

DOI:10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.20191509

地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪生长性能、肠道形态和通透性及粪便微生物的影响

邓文¹, 徐彬¹, 孙全友¹, 付趁¹, 郑新社¹, 陈国参², 李绍钰¹, 王琳焱^{1*}

(1.河南省农业科学院畜牧兽医研究所,河南郑州 450002;

2.河南科学院生物研究所有限责任公司,河南省生物工程重点实验室,河南郑州 450008)

[摘要] 为研究地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪生长性能、肠道形态和通透性及粪便微生物的影响,试验采用体重、健康状况相近的(25±1)日龄断奶仔猪 160 头,随机分为 4 组(对照组、400 mg/kg 地衣芽孢杆菌组、200 mg/kg 低聚木糖组和地衣芽孢杆菌+低聚木糖组),每组 5 个重复,每个重复 8 头仔猪。结果表明:(1)地衣芽孢杆菌组和低聚木糖组断奶仔猪的平均日增重显著提高 15.1%和 12.8%($P < 0.05$),腹泻率显著降低 34.1%和 41.2%($P < 0.05$);地衣芽孢杆菌组断奶仔猪的料肉比显著降低 10.6%($P < 0.05$);(2)地衣芽孢杆菌组和低聚木糖组断奶仔猪空肠的绒毛高度显著提高 20.3%和 16.3%($P < 0.05$),绒毛比显著提高 31.5%和 20.7%;(3)地衣芽孢杆菌组断奶仔猪血清 D-乳酸和二胺氧化酶(DAO)水平显著降低 14.6%和 19.1%($P < 0.05$);(4)低聚木糖组断奶仔猪粪便乳酸杆菌数量显著提高 5.3% ($P < 0.05$);地衣芽孢杆菌组和低聚木糖组断奶仔猪粪便大肠杆菌数量显著降低 12.5%和 9.4%($P < 0.05$),并且两者有显著的互作效应($P < 0.05$)。因此,断奶仔猪日粮中添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖可以改善仔猪的生长性能,降低腹泻率,改善肠道绒毛结构和屏障功能,促进肠道微生物平衡。

[关键词] 断奶仔猪;生长性能;腹泻;肠道形态;肠道通透性;微生物

[中图分类号] S816.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-3314(2019)15-0040-05

断奶会给仔猪造成严重应激,研究表明仔猪断奶后肠道会发生显著变化,如肠道绒毛萎缩,隐窝加深,肠道微生物区系紊乱等(Zhu 等, 2012)。另外,断奶应激还会导致肠道上皮细胞损伤,上皮通透性增加(华朱鸣, 2012)。肠道绒毛的萎缩及上皮损伤不仅会影响营养物质的吸收,而且降低了对有害物质的屏障作用,肠道有害物质如内毒素更易于入侵肠道黏膜下层,诱发肠道局部甚至机体的炎症反应,进一步降低断奶仔猪的生长性能。微生物区系紊乱导致有害菌的大量繁殖更会加剧这一恶性循环。因此,改善断奶仔猪肠道健康对缓解断奶仔猪应激,提高其生长性能有重要意义。

益生菌是指活的微生物制剂,芽孢杆菌由于

其对环境的高耐受性而备受青睐。低聚木糖是指 2~7 个木糖分子以 β -1,4 糖苷键连接而成的寡糖,其作为益生元可促进肠道双歧杆菌等有益菌生长,并且其作用效果比其他寡糖更好(聂昌林和宋春阳, 2012)。当前关于低聚木糖和益生菌改善断奶仔猪肠道健康的报道较多,但有关寡糖和益生菌组合效应的研究较少。低聚木糖作用的是肠道的双歧杆菌和部分乳酸菌,和芽孢杆菌作用于肠道的方式和机制不同,两者可能存在组合和协同效应。为此,本试验在饲料中添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖,研究其对断奶仔猪生长性能、肠道形态通透性及粪便微生物的影响,以探讨两者的组合和互作效应。

