

乳酸菌微生态制剂对肉鸡生产性能及免疫机能的影响

石 峰^{1,2},王 涛³,牛钟相^{1,2}

(1. 山东农业大学 动物科技学院,山东 泰安 271018;
2. 山东省动物生物技术与疫病防治重点实验,山东 泰安 271018;3. 蒙阴县联城镇兽医站,山东 蒙阴 276200)

摘要: 本实验利用乳酸菌微生态制剂饲喂 AA 肉鸡,通过检测鸡增重、料重比、免疫器官指数、抗体效价以及盲肠内容物的乳酸菌和大肠杆菌数量,探索乳酸菌微生态制剂对肉鸡生产性能及免疫功能的影响。首先将 150 只肉鸡随机分成 3 组,第 1 组在饮水中添加 0.3% 的乳酸菌微生态制剂,第 2 组添加抗生素饮水,第 3 组为空白对照组,7 日龄时接种新城疫疫苗;于每周末称取各组鸡的体重、耗料,计算增重和耗料量;在 21 日龄和 35 日龄时,采取各组鸡的脾脏、法氏囊和胸腺、分别计算免疫器官指数;用 HI 和微量平板滴种法分别检测抗体效价和盲肠内容物乳酸菌、大肠杆菌数量。结果显示,添加 0.3% 乳酸菌微生态制剂组与对照组和抗生素组鸡比较,分别提高鸡体重 15.55% 和 8.57% (差异显著 $P < 0.05$),料重比分别降低 5.11% 和 4.57%;于 21 日龄和 35 日龄时检测发现,添加 0.3% 乳酸菌微生态制剂组与对照组鸡比较,脾脏、法氏囊和胸腺指数分别提高了 44.26%、13.51%、33.96% 和 67.14%、16.47%、38.16%;抗体水平分别升高了 1.8log₂ 和 2 log₂,差异显著 ($P < 0.05$),与抗生素组比较,抗体效价分别提高了 1.4log₂ 和 1.75log₂,差异显著 ($P < 0.05$);另外,21 日龄和 35 日龄时,与对照组比较,添加 0.3% 乳酸菌微生态制剂鸡盲肠内容物中乳酸菌数量分别增加 1.28log₂ 和 0.27log₂,差异显著 ($P < 0.05$),同时分别使大肠杆菌数量减少 1.88log₂ 和 0.84log₂,差异显著 ($P < 0.05$)。本研究为合理开发利用乳酸菌微生态制剂提供了理论依据和技术支持。

关键词: 微生态制剂; 乳酸菌; 肉鸡; 生产性能; 免疫器官指数; 抗体

中图分类号: Q 517 文献标识码: A 文章编号: 1000 – 2324(2010) 03 – 079 – 05

EFFECTS OF LACTOBACILLUS PROBIOTICS ON THE PERFORMANCE AND IMMUNITY OF BROILERS

SHI Feng^{1,2},WANG Tao³,NIU Zhong – xiang^{1,2}

(1. College of Veterinary Medicine,Shandong Agricutured University,Shandong Taian 271018;
2. Shandong Provincial Key latoratory of Animal Biotechnology and Disease Control and Prevention,Shandong Taian 271018;
3. Liancheng staion of Veterinary Medicine,Shandong Mengyin 276200)

Abstract: This study was aimed to determine the effects of t lactobacillus probiotics on AA broilers growth performance and immune function by testing the gain of weight, ratio of feed/gain, index of immune organs, antibody level, and quantity of lactobacillus, E. coli in caecal content 150 broilers were randomly assigned to 3 groups, group 1 were fed with 0.3% lactobacillus, group 2 with antibiotic, and group 3 were control. Broilers were vaccinated with NDV vaccine at the age of 7 days; tested the gain of weight and feed consummation at the end of every week; calculated the index of spleen, bursal, and thymus on the 21d and 35d; tested the antibody level with HI test (Haemagglutination inhibition) and determined the quantities of Lactobacillus and E. coli in caecal content with micro – plate method respectively. The result shown that compared to antibiotic group and control, the group fed with 0.3% Lactobacillus probotics increased the weight by 15.55% and 8.57% ($P < 0.05$), reduced the ratio of feed/gain by 5.11% and 4.57% respectively. In Comparison with the control group probiotics also enhanced the index of spleen, bursal, thymus and 67.14% ,16.47% ,38.16% respectively, the

