微生物饲料添加剂益生康对肉仔鸡营养代谢与免疫功能的调控机理

张日俊1 潘淑媛1 白永义2 王广秋2 汪淑云2

(1. 中国农业大学 饲料生物技术实验室 北京 100094; 2. 河北省承德畜牧局,河北 承德 067400)

摘 要 通过饲养试验研究微生物饲料添加剂益生康 (YSK) 对肉仔鸡营养代谢和免疫功能的调控机理。 $1\,000$ 只肉仔鸡分为 $5\,$ 个处理,在基础日粮中分别添加 $0\,$, $0.\,05\,$ %, $0.\,1\,$ %, $0.\,2\,$ % (质量分数,下同) 的益生康和 $10\,$ mg/ kg 黄霉素。 $7\,$ 和 $14\,$ 日龄,在肉仔鸡胫部注射 $0.\,5\,$ mL 含量为 $5\,$ g/L 的牛血清白蛋白 (BSA) 抗原,试验结果表明: $1)\,$ YSK 的最佳添加量为 $0.\,1\,$ %,能显著提高肉仔鸡生长、增重和饲料转化效率 ($P<0.\,05$),效果优于添加黄霉素; $2)\,$ YSK 能显著刺激肉仔鸡胸腺、脾脏和法氏囊的生长发育,增强 $T\,$ 和 $B\,$ 淋巴细胞活性,提高血清球蛋白的含量和抗体水平; $3)\,$ YSK 能明显增加血清总蛋白、球蛋白含量,并能提高血清脂肪酶活性,降低血清总胆固醇和甘油三酯含量,显著降低腹脂率 ($P<0.\,05$); $4)\,$ YSK 可明显减少空肠和直肠中的大肠杆菌,增加乳酸杆菌数量,降低肠道 pH ($P<0.\,05$),降低死亡率; $5)\,$ YSK 对肉仔鸡营养代谢和免疫调控的机理为:YSK 有益微生物通过分泌消化酶和酸化作用提高消化酶活性来提高饲料营养的吸收利用率,并产生 $B\,$ 族维生素、有机酸和其他活性物质提高肉仔鸡的生产性能和生长速度;通过刺激免疫器官发育、提高抗体水平和淋巴细胞活力以及优化肠道菌群结构(乳酸杆菌增加,大肠杆菌减少)提高肉仔鸡的抗病力。

关键词 微生物饲料添加剂;益生康;肉仔鸡;细胞免疫;体液免疫;营养代谢;调控机理 中图分类号 S 816.73 文章编号 1007⁻4333(2005)03-0040-08 文献标识码 A

Modulating mechanism of YISHENGKANG as feed additives on nutrient metabolism and immune function in broiler chickens

Zhang Rijun¹, Pan Shuyuan¹, Bai Yongyi², Wang Guangqiu², Wang Shuyun²

(1. Laboratory of Feed Biotechnology , China Agricultural University , Beijing 100094 , China ;

2. Chengde Bureau of Animal Husbandry in Hebei Province, Chengde 067400, China)

Abstract YISHENGKANG (YSK) is a microbial feed additive. A broiler feeding trial was conducted to test the mechanism of YSK in modulating nutrient metabolism and immune function in broiler chickens. The optimum dosage in feed was also studied. Five groups each having 200 broiler chickens were fed with basal diet added with 0, 0.05%, 0.1%, 0.2% YSK and 10 mg/kg flavomycin. At 7 d and 14 d, 0.5 mL beef serum of 5 g/L albumin were injected into chicken shin as antigen. The results showed that optimal quantity of YSK was 0.1%. Comparing with flavomycin, YSK had better effects on promoting chicken growth and enhancing feed efficiency. The growth of thymus gland, spleen and the bursa of Fabricius were all stimulated by YSK. It was found that adding YSK resulted in activity increases of the chicken's T and B lymphocyte, globulin content and antibody level of the serum. YSK could increase the contents of total protein and the globulin in serum through regulating both protein fat metabolisms. The serum lipase activity increased, but the total cholesterol in serum and triglyceride content decreased due to adding YSK. YSK showed significant effects in modulating fat metabolism and lowering down abdominal fat rate (P < 0.05). YSK could obviously depress E. coli, increase Lactobacillus quantity in the jejunum and the rectum, and lower the pH value of chicken gut (P < 0.05). The mechanism of YSK in modulating nutrients metabolism and immune function was included as followings.

收稿日期: 2004-12-06

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(819-07-12);国家" 跨越计划 '资助中试产业化项目(2001 跨 16)

作者简介: 张日俊,副教授,博士生导师,主要从事饲料生物技术研究。

transformation of the feedstuff2. The microorganisms in YSK might produce vitamin B groups, organic acid and other active materials which enhanced productive performance and growth rate3. YSK might stimulate immune development and adjust gut microfloras. The chicken thus had higher ability against diseases.

