

复合微生态制剂与饲用抗生素对肉雏鸡免疫性能和肠道微生物菌群的影响

谢全喜, 张建梅, 李晓颖, 谷 巍

(山东宝来利来生物工程股份有限公司, 山东 泰安 271000)

[摘 要] 试验选取240只1日龄的黄羽肉雏鸡, 随机分为I、II、III、IV 4个组, 其中I组为对照组, II、III、IV组分别添加复合微生态制剂、头孢类药物和氟苯尼考药物, 研究添加复合微生态制剂和饲用抗生素对肉雏鸡免疫性能和肠道菌群的影响。结果表明: 复合微生态制剂对肉雏鸡法氏囊的发育有明显促进作用, 9日龄时复合微生态制剂组法氏囊指数分别高出对照组、头孢组和氟苯尼考组14.4%、31.8%、26.75% ($P < 0.05$); 但对脾脏的促进效果不明显。复合微生态制剂的添加可以在一定程度上增加肉雏鸡肠道内的有益菌群数量, 头孢类抗生素对小肠内的乳杆菌抑制作用不明显, 但能显著降低直肠内的乳杆菌数量。氟苯尼考则对乳杆菌类益生菌没有明显副作用。

[关键词] 复合微生态制剂; 饲用抗生素; 肉雏鸡; 免疫性能

[中图分类号] S811.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-5228(2011)05-0077-04

随着我国养殖业的迅速发展, 由细菌或病毒引起的动物疾病日渐增多, 但饲料药物添加剂及抗生素的使用, 特别是滥用, 不仅降低了畜产品的品质, 而且残留在畜禽食品中, 危害了人类健康。目前, 肉鸡养殖普遍存在这样一种现象, 即便养鸡场只有几只鸡生病, 所有的鸡都会被注射抗生素。养鸡场为了防止鸡生病, 提高养殖效益, 刚进鸡苗时就饲喂抗生素, 即“开口药”, 这样必然抑制肠道正常菌群的建立, 影响内脏器官的正常发育, 导致鸡群自身抵抗力下降, 有的甚至会引起免疫抑制。

微生态制剂是由活体微生物制成的生物活性制剂, 它能有效地补充畜禽消化道内的有益微生物, 改善消化道菌群平衡^[1], 迅速提高机体抗病能力、代谢能力和对饲料的消化吸收能力, 达到防治消化道疾病、促进生长、改善畜产品品质、减少粪便恶臭、防治环境污染的作用。微生态制剂因其无污染、无副作用、无残留而越来越受到人们的青睐。近年来, 国内外学者关于微生态制剂对畜禽免疫机能和肠道菌群调节等方面进行了广泛的研究。易力等^[2]研究表明

添加微生态制剂组的胸腺、脾脏、法氏囊指数都大于对照组, 说明微生态制剂对鸡胸腺、脾脏、法氏囊的发育均有促进作用。于卓腾等^[3]研究发现, 在20和27日龄肉鸡日粮中添加益生菌和合生素, DGGE图谱的条带数和多样性均显著增加, 说明益生菌和合生素可促进肉鸡肠道内菌群的增殖。

与抗生素类“开口药”相对应的复合微生态制剂由乳杆菌、丁酸梭菌和芽孢杆菌等组成, 可以改善肉鸡肠道菌群平衡, 提高免疫器官指数。因此, 复合微生态制剂主要用于替代开口药, 起到防病抗病的作用。本试验旨在研究复合微生态制剂和饲用抗生素对肉雏鸡免疫性能和肠道菌群的影响, 为复合微生态制剂替代饲用抗生素在肉鸡生产中的推广应用提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验饲用抗生素用市售氟苯尼考和头孢噻唑; 复合微生态制剂由有益微生物及其代谢产物、

维生素 A、维生素 C、多种电解质、载体等成分组成。其中复合菌制剂为乳酸菌和芽孢杆菌组成,活菌总数 $\geq 5 \times 10^8$ cfu/g。试验动物为 240 只 1 日龄的黄羽肉雏鸡,购自泰安市东岳种禽公司;全价饲料购自天普阳光。

