

# 枯草芽孢杆菌对肉鸡生长性能及其抗氧化和免疫功能的影响

余东游,毛翔飞,秦 艳,李卫芬\*

(浙江大学动物科学学院,农业部重点开放实验室,浙江杭州 310029)

**摘 要:** 本试验旨在研究枯草芽孢杆菌(*B.subtilis*)对罗斯 308 肉鸡抗氧化能力和免疫功能的影响。试验选用 1 日龄罗斯 308 肉鸡 216 羽,随机分为 2 组,每组设 3 个重复。对照组饲喂基础日粮,处理组在基础日粮中添加 *B.subtilis*  $10^5$  CFU/g。饲养试验期为 42 d。结果表明:与对照组相比,处理组肉鸡日增重提高了 12.20% ( $P < 0.05$ ),血清与肝脏的总抗氧化能力 ( $P < 0.05$ ) 以及谷胱甘肽过氧化物酶活性 ( $P < 0.01$ ) 显著增加;血清中丙二醛(MDA)、NO 及肝脏中 MDA 水平 ( $P < 0.05$ ) 显著降低。此外,日粮中添加 *B.subtilis* 显著提高了肉鸡胸腺指数、法氏囊指数和血清中 IgG 水平 ( $P < 0.05$ ),而对脾脏指数及血清中溶菌酶、白介素-2、肿瘤坏死因子- $\alpha$  等指标无显著影响 ( $P > 0.05$ )。结果提示,日粮中添加适量 *B.subtilis* 可通过提高肉鸡的抗氧化与免疫功能而改善其生长性能。

**关键词:** 枯草芽孢杆菌;抗氧化力;免疫功能;肉鸡

**中图分类号:** S831.5

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0258-7033(2010)03-0022-04

益生菌如芽孢杆菌、乳酸菌等以其独特的作用方式和生态效应,已被广泛应用于食品、医疗、畜禽和水产养殖等领域。枯草芽孢杆菌(*B.subtilis*)可产生 70 多种抗菌素及多种酶类,是目前应用较广泛的芽孢杆菌。已有研究表明,芽孢杆菌在不利环境条件下能够以孢子形式存在,在饲料制粒、贮存及胃酸环境中仍能保持较高的活性,在改善畜禽生产性能、维持肠道菌群平衡、提高消化率等方面均有较好的效果,目前的研究也主要集中在这几方面<sup>[1,2]</sup>。但有关芽孢杆菌对动物抗氧化和免疫功能影响的报道较少。为此,本试验以罗斯 308 肉鸡为试验对象,研究 *B.subtilis* 对肉鸡抗氧化能力和免疫功能的影响,旨在为其进一步应用于畜禽养殖提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试验材料** *B.subtilis* 粉剂,活菌数为  $10^8$  CFU/g,由浙江大学饲料研究所微生物与基因工程实验室制备。

**1.2 试验设计与日粮** 选用 1 日龄的罗斯 308 肉鸡 216 羽,平均体重为  $(42.92 \pm 2.35)$  g,随机分为对

照组和 2 个组处理组,每组 3 个重复,每个重复 36 羽(公、母各半),对照组饲喂基础日粮,处理组在基础日粮的基础上添加 *B.subtilis*  $10^5$  CFU/g 饲料(经本实验室预处理研究确定的适宜添加量,预处理为每克肉鸡饲料中分别添加芽孢杆菌  $0$ 、 $5 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 、 $5 \times 10^5$  CFU,其中  $1 \times 10^5$  CFU/g 处理组肉鸡生长最好)。基础日粮(表 1)参照美国 NRC(1994)肉鸡营养需要配合成粉状全价料,未添加任何抗生素。

**1.3 饲养管理** 试验期 42 d,采用地面平养,自由饮水和采食;24 h 光照;肉鸡舍第 1 周温度保持在  $33^\circ\text{C}$ ,以后每周平均降低  $2^\circ\text{C}$ ;按常规免疫程序对试验鸡进行免疫接种。

**1.4 样品采集** 42 日龄饲养试验结束、禁食(不禁水)12 h,每重复随机取 3 只体重相近的试验鸡(母)称重,颈静脉放血屠宰。用试管盛取屠宰后血液,于  $37^\circ\text{C}$  水浴中静置,待析出血清后,于  $4^\circ\text{C}$  下  $3\,000\text{ r/min}$  离心 15 min,取上清液分装于 1.5 mL eppendorf 管中,置  $-20^\circ\text{C}$  低温冰箱中保存,以备血液生化指标分析检测用。解剖并分离试验鸡肝脏,用滤纸吸去表面水分后置  $-20^\circ\text{C}$  低温冰箱中保存,以备肝脏生化指标分析检测用。分离试验鸡脾脏、法氏囊和胸腺,用滤纸吸去表面水分后,电子天平称重。

