

枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪生长发育、 肠道环境及健康状况的影响

刘志昌¹ 王喜亮¹ 毕丁仁¹ 肖运才¹ 周祖涛¹ 李筱雯²

1. 农业微生物学国家重点实验室/华中农业大学动物医学院/湖北省预防兽医学重点实验室, 武汉 430070;
2. 湖北华大瑞尔科技有限公司, 荆州 434000

摘要 选取 120 头杜×长×白三元杂交断奶仔猪, 随机分成负对照组(基础日粮)、正对照组(基础日粮+2.5 g/kg 抗生素)、M1 组(正对照组+150 g/t 抗生素)、M2 组(正对照组+300 g/t 抗生素), 试验期 30 d, 研究枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪生长发育、肠道环境及健康状况的影响。结果发现: 生长性能方面, 与正对照组相比, M1 组在体质量(断奶后 30 d)、平均日增重、平均日采食量方面分别提高 7.81% ($P < 0.05$)、17.14% ($P < 0.01$) 和 33.10% ($P < 0.01$), 且 M1 组和 M2 组可以极显著降低断奶仔猪的腹泻率。血液指标方面, 与正对照组相比, M1 组血清 GSH-Px、T-SOD 分别提高 9.0% ($P < 0.05$) 和 32.78% ($P < 0.01$), MDA 降低 43.71% ($P < 0.05$), 猪瘟抗体水平提高 14.06% ($P < 0.05$)。肠道屏障方面, 与正对照组相比, M1 组可显著提高小肠绒毛高度, 降低隐窝深度; 与正、负对照组相比, M1 组、M2 组可显著提高盲肠乳酸杆菌数量, 降低大肠杆菌数量。由此得出, 枯草芽胞杆菌可显著提高断奶仔猪的生长性能, 改善仔猪肠道环境及健康状况。

关键词 断奶仔猪; 断奶应激; 枯草芽胞杆菌; 生产性能; 肠道屏障

中图分类号 S 828.91 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2018)03-0075-07

早期断奶在提高母猪繁殖效率的同时, 也造成了仔猪断奶应激, 使仔猪生产性能下降, 腹泻率、死亡率增加。抗生素在解决这一问题上做出了卓越贡献, 但是抗生素仅适用于由细菌引起的疾病, 而对病毒性疾病是无效的, 且易使细菌产生耐药性; 抗生素通过抑制免疫反应提高饲料转化率, 这增加了机体感染其他病原菌的危险; 抗生素在杀灭有害菌的同时, 也杀死了有益菌, 使肠道菌群紊乱^[1]。研究表明, 枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)是具有优良饲喂效果的益生菌^[2], 可增强机体的免疫力、促进肠道消化吸收、调节紊乱的肠道菌群, 进而缓解断奶应激^[3]及高温热应激^[4]等对仔猪造成的损伤, 提高动物的生产性能。但是, 实际生产中枯草芽胞杆菌的效果却不稳定, 其对断奶仔猪健康状况的影响程度还与多种因素有关, 如益生菌的种类、剂量、活力; 机体的健康状况、饲养环境、免疫状况等^[5]。理论上, 抗生素和益生菌结合相互矛盾、互相抑制, 进入肠道后抗生素会杀灭益生菌, 影响其作用的发挥。但是,

在实际生产应用中, 进入肠道的预防剂量或者促生长剂量的抗生素或许不会杀死饲料中的益生菌, 换句话说, 益生菌不会对饲料中添加的抗生素(特别是窄谱抗生素)太过敏感, 而且, 枯草芽胞杆菌的抗逆性较强, 具有耐酸、耐碱、耐胆盐的优良特性, 在经过胃肠道后能保持较高活性^[6]。再者, 抗生素本身即是细菌的代谢产物, 目前, 中国规模化养殖场所使用的教槽料、保育料、育肥料, 在生产过程中已经添加了一定量的抗生素用于防病促生长^[7-8]。因此, 本试验以枯草芽胞杆菌 TL 为研究对象, 研究其对断奶仔猪生长性能的影响, 并在此基础上, 进一步分析其对断奶仔猪血清生化指标、猪瘟抗体水平、抗氧化性能、小肠绒毛结构、盲肠肠道大肠杆菌和乳酸杆菌含量等的影响, 旨在为枯草芽胞杆菌 TL 在生产实践中应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

