荚膜梭菌攻毒感染后的白羽肉鸡生长性能、肠道形态以及肠道菌群结构变化,为复合益生菌改善白羽肉鸡生产中坏死性肠炎的防治和益生菌制剂的科学应用提供一定理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

无添加肉鸡基础日粮完全参照作者所在课题组先前研究<sup>[17]</sup>进行配制;3日龄白羽肉鸡500羽、复合益生菌(枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌,总菌数 $1 \times 10^{10}$  CFU/g)、金霉素制剂、鸡源A型产气荚膜梭菌:昆明三正生物科技(集团)有限公司;总DNA抽提试剂盒(TIANamp Stool DNA Kit):天根生物技术公司;QIAquick Gel Extraction Kit试剂盒:德国Qiagen公司;SMRT Bell Template Prep Kit试剂盒:美国Pacific Biosciences公司;PHY-Ⅲ型病理组织漂烘仪:常州市中威电子仪器有限公司;Qubit 3.0荧光计:美国英潍捷基公司;Agilent 2100:美国安捷伦公司;数码三目摄像显微镜(BA400Digital):麦克奥迪实业集团有限公司;图像分析软件Image-Pro Plus 6.0:美国Media Cybernetics公司。

### 1.2 构建白羽肉鸡坏死性肠炎模型

试验采用A型产气荚膜梭菌毒株攻毒感染构建白羽肉鸡坏死性肠炎模型。产气荚膜梭菌的培养使用厌氧肉肝汤培养基。试验3日龄白羽肉鸡每天每羽灌服鸡源A型产气荚膜梭菌混悬液1 mL进行感染,白羽肉鸡表现腹泻,则模型构建成功。

### 1.3 试验分组与饲喂管理

所有试验按照组方的不同分为5组:基础日粮组(CHE);基础日粮中添加50  $\mu$ g/g金霉素制剂,使

用浓度参考以往研究设置(CKB)<sup>[17]</sup>,基础日粮中添加50 mg/kg复合益生菌(CJK1),基础日粮中添加200 mg/kg复合益生菌(CJK2),基础日粮中添加500 mg/kg复合益生菌(CJK3)。以上5组饲料配好于阴凉干燥处存放。试验中随机将500羽产气荚膜梭菌攻毒感染后的白羽肉鸡分配至5个组,每组5个重复,每个重复20羽。试验周期为21 d,以GB/T 19664—2005为饲养规范,每个重复分开饲养,避免接触感染。

### 1.4 生长性能测定

试验期间每天记录白羽肉鸡的采食量,分别于实验开始后第1、13、21天早晨记录白羽肉鸡空腹质量。平均日采食量见式(1):

$$F = m_T / t \quad (1)$$

式中: $F$ 为平均日采食量,g/d; $m_T$ 为总耗料量,g; $t$ 为试验天数,d。平均日增重见式(2):

$$G = m_a / t \quad (2)$$

式中: $G$ 为平均日增重,g/d; $m_a$ 为总增重,g; $t$ 为试验天数,d。平均料肉比见式(3):

$$r = F / G \quad (3)$$

式中: $r$ 为平均料肉比; $F$ 为平均日采食量,g/d; $G$ 为平均日增重,g/d。每个分组选取5羽健康白羽肉鸡进行称量,每羽独立重复3次。

### 1.5 肠道形态的测定

在试验第21天时,每个组抽取5羽白羽肉鸡,截取肠道卵黄蒂前端5 cm肠段,固定采用质量分数10%的中性福尔马林溶液。固定后的组织用不同体积分数的乙醇梯度脱水,再用二甲苯透明处理样本,用石蜡包埋样品。包埋后将组织蜡块用切片机切片,经烤片、烘片处理后,用苏木精-伊红染液染色,然后用中性树脂封片,做成永久切片。采集切片图像并测量绒毛高度(villus height, VH)、隐窝深度(crypt depth, CD),每组数据相对应计算绒毛隐比。

### 1.6 肠道微生物的测定

**1.6.1 DNA提取和PCR扩增** 在试验第21天时,每组随机放血处死并剖检5羽白羽肉鸡。无菌结扎盲肠后截取肠段样本,冻存备用。将鸡盲肠肠段取出清洗表面微生物并置于2 mL离心管中,按照试剂盒说明书提取总DNA并用琼脂糖凝胶电泳检测。以稀释至1 mg/L的基因组DNA为模板,选择带Barcode的特异引物和高保真酶混合体系进行16S全长的PCR扩增。用2 g/dL



的琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。根据 PCR 扩增产物浓度进行混合,使用 QIAquick Gel Extraction Kit 试剂盒对目的条带进行胶回收。

**1.6.2 文库构建和上机测序** 用 SMRT Bell Template Prep Kit 试剂盒构建 16S 基因文库,在扩增后的 DNA 片段两端用 DNA 聚合酶将测序接头连接上,用 AMPure PB 磁珠纯化 DNA 片段,构建 SMRT Bell 文库。用缓冲液回溶纯化后的 DNA 片段,用 BluePipin 片段筛选特定片段并用 AMPure PB 磁珠纯化筛选片段。用 Qubit 3.0 荧光计进行文库的浓度定量,用 Agilent 2100 进行插入片段长度的确定,在百迈客生物科技有限公司二代测序平台对样品进行测序和分析。