1.2 试验设计及饲养管理

将体重均匀、健康状况基本相同的 240 只 1 日龄黄羽肉雏鸡随机分成 4 个组,即对照组(组)、复合微生态制剂组(组)、头孢组(组)、氟苯尼考组(组),每组两个重复,每个重复 30 只,以不含抗生素的全价饲料为基础日粮。 组按使用说明饮用产品,即:第 1 到 4 d 按 0.1 g/ 只的量饮水添加,第 5 至 7 d 按 0.2 g/ 只的量饮水添加;抗生素 组和 组都按 3 g 纯粉/ 20 kg 水添加,每天分两次饮用,各 3 h,连饮 7 d。对照组自由饮水,各组皆自由采食,其它饲养条件相同。试验期为 9 d。

1.3 样品采集及检测指标

1.3.1 免疫器官指数的测定 分别于 3、6、9 d 随机选取各试验组肉仔鸡 10 只,心脏打气法处死,立即解剖并分离脾脏和法氏囊,称重,计算免疫器官指数。免疫器官指数的计算公式如下:

免疫器官指数(mg/ g) = 免疫器官重量/ 活体重

表 1 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡脾脏指数的影响

Table 1 Effects of compound probiotics and antibiotics on spleen indices of broilers					mg/ g
日龄 Age	组 Group	组 Group	组 Group	组 Group	
3 d	0.79 ± 0.09	0.76 ± 0.04	0.73 ± 0.04	0.75 ± 0.05	
6 d	0.88 ± 0.07	0.86 ± 0.05	0.88 ± 0.03	0.85 ± 0.11	
9 d	1.14 ^a ± 0.07	1.11 ^a ± 0.11	0.95 ^{ab} ± 0.12	0.71 ^b ± 0.060	

注:同行数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),相同小写字母或无字母表示差异不显著($P > 0.05$)。下表同。
Note: In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$), those with same small letter or without superscripts mean insignificant difference($P > 0.05$). The same below.

从表 2 可以看出,3 日龄时, 组法氏囊指数略高于其它 3 组,但各组之间差异不显著($P > 0.05$)。6 日龄时,各组法氏囊指数较 3 日龄均有所提高, 组、 组、 组、 组较 3 日龄分别提高 33.33%, 36.80%, 20.44%, 13.01%, 其中 组和 组法氏囊指数较 3 日龄显著提高,明显高于其它两组,而 组法氏囊指数提高幅度最小;6 日龄 组法氏囊指

表 2 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡法氏囊指数的影响

Table 2 Effects of compound probiotics and antibiotics on bursal of fabricius indices of broilers					mg/ g
日龄 Age	组 Group	组 Group	组 Group	组 Group	
3 d	1.23 ^{ab} ± 0.08	1.25 ^{ab} ± 0.07	1.37 ^a ± 0.13	1.23 ^{ab} ± 0.08	
6 d	1.64 ^{ab} ± 0.05	1.71 ^a ± 0.03	1.65 ^{ab} ± 0.08	1.39 ^c ± 0.09	
9 d	1.74 ^{ab} ± 0.06	1.99 ^a ± 0.03	1.51 ^b ± 0.13	1.57 ^b ± 0.13	

试验结果表明,复合微生态制剂对肉雏鸡免疫器官的发育有促进作用,尤其是对法氏囊指数的促

1.3.2 肠道菌群的测定 分别于 3、6、9 d 随机选取各试验组肉仔鸡 10 只,心脏打气法处死,无菌分离小肠(回盲窦前后 5 cm)和直肠,取其内容物,分别计数乳杆菌和大肠杆菌数。

1.4 数据处理

试验数据采用 SPSS13.0 进行统计,采用 One-way ANOVA 进行方差分析, LSD 法进行组间多重比较,结果均以“平均数 ± 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 复合微生态制剂对免疫器官指数的影响