收稿日期: 2010 – 03 – 25

基金项目: 十一·五国家科技支撑计划项目(2006BAD06A11)

作者简介: 石 峰(1970 –),男,在读硕士研究生,主要从事微生物与免疫学研究。

* 通讯作者: Author for Correspondence. E – mail: zxn timer@sdau.edu.cn

antibody level by $1.8\log_2$ and $2\log_2$ ($P < 0.05$) on the 21d and 35d, while compared to antibiotic group the antibody level were increased by $1.4\log_2$ and $1.75\log_2$ ($P < 0.05$); on the 21d and 35d the group fed with 0.3% lactobacillus increased the quantities of lactobacillus by $1.28\log_2$ and $0.27\log_2$ ($P < 0.05$), reduced the E. coli by $1.88\log_2$ and $0.84\log_2$ ($P < 0.05$). This study provide theory and technology support for using lactobacillus probiotics wisely.

Key words: Probiotics; Lactobacillus; Broiler; Performance; Index of immune organ; Antibody

在我国畜禽养殖过程中,仍然存在饲喂抗生素添加剂的现象,致使药物残留、耐药菌株不断产生、动物免疫力下降,并带来危害人类健康的后果^[1~5]。因此,许多发达国家对抗生素实行部分或完全禁止用作饲料添加剂,而利用无毒、无害的微生物添加剂来代替抗生素^[6]。微生态制剂是根据动物微生态学原理研制的可用于调节动物体内微生态平衡,增强动物机体免疫功能,防止疾病、促进生长、提高饲料转化率的一类微生物饲料添加剂^[7],有研究证明,饲喂适量的微生态制剂可以增强机体的免疫功能,调节肠道菌群的平衡,抵抗感染性及某些过敏性疾病,保证动物的健康生长^[8~10]。本研究利用乳酸菌微生态制剂饲喂肉鸡,探索其对鸡体在生产性能、免疫功能等方面的作用,并从对肉鸡部分肠道菌群的影响等方面进行了初步的研究,取得了满意的结果,从而为乳酸菌微生态制剂的开发、利用提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 1 日龄商品代 AA 肉鸡 150 只,购自山东六和集团种鸡公司。

1.1.2 饲料 肉用鸡配合饲料(510、511),购自泰安六和乐林饲料有限公司。

1.1.3 选择性培养基 MRS 培养基,购自北京陆桥技术有限责任公司; EMB(伊红美蓝琼脂),购自上海伊华医学科技有限公司。

1.1.4 微生态制剂 乳酸菌微生态制剂,由山东农业大学动物科技学院微生物与免疫实验室提供。

1.1.5 新城疫疫苗 La Sota 冻干苗, BANDung - indonesia 生产; 鸡新城疫灭活疫苗,天津瑞普高科生物药业有限公司生产。

1.1.6 抗生素 阿莫西林,由山东六和种鸡有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 试验动物分组及免疫 将 150 只肉鸡随机分成 3 组,每组 50 只,7 日龄时,将各组鸡用 ND La Sota 冻干苗以点眼、滴鼻方式免疫接种,1 羽份/只;同时颈部皮下注射 ND 灭活疫苗,0.3mL/只(1.5 羽份/只)

1.2.2 微生态制剂对增重的影响 第 1 组在饮水中添加 0.3% 乳酸菌微生态制剂(在试验的第 2、3、4 周的前 4 天添加,然后停用 3 天),第 2 组在饮水中添加抗生素,分别在试验的第 2、3、4 周的前 4 天添加抗生素阿莫西林(第 2 周首次 1.4mg/只,每日递增 0.4 mg/只;第 3 周首次 17mg/只,每日递增 2 mg/只;第 4 周首次 61mg/只,每日递增 2 mg/只),然后停用 3 天,第 3 组为空白对照组。采用自由采食方式,其他管理方式相同,从 1 日龄一直饲养到 42 日龄出栏。每周均称取鸡的体重和饲料重量,计算增重、耗料量、料重比。

1.2.3 微生态制剂对免疫器官指数的影响 于 3 周龄和 5 周龄时,将每组鸡随机取 15 只,空腹称重后宰杀,分别取其脾脏、法氏囊和胸腺称重,计算免疫器官指数。