Key words microbial feed additive; Yishengkang; broiler chicken; cellular immunity; humoral immunity; nutrient metabolism; modulating mechanism

20 世纪中叶,抗生素首先用于人类,随后广泛用做动物饲料添加剂,发挥其保健和改善生产性能的作用。人们曾错误地一味强调"抑制或杀灭有害微生物",忽视了肠道微生态系统在促进健康和营养调控上的重要作用,并大量使用抗生素以至于出现目前抗生素所致的一系列后患,如药物残留、耐药性和环境污染。当今,畜牧业迫切需要无毒副作用、无药残的绿色微生物添加剂以替代抗生素,因此,全面认识动物微生态系统对营养代谢和免疫功能的调控作用就显得十分重要。在猪、禽等单胃动物的消化道中寄居着大量的活细菌,其每 g 湿粪便中含有 5 ×10⁹~5 ×10¹⁰的细菌。近年有零散报道,动物肠道微生态菌群对宿主具有促进营养消化吸收、动物生长和生物拮抗等生理作用[1⁻⁴],并能刺激免疫功能,降低胆固醇[⁵],降低动物腹泻率,促进各种养分

的利用和提高饲料转化效率^[6-8];但关于肠道微生物对畜禽营养代谢和免疫调控的机理却少有报道,对畜产品品质(如腹脂/体重)的影响也未见报道。本试验旨在系统研究由动物肠道中的优势菌群芽孢杆菌、乳酸菌和酵母菌组成的益生康微生物添加剂对宿主的生物学效应和作用机理,为微生态营养理论和微生物饲料添加剂研发提供理论根据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物和日粮 试验鸡用 1 日龄 AA 商品代肉用公母混合雏鸡 1 000 只;试验日粮参照美国国家研究委员会标准(NRC,1994)和 AA 鸡饲养标准,自配饲料,基础日粮配方和营养水平见表 1。

1.1.2 供试材料 1) 益生康(Yishengkang) 微生物

表 1 肉仔鸡基础日粮配方及营养水平

Table 1	Composition	and 1	nutrient	levels of	basal	diet	of	broiler	chickens	
---------	-------------	-------	----------	-----------	-------	------	----	---------	----------	--

9

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diet of biolici efficients								
0~3周	4~6周	代谢能及营养成分	0~3周	4~6周				
55.00	59.03	代谢能/(MJ·kg ⁻¹)	12.98	12.85				
31.00	23.00	粗蛋白质	22.00	20.00				
2.00	3.00	钙	1.05	0.95				
3.20	4.00	有效磷	0.51	0.43				
0.97	0.90	赖氨酸	1.09	1.05				
3.50	3.40	蛋氨酸	0.54	0.45				
0.17	0.10	蛋 + 胱氨酸	0.90	0.85				
-	4.00	食盐	0.40	0.38				
1.24	1.32							
1.00	-							
0. 25	0. 25							
1.00	1.00							
	55. 00 31. 00 2. 00 3. 20 0. 97 3. 50 0. 17 - 1. 24 1. 00 0. 25	55.00 59.03 31.00 23.00 2.00 3.00 3.20 4.00 0.97 0.90 3.50 3.40 0.17 0.10 - 4.00 1.24 1.32 1.00 - 0.25 0.25	55.00 59.03 代谢能/(MJ kg ⁻¹) 31.00 23.00 粗蛋白质 2.00 3.00 钙 3.20 4.00 有效磷 0.97 0.90 赖氨酸 3.50 3.40 蛋氨酸 0.17 0.10 蛋+胱氨酸 - 4.00 食盐 1.24 1.32 1.00 - 0.25 0.25	55.00 59.03 代谢能/(MJ·kg¹¹) 12.98 31.00 23.00 粗蛋白质 22.00 2.00 3.00 钙 1.05 3.20 4.00 有效磷 0.51 0.97 0.90 赖氨酸 1.09 3.50 3.40 蛋氨酸 0.54 0.17 0.10 蛋+胱氨酸 0.90 - 4.00 食盐 0.40 1.24 1.32 1.00 - 0.25				

*注:预混料中微量元素添加量(mg/kg) Cu 11, I 0. 44, Fe 110, Mn 100, Se 0. 25, Zn 120, Co 0. 40; VE 22. 5, V K₃ 1. 8, 生物素 0. 2, 叶酸 1. 0, 尼克酸 50, 泛酸 11, 核黄素 6. 6, 硫胺素 3. 0, 吡哆醇 4. 4, VB₁₂0. 02, 胆碱 1 300(前期) 和 1 000 (后期), VA 8 800 IU, VD₃ 3 300 IU。

饲料添加剂,由中国农业大学饲料生物技术实验室研制,6批产品抽样混合物活菌含量为2×10°cfu/

g,已登记国家发明专利;2)抗生素对照用黄霉素-80.德国赫斯特公司生产,有效成分8%。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计及分组 将 1.000 只试验用鸡随机分成 5 组 ,每组 200 只 ,5 个重复 ,每个重复 40 只 ,自由饮水和采食。 CK_{2} 组 :空白对照组 ,饲喂基础日粮 (BD) ; CK_{11} 组 :抗生素对照 ,BD + 黄霉素 (有效) 10 mg/kg ; $Y_{0.05}$ 组 :BD + 0.05 %益生康 (YSK) ; $Y_{0.1}$ 组 :BD + 0.1 % YSK; $Y_{0.2}$ 组 :BD + 0.2 % YSK。