枯草芽胞杆菌 TL(有效活菌数 200 亿 cfu/g),

收稿日期: 2017-05-15

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0501000); 湖北省科技支撑计划项目(2015BBA175); 湖北省重大科技创新计划项目(2015ABA041)

刘志昌, 硕士研究生. 研究方向: 微生态制剂. E-mail: FridayEX@163.com

通信作者: 王喜亮, 副教授. 研究方向: 微生物与免疫. E-mail: wxl070@mail.hzau.edu.cn

由湖北华大瑞尔科技有限公司馈赠。杜×长×白三元杂交断奶仔猪 120 头, 体质量(7.8±0.7) kg, 公母各半, 由湖北宜合众畜牧有限公司提供。试验所用饲料由湖北加益加生物科技有限公司提供。猪瘟抗体检测试剂盒购自武汉科前生物股份有限公司。谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶、丙二醛检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 动物试验分组及饲养管理

试验选用杜×长×白三元杂交断奶仔猪 120 头, 设 4 个处理: M1 组(金霉素 75 g/t + 恩拉霉素 15 g/t + 噻乙醇 100 g/t + 枯草芽胞杆菌 TL 150 g/t), M2 组(金霉素 75 g/t + 恩拉霉素 15 g/t + 噻乙醇 100 g/t + 枯草芽胞杆菌 TL 300 g/t), 正对照组(金霉素 75 g/t + 恩拉霉素 15 g/t + 噻乙醇 100 g/t), 负对照组(基础日粮)。每个处理设 3 个重复, 每个重复 10 头断奶仔猪。试验分 2 个阶段, I 阶段, 断奶后 1~10 日龄, 饲喂教槽料; II 阶段, 断奶后 10~30 日龄, 饲喂保育料。教槽料和保育料配方均按照 NRC 1998 标准设计。抗生素添加量按有效成分计算。试验过程中按照“少量多次”的原则, 每日饲喂仔猪 4 次(07:30, 11:30, 15:30, 17:30), 并不定时补饲, 保证饲料良好的适口性。每天 07:30、11:30、15:30、17:30, 按评分制方法记录仔猪腹泻状况^[3]。每天 17:30 定时统计仔猪日采食量。

1.3 生产性能测定

平均日增重=(总末质量-总初质量)/(试验天数×仔猪头数); 平均日采食量=总耗料量/(试验天数×仔猪头数); 料肉比=平均日采食量/平均日增重; 腹泻率(%)=试验期内某组腹泻总次数/(试验天数×仔猪头数)。腹泻的评分标准: ①干燥、成形、粘稠度正常记 0 分; 白色、浆糊状记 1 分; 流体状记 2 分; 水样记 3 分, 每天对粪便结果进行汇总, 每头猪每天排泄粪便得分总和≥2, 定义为腹泻, 1 头猪腹泻 1 d 记 1 次腹泻。

1.4 血液指标测定

试验结束后, 每组 3 个重复中各选 2 头(每组共 6 头)断奶仔猪, 从前腔静脉采取血液 10 mL, 37 °C 1 h, 4 °C 放置 2 h, 3 500 r/min, 5 min, 取血清。按相应的试剂盒说明书检测血清中猪瘟抗体水平、抗氧化水平(GSH-Px 活性、SOD 活性、MDA 含量)。

1.5 肠道屏障测定

每组 3 个重复各选 1 头(每组共 3 头)断奶仔猪

宰杀, 沿胸骨到耻骨切线迅速打开腹腔, 立即用细绳双端结扎幽门瓣、直肠, 在不破坏胃肠道的情况下, 分离整个肠道。用标尺量取并采集 2~3 cm 的十二指肠(距离幽门瓣 5 cm)、空肠(距离十二指肠末端 15 cm)、回肠(距离盲肠 15 cm)样品贴纸片上, 置于配置好的、浸有 10% 的中性福尔马林溶液的小瓶中, 用于肠道形态学观察。从盲肠中取出一定量的食糜放于已灭菌好的 EP 管中, 放在冰盒中迅速带回实验室-80 °C 冰箱中储存, 用于肠道大肠杆菌和乳酸杆菌的检测。从采集切片断端处, 采集 2 份相应的肠道样品, 用 4 °C 去离子水冲洗后, 1 份放入装有 RNA 酶抑制剂的 1.5 mL EP 管中, 用于肠道相关基因表达的研究, 1 份放入无菌 EP 管中, 用于后续试验。