免疫器官指数 = 免疫器官湿重(mg) / 体重(g)。

1.2.4 微生态制剂对 ND 血凝抑制抗体效价的影响 于 3 周龄和 5 周龄时,对每组鸡随机采血分别进行 NDV 血凝抑制抗体效价测定^[11]。

1.2.5 微生态制剂对盲肠内乳酸菌及大肠杆菌数量的影响 3 周龄和 5 周龄测定免疫器官指数的同时,分别取鸡的盲肠并迅速无菌称取其内容物 0.5 g,放入预先加入 4.5 ml 灭菌生理盐水的瓶中,充分震荡均匀后吸取 0.5 mL 至下一个瓶中,以此倍比稀释到所要的稀释度(本实验取 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 3 个稀释度),将每个稀释度检样吸取 10ul 分别滴种在 EMB 和 MRS 培养基平板上,每个平板滴种 3 个稀释度,每个稀释

度滴种 3 个重复,待稀释液渗入培养基后,将 EMB 平板 37℃ 温箱培养 24 h,MRS 培养基平板放厌氧培养箱,37℃ 培养 72 h。到时取出两种平板分别进行菌落计数、统计每克盲肠内容物的细菌数量^[12]。

每克盲肠内容物菌数 = 3 滴菌液菌落平均值 × 稀释度 × 100,取以 10 为底的对数,求出对数值和标准差。

1.2.6 数据处理 数据用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,用 One – Way ANOVA 进行方差分析,用 Duncan’s 方法进行多重比较,试验数据用平均数 M ± 标准差 SD 表示。

2 结果与分析

2.1 微生态制剂对各组鸡生长性能的影响,结果见表 1、2、3。

表 1 各组鸡平均体重结果 (单位: g)
Table 1 Average weight of broiler each group (unit: g)

组别 group	日 龄(d)						
	1	7	14	21	28	35	42
1	54.21	124.30 ± 5.25	414.00 ± 10.05b	834.56 ± 11.32b	1394.61 ± 24.83b	1929.21 ± 31.13b	2649.92 ± 29.26b
2	53.56	133.33 ± 4.98	382.45 ± 9.09ab	747.61 ± 0.27a	1287.61 ± 19.54a	1799.94 ± 43.82ab	2440.78 ± 48.92a
3	54.60	124.35 ± 4.73	368.66 ± 8.92a	739.05 ± 8.96a	1269.05 ± 18.29a	1761.53 ± 28.65a	2293.37 ± 26.53a

注: 各列标注相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。
Note: Means with the same letters in each column are not different significantly; the diverse letters are different significantly, the same as below.
由表 1 结果表明,从第 2 周开始 1 组的平均体重均高于 2、3 组,且 1 组与 3 组比较,差异显著($P < 0.05$); 2 组体重比 3 组高,但差异不显著($P > 0.05$); 6 周龄时,第 1 组体重最高,与第 3 组比较高出 15.55%,与第 2 组比较高出 8.57%,表明第 1 组增重效果最明显。

表 2 各组鸡平均耗料结果(单位: g)
Table 2 Average feed consumption each group(unit: g)

组别 group	日 龄(d)					
	7	14	21	28	35	42
1	94.00	449.00	1089.00	2069.00	3119.00	4434.00
2	100.67	414.67	1055.36	1992.75	3083.82	4267.16
3	86.00	410.82	1065.82	1931.32	2988.86	4045.54

由表 2 结果显示,1 组鸡的耗料量均高于 2、3 组,表明随着体重的增加耗料量也同时增大。

表 3 各组鸡平均料重比
Table 3 Feed/gain ratio each group

组别 group	日 龄 (d)					
	7	14	21	28	35	42
1	0.76	1.08	1.31	1.48	1.62	1.67
2	0.76	1.15	1.41	1.55	1.71	1.75
3	0.69	1.11	1.44	1.52	1.70	1.76

由表 3 结果显示,1 组鸡的料重比比 2 组 3 组分别低 4.57% 和 5.11%,表明微生态制剂可提高鸡的饲料利用率。

2.2 微生态制剂对鸡免疫器官的影响,结果见表 4。

由表 4 结果表明,21 日龄时,第 1 组鸡的脾脏指数、法氏囊指数和胸腺指数比 3 组分别高出 44.26%、13.51% 和 33.96%,差异均显著($P < 0.05$); 与 2 组比较法氏囊指数和胸腺指数差异均显著($P < 0.05$)。35 日龄时,第 1 组鸡的脾脏指数、法氏囊指数和胸腺指数同样大于 3 组,分别高出 67.14%、16.47% 和 38.16%,差异均显著($P < 0.05$),但与 2 组比较,只有胸腺指数差异显著($P < 0.05$),与 21 日龄时比较各组法氏囊指数都有所减小。