1.2.2 饲养管理 试验鸡分 3 层笼养,按肉鸡常规饲养规程进行,自动控温,试验期 6 周,第 7 周为停药期。1 日龄颈部皮下注射马立克疫苗(MB 株,SOLVAY动物保健品公司)0.2 mL/只,滴鼻点眼传染性法氏囊(IBV)疫苗(以色列 AB IC 公司)各 1 滴,7 日龄接种新城疫(NDV)冻干苗(cloe-30,LN TER-VET 公司)点眼、滴鼻各式各 1 滴。免疫试验各组鸡左右大腿肌肉各注射 0.5%(质量分数)的牛血清白蛋白(SBA)0.5 mL(折合 2.5 mg/只);14 日龄同前法进行 SBA 强化免疫,以测定抗体。

1.2.3 评价指标和检测方法

1)生产性能、生长均匀度和临床观察指标:a. 21 和 42 d 晨空腹称鸡活重、称料,计算耗料、各组平均体重和饲料转化效率;b. 各组抽样 30 只鸡,个体称重,计算平均体重的标准差,以其表示均匀度;c. 试验期间每天观察鸡只的精神状态、饮食欲和粪便状态,记录各组死亡鸡数。

2)免疫学指标:a. 胸腺、脾脏和法氏囊指数测定是在 21 和 42 d,每组随机抽取 15 只鸡,无菌心脏采血后屠宰,摘取脾脏、法氏囊以及左侧胸腺,剔除脂肪后用电子天平称鲜重,计算免疫器官重与体重的相对重量得到胸腺指数、脾脏指数、法氏囊指数,免疫器官指数 = 免疫器官重/体重。b. T或 B 淋巴细胞功能测定(又称淋巴细胞转化试验)参见张日俊^[9]。c. BSA 特异性抗体效价测定用 EL ISA 方法经方阵试验测得牛血清白蛋白(BSA)的最佳包被含量为 10 µg/ mL,血清最佳稀释倍数为 1 40。测定方法和程序参照张日俊^[10]进行,以 3 个平行样的平均 OD 值表示该样品的抗体效价,抗体效价 = 测样 OD 值 - 阴性对照 OD 值。

3) 营养生化指标,包括血清中总蛋白(g/L)、球蛋白(g/L)、白蛋白(g/L)、脂肪酶活性(U/mg Prot)、胆固醇(mmol/L)、甘油三醇含量(mmol/L): 收集全血于试管,DL-4000型水平离心机 3 000 r·min × 30 min,4 分离血清,- 20 冷藏,用

OLYMPUS AU-600 全自动生化仪测定。

4) 肠道微生物学检测:a. 肠内容物 pH 测定。屠宰后,用便携式 pH 计测定每只鸡十二指肠、空肠和回肠的 pH 值,用平均值表示。b. 肉仔鸡直肠、空肠每 g 内容物所含大肠杆菌数和乳酸杆菌数,参照陈天寿等^[11]方法进行。于 21 日龄从每组随机取15 只鸡处死,在 3 % (质量分数) 医用甲酚皂液消毒液中浸泡 10 min 以上,无菌解剖,取直肠及空肠中部(卵黄蒂前后 2 cm) 贴近肠壁的内容物放入无菌离心管内,准确称取内容物重量,倍比稀释。准确吸取 10 µL 稀释后的样本,滴入选择性培养基,用灭菌曲玻棒推匀后培养。大肠杆菌在有氧培养箱中,乳酸杆菌在厌氧罐中 37 恒温培养 48 h,然后进行微生物菌落计数^[12],求其均值并计算每 g 内容物所含细菌数。

1.3 数据统计分析

用 SAS 统计程序软件包(V8.02)进行方差分析和邓肯氏多重比较。

2 结果与分析

2.1 临床观察结果

与空白对照组和抗生素对照组相比,益生康组 鸡体重大小均匀,成活率高(表 2),羽毛干净,饮水 稍多,粪便较黑,臭味很小。

2.2 益生康对肉仔鸡生产性能和体重均匀度的 影响

畜禽的生产性能包括增重、饲料转化效率和成 活率,这是反映饲料添加剂有效性、安全性和经济性 的重要指标。试验表明(表 2),CK空组鸡的成活率 显著低于其他各组(P < 0.05),且 $Y_{0.2}$ 组显著高于 CK_{th} 组和 $Y_{0.05}$ 组(P < 0.05),与 $Y_{0.1}$ 组相近; $Y_{0.1}$ 组和 Y_{0.2}组 42 日龄的平均活体重和增重均显著高 于其他各组(P<0.05),平均总增重比 CKp 组分别 增加 6.6%(119.1 g/只)和 7.0%(127.4 g/只),差 异显著(P<0.05)。益生康对饲料转化效率的改善 幅度较大,其中,添加 $Y_{0.05}$ 组、 $Y_{0.1}$ 组、 $Y_{0.2}$ 组分别比 CK空 组提高 8.8%、10.5%和 11.6%,差异极显著 (P<0.01),其中 Y_{0.1}组和 Y_{0.2}组显著高于 CK_抗组 (P < 0.05)。从各项指标看 $, Y_{0.2}$ 组 $> Y_{0.1}$ 组 $> Y_{0.05}$ 组>CKn > CKp, 说明益生康能极显著提高饲料利 用率(P < 0.01)、增重和成活率(P < 0.05),添加 0.1%~0.2%益生康的效果好于抗生素。