**1.6.3 数据处理** PacBio 下机数据导出为 bam 文件。使用 Lima 软件根据 barcode 序列区分各样本的数据并以 bam 格式保存。校正序列使用 CCS (SMRT Link v5.0),矫正参数 CCS=3,最小准确率 0.9,选取长度范围 1 340~1 640 bp 的序列,以 fastq 和 fasta 保存;随后进行 SSR 过滤含有 8 个以上连续相同碱基数的序列并使用 cutadapt 去除引物。可读序列通过 (UCHIME Algorithm, [http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime\\_algo.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html))与全长注释数据库进行比对<sup>[18]</sup>,检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列 ([http://www.drive5.com/usearch/manual/chimera\\_formation.html](http://www.drive5.com/usearch/manual/chimera_formation.html))<sup>[19]</sup>,得到高质量数据。后续数据分析参考进行 alpha 多样性分析、Beta 多样性分析以及在门、属水平统计各样本的群落组成。

## 1.7 数据分析

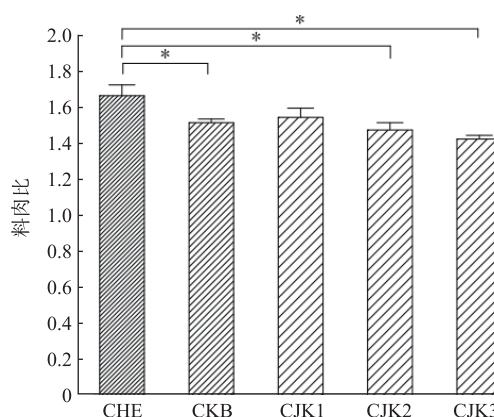
所有试验数据均包含至少 3 次生物学重复,以平均值±标准差(SD)的方式呈现。应用 IBM SPSS 24.0 统计软件进行单因素方差统计分析和 LSD 多重比较,显著差异性水平定为  $P<0.05$ ,图片绘制采用 Origin 2019 进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 复合益生菌对感染产气荚膜梭菌后的白羽肉鸡生长性能的影响

将 5 个组白羽肉鸡分别饲喂被产气荚膜梭菌感染后的白羽肉鸡,在 21 d 记录并计算出每组的平均日采食量(ADFI)和平均日增重(ADG),以料肉比(F/G)评估每组白羽肉鸡的生长状况并与传统抗生素金霉素制剂进行比较,见图 1。结果显示,在产气

荚膜梭菌感染的情况下,日粮中添加金霉素制剂和复合益生菌均可降低白羽肉鸡的料肉比。CKB 组、CJK2 组、CJK3 组的料肉比相比于 CHE 组显著降低( $P<0.05$ ),且随着日粮中复合益生菌添加水平的上升白羽肉鸡料肉比呈下降趋势,CJK3 组料肉比达到最低。



\* 表示实验组与空白组(CHE)差异显著( $P<0.05$ )。

图 1 不同组白羽肉鸡生长性能的比较

Fig. 1 Comparison of growth performance of different groups of white feather broilers

### 2.2 复合益生菌对感染产气荚膜梭菌后的白羽肉鸡肠道形态的影响

本研究结果中每组随机剖检白羽肉鸡 5 羽,每羽选取 10 根走向平直且形态完整的绒毛计算绒隐比。结果发现,添加金霉素制剂和复合益生菌后,相比于对照组,肠绒毛发育良好,断裂和肠绒毛损伤减少,见图 2。在有产气荚膜梭菌攻毒感染的情况下,CKB 组、CJK1 组、CJK2 组、CJK3 组与 CHE 组相比均能提高绒毛高度,降低隐窝深度,从而提升绒隐比,改善肠道健康度。CKB 组、CJK2 组、CJK3 组与 CHE 组相比绒隐比提升效果显著( $P<0.05$ ),CJK3 组提升绒隐比的效果最佳,且和金霉素制剂质量分数为 50  $\mu\text{g/g}$  时的效果没有显著差异,见图 3。

### 2.3 益生菌对感染产气荚膜梭菌后的白羽肉鸡肠道菌群的影响

**2.3.1  $\alpha$  多样性分析** 分析表 1 可知,各分组样本的有效序列数在 72 046~81 880 间,有效序列数目较高,样品的覆盖度(coverage)达到 0.999,则测序结果对测序样品的覆盖度较好,各组间 OUT 数目没有显著差异( $P>0.05$ )。分析各试验组与对照组之间