1) 肠道绒毛形态检测。取出 10% 中性福尔马林溶液中的肠段, 常规石蜡包埋、切片, 苏木素-伊红(HE)染色后, 使用日本 Nikon 80i 生物光学显微镜并结合 NIS-Elements 高清晰度彩色图文分析系统进行测量和采图。每张切片随机选择 4 个典型视野, 测定 10 根完整的小肠绒毛高度(villus height, VH)和隐窝深度(crypt depth, CD), 记录并计算绒毛高度与隐窝深度的比值(VH/CD)。

2) 盲肠大肠杆菌和乳酸杆菌检测。提取大肠杆菌 K88 和乳酸杆菌 ATCCC 标准菌株的 DNA, 参照表 1 中引物序列进行 PCR 反应, PCR 扩增反应体系为: 模板 1 μL, 2×PCR Mix 12.5 μL, 上下游引物(10 mmol/L)各 0.5 μL, 加入超纯水补足至 25 μL。大肠杆菌扩增反应条件为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 59 °C 退火 30 s(而乳酸杆菌退火温度为 56 °C), 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。

回收目的片段连接至 pMD18-T 载体后, 转化到 DH5α 感受态细胞中。从含 Amp 的琼脂平皿上筛选出白色菌落于含有 50 mg/mL Amp 的 LB 液体培养基中, 37 °C 恒温摇床培养 3 h, 取 2 μL 菌液为模板进行 PCR 鉴定。对于菌液 PCR 鉴定阳性的重组菌 1:100 转接到含有 50 mg/mL Amp 的 LB 液体培养基中, 37 °C 振荡培养过夜。参照质粒小量抽提试剂盒(OMEGA)说明书提取质粒用于荧光定量标准曲线的构建。参照 OMEGA 粪便 DNA 提取试剂盒提取相应的 DNA, 参照表 1 中引物进行 RT-PCR 反应, 反应体系为按照 SYBR 说明书添加。反

应条件为:95℃预变性 30 s,接着 40 个循环,95℃变 72℃延伸 30 s。每次 qRT-PCR 扩增反应结束后用溶解性 5 s,59℃退火 20 s(而乳酸杆菌退火温度为 56℃),解曲线(65~95℃)来检测扩增产物的专一性。

表 1 引物序列和产物大小

Table 1 Primers and product size

名称 Name	引物序列(5'-3') Primer sequences	片段大小/bp Product size
大肠杆菌 <i>E.coli</i>	F:CCTACGGGAGGCAGCAGT R:CGTTTACGGCGTGGACTAC	458
乳酸杆菌 <i>Lactobacillus</i>	F:GCAGCAGTAGGGAATCTTCCA R:GCATTYCACCGCTACACATG	328
紧密连接蛋白 Occludin	F:ATGCCTCCATCGTCTACATC R:GCTGCACATGGCCAACAAG	99
上皮生长因子 EGF	F:ATCTCAGGAATGGGAGTCAACC R:TCACTGGAGGATGGAATACAGC	165
内参基因 β -action	F:GGACCTGACCGACTACCTCAT R:GGGCAGCTCGTAGCTCTTCT	181

3)Occludin 及 EGF 基因检测。将试验采集的浸有 RNA 酶抑制剂的肠组织经液氮充分研磨后,用 Trizol 法裂解组织提取 RNA,采用 Nano-Drop2000 仪器测定 RNA 浓度和纯度,条件满足后,按照 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 说明书相关步骤将 RNA 反转录成 cDNA,参照表 1 中引物序列,以 β -action 为内参,进行荧光定量 PCR,反应体系为 SYBR Green Master 10 μ L、上游引物 0.5 μ L、下游引物 0.5 μ L、模板(cDNA)2.0 μ L、H₂O 7.0 μ L 总共 20.0 μ L。反应条件为:95℃预变性 30 s,95℃变性 20 s,60℃20 s,72℃10 s,40 个循环,熔解曲线均从 65℃逐步升到 95℃。所得试验数据均按 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,利用 ANOVA、LSD 进行差异显著性检验和多重比较,大写字母不同表示差异极显著,小写字母不同表示差异显著。试验结果以平均值±标准差(Mean±SD)形式表示。

2 结果与分析

2.1 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪生长性能的影响

通过对饲养过程中仔猪腹泻、体质量、采食量的观察,得出以下结果,如表 2 所示:

1)体质量。I 阶段结束时(断奶后 0~10 d),M1 组和 M2 组体质量分别比负对照组提高了 5.7% ($P<0.05$)和 5.3% ($P<0.05$),两组和正对照组间无显著性差异 ($P>0.05$)。II 阶段结束时(断奶后 10~30 d),M1 组和 M2 组体质量分别比负对照组

提高了 19.2% ($P<0.01$)和 13.4% ($P<0.01$),M1 组比正对照组提高 7.8% ($P<0.05$),M2 组和正对照组间无显著性差异。

2)平均日增重。I 阶段结束时(断奶后 0~10 d),M1 组和 M2 组平均日采食量与正、负对照组相比差异极显著 ($P<0.01$)。II 阶段结束时(断奶后 10~30 d),M1 组平均日采食量比正、负对照组分别提高了 15.8% ($P<0.01$)和 42.2% ($P<0.01$)。M2 组和正对照组无显著性差异。

3)平均日采食量。I 阶段结束时(断奶后 0~10 d),M1 组、M2 组、负对照组、正对照组平均日采食量之间无显著性差异。II 阶段结束时(断奶后 10~30 d),M1 组和 M2 组与正、负对照组相比均有极显著差异 ($P<0.01$),较正对照组分别提高了 34.3% ($P<0.01$)、17.2% ($P<0.01$),较负对照组分别提高 36.9% ($P<0.01$)、17.1% ($P<0.01$)。但整个饲养周期中,M1 组和 M2 组之间差异不显著。

4)料肉比。料肉比方面,正、负对照组料肉比低于 M1 组和 M2 组,差异显著 ($P<0.05$)。

5)腹泻率。与正、负对照组相比,M1 组和 M2 组腹泻率分别降低 89.0% ($P<0.01$)和 74.2% ($P<0.01$)。

以上试验结果表明,添加枯草芽胞杆菌 TL 的 M1 组和 M2 组的促生长效果显著优于正对照组效果,可显著提高断奶仔猪的阶段体质量、平均日增重、平均日采食量,降低断奶仔猪的腹泻率。而且,低剂量的 M1 组(150 g/t 枯草芽胞杆菌 TL)效果显著优于高剂量的 M2 组(300 g/t 枯草芽胞杆菌 TL)。

表 2 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪生长性能的影响

Table 2 Effects of *Bacillus subtilis* TL on growth performance of weaned piglets

项目 Item	日龄/d Days	负对照组 Negative control group	正对照组 Positive control group	M1 组 M1 group	M2 组 M2 group
体质量/kg Body weight	0	7.80±0.36a	7.84±0.43a	7.72±0.41a	7.76±0.43a
	10	9.25±0.88b	9.55±0.89ab	9.78±1.05a	9.74±0.97a
	30	14.69±1.76Bc	16.25±2.74ABb	17.52±2.68Aa	16.66±2.33Aab
平均日增重/(g/d) Average daily gain(ADG)	0~10	145±53Bb	171±50Bb	211±63Aa	208±60Aa
	10~30	272±45Cc	334±94Bb	387±82Aa	340±85ABb
	0~30	229±47C	280±77Bb	328±75Aa	300±66ABa
平均日采食量/(g/d) Average daily feed intake(ADFI)	0~10	238±77a	257±84a	333±128b	318±117a
	10~30	463±146Bb	541±144Bb	727±209Aa	634±162Aa
	0~30	389±165Bc	447±185Bbc	595±263Aa	529±211Aa
料肉比 F : G	0~10	1.65	1.50	1.53	1.57
	10~30	1.70	1.62	1.86	1.88
	0~30	1.69	1.59	1.76	1.81
腹泻率/% Diarhea	0~30	16.4A	7.0B	1.8C	1.8C

注 Note: 1) 以上时间起点从 25 日龄断奶后开始计算。The starting time of the above is calculated from the age of weaning; 2) 同行标小写字母相同或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$), 小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$), 大写字母完全不同表示差异极显著 ($P < 0.01$)。下表同。In the same row, the values with different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$) while the big letters indicate remarkable significant difference. The same as below.