表 2 肉仔鸡生产性能和体重均匀度的改善

Table 2 Performance improvement of broiler chickens at 21 and 42 day of age

处理	始重/ (g·只·1)	成活率/ %	21 d 体重/ (g·只 ⁻¹)	42 d 体重 / (g ·只 ^{- 1})	平均增重/ (g ·只 ^{- 1})	增加率 / %	饲料转化 效率	改善率 /
	(8 / /		(5 /)	(5 // /	(5 //)	70	/ A	
CK≊	38.6	91.1 ±3.1c	553.6 ±24.2 b	1 853. 2 ±34. 1 c	1 814. 6 ±33. 9 c	-	2. 39 ±0. 15 aA	-
CK抗	39.2	93.9 ± 4.2 b	572.8 ±23.3 ab	1 942.7 ±39.3 b	1 903. 5 ±38. 7 b	88. 9/ 4. 9	2. 20 ±0. 12 bAB	8.1
$Y_{0.05}$	39. 1	94.4 ± 3.8 b	573. 2 ±25. 1 ab	1 945.1 ±35.1 b	1 906. 0 ±39. 2 b	91.4/5.0	2.18 ±0.09 bAB	8.8
Y _{0.1}	38.8	95.8 ±3.3 ab	578.9 ± 21.4 a	1 972. 5 ±32. 4 a	1 933.7 ±36.4 a	119. 1/6. 6	2.13 ±0.10 cbB	10.5
$Y_{0.2}$	39.3	96.4 ± 4.3 a	585.8 ±18.8 a	1 981. 3 ±35. 2 a	1 942. 0 ±39. 2 a	127.4/7.0	2.11 ±0.07 cB	11.6

注:数字右不同小写字母差异显著(P < 0.05),不同大写字母差异极显著(P < 0.01),反之差异不显著(P > 0.05);下同。 增加率 = (处理组增重 - 对照组增重)/对照组增重 $\mathbf{x}100\%$; 饲料转化效率 = 饲料质量(F)/体重增加量(G); 改善率 = (对照组 - 处理组)/处理组 $\mathbf{x}100\%$ 。

肉鸡的均匀度是指活体重个体大小的差异,其大小直接影响鸡群整体的生产性能、出肉率和经济效益。试验表明(图 1),在 21 和 42 日龄, CK_{ft} 组、 $Y_{0.05}$ 组、 $Y_{0.1}$ 组和 $Y_{0.2}$ 组肉仔鸡的体重均匀度均极显著高于 CK_{2} 组(P < 0.01),且 0.2%组极显著高于抗生素组。说明益生康能极显著提高肉鸡生长的整齐度,且随益生康用量的增加,其均匀度也越来越好,这有助于提高肉鸡的产品档次和质量。

2.3 益生康对肉仔鸡免疫器官发育的刺激作用

在 21 和 42 日龄, $Y_{0.05}$ 、 $Y_{0.1}$ 和 $Y_{0.2}$ 组的胸腺、脾脏和法氏囊指数均极显著高于 CK_{Ξ} 组和 $CK_{抗}$ 组(P < 0.01),并随益生康用量的增加,各免疫器官指数也增加。虽然添加 0.2%益生康的各免疫器官指数均高于与 $Y_{0.1}$ 组,但无显著差异(P > 0.05),均

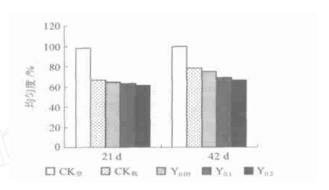


图 1 肉仔鸡体重均匀度

Fig. 1 Bodyweight equitability of broiler chickens 显著高于 $Y_{0.05}$ 组 (P < 0.05) (表 3),这说明在肉仔鸡饲料中添加 0.1%的益生康即可明显刺激免疫器官发育。

表 3 不同日龄肉仔鸡免疫器官指数

Table 3 Immune organ indexes (g/kg bodyweight) at different day of age

g/ kg

		一级(中枢)	二级(外周)淋巴器官				
组别	胸腺指数		法氏囊指数		脾脏指数		
	21 d	42 d	21 d	42 d	21 d	42 d	
CK≊	2.18 ±0.30 cC	1.76 ±0.29 cC	2. 26 ±0. 23 cC	1.56 ±0.17 cBC	1. 15 ±0. 12 cBC	1.51 ±0.13 cBC	
CK抗	2. 20 ±0. 29 cC	1.71 ±0.31cC	2. 21 ±0. 21cBC	1.54 ±0.13 cC	1. 10 ±0. 12 cC	1.42 ±0.14 cC	
$Y_{0.05}$	2.50 ±0.22 bB	1.87 ±0.28 bB	2.49 ±0.22 bB	1.72 ±0.16 bB	1.32 ±0.13 bB	1.63 ±0.13 bB	
$Y_{0.1}$	2.76 ±0.19 abA	2. 19 ±0. 26 abA	2.76 ±0.21 abB	1.88 ±0.19 abA	1.38 ±0.19 abA	1.77 ±0.16 abA	
Y _{0.2}	2.82 ±0.21 aA	2. 25 ±0. 24 aA	2.90 ±0.18 aA	1.99 ±0.23 aA	1.47 ±0.16 aA	1.85 ±0.19 aA	

2.4 益生康对肉仔鸡外周血 T和 B淋巴细胞功能 的促进作用

对于肉仔鸡来说,生长期短,通常前3周的抗病力和生理状态对其成活率和生产性能起着决定性作

用。图 2 显示,肉仔鸡 21 日龄时, $Y_{0.05}$ 组、 $Y_{0.1}$ 组、 $Y_{0.2}$ 组的 T 或 B 淋巴细胞对丝裂原的反应性均显著高于空白对照组 (P < 0.05),也极显著高于抗生素组 (P < 0.01),且随着益生康添加量的增加对 T 或