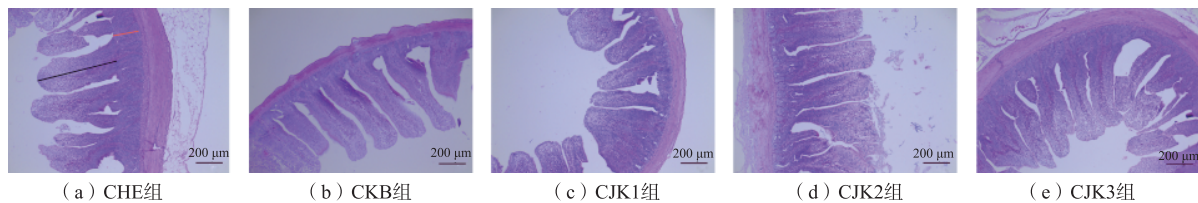
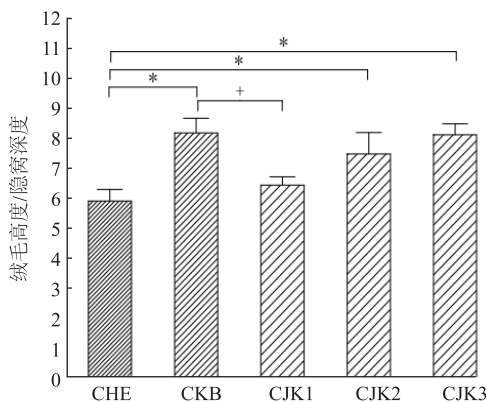


图2 不同组白羽肉鸡肠道组织形态

Fig. 2 Intestinal morphology of white-feathered broilers in different groups



\*表示不同组与空白组(CHE)显著差异( $P<0.05$ );+表示不同剂量的复合益生菌组与金霉素制剂组(CKB)显著差异( $P<0.05$ )。

图3 不同组白羽肉鸡肠道组织绒毛高度与隐窝深度比值  
Fig. 3 Ratio of villus height to crypt depth in intestinal tissue of whitefeather broilers in different groups

表1  $\alpha$ 多样性指数

Table 1  $\alpha$ -diversity index

组名	有效序列数	可操作分类单元数目	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	覆盖度
CHE	72 046±11 115	276±6	291.680±5.882	315.605±32.067	5.283±0.121	0.947±0.003	0.999
CKB	79 141±1702	280±8	281.494±8.043	282.871±10.257	5.355±0.030	0.943±0.001	0.999
CJK1	81 880±2 869	309±11	313.512±11.714	318.976±13.383	5.615±0.089	0.954±0.001 <sup>+</sup>	0.999
CJK2	77 534±4 584	308±9	311.704±10.576	311.994±13.733	5.619±0.159	0.952±0.005 <sup>+</sup>	0.999
CJK3	78 639±2 719	286±6	286.858±1.642	283.762±3.453	5.714±0.056	0.963±0.002 <sup>+</sup>	0.999

注:\*表示实验组与空白组(CHE)差异显著( $P<0.05$ );+表示不同剂量的复合益生菌组与金霉素制剂组(CKB)显著差异( $P<0.05$ )。

## 2.4 肠道菌群组成及优势菌群相对丰度分析

对产气荚膜梭菌攻毒感染后白羽肉鸡肠道菌群进行分析后,发现在门水平分类单元中,相对丰度前7位的为厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、软壁菌门(Tenericutes)、放线菌门(Actinobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)、蓝藻菌门(Cyanobacteria),见图5。为探究不同添加剂量的复合益生菌与金霉素制剂对白羽肉鸡肠道菌群结构的影响,分析了不同剂量

的丰富度和多样性指数,发现 CJK3 组、CKB 组的 Chao1、Ace 指数均低于 CHE 组,CKB、CJK1、CJK2、CJK3 组的 Shannon 指数均高于 CHE 组,CJK1、CJK2、CJK3 组的 Simpson 指数均高于 CHE 组( $P<0.05$ ),CJK1、CJK2、CJK3 组的 Simpson 指数均高于 CKB 组( $P<0.05$ )。表明产气荚膜梭菌感染白羽肉鸡后,在基础饲料中添加复合益生菌可提高肠道菌群多样性,降低肠道菌群的丰富度。

**2.3.2  $\beta$ 多样性分析**  $\beta$ 多样性用于分析组间与组内各样本间微生物群落组成的差异性与相似性,本试验由 NMDS (Stress=0.122) (图4(a))和 PCoA 法分析(见图4(b))发现,组间样本明显分开,且各组内样本紧密靠近。各试验组与空白组之间距离相差较大,表明试验分组合理,金霉素制剂和复合益生菌都会对白羽肉鸡肠道菌群造成一定影响。

的复合益生菌和金霉素制剂组与空白组的相对丰度差异以及不同剂量的复合益生菌与金霉素制剂组的相对丰度差异,见表2。结果发现,与 CHE 组相比,CJK2 组变形菌门相对丰度显著升高,CJK1、CJK2、CJK3 组软壁菌门相对丰度显著下降( $P<0.05$ );CKB 组厚壁菌门相对丰度显著升高,软壁菌门相对丰度显著下降( $P<0.05$ )。与 CKB 组相比,CJK1 组拟杆菌门相对丰度显著升高,厚壁菌门相对丰度显著下降,CJK2 组变形菌门相对丰度显著升高( $P<0.05$ )。