1 材料与方法

1.1 试验材料 地衣芽孢杆菌由沧州华雨生物科技有限公司提供,地衣芽孢杆菌含量为 10^{11} cfu/kg;低聚木糖由鹤壁泰新科技有限公司提供,低聚木糖含量为 96.5%。

基金项目:河南省农业科学院自主创新专项基金(2017ZC53);河南省科学院 2018 年重大科技突破专项(18ZP05001)

* 通讯作者

1.2 试验设计与饲养管理 试验选取体重、健康状况相近的(25±1)日龄“杜长大”断奶仔猪160头,随机分为4组,每组5个重复,每个重复8头仔猪。试验采用2×2完全随机设计,设置2个地衣芽孢杆菌水平组(0、400 mg/kg)和2个低聚木糖水平组(0、200 mg/kg)。饲养试验在河南雄峰科技股份有限公司荥阳斯格猪场进行,试验过渡期3 d,正式期28 d。猪只自由采食和饮水,其他按照该场正常的饲养管理和防疫流程进行。

1.3 试验饲粮 试验饲粮为玉米-豆粕型基础饲粮,其各项营养指标均可以满足断奶仔猪的营养需求(NRC,2012),基础饲粮组成及营养水平见表1。

表1 基础日粮组成及营养水平(风干基础)

日粮组成	含量	营养水平	含量
玉米/%	50.5	消化能/(MJ/kg)	14.48
豆粕/%	20	粗蛋白质/%	20.42
乳清粉/%	10	粗脂肪/%	5.34
发酵豆粕/%	5	粗纤维/%	2.11
大豆浓缩蛋白/%	3	钙/%	0.70
鱼粉/%	3	总磷/%	0.85
葡萄糖/%	2	有效磷/%	0.42
蔗糖/%	2	赖氨酸/%	1.36
磷酸氢钙/%	1	蛋氨酸+半胱氨酸/%	0.81
柠檬酸钙/%	0.5	苏氨酸/%	0.87
赖氨酸(98%)/%	0.3		
蛋氨酸(98%)/%	0.1		
苏氨酸(98%)/%	0.2		
胆碱(50%)/%	0.1		
食盐/%	0.3		
预混料/%	2		

注:(1)预混料为每千克日粮提供维生素A 10000 IU,维生素D₃ 1500 IU,维生素E 35 IU,维生素K₃ 4.0 mg,维生素B₁ 1.5 mg,维生素B₂ 3.6 mg,维生素B₆ 1.5 mg,泛酸钙 16.2 mg,生物素 0.13 mg,烟酸 35 mg,叶酸 0.78 mg,维生素B₁₂ 0.04 mg,Fe 160 mg,Cu 80 mg,Zn 130 mg,Mn 100 mg,I 0.3 mg,Se 0.3 mg;(2)消化能为计算值,其余为实测值。

1.4 样品采集与处理 在试验期内每天对猪的采食量、余料量、腹泻情况进行收集及记录。在试验第28天,每个重复随机选择2头仔猪,静脉采血,分离血清,待测肠道通透性指标;每个重复选取1头、每组共5头仔猪(体重接近窝平均体重),共屠宰20头仔猪,按照常规方法进行采样,采集空肠中部2 cm肠段,用于检测肠道形态;以肛门拭子采集各重复所有猪只的粪便样品,然后各重复样品合并,置于冰盒并迅速转移至实验室测定微生物区系。

1.5 指标测定与方法

1.5.1 生长性能测定 每天记录猪群的健康状况,观察是否有腹泻,并作记录。记录猪群各重复的耗料量,在试验始、末分别于早晨空腹称重,计算平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)和料肉比(F/G),并计算腹泻率。