2.2 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪猪瘟抗体水平影响

通过阻断 ELISA 方法检测猪瘟免疫后的抗体水平, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, M1 组和 M2 组与负对照组相比分别提高 65.9% ($P < 0.01$)、28.0% ($P < 0.01$), 与正对照组相比分别提高 46.0% ($P < 0.05$)、28% ($P > 0.05$)。由此得出, 枯草芽胞杆菌 TL 能够显著提高断奶仔猪猪瘟抗体水平, 增强机体免疫力。

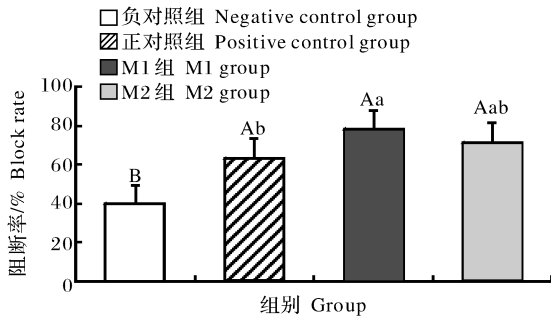


图 1 断奶仔猪猪瘟抗体水平

Fig.1 The HC antibody levels of weaned piglets

2.3 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪抗氧化能力的影响

通过血清抗氧化试剂盒检测血清抗氧化水平, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, M1 组和 M2 组 GSH-Px 活性与正对照组相比分别提高了 9.0%

($P < 0.05$) 和 9.0% ($P < 0.05$); M1 组和 M2 组 SOD 活性与正对照组相比分别提高 32.78% ($P < 0.01$) 和 31.24% ($P < 0.01$); M1 组和 M2 组 MDA 含量比正对照组降低 43.71% ($P < 0.05$) 和 35.45% ($P < 0.05$)。M1 组和 M2 组在抗氧化性能方面无显著性差异。由此得出, 枯草芽胞杆菌 TL 可以有效缓解断奶应激对仔猪造成的氧化损伤。

2.4 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪肠道形态的影响

通过组织切片技术测得绒毛高度 (VH) 和隐窝深度 (CD) 结果 (表 3)。由表 3 可知, M1 组和 M2 组与正对照组相比可以显著增加十二指肠、空肠、回肠绒毛高度, 且 M1 组 > M2 组 > 正对照组 > 负对照组。M1 组在十二指肠、空肠、回肠中 VH/CD 与正对照相比分别提高 17.0% ($P < 0.05$)、10.1% ($P < 0.01$)、11.7% ($P < 0.01$)。M2 组与正对照组相比分别提高 7.8% ($P < 0.05$)、11.2% ($P < 0.01$)、20.3% ($P < 0.01$)。说明枯草芽胞杆菌 TL 能够有效改善小肠结构, 提高肠道消化吸收能力。断奶仔猪肠道形态如图 3 所示。

2.5 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪肠道屏障的影响

通过 q-PCR 方法检测盲肠肠道菌群的变化, 结果如图 4 所示。由图 4 可知, 与正对照组相比, M1 组和 M2 组可以显著提高盲肠乳酸杆菌的数量。与

负对照组相比, M1 组和 M2 组可以显著降低盲肠 差异。由此可见, 枯草芽胞杆菌 TL 可改善失调的
大肠杆菌的数量。M1 组与正对照组相比无显著性 盲肠肠道菌群。