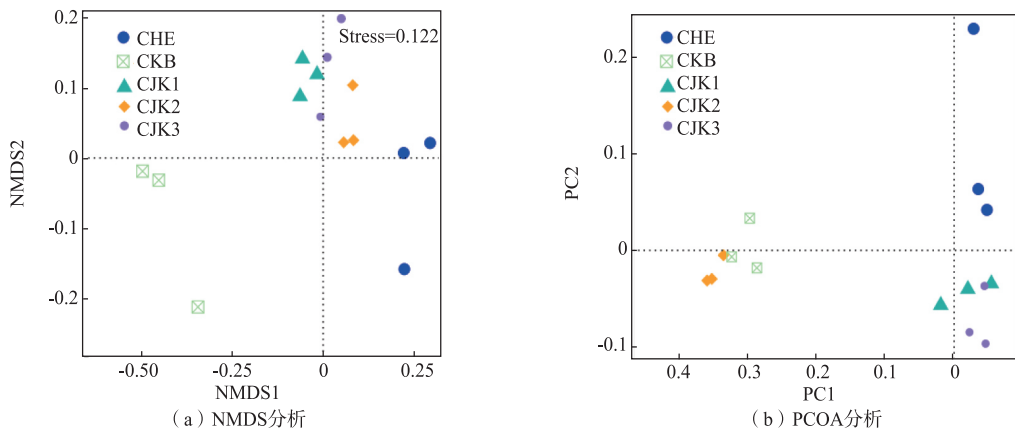


图 4 NMDS 分析 图(a)、PCoA 分析 图(b)

Fig. 4 NMDS(a) and PCoA(b) analysis

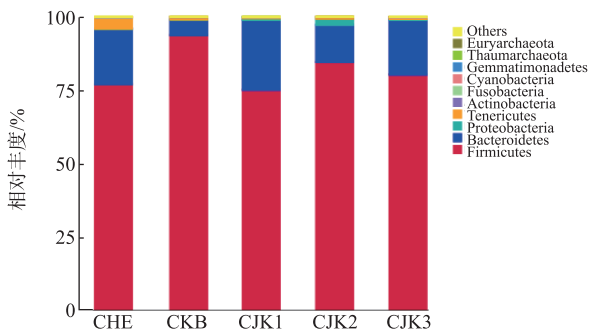


图 5 门水平肠道菌群组成

Fig. 5 Composition of gut flora at Phyla level in treatment and control groups

在属水平分类单元中，粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、另枝菌属 (*Alistipes*)、变形杆菌属 (*Proteus*)、*Fournierella*、肠球菌属 (*Enterococcus*) 等的相对丰度最高,见图 6。定义属水平上相对丰度前 10 位的菌群为优势菌群，分析比较不同剂量的

复合益生菌和金霉素制剂组与空白组的相对丰度差异及不同剂量的复合益生菌与金霉素制剂组的相对丰度差异,见表 3。结果发现,与 CHE 组相比 CJK2 组变形杆菌属、*Clostridiales* 相对丰度显著升高,CJK3 组肠球菌属相对丰度显著升高,CJK1、CJK2、CJK3 组 *Fournierella*、罕见小球菌属相对丰度均显著升高、*Lachnospiraceae* 相对丰度显著下降 ( $P<0.05$ );CKB 组 *Fournierella*、肠球菌属、布劳特氏菌属、*Ruminococcaceae* 相对丰度显著升高、*Lachnospiraceae* 相对丰度显著下降 ( $P<0.05$ )。与 CKB 组相比,CJK1 组另枝菌属相对丰度显著升高,CJK2 组变形杆菌属、*Clostridiales* 相对丰度显著升高、*Ruminococcaceae* 属相对丰度显著下降,CJK1、CJK2 组肠球菌属、布劳特氏菌属相对丰度显著下降,CJK1、CJK2、CJK3 组 *Fournierella* 属相对丰度显著下降、罕见小球菌属相对丰度显著升高 ( $P<0.05$ )。

表 2 门分类单元下相对丰度前 7 位细菌的变化

Table 2 Changes in relative abundance of top 7 bacteria phylum taxa

门	CHE	CKB	CJK1	CJK2	CJK3
厚壁菌门 Firmicutes	0.770 8±0.153 9	0.937 3±0.048 6*	0.751 6±0.055 2+	0.846 4±0.029 7	0.803 2±0.020 5
拟杆菌门 Bacteroidetes	0.187 7±0.157 8	0.052 6±0.048 1	0.237 4±0.056 2+	0.125 7±0.027 8	0.186 0±0.021 0
变形菌门 Proteobacteria	0.000 6±0.000 3	0.000 6±0.000 3	0.005 6±0.000 6	0.021 1±0.009 7*	0.003 3±0.000 6
软壁菌门 Tenericutes	0.038 8±0.013 9	0.008 5±0.002 0*	0.004 4±0.000 5*	0.006 0±0.000 9*	0.005 8±0.000 4*
放线菌门 Actinobacteria	0.000 1±0.000 02	0.000 09±0.000 06	0.000 1±0.000 2	0.000 2±0.000 2	0.000 1±0.000 1
梭杆菌门 Fusobacteria	0	0	0.000 03±0.000 05	0	0
蓝藻菌门 Cyanobacteria	0	0	0	0	0.000 02±0.000 03
其他	0.002 0±0.000 9	0.001 0±0.000 3	0.000 9±0.000 2	0.000 6±0.000 1	0.001 5±0.000 3