B 淋巴细胞激活的强度也愈加强烈。黄霉素组鸡的淋转率与空白对照组差异不显著 (P > 0.05),并对 T 或 B 细胞免疫功能有一定的抑制。这表明益生康对 T 淋巴细胞接受丝裂原 Con A 和 B 淋巴细胞接受丝裂原 L PS 刺激的反应性有极明显的增强作用 (P < 0.01)。

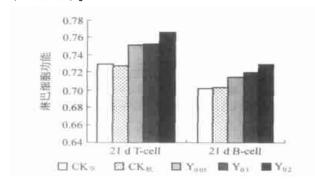


图 2 外周血液中 T或 B淋巴细胞对丝裂原的反应性 Fig. 2 Response of T or B cell to mitogen in peripheral blood

2.5 益生康对 BSA 抗体效价的影响

图 3 结果表明,益生康各组的 BSA 抗体效价均显著高于空白对照组(P<0.05),并极显著高于抗体生素组(P<0.01)。BSA 抗体水平随益生康添加量的增加而增加,但 0.1%和 0.2%的益生康添加组间差异不显著(P>0.05),说明添加 0.1%益生康既经济又能增强体液免疫,而黄霉素没有免疫刺激作用。

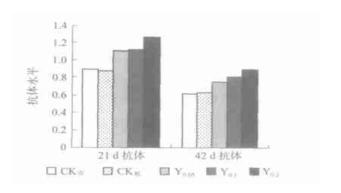


图 3 肉仔鸡血清中 BSA 的抗体效

Fig. 3 Antibody titers (OD) to BSA in serum

2.6 益生康对血清中不同蛋白质组分的影响

血清总蛋白由血清白蛋白和球蛋白组成,其中球蛋白中的 -球蛋白是血浆抗体活性的绝大部分。表 4 表明,益生康添加组血清中的总蛋白含量均显著高于空白对照组(P < 0.05),黄霉素组虽高于空白对照组,但差异不显著(P < 0.05)。另外,益生康各组鸡的血清球蛋白含量均显著高于空白对照组和黄霉素组(P < 0.05),而空白对照组和黄霉素组间差异非常小(P > 0.05)。同时,益生康各组的白蛋白含量和白/球比明显低于空白对照和黄霉素组,差异显著(P < 0.05),两对照组间差异不显著(P > 0.05)。

2.7 益生康对脂类代谢的影响

在肉鸡生产中不期望有较多的脂肪,特别是腹

g/L

表 4 鸡血清中不同的蛋白质组分
Table 4 Different protein components in serum of broile chicken

		<u> </u>		
处理	总蛋白	白蛋白	球蛋白	白蛋白/球蛋白
CK≊	17.86 ±0.83 c	12. 28 ±1. 53 a	5.75 ±0.62 c	2. 14 ±0. 24 a
CK抗	18.11 ±1.10 bc	12.69 ±1.28 a	5.62 ±0.57 bc	2. 26 ±0. 26 a
$Y_{0.05}$	18.53 ±1.05 b	12.41 ±1.33 a	6.12 ±0.66 b	2.03 ±0.23 ab
$Y_{0.1}$	18.72 ±0.85 a	11.57 ±1.23 b	7.15 ±0.71 a	1.62 ±0.29 b
Y _{0.2}	18.91 ±0.67 a	11.46 ±1.32 b	7.48 ±0.65 a	1.53 ±0.32 b

部脂肪。肉仔鸡饲用益生康后,腹脂率(表 5)显著降低(P<0.05),同时,血清中的脂肪酶的活性显著高于对照组(P<0.05),总胆固醇、甘油三酯和腹脂率显著低于对照组(P<0.05)。黄霉素对照组和空白对照组的各项指标差异不显著(P>0.05)。试验还表明,随益生康用量的增加,血清中的脂肪酶活性愈高,而总胆固醇、甘油三酯和腹脂率愈低,但添加0.1%和0.2%的益生康差异不显著,表明益生康的最佳用量为0.1%。腹脂率的减少可改善肉鸡产品的品质,并能提高出肉率,这在肉鸡生产中具有重要

的应用价值。

2.8 益生康对肠道内容物的酸化作用

胃肠道的 pH 会影响胰蛋白酶、糜蛋白酶、羧肽酶、淀粉酶、脂肪酶、麦芽糖酶和乳糖酶等许多消化酶的活性,进而影响日粮的总消化率和动物的生长速率^[8]。试验表明,肉仔鸡饲用益生康能显著降低十二指肠、空肠和回肠的 pH 值 (P < 0.05) (表 6),酸化肠道环境。而酸化作用能激活肠道中与蛋白质、脂类和碳水化合物代谢有关的酶类,进而提高饲料养分的消化利用率。黄霉素没有酸化作用,而益