由表 1 可知,3 日龄时,各组脾脏指数差异不显著($P > 0.05$)。随着肉雏鸡日龄的增加,脾脏迅速发育,6 日龄时,各组脾脏指数均较 3 日龄时明显提高,但各组之间仍然没有表现出显著差异($P > 0.05$)。随着抗生素和复合微生态制剂的不断使用,9 日龄时, 组脾脏指数较 6 日龄时显著降低,降至 3 日龄时脾脏指数的水平; 组、 组、 组脾脏指数较 6 日龄均有所提高,其中 组和 组脾脏指数显著提高,较 6 日龄分别提高 29.54% 和 29.07%, 组提高 7.95%;9 日龄 组和 组脾脏指数明显高于 组,达到显著差异水平($P < 0.05$)。

数分别高出 组、 组和 组 4.3%、3.6%、23%,其中 组和 组差异显著($P < 0.05$)。9 日龄时,随着抗生素的添加, 组法氏囊指数表现出下降的趋势,较 6 日龄法氏囊指数降低 8.48%,其它三组较 6 日龄均有所升高, 组法氏囊指数分别高出 组、 组和 组 14.4%、31.8%、26.75%, 组和 组、 组差异显著($P < 0.05$)。

进效果最明显,但对脾脏的发育促进效果不明显,这可能与生长前期脾脏不是主要的免疫器官有关,或

者9日龄不足以体现复合微生态制剂的作用有关。抗生素的添加对免疫器官的影响结果表明, 抗生素对免疫器官的生长具有明显的抑制作用, 并且随着时间的延长抑制效果越来越明显, 不同的抗生素对免疫器官的抑制效果不同, 头孢类抗生素对法氏囊的副作用较大, 而氟苯尼考类抗生素对脾脏的发育具有抑制作用。

2.2 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡肠道菌群的作用研究

抗生素和益生菌对于肠道菌群的影响机理不同, 抗生素主要通过杀灭病原菌而起到防病祛病的

作用, 但光谱性的抗生素也抑制了有益菌的繁殖, 而复合微生态制剂作为益生菌类添加剂则是通过有益微生物在肠道形成优势菌群, 从而抑制甚至杀灭病原微生物, 达到以防治为主的保健功能。

2.2.1 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡肠道乳杆菌的影响 由表3可以看出, 3日龄时, 各试验组小肠内乳杆菌数差异不显著($P>0.05$), 随着试验的进行, 6日龄时, 组略高于其他各组, 但差异不明显。9日龄时, 组小肠内乳杆菌数最高, 分别高出组、组和组6.7%、6.99%和8.45%, 表现出一定的优势, 但没有显著差异($P>0.05$)。

表3 复合微生态制剂和抗生素对小肠乳杆菌数的影响

Table 3 Effects of compound probiotics and antibiotic on intestinal lactobacillus counts of broilers lg cfu/g

日龄 Age	组 Group	组 Group	组 Group	组 Group
3 d	7.14±0.19	7.18±0.14	7.11±0.09	6.98±0.11
6 d	7.28±0.26	7.51±0.29	7.35±0.19	7.26±0.20
9 d	7.46±0.28	7.96±0.15	7.44±0.11	7.34±0.24

由表4可以看出, 随着日龄的不断增加, 各试验组直肠内乳杆菌数均在不断增多, 3日龄、6日龄和9日龄均为组直肠乳杆菌数最低, 显著低于其它3组($P<0.05$), 各时间段组、组和组直肠内乳杆菌数没有明显差异($P>0.05$), 但9日龄时, 组直肠内乳杆菌数表现出一定的优势, 分别高出组、组、组3.7%、13.6%、1.3%。

本试验结果表明, 复合微生态制剂的添加可以在一定程度上增加肉雏鸡肠道内的有益菌群数量, 形成肠道优势菌群; 不同抗生素对乳杆菌在不同的肠段作用效果不同, 头孢类抗生素对小肠内的乳杆菌抑制作用不明显, 但能显著降低直肠中的乳杆菌数量。而氟苯尼考则对乳杆菌类益生菌没有明显副作用。