注:\*表示不同组与空白组(CHE)显著差异( $P<0.05$ );+表示不同剂量的复合益生菌组与金霉素制剂组(CKB)显著差异( $P<0.05$ )。



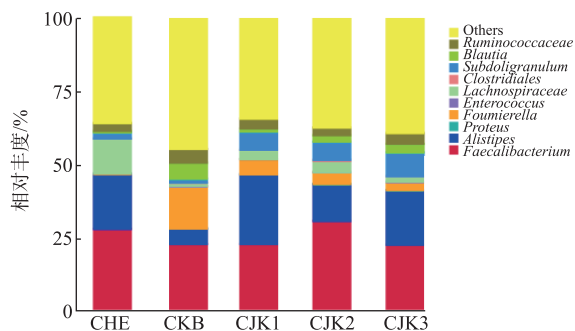


图 6 属水平肠道菌群组成  
 Fig. 6 Composition of gut flora at Genera level in treatment and control groups

表 3 属分类单元下相对丰度前 10 位细菌的变化

Table 3 Changes in relative abundance of the top10 in genera taxa

属	CHE	CKB	CJK1	CJK2	CJK3
粪杆菌属 <i>Faecalibacterium</i>	0.279 4±0.093 2	0.233 8±0.014 2	0.233 8±0.026 2	0.312 2±0.023 9	0.231 4±0.013 1
另枝菌属 <i>Alistipes</i>	0.187 5±0.158 0	0.052 6±0.048 1	0.237 3±0.056 4 <sup>+</sup>	0.125 7±0.027 8	0.185 9±0.021 2
变形杆菌属 <i>Proteus</i>	0.000 08±0.000 01	0.000 1±0.000 1	0.000 2±0.000 03	0.000 3±0.000 1 <sup>+</sup>	0.000 2±0.000 04
<i>Fournierella</i>	0.001 3±0.000 3	0.143 7±0.027 1 <sup>*</sup>	0.051 8±0.005 2 <sup>+</sup>	0.040 3±0.007 9 <sup>+</sup>	0.027 2±0.002 6 <sup>+</sup>
肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	0.000 8±0.000 3	0.001 6±0.000 7 <sup>*</sup>	0.000 2±0.000 06 <sup>+</sup>	0.000 6±0.000 1 <sup>+</sup>	0.001 6±0.000 3 <sup>*</sup>
<i>Lachnospiraceae</i>	0.117 9±0.046 0	0.010 2±0.004 9 <sup>*</sup>	0.030 9±0.004 0 <sup>*</sup>	0.037 6±0.013 0 <sup>*</sup>	0.017 6±0.005 1 <sup>*</sup>
<i>Clostridiales</i>	0.000 8±0.000 1	0.000 9±0.000 3	0.001 3±0.000 3	0.003 7±0.000 4 <sup>+</sup>	0.001 1±0.000 2
罕见小球菌属 <i>Subdoligranulum</i>	0.020 2±0.013 8	0.013 1±0.005 0	0.061 5±0.005 4 <sup>+</sup>	0.061 9±0.019 7 <sup>+</sup>	0.080 9±0.017 8 <sup>+</sup>
布劳特氏菌属 <i>Blautia</i>	0.005 2±0.001 8	0.054 5±0.033 5 <sup>*</sup>	0.010 2±0.001 0 <sup>+</sup>	0.022 0±0.008 1 <sup>+</sup>	0.029 2±0.008 6
<i>Ruminococcaceae</i>	0.027 2±0.013 3	0.047 3±0.047 <sup>*</sup>	0.033 8±0.002 6	0.026 2±0.002 9 <sup>+</sup>	0.036 8±0.001 8
其他	0.359 5±0.109 5	0.442 1±0.053 1	0.339 0±0.021 6	0.369 4±0.052 7	0.388 1±0.026 0

注: \* 表示不同组与空白组(CHE)显著差异( $P<0.05$ ); +表示不同剂量的复合益生菌组与金霉素制剂组(CKB)显著差异( $P<0.05$ )。

染后的白羽肉鸡生长性能、肠道形态及肠道菌群的影响,并传统抗生素金霉素制剂进行比较。研究结果显示,饲喂复合益生菌组相比于对照组料肉质量比发生了不同程度降低,这与以往益生菌对畜禽生长性能的影响相似<sup>[21]</sup>。随着复合益生菌组剂量的上升白羽肉鸡的料肉质量比呈现出下降趋势,高剂量(500 mg/kg)、中剂量(200 mg/kg)的复合益生菌与空白组相比均存在显著差异( $P<0.05$ ),表明复合益生菌对于白羽肉鸡的生长具有明显促进效果。此外,对比不同剂量的复合益生菌与金霉素制剂组之间的料肉比,复合益生菌与抗生素作用效果类似,能够改善消化道对营养物质的利用能力,从而提高了白羽肉鸡的生长性能<sup>[22]</sup>,达到抗生素的替代效果。