**1.5 测定指标与方法**

**1.5.1 生产性能** 记录试验鸡初始体重(IW),计

收稿日期:2009-01-16;修回日期:2009-09-25

基金项目:浙江省重大科技专项(2006C12086)

作者简介:余东游(1967-),男,浙江淳安人,博士

\* 通讯作者

表 1 基础日粮组成和营养成分(风干基础)

项目	1~21 日龄	22~42 日龄
组成/%		
玉米	58.00	62.00
豆粕	36.00	31.00
豆油	2.00	3.00
磷酸氢钙	1.40	1.20
石粉	1.30	1.30
食盐	0.30	0.30
维生素和矿物质添加剂	1.00	1.00
合计	100.00	100.00
营养成分		
代谢能/(MJ·kg <sup>-1</sup> )	12.30	12.55
粗蛋白质/%	21.02	19.22
总磷/%	0.70	0.65
钙/%	0.97	0.86
赖氨酸/%	1.17	1.06
蛋氨酸+胱氨酸/%	0.88	0.77
蛋氨酸/%	0.50	0.42

注:预混料可为每千克全价料提供:维生素 A 12 500 IU,维生素 D<sub>3</sub> 2 500 IU,维生素 E 18.75 IU,维生素 K 32.65 mg,维生素 B<sub>2</sub>(核黄素) 6 mg,维生素 B<sub>12</sub> 0.025 mg,生物素 0.0325 mg,叶酸 1.25 mg,烟酸(尼克酸) 50 mg,泛酸 12 mg;铜 8 mg,铁 80 mg,锌 75 mg,锰 100 mg,硒 0.15 mg,碘 10.35 mg

算 1~21、22~42 日龄和 1~42 日龄期间的平均日增重(ADG)、平均日采食量(ADFI)和饲料增重比(F/G)。

1.5.2 血清和肝脏抗氧化指标的测定 血清和肝脏总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、抗超氧阴离子自由基或产生超氧阴离子自由基活力单位(对照管吸光度-测定管吸光度为正值则为抗超氧阴离子活力单位,负值则为产生超氧阴离子活力单位)、丙二醛(MDA)和过氧化氢酶(CAT)的测定均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒。

1.5.3 免疫器官指数的测定 为检测免疫器官的生长发育,于 42 日龄每组取 9 只鸡屠宰后,摘取脾脏、法氏囊以及胸腺,剔除脂肪后称鲜重,计算胸腺指数、脾脏指数和法氏囊指数。免疫器官指数=免疫器官重(g)/体重(kg)。

1.5.4 血清免疫指标的测定 血清中免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)和溶菌酶(LE)的测定采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒。白介素(IL-2、IL-6、IL-10)、分泌型 IgA(sIgA)和肿瘤坏死因子(TNF-α)的测定利用酶联免疫吸附方法,采用上海拜力生物制品有限公司提供的试剂盒。

1.6 统计分析 数据采用 SPSS15.0 统计软件处理,并采用 *t* 检验进行显著性分析,结果以平均值±标准误差表示,以  $P < 0.05$  作为差异显著性判断标准。

## 2 结果与分析

2.1 枯草芽孢杆菌对肉鸡生产性能的影响 由表 2 可见,日粮中添加枯草芽孢杆菌对肉鸡前期(1~22 日龄)的生产性能无显著影响,而肉鸡后期(22~42 日龄)的日增重和日采食量分别比对照组提高了 15.88% 和 13.27% ( $P < 0.05$ ),全期分别提高了 12.20% ( $P < 0.05$ ) 和 6.81% ( $P > 0.05$ )。此外,各阶段的饲料增重比也无显著差异。上述结果表明,*B. subtilis* 能显著促进肉鸡后期的采食及生长,从而改善肉鸡全期生长性能。