表4 复合微生态制剂和抗生素对直肠乳杆菌数的影响

Table 4 Effects of compound probiotics and antibiotic on rectum lactobacillus counts of broilers lg cfu/g

日龄 Age	组 Group	组 Group	组 Group	组 Group
3 d	7.83 ^a ±0.19	7.60 ^a ±0.36	6.65 ^b ±0.18	7.40 ^a ±0.33
6 d	8.13 ^a ±0.14	8.26 ^a ±0.29	7.34 ^b ±0.18	8.25 ^a ±0.09
9 d	8.38 ^a ±0.39	8.69 ^a ±0.37	7.65 ^b ±0.22	8.58 ^a ±0.26

2.2.2 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡肠道大肠杆菌的影响 由表5可以看出, 3日龄时组略低于其它三组, 各组小肠大肠杆菌数差异不显著($P>0.05$)。6日龄时组小肠内大肠杆菌数显著低于组和组($P<0.05$), 组略高于组同时低于组和组, 但组和其它三组差异不显著($P>0.05$)。9日龄时各组小肠内大肠杆菌数较6日龄

均有所升高, 但组和组小肠内大肠杆菌显著低于组和组($P<0.05$), 其中组最低, 组大肠杆菌数分别比组、组和组低7.8%、5.4%、2.3%。

本试验表明, 复合微生态制剂能够明显降低小肠内的大肠杆菌数, 对大肠杆菌的抑制效果显著高于头孢类抗生素, 和氟苯尼考效果无显著差异。

表5 复合微生态制剂和抗生素对小肠大肠杆菌的影响

Table 5 Effects of compound probiotics and antibiotic on intestinal E. coli counts of broilers lg cfu/g

日龄 Age	组 Group	组 Group	组 Group	组 Group
3 d	5.56±0.16	5.68±0.08	5.66±0.12	5.30±0.23
6 d	6.57 ^a ±0.06	5.60 ^b ±0.13	6.40 ^a ±0.21	5.98 ^{ab} ±0.09
9 d	7.40 ^a ±0.17	6.82 ^b ±0.15	7.21 ^a ±0.23	6.98 ^b ±0.25

由表6可以看出, 3日龄时各组直肠内大肠杆菌数在 $10^4\sim10^5$ 之间, 各组差异不显著($P>0.05$)。6日龄时组和组较3日龄直肠内大肠杆菌数明

显增多, 约升高两个数量级; 组和组差异不显著, 均显著低于组和组。9日龄时各组直肠内大肠杆菌数较6日龄均有所升高, 组和组直肠

大肠杆菌数在 10^8 左右, 显著高于 组和 组 ($P < 0.05$), 其中 组直肠内大肠杆菌数最低, 分别低于 组、组和 组 12.3%、14.5% 和 3.4%。

本试验表明, 复合微生态制剂能够明显降低肉

雏鸡直肠中的大肠杆菌数, 比对照组降低接近一个数量级。复合微生态制剂组对肉雏鸡直肠中大肠杆菌的抑制效果显著高于头孢类抗生素, 和氟苯尼考相比无显著差异。

表 6 复合微生态制剂和抗生素对直肠大肠杆菌的影响				
Table 6 Effects of compound probiotics and antibiotic on rectum E.coli counts of broilers				
日龄 Age	组 Group	组 Group	组 Group	组 Group
3 d	4.48±0.04	4.38±0.11	4.52±0.10	4.57±0.09
6 d	6.23 ^a ±0.28	5.26 ^b ±0.18	6.37 ^a ±0.08	5.30 ^b ±0.20
9 d	7.86 ^a ±0.16	6.89 ^b ±0.06	8.06 ^a ±0.16	7.13 ^b ±0.05