腹泻率/%=[试验期内腹泻头数/(试验天数×试验头数)]×100。

1.5.2 肠道形态检测 取2 cm空肠肠段,以载玻片轻轻刮去肠道食糜,用生理盐水冲洗干净,然后用滤纸吸干,置于10%中性福尔马林固定液中固定,然后经过脱水-透明-浸腊-包埋-修块等处理后,制成5 μm厚切片,用苏木精-伊红染色法染色。观察测定绒毛高度(VH)、隐窝深度(CD),并计算两者的比值(VH/CD)。

1.5.3 血清肠道通透性指标 每头仔猪静脉采血10 mL,室温下倾斜静置1 h后,3000 r/min离心15 min,分离血清,-20℃冰箱保存,待测血清肠道通透性指标。D-乳酸含量和二胺氧化酶(DAO)用试剂盒(南京建成生物工程研究所)以酶联免疫吸附法测定。

1.5.4 肠道微生物指标 将1 g混合粪样以9 mL灭菌生理盐水作梯度稀释后测定活菌数。大肠杆菌采用麦康凯培养基37℃培养24 h;乳酸菌采用MRS培养基37℃厌氧培养48 h;细菌数量采用平板菌落计数法进行统计,最后用每克肠道内容物中细菌个数的对数lg(cfu/g)表示。

1.6 数据处理与分析 试验数据以重复为单位进行处理,采用SPSS 19.0软件的ANOVA程序进行两因素方差分析,采用Duncan's法进行多重比较;所有结果均以“平均值±标准误”来表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响 由表2可知,与对照组相比,日粮中添加地衣芽孢杆菌组和低聚木糖组断奶仔猪的平均日增重显著提高15.1%和12.8%($P < 0.05$),腹泻率显著降低34.1%和41.2%($P < 0.05$);日粮中添加地衣芽孢杆菌组断奶仔猪的料

肉比显著降低 10.6% ($P < 0.05$); 各组平均日采食量差异不显著 ($P > 0.05$); 同时添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪的生长性能和腹泻率均无显著互作效应 ($P > 0.05$)。

表 2 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响

组别	平均日增重/g	平均日采食量/g	料肉比	腹泻率/%
对照组	345	555	1.61	7.94
芽孢杆菌组	397	571	1.44	5.23
低聚木糖组	389	578	1.49	4.67
芽孢杆菌+低聚木糖组	412	602	1.46	3.88
SEM	15	34	0.025	0.24
<i>P</i> 值				
芽孢杆菌组	0.021	0.761	0.047	0.048
低聚木糖组	0.033	0.625	0.071	0.034
芽孢杆菌×低聚木糖组	0.556	0.318	0.852	0.696

2.2 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道形态的影响 由表 3 可知, 与对照组相比, 日粮中添加地衣芽孢杆菌组和低聚木糖组断奶仔猪空肠的绒毛高度显著提高 20.3% 和 16.3% ($P < 0.05$), 绒隐比显著提高 31.5% 和 20.7% ($P < 0.05$); 对于隐窝深度无显著影响 ($P > 0.05$); 同时添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪空肠的绒毛高度、隐窝深度和绒隐比均无显著互作效应 ($P > 0.05$)。

表 3 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道形态的影响

组别	绒毛高度/ μm	隐窝深度/ μm	绒隐比
对照组	325	292	1.11
芽孢杆菌组	391	268	1.46
低聚木糖组	378	282	1.34
芽孢杆菌+低聚木糖组	406	261	1.55
SEM	21	25	0.036
<i>P</i> 值			
芽孢杆菌组	0.017	0.863	0.005
低聚木糖组	0.035	0.926	0.042
芽孢杆菌×低聚木糖组	0.842	0.711	0.682

2.3 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道通透性的影响 由表 4 可知, 日粮中添加地衣芽孢杆菌组断奶仔猪血清 D-乳酸和 DAO 水平较对照组显著降低 14.6% 和 19.1% ($P < 0.05$); 日粮中添加低聚木糖组断奶仔猪血清 D-乳酸和 DAO 水平较对照组无显著差异 ($P > 0.05$); 同时添加地衣

芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪血清 D-乳酸和 DAO 水平均无显著互作效应 ($P > 0.05$)。

表 4 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道通透性的影响

组别	D-乳酸/(mmol/L)	DAO/(U/L)
对照组	0.82	1.15
芽孢杆菌组	0.70	0.93
低聚木糖组	0.75	1.04
芽孢杆菌+低聚木糖组	0.68	0.91
SEM	0.009	0.012
<i>P</i> 值		
芽孢杆菌组	0.038	0.026
低聚木糖组	0.145	0.365
芽孢杆菌×低聚木糖组	0.799	0.897

2.4 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪粪便微生物的影响 由表 5 可知, 与对照组相比, 日粮中添加低聚木糖组断奶仔猪粪便乳杆菌数量显著提高 5.3% ($P < 0.05$); 日粮中添加地衣芽孢杆菌组和低聚木糖组断奶仔猪粪便大肠杆菌数量显著降低 12.5% 和 9.4% ($P < 0.05$), 并且两者有显著的互作效应 ($P < 0.05$)。

表 5 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪粪便微生物的影响 $\lg(\text{cfu/g})$

组别	乳杆菌	大肠杆菌
对照组	7.5	6.4
芽孢杆菌组	7.6	5.6
低聚木糖组	7.9	5.8
芽孢杆菌+低聚木糖组	8.0	5.1
SEM	0.018	0.025
<i>P</i> 值		
芽孢杆菌组	0.465	0.018
低聚木糖组	0.039	0.037
芽孢杆菌×低聚木糖组	0.912	0.022

3 讨论

3.1 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪生长性能和腹泻率的影响 断奶会导致仔猪出现采食量下降、生长缓慢和腹泻等问题。本研究发现, 日粮中添加地衣芽孢杆菌可显著提高断奶仔猪的平均日增重, 降低料肉比。其他研究也表明, 日粮中添加芽孢杆菌可以改善断奶仔猪的生长性能 (Chen 等, 2006)。益生菌对动物生长性能的影响受益生菌种类、添加水平、日粮营养、动物日龄和

健康状况等多种因素的影响(Lee等,2014)。相比育肥阶段,益生菌对于保育阶段的仔猪可能更易产生显著影响,因为此时猪的消化系统和免疫系统发育尚未完善(Schweer等,2017)。本研究中日粮中添加地衣芽孢杆菌对断奶仔猪生产性能和腹泻的改善可能与肠道健康水平的提升有关。黄瑞华等(2007)和方桂友等(2015)报道,日粮中添加低聚木糖可改善断奶仔猪的日增重和料肉比,降低腹泻率,与本研究结果一致。有关益生菌和低聚木糖在断奶仔猪中互作的研究较少,本研究未观察到两者对断奶仔猪生长性能和腹泻率的互作效应。

3.2 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道形态的影响 肠道形态的完整性直接关系到养分的吸收,还能影响肠道对有害物质的屏蔽作用。肠道形态对动物的应激反应很敏感,断奶仔猪肠道绒毛破损萎缩、隐窝深度增加,绒毛比降低(任曼等,2014)。本研究发现,日粮中添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖能改善断奶仔猪的肠道绒毛形态损伤。其他研究也发现益生菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道绒毛形态具有修复作用(黄永洁等,2014;Ross等,2010)。仔猪断奶时肠道微生物区系发生紊乱,有害微生物大量增殖,产生的毒素会造成肠道绒毛损伤(Zhu等,2012)。地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道绒毛形态的修复可能与其对肠道微生物的调节有关。而且肠道绒毛高度的增加会提高营养物质的吸收面积,有利于改善生长性能。