肠道的优化发育对于营养吸收和家禽抵抗疾病尤其重要<sup>[23]</sup>。肠绒毛高度反应小肠吸收营养物质

3 讨论

复合益生菌作为一种绿色健康环保的饲料添加剂,在提升白羽肉鸡生长性能、减缓由于抗生素的添加导致的菌群失调等方面发挥着重要作用。产气荚膜梭菌对白羽肉鸡的健康构成重大威胁<sup>[4]</sup>,特别是白羽肉鸡感染产气荚膜梭菌后会以肠道黏膜出血性坏死为主要特征的消化道传染病,具有较高的发病率和死亡率,对禽类养殖业造成了严重损失<sup>[20]</sup>。因此,作者通过在白羽肉鸡基础日粮上添加不同剂量的复合益生菌,研究其对产气荚膜梭菌感

的面积大小,隐窝的深浅代表化学消化功能的强弱。病原菌感染肠道后,引起绒毛高度降低和隐窝深度增加,降低绒隐比<sup>[24]</sup>。产气荚膜梭菌感染后,肠道生理机能发生改变,白羽肉鸡表现为腹泻等症状。在基础日粮上添加不同剂量的复合益生菌饲喂产气荚膜梭菌感染后的白羽肉鸡后与对照组相比,复合益生菌组与金霉素制剂组绒毛高度与隐窝深度的比值均有不同程度升高,且复合益生菌添加质量分数为 200、500 mg/kg 时,作用效果与金霉素制剂组相似,能显著提高绒毛高度与隐窝深度的比值( $P<0.05$ ),绒隐比比值越大,消化吸收能力就越强<sup>[25]</sup>。本研究结果表明,饲喂高、中、低剂量的复合益生菌可提升绒毛高度,降低隐窝深度,提升绒毛高度与隐窝深度的比值。这一研究结果与大多数添加复合益生菌能提高绒隐比的研究类似<sup>[26]</sup>。因此,复合益生

菌饲喂产气荚膜梭菌感染后的白羽肉鸡能增强其消化功能。

畜禽肠道微生物对维持宿主健康起重要作用<sup>[27]</sup>。结果显示,饲喂复合益生菌后白羽肉鸡肠道菌群在门分类水平上厚壁菌门和拟杆菌门占比较高,该研究结果与以往益生菌对产气荚膜梭菌感染后的白羽肉鸡的研究结果相似<sup>[28]</sup>。软壁菌门细菌增多会降低畜禽生长性能<sup>[29]</sup>,与空白组相比,饲喂复合益生菌、金霉素制剂后软壁菌门相对丰度均显著下降( $P<0.05$ ),推测治疗后白羽肉鸡料肉比的下降和绒毛隐比的上升可能是因为软壁菌门相对丰度下降。在属分类水平上,10个优势肠道菌群属的相对丰度在饲喂复合益生菌后发生了不同程度变化。分析产气荚膜梭菌感染白羽肉鸡属水平相对丰度变化,在属水平上,发现 *Fournierella* 属相对丰度均显著升高, *Lachnospiraceae* 属相对丰度均显著下降 ( $P<0.05$ )。研究发现 *Lachnospiraceae* 与人类溃疡性结肠炎相关<sup>[30]</sup>,因此推测复合益生菌饲喂产气荚膜梭菌感染后的白羽肉鸡可通过降低 *Lachnospiraceae* 属相对丰度达到白羽肉鸡坏死性肠炎的防治效果。研究发现,罕见小球菌属随着白羽肉鸡坏死性肠炎的加重呈下降趋势<sup>[31]</sup>,饲喂复合益生菌后感染产气荚膜梭菌的白羽肉鸡肠道菌群中罕见小秋菌属细菌相对

丰度显著升高( $P<0.05$ ),则饲喂复合益生菌能治疗白羽肉鸡坏死性肠炎。肠球菌属的屎肠球菌能显著降低肉鸡料肉比<sup>[32]</sup>,与对照组相比,金霉素制剂与高剂量复合益生菌(500 mg/kg)饲喂的白羽肉鸡肠球菌属相对丰度均显著升高,进一步表明肠球菌属能改善白羽肉鸡生长性能。

## 4 结 语

作者利用金霉素制剂和由枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌组成的复合益生菌分别饲喂产气荚膜梭菌感染后的白羽肉鸡,比较生长性能、肠道形态和肠道菌群结构的变化。结果证实,复合益生菌对于感染产气荚膜梭菌后的白羽肉鸡生长性能、肠道形态和肠道菌群结构的影响与金霉素制剂相似,尤其是复合益生菌添加质量分数为 500 mg/kg 时饲喂感染产气荚膜梭菌的白羽肉鸡后,有效降低了白羽肉鸡料肉质量比,促进了白羽肉鸡的快速生长发育,且能够促进肠道对营养物质的消化吸收和改善白羽肉鸡肠道菌群健康。在当前我国面临饲料中禁抗的关键节点,本研究结果利用不同质量浓度的复合益生菌饲喂感染致病菌后的白羽肉鸡并评估生长性能、肠道形态和肠道菌群结构,为复合益生菌应用于白羽肉鸡养殖提供理论依据。