3 讨论与结论

3.1 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡免疫器官指数的影响

法氏囊是禽类特有的体液免疫器官, 脾脏则是禽类最大的外周免疫器官, 是体内产生抗体的主要器官, 参与全身的细胞免疫和体液免疫^[3]。免疫器官的发育状态及机能强弱直接决定着禽类的免疫水平^[4]。免疫器官相对重量增加, 说明机体细胞的免疫机能增加。张春扬等^[5]报道益生菌剂能明显提高 AA 肉鸡免疫器官的生长发育, 28 d 时提高脾脏、法氏囊指数分别可达 18.47%、6.42%。本试验中, 9 d 时复合微生态制剂组法氏囊指数分别高出对照组、头孢噻唑组和氟苯尼考组 14.4%、31.8%、26.75%, 复合微生态制剂组法氏囊指数显著高于头孢噻唑组和氟苯尼考组 ($P < 0.05$)。说明复合微生态制剂对肉雏鸡法氏囊的相对重量有促进增加的作用, 促进了肉雏鸡法氏囊器官的成熟。脾脏指数没有表现出与法氏囊指数一致的变化, 这与肉雏鸡前期与法氏囊相比, 这可能是因为脾脏不是主要的免疫器官, 因此受抗生素和益生菌的作用效果体现不明显。而抗生素对免疫系统的抑制作用也早已引起广大学者的关注^[6,7], 本试验结果表明抗生素的添加能够引起脾脏和法氏囊的发育不良, 头孢噻唑组 9 日龄时脾脏指数较 6 日龄不仅没有增加反而降低, 说明头孢噻唑可能引起肉雏鸡脾脏的萎缩。而氟苯尼考类抗生素对脾脏的发育具有抑制作用。

3.2 复合微生态制剂和抗生素对肉雏鸡肠道菌群的影响

雏鸡出壳时肠道各段都是无菌的, 出壳后 6~12 h 只含有少量菌群(肠球菌、肠杆菌、微球菌和棒状杆菌)存在。出壳后 12~36 h 盲肠内肠球菌和肠杆菌显著增加, 十二指肠、小肠中段和直肠的微生物区系在初次饲喂后的 9~13 d 建立, 而盲肠微生物区系需要在饲喂后 25~32 d 才可建立^[8]。本研究

表明头孢类抗生素对大肠杆菌的抑制作用不明显, 这可能是与给药引起大肠杆菌的耐药性有关, 但头孢类抗生素却能够降低肠道乳杆菌的数量, 9 日龄比其它试验组约低一个数量级, 说明在雏鸡出壳后便开始饲喂抗生素药物对其消化道正常菌群屏障的建立产生很大的负面作用。而益生菌主要是通过有益微生物在肠道形成优势菌群, 从而抑制甚至杀灭病原微生物, 达到以防治为主的保健功能。Jin 等^[9]发现, 肉仔鸡在 10、20 日龄饲喂 0.05% 乳酸杆菌混合物后, 盲肠大肠杆菌数显著降低。本研究表明: 复合微生态制剂的添加可以在一定程度上增加肉雏鸡肠道内的有益菌群数量, 降低小肠和直肠中的大肠杆菌数, 并且复合微生态制剂对大肠杆菌的抑制效果可以和抗生素相媲美, 这主要是因为复合微生态制剂内大量的益生菌短时间内在雏鸡胃肠道迅速繁殖, 抑制了有害细菌的生长, 但复合微生态制剂的添加没有显著提高肉雏鸡胃肠道乳杆菌数可能是因为复合微生态制剂中的益生菌不能在肠道内定植所引起的。

参考文献:

[1] 张磊, 李 佳, 张 涛, 等. 微生态制剂对肉仔鸡生产性能和免疫功能的影响[J]. 北京农学院学报, 2008, 23(4): 15-18.

[2] 易 力, 倪学勤, 潘康成, 等. 微生态制剂对仔鸡生产性能和免疫功能的影响[J]. 中国家禽, 2004, 26(23): 15-18.

[3] 顾 金, 周维仁, 闫俊书, 等. 微生态制剂对鸡肠道菌群调控的研究[J]. 饲料研究, 2010(1): 22-24.