3.3 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪肠道通透性的影响 肠道上皮的屏障功能对维持肠道及整个机体的健康有重要意义,当肠道上皮屏障功能受损时,肠道有害微生物、毒素及其他有害物质会入侵黏膜下层,甚至是血液和机体,严重损伤动物的健康和生长性能。正常情况下,DAO存在于动物小肠黏膜上皮细胞中,D-乳酸是肠道多种细菌代谢和裂解的产物,两者在血液中的含量很低。当肠道黏膜屏障受损,肠黏膜细胞脱落入肠腔,或是肠道通透性异常升高时,肠道细菌产生的大量D-乳酸穿过肠黏膜进入血液循环,血液中的DAO或D-乳酸含量才会显著升高。因此血DAO活性和D-乳酸是反映肠道应激受损情况的关键

敏感指标。本试验结果表明,地衣芽孢杆菌能改善断奶仔猪肠道通透性。Kang等(2010)研究发现,断奶仔猪日粮中添加益生菌可提高肠道修复因子的表达,这些因子在肠道上皮损伤的修复中发挥重要作用。另外,有研究表明益生菌能通过调节肠道紧密连接蛋白质的表达及减少肠道上皮细胞的凋亡来增强肠道上皮的屏障功能,降低其通透性(Cui等,2017)。

3.4 地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪粪便微生物的影响 日粮中添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖减少了断奶仔猪粪便的大肠杆菌数量,添加低聚木糖增加了乳杆菌数量。这与地衣芽孢杆菌和低聚木糖对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响一致。动物肠道有大量微生物存在,肠道微生物区系的平衡与动物健康和养分的消化吸收利用密切相关,断奶应激会破坏仔猪的肠道微生物区系。芽孢杆菌和低聚木糖可调节肠道微生物有较多报道(Thacker等,2013)。芽孢杆菌调节肠道微生物区系的可能机制是竞争夺氧、产生抑菌物质等(Elshaghabe等,2017);低聚木糖可作为双歧杆菌的代谢底物,能有效促进肠道双歧杆菌的增殖,而双歧杆菌一般认为对肠道健康有积极影响(Holscher,2017)。本研究发现地衣芽孢杆菌和低聚木糖在降低粪便大肠杆菌数量方面有互作效应,这可能与两者调节肠道微生物的机制不同,可能在调节肠道微生物区系方面存在加和效应有关。

4 结论

日粮中添加地衣芽孢杆菌和低聚木糖可以提高断奶仔猪的生长性能,降低腹泻率,改善肠道绒毛形态,降低肠道通透性,改善粪便肠道微生物组成,并且在降低大肠杆菌数量方面有互作效应。

参考文献

- [1] 方桂友,刘景,邵良平,等.益生菌和低聚木糖对仔猪生长性能和肠道菌群的影响[J].福建农业学报,2015,30(1):9~13.
- [2] 华朱鸣.寡糖和小肽抗消化道氧自由基作用的研究:[硕士学位论文][D].杭州:浙江工商大学,2012.
- [3] 黄瑞华,宋晓春,陆志峰,等.低聚木糖在哺乳仔猪生产上的应用[J].饲料研究,2007,7:56~58.
- [4] 黄永洁.低聚木糖对断奶仔猪肠道pH和肠黏膜形态结构的影响[J].现代畜牧兽医,2014,5:23~27.