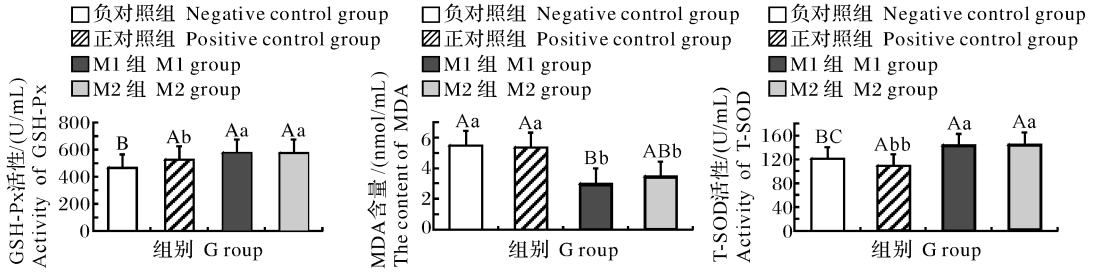


图 2 断奶仔猪抗氧化指标

Fig.2 The antioxidant indices of weaned piglets

表 3 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪小肠绒毛形态的影响

Table 3 Effects of *Bacillus subtilis* TL on small intestine villi morphology

小肠部位 Small intestine		负对照组 Negative control group	正对照组 Positive control group	M1 组 M1 group	M2 组 M2 group
十二指肠 Duodenum	绒毛高度/nm VH	290.78 ± 37.49C	334.92 ± 31.52Bb	336.42 ± 35.59Aa	361.39 ± 40.24ABb
	隐窝深度/nm CD	256.36 ± 21.40A	237.41 ± 18.78B	219.52 ± 19.43C	220.12 ± 17.20C
	绒毛高度/隐窝深度 VH/CD	1.13 ± 0.23C	1.41 ± 0.15B	1.65 ± 0.19Aa	1.52 ± 0.17Ab
空肠 Jejunum	绒毛高度/nm VH	303.34 ± 27.13C	374.59 ± 33.78B	406.42 ± 49.40B	380.20 ± 46.39A
	隐窝深度/nm CD	239.89 ± 18.29A	209.71 ± 19.82Ba	193.19 ± 20.32C	205.02 ± 20.32Ba
	绒毛高度/隐窝深度 VH/CD	1.30 ± 0.22C	1.78 ± 0.14B	1.96 ± 0.26Aa	1.98 ± 0.10Aa
回肠 Ileum	绒毛高度/nm VH	269.16 ± 38.97B	262.70 ± 46.76B	282.79 ± 35.18Ab	297.65 ± 28.00Ab
	隐窝深度/nm CD	218.27 ± 30.44Aa	204.31 ± 18.23Ab	206.88 ± 19.24Aab	181.68 ± 16.55B
	绒毛高度/隐窝深度 VH/CD	1.23 ± 0.10Cc	1.28 ± 0.14 Cc	1.43 ± 0.13Ab	1.54 ± 0.09 Aa

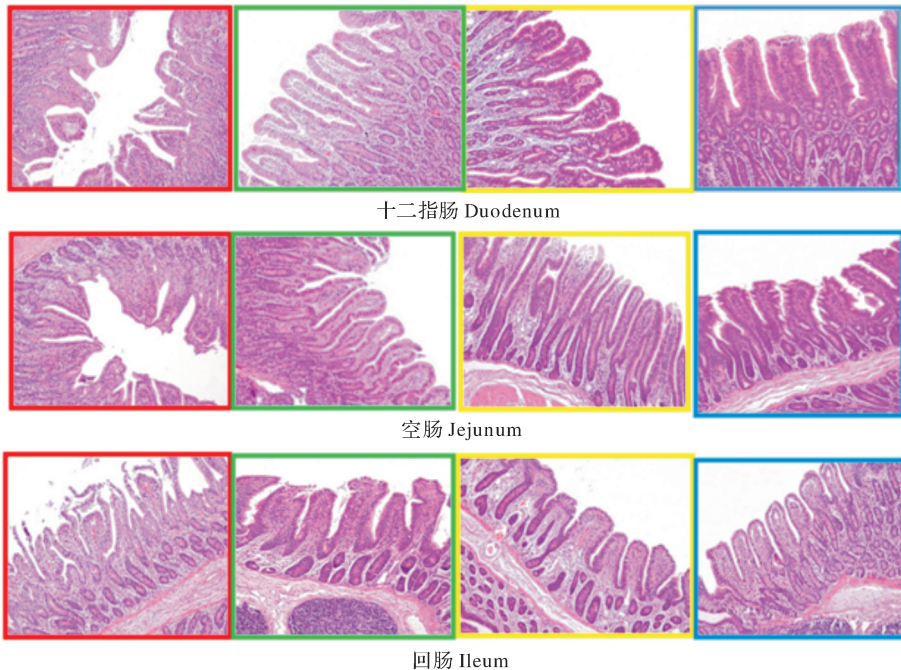


图 3 枯草芽胞杆菌 TL 对断奶仔猪肠形态的影响

Fig.3 Effects of *Bacillus subtilis* TL on intestinal morphology of weaned piglets

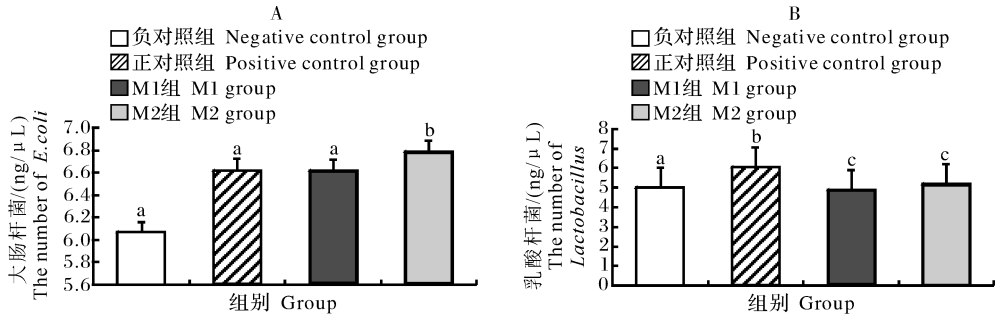


图 4 盲肠大肠杆菌(A)、乳酸杆菌(B)数量的检测

Fig.4 Detection of total *E. coli* populations (A) and lactobacilli populations (B)