表 4 各组鸡免疫器官指数(单位: mg·g⁻¹)

Table 4 Index of immune organs each group(unit: mg·g⁻¹)

组别 group	21d			35d		
	脾脏指数	法氏囊指数	胸腺指数	脾脏指数	法氏囊指数	胸腺指数
	index of spleen	index of bursal	index of thymus	index of spleen	index of bursal	index of thymus
1	0.88 ± 0.04b	2.10 ± 0.03b	4.26 ± 0.05b	1.17 ± 0.02b	2.05 ± 0.05b	4.67 ± 0.11b
2	0.68 ± 0.09ab	1.86 ± 0.04a	3.34 ± 0.06a	0.75 ± 0.05ab	1.68 ± 0.03ab	3.57 ± 0.25a
3	0.61 ± 0.02a	1.85 ± 0.04a	3.18 ± 0.03a	0.70 ± 0.17a	1.76 ± 0.13a	3.38 ± 0.30a

2.3 微生态制剂对各组鸡体液免疫的影响,结果见表 5。

表 5 NDV 抗体效价 (单位: nlog2)

Table 5 HI antibody level of NDV (unit: nlog2)

组别 group	21d	35d
1	11 ± 0.00b	9.50 ± 0.29b
2	9.60 ± 0.24a	7.75 ± 0.48a
3	9.20 ± 0.37a	7.50 ± 0.29a

由表 5 结果显示,21 日龄和 35 日龄时鸡体的抗体水平,添加微生态制剂组均比添加抗生素组和空白对照组高,差异均显著($P < 0.05$)。表明饲喂微生态制剂不但能提高机体的抗体水平,且能很好的保持较高的抗体水平。

2.4 微生态制剂对盲肠内乳酸菌和大肠杆菌数量的影响,结果见表 6、7。

表 6 盲肠内容物乳酸杆菌数的测定结果 (lg, M ± SD)

Table 6 Determination of Lactobacillus in caecal content (lg, M ± SD)

组别 group	21d	35d
1	11.73 ± 0.01b	10.69 ± 0.02c
2	10.29 ± 0.05a	10.20 ± 0.03a
3	10.45 ± 0.05a	10.42 ± 0.03b

由表 6 可以看出,微生态制剂能够增加盲肠内容物的乳酸菌数量。21 日龄时,1 组与 2、3 组比差异均显著($P < 0.05$),2 组与 3 组比较差异不显著($P > 0.05$);35 日龄时,1 组与 2、3 组比较差异均显著($P < 0.05$)。且 21 日龄和 35 日龄时抗生素组乳酸菌数量小于空白组,这表明饲喂微生态制剂能够显著增加盲肠中的乳酸菌数量,而添加抗生素却减少了鸡盲肠中的乳酸菌数量。

由表 7 结果显示,21 日龄时,1 组与 3 组比较盲肠中大肠杆菌数量减少了 1.88log,差异显著($P < 0.05$),2 组与 3 组比较差异不显著($P > 0.05$);35 日龄时,1 组与 2、3 组比较差异均显著($P < 0.05$),2、3 组之间比较,差异也显著($P < 0.05$),表明饲喂微生态制剂和抗生素均减少鸡盲肠中的大肠杆菌数量。

表 7 盲肠内容物大肠杆菌数的测定结果 (lg, M ± SD)

Table 7 Determination of E. coli in caecal content (lg, M ± SD)

组别 group	21d	35d
1	8.06 ± 0.24a	9.59 ± 0.01a
2	8.94 ± 0.42ab	9.98 ± 0.06b
3	9.94 ± 0.04b	10.43 ± 0.08c