生康的酸化作用随着饲用剂量的增加而增加,但添 加 0.1%和 0.2%没有显著差异(P>0.05)。

表 5 血清脂肪代谢组分和腹脂率

Table 5 Lipid metabolism components in serum and rate of abdominal fat

<i>h</i> l TEI	总胆固醇/	甘油三酯/	脂肪酶活性	腹脂率/	腹脂率/ (g ·kg · ¹)		
处理	(mmol L ⁻¹)	$(\text{mmol } \mathbf{L}^{-1})$	$(U \cdot mg^{-1}(prot))$	21 d	42 d		
C K _空	3. 34 ±0. 27 a	0. 65 ±0. 15 a	663.3 ±55.3 b	10. 2 ±1. 2 a	13.3 ±1.1 a		
C K _抗	3.11 ±0.22 ab	0.61 ±0.11 ab	672.6 ±78.5 ab	8.3 ±1.7 b	11.5 ±1.4 b		
$Y_{0.05}$	2.66 ±0.24 b	0.49 ±0.12 b	708. 4 ±78. 3 ab	6.8 ±1.9 b	9.1 ±1.5 bc		
$Y_{0.1}$	2.56 ±0.28 bc	0.47 ±0.13 b	721.5 ±49.4 a	5.6 ±1.3 c	8.4 ±1.7 c		
Y _{0.2}	2.40 ±0.23 c	0.43 ±0.12 b	750.0 ±56.1 a	5.1 ±1.1 c	7.9 ±1.4 c		

2.9 益生康对肠道微生态菌群的优化作用

试验表明,益生康 $Y_{0.05}$ 组、 $Y_{0.1}$ 组、 $Y_{0.2}$ 组和黄霉素组鸡空肠和直肠中的大肠杆菌数量(表 6)均显著低于空白对照组(P < 0.05),而乳酸杆菌显著高于空白对照组(P < 0.05),且添加益生康 0.1%或 0.2%,肠道中的大肠杆菌显著低于其他组,乳酸杆

菌显著高于其他组(P<0.05);随益生康添加量的增加,大肠杆菌愈少,而乳酸杆菌愈多,这表明益生康能显著调节肠道内微生态菌群的种类和结构,并十分有利于鸡的健康和肠道有益菌群的一系列生物学效应。

表 6 21 日龄肉仔鸡肠道的 pH以及乳酸杆菌和大肠杆菌数

Table 6 pH value and counts (lg cfu/g gut content) of Lactobacillus and Escherichia coli in gut of chickens at 21 d

lg[菌落数/(cfu/g)]

处理	大肠	大肠杆菌		乳酸杆菌		不同肠段的 p H			
	空肠	直肠	空肠	直肠	十二指肠	空肠	回肠		
CK空	6. 93 ±0. 14 a	7.55 ±0.21 a	7.80 ±0.12 b	7.71 ±0.06 b	6. 98 ±0. 29 a	6.64 ±0.34 a	6.39 ±0.41 a		
CK抗	5.96 ±0.19 b	6.18 ±0.22 b	7.72 ±0.07 b	7.68 ±0.11 b	6.91 ±0.33 a	6.58 ±0.38 a	6.35 ±0.34 a		
$Y_{0.05}$	5.96 ±0.19 b	6. 18 ±0. 22 b	7.72 ±0.07 b	7.68 ±0.11 b	6.72 ±0.34 b	6.14 ±0.32 b	5.83 ±0.38 a		
$Y_{0.1}$	5.04 ±0.16 c	5.43 ±0.24 c	9.01 ±0.17 a	9.15 ±0.09 a	6.55 ±0.29 b	5.91 ±0.21 b	5.62 ±0.22 b		
Y _{0.2}	4.86 ±0.17 c	5.01 ±0.20 c	9. 28 ±0. 21 a	9.53 ±0.12 a	6.42 ±0.31 b	5.80 ±0.18 b	5.51 ±0.19 b		

3 讨论

3.1 益生康对肉仔鸡营养代谢的调控

1)益生康对脂类代谢的调控。本试验表明益生康能显著降低血清甘油三酯 (TG)和总胆固醇以及腹脂率 ,揭示其显著影响脂类代谢和沉积。饲料中的脂肪在脂肪酶的作用下分解为脂肪酸和甘油 ,在这个过程中 ,益生康中的芽孢杆菌能产生脂肪酶直接参与该过程。Fukushima^[13]用混合益生菌 14 株,饲喂大鼠 4 周后 ,益生菌增加了短链脂肪酸并降低了血清及肝脏中的胆固醇浓度。Endo 等^[14]将与Fukushima^[13]同样菌株组合的益生菌制剂喂饲进食高胆固醇饲料的公鸡 ,获得了相似的结果。短链脂肪酸的增多可降低血清胆固醇和 TG,提高高密度脂蛋白(HDL)与 TG的比值 ,有效地调节血脂。本试验说明 ,肉仔鸡饲用益生康能显著提高血清中脂肪酶的活性 (表 5) ,脂肪酶具有自动寻找体内多余

脂肪并进行分解的特性,能够将脂肪降解为脂肪酸和甘油,把多余的脂肪分解转化为能量消耗掉,从而抑制了脂肪的合成和沉积。益生康通过上述途径最终降低了腹脂的沉积。在现代肉鸡生产中,如何减少高强度育肥肉仔鸡的体脂过度沉积一直倍受关注,本研究观察到的益生康微生物添加剂可显著减少肉仔鸡腹脂沉积的结果为解决这一问题提供了借鉴。