## 参考文献:

- [1] 辛翔飞,郑麦青,文杰,等. 2020 年我国肉鸡产业形势分析、未来展望与对策建议[J]. 中国畜牧杂志,2021,57(3):217-222.  
XIN X F, ZHENG M Q, WEN J, et al. Situation analysis, future prospect and countermeasures of China's broiler industry in 2020 [J]. **Chinese Journal of Animal Science**, 2021, 57(3): 217-222. (in Chinese)
- [2] 李伟娟,毛艳. 不同水平的丹参提取物对白羽肉鸡生产性能、免疫指标及抗氧化能力的影响[J]. 饲料研究,2021,44(12): 55-58.  
LI W J, MAO Y. Effect of different levels of *Salvia miltiorrhiza* extract on growth performance, immune function and antioxidant capacity of white feathered broilers[J]. **Feed Research**, 2021, 44(12): 55-58. (in Chinese)
- [3] 陈彬龙. 基因组重测序揭示鸡的遗传多样性和进化选择模式[D]. 雅安:四川农业大学,2018.
- [4] 李尚润. 我国白羽肉鸡产业发展问题研究[D]. 北京:对外经济贸易大学,2015.
- [5] 王柏森,谷长勤,佟建南. 产气荚膜梭菌检测方法研究进展[J]. 当代畜牧,2020(10):37-42.  
WANG B S, GU C Q, TONG J N. Research progress on detection methods of *Clostridium perfringens* [J]. **Contemporary Animal Husbandry**, 2020(10): 37-42. (in Chinese)
- [6] 张元可. 维生素 A 对球虫和产气荚膜梭菌混合感染肉鸡肠道屏障和免疫功能的影响[D]. 武汉:武汉轻工大学,2020.
- [7] HOSEINI Z S, HAJIZADE A, RAZMYAR J, et al. Mesoporous silica nanoparticles-based formulations of a chimeric proteinous vaccine candidate against necrotic enteritis disease [J]. **Materials Science & Engineering C Materials for Biological Applications**, 2021, 128: 112316.
- [8] 刘水. 穗花杉双黄酮对产气荚膜梭菌坏死性肠炎及气性坏疽的治疗作用机制[D]. 长春:吉林大学,2020.
- [9] 韩迪. 饲料中添加  $\beta$ -1,3- 葡聚糖对感染产气荚膜梭菌肉鸡生长性能和肠道健康的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2020.



- [10] 牟达. 鸡坏死性肠炎症的治疗措施[J]. 吉林畜牧兽医, 2021, 42(5): 55.  
MOU D. Treatment measures of necrotizing intestinal inflammation in chickens[J]. **Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine**, 2021, 42(5): 55. (in Chinese)
- [11] 范雪梅, 林瑞庆, 翁亚彪, 等. 饲料禁抗背景下鸡球虫病和坏死性肠炎的综合防控[J]. 养禽与禽病防治, 2020(10): 11-15.  
FAN X M, LIN R Q, WENG Y B, et al. Comprehensive prevention and control of coccidiosis and necrotizing enteritis in chickens under the background of feed prohibition[J]. **Poultry Husbandry and Disease Control**, 2020(10): 11-15. (in Chinese)
- [12] 田志梅, 崔艺燕, 杜宗亮, 等. 抗生素替代物在畜禽养殖中的研究及应用进展[J]. 动物营养学报, 2020, 32(4): 1516-1525.  
TIAN Z M, CUI Y Y, DU Z L, et al. Advances in researches and applications of antibiotic alternatives in livestock breeding[J]. **Chinese Journal of Animal Nutrition**, 2020, 32(4): 1516-1525. (in Chinese)
- [13] ZHANG Y P, LIANG X F, HE S, et al. Dietary supplementation of exogenous probiotics affects growth performance and gut health by regulating gut microbiota in Chinese Perch (*Siniperca chuatsi*) [J]. **Aquaculture**, 2022, 547: 737405.
- [14] DENG Y L, VERDEGEM M C J, EDING E, et al. Effect of rearing systems and dietary probiotic supplementation on the growth and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae[J]. **Aquaculture**, 2022, 546: 737297.
- [15] 谢文惠, 姜宁, 王鑫, 等. 复合益生菌制剂对肉仔鸡养分表观利用率、血清生化指标和肠道黏膜形态的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(4): 1495-1503.  
XIE W H, JIANG N, WANG X, et al. Effects of compound probiotics on nutrient apparent availability, serum biochemical indexes and intestinal mucosa morphological structure of broilers[J]. **Chinese Journal of Animal Nutrition**, 2018, 30(4): 1495-1503. (in Chinese)
- [16] 刘淑娇, 张东旭, 刘丽敏. 复合益生菌制剂对肉仔鸡生产性能、血清生化指标和免疫功能的影响 [J]. 中国饲料, 2019(2): 34-38.  
LIU S J, ZHANG D X, LIU L M. Effects of compound probiotics on growth performance, serum biochemical indexes and immunity function of broilers[J]. **China Feed**, 2019(2): 34-38. (in Chinese)
- [17] 杨瑞思, 江宇航, 张关令, 等. 复合噬菌体裂解酶对白羽肉鸡肠道菌群结构和肝脏抗氧化酶指标的影响[J]. 微生物学通报, 2021, 48(9): 3116-3129.  
YANG R S, JIANG Y H, ZHANG G L, et al. Effects of complex phage lysis on growth performance, organ index and major antioxidant enzyme activities in white feather broilers[J]. **Microbiology China**, 2021, 48(9): 3116-3129. (in Chinese)
- [18] 范锦琳, 易超, 王诗宇, 等. 基于高通量测序技术解析茵陈酒发酵过程中细菌菌群变化[J]. 中国酿造, 2023, 42(8): 52-57.  
FAN J L, YI C, WANG S Y, et al. Analysis of changes of bacterial flora of Juncao wine during the fermentation process based on high throughput sequencing technology[J]. **China Brewing**, 2023, 42(8): 52-57. (in Chinese)
- [19] 王倩倩, 陆嘉惠, 张洁等. 不同分布区胀果甘草原生境土壤微生物群落结构特征及其影响因素[J]. 生态学报, 2022, 42(23): 9780-9795.  
WANG Q Q, LU J H, ZHANG H, et al. Soil microbial community structure and its influencing factors in original habitat of *Glycyrrhiza inflata* in different distribution areas[J]. **Acta Ecologica Sinica**, 2022, 42(23): 9780-9795. (in Chinese)
- [20] 王芳. 噬菌体对鸡产气荚膜梭菌的药动学—药效学同步关系及临床疗效研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [21] 宫秀燕. 凝结芽孢杆菌对病原菌感染肉鸡肠道黏膜屏障结构与功能影响[D]. 银川: 宁夏大学, 2016.
- [22] 栾海宏. 复合益生菌制剂对肉鸡生长性能及日粮表观消化率的影响[J]. 中国饲料, 2021(13): 53-55.  
LUAN H H. Effects of complex probiotics on growth and nutrients digestibility of chickens[J]. **China Feed**, 2021(13): 53-55. (in Chinese)
- [23] MARCHEWKA J, SZTANDARSKI P, ZDANOWSKA-SASIADEK Z, et al. Gastrointestinal tract morphometrics and content of commercial and indigenous chicken breeds with differing ranging profiles[J]. **Animals: an Open Access Journal from MDPI**, 2021, 11(7): 1881.
- [24] 李文菁, 魏凯敏, 张少秋, 等. 核桃青皮及其提取物对黄羽肉仔鸡肠道形态、黏膜抗氧化性能及微生物多样性的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 2056-2065.  
LI W J, WEI K M, ZHANG S Q, et al. Effects of walnut green husk and its extract on intestinal morphology, mucosal antioxidant activity and microbial diversity of yellow-feather broilers[J]. **China Animal Husbandry & Veterinary Medicine**, 2021, 48(6): 2056-2065. (in Chinese)