表 2 枯草芽孢杆菌对肉鸡各阶段生长性能的影响

项目	对照组	处理组
IW/g	42.92±2.35	42.92±2.35
1~21 日龄		
ADG/g	30.03±2.09	31.34±1.21
ADF/g	50.98±5.22	54.98±3.65
F/G	1.70±0.07	1.75±0.08
22~42 日龄		
ADG/g	70.72±1.24 <sup>b</sup>	81.95±1.43 <sup>a</sup>
ADF/g	164.56±2.58 <sup>b</sup>	186.40±3.15 <sup>a</sup>
F/G	2.33±0.04	2.27±0.07
1~42 日龄		
ADG/g	49.41±1.83 <sup>b</sup>	55.44±2.12 <sup>a</sup>
ADF/g	105.07±3.66	112.23±3.57
F/G	2.13±0.04	2.02±0.07

注:同行数据肩标不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ ),不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下表同

2.2 枯草芽孢杆菌对肉鸡抗氧化能力的影响 由表 3 可见,与对照组相比,添加枯草芽孢杆菌处理组血清中 T-AOC、GSH-Px 活性和抗超氧阴离子自由基活力单位分别提高了 28.83% ( $P < 0.05$ )、54.99% ( $P < 0.01$ ) 和 23.35% ( $P < 0.05$ ),SOD、CAT 活性虽有提高,但差异不显著,MDA 和 NO 水平分别降低了 27.93%、29.70% ( $P < 0.05$ );处理组肝脏 T-AOC、GSH-Px、SOD、CAT 活性和抗超氧阴离子分别提高了 49.13% ( $P < 0.05$ )、67.05% ( $P < 0.01$ )、43.07% ( $P < 0.05$ )、24.74% ( $P < 0.05$ ) 和 24.96% ( $P < 0.05$ ),MDA 水平降低了 35.67% ( $P < 0.05$ )。以上结果表明,日粮中添加 *B. subtilis* 通过提高肉鸡机体内主要抗氧化

表 3 枯草芽孢杆菌对肉鸡血清和肝脏抗氧化性能的影响

项目	血清		肝脏	
	对照组	处理组	对照组	处理组
T-AOC/(U·mL <sup>-1</sup> )	1.63±0.17 <sup>b</sup>	2.10±0.25 <sup>a</sup>	6.92±1.72 <sup>b</sup>	10.32±4.24 <sup>a</sup>
GSH-Px/酶活力单位	368.17±9.69 <sup>B</sup>	570.61±10.99 <sup>A</sup>	160.69±2.02 <sup>B</sup>	268.43±5.99 <sup>A</sup>
SOD/(U·mL <sup>-1</sup> )	185.12±8.51	189.66±2.86	55.54±4.94 <sup>b</sup>	79.46±2.26 <sup>a</sup>
CAT/(U·mL <sup>-1</sup> )	302.62±8.26	328.17±6.69	187.60±5.35 <sup>b</sup>	234.01±4.69 <sup>a</sup>
抗超氧阴离子自由基/(U·L <sup>-1</sup> )	572.32±9.54 <sup>b</sup>	705.95±10.02 <sup>a</sup>	139.04±9.54 <sup>b</sup>	173.75±10.02 <sup>a</sup>
MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> )	10.31±0.66 <sup>a</sup>	7.43±0.27 <sup>b</sup>	7.12±0.19 <sup>a</sup>	4.58±0.24 <sup>b</sup>
NO/(μmol·L <sup>-1</sup> )	24.85±4.90 <sup>a</sup>	17.47±2.67 <sup>b</sup>	-	-

酶活性和消除超氧阴离子能力而提高其总抗氧化功能,从而降低肉鸡的氧化损伤。

2.3 枯草芽孢杆菌对肉鸡免疫功能的影响 由表 4 可见,与对照组相比,处理组肉鸡法氏囊指数和胸腺指数分别提高了 30.61%、49.59% ( $P < 0.05$ ),脾脏指数无显著影响。说明日粮中添加 *B.subtilis* 可促进肉鸡免疫器官发育。

表 4 枯草芽孢杆菌对肉鸡免疫器官指数的影响

项目	对照组	处理组
脾脏指数	1.06±0.044	1.19±0.090
法氏囊指数	0.49±0.033 <sup>b</sup>	0.64±0.077 <sup>a</sup>
胸腺指数	1.21±0.062 <sup>b</sup>	1.81±0.20 <sup>a</sup>

由表 5 可见,与对照组相比,处理组血清中 IgG 提高了 52.17% ( $P < 0.01$ ); 而血清中 IgA、sIgA、IgM 及溶菌酶、IL-2、IL-6、IL-10、TNF-α 含量无显著差异。说明日粮中添加 *B.subtilis* 主要对血清免疫球蛋白 IgG 影响较大,而对其他免疫球蛋白和细胞因子等非特异免疫指标无显著影响。