2) 益生康对血清中不同蛋白质组分的调控。试验表明(表 4), 益生康各组鸡血清中的总蛋白含量均显著高于空白对照组和黄霉素组(P<0.05), 说明益生康对蛋白质代谢有调控作用。在肠道,来自饲料(外源的)和内源的蛋白和肽经宿主和肠道细菌蛋白酶与肽酶的双重作用下, 水解成氨基酸和小肽, 大部分被动物吸收利用, 少部分氨基酸经肠道细菌作用通过以下 3 个途径进行代谢:a. 产生 H₂、CO₂、CH₄、硫醇、硫化氢从呼吸道和胃肠气排出;b. 形成

酚、吲哚、胺、氨、尿酸从粪尿排出;c.代谢成有机酸供宿主生物合成和产能反应。在肠道中死亡的细菌蛋白也参与了上述全部过程,并在溶解时释放大量蛋白酶,使大肠内蛋白质的分解能力大大提高,未死亡的细菌由粪便排出体外。益生康微生物通过以下3个直接或间接的途径参与了蛋白质代谢;a. 芽孢杆菌能分泌大量胞外酶,如蛋白酶直接参与蛋白质代谢,同时产生氨基化氧化酶及分解硫化物的酶类可将吲哚类化合物完全氧化成无臭无毒害和对环境无污染的物质;b. 酵母菌能以蛋白质代谢产生的尿素等非蛋白氮作为氮源合成菌体蛋白,从而提高氮的利用率,减少粪氮的排放;c. 乳酸菌通过产酸酸化肠道环境,增加蛋白酶活性来参与蛋白质代谢过程。

3.2 益生康的促生长机理

益生康中的乳酸菌是动物消化道中的优势菌 群,可"终生为伴,终生为益",发挥着拮抗病原微生 物、启动特异和非特异性免疫系统、降低胆固醇、中 和肠毒素、合成营养物质、产生消化酶类并调节畜禽 营养代谢的功能。酵母菌不仅能帮助动物消化,还 能促进消化道内源有益微生物的活力和数量增加, 补充 B 族维生素,其细胞壁多糖还具有刺激动物免 疫力,提高抗病力的功效。益生型芽孢杆菌可产生 蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶、纤维素酶等活性物质,对蛋 白质、脂肪、碳水化合物等营养物质的消化、吸收和 利用发挥着重要的调控作用。因此,益生康的促进 生长的机理可概括为:一是通过微生物分泌的消化 酶或酸化作用(表 6)激活消化酶来提高饲料营养素 的吸收利用率:二是通过刺激免疫力和优化肠道菌 群(表 6),提高肉仔鸡的健康状况和生理活性来发 挥促生长作用:三是通过微生物产生的 B 族维生 素、有机酸等营养物质来提高生长性能。

3.3 益生康对免疫器官生长发育和免疫功能的调 控机理

益生康含有乳酸菌、芽孢杆菌和酵母等有益微生物,每种微生物本身是一种抗原,能激活免疫系统,刺激免疫器官的生长发育(表 3),也能激活 T 或 B 细胞(图 2),使产生免疫球蛋白的能力增加(表 4),表现为鸡体的 B S A 抗体效价(图 3) 升高,这就是益生康调控免疫功能的根本机制。益生康中的芽孢杆菌和乳酸杆菌是 G+菌,其细胞壁除有肽聚糖 (peptidoglycan, PG) 和多糖 (polysaccharide, PS) 外

还有脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA),酵母的细胞壁含有大量多糖(PS),PG和 PS 能直接活化宿主的巨噬细胞、内皮细胞、中性粒细胞等免疫系统,进而促进免疫器官的生长发育。Hamann^[15]报道,被活化的巨噬细胞可释放 NTF、IFN-、IL-1、IL-6、IL-8和 IL-12,这些细胞因子是发挥免疫调控的重要成员。此外,乳酸杆菌还产生一氧化氮合成酶,一氧化氮(NO)是机体内细胞间和细胞内信息传递的免疫调节分子、信使分子和效应分子,在动物和人的神经、心血管和免疫系统中参与免疫反应、炎症反应、信号传递、血管舒张(松驰因子)、抗血小板聚集和记忆的生理过程。Fuller^[4]报道,直接饲用微生物可以提高畜禽抗体水平或提高巨噬细胞的活性,增强免疫功能,它们能刺激肠道免疫组织或机体免疫器官生长,激发机体的体液免疫和细胞免疫。

3.4 益生康对肠道环境的酸化作用与菌群结构的 优化作用具有重要的生物学意义

肉仔鸡饲用益生康能明显酸化肠道环境(表 6) 并抑制大肠杆菌等有害微生物的生长 刺激乳酸 菌等有益菌的生长,从而改变肠道菌群结构和比例。 酸化作用还可补充胃中的限制酸,对能量代谢产生 有利影响。微生物代谢产生的短链脂肪酸主要是乙 酸、丙酸、丁酸和乳酸,在肠道上皮细胞代谢中具有 重要的意义,其中丁酸是这些细胞的特别重要的能 量来源,约60%~70%的能量来自于细胞发酵产 物[16]。短链脂肪酸(SCFA)产生的二氧化碳和酮体 是黏膜脂类合成的前体。丁酸可促进细胞分化,抑 制结肠癌细胞的生长[17]。丁酸对细胞分化的影响 与控制基因表达有关,丁酸可改变多种基因的表达, 如鼠红白血病细胞中的血红蛋白合成、肝细胞表皮 生长因子(EGF)的产生、内皮细胞血纤维蛋白溶酶 原激活物的合成等。乙酸在后肠产生,是组织的次 级能量来源。这些 SCFA 一般通过直接或间接进入 三羧酸循环(TCA cycle)参与能量代谢。由此可见, 益生康微生物酸化肠道的意义,不仅表现在可以抑 制肠道有害微生物的生长,更为重要是产生的 SC-FA 参与了多种细胞的分化和能量代谢。这对研究 微生物对宿主能量代谢的调控具有重要的借鉴。微 生物产生的 SCFA 还是一种螯合剂,能促进后肠中 钙、磷和微量元素等矿物质的吸收。