3 讨论

- 3.1 本研究证明肉仔鸡饲喂微生态制剂后可明显增加体重, 试验期末, 体重可提高 15.55%, 能显著降低料重比, 最高可降低 5.11%, 这可能是因为微生态制剂能够调理肉鸡的肠道微生态平衡, 促进机体对饲料营养物质的消化、吸收。
- 3.2 乳酸菌微生态制剂能够促进免疫器官的发育, 而免疫器官的发育状态及机能强弱直接决定着肉鸡的免疫水平, 免疫器官相对重量增加, 说明机体细胞的免疫机能增强^[13]。微生态制剂增强鸡体免疫器官发育可能是因为有益菌在肠道内大量繁殖, 合成了许多有益物质如维生素和氨基酸等, 为免疫器官的发育提供了不可缺少的营养物质, 另外, 也可能是微生态制剂作为抗原物质刺激了免疫器官的生长发育, 此方面的作用原理, 有待进一步研究。
- 3.3 微生态制剂能显著提高肉鸡循环血液中的抗体水平^[14], 并且能长时间的保持较高抗体水平, 延缓抗体水平下降。这可能是因为微生态制剂中的细菌本身或细胞壁成分刺激宿主细胞, 激活免疫系统, 使机体的免疫功能始终处在较高的活性状态, 有更多的淋巴细胞发育成浆细胞产生抗体, 从而提高机体抗体水平, 增强抵抗力^[15]。
- 3.4 饲喂微生态制剂能明显促进盲肠内容物中乳酸菌的数量, 同时降低大肠杆菌的数量^[16]。可能是因为微生态制剂中的活菌在进入动物体内迅速定植并逐渐形成优势菌群, 同时产生的有益的代谢产物如有机酸、胆汁酸、各种酶类、过氧化氢等降低了肠道内的 pH 值, 使肠道的局部环境, 不利于大肠杆菌的生长^[17]。
- 3.5 本实验表明在饲喂肉鸡时添加 0.3% 的乳酸菌微生态制剂, 对肉鸡的生长和免疫功能有明显的促进作用, 从而为肉鸡养殖过程中乳酸菌微生态制剂的应用提供了科学依据。

参考文献

- [1] 李启琳, 李燕鹏, 王士长. 甘露寡糖替代抗生素对肉鸡生产性能的影响 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(6): 2350 - 2356
- [2] 陈红梅. 乳酸菌类微生物制剂的研究 [J]. 饲料研究, 2008, 8: 9 - 12
- [3] 易发平, 周泽扬. 微生态制剂的理论基础及其应用现状 [J]. 饲料博览, 2001, 1: 41 - 42
- [4] Nicole kemper. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment [J]. Ecological Indicators 2008, 8: 1 - 13
- [5] L. Fortun - Lamothe, S. Boullier. A review on the interactions between gut microflora and digestive mucosal immunity. Possible ways to improve the health of rabbits [J] Livestock Science, 2007, 107: 1 - 18
- [6] 温朗聪, 马晓琼, 董永军, 等. 微生物添加剂与抗生素预混料对肉鸡的饲养效果比较 [J]. 中国微生态学杂志, 2000, 12(5): 268 - 275
- [7] 雷志虎. 微生态制剂的作用和应用 [J]. 山西农业, 2008, 2: 16 - 17
- [8] C. Bujalance, E. Moreno, M. Jimenez - Valera, et al. A probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice [J]. International Journal of Food Microbiology 2007, 113: 28 - 34
- [9] A. de Moreno de LeBlanc, S. Chaves, E. Carmuega, et al. Effect of long - term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages [J] Immunobiology, 2008, 213: 97 - 108
- [10] D. Taras, W. Vahjen, O. Simon. Probiotics in pigs - modulation of their intestinal distribution and of their impact on health and performance [J] Livestock Science 2007, 108: 229 - 231
- [11] 姚火春. 兽医微生物学实验指导 [M] 北京: 中国农业出版社, 2006: 105 - 107
- [12] 柳洪洁. 鸡消化道正常菌群生态平衡的研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2005
- [13] 程郁昕, 徐红艳, 宗超. 0 ~ 42 日龄肉杂鸡免疫器官重与活重的相关分析 [J]. 当代畜牧 2007, 6: 35 - 36
- [14] 张春杨, 牛钟相, 常维山, 等. 益生菌剂对肉用仔鸡的营养、免疫促进作用 [J]. 中国预防兽医学报 2002, 24(1): 51 - 54
- [15] 杨承剑, 黄兴国. 微生态制剂及其在畜牧生产中的应用 [J]. 饲料博览, 2006, 2: 9 - 12
- [16] 马治宇, 赵献军, 张晓庆, 等. 乳酸菌及其培养液对肉鸡盲肠菌群的影响 [J]. 西北农业学报, 2008, 17(3): 33 - 36
- [17] Jorge G. Mogilner, Isaac Srugo, Michael Lurie, et al. Effect of probiotics on intestinal regrowth and bacterial translocation after massive small bowel resection in a rat [J]. Journal of Pediatric Surgery, 2007, 42: 1365 - 1371