- [5] 聂昌林, 宋春阳. 低聚木糖在猪生产中的应用[J]. 中国饲料, 2012, 13: 34 ~ 38.
- [6] 任曼, 霍应峰, 杨凤娟, 等. 仔猪断奶前后肠道形态和相关免疫蛋白基因表达的变化[J]. 动物营养学报, 2014, 26(3): 614 ~ 619.
- [7] Chen Y J, Min B J, Cho J H, *et al.* Effects of dietary bacillus based probiotic on growth performance, nutrients digestibility, blood characteristics and fecal noxious gas content in finishing pigs [J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2006, 19: 587 ~ 592.
- [8] Cui Y J, Liu L, Dou X X, *et al.* Lactobacillus reuteri ZJ617 maintains intestinal integrity via regulating tight junction, autophagy and apoptosis in mice challenged with lipopolysaccharide [J]. *Oncotarget*, 2017, 29, 8(44): 77489 ~ 77499.
- [9] Elshagabee F M F, Rokana N, Gulhane R D, *et al.* Bacillus as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1490 ~ 1504.
- [10] Holscher H D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota [J]. *Gut Microbes*, 2017, 8(2): 172 ~ 184.
- [11] Kang P, Toms D, Yin Y, *et al.* Epidermal growth factor-expressing *Lactococcus lactis* enhances intestinal development of early-weaned pigs [J]. *J Nutr*, 2010, 140(4): 806 ~ 811.
- [12] 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]. *Anim Feed Sci Technol*, 2014, 188: 102 ~ 110.
- [13] Ross G R, Gusils C, Oliszewski R, *et al.* Effects of probiotic administration in swine [J]. *J Biosci Bioeng*, 2010, 109: 545 ~ 549.
- [14] Schweer W P, Patience J F, Schwartz K, *et al.* A review and evaluation of antibiotic alternatives in the literature [J]. *J Anim Sci*, 2017, 95 (Issue Suppl): 48.
- [15] Thacker P A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2013, 4(1): 35 ~ 46.
- [16] Zhu L H, Zhao K L, Chen X L, *et al.* Impact of weaning and an antioxidant blend on intestinal barrier function and antioxidant status in pigs [J]. *J Anim Sci*, 2012, 90(8): 2581 ~ 2589.

Effects of *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharides on the performance, intestinal morphology and permeability, and fecal microbes of weaned piglets

DENG Wen¹, XU Bin¹, SUN Quanyou¹, FU Chen¹,
ZHENG Xinshe¹, CHEN Guocan², LI Shaoyu¹, WANG Linyi^{1*}

(1. Institute of Animal Science, Henan Academy of Agricultural Science, Zhengzhou, Henan Province 450002, China;

2. Institute of Biology Henan academy of science, Key Laboratory of Microbial Engineering of Henan, Zhengzhou, Henan Province 450008, China)

[Abstract] In order to study the effects of *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharides on the growth performance, intestinal morphology and permeability, and fecal microbes of weaned piglets, 160 weaned piglets with similar body weight and health status at (25±1) days were divided into 4 groups (control group, 400 mg/kg *Bacillus licheniformis* group, 200 mg/kg xylooligosaccharide group, and *Bacillus licheniformis* + xylooligosaccharide group), 5 replicates in each group and 8 piglets per replicate. The results showed that: (1) The average daily gain of *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharide groups were increased by 15.1% and 12.8% ($P < 0.05$), and the rate of diarrhea was significantly reduced by 34.1% and 41.2% ($P < 0.05$); the feed conversion ratio of *Bacillus licheniformis* group were significantly reduced by 10.6% ($P < 0.05$); (2) The villus height of *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharide groups were significantly increased by 20.3% and 16.3% ($P < 0.05$), and villus height: crypt depth were increased by 31.5% and 20.7% ($P < 0.05$); (3) Serum levels of D-lactic acid and DAO of *Bacillus licheniformis* group were significantly reduced by 14.6% and 19.1% ($P < 0.05$); (4) The number of fecal bacillus of xylooligosaccharide group was significantly increased by 5.3% ($P < 0.05$); The number of fecal *E. coli* of *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharide groups were significantly reduced by 12.5% and 9.4% ($P < 0.05$), and there was a significant interaction effect ($P < 0.05$). Therefore, dietary *Bacillus licheniformis* and xylooligosaccharides could improve the performance, reduce diarrhea, improve intestinal villus structure and barrier function, and promote intestinal microbial balance of weaned piglets.

[Key words] weaning piglet; growth performance; diarrhea; intestinal morphology; intestinal permeability; microbe