表 5 枯草芽孢杆菌对肉鸡血清免疫指标的影响

项目	对照组	处理组
IgG/(g·L <sup>-1</sup> )	0.23±0.031 <sup>B</sup>	0.35±0.016 <sup>A</sup>
IgA/(g·L <sup>-1</sup> )	0.77±0.015	0.79±0.020
sIgA/(mg·mL <sup>-1</sup> )	18.50±4.75	21.12±2.16
IgM/(g·L <sup>-1</sup> )	0.11±0.031	0.14±0.027
LE/(mg·mL <sup>-1</sup> )	1.79±0.071	1.15±0.31
IL-2/(μg·mL <sup>-1</sup> )	571.92±27.53	601.66±25.97
IL-10/(pg·mL <sup>-1</sup> )	98.12±13.17	104.14±14.46
IL-6/(pg·mL <sup>-1</sup> )	136.83±8.52	134.87±4.33
TNF-α/(pg·mL <sup>-1</sup> )	35.69±2.36	32.35±2.58

3 讨 论

3.1 枯草芽孢杆菌对肉鸡生长性能的影响 本试验结果表明,日粮中添加枯草芽孢杆菌显著提高了罗斯 308 肉鸡全期(1~42 日龄)平均日增重,且主要通过后期(22~42 日龄)的促生长效果体现出来,这与一些研究的结果相一致。朱金林等<sup>[3]</sup>研究表明,与对照组相比,在饲料中添加枯草芽孢杆菌制剂对

肉鸡前期(0~21 日龄)平均日增重无显著影响,使后期(22~49 日龄)和试验全期(0~49 日龄)分别提高 11.3%和 8.4%。胡长庆等<sup>[4]</sup>研究发现,芽孢杆菌对鸡日增重的影响存在时间上的积累性,而不是速效性。但 Alexopoulos 等<sup>[5]</sup>和潘康成等<sup>[6]</sup>的研究认为,枯草芽孢杆菌对肉鸡的促生长效果前期优于后期,这可能与试验所用的枯草芽孢杆菌菌株、添加量、饲养环境等因素相关<sup>[7]</sup>。

3.2 枯草芽孢杆菌对肉鸡抗氧化功能的影响 机体的抗氧化酶体系(如 SOD、GSH-Px、CAT 等)可在不同水平上清除体内多余的自由基,恢复机体正常的细胞代谢和功能。抗超氧阴离子含量反映消除机体超氧阴离子的能力。本试验结果显示,*B.subtilis* 通过显著增加肉鸡血清及肝脏 GSH-Px、SOD 等抗氧化酶活力和抗超氧阴离子含量而使其总抗氧化力(T-AOC)显著提高,并使脂质过氧化产物 MDA 含量显著降低,从而有效地保护了肉鸡免受氧化应激。血清中 NO 水平显著降低,间接反映出 *B.subtilis* 可降低体内氧自由基的含量。董秀梅等<sup>[8]</sup>研究表明,饮水中添加芽孢杆菌复合微生态制剂可极显著提高血液 SOD 和 GSH-Px 的活性,极显著地降低 MDA 的含量,本研究结果与其相同。

3.3 枯草芽孢杆菌对肉鸡免疫功能的影响 张富等<sup>[9]</sup>报道,芽孢杆菌制剂能够显著提高雏鸡的胸腺指数、脾脏指数和法氏囊指数。张春杨等<sup>[10]</sup>报道,芽孢杆菌能促进肉鸡免疫器官的生长发育。提高免疫器官指数,这与本试验结果相似。分析其主要原因,首先,免疫器官的生长发育和成熟有赖于抗原的刺激。芽孢杆菌的菌体成分如胞壁糖、肽聚糖、多肽和蛋白质等,可以作为抗原刺激肠道或以免疫佐剂的形式作用于动物免疫器官,促进免疫器官的生长发育。其次,芽孢杆菌在消化道内大量繁殖,不断合成多种有益物质,如维生素、氨基酸等,直接促进免疫

器官的生长发育。

本试验结果显示, *B.subtilis* 可极显著提高血清 IgG 含量, 但对其他免疫球蛋白和血清溶菌酶和细胞因子无显著影响。Duc 等<sup>[11]</sup>研究发现小鼠口服 *B.subtilis* 孢子后可提高 IgG 水平, 并能刺激黏膜 sIgA 的分泌。杨玉荣等<sup>[12]</sup>报道, 益生菌能够提高雏鸡呼吸道和消化道局部体液的免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM) 相对含量。Vinderola 等<sup>[13]</sup>报道, 芽孢菌能促进小鼠 B 细胞增殖和 IgA 的分泌, 提高免疫水平。本研究结果表明, *B.subtilis* 能够提高肉鸡特异性免疫水平, 增强肉鸡的抗病力。