- [25] 周文,曲湘勇,刘华. 博落回散和金霉素对白羽肉鸡生长性能、血液生化指标、肠道健康影响的比较研究[J]. 湖南饲料,2018(6):28-32.
- ZHOU W,QU X Y,LIU H. Comparative study on the effects of *Macleaya cordata* powder and chlortetracycline on growth performance,blood biochemical indexes and intestinal health of white feather broilers[J]. **Hunan Feed**,2018(6):28-32. (in Chinese)
- [26] 夏亿. 发酵乳杆菌和凝结芽孢杆菌对感染产气荚膜梭菌的肉鸡生长性能和肠道健康的影响[D]. 武汉:武汉轻工大学,2019.
- [27] 李湛,陈裕殷,刘林娜,等. 子痫前期患者肠道微生物特征及益生菌调节[J]. 中国微生态学杂志,2020,32(2):243-245.
- LI Z,CHEN Y Y,LIU L N,et al. Gut microbiota characteristics and probiotic regulation in preeclampsia patients[J]. **Chinese Journal of Microecology**,2020,32(2):243-245. (in Chinese)
- [28] GUO S S,XI Y,XIA Y,et al. Dietary *Lactobacillus fermentum* and *Bacillus coagulans* supplementation modulates intestinal immunity and microbiota of broiler chickens challenged by *Clostridium perfringens*[J]. **Frontiers in Veterinary Science**,2021,8:680742.
- [29] 吕冬玲,司景磊,莫家远,等. 16S rRNA 测序揭示猪日增重与肠道微生物的关系[J]. 畜牧与兽医,2021,53(9):9-15.
- LYU D L,SI J L,MO J Y,et al. 16S rRNA sequencing revealed the relationship between daily weight gain and intestinal microorganisms in pigs[J]. **Animal Husbandry & Veterinary Medicine**,2021,53(9):9-15. (in Chinese)
- [30] LI S Y,WANG Z L,YANG Y,et al. Lachnospiraceae shift in the microbial community of mice faecal sample effects on water immersion restraint stress[J]. **AMB Express**,2017,7(1):82.
- [31] YANG Q,LIU J,WANG X F,et al. Identification of an intestinal microbiota signature associated with the severity of necrotic enteritis[J]. **Frontiers in Microbiology**,2021,12:703693.
- [32] 王卫卫,张安荣,陈志敏,等. 屎肠球菌对肉鸡生长性能和血清生化指标的影响[J]. 饲料工业,2021,42(11):38-43.
- WANG W W,ZHANG A R,CHEN Z M,et al. Effects of *Enterococcus faecium* on growth performance and serum biochemical indices of broilers[J]. **Feed Industry**,2021,42(11):38-43. (in Chinese)