[4] 程相朝, 张春杰. 中药免疫增强剂对肉仔鸡免疫器官生长发育及免疫活性细胞影响的研究[J]. 中兽医学杂志, 2002(3): 6-8.

[5] 张春扬, 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.

[6] 肖振铎. 饲用益生菌与抗生素的比较研究[J]. 吉林农业大报, 2002(3): 1-6.

[7] 冯国华, 梁雪霞. 益生菌、寡聚糖在肉鸡生产中对抗生素替代能力的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2000(8): 30-31.

(下转第 90 页)

- 传, 2011, 33(5): 499-458.
- [17] 唐丽莉, 陈 斌, 何正波, 等. piggyBac 转座子及其转基因昆虫的应用[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(6): 2 809-2 811, 2814.
- [18] Woltjen K, Michael I P, Mohseni P, et al. piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells [J]. Nature, 2009, 458: 766-770.
- [19] 刘忠华, 宋 军, 王振坤, 等. 体细胞核移植生产绿色荧光蛋白转基因猪[J]. 科学通报, 2008, 53(5): 556-560.
- [20] Sumiyama K, Kawakami K, Yagita K. A simple and highly efficient transgenesis method in mice with the Tol2 transposon system and cytoplasmic microinjection [J]. Genomics, 2010, 95(5): 306-311.
- [21] Xue Ya-Lin, Xiao An, Wen Lu, et al. Generation and characterization of blood vessel specific EGFP transgenic zebrafish via Tol2 transposon mediated enhancer trap screen [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics. 2010, 37 (7): 720-727.

Application of Transposon Element in Transgenic Animal Research

XIE Wei-xin^{1,2}, WU Jian-ming¹, WANG Hong-mei^{1*}, GAO Yun-dong¹, ZHONG Ji-feng¹, HE Hong-bin^{1*}

(1. Dairy Cattle Research Center, Shandong Academy of Agricultural Science, Jinan, Shandong 250100, China;

2. College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: Transposon element is a mobile genetic factor which exists in the biosphere, which has taken a pivotal role in the evolution of gene and genome. Transposon technique has been an important tool for the preparation of transgenic animal. This review summarizes the transposon element and related application in transgenic animal field, and the outlook of the development of transposon technique.

Key words: transposon element; transgenic animal

(上接第 80 页)

- [8] 齐广海, 张海军, 武书庚. 家禽肠道微生态系统及其调控的研究进展[J]. 饲料与畜牧, 2006(2): 5-8.
- [9] Jin L Z, Ho Y W, Abdullah N, et al Effects of adherent Lactobacillus cultures on growth, weight of organs and intestinal microflora and volatile fatty acids in broilers[J]. Anim Feed Sci Techno, 1998, 70: 197-209.

Effects of Compound Probiotics and Antibiotics on the Immune Property and Intestinal Index of Broilers

XIE Quan-xi, ZHANG Jian-mei, LI Xiao-ying, GU Wei

(Shandong BaoLai- LeeLai Bioengineering Co. Ltd, Tai'an, Shandong 271000 China)

Abstract: 240 one-day-old broilers were randomly divided into four groups. Group I was the control group, compound probiotics, ceftiofur and florfenicol was added to the II, III, IV respectively, the effects of compound probiotics and antibiotics on the immune function and intestinal microbe flora were observed. The results showed that the probiotics agent had significantly accelerated the growth of bursa. At the age of 9 d, the bursa index of the compound probiotics group was higher than that of the control group, ceftiofur group and florfenicol group, which were 14.4%, 31.8%, 26.75% respectively, the bursa index of compound probiotics had significant difference with the ceftiofur group and florfenicol group ($P < 0.05$), but had no significant effect on spleen. It could increase the numbers of intestinal lactobacillus more or less by adding compound probiotics, and ceftiofur had no significant inhibition effect on lactobacillus of intestine, but the numbers of lactobacillus in rectum had decreased significantly. Florfenicol had no side effects on lactobacillus.

Key words: compound probiotics; antibiotics; broilers; immune property