3 讨论

本试验以枯草芽胞杆菌 TL 为研究对象,探究其对断奶仔猪生长性能的影响,并在此基础上,进一步分析枯草芽胞杆菌 TL 对仔猪血清生化指标、猪瘟抗体水平、抗氧化性能、肠道形态结构、盲肠大肠杆菌和乳酸杆菌的影响,为该益生菌在规模化养殖场的使用提供依据,具有重要的实践意义。本试验在参考大量国内外文献及之前已做过的动物试验的基础上选取了剂量为 150 g/t 和 300 g/t 的枯草芽胞杆菌 TL 作为研究对象,取得了不同的促生长效果。低剂量效果优于高剂量效果,其原因可能是高剂量 300 g/t 的枯草芽胞杆菌在体内发挥作用的同时,由于自身的生长、代谢等消耗了肠道内的一部分营养物质,使由肠道进入断奶仔猪体内的能量降低。最终能导致生产性能及一系列微观指标略低于低剂量 150 g/t 草芽胞杆菌组。

研究表明,早期断奶应激综合征使动物生产性能下降,腹泻率增加^[9]。本试验中添加枯草芽胞杆菌 TL 的 M1 组和 M2 组显著提高了断奶仔猪的 ADG、ADFI,使断奶仔猪的腹泻率显著降低,且 M1 组效果优于 M2 组、M2 组优于正对照组。虽然在料肉比方面,M1 组和 M2 组的料肉比高于正、负对照组,但从侧面反映出枯草芽胞杆菌 TL 的促生长作用。因为在猪生长发育过程中,猪的料肉比是逐渐增加的。由此可见,枯草芽胞杆菌 TL 可产生良好益生效果,这与前人的研究结果一致^[7]。

断奶后,由于环境温度、湿度的变化,饲料成分的改变,使仔猪肠道产生炎症反应并激活机体的免疫系统。但是,此时来源于母乳的被动免疫(IgA、IgE、IgG 等)不足,仔猪自身的主动免疫尚未发育完善,机体综合免疫力不足,易造成肠道结构受损、肠道屏障破坏、肠道菌群紊乱。本试验中,M1 组和

M2 组显著提高了肠道的绒毛高度、降低了隐窝深度,并增加 VH/CD 的比值,有效地缓解了因断奶应激对仔猪肠道粘膜造成的损伤。谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)是机体内重要的抗氧化酶,可与机体内的自由基结合,减少氧化自由基对细胞的破坏。丙二醛(MDA)是脂质过氧化反应后的产物,间接反映了动物体氧化损伤的程度。本试验中,M1 组和 M2 组显著提高了血液中 SOD、GSH-Px 的含量,降低了 MDA 的含量,减少了抗氧化损伤。Occludin 是细胞和细胞间一种重要的紧密连接蛋白,是构成肠道机械屏障的基础,在阻止病原体入侵、维持细胞选择透过性方面发挥重要作用。上皮生长因子(EGF)是由十二指肠腺、肾上腺合成和分泌,可促进胃肠道上皮细胞和表皮细胞的增殖分化,维持消化道的完整性,特别是在胃肠道受损时,可对损伤局部发挥重要的修复作用^[8]。乳酸杆菌是动物机体内的原籍菌落,通过自身的新陈代谢及与肠道菌群的相互交流,维持动物的生长发育、消化吸收、免疫反应。致病性大肠杆菌是重要的病原菌,可引起多种动物生产性能下降,甚至死亡。本试验中,M1 组和 M2 组显著提高了盲肠有益菌乳酸杆菌的数量,降低了盲肠有害菌大肠杆菌的数量,改善了紊乱的肠道菌群。

综上所述,枯草芽胞杆菌 TL 可显著提高猪瘟抗体水平、血清抗氧化水平;促进小肠绒毛发育,改善紊乱的肠道菌群,多方面增强肠道屏障功能。从而达到提高动物生长性能、降低腹泻率,改善动物健康状况的目的。且低剂量 M1 组(150 g/t 枯草芽胞杆菌 TL)效果优于高剂量 M2 组(300 g/t 枯草芽胞杆菌 TL),高剂量 M2 组优于单独饲喂抗生素组。