#### 4 结 论

在本试验范围内, 日粮中添加 *B.subtilis* 可改善肉鸡日增重; 提高肉鸡血清和肝脏的 T-AOC 和抗氧化酶活力, 降低 MDA 和 NO 水平; 提高肉鸡法氏囊指数、胸腺指数及血清 IgG 水平。结果提示, *B.subtilis* 可提高肉鸡抗氧化和免疫功能。

#### 参考文献:

- [1] Wang Y, Cho J H, Chen Y J, *et al.* The effect of probiotic Bio-Plus 2B<sup>®</sup> on growth performance, dry matter and nitrogen digestibility and slurry noxious gas emission in growing pigs[J]. *Livestock Sci*, 2009, 120 (1-2): 35-42.
- [2] Li K, Zheng T L, Tian Y, *et al.* Beneficial effects of *Bacillus licheniformis* on the intestinal microflora and immunity of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. *Biotechnol Lett*, 2007, 29 (4): 525-530.
- [3] 朱金林, 谭斌, 丁文杰, 等. 枯草芽孢杆菌制剂对艾维因肉鸡生长性能的影响[J]. *饲料与畜牧*, 2008, (4): 58-59.
- [4] 胡长庆, 赵京扬, 杨季芳, 等. 芽孢杆菌对鸡生长性能和盲肠细菌群落的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2008, (10): 33-35.
- [5] Alexopoulos C, Georgoulakis I E, Tzivara A, *et al.* Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2004, 88(11-12): 381-392.
- [6] 潘康成, 王振华, 张钧利, 等. 枯草芽孢杆菌对肉鸡生长性能的影响研究[J]. *饲料广角*, 2004, (21): 35-37.
- [7] 薛冬琳, 殷若新, 庄俊峰. 饲用芽孢杆菌在当前畜牧业中的应用[J]. *山东家禽*, 2004, 12:34-36.
- [8] 董秀梅, 张超范, 魏萍. 复合微生态制剂对肉仔鸡肠道菌群及抗氧化机能的影响[J]. *中国家禽*, 2004, 26(14): 12-13.
- [9] 张富, 潘康成, 卢胜明. 益生芽孢杆菌对雏鸡红细胞免疫及免疫器官的影响[J]. *中国兽医杂志*, 2005, 41 (12): 9-10.
- [10] 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.
- [11] Duc le H, Hong H A, Barbosa T M, *et al.* Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70 (4): 2161-71.
- [12] 杨玉荣, 郑世民, 刘晶, 等. 雏鸡服用益生素后免疫器官指数及局部体液免疫球蛋白相对含量的动态变化[J]. *畜牧兽医学报*, 2005, 36 (4): 352-356.
- [13] Vinderola G, Matar C, Perdigon G. Role of intestinal epithelial cells in immune effects mediated by gram-positive probiotic bacteria: involvement of toll-like receptors[J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2005, 12 (9): 1075-1084.

### Effects of *B.subtilis* on Growth Performance, Antioxidant and Immunity of Broilers

YU Dong-you, MAO Xiang-fei, QIN Yan, LI Wei-fen\*

(Key Laboratory of Ministry of Agriculture, Zhejiang University, Zhejiang Hangzhou 310029, China)

**Abstract:** This study was conducted to examine the effects of *B.subtilis* on growth performance, antioxidant and immunity of broilers. A total of 216 day-old Ross 308 broilers were divided into the control group (basal diet) and the treatment group (basal diet supplemented with  $10^5$  CFU/g *B.subtilis*). Each group had three replicates and each replicate included 36 broilers (half male and half female). The experiment lasted for 42 d. The results showed that ADG, T-AOC and the activity of GSH-Px of the treatment group were improved significantly compared to the control group, while the level of serum MDA, NO and MDA in liver were decreased significantly. The *B. subtilis* could improve thymus index, bursa index and the level of serum IgG, but did not affect spleen index, serum lysozyme, IL-2 and TNF- $\alpha$  significantly. These results indicated that growth performance of broilers fed diet with *B. subtilis* was improved by increase of antioxidant and immunity.

**Key words:** *B.subtilis*; antioxidant; immunity; broiler chickens