畜禽体内的有益菌和病原菌对 pH 很敏感,低

pH(4~5)利于乳酸菌和链球菌,而高pH(6~7)则有益于大肠杆菌繁殖。同时,粪便pH与氨的释放有直接关系,当pH<7时,NH3释放加快^[18]。康白^[19]报道,分解氨基酸产生NH3的微生物主要是革兰氏阴性菌如大肠杆菌、变性杆菌、铜绿色假单胞杆菌等,有些微生物如革兰氏阳性的乳酸杆菌、双歧杆菌几乎不分解氨基酸。可见,酸化肠道环境还是益生康除臭降氨的重要机理之一。

4 结 论

- 1)在肉仔鸡饲料中添加 0.1 %的益生康能明显促进生长、提高增重和饲料转化效率(P<0.05),也最经济,其效果优于添加抗生素黄霉素。建议益生康的最佳添加量为 0.1 %。
- 2) 益生康通过刺激胸腺、脾脏和法氏囊生长发育,增强鸡 T 或 B 淋巴细胞的活性和提高血清球蛋白的含量、抗体水平,来提高机体的细胞免疫和体液免疫功能,以增强鸡体的抗病力。
- 3) 益生康能增加血清总蛋白、球蛋白含量,调节蛋白质代谢,并通过提高血清脂肪酶活性,降低血清总胆固醇和甘油三酯含量调节脂肪代谢,显著降低腹脂沉积。
- 4) 益生康可明显抑制空肠和直肠中的大肠杆菌,增加乳酸杆菌量并降低肠道的 pH,优化和酸化肠道环境,促进鸡的健康并减少鸡舍臭味。

参考文献

- [1] 张日俊. 单胃动物消化道微生态环境与营养[A]. 何明清主编. 动物微生态研究进展[C]. 北京:中国农业大学出版社,2000.140~154
- [2] 张日俊. 营养微生态学[A]. 康白主编. 微生态学原理[C]. 大连:大连出版社,2002.53⁻72
- [3] Gbson GR, Macfarlane GT. Human Colonic Bacteria: Role in Nutrition, Physiology and Pathology[M]. Boca Raton Lodon Tokyo: CRC Press, 1995
- [4] Fuller R. A Review: Probiotics in man and animals[J].

 Journal of Applied Bacteriology, 1989, 66: 365-378
- [5] Kailasapathy K, Chin J. Survival and therapeutic potential of probiotic organism with reference to Lactobacilli acidophilus and Bifidobacterium spp [J]. Immunology

- and cell Biology, 2000, 78: 80-88
- [6] Pietras M, Skraba B. Effect of a probiotic on resistance and rearing performance of broiler chickens. 50 Years of the National Research Institute of Animal Production "Safe Food as a Challenge to Animal Sciences" Balice, 2000. Research reports. II. Effect of environmental factors on the quality of animal product [R]. Roczniki Naukowe Zootechniki. Supplement. 2000, 6: 357-361
- [7] Raman M, Sharma D D, Malik R. Influence of mixed probiotic on growth, feed conversion efficiency and incidence of diarrhoea in young calves[J]. Indian Journal of Animal Nutrition, 1998, 15(3): 228-231
- [8] Abe F, Ishibashi N, Shimamura S. Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets [J]. Journal of Dairy Science, 1995, 78(12): 2838-2846
- [9] 张日俊,佟建民,萨仁娜,等. 饲用金霉素对肉仔鸡免疫系统生长发育及免疫反应的研究[J]. 畜牧兽医学报,2000,31(3):216~223
- [10] 张日俊. 微量元素锌锰对肉仔鸡免疫功能的影响及 其作用机理研究[D]. 北京:中国农业大学,1996
- [11] 陈天寿. 微生物培养基的制造与应用[M]. 北京:中国农业出版社,1995. 455~456
- [12] 诸葛健,王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,1997. 148
- [13] Fu Kushima M. A mixture of organisms affects cholesterol metabolism together with rat cecal flora[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63(9):1160
- [14] Endo T. Effects of a probiotic on the lipid metabolism of cocks fed on a cholesterol-enriched[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1999, 63(9):1569
- [15] Hamann Lutg. Components of gut bacteria as immunomodulators [J]. International J Food Microbiology , $1998\,,\,41:\,141$
- [16] Commings J H. Short chain fatty acids in the human colon[J]. Gut, 1981,22:763
- [17] Acher S Y, Meng S. P21 (WAF1) is required for butyrate mediated growth inhibition of human colon cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci, 1998, 95: 6791-6796
- [18] Reece F N. Ammonia control in broiler house[J]. Poultry Sci, 1979, 58:754-755
- [19] 康白主编. 微生态学[M]. 大连:大连出版社,1988