参 考 文 献

[1] 孙阳. 抗生素的原理和规范使用[J]. 生物技术世界,2016(2):

- 303-304.
- [2] GIANG H H, VIET T Q, OGLE B, et al. Growth performance, digestibility, gut environment and health status in weaned piglets fed a diet supplemented with a complex of lactic acid bacteria alone or in combination with *Bacillus subtilis*, and *Saccharomyces boulardii* [J]. *Livestock science*, 2012, 143 (2/3): 132-141.
- [3] LI Y, ZHANG W, HAN Y. Vitamin C alleviates aging defects in a stem cell model for Werner syndrome [J]. *Protein & cell*, 2016, 7(7): 478-488.
- [4] 张盼望, 晏涛, 王喜亮, 等. 益生枯草芽胞杆菌 HDRaBS1 缓解蛋鸡热应激效果 [J]. *华中农业大学学报*, 2016, 35(2): 77-82.
- [5] JOSHI S, SEDIVY V, HODYC D, et al. KCNQ modulators reveal a key role for KCNQ potassium channels in regulating the tone of rat pulmonary artery smooth muscle [J]. *Journal of pharmacology & experimental therapeutics*, 2009, 329(1): 368-376.
- [6] 齐博, 武书庚, 王晶, 等. 枯草芽胞杆菌对肉仔鸡生长性能、肠道形态和菌群数量的影响 [J]. *动物营养学报*, 2016, 28(6): 1748-1756.
- [7] CASTILLO M, MARTÍN-ORÚE S M, NOFRARÍAS M, et al. Changes in caecal microbiota and mucosal morphology of weaned pigs [J]. *Veterinary microbiology*, 2007, 124: 239-247.
- [8] 刘大勇. 仔猪早期断奶综合征的发生原因与防治措施 [J]. *黑龙江动物繁殖*, 2013, 21(5): 47-48.
- [9] HARRIS R C, CHUNG E, COFFEY R J. EGF receptor ligands [J]. *EGF receptor family*, 2003, 284(1): 3-14.

Effects of *Bacillus subtilis* TL strain on growth development, intestinal environment and health status of weaned piglets

LIU Zhichang¹ WANG Xiliang¹ BI Dingren¹ XIAO Yuncai¹ ZHOU Zutao¹ LI Xiaowen²

1. State Key Laboratory of Agricultural Microbiology/College of Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University/Key Laboratory of Preventive Veterinary Medicine in Hubei Province, Wuhan 430070, China;

2. Hubei Huada Ruier Technology Co., Ltd., Jingzhou 434000, China

Abstract An experiment was conducted for 30 d to investigate the effect of *Bacillus subtilis* TL on the growth development, intestinal environment and health status of weaned piglets. A total of 120 Duroc×Landrace×Yorkshire pigs were randomly divided into 4 groups, the negative control group (basal diet), positive control group (basal diet + 2.5 g/kg antibiotic), M1 group (positive control group + 150 g/t antibiotics) and M2 group (positive control group + 300 g/t antibiotics). The results showed that the weight, average daily gain and the average daily feed intake in the M1 group increased by 7.81% ($P < 0.05$), 17.14% ($P < 0.01$), and 33.10% ($P < 0.01$), respectively, compared with the positive control in terms of growth performance. In addition, the diarrhea rate of weaned piglets in the M1 and M2 groups were significantly reduced. The serum GSH-Px, T-SOD and the swine fever antibody were increased by 9.0% ($P < 0.05$), 32.78% ($P < 0.05$) and 14.06% ($P < 0.01$), respectively, while the MDA was decreased by 43.71% ($P < 0.05$), compared with the positive control in terms of blood index. Moreover, the small intestinal villus was significantly increased and the depth of crypt was significantly decreased compared with the positive control in terms of intestinal barrier. At the same time, the number of cecum *Lactobacillus* in the M1 group was significantly increased and the number of cecum *E. coli* were significantly reduced, compared with the positive and negative control. It was concluded that *B. subtilis* TL could significantly improve the growth performance, the intestinal environment and health status of weaned piglets.

Keywords weaned piglets; weaned stress; *Bacillus subtilis*; production performance; intestinal barrier function